

KARYA AKHIR

**PENGARUH OBESITAS TERHADAP RESEPTOR
ENDOTHELIN A (ET-A) DAN *ENDOTHELIN B (ET-B)*
PADA GINJAL TIKUS WISTAR (*RATTUS NORVEGICUS*)**

***THE EFFECT OF OBESITY ON ENDOTHELIN A (ET-A) RECEPTOR
AND ENDOTHELIN B (ET-B) RECEPTOR IN THE KIDNEY OF WISTAR
RATS***

MISWANI MUKANI SYUAIB

C075172001



**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-1 (Sp-1)
PROGRAM STUDI ILMU PATOLOGI ANATOMI
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2020**

**PENGARUH OBESITAS TERHADAP RESEPTOR
ENDOTHELIN A (ET-A) DAN *ENDOTHELIN B (ET-B)*
PADA GINJAL TIKUS WISTAR (*RATTUS NORVEGICUS*)**

KARYA AKHIR

Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar spesialis

Program Studi Patologi Anatomis

Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin

Disusun dan diajukan oleh

MISWANI MUKANI SYUAIB

C075172001

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-1 (Sp-1)
PROGRAM STUDI PATOLOGI ANATOMI
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2020**

HALAMAN PENGESAHAN

KARYA AKHIR

**Hubungan Obesitas dengan Reseptor Endothelin A dan B pada Tikus Wistar
(Rattus Norvegicus)**

Disetujui untuk diseminarkan:

Nama : dr.Miswani Mukani

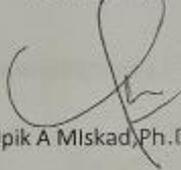
Nomor Pokok : C 075121001

Hari/Tanggal : Selasa, 15 Desember 2020

Tempat : Ruang Pertemuan PPDS Sp.I Patologi Anatomi Ged A Lantai 4 RS Pendidikan
Unhas

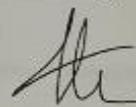
Makassar, Desember 2020

Pembimbing II



Dr.Upik A Miskad,Ph.D,Sp.PA(K)

Pembimbing II



Dr.Muhammad Husni Cangara,Ph.D, Sp.PA

Mengetahui,

Manajer Program Pendidikan Dokter Spesialis
Fakultas Kedokteran UNHAS



Dr. Ung Bahrin, Sp.PK(K), Ph.D

NIP.19680518 199802 2 001

KARYA AKHIR

PENGARUH OBESITAS TERHADAP RESEPTOR *ENDOTHELIN A (ET-A)* DAN *ENDOTHELIN B (ET-B)* PADA GINJAL TIKUS WISTAR (*RATTUS NORVERGICUS*)

Disusun dan diajukan oleh :
dr. Miswani Mukani Syuaib
C075172001

Telah dipertahankan di hadapan Panitia ujian yang dibentuk dalam rangka
Penyelesaian Studi Program Pendidikan Dokter Spesialis
Program Studi Ilmu Patologi Anatomi
Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin pada tanggal 15 Desember 2020
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui

Pembimbing Utama

dr. Upik A. Miskad, Ph.D, Sp.PA(K)
NIP. 19740330 200501 2 001

Pembimbing Pendamping

dr. Muhammad Husni Cangara, Ph.D, Sp.PA
NIP. 19770409 200212 1 002

Ketua Program Studi
Ilmu Patologi Anatomi

dr. Upik A. Miskad, Ph.D, Sp.PA(K)
NIP. 19740330 200501 2 001

Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas Hasanuddin



Prof. dr. Budu, Ph.D, Sp.M(K), M.Med.Ed
NIP. 19661231 199503 1 009

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA AKHIR

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Miswani Mukani Syuaib

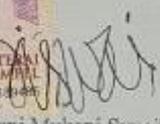
Nomor Induk Mahasiswa : C075172001

Program Studi : Patologi Anatomi

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa karya akhir ini benar-benar merupakan hasil karya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa keseluruhan karya akhir ini merupakan hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 15 Desember 2020

Yang menyatakan,


Miswani Mukani Syuaib

PENETAPAN PANITIA PENGUJI

Tesis ini telah diuji dan dinilai oleh panitia penguji pada

Tanggal 15 Desember 2020

Panitia penguji Tesis berdasarkan SK Dekan Fakultas Kedokteran

Universitas Hasanuddin

No.1872/UN4.6/KEP/2020

Ketua : dr. Upik A Miskad, PhD, Sp. PA(K)

Anggota : 1. Muh. Husni Cangara, PhD, SpPA(K)
2. Dr.dr. Irfan Idris, M.Kes
3. Dr.dr. Rina Masadah, M.Phill., SpPA(K)
4. Dr. dr. Andi Alfian Zainuddin, MKM

KATA PENGANTAR

Alhamdulillahirabbil alamin. Segala puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran Allah swt yang senantiasa melimpahkan rahmat, taufik dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan penelitian ini.

Karya akhir berjudul "Pengaruh Obesitas Reseptor Terhadap Endothelin A (ET-A) dan Endothelin B (ET-B) pada Ginjal Tikus Wistar (Rattus Norvegicus)" ini merupakan salah satu persyaratan dalam rangka penyelesaian Program Pendidikan Dokter Spesialis di Program Studi Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar.

Sebagai insan biasa yang jauh dari sempurna, penulis sepenuhnya menyadari tanpa bantuan dari berbagai pihak maka penulisan hasil penelitian ini tidak dapat terselesaikan. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis menyampaikan rasa hormat dan terima kasih kepada :

1. Prof. DR. Dr. Budu, Ph.D, Sp.M (K), M.Med.Ed, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar.
2. Dr. Uleng Bahrin, SpPK(K), Ph.D, selaku Koordinator Program Pendidikan Spesialis Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar.
3. dr. Upik A Miskad, PhD, Sp. PA(K) selaku pembimbing utama yang dengan penuh perhatian dan kesabaran dalam membimbing dan memberikan dorongan kepada penulis.
4. dr. Muh. Husni Cangara, PhD, SpPA(K) selaku pembimbing kedua yang telah banyak memberikan ide dan gagasan serta memfasilitasi penulis dalam proses pembuatan karya akhir ini.
5. Dr.dr. Rina Masadah, M.Phill., SpPA(K) selaku penguji sekaligus staf dosen Program Studi Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin yang dengan penuh perhatian dan kesabaran senantiasa membimbing dan memberikan dorongan kepada penulis sejak awal penelitian hingga penulisan karya akhir ini.

6. DR. Dr. Irfan Idris, M.Kes selaku Penguji dan Wakil Dekan I Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin yang dengan penuh perhatian dan kesabaran senantiasa membimbing dan memberikan dorongan kepada penulis sejak awal penelitian hingga penulisan karya akhir ini.
7. Dr. dr. Andi Alfian Zainuddin, MKM sebagai pembimbing metodologi penelitian yang di tengah kesibukannya telah meluangkan waktu dan pikiran beliau untuk membantu penulis dalam menyelesaikan penelitian ini terutama terkait metodologi penelitian dan statistik
8. Guru-guru kami, Prof. Syarifuddin Wahid, dr., Ph.D., Sp.PA(K), dr. Tarsisia Truly Djimahit, Sp.PA(K), dr. Gunawan Arsyadi, Sp.PA(K), dr. Djumadi Achmad, Sp.PA (K), dr. Cahyono Kaelan, Ph.D., Sp.PA(K), Sp.S, Dr. dr. Gatot Susilo Lawrence, Sp.PA(K), Sp.F, FESC, Dr.dr. Berti Julian Nelwan, M.Kes., Sp.PA (K)., dr. Ni Ketut Sungowati, Sp.PA(K), dr. Syamsu Rijal, M.Kes, Sp.PA, dr. Juanita, M.Kes., Sp.PA, dr. Ruth Norika Amin, M.Kes, Sp.PA, dr. Imeldy Prihatni Purnama, M.Kes, Sp.PA, dr. Rusdina Bte Ladju, Ph.D, dr. Radita Nur Anggraeni Ginting, M.Ked(PA), Sp.PA, dr. Wahyuni Sirajuddin, M.Kes., Sp.PA, dr. Tri Lestari, M.Kes., Sp.PA, dr. Amalia Yamin, M.Kes, Sp.PA, dr. Jeni Poniman, Sp.PA yang senantiasa memberikan bimbingan, pengajaran dan kesempatan kepada penulis dan rekan-rekan PPDS untuk menimba ilmu pengetahuan dan keterampilan tentang penyakit jantung dan pembuluh darah dengan lebih terarah dan berkualitas.
9. Suami saya dr. Andi Tihardimanto Kaharuddin, MARS beserta ketiga anak saya Azzam Asyami Athawani, Abidzar Aiman Athawani, dan Ashraf Abqari Athawani yang dengan penuh perhatian dan kesabaran memberikan dorongan kepada penulis selama menjalani pendidikan hingga bisa menyelesaikan karya akhir ini
10. Terima kasih yang tak terhingga penulis sampaikan kepada kedua orang tua, serta saudara-saudara saya yang selalu memberikan dukungan dalam segala hal, mendoakan,

memberikan dorongan semangat dan motivasi yang tiada henti, yang sangat berarti bagi penulis dalam menjalani pendidikan.

11. Teman seperjuangan selama mengikuti pendidikan : dr. Ummu Kalzum, M.Med.Ed, dr. Yemima Tangdiung, dan dr. Norsikawaty Haya. Terima kasih atas kebersamaan yang kalian berikan, dukungan dan bantuan yang tidak pernah henti.
12. Teman sejawat PPDS Patologi Anatomi : mulai dari senior sampai teman-teman junior terutama dr Aisyah Amelia yang telah banyak memberikan kontribusi selama proses pendidikan ini. Terima kasih atas bantuan, kebersamaan, dan kerja sama yang baik selama penulis menjalani pendidikan.
13. Teman-teman tenaga administrasi dan staf Program Studi Ilmu Patologi Anatomi dan teman-teman semua yang tidak disebutkan namanya satu persatu. Terima kasih telah banyak membantu penulis dalam menjalani pendidikan.

Tanpa kalian penulis tidak akan mampu menyelesaikan pendidikan ini. Semoga Allah swt membalas segala kebaikan yang telah kalian berikan.

Akhir kata dengan segala kerendahan hati, penulis berharap semoga tulisan ini dapat memberikan manfaat bagi perkembangan Ilmu Patologi Anatomi di masa mendatang. Tak lupa penulis memohon maaf atas segala keterbatasan dalam penulisan karya akhir ini.

Makassar, 15 Desember 2020

ABSTRACT

Miswani Mukani Syuaib. Hubungan Obesitas dengan Reseptor Endothelin A (ET_A) dan Reseptor Endothelin B (ET_B) pada ginjal tikus Wistar (*Supervised by: Upik A Miskad, Muh. Husni Cangara, Andi Alfian Zainuddin*)

Background Reseptor Endothelin A (ET_A) dan Reseptor Endothelin B (ET_B) dilaporkan memainkan peranan penting dalam berbagai penyakit termasuk *obesity related chronic kidney disease* (CKD). Beberapa jurnal telah meneliti tentang kedua reseptor tersebut namun ekspresinya di jaringan masih jarang dilaporkan. ET_A terutama didapatkan pada otot polos vaskuler and ikatannya dengan ET₁ memediasi berbagai efek termasuk vasokonstriksi, penurunan aliran darah ginjal dan laju glomerulofiltrasi. Penelitian ini bertujuan meneliti perbedaan ekspresi ET_A dan ET_B pada berbagai struktur ginjal antara grup kontrol dan perlakuan

Methods Tikus dibagi menjadi dua kelompok berdasarkan index Rohrer (IR). Grup perlakuan (IR>30 gr/cm) diberikan a *high-fat diet* and grup kontrol (IR< 30 gr/cm) diberikan *standard diet*. Setelah *sacrificed*, ginjal diambil dan dilakukan prosedur pewarnaan HE untuk menilai histopathologi and *immunohistochemistry* untuk menilai ekspresi ET_A dan ET_B. Kami melihat luas glomerulus, sel mesangial and infiltrasi sel mononuklear pada slide histopathologi. Ekspresi ET_A and ET_B dapat dilihat pada sediaan Immunohistokimia (IHC)

Results Pada pengamatan histopatologi, terdapat perbedaan antara dua grup pada **luas** glomerulus, sel mesangial and infiltrasi sel mononuklear. ET-A lebih terekspresi pada tikus wistar obese dibandingkan tikus wistar non obese pada struktur glomerulus, vena kortikomedula, arteri arkuata dan sel mesangial tapi tidak terdapat perbedaan ekspresi ETA antara tikus wistar obese dan tikus wistar non obese pada struktur tubulus distal, tubulus kolektivus, tubulus proksimal dan vasa rekta. Pada medulla, ETA lebih terekspresi pada tikus wistar obese dibandingkan tikus wistar non obese hanya pada struktur duktus kolektivus dan tidak terdapat perbedaan ekspresi ETA antara tikus wistar obese dan tikus wistar non obese pada struktur tubulus distal, tubulus proksimal, *thin tubule* LH, *thick tubule* LH dan vasa rekta Pada medulla, ETB lebih terekspresi pada tikus wistar obese dibandingkan tikus wistar non obese hanya pada struktur duktus kolektivus dan vasa rekta namun tidak terdapat perbedaan ekspresi ETB antara tikus wistar obese dan tikus wistar non obese pada struktur tubulus distal, tubulus proksimal, *thin tubule* LH, *thick tubule* LH dan sel interstitial

Conclusions Tingkat kerusakan ginjal dalam hubungannya dengan obesitas baru terbatas pada minimal change pada area glomerulus yang dibuktikan dengan terjadinya glomerulomegali, peningkatan sel -sel mesangial, peningkatan ekspresi ETA serta penurunan ekspresi ETB pada glomerulus dan sel mesangial

Keywords: *kidney damage related obesity, ET_A expression, ET_B expression*

ABSTRACT

Miswani Mukani Syuaib. The Effect of Obesity on Endothelin A Receptor (ET_A) and Endothelin B Receptor (ET_B) in The Kidney of Wistar (Supervised by: Upik A Miskad, Muh. Husni Cangara, Andi Alfian Zainuddin)

Background Endothelin system including Receptor Endothelin A (ET_A) and Receptor Endothelin B (ET_B) are reported to play an important role in various diseases including obesity related chronic kidney disease (CKD). Several Journals have been studied about ET_A and ET_B but assessment of their expression on tissue is less reported. ET_A predominate in vascular smooth muscle, their binding with ET₁ mediating many of the pathophysiological actions including vasoconstriction, reduction in renal blood flow and glomerulofiltration rate. We studied the differences of ET_A expressions and ET_B in the various parts of cortex and medulla kidneys between case and control groups.

Methods The rats were divided into two groups based on the index Rohrer (IR). The case group (IR>30 gr/cm) was given a high-fat diet and the control (IR< 30 gr/cm) was assigned a standard diet. After sacrificed, we took the kidneys and prepared for histopathology and immunohistochemistry procedure. We assessed the glomerular area, mesangial cell and infiltration of mononuclear cell in the histopathology slide. The ET_A and ET_B expression was seen by Immunohistochemistry (IHC) from the paraffin-blocked kidneys.

Results In histopathology, there are differences between two groups in glomerular area, mesangial cell and infiltration of mononuclear cell. In Cortex, receptor ET_A of case group were more expressed than control group on various structures including glomerulus, artery, vena, and mesangial cell with $p < 0.05$ but no differences were found between two group on distal and proximal tubule, collectivus tubule and vasa recta. In Medula, receptor ET_A of case group were more expressed than control group only on collectivus tubule but no differences were found between two group on distal and proximal tubule, thick and thin tubule and vasa recta. In Cortex, ET_B was more expressed in glomerulus, collectivus tubule, proximal tubule and mesangial cell but no differences in distal tubule, vasa recta, corticomedulla vein and arcuata artery. In Medula, receptor ET_B of case group were more expressed than control group only on collectivus tubule and vasa recta but no differences were found between two group on distal and proximal tubule, thick and thin tubule and interstitial cell.

Conclusions Kidney damage related in obesity in this research only limited in the minimal change process. These are proofed by glomerulomegaly, increase mesangial cell, increased the ET_A expression and decreased the ET_B expression

Keywords: *kidney damage related obesity, ET_A expression, ET_B expression*

DAFTAR ISI

DAFTAR ISI	i
DAFTAR TABEL	iv
DAFTAR GAMBAR	v
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang Masalah	1
I.2 Rumusan Masalah	6
I.3 Tujuan Penelitian	7
I.3.1 Tujuan Umum	7
I.3.2 Tujuan Khusus	7
I.4 Hipotesis	8
I.5 Manfaat Penelitian	9
I.5.1 Manfaat akademis	9
I.5.2 Manfaat Praktis	9
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	10
II.1 Obesitas	10
II.1.1 Defenisi Obesitas	10
II.1.2 Pengukuran Obesitas	10
II.1.3 Etiologi Obesitas	13
II.2 Struktur Ginjaldan Fungsinya	17
II.2.1 Anatomi dan Fisiologi Ginjal	17
II.2.2 Struktur Mikroskopis Ginjal	22
II.3 Endothelin	25
II.3.1 Endothelin, Struktur dan Fungsinya	25
II.3.2 Endothelin Receptor, Struktur dan Fungsinya	30
III.3.3 Endothelin, Endothelin Receptor Pada Ginjal	33
II.3.4 Hubungan Obesitas dan Endothelin pada Ginjal	37
II.4 Kerangka Teori	41

BAB III	KERANGKA KONSEP	42
III.1	Kerangka Konseptual	42
III.2	Variabel Penelitian	42
III.3	Defenisi Operasional	43
BAB IV	METODOLOGI PENELITIAN	46
IV.1	Desain Penelitian	46
IV.2	Waktu dan Tempat Penelitian	46
IV.3	Populasi	46
IV.4	Sampel dan Besaran Sampel	46
	IV.4.1 Kriteria Sampel	46
	IV.4.2 Besaran Sampel	47
IV.5	Izin Penelitian dan Kelayakan Etik	48
IV.6	Prosedur Kerja	49
	IV.6.1 Bahan Penelitian	49
	IV.6.2 Persiapan Subjek Penelitian	49
	IV.6.3 Terminasi (Sacrifice)	50
	IV.6.4 Pemeriksaan Histopatologi Dengan Pewarnaan Hematoxylin-Eosin	52
	IV.6.5 Pemeriksaan Immunohistokimia	53
	IV.6.6 Interpretasi Hasil Imunohistokimia	55
IV.7	Alur Penelitian	56
IV.8	Rencana Pengolahan Data dan Analisa Data	57

DAFTAR TABEL

Tabel 1	Status Gizi berdasarkan “the Expert Panel on the Identification, Evaluation, and Treatment of Overweight and Obesity in Adults and endorsed by leading organizations of health professionals”	11
Tabel.2	Status gizi untuk orang Indonesia	12
Tabel.3	Penghitungan indeks obesitas pada hewan coba	13
Tabel 4	Penggunaan antagonis dan agonis reseptor ET-A dan ET-B	31
Tabel 5	Perbandingan efek ET-A dan ET-B pada berbagai struktur ginjal	35
Tabel 6	Interpretasi Skor Intensitas pewarnaan IHK ET-A dan ET-B	44

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1	Obesitas, penyakit multifaktorial. Obesitas adalah penyakit kompleks yang terjadi dari interaksi berbagai faktor	15
Gambar 2	Susunan Umum Ginjal dan Sistem Kemih	18
Gambar 3	Potongan Ginjal Manusia, Skema Sirkulasi Setiap Nefron	19
Gambar 4	Percabangan Tubulus Dasar Nefron	21
Gambar 5	Skema hubungan antara pembuluh darah dan struktur tubulus.	22
Gambar 6	Kidney:Korteks, Medula, Piramid dan Papilla Renalis	23
Gambar 7	Korteks Ginjal dan Medula Ginjal	24
Gambar 8	Struktur Podosit (Mikroskop elektron)	25
Gambar 9	Struktur Endothelin	27
Gambar 10	Sintesis peptida ET	28
Gambar 11	Ekspresi, regulasi dan aksi pembuluh darah	29
Gambar 12	Peranan ET-1 pada tipe reseptor yang berbeda pada otot polos pembuluh darah. Kerangka Teori	31
Gambar 13	Jalur sinyal ET-1 pada Vaskuler Ginjal	34
Gambar 14	Aksi ET-1 pada retensi air dan garam di tubulus ginjal	36
Gambar 15	Perbandingan Dinding Arteri Sehat dan Disfungsi Endotel	40
Gambar 16	Kerangka Teori	41
Gambar 17	Kerangka Konsep	42
Gambar 18	Alur Penelitian	56

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Obesitas merupakan tantangan besar bagi pencegahan penyakit kronis di seluruh dunia. Dengan meningkatnya pertumbuhan ekonomi, industrialisasi, transportasi mekanis, urbanisasi, gaya hidup yang semakin tidak aktif, dan transisi nutrisi ke makanan olahan dan diet tinggi kalori selama 30 tahun terakhir menjadi faktor meningkatnya prevalensi obesitas menjadi berlipat ganda, dan bahkan empat kali lipat (Hruby,2015). Kelebihan berat badan dan obesitas pada anak- anak dan dewasa muda merupakan faktor resiko utama untuk menjadi obesitas di saat dewasa dan kematian mendadak (ENHIS,2009)

Sekitar 97 juta orang dewasa di Amerika Serikat mengalami obesitas. Kondisi ini secara substansial meningkatkan resiko beberapa penyakit seperti hipertensi, dislipidemia, diabetes tipe 2, penyakit jantung koroner, stroke, penyakit pada kandung empedu, osteoarthritis, sleep apnea dan gangguan pernapasan. Begitu pula resiko menderita keganasan endometrium, payudara, prostat dan kolon (WHO,2018)

Obesitas adalah penyakit yang kompleks, multifaktorial, dan sebagian besar dapat dicegah. Obesitas dan *overweight* dialami oleh lebih dari sepertiga populasi dunia saat ini. Jika keadaan ini terus berlanjut, pada tahun 2030 diperkirakan 38% dari populasi orang dewasa dunia akan mengalami *overweight* dan 20% lainnya akan mengalami obesitas. Di Amerika Serikat menunjukkan lebih dari 85% orang dewasa *overweight* atau obesitas pada tahun 2030. Sementara peningkatan obesitas secara keseluruhan di sebagian besar negara maju tampaknya telah turun, obesitas yang tidak wajar di banyak negara ini terus meningkat, termasuk di antara anak-anak.

Selain itu, prevalensi obesitas di negara-negara berkembang terus menanjak ke atas mengikuti peningkatan yang terjadi di Amerika Serikat (Hruby, 2015).

Di Eropa, data dari tahun 1992-2005 dari penelitian 5 negara yang tergabung dalam the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) (Italy, the United Kingdom, the Netherlands, Germany, and Denmark) mengindikasikan peningkatan obesitas dari 13 % ke 17 % dan terjadi peningkatan menjadi 30% pada tahun 2015 (Ruesten, 2015). Penelitian yang dilakukan secara Regional di Eropa memperlihatkan angka peningkatan obesitas yang lebih tinggi di Eropa Eastern dibandingkan Eropa Western dan Northern (Berghöfer A,2008).

Tren ini juga terbukti di negara-negara di luar Amerika. Di Cina, misalnya, antara 1993 dan 2009, angka *overweight* (BMI 25 menjadi $<27,5 \text{ kg / m}^2$) meningkat dua kali lipat pada pria (8 hingga 17%) dan meningkat dari 11 menjadi 14% pada wanita. Sementara itu, obesitas ($\text{IMT} > 27,5 \text{ kg / m}^2$) hampir empat kali lipat pada pria, dari 3 menjadi 11%, dan dua kali lipat pada wanita, dari 5 menjadi 10% (Liang YJ,2009)

Antara tahun 1975-2016, angka obesitas meningkat sekitar tiga kali lipat. Pada tahun 2016, lebih dari 1,9 miliar (39%) orang dewasa diatas 18 tahun adalah *overweight* dengan 39% laki-laki dan 40% wanita dan lebih dari 650 juta orang dewasa mengalami obesitas. Pada anak-anak,sekitar 41 juta anak dibawah 5 tahun mengalami obesitas dan lebih dari 340 juta dewasa muda mengalami obesitas.

Di Indonesia sendiri terjadi kecenderungan peningkatan jumlah penderita obesitas baik pada laki-laki maupun perempuan. Pada tahun 2013, terdapat 19.7% laki-laki menderita obesitas, dimana jumlah ini meningkat dari 2010 yaitu 13.9%. Serupa dengan hal itu, terdapat 32.9% perempuan menderita obesitas naik dua kali lipat dari tahun 2010 yang hanya 15.5%. (Riskesdas, 2013) Pada tahun 2018 terjadi

peningkatan angka obesitas pada perempuan dewasa sebanyak 29,3 % meskipun pada laki-laki dewasa terjadi sedikit penurunan menjadi 14,5% . (Riskesdas, 2018).

Pada tahun 2007, penderita obesitas sekitar 10,5%, angka ini terus meningkat menjadi menjadi 14,8 % di tahun 2013 dan 21,8% pada tahun 2018. Angka obesitas sentral pada tahun 2007 sebanyak 18,8% dan meningkat menjadi 26,6 % pada tahun 2013 dan 31 % di tahun 2018. Daerah yang memiliki jumlah penderita obesitas tertinggi adalah Sulawesi Utara (Riskesdas,2018)

Kegemukan dan obesitas terjadi karena asupan energi lebih tinggi daripada energi yang dikeluarkan. Asupan energi tinggi disebabkan oleh konsumsi makanan sumber energi dan lemak tinggi, sedangkan pengeluaran energi yang rendah disebabkan karena kurangnya aktivitas fisik dan *sedentary life style*. Kegemukan dan obesitas terutama disebabkan oleh faktor lingkungan. Faktor genetik diduga berperan tetapi tidak dapat menjelaskan terjadinya peningkatan prevalensi kegemukan dan obesitas. (Riskesdas, 2013).

Obesitas salah satu faktor dan dikaitkan dengan sistem endotelin yang diaktifkan pada manusia dengan atau tanpa hipertensi (Cardillo et al., 2004; Weil et al., 2011 dalam Baretella 2013). Dampak obesitas pada sebagian vascular ginjal tidak diketahui. Karena itu, percobaan sekarang dirancang untuk membandingkan vasokonstriktor ET-1 di arteri ginjal utama dan segmental pada tikus non obesitas dan tikus obesitas.

Peningkatan obesitas ,khususnya di Amerika selama kurang lebih 20 tahun sejalan dengan peningkatan kejadian penyakit ginjal stadium akhir (ESRD) hampir empat kali lipat. Oleh karenanya obesitas diyakini sebagai penyebab utama CKD, dengan perkiraan terbaru menunjukkan bahwa 24–33% dari semua penyakit ginjal di Amerika disebabkan oleh obesitas. Baru-baru ini, sebuah meta-analisis dilakukan

untuk menyelidiki hubungan obesitas dengan lebih banyak penyakit ginjal, termasuk proteinuria (CKD tahap 1–2) dan perkiraan laju filtrasi glomerulus menurun (eGFR <60 ml / mnt /1,73 m²], hal ini semakin mendukung konsep bahwa obesitas bersifat langsung sebagai penyebab CKD (Nehus, 2018).

Iskemia / reperfusi ginjal adalah faktor risiko umum untuk gagal ginjal. Ekspresi endotelin-1 (ET-1) dan reseptornya ETA juga dilaporkan terlibat dalam pengembangan penyakit ginjal akut dan kronis. Berbagai penelitian dirancang untuk menyelidiki hubungan antara peradangan dan ekspresi ET-1 dengan reseptor ET-A pada ginjal tikus setelah iskemia akut. Hasil menunjukkan bahwa iskemia ginjal akut menyebabkan peningkatan yang signifikan pada gen ET-1 dan ET-A. Hipoksia adalah stimulus iskemia yang paling penting untuk cedera jaringan. Pada ginjal, ET-1 terutama diproduksi oleh sel endotel glomerulus ginjal (RGEC). Peradangan mempengaruhi RGEC manusia yang terpapar pada konsentrasi TNF- α yang berbeda dan menyebabkan upregulasi ET-1 dan ET-A yang diinduksi iskemia dan hipoksia,. Seperti yang diharapkan, TNF- α meningkatkan ekspresi ET-1 dan ET-A dalam cara yang tergantung pada dosis dan lebih jauh lagi pemberian TNF- α inhibitor secara parsial menghambat ekspresi ET-1 dan ET-A yang diinduksi hipoksia. (Niu Jie et al, 2015)

Obesitas menyebabkan disregulasi pembuluh darah dan mulai di medula ginjal dibandingkan dengan pembuluh ventrikel. Peningkatan ekspresi ET-A / ET-B adalah penanda untuk mengurangi aliran darah dan dapat membahayakan jaringan ginjal. Meskipun temuan ini harus ditafsirkan dengan cermat tetapi penelitian ini mengungkapkan bahwa disregulasi pembuluh ginjal pada obesitas bisa menjadi tanda awal dari penyakit yang berkembang. (Barton et al., 2000)

Fungsi lain dari ET-1 dan reseptornya ET-A / ET-B dalam ginjal adalah untuk menghambat reabsorpsi Na untuk mengatur tekanan darah normal. Hiperlipidemia pada tikus obese dapat berbahaya bagi sel-sel endotelial terutama untuk ginjal melalui stimulasi ET-1 dan ET-A / ET-B. (Barton et al., 2000).

Walaupun peneliti-peneliti sebelumnya mengungkapkan hubungan peningkatan baik ET-A dan ET-B secara sistemik di ginjal, namun ekspresi ET-A dan ET-B pada ginjal itu sendiri masih kurang dilaporkan sehingga hal inilah yang mendasari peneliti untuk melihat ekspresi reseptor endotelin A dan B pada ginjal pada tikus wistar obese dibandingkan dengan tikus wistar normal.

Dari hasil penelitian ini diharapkan dengan melihat perbedaan ekspresi/kadar reseptor endotelin A dan B dalam ginjal dapat dijadikan acuan untuk melihat keterlibatan reseptor endotelin A dan B pada patofisiologi ginjal pada obese untuk mengembangkan strategi baru penggunaan reseptor antagonis endotelin untuk pencegahan atau pengobatan penyakit ginjal pada orang obese untuk mengurangi angka kematian pasien dan meningkatkan kualitas hidup.

I.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang di atas maka dapat dirumuskan masalah sebagai berikut :

1. Bagaimanakah perbandingan berat badan tikus wistar obese dan non-obese berdasarkan indeks Rohrer?
2. Bagaimanakah perbandingan besar glomerulus ginjal tikus wistar obese dan non-obese?
3. Bagaimanakah perbandingan selularitas sel mesangial ginjal tikus wistar obese dan non-obese?

4. Bagaimanakah perbandingan infiltrasi sel-sel radang mononuklear ginjal tikus wistar obese dan non-obese?
5. Bagaimanakah perbandingan ekspresi ET-A ginjal tikus wistar obese dan non-obese?
6. Bagaimanakah perbandingan ekspresi ET-B ginjal tikus wistar obese dan non-obese?

I.3 Tujuan Penelitian

I.3.1. Tujuan Umum

Tujuan penelitian ini menganalisa gambaran histopatologi ginjal dan ekspresi reseptor *endothelin A dan B* dengan menggunakan IHK (Immunohistokimia) pada ginjal tikus wistar obese dibandingkan dengan tikus wistar normal.

I.3.2. Tujuan Khusus

Tujuan khusus dalam penelitian ini adalah:

1. Mengukur dan membandingkan berat badan tikus wistar *obese* dan *non-obese* berdasarkan Indeks Rohrer.
2. Mengukur besar glomerulus pada sediaan histopatologi ginjal tikus wistar obese dan non-obese
3. Membandingkan besar glomerulus pada sediaan histopatologi ginjal tikus wistar obese dan non-obese .
4. Menilai infiltrasi sel-sel radang mononuklear pada sediaan histopatologi ginjal tikus wistar obese dan non-obese
5. Membandingkan infiltrasi sel-sel radang mononuklear pada sediaan histopatologi ginjal tikus wistar obese dan non-obese

6. Menilai selularitas sel mesangial pada sediaan histopatologi ginjal tikus wistar obese dan non-obese
7. Membandingkan selularitas sel mesangial pada sediaan histopatologi ginjal tikus wistar obese dan non-obese
8. Menilai ekspresi ET-A pada ginjal tikus wistar obese dan non obese.
9. Membandingkan ekspresi ET-A pada ginjal tikus wistar *obese* dan *non-obese* dengan metode IHK.
10. Menilai ekspresi ET-B pada ginjal tikus wistar obese dan non obese.
11. Membandingkan ekspresi ET-B pada ginjal tikus wistar *obese* dan *non-obese* dengan metode IHK.

I.4. Hipotesis

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah :

1. Terdapat perbedaan berat badan tikus wistar *obese* dan *non-obese*. Pada tikus wistar *obese* akan menunjukkan peningkatan yang bermakna dibanding tikus *non-obese*.
2. Terdapat perbedaan besar glomerulus antara tikus wistar obese dan non-obese. Glomerulus lebih besar pada tikus wistar obese dibandingkan dengan tikus wistar non obese.
3. Sel mesangial glomerulus lebih seluler pada tikus wistar obese dibandingkan dengan tikus wistar non obese.
4. Infiltrasi sel-sel radang mononuklear glomerulus lebih banyak pada tikus wistar obese dibandingkan dengan tikus wistar non obese.
5. ET-A ginjal lebih terekspresi pada tikus wistar obese dibandingkan dengan tikus wistar non obese
6. ET-B ginjal lebih terekspresi pada tikus wistar non obese dibandingkan dengan tikus wistar obese

I.5 Manfaat Penelitian

I.5.1 Manfaat akademis

1. Penelitian ini dapat memberikan kontribusi ilmiah berkaitan dengan ekspresi ET-A dan ET-B ginjal pada obesitas.
2. Dapat dijadikan dasar pengembangan berbagai reseptor spesifik dan antagonis non-spesifik pada pendekatan terapeutik dan preventif terhadap gangguan ginjal pada penderita yang mengalami obesitas.

I.5.2 Manfaat Praktis

Jika terbukti terjadi peningkatan ekspresi ET-A dan ET-B yang disebabkan oleh obesitas maka ET-A dan ET-B dapat dijadikan sebagai indikator disfungsi ginjal pada obesitas.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Obesitas

II.1.1 Defenisi Obesitas

Obesitas adalah istilah yang digunakan untuk menunjukkan kisaran berat badan tinggi untuk seseorang dengan ketinggian tertentu yang berhubungan dengan efek kesehatan yang merugikan (NHANES,2019). Menurut WHO, obesitas adalah penumpukan lemak tubuh yang berlebihan yang menyebabkan gangguan kesehatan, kecacatan, peningkatan angka kesakitan dan kematian. Obesitas merupakan sebuah penyakit kronik dengan karakteristik perubahan komposisi tubuh dengan gangguan kondisi medis yang kompleks yang dikarakteristikkan sebagai kelebihan akumulasi lemak yang abnormal sebagai hasil dari peningkatan energi makanan yang masuk dan menurunnya aktivitas fisik.

Obesitas adalah hasil dari hubungan kompleks antara pengaruh genetik, sosial ekonomi, dan budaya. Pola konsumsi, perkembangan tekhnologu, dan kebiasaan gaya hidup mempengaruhi prevalensi obesitas. Kondisi ini juga bisa merupakan akibat dari penyakit atau pengobatan farmakologis. Orang yang mengalami obesitas mengurangi jumlah penghasilan, dan biaya perawatan kesehatan yang lebih tinggi yang dapat mengakibatkan beban ekonomi pada masyarakat (Apovian C,2016)

II.1.3 Pengukuran Obesitas

Indeks massa tubuh (BMI), yang merupakan berat dalam kilogram dibagi dengan tinggi dalam meter kuadrat, digunakan untuk mengidentifikasi obesitas. Untuk orang dewasa, BMI 25,0 hingga 29,9 kg / m² didefinisikan sebagai kelebihan berat badan (*overweight*) dan BMI 30 kg / m² atau lebih tinggi didefinisikan sebagai obesitas (Apovian C,2016). *Body mass index* (BMI) atau Index Massa Tubuh (IMT) adalah salah satu metode yang paling populer untuk menilai obesitas (Uzogara, 2017). Indeks massa tubuh dapat dihitung dengan cara membagi berat badan (kg) dengan kuadrat tinggi badan (meter) atau dapat dirumuskan sebagai berikut (NHLBI,2000):

$$\text{BMI} = \frac{\text{weight (kg)}}{\text{height squared (m}^2\text{)}}$$

Tabel 1. Status Gizi berdasarkan “the Expert Panel on the Identification, Evaluation, and Treatment of Overweight and Obesity in Adults and endorsed by leading organizations of health professionals”

Classifications for BMI	
	BMI
Underweight	<18.5 kg/m ²
Normal weight	18.5–24.9 kg/m ²
Overweight	25–29.9 kg/m ²
Obesity (Class 1)	30–34.9 kg/m ²
Obesity (Class 2)	35–39.9 kg/m ²
Extreme obesity (Class 3)	≥40 kg/m ²

Tabel 2. Status gizi untuk orang Indonesia (Riskesdas, 2018)

Status Gizi	Kategori	IMT
Kurus Sekali	Kekurangan BB tingkat berat	< 17,0
Kurus	Kekurangan BB tingkat kurang	17,0-18,4
Normal	Normal	18,5-25,0
Gemuk	Kelebihan BB tingkat ringan	25,1-27,0
Obese	Kelebihan BB tingkat berat	> 27,0

Di Amerika Serikat, seseorang dikatakan menderita obesitas jika memiliki IMT lebih dari atau sama dengan 30 kg/m² dan memakai sistem Class I,II dan III dalam klasifikasinya (WHO,2000). Menurut Hreby (2015), dalam kriteria Asia Pasifik, seseorang dikatakan obesitas jika memiliki IMT ≥ 27 dan preobesitas dengan IMT 23- <27 kg/m². Sedangkan menurut Depkes RI, Seseorang dikategorikan *overweight* jika IMT > 25 dan obesitas jika IMT > 27 (Badan Penelitian Pengembangan Kesehatan, 2018). IMT sebagai faktor utama dari munculnya komplikasi masih menjadi perdebatan, distribusi lemak dan fungsi jaringan adiposa pada setiap individu memiliki peran penting dalam menyebabkan munculnya komplikasi. Padahal diketahui bahwa komplikasi dari obesitas seperti diabetes, hipertensi, penyakit jantung dll adalah disebabkan oleh kelebihan lemak bukan berat badan (Kadouh and Acosta, 2017).

Menurut NHLBI (2000), penilaian obesitas terhadap seorang pasien harus mencakup evaluasi indeks massa tubuh (BMI), lingkar pinggang, dan risiko medis secara keseluruhan. Ada bukti beberapa penelitian yang mendukung penggunaan BMI lebih baik dalam menilai obesitas karena memberikan ukuran yang lebih akurat dari total lemak tubuh dibandingkan dengan penilaian berat badan saja.

Pada penelitian pada hewan coba seperti tikus, penghitungan indeks obesitas menggunakan beberapa cara antara lain *Röhrer index*, *Lee index*, dan *TM index*.(Nesti, 2015)

Tabel 3. Penghitungan indeks obesitas pada hewan coba

INDEKS	RUMUS	OBESITAS
<i>Röhrer index</i>	$\{Body\ weight\ (g)/Naso-anal\ length\ (cm)\}^3 \times 10^3$	<i>Value > 30</i>
<i>Lee index</i>	$\{Body\ weight\ (g)\}^{1/3}/Naso-anal\ length\ (cm) \times 10^3$	<i>Value > 300</i>
<i>TM index</i>	$Body\ weight\ (g)/Naso-anal\ length\ (cm)^{2.823} \times 10^3$	<i>Value > 55</i>

Indeks Lee dapat mencerminkan tingkat lemak tubuh pada hewan. Semua tikus dianalisis, dan hasilnya menunjukkan peningkatan yang signifikan dalam jaringan adiposa pada kelompok hiperlipidemia. (Yang *et al.*, 2018)

II.1.2 Etiologi Obesitas

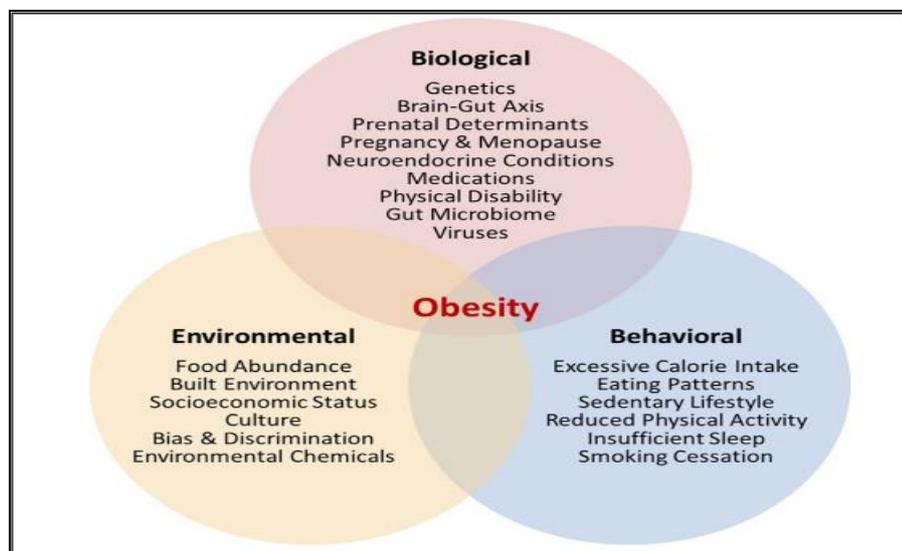
Obesitas berkembang sebagai akibat ketidakseimbangan antara energi yang masuk dan yang digunakan dan menghasilkan kelebihan energi yang meningkatkan berat badan. Ketidakseimbangan energi ini berhubungan dengan perubahan social dan ekonomi dibawah kontrol individu itu sendiri (Hruby, 2015)

Energi diperoleh melalui makronutrien (karbohidrat, protein, lemak) yang terdapat dalam makanan. Energi dikeluarkan melalui tiga proses metabolik yaitu *basal metabolic rate* (BMR) atau laju metabolik basal, metabolisme yang terjadi untuk mencerna makanan, dan metabolisme untuk aktifitas fisik yang merupakan faktor terpenting dalam pengeluaran energi (Kadouh and Acosta, 2017). Oleh karena itu, keseimbangan energi ditentukan oleh energi yang masuk, energi yang keluar, dan energi yang disimpan dan ini dapat terlihat dari berat badan yang stabil.

Ketidakseimbangan energi dimana energi yang masuk lebih besar dari pada energi yang keluar akan menyebabkan keseimbangan energi positif dan berdampak pada peningkatan berat badan, khususnya didominasi oleh massa lemak. Keseimbangan energi terdiri dari asupan energi, pengeluaran energi, dan penyimpanan energi. Energi diperoleh melalui asupan nutrisi yang mengandung kalori yaitu protein, karbohidrat, dan lemak, serta alkohol (Ailshul, 2012).

Faktor herediter seperti genetik, riwayat keluarga, ras serta faktor sosioekonomi dan sosiokultural dianggap sebagai faktor resiko obesitas. Peningkatan angka kejadian obesitas yang begitu signifikan dalam dua dekade terakhir tampaknya tidak dapat dijelaskan oleh perubahan genetik karena terjadi dalam waktu singkat. Oleh karena itu, obesitas merupakan penyakit kronik yang sangat kompleks dimana peran gen, perilaku dan interaksi antara keduanya sangat mempengaruhi yang menghasilkan keseimbangan energi positif (Comuzzie et al. 2012). Selain faktor genetik, kejadian obesitas sangat dipengaruhi oleh faktor lingkungan dan perilaku, khususnya meningkatnya konsumsi kalori dan menurunnya aktifitas fisik (Kadouh & Acosta 2017).

Peningkatan berat badan ini dapat dilihat sebagai interaksi yang kompleks antara lingkungan, sosial ekonomi dan faktor genetik dimana kebiasaan personal juga berpengaruh secara dominan terhadap kejadian obesitas



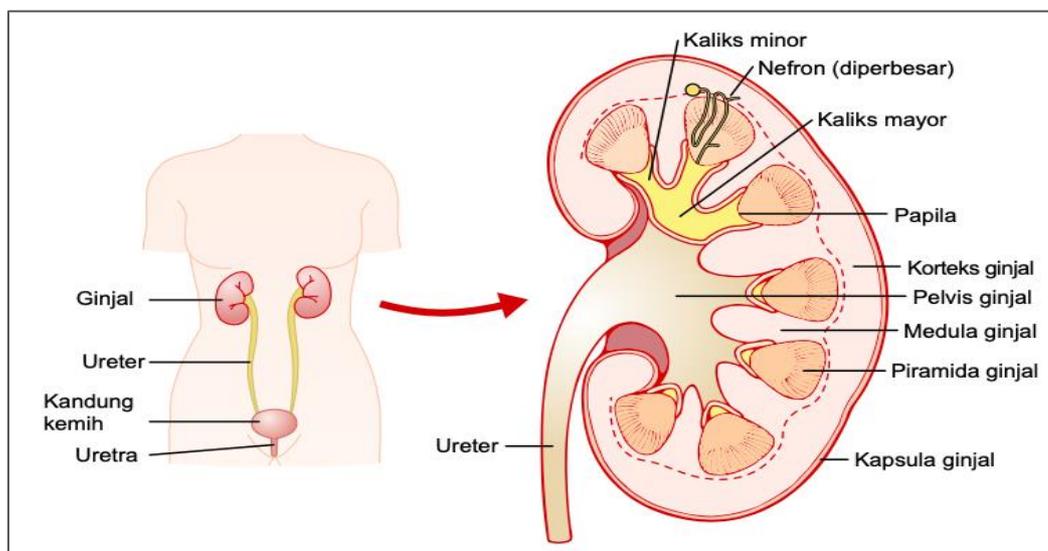
Gambar 1. Obesitas, penyakit multifaktorial. Obesitas adalah penyakit kompleks yang terjadi dari interaksi berbagai faktor. (H.C. Kadouh, A. Acosta,2017)

II.2. Struktur Ginjal dan Fungsinya

II.2.1. Anatomi dan Fisiologi Ginjal

Dua ginjal terletak pada dinding posterior abdomen, di luar rongga peritoneum. Setiap ginjal mempunyai berat hampir 150 gram dan kira-kira seukuran kepalan tangan. Sisi medial setiap ginjal merupakan daerah lekukan yang disebut hilum tempat lewatnya arteri dan vena renalis, pembuluh limfatik, saraf dan ureter yang membawa urin akhir dari ginjal ke kandung kemih, tempat urin disimpan hingga dikeluarkan. Ginjal dibungkus oleh kapsula fibrosa yang keras untuk melindungi struktur dalamnya yang rapuh. (Sherwood L, 2013).

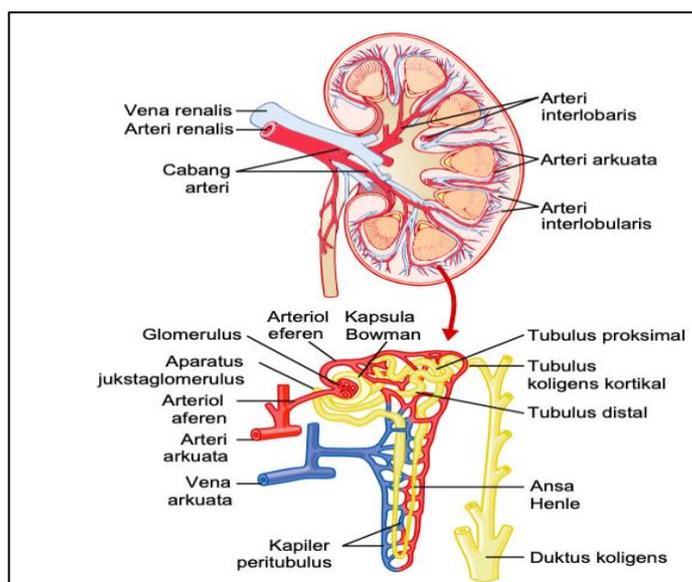
Jika ginjal dibelah dua dari atas ke bawah, dua daerah utama yang dapat digambarkan yaitu daerah korteks di bagian luar dan medulla di bagian dalam. Medula ginjal terbagi menjadi 8-10 massa jaringan berbentuk kerucut yang disebut piramida ginjal. Dasar dari setiap piramida dimulai pada perbatasan antara korteks dan medulla serta berakhir di papilla yang menonjol ke dalam ruang pelvis ginjal, yaitu sambungan dari ujung ureter bagian atas yang berbentuk corong. Batas luar pelvis terbagi menjadi kalises mayor yang meluas ke bawah dan terbagi menjadi kalises minor, yang



mengumpulkan urin dari tubulus setiap papilla. Dinding kalises, pelvis, dan ureter terdiri atas bagian kontraktile yang mendorong urin menuju kandung kemih, tempat urin disimpan sampai dikeluarkan melalui miksi (Sherwood L, 2013).

Gambar 2. Lokasi dan bagian ginjal.

Darah yang mengalir ke kedua ginjal normalnya sekitar 22 persen dari curah jantung, atau 1100 ml/menit, lebih dari 90% darah yang masuk keginjal berada pada korteks sedangkan sisanya dialirkan ke medulla. Arteri renalis memasuki ginjal melalui hilum dan kemudian bercabang-cabang secara progresif membentuk arteri interlobaris, arteri arkuata, arteri interlobularis dan arteriol aferen yang menuju ke kapiler glomerulus tempat sejumlah besar cairan dan zat terlarut (kecuali protein plasma) difiltrasi untuk memulai pembentukan urin. Ujung distal kapiler pada setiap glomerulus bergabung untuk membentuk arteriol aferen, yang menuju jejaring kapiler kedua yaitu kapiler peritubular, yang mengelilingi tubulus ginjal (Guyton, 2011).



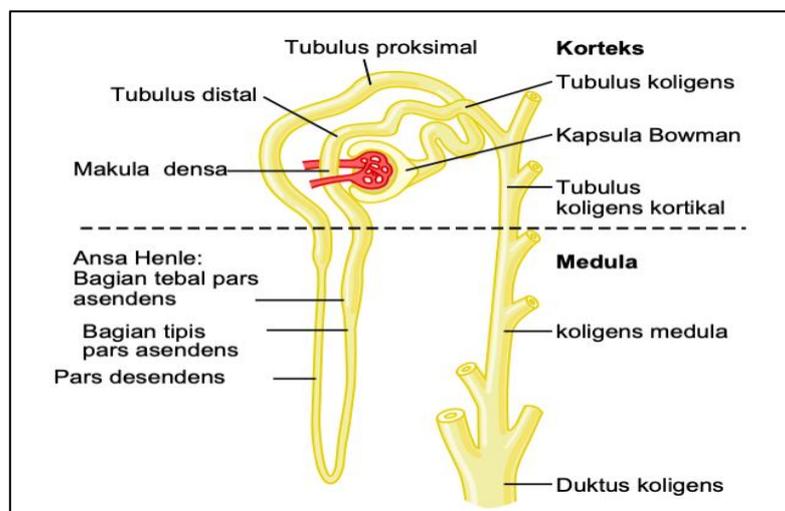
Gambar 3. Potongan Ginjal manusia, skema sirkulasi setiap nefron

Darah yang mengalir melalui sistem portal ini akan dialirkan kedalam jalinan vena selanjutnya menuju vena interlobularis, vena arkuata, vena interlobaris, dan vena renalis untuk akhirnya mencapai vena cava inferior. Sifat khusus aliran darah ginjal adalah autoregulasi aliran darah melalui arterioler afferen ginjal yang mempunyai kapasitas intrinsik yang dapat merubah resistensinya sebagai respon terhadap

perubahan tekanan darah arteri dengan demikian mempertahankan aliran darah ginjal dan filtrasi glomerulus tetap konstan (Guyton, 2011).

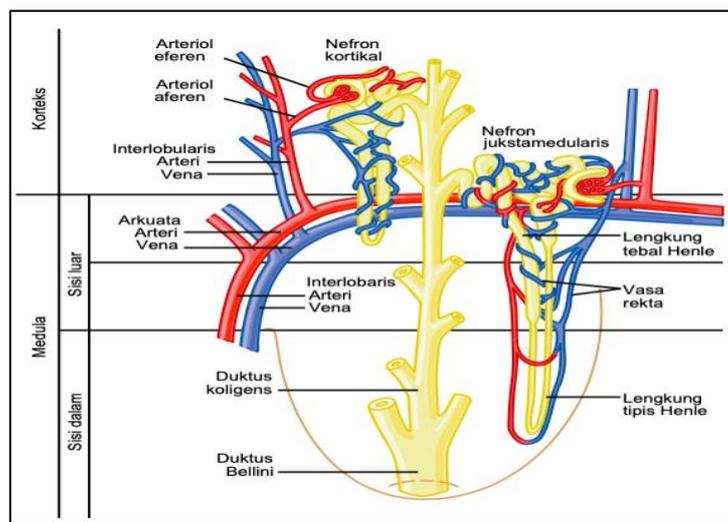
Ginjal merupakan organ tubuh yang berfungsi mengatur keseimbangan cairan tubuh dengan cara membuang sampah-sampah sisa metabolisme dan menahan zat-zat yang dibutuhkan tubuh. Sistem ekskresi sendiri terdiri dari dua buah ginjal dan saluran kemih. Ginjal akan mengambil zat-zat yang berbahaya dalam darah dan membuangnya bersama urin. Urin lalu akan dikumpulkan dan dialirkan ke ureter. Dari ureter, urin akan ditampung dahulu ke kandung kemih. Bila orang tersebut merasakan ingin micturisi dan keadaan memungkinkan maka urin yang ditampung dikandung kemih akan dikeluarkan melalui uretra (Guyton, 2011).

Unit fungsional ginjal terkecil yang mampu menghasilkan urin disebut nefron. Tiap ginjal bisa tersusun atas 1 juta nefron yang saling disatukan oleh jaringan ikat. Nefron ginjal terbagi 2 jenis, nefron kortikal yang lengkung Henlenya hanya sedikit masuk medula dan memiliki kapiler peritubular, dan nefron jukstamedula yang lengkung Henlenya panjang ke dalam medulla dan memiliki Vasa Recta. Vasa Recta adalah susunan kapiler yang panjang mengikuti bentuk tubulus dan lengkung Henle.



Gambar 4. Percabangan tubulus dasar nefron

Secara makroskopis, korteks ginjal akan terlihat berbintik-bintik karena adanya glomerulus, sementara medula akan terlihat bergaris-garis karena adanya lengkung Henle dan tubulus pengumpul (Sherwood, 2013). Tiga proses utama akan terjadi di nefron dalam pembentukan urin, yaitu filtrasi, reabsorpsi, dan sekresi. Pembentukan urin dimulai dengan filtrasi sejumlah besar cairan yang hampir bebas protein dari kapiler glomerulus ke kapsula Bowman. Kebanyakan zat dalam plasma, kecuali protein, di filtrasi secara bebas sehingga konsentrasinya pada filtrat glomerulus dalam kapsula bowman hampir sama dengan plasma (Guyton, 2011).



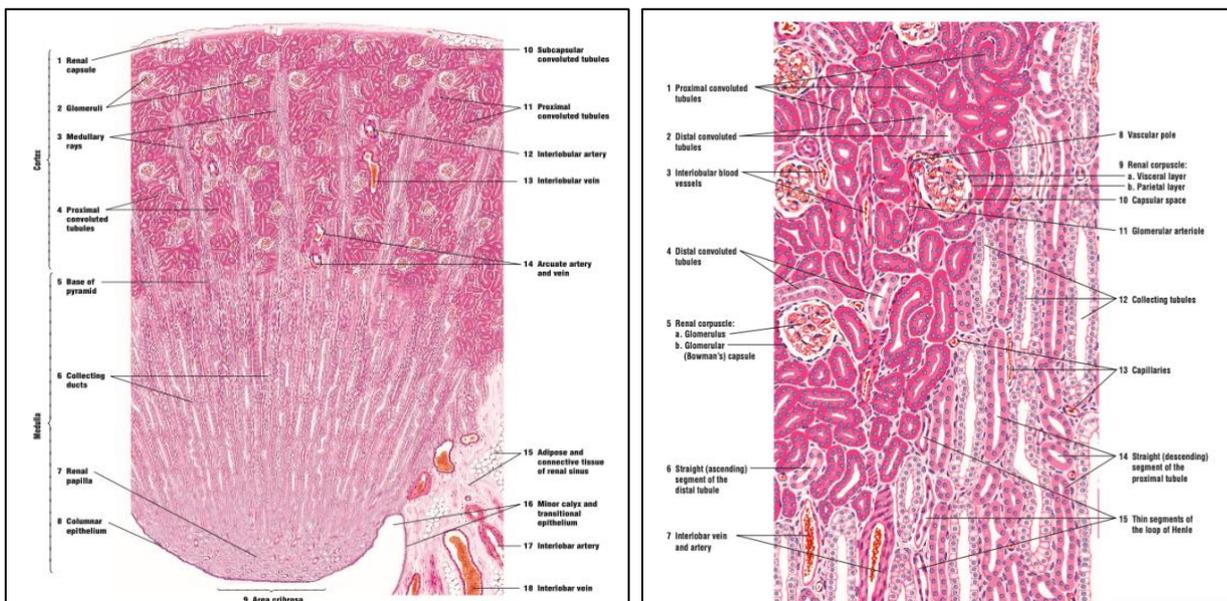
Gambar 5. Hubungan antara pembuluh darah dan struktur tubulus (Guyton, 2011)

Awalnya zat akan difiltrasi secara bebas oleh kapiler glomerulus tetapi tidak difiltrasi. Kemudian di reabsorpsi parsial, reabsorpsi lengkap dan kemudian akan dieksresi. Setiap proses filtrasi glomerulus, reabsorpsi tubulus, dan sekresi tubulus diatur menurut kebutuhan tubuh (Guyton, 2011).

II.2.2 Struktur Mikroskopik Ginjal

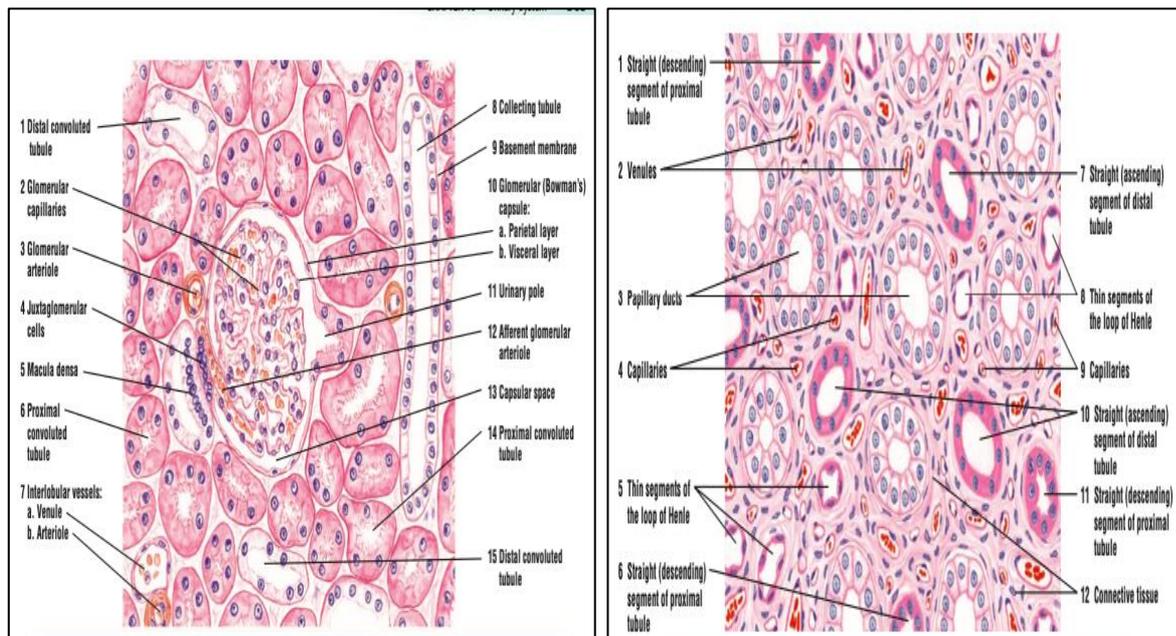
Dilihat secara mikroskopis, ginjal dibagi menjadi korteks yang lebih gelap dan medula yang lebih terang. Pada lapisan terluar, korteks ditutupi dengan kapsul jaringan ikat yang padat dan tidak beraturan. Korteks terdiri dari tubulus kontortus distal dan proksimal, glomeruli, *medullary rays*, arteri interlobular dan vena interlobular. *Medullary rays* dibentuk oleh bagian lurus nefron, pembuluh darah, dan tubulus pengumpul yang bergabung dalam medula untuk membentuk tubulus pengumpul yang lebih besar. *Medullary rays* tidak meluas ke kapsul ginjal oleh karena adanya tubulus berbelit-belit subkapsular (Eroschenko,2008)

Medula terdiri dari piramida ginjal. Basis setiap piramida berbatasan dengan korteks dan apeksnya membentuk papila ginjal runcing yang memproyeksikan ke sekitarnya, struktur seperti corong, calyx minor, yang mewakili bagian ureter yang melebar. Area cribrosa ditembus oleh lubang-lubang kecil, yang merupakan pintu dari saluran pengumpul ke dalam calyx minor (Eroschenko,2008).



Gambar 6. Kidney: Korteks, Medula, Piramid dan Papilla Renalis

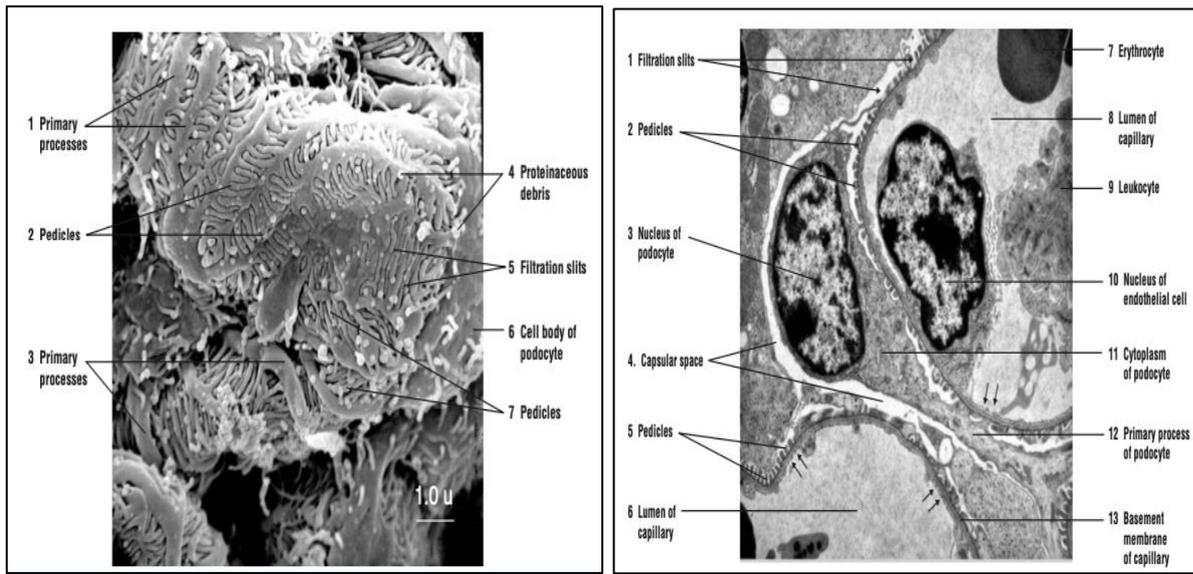
Ujung papilla ginjal biasanya ditutup dengan epitel kolumnar sederhana. Ketika epitel kolumnar papila renalis merefleksikan dinding luar calyx minor, ia menjadi epitel transisional. Lapisan tipis jaringan ikat dan otot polos di bawah epitel ini kemudian bergabung dengan jaringan ikat sinus ginjal. Dalam sinus renal terdapat pula cabang dari arteri renalis dan vena yang disebut arteri interlobar dan vena interlobar. Pembuluh interlobar memasuki ginjal dan lengkung di atas dasar piramida di persimpangan kortikomedula sebagai arteri arkuata dan vena arkuata. Pembuluh darah arkuata bercabang membentuk arteri interlobular yang lebih kecil dan interlobular yang melewati radial ke dalam korteks ginjal dan menjadi arteri glomerulus aferen yang meningkatkan kapiler glomeruli (Eroschenko,2008).



Gambar 7. Korteks Ginjal (kiri) dan Medula Ginjal (kanan)

Korpuskel ginjal menunjukkan kapiler glomerulus, epitel parietal dan epitel visceral dari kapsula glomerulus (Bowman), dan ruang kapsuler. Brush border dan sel asidofilik membedakan tubulus kontortus proksimal dari tubulus kontortus distal yang lebih kecil, dan kurang memiliki brush border. Sel-sel kuboid tubulus kontortus menunjukkan sel dan sitoplasma pucat. Membran basement mengelilingi tubulus ini.

Setiap sel ginjal menunjukkan kutub pembuluh darah di mana arteriol glomerulus aferen masuk dan arteriol glomerulus eferen keluar. Di sisi yang berlawanan dari korpuskel ginjal adalah kutub urinaria. Di sini, ruang kapsuler bersatu dengan lumen tubulus kontortus proksimal (Eroschenko,2008).



Gambar 8. Struktur podosit (Mikroskop elektron)

Terdapat pula sel-sel epiteloid yang dimodifikasi menggantikan sel-sel otot polos dalam media tunika dari aferen glomerulus arteriol. Sel-sel ini adalah sel-sel juxtamedular. Dalam tubulus kontortus distal yang berdekatan, sel-sel yang membatasi sel juxtaglomerular sempit dan lebih kolumnar (Eroschenko,2008).

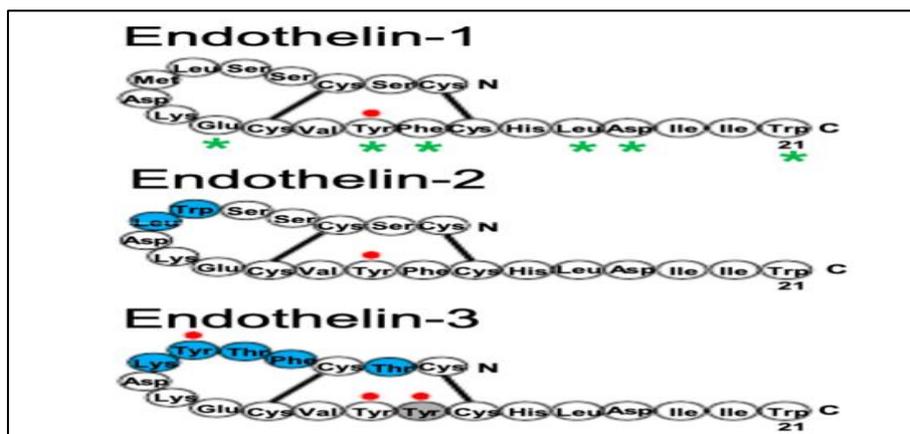
II.3 Endothelin

II.3.1 Endothelin, Struktur dan Fungsinya

Endothelin, diidentifikasi pertama kalinya oleh Yanasigawa pada tahun 1988 melalui isolasi peptida endotelin dari sel endotel, diikuti oleh penemuan reseptornya. Lebih dari sepuluh tahun *endothelin* antagonis telah menjadi bagian dari terapeutik dokter yang merawat hipertensi dan pengembangan baru target terapi terus berlanjut. (Barton & Schiffrin, 2014)

Endothelin terdiri dari tiga kelompok isopeptida yaitu Endothelin-1, Endothelin-2, dan Endothelin-3 yang memiliki tipe karakteristik rantai peptida 21 asam amino homolog dan mirip secara struktural (Chester & Yacoub, 2014). Gen-gen dari ET-1, ET-2, dan ET-3 berlokasi pada kromosom yang berbeda, dimana gen ET-1 berada pada kromosom 6, gen ET-2 pada kromosom 1, dan gen ET-3 pada gen 20. (Kawanabe & Nauli 2011)

Endothelin-1 (ET-1) ditranskripsikan dan diterjemahkan sebagai prepro-ET-1. Endopeptidase membelah prepro-ET-1 untuk membentuk pro-ET-1 atau big ET-1. Prekursor besar ET-1 selanjutnya dibelah oleh enzim pengubah endotelin (ECE) menjadi peptida vaso-aktif ET-1. Gen endothelin mengkode sejumlah 203 asam amino yang dikenal sebagai preproendotelin-1. Prepro-ET-1 akan dipecah menjadi big ET-1 yang menyisakan 38 asam amino oleh furin-like endopeptidase (furin convertase). Big ET-1 belum aktif secara biologi. Mereka selanjutnya akan dimodifikasi oleh salah satu dari ET converting enzyme (ECE) menjadi bentuk ET-1 yang hanya memiliki 21 peptida asam amino (Kohan, Rossi, Inscho, & Pollock, 2011)

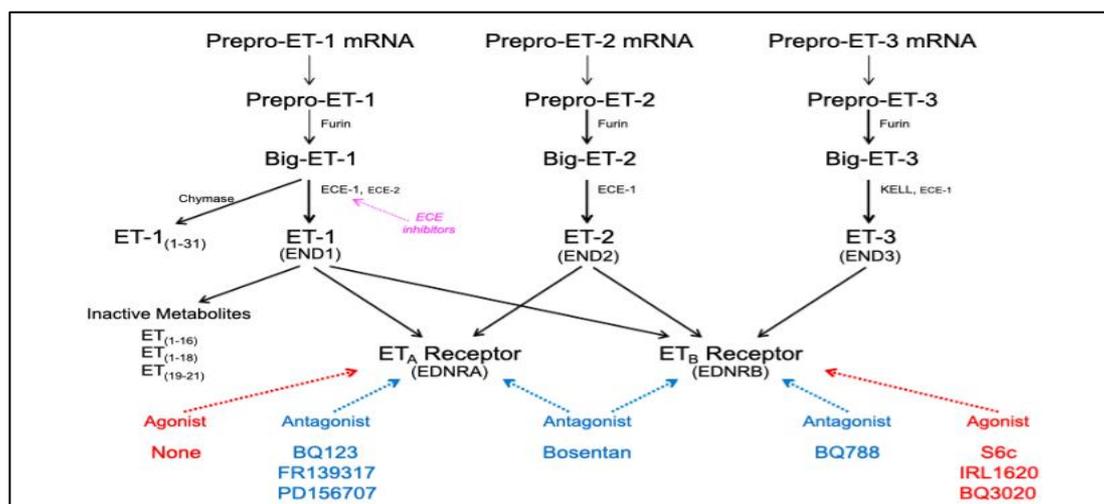


Gambar 9. Struktur Endothelin (Maguire J et al, 2015)

ET-1 dari sel endothel secara dominan dilepaskan menuju otot polos vaskular yang diduga merupakan sebuah cara parakrin. ET-1 juga diproduksi oleh sel-sel lain

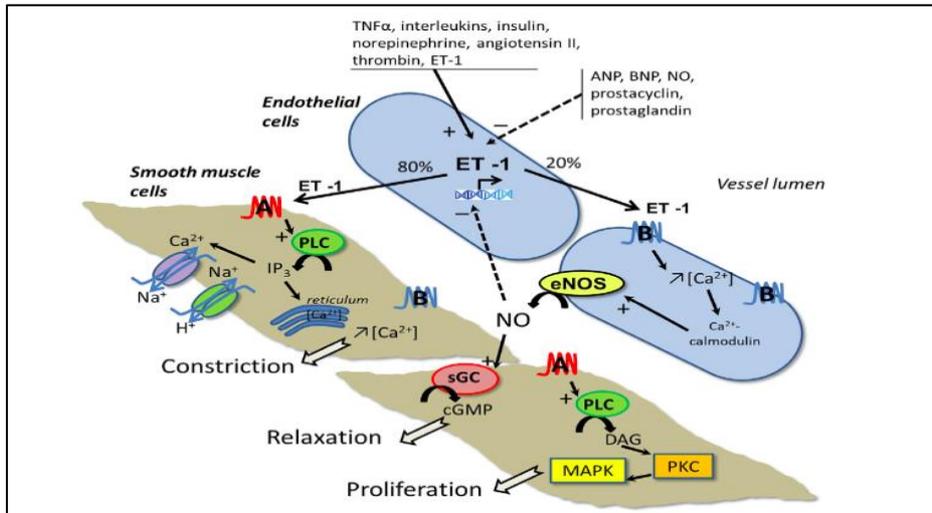
yang ikut serta seperti leukosit, makrofag, sel otot polos vascular dan sel epikardium, sintesa ini diregulasi dalam cara autokrin. Pada ginjal, ET-1 diproduksi oleh epitel glomerulus, sel mesangial, tubulus renalis dan sel duktus kolektivus regio medulla. Medula ginjal tidak hanya merupakan situs penting generasi ET-1 tetapi juga mengandung konsentrasi imunoreaktif ET-1 tertinggi dari semua organ. (Dhaun, Goddard, & Webb, 2006)

Reseptor ET-A terletak pada vaskular sel otot dan ketika diaktifkan, menghasilkan vasokonstriksi berkelanjutan dengan aksi yang lambat. Sebaliknya, reseptor ET-B terletak pada endotel dan otot polos pembuluh darah.



Gambar 10. Sintesis peptida ET (Maguire J et al, 2015)

Pada awal ditemukannya, ET-1 dikenal sebagai agen vasokonstriktor yang kuat dan dapat meningkatkan tekanan darah. Sifat vasoaktif dari ET-1 ini telah diketahui perannya dalam hipertensi. Namun, penelitian selanjutnya telah menjelaskan berbagai peran fisiologis yang penting lainnya dari ET-1, seperti pada fungsi neurologis, fisiologi paru, transport elektron dan cairan, penyakit autoimun dan biologi kanker. (Kawanabe & Nauli, 2016)



Gambar 11. Ekspresi, regulasi dan aksi pembuluh darah

ET-1 disintesis dalam sel endotel manusia dengan jalur sekretori ganda. ET-1 terus dilepaskan dari vesikel kecil dari jalur konstitutif untuk berinteraksi dengan reseptor ET untuk berkontribusi pada agen vasomotor. ET-1 juga dilepaskan dari jalur yang diatur sebagai respons yang unik untuk sel endotel. Dalam pembuluh darah manusia, ET-1 dilepaskan dari sel-sel endotel, berinteraksi terutama dengan reseptor ET-A pada otot polos yang mendasarinya, dengan populasi kecil reseptor ET-B juga memediasi penyempitan di beberapa tempat tetapi tidak semua pembuluh.

Pada hewan, vasokonstriksi bisa melalui ET-B atau campuran keduanya tergantung pada vaskular bed. Kompleks ET-1/ET-A mengalami internalisasi ke endosom sebelum didaur ulang reseptor ke permukaan sel dan menyediakan mekanisme di mana antagonis ET-A dapat membalikkan respons ET-1. Beberapa ET-1 juga dapat berinteraksi dengan reseptor ET-B endotelial secara otokrin dan membatasi respons konstriktor dengan melepaskan vasodilator seperti oksida nitrat. Kompleks ET-1/ET-B diinternalisasi dan diturunkan ke lisosom, akibatnya antagonis ET-B tidak dapat menggantikan ligan terikat reseptor.

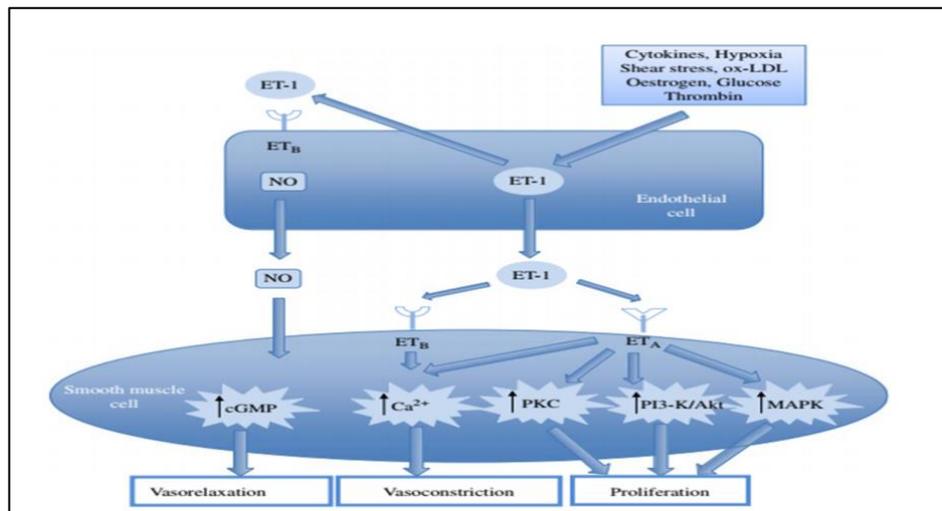
II.3.2 Reseptor Endothelin, Struktur dan Fungsinya

Tak lama setelah penemuan ET-1, dua jenis dari tujuh reseptor transmembran-G protein dikloning. Sakurai (1990) dan Arai (1990) dalam Davenport (2016) menemukan reseptor endotelin A (ET-A) dan ET-B.. Afinitas reseptor ET-A terhadap ET-3 lebih kurang dibandingkan afinitasnya terhadap ET-1 dan ET-2, sedangkan reseptor ET-B mengikat ketiga endotelin dengan afinitas yang sama Tidak ada agonis spesifik untuk reseptor ET-A dan hanya dua agonis reseptor ET-B, sarafotoxin 6c dan IRL1620 yang sebenarnya diketahui (Watts, 2007). Namun, studi tentang peran masing-masing reseptor telah difasilitasi dengan pengembangan beberapa antagonis selektif untuk kedua reseptor ET-A (misalnya atrasentan) (Jae et al., 2002) dan reseptor ET-B (misalnya BQ "788) dan antagonis ganda. ET-1 memiliki afinitas yang sama untuk kedua reseptor (Arai et al., 1990 ; Sakurai et al., 1990 dalam Davenport, 2016)

	ET _A	ET _A /ET _A	ET _B
Potency	ET-1 = ET-2 > ET-3		ET-1 = ET-2 = ET-3
Peptide agonists			Sarafotoxin S6C BQ3020 IRL1620
Peptide antagonists	BQ123 FR139317 Tak-044		BQ788
Clinically approved antagonists			
Selective	Sitaxentan Ambrisentan		
Mixed		Bosentan Macitentan	

Tabel 4. Penggunaan antagonis dan agonis reseptor ET-A dan ET-B (Maguire, 2015)

Jalur intraseluler yang terjadi setelah aktivasi reseptor ET-A dan ET-B yang diinduksi ET 1 melibatkan protein Gq, Gs dan Gi kecil yang mengarah ke stimulasi fosfolipase C (PLC). Produksi berturut-turut inositol triphosphate (IP3) dan *diacylglycerol* (DAG) meningkatkan konsentrasi kalsium intraseluler (Ca²⁺). Ca²⁺ direkrut dari retikulum dengan mengaktifkan reseptor inositol trifosfat (IP3) dan Ca²⁺ eksternal dalam dengan membuka saluran Ca²⁺ pada membran seluler (Zellweger, 2012).



Gambar 12: Peranan ET-1 pada tipe reseptor yang berbeda pada otot polos pembuluh darah.

Reseptor ET-A dan ET-B dapat memiliki efek sinergis atau berlawanan tergantung pada jenis sel, jenis jaringan atau situasi fisiologis. Reseptor ETA menunjukkan efek agonis yang tahan lama karena ET-1 terdisosiasi secara lambat dari reseptornya. Telah diusulkan bahwa antagonis reseptor ET-1 dan ETA mengikat ke lokasi yang berbeda dan oleh karena itu antagonis mencegah pengikatan ET-1 tetapi dapat mengurangi hanya sebagian aksi ET-1 yang sudah terikat. (De Mey et al., 2011).

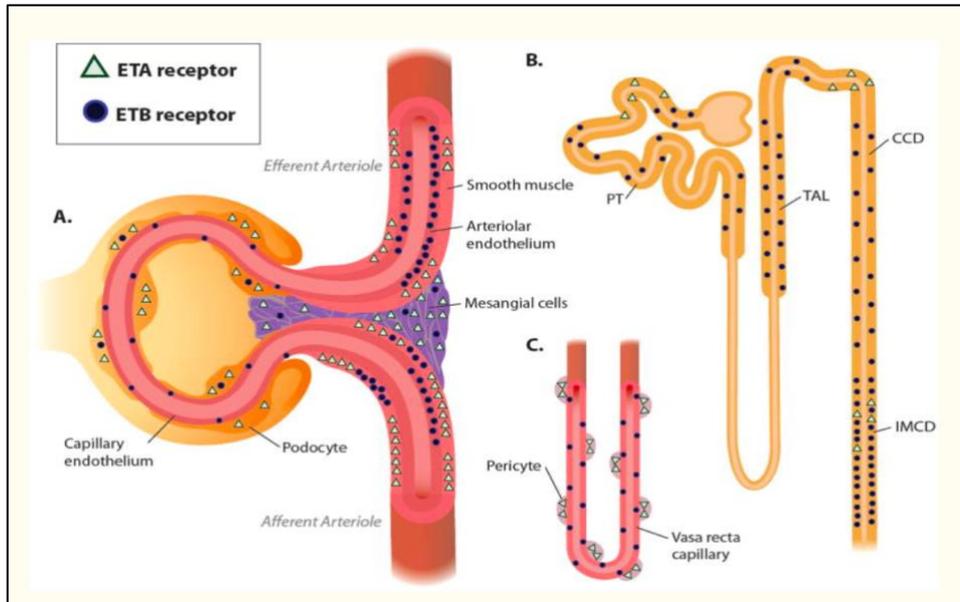
Setelah aktivasi, reseptor ET-B diinternalisasi dan ditargetkan ke lisosom (Bremnes et al., 2000). ET-B selektif reseptor, non-selektif dan pada tingkat yang jauh lebih kecil selektif antagonis reseptor ET-A selektif meningkatkan kadar serum ET-1. Bersama-sama data ini mengungkapkan peran utama reseptor ET-B untuk pembersihan ET-1 yang bersirkulasi, yang terjadi terutama di paru-paru dan ginjal (Johnstrom et al., 2005).

Kehadiran homo dan heterodimer dari reseptor endotelin ini diamati secara *in vitro* dan mungkin diperhitungkan untuk kompleksitas respon ET-1. Jenis dimer (ET-A / ET-A, ET-A / ET-B, atau ET-B / ET-B) dicirikan oleh kepadatan ikatan yang

berbeda. Selain itu, respons fungsional berbeda apakah homo atau heterodimer terbentuk. Pengikatan ET-1 ke homodimer menginduksi peningkatan sementara konsentrasi Ca^{2+} , sementara respons yang dimediasi oleh heterodimer berlangsung selama beberapa menit (Evans dan Walker, 2008). Pada arteri paru tikus menunjukkan koimunopresipitasi heterodimerisasi dari dua reseptor endotelin. Lebih lanjut, reseptor endotelin dapat membentuk dimer dengan reseptor lain. Hilangnya fungsi reseptor dopamin dalam tubulus ginjal tikus hipertensi disebabkan oleh gangguan pengikatan pada reseptor ET-B. Relevansi fungsional pengamatan ini dan khususnya bagaimana pengamatan farmakologis dapat dijelaskan oleh pembentukan dimer baru-baru ini dibahas di referensi lain. Akhirnya, sebuah molekul dapat mewakili target alternatif ET-1: reseptor ET-1 / angiotensin II ganda yang disebut DEAR (Watts, 2007)

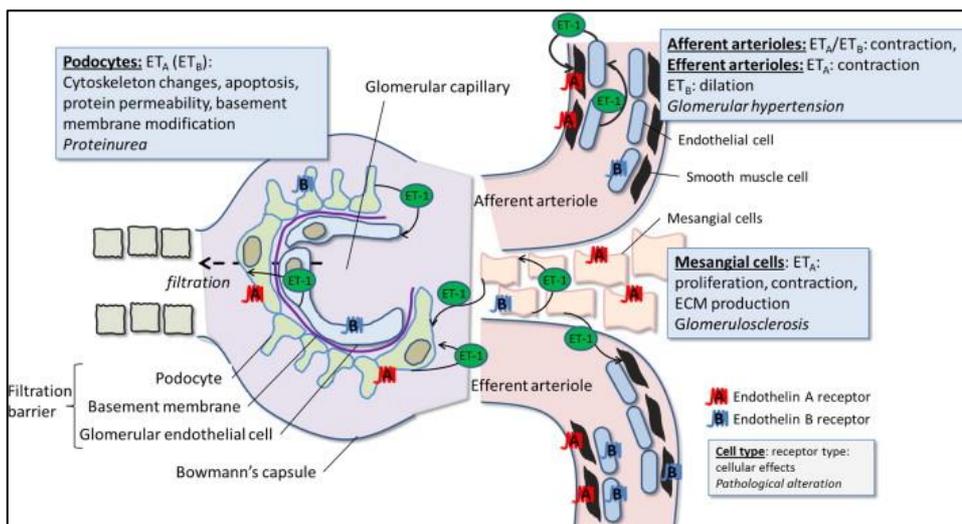
II.3.3 Endothelin, Endothelin Reseptor pada Ginjal

Reseptor ET-A ditemukan pada kedua sel otot polos ginjal sedangkan ekspresi reseptor ET-B terbatas di ginjal (Wendel et al., 2006). Studi autoradiografi ginjal manusia menunjukkan bahwa pengikatan endothelin adalah yang terbesar di medula ginjal, dengan tingkat pengikatan yang lebih rendah diamati di korteks. Rasio dari Reseptor ET-A ke ET-B serupa di korteks manusia dan medula, bervariasi dari 1: 2 hingga 20:80. Secara umum, reseptor ini distribusinya serupa di antara berbagai spesies mamalia. (Kuc, Maguire, & Davenport, 2006b).



Gambar 13. Lokasi ETA dan ETB pada berbagai struktur ginjal (Kohan, 2011)

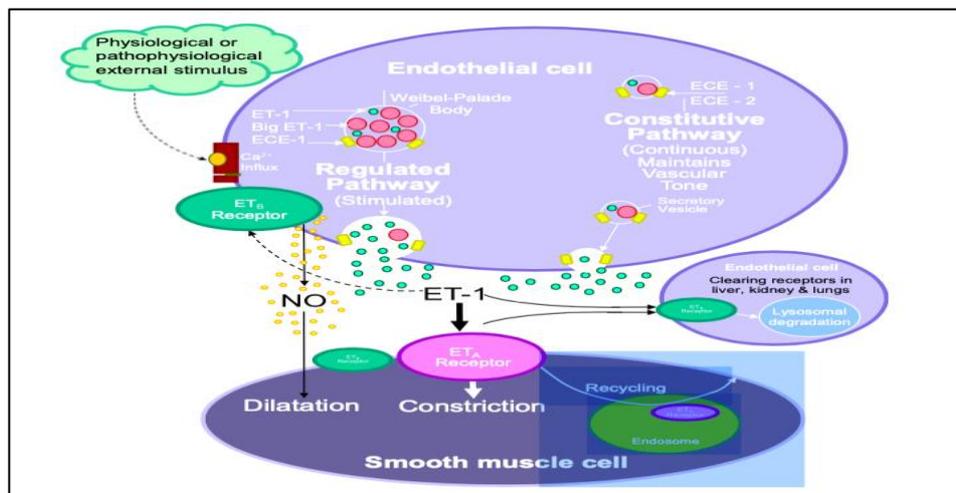
ETA merupakan reseptor endothelin pada ginjal yang berlokasi terutama di vaskuler glomerulus ginjal yaitu di *large conduit vessels*, arteri arkuata, vena kortikomedula, podosit, sel mesangial dan pembuluh darah kecil ginjal. Selain itu, ETA sebagian kecil terdapat pada vasa recta, tubulus proksimal, duktus kolektivus korteks dan medula. Ikatannya dengan ligan endothelin-1 (ET-1) akan menyebabkan remodeling vaskuler, proliferasi sel mesangial dan produksi matriks mesangial (Kohan,2011)



Gambar 14. Lokasi ETA dan ETB pada berbagai Glomerulus (Zellweger,2012)

Distribusi dan lokasi dari ETB di dalam ginjal dapat dilihat pada gambar 13 dan 14. ETB merupakan reseptor endothelin pada ginjal yang berlokasi terutama di endotel vaskuler glomerulus ginjal, sel mesangial, tubulus proksimal, vasa rekta dan duktus kolektivus baik di korteks maupun di medula. Penelitian tentang ekspresi ETB pada *thick tubule* lengkung Henle masih sangat jarang. Ikatannya dengan ligan endothelin-1 (ET-1) akan menyebabkan vasodilatasi, reabsorpsi air dan natrium pada tubulus ginjal, dan pada keadaan normal berfungsi untuk menurunkan konsentrasi ET-1 plasma (Kohan,2011)

Secara fisiologis, kadar ET-1 berkontribusi terhadap hemodinamik ginjal dan dengan demikian mengatur tekanan glomerulus Kontribusi ET-1 terutama pada arteri aferen atau eferen dan dengan demikian mengontrol laju filtrasi glomerulus (GFR) masih diperdebatkan. Sensitivitas ET-1 relatif lebih besar dalam arteriol aferen daripada di arteriol eferen dan dengan demikian ET-1 dapat mengurangi GFR (Edwards et al., 1990).



Gambar 15. Jalur Sinyal ET-1 pada Vaskuler Ginjal (Dhaun et al.,2006)

Oleh karena itu ET-1 menyebabkan vasokonstriksi arteriol aferen dan mengurangi GFR. Secara konsisten, infus ET-1 sedikit mengurangi GFR pada manusia juga. Infus ET-1 menyebabkan vasokonstriksi arteriol aferen dan eferen

tanpa memodifikasi GFR tetapi meningkatkan fraksi filtrasi, yang mungkin menunjukkan peningkatan tekanan glomerulus . Efek ET-1 pada resistensi pembuluh eferen mungkin lebih kuat karena diameternya yang lebih kecil. Selain itu, blokade reseptor ET-A spesifik meningkatkan aliran, mengurangi filtrasi plasma ginjal dan mungkin mengurangi tekanan glomerulus tetapi tidak mempengaruhi GFR pada pasien dengan penyakit ginjal kronis Penelitian menunjukkan bahwa reseptor ET-A dan ET-B pada arteriol aferen kortikal memiliki efek vasokonstriktor lebih besar sedangkan reseptor ET-B pada arteriol eferen bersifat vasodilator (Dhaun et al.,2006)

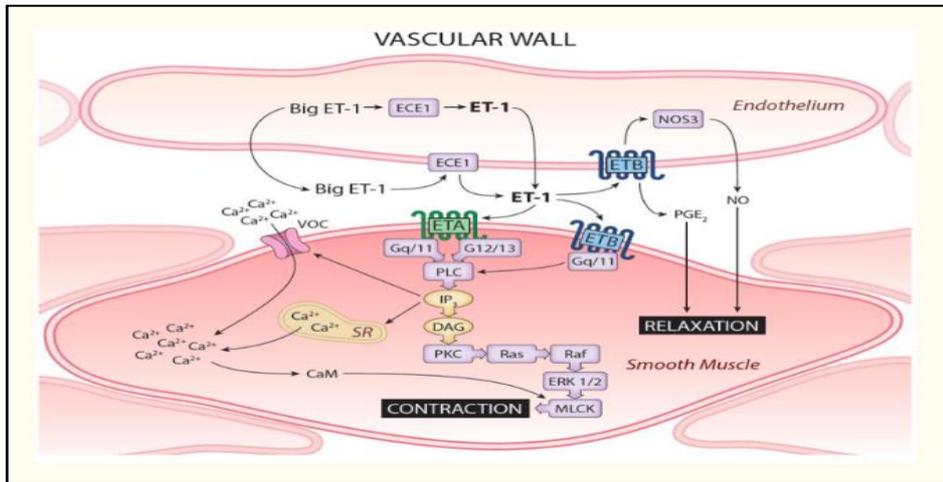
Renal Function	ET _A	ET _B
Vasculature	Cortical vasoconstriction Conduit vessel vasoconstriction Afferent arteriolar constriction Efferent arteriolar constriction	Medullary vasodilatation Conduit vessel vasodilatation Afferent arteriolar dilatation Efferent arteriolar dilatation
Glomerulus	Mesangial cell contraction Mesangial cell proliferation Podocyte injury	
Epithelium		Endothelial function not known
Inner medullary collecting duct	Extracellular matrix accumulation Interstitial fibrosis Possible natriuresis	Natriuresis

Tabel 5. Perbandingan efek ET-A dan ET-B pada berbagai struktur ginjal (Schneider et al., 2014)

Reseptor ET-B melawan efek reseptor ET-A dan berpartisipasi dalam vasodilatasi melalui aktivasi eNOS dan pelepasan prostaglandin. Namun, antagonis reseptor ET-B memiliki sedikit efek pada aliran darah ginjal dan GFR pada tikus dan manusia (Dhaun et al., 2006). Tidak seperti di nefron kortikal, reseptor ET-B pada arteriol aferen dan eferen dari nefron juxtamedullary memediasi hambatan dalam kondisi normal. . Dalam sistem in vitro yang sama, diet tinggi garam meningkatkan ekspresi reseptor ET-B dan reseptor ET-B menyebabkan vasodilatasi dalam arteriol aferen (Schneider et al., 2014).

Infus ET-1 pada ginjal yang menurunkan aliran darah kortikal ternyata tidak memiliki efek pada aliran darah ke medulla meskipun diameter arteriol juxtamedular

berkurang. Kecilnya pengaruh ET-1 pada resistensi pembuluh darah juxtamedular dibandingkan dengan arteri kortikal adalah karena diameternya yang besar. Lebih jauh lagi, arteriol mungkin secara marginal mempengaruhi aliran darah medular (Schneider et al., 2014)



Gambar 16. Aksi ETA dan ETB pada vaskular ginjal (Kohan,2011)

Vasa rekta adalah percabangan arteriol efferent yang memberikan aliran darah ke medulla. Regulasi vasa rekta mempunyai peran penting dalam aliran darah medulla, retensi air dan natrium. Pada vasa rekta, reseptor ET-B diekspresikan pada ginjal dan reseptor ET-A diekspresikan pada perisit. (Wendel et al., 2006). ET-1 adalah vasokonstriksi poten yang ditemukan pada vasa rekta melalui reseptor ET-A. Hal ini menyebabkan terjadinya depolarisasi pada perisit yang menghambat natrium. Dengan cara ini, ET-1 dapat mengurangi aliran darah medulla ginjal (Cao et al., 2005).

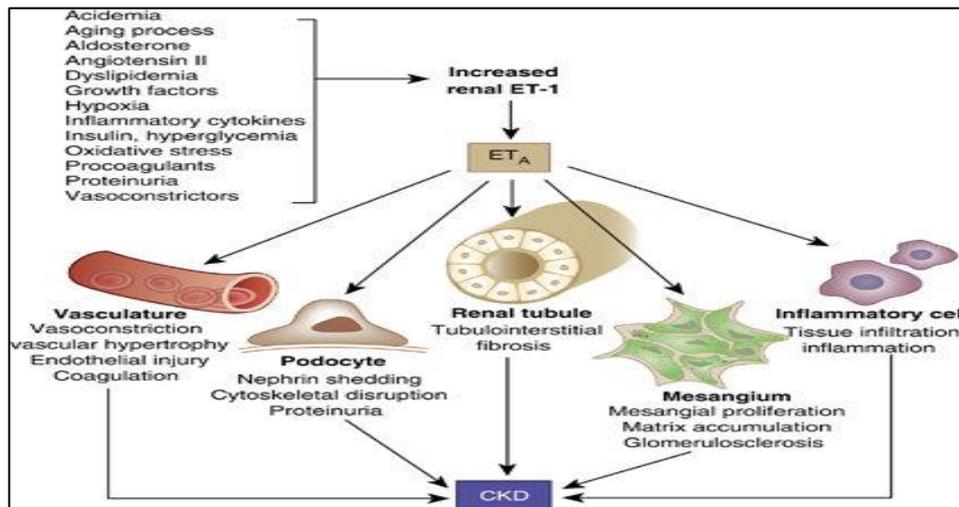
Sebagai kesimpulan, ET-1/ET-A berkontribusi dalam vasokonstriksi arteriol glomerulus dan mengurangi aliran darah kortikal ginjal. ET-1 memberikan peningkatan aliran darah ke medulla terutama melalui ikatannya dengan reseptor ET-B yang berpartisipasi dalam dilatasi vascular ginjal.

II.3.4 Hubungan Obesitas dan Endothelin pada Ginjal

Obesitas diyakini sebagai penyebab utama CKD, dengan perkiraan terbaru menunjukkan bahwa 24–33% dari semua penyakit ginjal di Amerika disebabkan oleh obesitas. Baru-baru ini, sebuah meta-analisis dilakukan untuk menyelidiki hubungan obesitas dengan lebih banyak penyakit ginjal, termasuk proteinuria (CKD tahap 1–2) dan perkiraan laju filtrasi glomerulus menurun (eGFR) <60 ml / mnt /1,73 m²], hal ini semakin mendukung konsep bahwa obesitas bersifat langsung penyebab CKD (Nehus, 2018).

Pada obesitas terjadi hiperfiltrasi ginjal sebagai kompensasi untuk memenuhi tuntutan metabolisme yang tinggi dari peningkatan berat badan. Peningkatan tekanan intraglomerular dapat merusak ginjal dan meningkatkan risiko pengembangan penyakit ginjal kronis penyakit dalam jangka panjang, sebagai predisposisi nefropati diabetik, hipertensi nefrosklerosis dan fokal segmental glomerulosklerosis. (Lakkis & Weir, 2018).

Jaringan adiposa bukan hanya bekerja sebagai tempat penyimpanan sel lemak tapi sebagai organ endokrin yang mensekresi beberapa molekul bioaktif yang dikenal sebagai adipokin seperti *leptin*, *adiponektin* dan *sitokin tumor necrosis factor- α* (TNF- α), *monocyte chemoattractant protein-1* (MCP-1) mentransformasikan faktor pertumbuhan- β (TGF- β) dan angiotensin-II yang menyebabkan serangkaian kelainan pada ginjal. (Hunley, Ma and Kon, 2011). Perubahan yang terjadi pada sel adiposa ini diduga kuat berkaitan dengan perubahan metabolik pada obesitas termasuk pada perubahan produksi Endothelin-1 (ET-1). (Eriksson et al., 2009).



Gambar 17. Efek ikatan ET-1 dan ETA pada berbagai struktur ginjal (Böhm dan Pernow 2007)

Obesitas menyebabkan disregulasi pembuluh darah dan mulai di medula ginjal dibandingkan dengan pembuluh ventrikel. Peningkatan ekspresi ET-A / ET-B adalah penanda untuk mengurangi aliran darah dan dapat membahayakan jaringan ginjal. Meskipun temuan ini harus ditafsirkan dengan cermat tetapi penelitian ini mengungkapkan bahwa disregulasi pembuluh ginjal pada obesitas bisa menjadi tanda awal dari penyakit yang berkembang. (Barton et al., 2000)

Obesitas pada tikus dikaitkan dengan aktivasi spesifik komponen jaringan ginjal dan pembuluh darah pada tingkat aktivitas enzim dan reseptor, masing-masing. Blokade reseptor ET-A tidak berpengaruh pada obesitas tetapi sepenuhnya mencegah peningkatan aktivitas ACE ginjal independen dari ekspresi mRNA dan menormalkan meningkatkan kontraktilitas pembuluh darah ke Ang II. Pengaturan Renin Angiotensin System (RAS) oleh ET dapat mewakili target baru untuk reseptor ET antagonis untuk memberikan perlindungan organ. (Barton et al., 2012)

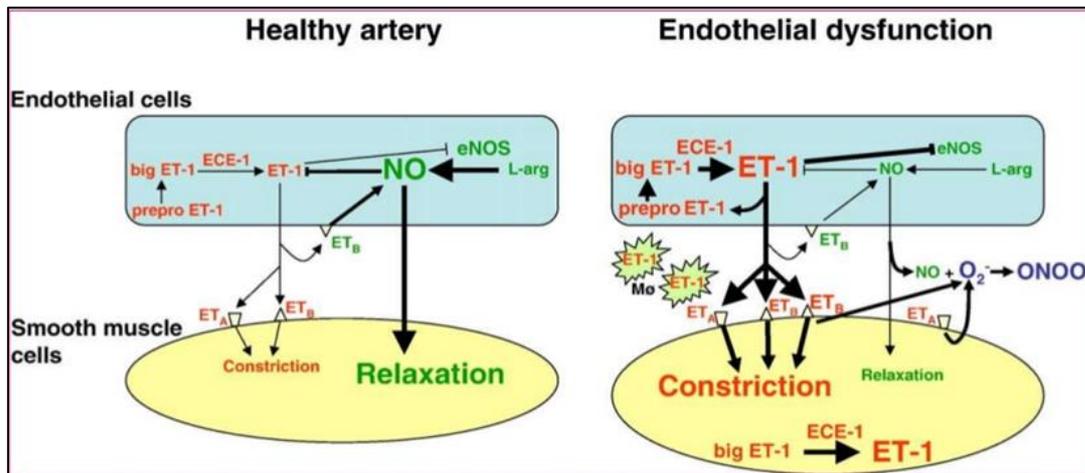
Fungsi parakrin menunjukkan ET-1 dan hormon anti-diuretik (ADH) memiliki berlawanan efek dalam kontrol regulasi garam dan air dalam nefron. ET-1 dapat meningkatkan aliran darah di medula ginjal, berkaitan dengan NO yang dihasilkan

oleh sel ekstraseluler. Sekresi ET-1 dari IMCD adalah peningkatan osmolaritas akibat kehilangan cairan interstitial. Efek utama sekresi ET-1 di medula ginjal melalui ET-B dari *vasa recta* untuk menghasilkan cukup NO untuk memblokir reabsorpsi natrium. Di lain pihak peningkatan aliran darah pada *vasa recta* disebabkan oleh peningkatan tekanan darah sistemik dapat menjadi signal primer untuk aktifitas eNOS kapiler. (Kotelevtsev & Webb, 2001)

Sebagian besar efek patologis dari ET-1, setidaknya dalam ginjal, dimediasi melalui reseptor ET-A. Pada podocytes, ET-1 menyebabkan perubahan sitoskeleton aktin, proses kaki pengurangan dan kehilangan protein seperti nephrin yang mempertahankan diafragma celah. Ini berkontribusi pada pengembangan proteinuria, penanda kuat perkembangan penyakit ginjal. ET-1 mengaktifkan sel mesangial untuk melepaskan proinflamasi dan sitokin profibrotik yang akhirnya merangsang proliferasi sel dan meningkatkan produksi protein matriks yang dapat menyebabkan sklerosis glomerulus. ET-1 juga bersifat kemoatraktan terhadap leukosit termasuk makrofag, yang menginfiltrasi glomerulus atau interstitium dan selanjutnya dapat berkontribusi pada peradangan ginjal. (Dhaun et al., 2012)

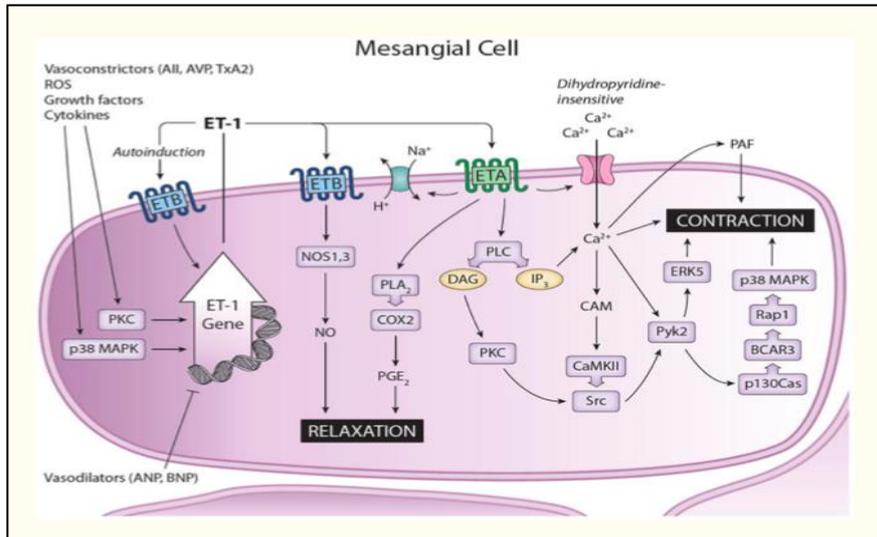
Data ini sejalan dengan penelitian sebelumnya bahwa sirkulasi ET-1 meningkat di ginjal dari kondisi obesitas. Fungsi lain dari ET-1 dan reseptornya ET-A / ET-B dalam ginjal adalah untuk menghambat reabsorpsi Na untuk mengatur tekanan darah

normal. Hiperlipidemia pada tikus obese dapat berbahaya bagi sel-sel endotelial terutama untuk ginjal melalui stimulasi ET-1 dan ET-A / ET-B. (Barton et al., 2000)



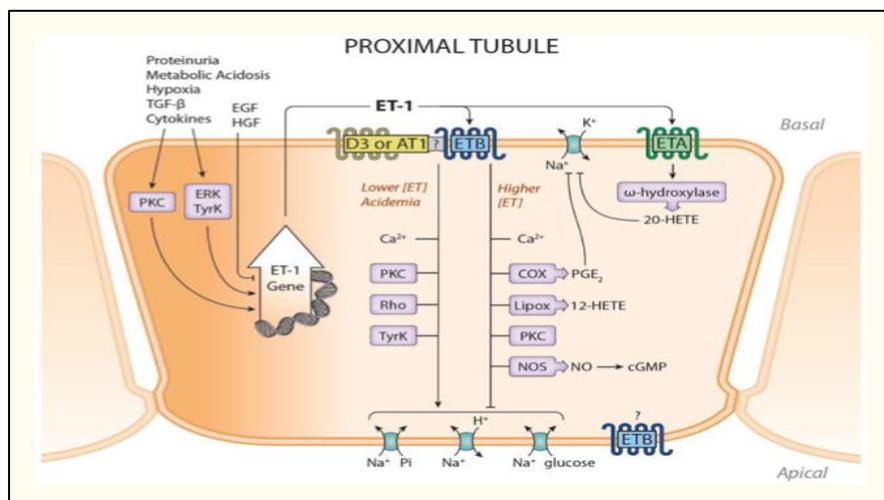
Gambar 18. Perbandingan antara Arteri Sehat dan Disfungsi Endotel (Böhm dan Pernow 2007)

Referensi lain menyebutkan gangguan ginjal ini juga diduga memiliki hubungan yang sangat kuat terhadap kontrol dari kerja ET-1 erat hubungannya sebagai agen vasokonstriktor. (Weil *et al.*, 2011; Idris, Arsyad, Wardihan Sinrang, & Alwi, 2018). Namun hal yang menarik adalah ternyata ekspresi reseptor endotelin A (ET-A) pada ginjal tikus *obese* lebih tinggi dibanding pada ventikel jantung seiring dengan peningkatan kadar endotelin sistemik. (Idris *et al.*, 2018), (Kuc, Maguire, & Davenport, 2006). Hal tersebut memberikan isyarat peran penting ET-A dan ET-B dalam mengatur fungsi ginjal.



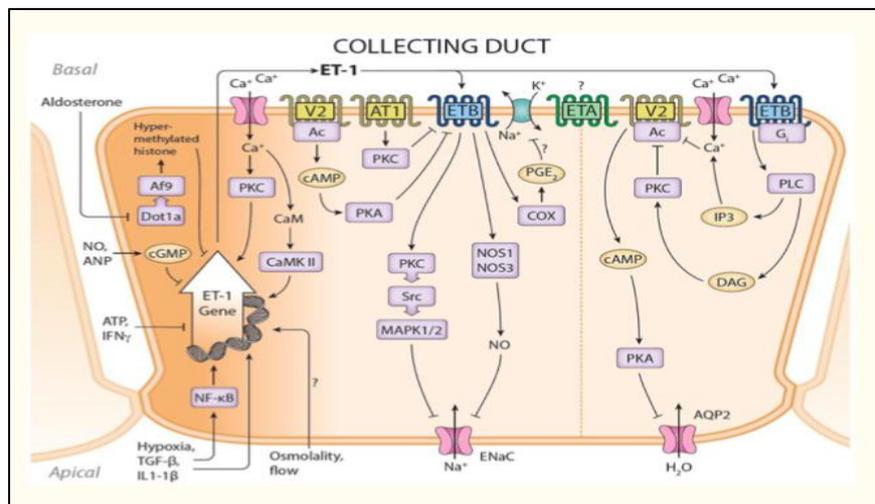
Gambar 19. Mekanisme kerja ETA dan ETB pada sel mesangial (Kohan, 2011)

Kohan (2011), yang menjelaskan lebih detail tentang keterlibatan ETA pada sel mesangial. Ikatan ET-1 dan ETA akan mengaktifkan Phospholipase C (PLC) dan meningkatkan produksi inositol triphosphate (IP₃), pertukaran Na/H dan jumlah kalsium. Peningkatan jumlah kalsium menyebabkan peningkatan Proline-rich tyrosine kinase-2 (Pyk2). Pyk menyebabkan aktivasi p38 MAPK pada sel mesangial dan memfosforilasi p130Cas yang akan meningkatkan interaksi dengan BCar3. Keduanya akan menyebabkan kontraksi sel, hipertrofi dan akumulasi matriks ekstraseluler. Pada sel mesangial, ETB akan mengaktifkan NOS 1 dan 3 yang akhirnya mengaktifkan NO. Efek akhir dari Nitrit Oxide adalah relaksasi.



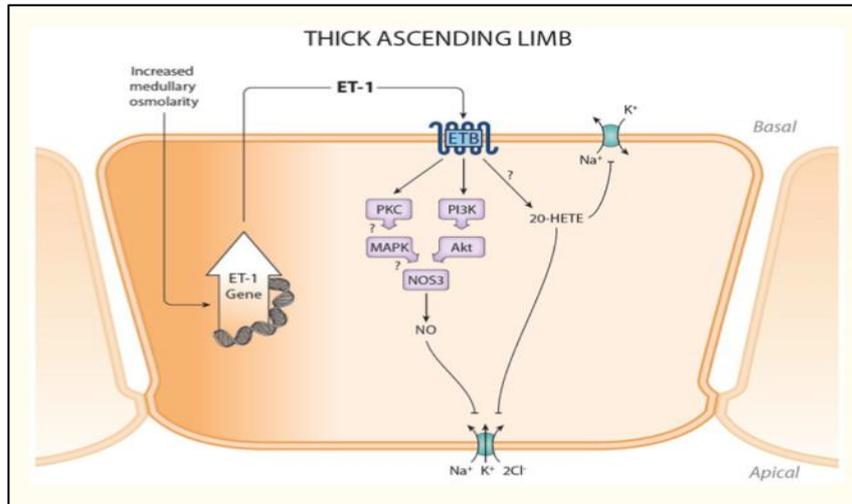
Gambar 20. Mekanisme kerja ETA dan ETB pada tubulus proksimal (Kohan, 2011)

Mekanisme kerja ETA dan ETB pada tubulus proksimal dapat dilihat pada gambar 19 di atas. Tubulus proksimal dan distral ginjal juga mengekspresikan ETA namun ekspresinya lemah dan belum banyak diteliti. Aktivasi ETA oleh ET-1, akan menghambat reabsorpsi Na. ETB pada tubulus proksimal berkaitan dengan konsentrasi ET-1 yang akhirnya mengatur absorpsi Na dan air.



Gambar 21. Mekanisme kerja ETA dan ETB pada ductus kolektivus (Kohan, 2011)

Mekanisme kerja ETA pada duktus kolektivus belum banyak didapatkan sementara ETB memediasi ET-1 untuk menghalangi transport air terutama melalui inhibisi AV-adenylyl cyclase (AC). Selain itu ETB mengaktifkan serangkaian protein *downregulation* berupa PKC, Src, NOS1, NOS 3 yang akhirnya mengaktifkan jalur NO dan MAPK yang akhirnya juga menghambat aktivitas ENaC yang melibatkan jalur NO dan MAPK.



Gambar 22. Mekanisme kerja ETA dan ETB pada *Thick tubule* Lengkung Henle (Kohan, 2011)

Sebagai tambahan, pada *thin tubule* lengkung henle tidak didapatkan ekspresi ETA. Secara normal ETB melalui ikatannya dengan ET-1 menyebabkan peningkatan NOS3 yang akan menstimulasi aktivitas NO. Aktivasi NO akan menghambat aktivitas pintu Na-K-CL. Dengan mekanisme yang tidak sepenuhnya diketahui, ETB menyebabkan peningkatan 20-HETE yang juga menghambat aktivitas Na/K ATPase.

II.4 Kerangka Teori

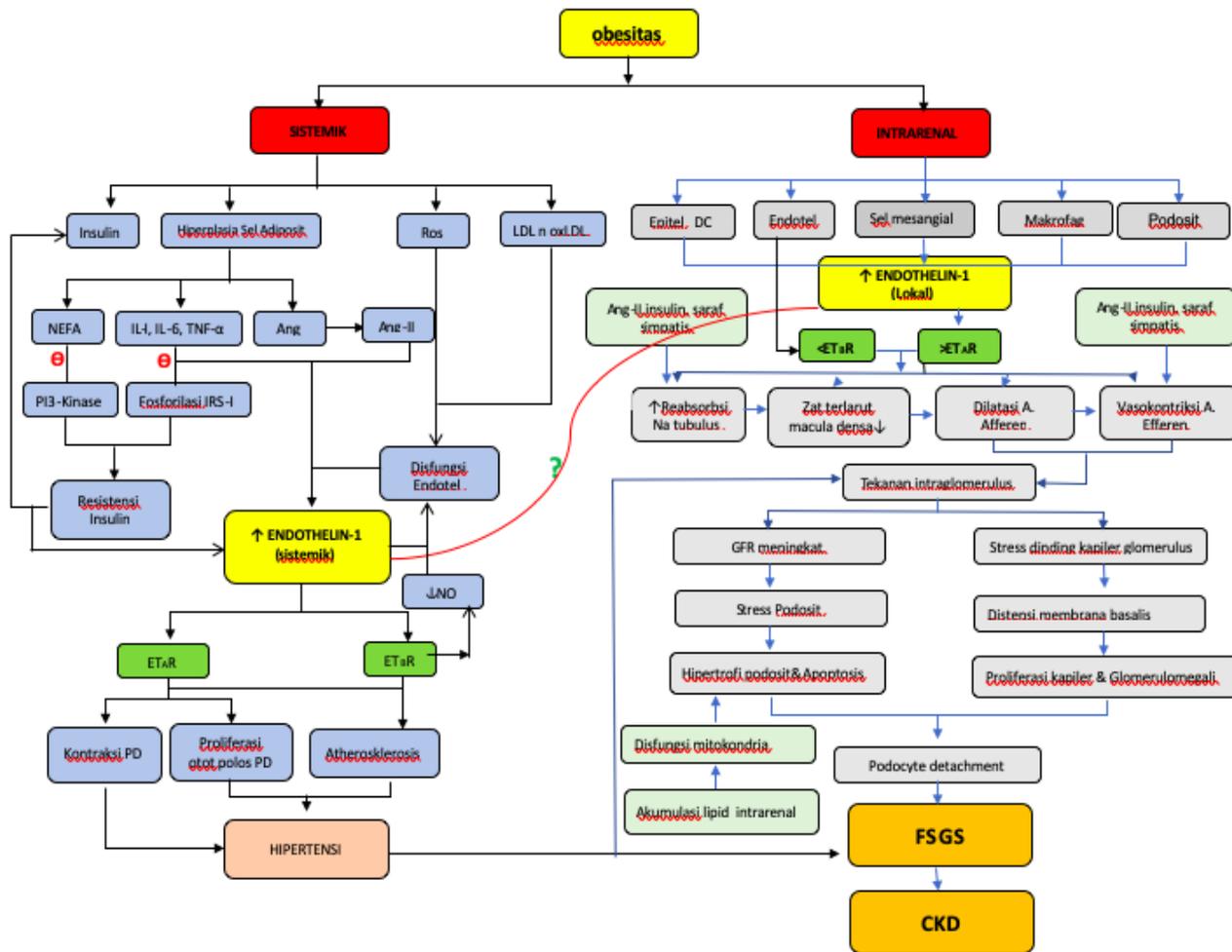
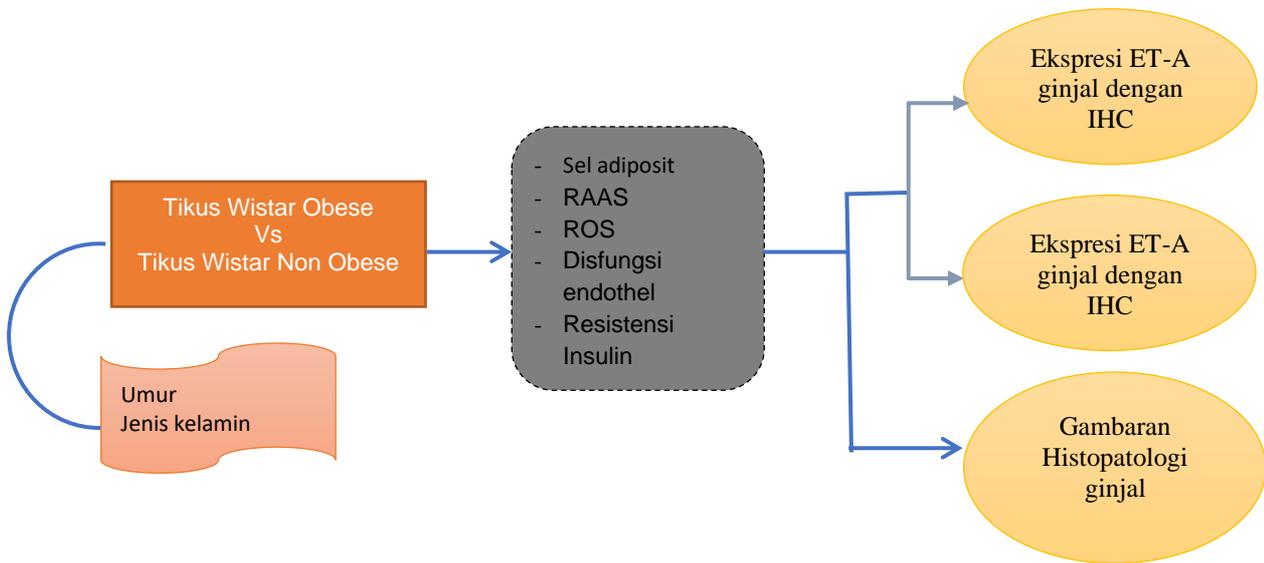


Diagram 1. Kerangka Teori

BAB III

KERANGKA KONSEP

III.1 Kerangka Konseptual



-  : Variabel bebas
-  : Variabel tergantung
-  : Variabel antara
-  : Variabel terkontrol

Diagram 2. Kerangka Konsep

III.2 Variabel Penelitian

Variabel-variabel dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Variabel Bebas : Tikus wistar Obes dan Non obes
2. Variabel Terikat : Ekspresi ET-A dan ekspresi ET-B, Gambaran Histopatologi Ginjal
3. Variabel Perantara : Disfungsi Endotel
4. Variabel Kontrol : Usia, Jenis Kelamin.

III.3 Defenisi Operasional

1. Obesitas yang dimaksud dalam penelitian ini adalah berat badan tikus wistar yang mencapai nilai indeks obesitas Rohrer $\geq 30 \text{ gr/cm}^3$ dilakukan maintenance perlakuan hingga berusia 180 hari
2. Tikus normal (non obes) yang dimaksud dalam penelitian ini adalah tikus wistar yang diberi pakan biasa dengan nilai indeks *Rohrer* $< 30 \text{ gr/cm}^3$
3. Ekspresi ET-A dan ET-B yang dimaksud dalam penelitian ini adalah ekspresi ET-A dan ET-B melalui pewarnaan immunohistokimia,
4. Perubahan Gambaran histopatologi yang dimaksud dalam penelitian ini adalah perubahan mikroskopis ginjal pada tikus obesitas melalui pewarnaan *Hematoxylin Eosin/ PAS/Masson Trichrome*
 - a. Perubahan Luas Glomerulus: didefinisikan sebagai ukuran dua dimensi, diukur sampai batas luar sel parietal glomerulus (membrana Bowman)
 - b. Rasio Kapiler Glomerulus/Luas Glomerulus didefinisikan sebagai perbandingan luas kapiler glomerulus yang diukur sampai batas sel visceral glomerulus terhadap luas glomerulus
 - c. Rasio Bowman space/ Luas Glomerulus didefinisikan perbandingan antara bowman space (luas glomerulus-kapiler glomerulus) terhadap luas glomerulus
 - d. Selularitas sel mesangial didefinisikan sebagai gambaran sel mesangial yang ada di glomerulus dan ekstraglomerular.
 - e. Infiltrasi sel-sel mononuklear didefinisikan dengan adanya sel-sel radang limfosit dengan inti bulat, sitoplasma sedikit

III.4 Kriteria Objektif

1. Indeks Rohrer diukur dengan menggunakan rumus= Berat badan (g)/ Panjang naso-anal³(cm) ³ x10³

Intensitas Pewarnaan	Index Rohrer
Obesitas (Kelompok <i>Obese</i> /Perlakuan)	≥ 30 gr/cm ³
Non Obesitas (Kelompok <i>Non Obese</i> /Kontrol)	<30 gr/cm ³

2. Cara menilai ekspresi ET-A dan ET-B adalah dengan melakukan penilaian gambaran histopatologi dengan pewarnaan imunohistokimia ETA dan ETB dinilai pada berbagai struktur di korteks dan medulla ginjal. Pada korteks, ekspresi keduanya dinilai pada struktur glomerulus, tubulus distal, tubulus proksimal, tubulus kolektivus dan sel mesangial, arteri, vena kortikomedula, vasa rekta. Pada medulla, ekspresi dinilai pada struktur tubulus distal, tubulus proksimal, duktus kolektivus, *thin dan thick tubule* Lengkung Henle, vasa rekta, dan sel interstitial. Ekspresi dinilai pada membran dan atau sitoplasma, berdasarkan skor intensitas pewarnaan ditentukan dengan nilai 0, +1, +2 dan +3. Intensitas pewarnaan dinilai dengan skala sebagai berikut:

Tabel 6. Interpretasi Skor Intensitas pewarnaan IHK ET-A dan ET-B (Dimitrijevic,2010)

Intensitas Pewarnaan	Skala
Tidak tampak area yang terwarnai	0
Pewarnaan lemah pada beberapa struktur	+1
Pewarnaan lemah pada semua struktur	+2
Pewarnaan kuat pada semua struktur	+3

Perhitungan ekspresi dilihat pada 10 lapangan pandang (LP) dengan *objective 10*. Setelah itu setiap skor dimasukkan dalam tabel dan diambil nilai yang paling sering muncul. Setelah didapatkan skor akhir dari 10 LP lalu setiap

skor untuk masing-masing sampel lalu kategori dipersempit menjadi dua kategori yaitu positif (untuk skor 2 dan 3) serta negatif (untuk skor 0 dan 1) (Wulfing,2020). Pengamatan dilakukan antara dua observer yang berarti bahwa nilai pembacaan untuk melihat gambaran imunohistokimia pada penelitian ini adalah baik. (Lehrke, Waldherr, Ritz, & Wagner, 2001)

3. Penilaian perubahan gambaran histopatologi dengan melihat:

- a. Luas Glomerulus, diukur dengan aplikasi ToupView, diukur sampai batas luar membran bowman, diukur pada 20 glomerulus untuk masing-masing sampel kemudian dirata-ratakan.
- b. Rasio Kapiler Glomerulus/Luas Glomerulus, diukur dengan aplikasi ToupView, diukur pada 20 glomerulus untuk masing-masing sampel kemudian dirata-ratakan
- c. Rasio Bowman space/ Luas Glomerulus, diukur dengan aplikasi ToupView, diukur pada 20 glomerulus untuk masing-masing sampel kemudian dirata-ratakan.
- d. Selularitas sel mesangial dinilai berdasarkan ada tidaknya peningkatan selularitas sel mesangial
 - Ada (skor 1): *vascular loop* mengecil, inti sel mesangial banyak
 - Tidak (skor 0) : *vascular loop* normal, inti sel mesangial minimal
- e. Infiltrasi sel-sel radang mononuklear (proporsi pada seluruh jaringan ginjal). (Lopez,2014)
 - $\leq 25\%$ (skor 0)
 - $> 26\%$ (skor 1) (Lopes,L et all, 2014)