

**ANALISIS *MATRIKS METALLOPROTEINASE-9* URIN PADA
NEFROPATI DIABETIK**

***ANALYSIS OF URINE MATRIX METALLOPROTEINASE-9
IN DIABETIC NEPHROPATHY***

SULEHA

P062211016



**KONSENTRASI KIMIA KLINIK
PROGRAM STUDI ILMU BIOMEDIK
PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

**ANALISIS *MATRIKS METALLOPROTEINASE-9* URIN PADA
NEFROPATI DIABETIK**

TESIS

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar Magister

Program Studi
Ilmu Biomedik

Disusun dan diajukan oleh

SULEHA

P062211016

Kepada

**KONSENTRASI KIMIA KLINIK
PROGRAM STUDI ILMU BIOMEDIK
PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

LEMBAR PENGESAHAN TESIS

**ANALISIS MATRIKS METALLOPROTEINASE-9 URIN
PADA NEFROPATI DIABETIK**

Disusun dan diajukan oleh

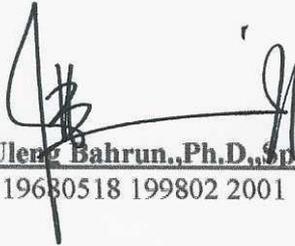
SULEHA

Nomor Pokok P062211016

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka
Penyelesaian Studi Program Magister Program Studi Ilmu Biomedik Sekolah
Pascasarjana Universitas Hasanuddin
Pada tanggal 4 Juli 2023
dan telah dinyatakan memenuhi syarat kelulusan

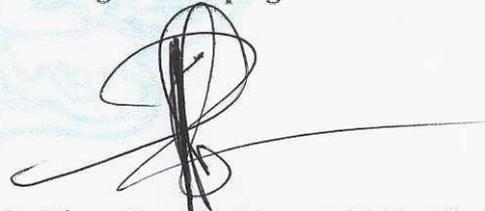
Menyetujui,

Pembimbing Utama



dr. Uleng Bahrin., Ph.D., Sp.PK(K)
Nip. 19680518 199802 2001

Pembimbing Pendamping



Dr. dr. Liong Boy Kurniawan., M.Kes., Sp.PK(K)
Nip. 19840714 201012 1 008

Ketua Program Studi Ilmu Biomedik



Dr. Rahmawati., Ph.D., Sp.PD-KHOM., FINASIM
Nip. 19680218 199903 2 002

Dekan Fakultas/Sekolah Pascasarjana



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

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA AKHIR

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : **SULEHA**
Nomor Pokok : P062211016
Program Studi : Ilmu Biomedik
Konsentrasi : Kimia Klinik

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

Makassar, 07 juli 2023

Yang Menyatakan,



Suleha

PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT, atas berkat, rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis yang berjudul “**ANALISIS MATRIKS METALLOPROTEINASE-9 URIN PADA NEFROPATI DIABETIK**” sebagai salah satu persyaratan memperoleh gelar Magister Biomedik .

Penulis menyadari bahwa tesis ini masih jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati, penulis mengharapkan koreksi dan saran dari semua pihak. Penulis juga menyadari bahwa tesis ini dapat diselesaikan berkat bantuan dan partisipasi berbagai pihak. Dalam kesempatan ini, penulis mengucapkan terima kasih yang tulus kepada **dr. Uleng Bahrun,Ph.D.,Sp.PK(K)** selaku Pembimbing Utama dan **Dr. dr. Liong Boy Kurniawan,M.Kes.,Sp.PK(K)**, selaku Pembimbing pendamping, bapak **Dr. dr. Burhanuddin Bahar.,MS**, bapak **Dr. dr. Hasyim Kasim,Sp.PD-KGH** serta ibu **Dr. dr. Siti Rafiah, M.Si** selaku tim penguji yang telah memberi kesediaan waktu, kritik dan saran yang membangun sejak masa penelitian, penyusunan hingga seminar penelitian, sehingga tesis ini menjadi lebih baik.

Pada kesempatan ini pula penulis menyampaikan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada :

1. **Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa,M.Sc** selaku Rektor Universitas Hasanuddin.
2. **Prof. dr. Budu,Ph.D.,Sp.M(K),M.Med.Ed** selaku Dekan Fakultas Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin.
3. **Dr. Rahmawati,Ph.D.,Sp.PD-KHOM.,FINASIM** selaku Ketua Program Studi Ilmu Biomedik, Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin.
4. **dr. Uleng Bahrun.,Ph.D.,Sp.PK(K)** yang merupakan pembimbing utama karya akhir ini, yang senantiasa memberi bimbingan, dukungan dan semangat kepada penulis terutama dalam penyusunan karya akhir ini.

5. **Dr. dr. Liong Boy Kurniawan, M.Kes., Sp.PK(K)** yang merupakan pembimbing pendamping karya akhir ini juga Ketua Konsentrasi Kimia Klinik Program Studi Ilmu Biomedik, yang senantiasa memberi bimbingan, dukungan, motivasi dan semangat kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan karya akhir ini.
6. Direktur RSPTN Universitas Hasanuddin Makassar yang telah memberi kesempatan dan mengizinkan penulis untuk melakukan penelitian di instansi yang beliau pimpin.
7. **Dr. dr. Yuyun Widaningsih, M.Kes., Sp.PK(K)** selaku Kepala Instalasi Laboratorium Patologi Klinik RSPTN UNHAS yang telah membantu menyediakan tempat pengambilan sampel penelitian.
8. Staf Laboratorium Penelitian RSPTN UNHAS yang telah membantu dan mengarahkan penulis selama melakukan penelitian.
9. Staf Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin Makassar, atas semua bantuan dan dukungannya selama masa pendidikan dan penyelesaian karya akhir ini.
10. Seluruh pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah memberikan dukungan yang sangat berarti kepada penulis.

Akhirnya, ucapan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada kedua orang tua tercinta, **Ayahanda A. Amiruddin Andi Mange** dan **Ibunda Hj. Hasni Pung Nengke** Yang tak henti memberikan doa yang tulus, kasih sayang dan dukungan selama masa pendidikan. Untuk saudaraku **Haeruddin, S.Ag** dan **Harmini, S.Pd** yang telah memberikan semangat dan dukungan kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan karya akhir ini. Untuk suami saya tercinta **Muhammad Hatta, S.S** dan anakda **Muhammad Haidar Aqiel, Abiyyu Rausan Fikri,** dan **Sely Eka Sabila** yang telah memberikan dukungan doa dan semangat. Terima kasih yang sebesar-besarnya juga penulis ucapkan kepada saudari A. Nurul Inaya, Rahayu, Ita, dan teman seperjuangan mahasiswa biomedik Angkatan 2021 tanpa terkecuali atas dukungan, bantuannya serta doa tulus sehingga penulis dapat menyelesaikan setiap tahap proses pendidikan ini dengan baik.

Akhir kata tak lupa penulis menyampaikan permohonan maaf dan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada semua pihak terutama kepada semua guru-guru kami dan teman-teman seangkatan selama penulis menjalani masa pendidikan. Penulis berharap karya akhir ini dapat memberi sumbangsi bagi perkembangan ilmu pengetahuan terutama di bidang ilmu biomedik di masa yang akan datang.

Semoga Allah SWT senantiasa meridhoi, melindungi dan memberkahi setiap langkah dan pengabdian kita.

Makassar, April 2023

Suleha

ABSTRAK

Suleha. *Analisis Matriks Metalloproteinase-9 Urin pada Nefropati Diabetik.*
(Dibimbing oleh **Ulung Bahrn** dan **Liong Boy Kurniawan**).

Matriks metalloproteinase-9 (MMP-9) adalah enzim protease yang berperan dalam destruksi jaringan, *remodeling* jaringan, serta inflamasi dan merupakan proteinase yang diteliti pada penyakit ginjal diabetes (PGD) manusia. Konsentrasi dan aktivitas protein meningkat dalam urin penderita diabetes mellitus tipe 2 (DMT2) dan paling sering terjadi pada pasien dengan albuminuria, serta berkorelasi pada cedera ginjal. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi kadar MMP-9 urin pada subjek nefropati diabetik dibandingkan dengan DMT2 tanpa nefropati serta sensitivitas dan spesifitasnya sebagai kandidat biomarker diagnostik nefropati diabetik. Jenis penelitian ini *observasional analitik* dengan pendekatan *cross sectional*. Sebanyak 52 sampel urin sewaktu dari subjek yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi, terdiri dari 26 sampel nefropati diabetik dan 26 sampel DMT2 tanpa nefropati. Kadar MMP-9 urin diperiksa menggunakan metode ELISA sedangkan albumin urin diperiksa menggunakan metode imunoturbidimetri dengan instrumen Cobas C311. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara MMP-9 urin pada pasien nefropati diabetik dibandingkan DMT2 tanpa nefropati (14,04 ng/mL vs. 3,07 ng/mL; $p < 0,001$). Hasil uji korelasi MMP-9 urin dengan albumin urin diperoleh $r = 0,53$ ($p < 0,001$) dan nilai AUC yang diperoleh dari metode ROC adalah sebesar 83,1% (95% IK 71,5% - 94,7%); $p < 0,001$ dari nilai *cut off* 3,96 ng/mL dengan nilai sensitifitas dan spesifitas 76,9% dalam mendiagnosis nefropati diabetik. Sebagai kesimpulan, kadar MMP-9 urin lebih tinggi pada subyek nefropati diabetik dibandingkan DMT2 tanpa nefropati. MMP-9 urin merupakan biomarker potensial untuk mendiagnosis nefropati pada DMT2.

Kata kunci: *Matrik Metalloproteinase-9, Nefropati Diabetik, Diabetes Melitus..*

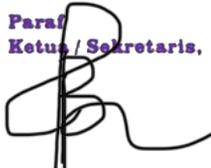
 GUGUS PENJAMINAN MUTU (GPM) SEKOLAH PASCASARJANA UNHAS	
Abstrak ini telah diperiksa.	Paraf Ketua / Sekretaris.
Tanggal : _____	

ABSTRACT

Suleha. *Analysis of Urine Matrix Metalloproteinase-9 in Diabetic Nephropathy.*
(Supervised by **Uleng Bahrun** and **Liong Boy Kurniawan**).

Matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) is a protease enzyme that plays a role in tissue destruction, tissue remodeling, and inflammation and is a proteinase studied in human diabetic kidney disease. Protein concentration and activity are increased in the urine of type 2 diabetes mellitus (T2DM) patients and are most common in patients with albuminuria, and correlate with kidney injury. This study aims to evaluate urinary MMP-9 levels in diabetic nephropathy subjects compared to T2DM without nephropathy and its sensitivity and specificity as a candidate biomarker for diabetic nephropathy diagnosis. This type of research is analytic observational with a cross-sectional approach. A total of 52 random urine samples from subjects who met the inclusion and exclusion criteria, consisted of 26 samples of diabetic nephropathy and 26 samples of T2DM without nephropathy. Urinary MMP-9 levels were examined using the ELISA method while urine albumin was examined using the immunoturbidimetric method with the Cobas C311 Instrument. The results showed that there was a significant difference between urinary MMP-9 in diabetic nephropathy patients compared to T2DM without nephropathy (14.04 ng/mL vs. 3.07 ng/mL; $p < 0.001$). Correlation test of urine MMP-9 with urine albumin obtained $r = 0.53$ ($p < 0.001$) and the AUC value obtained from the ROC method was 83.1% (95% CI 71.5% - 94.7%); $p < 0.001$ from the cutoff value of 3.96 ng/mL with a sensitivity and specificity value of 76.9% in diagnosing diabetic nephropathy. In conclusion, urinary MMP-9 levels were higher in diabetic nephropathy subjects than in T2DM without nephropathy. Urinary MMP-9 is a potential biomarker for diagnosing nephropathy in T2DM.

Keywords: *Matriks Metalloproteinase-9, Diabetic Nephropathy, Diabetes Mellitus*

 GUGUS PENJAMINAN MUTU (GPM) SEKOLAH PASCASARJANA UNHAS	
Abstrak ini telah diperiksa.	Paraf Ketua / Sekretaris.
Tanggal : _____	

DAFTAR ISI

SAMPUL.....	i
LEMBAR PENGESAHAN	iii
HALAMAN JUDUL.....	iv
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA AKHIR	v
PRAKATA.....	vi
ABSTRAK.....	ix
ABSTRACK	x
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR SINGKATAN.....	xvi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah	5
C. Tujuan penelitian.....	5
D. Manfaat Penelitian	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	7
A. Defenisi Diabetes Melitus Tipe 2.....	7
1. Patogenesis Diabetes Melitus Tipe 2.....	8
2. Nefropati Diabetik	12
3. Patogenesis Nefropati Diabetik	17
4. Faktor Risiko Nefropati Diabetik	22
5. Diagnosis Nefropati Diabetik	23
6. Penatalaksanaan Nefropati Diabetik.....	29
7. Komplikasi Nefropati Diabetik.....	30
B. Matrik Metaloproteinase-9.....	31
1. Struktur Matrik Metaloproteinase-9.....	37
2. Fungsi Matrik Metaloproteinase-9.....	39
3. Aktivitas dan Regulasi Matrik Metaloproteinase-9	39
C. Hubungan MMP-9 dengan Diabetes Melitus Tipe 2.....	41
D. Kerangka Teori	46
E. Kerangka Konsep	47
BAB III METODE PENELITIAN.....	48
A. Desain Penelitian	48
B. Tempat dan Waktu Penelitian	48
C. Populasi dan Sampel Penelitian	49
1. Populasi Penelitian	48
2. Sampel Penelitian.....	49

3. Besaran Sampel Penelitian	49
4. Kriteria Sampel	50
D. Izin Penelitian.....	51
E. Defenisi Operasional.....	51
F. Prosedur Kerja Penelitian	52
1. Persiapan Pasien	52
2. Persiapan Spesimen Urin	53
3. Persiapan Pemeriksaan (Instrumen dan Bahan)	56
4. Persiapan Reagen	59
5. Prosedur Pemeriksaan MMP-9	61
G. Analisa Data	63
H. Alur Kerja Penelitian	65
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	66
A. Hasil Penelitian	66
B. Pembahasan.....	71
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	75
A. Kesimpulan	75
B. Saran	75
DAFTAR PUSTAKA.....	76
LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Prosedur Persiapan Reagen.....	54
Tabel 2. Prosedur Pemeriksaan Albumin Urin	55
Tabel 3. Distribusi Subjek Penelitian Secara Umum.....	66
Tabel 4. Uji Normalitas	67
Tabel 5. Uji Perbandingan	68
Tabel 6. Uji Korelasi MMP-9 Urin dengan Albumin Urin	69
Tabel 7. Hasil Pengujian Variabel MMP-9 Urin.....	70

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1	Patogenesis Diabetes melitus	8
Gambar 2	The Ominous Octet	11
Gambar 3	Perbedaan Struktur Domain Dari Semua MMP.....	33
Gambar 4	Struktur Domain Dari Semua MMP	36
Gambar 5	Struktur dari MMP-9	38
Gambar 5	Kerangka Teori.....	46
Gambar 6	Kerangka Konsep.....	47
Gambar 7	Alur Penelitian	65
Gambar 8	Kurva ROC	69

DAFTAR SINGKATAN

Singkatan	Arti dan keterangan
ADA	<i>American Diabetes Association</i>
AGE ^s	<i>Advance Glycosilation End-Products</i>
DM	Diabetes Melitus
DMT1	Diabetes Melitus Tipe 2
DMT2	Diabetes Melitus Tipe 2
DPP-4	inhibitor Dipeptidyl Peptidase 4
ECM	<i>Matriks Ekstraselular / Extracellular Matrix</i>
eNOS	<i>Endothelial Nitric Oxide Synthetase</i>
FFA	Free Fatty Acid
GAGs	<i>Glycosaminoglycans</i>
GDP	Glukosa Darah Puasa
GDPT	Glukosa darah Puasa Terganggu
GDS	Glukosa Darah Sewaktu
GFR	<i>Glomerular Filtration Rate</i>
GGK	Gangguan Ginjal Kronik
GGT	Gangguan Ginjal Terminal
GIP	<i>Ginhibitory Inhibitory Polypeptide</i>
GLP1	<i>Glucagon Like Peptide 1</i>
HIV	<i>Human Immunodeficiency Virus</i>
HGP	hepatic glucose production
IDF	<i>International Diabetes Federation</i>
IMT	Indeks Massa Tubuh
ISK	Infeksi Saluran Kemih
NGL	<i>Neutrophil Gelatinase-associated Lipocalin</i>
NGSP	<i>National Glycohaemoglobin Standarization Program</i>
MMP	Matriks Metalloproteinase
MMP-9	Matriks Metalloproteinase-9
NGAL	<i>Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin</i>
PCOS	<i>Polycistic Ovary Syndrome</i>
PERKENI	Perhimpunan Endokrinologi Indonesia
PGD	Penyakit Ginjal Diabetes
PGK	Penyakit Ginjal Kronik
PGTA	Penyakit Ginjal Tahap Akhir
PJK	Penyakit Jantung Koroner
PK	Protein Kinase
PTM	Penyakit Tidak Menular
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>

SGLT-2	<i>Sodium Glucose co-Transporter</i>
TIMP	<i>Tissue Inhibitor Of Metalloproteinase</i>
TD	Tekanan Darah
TGF- β 1	<i>Transforming Growth Factor Beta 1</i>
TGT	Toleransi Glukosa Terganggu
TNF- α	<i>Tumor Necrosis Factor Alfa</i>
TTGO	Tes Toleransi Glukosa Oral
WHO	World Health Organization
VEGF	<i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Diabetes melitus adalah salah satu jenis Penyakit Tidak Menular (PTM) dengan angka kematian yang cukup tinggi yang menjadi permasalahan utama di berbagai negara di dunia, diperkirakan peningkatannya sekitar 8,5 % atau sekitar 422 juta penduduk dewasa di dunia menderita DM dengan angka kematian sekitar 2,2 juta yang akan terus terjadi peningkatan pada tahun 2035 sekitar 600 juta jiwa (WHO, 2018).

Menurut International Diabetes Federation (IDF), jumlah penderita DM akan meningkat dari 10,7 juta antara tahun 2013 dan 2017 menjadi 16,7 juta pada tahun 2045, sedangkan pada tahun 2021 akan ada sekitar 537 juta kasus DM usia 20-79 tahun (1 dari 10 orang) menderita DM secara keseluruhan di dunia. Indonesia menempati urutan kelima dengan 19,47 juta penderita DM dari jumlah penduduk sekitar 179,72 juta jiwa, dengan prevalensi DM sebesar 10,6%.

Diabetes terbagi menjadi DM tipe 1, DM tipe 2, DM gestasional dan beberapa tipe DM dengan penyebab yang berbeda. Diabetes tipe 2 biasanya terjadi pada usia sekitar 30 tahun ke atas dan merupakan mayoritas dari 90% kasus DM, dengan beberapa komplikasi lain seperti gangguan penglihatan (retinopati diabetik) dan penyakit ginjal (nefropati) (Soelistjo et al., 2019). ADA, 2020).

Angka kesakitan yang disebabkan oleh DM tipe 2 meningkat setiap tahunnya. World Health Organization (WHO) memperkirakan jumlah penderita DM Tipe 2 di Indonesia meningkat sekitar 2,40% setiap tahunnya, yang disebabkan oleh obesitas dan perubahan gaya hidup sehat individu terkait dengan resistensi insulin dan komplikasi berbagai penyakit seperti hipertensi, stroke, diabetes melitus, penyakit jantung koroner (PJK), gagal ginjal, katarak, glaukoma, impotensi dan gagal hati (Kemenkes, 2013).

Nefropati diabetik adalah disfungsi ginjal yang disebabkan oleh DM tipe 2, yang dapat mempengaruhi kemampuan ginjal untuk mengeluarkan cairan dan racun dari tubuh dan menyebabkan penyakit ginjal kronis (CKD). Gejala awal penyakit nefropati diabetik ditandai dengan perubahan pada membran dasar glomerulus dan perluasan mesangial. Penyakit ginjal kronis (CKD) adalah salah satu faktor risiko kejadian kardiovaskular (CV) dengan dan tanpa risiko, termasuk penyakit pembuluh darah perifer (PVD) (Provenzano M et al. 2020).

Matriks metalloproteinase (MMPs) adalah endopeptidase yang bergantung pada kalsium yang secara kolektif mendegradasi semua komponen kandungan matriks ekstraseluler (ECM) dan protein membran dasar yang berperan dalam regulasi remodeling dan pemeliharaan jaringan, termasuk jaringan ginjal, patofisiologi, dan yang mengatur kemokin. Peningkatan MMP-9 urin merupakan penanda untuk nefropati diabetik, penyakit ginjal (proteinuria non-diabetes) dan infeksi saluran kemih (ISK) (Pulido-Olmo et al., 2016).

Aktivitas MMP-9 urin pada nefropati diabetik meningkat sebelum albuminuria dan berkorelasi dengan penanda nefropati diabetik. Aktivitas MMP urin adalah biomarker yang sensitif, non-invasif, dan berguna secara klinis untuk memprediksi remodeling vaskular pada komplikasi ginjal dan vaskular diabetik (McKittrick I.B. et al., 2011).

Sebuah studi oleh Alan Uriel García-Tejeda et al., (2018) mempelajari MMP-9 urin pada pasien dengan gagal ginjal dan DMT2 di Meksiko, yang mengarah ke hipotesis bahwa ACE inhibitor dapat menghambat aktivitas MMP-9 (Garcia-Tejeda. A.U, 2018).

Sebuah studi oleh Kathryn M. Thrailkill, Cynthia S. Moreau, dan Gael E. Cockrell (2010) tentang disregulasi spesifik penyakit dan gender dari lipocalin terkait neutrofil-gelatinase (NGAL) dan MMP-9 pada diabetes tipe 1 melaporkan bahwa normal urin MMP- 9 nilai lebih tinggi pada wanita dibandingkan pada pria. Peningkatan sekresi MMP-9 urin mendukung peran disregulasi MMP-9 pada gagal ginjal, dan perbedaan jenis kelamin dapat menunjukkan mekanisme patologis atau kerentanan terhadap perkembangan komplikasi ginjal pada DM.

Peningkatan MMP-9 yang lebih besar juga diamati pada urin pasien DMT2 dengan makroalbuminuria (Tashiro et al., 2004).

Peningkatan kadar MMP-9 terjadi tidak hanya pada pasien dengan penyakit ginjal diabetik tetapi juga pada kerabat dekat mereka dibandingkan dengan kontrol yang sehat (Zaoui et al., 2000).

Berdasarkan beberapa hal di atas, peneliti tertarik untuk meneliti analisis MMP-9 urin pada nefropati diabetik.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut diatas maka dapat dirumuskan masalah yaitu bagaimana kadar matriks metalloproteinase 9 urin pada nefropati diabetik dan non nefropati diabetik ?

C. Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah di atas, maka tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Tujuan umum

Untuk mengetahui dan membandingkan bagaimana kadar MMP-9 urin pada subjek nefropati diabetik dan subjek nonnefropati diabetik.

2. Tujuan khusus

1) Untuk mengetahui kadar MMP-9 urin pada subjek nefropati diabetik.

2) Untuk mengetahui kadar MMP-9 urin pada subjek non nefropati diabetik.

3) Untuk membandingkan kadar MMP-9 urin pada subjek nefropati diabetik dan subjek non nefropati diabetik.

D. Manfaat Penelitian

1. Manfaat Bagi Ilmu Pengetahuan

1) Memberikan informasi/ilmu pengetahuan dan wawasan tentang kadar Matriks Metalloproteinase-9(MMP-9) urin pada nefropati diabetik.

2) Sebagai data untuk penelitian lebih lanjut dalam bidang biomedik khususnya dalam bidang kimia klinik.

2. Manfaat Aplikasi

Jika terbukti terdapat peningkatan kadar Matriks metalloproteinase-9 (MMP-9) urin pada nefropati diabetik maka hal ini akan dapat menjadi salah satu parameter untuk pemeriksaan nefropati diabetik yang praktis, mudah, ekonomis dan akurat.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Diabetes Melitus Tipe 2

Diabetes tipe 2 adalah jenis diabetes yang paling umum, diperkirakan mencapai sekitar 90-95% dari semua kasus diabetes (WHO, 2019). Ciri khas DM adalah gangguan resistensi insulin dan sekresi insulin. Adanya resistensi insulin, yang mengakibatkan pankreas tidak mampu mempertahankan keadaan normoglikemik. Sebagian besar gen yang terkait dengan DMT2 terkait dengan sekresi insulin dan tidak terkait dengan resistensi insulin (DeFronzo, R.A., 2015).

Diabetes tipe 2 merupakan hasil dari kombinasi resistensi insulin, yang bila kronis dapat mempengaruhi presentasi defisiensi insulin, mulai dari resistensi insulin dengan defisiensi insulin relatif hingga gangguan sekresi resistensi insulin (Ikatan Dokter Indonesia, 2015).

Diagnosis diabetes menurut WHO yaitu:

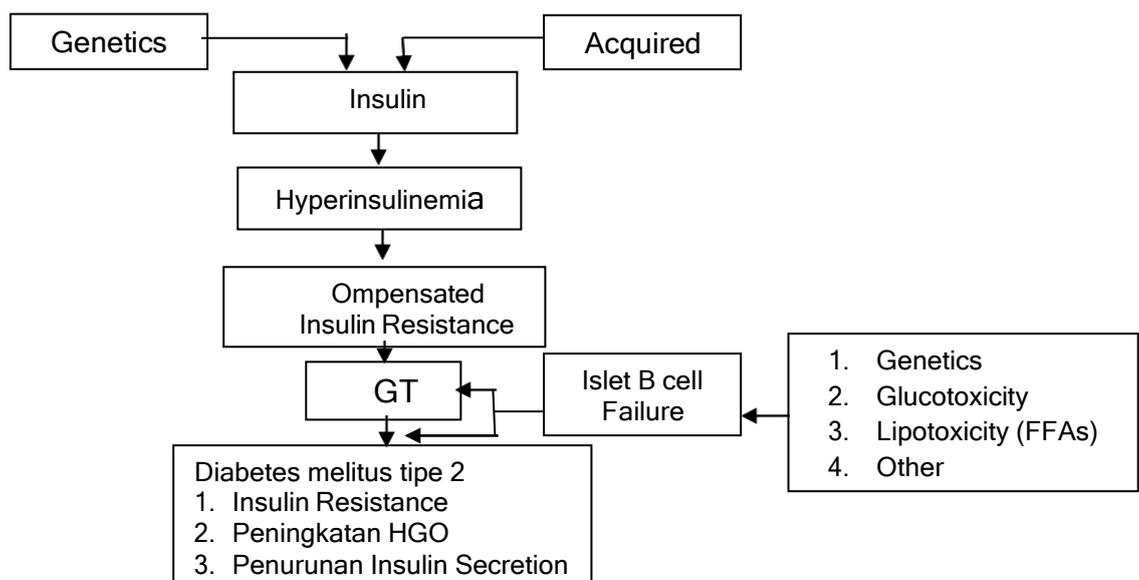
- a. Gejala klasik (poliuria, polidipsia, polipagia, dan kehilangan berat badan tanpa diketahui penyebabnya) diabetes ditandai dengan kadar glukosa darah sewaktu yaitu ≥ 200 mg/dL (11.1 mmol/L).
- b. Kadar glukosa darah puasa (*intake* kalori selama paling sedikit 8 jam) yaitu ≥ 126 mg/dL (7,0 mmol/L atau *whole blood* 6,0 mmol/L).
- c. Kadar glukosa darah 2 jam yaitu > 200 mg/dL (11,1 mmol/L) serta tes toleransi glukosa oral menggunakan beban glukosa sebanyak 75 gr.

- d. Kadar HbA1c yaitu $\geq 6.5\%$ dengan metode yang terstandarisasi oleh *National Glycohaemoglobin Standardization Program (NGSP)*.

1. Patogenesis Diabetes Melitus Tipe 2

Diabetes tipe 2 adalah penyakit heterogen dalam hal fenotipe, genotipe dan patogenesis. Diabetes tipe 2 sering terjadi akibat kombinasi faktor genetik dan didapat (turunan) yang mempengaruhi fungsi sel β dan sensitivitas jaringan terhadap insulin (Alberti, 2010).

Pasien dengan diabetes tipe 2 mulai dengan resistensi insulin. Resistensi insulin terutama diwariskan dan juga dapat disebabkan oleh faktor-faktor yang didapat seperti obesitas, gaya hidup yang kurang gerak, kurang olahraga dan usia, yang dapat memperburuk mekanisme genetik yang ada untuk mengurangi sensitivitas insulin. Untuk mengatasi resistensi insulin, sel β meningkatkan sekresi insulin dan menyebabkan hiperinsulinemia, yang dapat mempertahankan toleransi glukosa yang relatif normal (Gambar 1) (Hupfeld dan Olefsky, 2018)



Gambar 1. Patogenesis Diabetes Melitus Tipe 2 (Hupfeld and Olefsky, 2018)

Patogenesis DMT2 tergantung pada delapan hal berikut (oktet semuanya) (Soelistijo et al., 2015):

1) Disfungsi sel beta pankreas.

Fungsi sel beta berkurang secara signifikan ketika diagnosis DMT2 dikonfirmasi.

2) Hati/Liver.

Pasien dengan DMT2 memiliki resistensi insulin yang parah yang memicu glukoneogenesis, yang dalam kondisi yang mendasarinya dapat menyebabkan produksi glukosa hepatic (peningkatan produksi glukosa hepatic (HGP)).

1) Otot.

Sebagai akibat dari fosforilasi yang terganggu, terjadi gangguan fungsional dari beberapa insulin intraseluler, yang menyebabkan gangguan transportasi glukosa dalam sel otot, berkurangnya sintesis glikogen dan berkurangnya tingkat oksidasi glukosa Otot.

2) Sel lemak.

Adiposit tahan terhadap aksi lipolitik insulin dan meningkatkan proses lipolisis dan meningkatkan kadar asam lemak bebas plasma (FFA), yang merangsang glukoneogenesis dan menginduksi resistensi insulin di hati dan otot dan gangguan sekresi insulin yang dikenal sebagai lipotoksitas.

3) Usus

Pemberian glukosa secara oral pada subjek menyebabkan peningkatan respon insulin yang sangat besar dibandingkan dengan

pemberian secara intravena. Efek ini dikenal sebagai efek inkretin, yang disebabkan oleh dua hormon GLP-1 dan polipeptida insulinotropik (GIP) yang bergantung pada glukosa, dan juga dikenal sebagai polipeptida penghambat lambung. Defisiensi GLP-1 dan resistensi terhadap GIP terjadi pada DMT2

Enzim DPP-4 menurunkan inkretin dalam beberapa menit. Sistem pencernaan juga bekerja menyerap karbohidrat melalui enzim α -glukosidase, yang mengubah polisakarida menjadi monosakarida, yang kemudian diserap di usus, meningkatkan gula darah setelah makan.

4) Sel Alpha Pancreas

Organ yang terlibat dalam hiperglikemia. Sel- α berfungsi sebagai sintesis glukagon. Kadar plasma meningkat selama puasa. Tingkat plasma yang meningkat menyebabkan HGP awal terus meningkat secara signifikan dibandingkan dengan individu dengan tingkat normal.

5) Ginjal

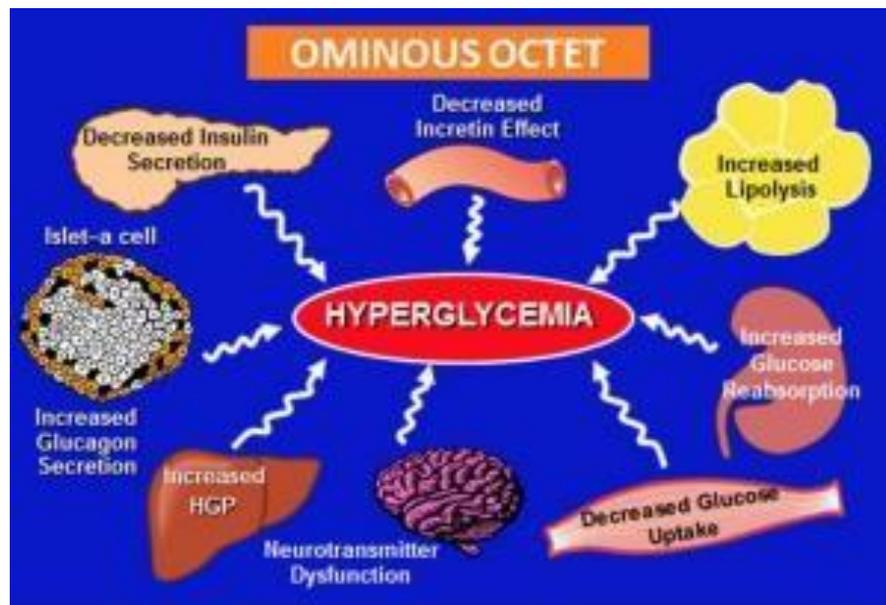
Organ yang berperan dalam pathogenesis DMT2. Ginjal menyaring sekitar 163 gram glukosa sehari. Sekitar 90% Glukosa yang tersaring akan diserap kembali melalui fungsi SGLT-2 (*Sodium Glucose co-Transporter*) pada bagian *convulated tubulus proksimal*. Sedangkan 10% kadar glukosa yang terdapat dalam urin akan habis di absorpsi melalui fungsi SGLT-1 pada *tubulus desenden* dan

asenden. Sehingga terjadi peningkatan ekspresi gen SGLT-2 pada penderita DM.

6) Otak

Orang gemuk tanpa DM mengalami hiperinsulinemia, yang merupakan hasil dari proses resistensi insulin. Pada tahap ini, jumlah makanan bertambah karena resistensi insulin di otak.

Sel otot, hati dan sel β , sel lemak, saluran cerna (defisiensi/resistensi inkretin), sel α (hiperglukagonemia), dimana ginjal meningkatkan glukosa dan otak meningkatkan resistensi insulin, kedua organ ini berperan dalam patogenesis hiperglikemia DMT2 dan dipanggil menjadi oktet di mana-mana (Gambar 2) (DeFronzo, 2009).



Gambar 2 The Ominous Octet (Cersosimo et al., 2015)

Penurunan pengambilan glukosa perifer yang disertai dengan peningkatan produksi glukosa endogen (hati) merupakan ciri resistensi insulin. Peningkatan lipolisis dan akumulasi metabolisme lipid menengah

meningkatkan produksi glukosa ketika penggunaan perifer berkurang. Sekresi insulin sel β kompensasi memuncak dengan cepat dan secara bertahap menurun. Sel α pankreas secara tidak tepat melepaskan glukagon pada periode postprandial. Gangguan insulin dan sekresi glukagon yang berlebihan pada DM2 dimediasi oleh gangguan inkretin, yaitu respon hormon inkretin gastrointestinal yang tidak adekuat terhadap makanan yang dikonsumsi. Resistensi insulin di hipotalamus (sistem saraf pusat) dan peningkatan rangsangan simpatis yang sering ditemukan pada penderita DM2 dapat mengganggu kemampuan sirkulasi insulin untuk menekan produksi glukosa. Peningkatan kemampuan untuk menyerap kembali glukosa di tubulus ginjal pada pasien DM berkontribusi pada perkembangan dan pemeliharaan hiperglikemia kronis (Cersosimo et al., 2015).

Temuan selanjutnya menunjukkan bahwa peradangan kronis tingkat rendah, di mana sistem kekebalan diaktifkan, terlibat dalam patogenesis resistensi insulin yang terkait dengan obesitas dan DM2. Target inflamasi obesitas adalah jaringan adiposa, hati, otot dan pankreas. Infiltrasi jaringan oleh makrofag dan sel imun lainnya dengan sitokin pro-inflamasi dikaitkan dengan resistensi insulin dan kerusakan sel β dan disfungsi endotel, serta perubahan permeabilitas kapiler yang memengaruhi aksi insulin perifer (Cersosimo et al., 2015).

2. Nefropati Diabetik

Diabetes mellitus adalah salah satu penyakit yang paling rumit dan menyebabkan penyakit ginjal kronis. Fungsi ginjal yang tidak normal

akibat DM lebih dikenal dengan penyakit ginjal diabetik (PGD) dan merupakan penyebab komplikasi mikrovaskular kronis pada kapiler ginjal pada pasien DM. Ketika komplikasi ini terkait erat dengan proteinuria, hipertensi dan gagal ginjal progresif, di mana protein diekskresikan dalam urin, menyebabkan penurunan fungsi ginjal. Proteinuria biasanya diamati dalam siklus penyakit ginjal progresif, proteinuria dan mikroalbuminuria berperan dalam diagnosis dan gejala awal nefropati diabetik. Penyebab utama perkembangan glomerulopati diabetik adalah tingkat keparahan dan inisiasi nefropati progresif. Insiden komplikasi meningkat pada beberapa pasien hingga gagal ginjal stadium akhir yang membutuhkan dialisis atau transplantasi ginjal. Ada beberapa faktor yang saling terkait yang berkontribusi terhadap perkembangan DM menjadi penyakit ginjal stadium akhir, antara lain genetik, pola makan, hipertensi, dan gula darah tinggi yang tidak terkontrol (Waspadji, 2007).

Penyakit ginjal diabetik adalah penyebab utama penyakit ginjal kronis (PGK), yang ditandai dengan pembesaran mesangial, glomerulosklerosis, atrofi tubular, dan fibrosis tubulo-intestinal. Mekanisme server seperti ketidakseimbangan renin-angiotensin, inflamasi, proteinuria dan hipertensi berhubungan dengan perkembangan penyakit ginjal diabetik (PGD) dari stadium awal hingga stadium lanjut (Vergara A et al., 2019).

Penyakit ginjal diabetik (nefropati diabetik) merupakan salah satu komplikasi mikrovaskular DM pada pasien DM. Penyakit ini disebabkan oleh rusaknya filter ginjal atau glomerulus. Albumin adalah protein utama

yang diekskresikan dalam urin, dan kerusakan pada glomerulus menyebabkan beberapa protein darah diekskresikan secara tidak normal dalam urin. Di sisi lain, dalam kondisi normal, sejumlah kecil albumin diekskresikan melalui urin. Peningkatan kadar albumin urin merupakan tanda awal kerusakan ginjal pada DM. Nefropati diabetik terbagi menjadi dua bagian yaitu mikroalbuminuria dan proteinuria (Foster and Unge., 1998., Waspadji., 1996., Sundoyo et al., 2006., dalam Sunaryanto., Andik., 2010).

Nefropati diabetik merupakan sindrom klinis pada pasien DM yang ditandai dengan albuminuria persisten (>300 mg/hari atau >200 μ g/menit), kadar albumin 2-3 dalam waktu 3-6 bulan, penurunan GFR (laju filtrasi glomerulus). Penurunan GFR (laju filtrasi glomerulus) dan hipertensi (Satiraps, 2010).

Perkembangan PGD bervariasi menurut tipe individu diabetes dan peningkatan albuminuria (30-300 mg/hari). Sekitar 80% dari kadar glukosa darah yang tidak terkontrol biasanya terjadi pada pasien dengan DMT1 dan sekitar 20-40% pada pasien dengan DMT2 dengan peningkatan mikroalbuminuria yang berkembang menjadi PGD dalam waktu 15 tahun. Beberapa faktor risiko PGD adalah hiperglikemia, hipertensi, obesitas, merokok, ras, laki-laki, dislipidemia, usia dan faktor genetik (Agarwal et al., 2011., Shestakova et al., 2006).

Insiden PGD lebih tinggi di antara orang Afrika, Amerika, Asia, dan penduduk asli Amerika daripada orang Kaukasia (Gross et al., 2005). Saudara kandung pasien dengan nefropati tiga kali lebih mungkin

mengembangkan penyakit yang sama dibandingkan saudara kandung penderita diabetes tanpa nefropati (Rohilla et al., 2011).

Tahap perkembangan PGD dibedakan menjadi lima fase umum, antara lain (Satirapoj, 2010):

- 1) Fase 1 disebut hiperfiltrasi, jika laju ekskresi albumin <30 mg/hari dan terjadi peningkatan LFG 20-50%.
- 2) Fase 2 disebut normoalbuminuria (*silent phase*), jika laju ekskresi albumin <30 mg/hari, durasi 2-5 tahun, dan LFG normal atau meningkat.
- 3) Fase 3 disebut mikroalbuminuria (*incipient*), jika laju ekskresi albumin persisten antara 30-300 mg/hari, durasi 5-15 tahun, HT tinggi, dan LFG normal.
- 4) Fase 4 disebut juga makroalbuminuria (*Overt nephropathy*), terjadi jika laju ekskresi albumin di atas 300 mg/hari, durasi 10-20 tahun, HT tinggi, dan LFG menurun 12-15 ml/menit/tahun.
- 5) Fase 5 disebut PGTA, jika durasi 20-30 tahun, HT tinggi, dan LFG <10-15 mL/menit.

Kadar albuminuria di atas normal berhubungan erat dengan peningkatan risiko penyakit kardiovaskular dan penyakit ginjal progresif. Saat PGD terjadi, penurunan kadar GFR dan akibat hipertensi terjadi pada pasien DMT1 dan DMT2. Penurunan fungsi ginjal setelah PGD bervariasi antara pasien DM dan dipengaruhi oleh faktor lain seperti tekanan darah dan kontrol glikemik (Dronavalli et al., 2008). Perkembangan yang lebih

cepat juga dapat terjadi dengan derajat albuminuria dan hipertensi yang lebih parah (Satiraps, 2010).

Pemantauan dan diagnosis PGD yaitu dengan mengukur kadar albumin pada sampel urine (pagi atau sewaktu), cara ini sangat nyaman, akurat, mudah dilakukan dan direkomendasikan oleh ADA. Hasil pengukuran kadar albumin dalam urin dinyatakan sebagai konsentrasi albumin dalam urin (mg/L). Skrining tidak boleh dilakukan pada kondisi yang dapat meningkatkan laju ekskresi albumin, seperti infeksi saluran kemih (ISK), hematuria, demam akut, olahraga berat, hiperglikemia transien, hipertensi yang tidak terkontrol, dan gagal jantung. Sampel harus disimpan pada suhu 2-8°C jika digunakan untuk jangka waktu tertentu. Pengukuran kualitatif proteinuria dan pengukuran kuantitatif kandungan protein sampel urin secara simultan dapat dilakukan dalam kondisi di mana pengukuran spesifik laju ekskresi albumin tidak tersedia (Gross et al., 2005).

3. Patogenesis Nefropati Diabetik

Proses perkembangan nefropati diabetik dihasilkan dari interaksi antara jalur metabolisme dan jalur hemodinamik. Hiperglikemia kronis merupakan faktor awal dan penyebab penting dari perubahan struktur dan fungsi ginjal, seperti hiperfiltrasi glomerulus, hipertrofi epitel glomerulus, tubulus dan mikroalbuminuria. Proses selanjutnya adalah penebalan glomerular basement membrane (MBG), deposisi matriks mesangial, proteinuria, glomerulosklerosis, CKD dan PGTA. Hiperglikemia kronis memicu kejadian intraseluler (poliol, heksosamin, pembentukan AGEs,

ROS, aktivasi PKC, TGF- β , perubahan ekspresi siklin kinase, protein MMP dan penghambatnya) (Kanwar et al., 2008).

Peningkatan metabolisme glukosa melalui jalur poliol menyebabkan tekanan osmotik akibat akumulasi sorbitol, penurunan Na⁺/K⁺-ATPase, peningkatan rasio NADH/NAD⁺, dan penurunan NADPH. NADPH yang berkurang mencegah pembentukan glutathione tereduksi (GSH), antioksidan yang memfasilitasi timbulnya stres oksidatif (Kanwar et al., 2008).

Peningkatan aktivasi PKC menekan ekspresi mRNA eNOS sehingga produksi NO berkurang, aktivitas endotelin-1 dan permeabilitas sel endotel meningkat, dan ekspresi TGF- β diinduksi, menghasilkan peningkatan sintesis matriks ekstraseluler. Proses glikasi menghasilkan AGEs, mengganggu fungsi protein intraseluler, dan menghasilkan matriks ekstraseluler. Pengikatan reseptor AGE ke AGE pada sel glomerulus menyebabkan produksi ROS, peningkatan sintesis TGF- β dan matriks ekstraseluler (Browenlee, 2005).

Aktivasi PKC yang meningkat menyebabkan terjadinya penekanan ekspresi mRNA eNOS sehingga produksi NO berkurang, meningkatnya aktivitas endotelin-1 dan permeabilitas sel endotel sera menginduksi ekspresi TGF- β sehingga terjadi peningkatan sintesa matriks ekstraseluler. Proses glikasi menghasilkan AGE, mengganggu fungsi protein intraseluler dan menghasilkan matriks ekstraseluler. Ikatan AGE dengan reseptor AGE di sel-sel glomerulus menyebabkan terbentuknya

ROS, peningkatan sintesis TGF- β dan matriks ekstraseluler (Brownlee, 2005).

Proses glikasi dalam matriks mesangial mengurangi jumlah MMP yang disekresikan oleh sel mesangial dan kemampuan untuk mendegradasi matriks ekstraseluler (McLennan et al., 2002). Stres oksidatif pada DM terkait erat dengan sistem kerusakan terkait hiperglikemia yang memicu stres oksidatif, yang terkait dengan peningkatan pembentukan ROS dan penurunan aktivitas antioksidan. *Reactive oxygen species* (ROS) menekan aktivitas gliseraldehida-3-fosfat dan komponen jalur glikolitik proksimal, yang pada akhirnya meningkatkan proses jalur polioliol, pembentukan AGE, aktivasi PKC dan jalur heksamin (Brownlee, 2005).

Patogenesis kelainan ginjal pada DM dipengaruhi oleh faktor genetik, lingkungan, metabolik, dan hemodinamik yang mempengaruhi terjadinya proteinuria. Proses hiperfiltrasi-hiperfusi yang dihasilkan dari membran basal glomerulus adalah dasar untuk nefropati akibat gangguan jaringan ginjal asli. Histohistologi pada nefropati diabetik menunjukkan penebalan membran basal glomerulus, pembesaran mesangial glomerulus yang menyebabkan glomerulosklerosis, hyalinosis arteriolar eferen, dan fibrosis eferen dan tubulointerstitial. Ada beberapa faktor utama dan faktor lain yang menyebabkan nefropati. Glukotoksisitas terhadap membran basal dapat terjadi melalui 2 jalur yaitu (Sunaryanto, 2010):

1. Jalur metabolik (*metabolic pathway*)

Faktor ini dimulai dengan hiperglikemia, di mana glukosa bereaksi secara non-enzimatis dengan asam amino bebas untuk menghasilkan produk akhir glikosilasi lanjutan (AGEs). Peningkatan kadar AGE menyebabkan kerusakan glomerulus ginjal, percepatan jalur poliol, dan aktivasi protein kinase C. Pada jalur poliol, sorbitol meningkat di jaringan, mengakibatkan penurunan glukosa akibat aktivitas ginjal dan enzim aldosa reduktase. Penambahan sorbitol menyebabkan penurunan kandungan inositol sehingga mengganggu osmolaritas membran basal (Sunaryanto, 2010).

Enzim aldosa reduktase adalah enzim utama dari jalur poliol dan merupakan oksidoreduktase monomer sitosolik yang mengkatalisis reduksi senyawa karbon dan glukosa yang bergantung pada NADPH. Enzim aldosa reduktase mereduksi aldehida yang diproduksi oleh ROS menjadi alkohol inaktif dan mengubah glukosa menjadi sorbitol sebagai kofaktor dengan bantuan NADPH. Aktivitas reduktase aldosa cukup untuk mengurangi jumlah glutathione (GSH) dan meningkatkan stres oksidatif seluler. Sorbitol dehydrogenase berperan dalam oksidasi sorbitol menjadi fruktosa menggunakan NAD sebagai kofaktor (Brownlee, 2005).

Mekanisme produksi prekursor AGE intraseluler menyebabkan kerusakan pembuluh darah. Perubahan ikatan kovalen protein intraseluler pada prekursor dikarbonil-AGE dapat menyebabkan perubahan fungsi sel. Perubahan matriks protein ekstraseluler

menyebabkan interaksi abnormal dengan protein matriks dan integrin. Perubahan protein plasma akibat prekursor AGE membentuk rantai yang berikatan erat dengan reseptor AGE dan menginduksi perubahan ekspresi gen sel endotel, sel mesangial dan makrofag (Brownlee, 2005).

Produk akhir glikosilasi lanjut (AGE) adalah mediator dari berbagai aktivitas seluler seperti ekspresi molekul adhesi yang bertindak dalam tarikan sel mononuklear, terjadinya hipertrofi seluler, sintesis matriks ekstraseluler, dan penghambatan sintesis oksida nitrat. Angiotensin II (AT II) meningkatkan nefropati diabetik, mengakibatkan penyempitan arteriol eferen glomerulus, peningkatan tekanan kapiler glomerulus dan hipertensi, serta merangsang fibrosis, dan peradangan merupakan penyebab kelainan pada sistem renin-angiotensin. Hiperglikemia menyebabkan peningkatan DAG dan aktivasi lebih lanjut dari protein kinase C penting dalam isoform β . Berdasarkan perannya dalam sintase nitrat oksida endotel (eNOS), aktivasi PKC menginduksi beberapa efek patogen termasuk endotelin-1 (ET-1), faktor pertumbuhan endotel vaskular (VEGF), mengubah faktor pertumbuhan (TGF- β), dan aktivator plasminogen. Inhibitor-1 (PAI-1) dan aktivasi NF- κ B dan NADPH oksidase (Brownlee, 2005).

Berdasarkan mekanisme jalur heksamin dari enzim glutamin (fruktosa-6-fosfat amidotransferase), perantara glikolitik fruktosa-6-fosfat (Fru-6-P) diubah menjadi glukosamin-6-fosfat. Glikosilasi N-acetylglucosamine (GlcNAC) intraseluler menjadi serin dan teori

dikatalisis oleh enzim O-GlcNAc transferase (OGT). Peningkatan pengiriman GlcNAc ke residu serin dan treonin dari faktor transkripsi yang ada di situs fosforilasi seperti Sp1 menyebabkan peningkatan produksi faktor (PAI-1 dan TGF- β 1, AZA, azaserine, AS-GFAT dan antisense GFAT) (Brownlee, 2005).

2. Jalur Hemodinamik

Gangguan hemodinamik sistemik dan ginjal pada pasien DM diakibatkan oleh glukotoksisitas yang menyebabkan kelainan pada sel endotel pembuluh darah. Munculnya gangguan hemodinamik diawali dengan peningkatan hormon vasoaktif (angiotensin II). Angiotensin II bekerja dalam siklus nefropati diabetik. Angiotensin II juga berperan baik secara hemodinamik maupun non-hemodinamik. Peran ini termasuk menginduksi vasokonstriksi sistemik, meningkatkan resistensi kapiler arteri glomerulus, mempersempit zona filtrasi, memicu protein matriks ekstraseluler, dan memicu kemokin fibrogenik. Prognosis ini didasarkan pada tingginya kadar prorenin, faktor von Willebrand, dan aktivitas trombomodulin sebagai penanda disfungsi endotel kapiler dan mungkin mencerminkan mikroalbuminuria persisten pada pasien dengan DMT2, yang meningkatkan mortalitas kardiovaskular dibandingkan dengan gangguan ginjal terminal (GGT). Peran utama tekanan darah dalam patogenesis penyakit ginjal diabetik pada pasien DMT2 masih kontroversial. Penderita hipertensi dapat ditemukan pada stadium awal sebelum diagnosis DM. Beberapa berpendapat bahwa hipertensi tidak berhubungan langsung dengan

adanya nefropati, tetapi mempercepat perkembangan penyakit menjadi GGT pada pasien yang sudah menderita penyakit ginjal diabetik (Sunaryanto, 2010).

Beberapa perubahan awal pada jalur hemodinamik ini memediasi kebocoran albumin dari kapiler glomerulus dan produksi matriks sel mesangial yang berlebihan, seperti penebalan membran basal glomerulus dan kerusakan podosit. Selain itu, peningkatan tenaga mekanis akibat perubahan hemodinamik dapat merangsang pelepasan sitokin dan growth factor tertentu secara lokal. Faktor-faktor ini menyebabkan peningkatan TGF- β , yang memediasi proteinuria dengan meningkatkan permeabilitas vaskular. TGF- β dan meningkatkan akumulasi matriks ekstraseluler, yang berperan dalam proses nefropati diabetik (Sunaryanto, 2010).

4. Faktor Risiko Nefropati Diabetik

Penderita DMT2 biasanya memiliki gejala seperti rasa lapar yang berlebihan (polipagia), buang air kecil yang meningkat (poliuria), rasa haus yang berlebihan (polidipsia), cepat lelah dan kehilangan energi terus menerus tanpa sebab, kesemutan (parestesia), luka yang sulit sembuh, nyeri atau mati rasa pada kaki dan tangan, serta penglihatan kabur (PERKENI, 2021).

Faktor pemicu terjadinya peningkatan risiko penyakit nefropati diabetik antara lain:

- 1) Menderita DMT1 dan DMT2.
- 2) Tekanan darah tinggi yang tidak terkontrol.

- 3) Merokok.
- 4) Kadar kolesterol yang tinggi.
- 5) Riwayat keluarga diabetes.
- 6) Penyakit ginjal.
- 7) Menderita komplikasi lain dari diabetes (neuropati diabetik atau retinopati diabetik).

5. **Diagnosis Nefropati Diabetik**

Diagnosis DM didasarkan pada pemeriksaan kadar glukosa darah dengan pemeriksaan enzimatis glukosa dengan sampel plasma darah vena, sedangkan pemantauan hasil pengobatan dapat dilakukan dengan pemeriksaan glukosa darah kapiler dengan glukometer. Diagnosis DM tidak dapat ditegakkan berdasarkan adanya glukosuria (PERKENI, 2019).

Menurut PERKENI (2021), kriteria diagnosis DM yang sesuai dengan *American Diabetes Association (ADA) 2020* yaitu:

- 1) Kadar glukosa darah (plasma) puasa yaitu ≥ 126 mg/dL (7,0 mmol/L).
Puasa yaitu tidak mengkonsumsi minimal kalori selama 8 jam.
- 2) Kadar glukosa darah (plasma) 2 jam PP yaitu ≥ 200 mg/dL (11,1 mmol/L). Dimana 2 jam setelah pebebanan glukosa 75 gram (tes toleransi glukosa oral (TTGO)).
- 3) Pemeriksaan kadar HbA1c $\geq 6,5\%$ dengan berdasar pada metode yang terstandarisasi oleh *National Glycohaemoglobin Standardization Program (NGSP)*.
- 4) Kadar glukosa plasma sewaktu ≥ 200 mg/dL dengan keluhan klasik.

Toleransi glukosa terganggu (TGT) dan glukosa darah puasa terganggu (GDPT) merupakan hasil pemeriksaan glukosa darah yang tidak memenuhi kadar glukosa normal dan kriteria DM digolongkan sebagai prediabetes (Soelistjo et al., 2015).

- 1) Glukosa darah puasa terganggu (GDPT) merupakan kadar hasil pemeriksaan glukosa darah (plasma) puasa berkisar antara 100-125 mg/dL serta pemeriksaan TTGO glukosa darah (plasma) 2-jam <140 mg/dL.
- 2) Toleransi glukosa terganggu (TGT) merupakan kadar hasil pemeriksaan glukosa darah (plasma) 2 jam setelah TTGO berkisar antara 140-199 mg/dL dan glukosa darah (plasma) puasa <100 mg/dL.
- 3) Didapatkan GDPT dan TGT secara bersama.
- 4) Diagnosis prediabetes juga dapat ditegakkan berdasarkan kadar/nilai hasil pemeriksaan HbA1c yang berkisar antara 5,7-6,4%.

Diagnosis nefropati diabetik dimulai dengan temuan albuminuria pada pasien DMT2. Kadar protein dan albumin urin yang sangat rendah sulit dideteksi dengan urinalisis standar, tetapi bila kadarnya mencapai >30 mg/24 jam atau >20 mg/menit, juga dikenal sebagai mikroalbuminuria, ini dapat dianggap sebagai permulaan nefropati. Derajat albuminuria atau proteinuria juga dapat diukur dengan rasionya terhadap kreatinin urin yang disebut *albumin or creatinine ratio* (ACR), yang terdiri dari beberapa tahapan sebagai berikut (Sunaryanto, 2010).

a. Tahap I

Tahap ini akan terjadi peningkatan LFG sampai 40% di atas nilai normal yang disertai dengan pembesaran diameter ginjal dan albuminuria pada tahap ini belum pasti adanya serta tekanan darah biasanya normal. Tahap ini akan berlangsung 0-5 tahun sejak awal diagnosis DMT2 ditegakkan dan masih bersifat *reversible*. Kelainan fungsi serta struktur ginjal akan normal kembali dengan melakukan pengendalian kadar glukosa darah yang ketat.

b. Tahap II

Fase ini terjadi 5-10 tahun setelah pelaksanaan diagnosis DM dan berlanjutnya perubahan struktur ginjal. Peningkatan albuminuria hanya terjadi setelah aktivitas fisik, stres, dan metabolisme yang melemah. Kondisi ini bisa berlangsung lama dan hanya bersifat permanen sebagian. Perkembangan fase dikaitkan dengan penurunan kontrol metabolik, fase ini disebut fase diam.

c. Tahap III

Tahap ini juga dikenal sebagai tahap awal nefropati (early diabetic nephropathy), yang ditandai dengan mikroalbuminuria. Fase ini terjadi kira-kira 10-15 tahun setelah pengenalan diagnosis DM. Secara histopatologi, penebalan yang signifikan dari membran basal glomerulus diamati. GFR dan TD meningkat. Kondisi tersebut berlangsung selama tahunan dan pencegahan perkembangan lebih lanjut dengan mengontrol kadar glukosa dan tekanan darah.

d. Tahap IV

Tahap ini terjadi ketika nefropati diabetik secara klinis menunjukkan proteinuria positif selama pemeriksaan normal, tekanan darah meningkat, dan GFR turun di bawah normal. Fase ini diperkirakan terjadi kurang lebih 15-20 tahun setelah masuknya DM. Komplikasi DM dapat terjadi seperti retinopati, neuropati, kelainan profil lipid, dan penyakit pembuluh darah umum. Satu-satunya cara untuk memperlambat perkembangan gagal ginjal adalah mengatur gula darah, kadar lipid darah, dan tekanan darah.

e. Tahap V

Tahap ini disebut tahap gagal ginjal ketika GFR sangat rendah sehingga terdapat tanda-tanda sindrom uremik yang memerlukan tindakan khusus seperti terapi penggantian, cuci darah atau transplantasi ginjal. Banyak pasien dengan DM2 memiliki mikro dan makroalbuminuria karena DM bertahun-tahun ketika diagnosis DM2 dikonfirmasi. Setelah penurunan GFR, tingkat penurunan bervariasi secara individual. Sekitar 20% berkembang menjadi penyakit ginjal stadium akhir (ESRD) setelah jeda 20 tahun. Pada titik ini tidak ada lagi perbedaan antara DM1 dan DM2. Bertambahnya usia penderita DM memicu terjadinya penyakit kronis dan seringkali penderita DM2 menderita penyakit ginjal stadium akhir (ESRD). Harapan hidup semakin meningkat dan tidak mengarah pada gagal ginjal karena semakin berkembangnya terapi penyakit ginjal kronis (CKD) (Micahl and Thorp, 2005).

Nefropati diabetik biasanya ditemukan saat pasien DM menjalani evaluasi rutin. Skrining nefropati diabetik dapat dilakukan dalam waktu 5 tahun setelah diagnosis DM pada pasien DMT1, sedangkan skrining dilakukan segera setelah diagnosis DM pada pasien DMT2. Tes lanjutan untuk menentukan fungsi ginjal meliputi:

1. Tes BUN (blood urea nitrogen) atau ureum

Tes ini berfungsi untuk mengukur kadar urea nitrogen dalam darah. Urea nitrogen merupakan zat sisa metabolisme yang disaring oleh ginjal dan sekresikan oleh urin. Nilai BUN normal berdasarkan pada usia dan jenis kelamin individu (pria dewasa: 8-24 mg/dL, wanita dewasa: 6-21 mg/dL, dan anak usia 1-17 tahun : 7-20 mg/dL).

2. Tes Kreatinin

Tujuan dari tes ini yaitu untuk mengukur/mendeteksi kadar kreatinin dalam darah. Nilai normal kreatinin dalam darah (pria sekitar 0,9-1,3 mg/dL, wanita sekitar 0,6-1,1 mg/dL)

3. Tes LFG/GFR (laju filtrasi glomerulus/glomerular filtration rate)

Tes LFG ini merupakan pemeriksaan darah yang bertujuan untuk mengukur fungsi ginjal dengan mengukur laju filtrasi glomerulus. Semakin rendah nilai LFG, maka semakin buruk pula fungsi ginjal dalam memfiltrasi zat sisa (limbah). Nilai normal pada tes ini yaitu:

- a. Stadium 1 (LFG 90 ke atas): ginjal berfungsi dengan baik
- b. Stadium 2 (LFG 60-89): gangguan fungsi ginjal ringan
- c. Stadium 3 (LFG 30-59): gangguan fungsi ginjal tahap menengah
- d. Stadium 4 (LFG 15-29): gangguan fungsi ginjal yang berat

e. Stadium 5 (LFG 15 ke bawah): gagal ginjal

4. Tes Mikroalbuminuria Urin

Individu dapat dinyatakan menderita nefropati diabetik jika pada urin terdeteksi protein yang melebihi nilai normal yang disebut albumin.

Tes dilakukan dengan menggunakan spesimen urin sewaktu, urin pagi hari atau spesimen urin yang ditampung selama 24 jam. Nilai normalnya tes mikroalbuminuria antara lain:

- 1) Kadar <30 mg, menandakan kadar albumin dalam urin masih normal.
- 2) Kadar 30-300 mg (mikroalbuminuria), pertanda penyakit ginjal tahap awal.
- 3) Kadar 300 mg (makroalbuminuria), menandakan penyakit ginjal semakin parah.

6. Penatalaksanaan

Tujuan pengobatan DM adalah untuk meningkatkan kualitas hidup dan harapan hidup penderita DM serta mencegah terjadinya komplikasi vaskular. Pengobatan DM dapat melalui pilihan gaya hidup (diet yang tepat dan terapi olahraga) dan obat-obatan (pemberian obat hiperglikemik secara oral atau injeksi saja atau kombinasi). Dalam keadaan darurat, untuk kegagalan metabolisme yang parah, tindakan segera harus dilakukan dengan merujuk ke layanan kesehatan sekunder atau tersier, seperti ketoasidosis, stres berat, penurunan berat badan cepat yang signifikan dan ketonuria (PERKENI, 2019).

Tujuan penatalaksanaan DM secara umum adalah untuk meningkatkan kualitas hidup dan harapan hidup penderita DM (Soelistjo et al., 2015).

1. Tujuan jangka pendek yaitu untuk meringankan serta menghilangkan keluhan DM, meningkatkan kualitas hidup serta angka harapan hidup, dan mengurangi risiko komplikasi akut.
2. Tujuan jangka panjang yaitu untuk mencegah dan menghambat laju aspek penyulit mikroangiopati dan makroangiopati.
3. Tujuan akhir pengelolaan adalah penurunan morbiditas dan mortalitas DM. Penatalaksanaan diabetes mellitus secara khusus yaitu untuk edukasi, terapi nutrisi medis (TNM), latihan jasmani/fisik serta terapi farmakologi (pengobatan).

7. Komplikasi

Komplikasi biasanya lebih sering terjadi pada pasien DM karena keadaan hiperglikemik, yang dapat mengakibatkan peningkatan virulensi patogen, penurunan produksi interleukin, disfungsi kemotaktik dan aktivitas fagositik, gangguan fungsi neutrofil, glikosuria, dan dismotilitas gastrointestinal/saluran kemih. Infeksi yang sering menyertai pasien DM antara lain tuberkulosis (TB), infeksi saluran kemih (ISK), infeksi saluran pernapasan, infeksi saluran cerna, infeksi jaringan lunak dan kulit, infeksi rongga mulut, dan infeksi telinga (Soelistjo et al., 2015).

Penderita DM dengan kadar glukosa darah yang tidak terkontrol dapat menyebabkan berbagai komplikasi (PERKENI, 2021):

- a. Komplikasi akut antara lain krisis hiperglikemia (ketoasidosis diabetik, hiperosmolar non ketotik), dan krisis hipoglikemia.
- b. Komplikasi kronik seperti makroangiopati (pada pembuluh darah jantung seperti penyakit jantung koroner), penyakit arteri perifer (stroke iskemik atau stroke hemoragik), dan komplikasi mikroangiopati (retinopati diabetik, nefropati diabetik dan neuropati).
- c. Komplikasi gabungan antara lain kardiomiopati, rentan infeksi, kaki diabetik, dan disfungsi ereksi.

B. Matriks Metalloproteinase-9 (MMP-9)

Metalloproteinase (MMPs) adalah keluarga dari zinc-dependent enzim dengan kemampuan gabungan untuk mencerna semua ECM protein (kolagen fibrillar asli dan terdegradasi sebagian, kolagen membran basal, proteoglikan, elastin, bionektin). Gelatinase (MMP-2 dan MMP-9) adalah dua proteinase yang terutama bertanggung jawab untuk memecah tipe Kolagen IV dari BM, diproduksi oleh banyak jenis sel vaskular, seperti perisit, podosit, vascular sel otot polos, sel mesangial ginjal, fibroblas, macrofag. Matriks metalloproteinase disintesis oleh zimogen yang tidak aktif serta domain pro-peptida yang dihilangkan sebelum enzim aktif. Aktivasi MMP dapat diinduksi oleh plasminogen tipe urokinase (uPA) dan tipe jaringan (tPA) aktivator yang memecah plasminogen menjadi plasmin aktif. Hanya matriks metalloproteinase-9 yang mampu memacu peningkatan regulasi biologis protein yang sangat aktif seperti faktor pertumbuhan profibrotic TGF- β (Rutschow et al, 2006).

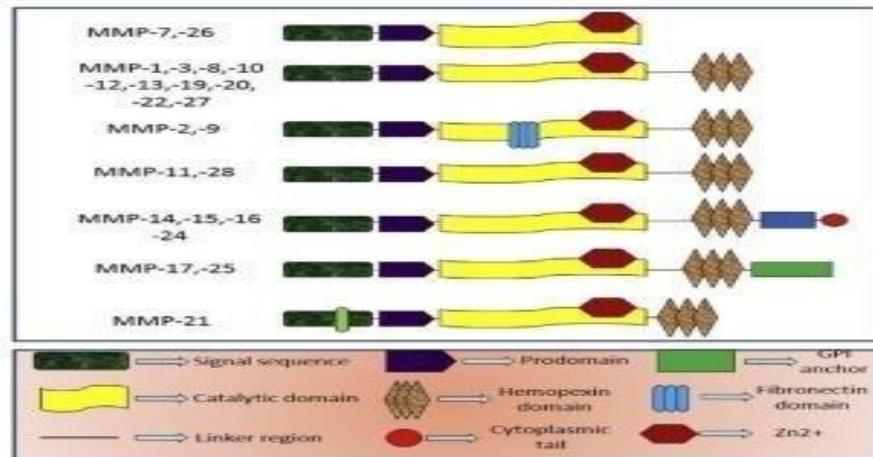
Titik kontrol utama dalam regulasi enzim aktif adalah penghambatan bentuk aktif oleh keluarga jaringan mereka dari penghambatan tor. TIMPs terdiri dari keluarga empat protease inhibitor (TIMP-1 hingga TIMP-4), yang diekspresikan dalam jaringan spesifik pola dan mengatur fungsi MMPs baik dengan menghambat MMPs aktif atau dengan mengendalikan proses aktivasi mereka. Secara keseluruhan, semua MMP dihambat oleh TIMP begitu mereka diaktifkan, dengan sebagian besar MMP dihambat oleh TIMP-1. Gelatinase (MMP-2 dan MMP-9) dapat membentuk kompleks dengan TIMPs ketika enzim dalam bentuk laten. Itu kompleks MMP-2 laten (pro-MMP-2) dengan servis TIMP-2 untuk memfasilitasi aktivasi pro-MMP-2 di permukaan sel oleh MT1-MMP (MMP-14), MMP berlabuh, membran berperan kompleks pro-MMP-9/TIMP-1 tidak diketahui. Ketidakseimbangan antara MMP dan TIMP memainkan peran penting dalam pemodelan ECM yang mendukung fibrosis jaringan. Contohnya: ketidakseimbangan antara MMP-2 dan TIMP-2, terutama disebabkan oleh peningkatan aktivitas TIMP-2, berkontribusi pada patogenesis nefropati diabetik (Han et al., 2006).

Penurunan ekspresi dan aktivitas protein MMP-9 yang ditemukan di miokardium tikus diabetes dengan DCM yang diinduksi STZ. Perubahan ini dikoreksi dengan pengobatan ARB (Westermann et al., 2007).

Matriks metalloproteinase (MMP) adalah endopeptidase yang bergantung pada seng dalam matriks ekstraseluler (ECM) yang

memainkan peran penting dalam remodeling jaringan dalam berbagai proses fisiologis dan patofisiologis. Matriks metalloproteinase adalah enzim yang diproduksi oleh banyak sel sebagai proenzim pada saat aktivasi, mampu mendegradasi ECM dan komponen membran basement dan membatasi perannya dalam remodeling dan pemeliharaan jaringan. Matriks metalloproteinase juga mengatur pelepasan dan aktivasi kemokin, sitokin, faktor pertumbuhan, peptida antibiotik, dan molekul bioaktif lainnya yang berperan dalam proses fisiologis seperti imunitas adaptif bawaan, peradangan, angiogenesis, remodeling tulang, dan pertumbuhan neutrofil. Sekitar 22 spesies matriks metalloproteinase dapat ditemukan pada manusia dan 25 spesies pada vertebrata, yang dibagi menjadi beberapa kelompok menurut deskripsi dan kekhususan zatnya, yaitu *collagenase*, *gelatinase*, *stromelylin*, *matrilysin* dan jenis membran (Xie, Y. et al., 2017).

Matriks metalloproteinase milik superfamili metzin, yang aktivitasnya bergantung pada ion logam seperti seng (Zn^{2+}) dan kalsium (Ca^{2+}). Semua MMP terdiri dari tiga domain utama, yaitu domain peptida sinyal terminal amino, domain propeptida, dan domain katalitik (Gambar 3 dan 4) (Mondal et al., 2020).



Gambar 3. Perbedaan struktur domain dari semua MMP (Mondal et al., 2020)

1. *Amino-terminal signal peptide domain*

Terdiri atas 17-29 asam amino yang bertanggung jawab untuk mengekspresikannya keluar sel. Hampir semua MMP ini terikat pada permukaan sel oleh domain transmembran.

2. *Pro-peptide domain (prodomain)*

Di bagian ini terdiri atas 77-87 asam amino yang bertanggung jawab atas aktivasi enzim. Sequensi asam amino dari prodomain semua MMP adalah PRCGXPD yang dikenal sebagai “*cysteine switch*” (kecuali MMP-23). Residu sistein mengandung grup *sulfhydryl* yang berfungsi untuk mengkatalitik ion Zink *divalent* untuk meregulasi dormansi enzim. Mekanisme „*cystein switch*” ini sangat penting. Akibat dari koordinasi zink-sistein ini, aktivitas matriks metalloproteinase ditekan dengan mencegah molekul air berikatan kepada ion zink yang sangat penting untuk katalisis. Prodomain memiliki 3 rantai alfa yang berikatan dengan putaran (*loop*) yang fleksibel (Mondal et al., 2020).

3. Area katalitik

Terdiri dari sekitar 170 asam amino yang bertanggung jawab atas aktivitas proteolitik enzim. Area ini memiliki sequensi yang sangat penting untuk proses proteolitik. Area katalitik berbentuk seperti bola dengan diameter sekitar 40 Å, serta mengandung 2 ion zink yang dibutuhkan untuk aktivitas katalitik dan integritas struktur dan Lima ion kalsium dibutuhkan untuk proses stabilitas dan integritas enzim.

4. Area Fibronectin merupakan area keempat dan seterusnya yang digambarkan dalam (gambar 4).

Area Fibronectin terdiri atas 3 pengulangan dari fibronectin tipe II yang dikelompokkan dalam *active site domain* dan area ikatan zink (area metalloproteinase). Fibronectin memiliki kemampuan untuk mengikat gelatin, laminin, kolagen tipe-I dan IV, akan tetapi hanya MMP-2 dan MMP-9 yang memiliki area fibronectin. Area ini merupakan modulator untuk mengenali kolagen pada MMP-2 dan MMP-9.

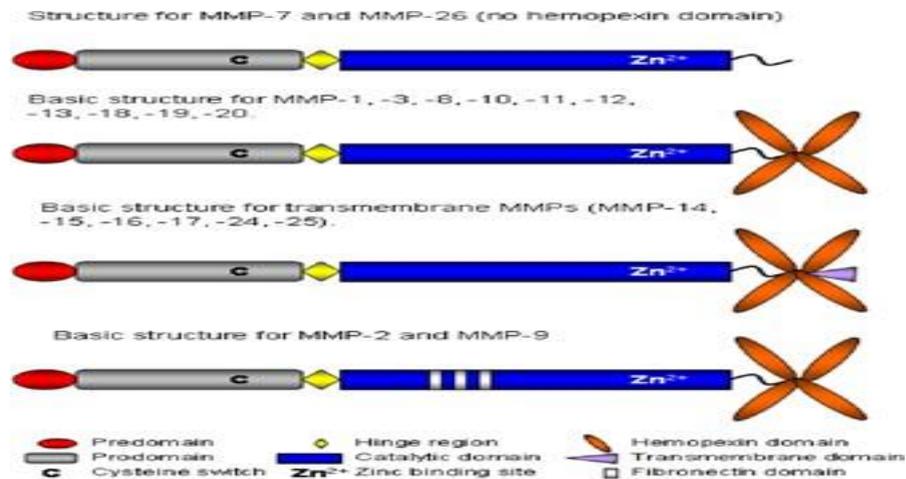
5. *Hinge region*

Bagian ini sangat penting untuk menjaga kestabilan enzim serta menjadi salah satu penghubung yang tersusun dari 75 rantai asam amino yang bertujuan menghubungkan domain katalitik dengan domain terminal-C.

6. *Hemopexin-like domain (C-terminal hemopexin domain)*

Area ini mengandung sekitar 210 residu asam amino yang dapat berinteraksi dengan substrat gelatin dan kolagen. Area ini berperan

penting untuk mengikat *tissue inhibitor of metalloproteinase* (TIMP) pada matriks metalloproteinase-9.



Gambar 4. Struktur domain dari semua MMP (Mondal et al., 2020)

Matriks metalloproteinase 9 (MMP-9) adalah endopeptidase yang terlibat dalam berbagai proses seluler, seperti perkembangan tumor dan penyebaran metastasis. MMP-9 yang tinggi secara signifikan berkorelasi dengan ukuran tumor yang besar dan derajat keganasan yang buruk (V. Offersen B *et al.* 2010).

Matriks metalloproteinase-9 adalah enzim protease yang mendegradasi protein matriks ekstraseluler, termasuk gelatin, kolagen, elastin, dan laminin, dan memodulasi aktivasi protease, faktor pertumbuhan, sitokin, dan kemokin melalui pembelahan proteolitik, menunjukkan peran MMP-9 dalam kerusakan jaringan dan remodeling jaringan dan peradangan (Lee, Tran and Quang, 2009).

Matriks metalloproteinase-9 juga berperan dalam fungsi imunitas sel. Proses regulasi MMP-9 akan meningkat selama perkembangan dan

proses pemulihan luka, serta terapi pada keadaan patofisiologis yang melibatkan proses inflamasi (arthritis, diabetes, serta keganasan). Komponen proteolitik MMP-9 dalam kondisi patofisiologis berkontribusi menstimulasi respon imunologi untuk menginisiasi patogenesis serta eksaserbasi proses penyakit. Peningkatan kadar MMP-9 secara signifikan ditemukan pada beberapa kondisi gangguan kardiovaskuler (hipertensi, aterosklerosis dan infark miokard) (Yabluchanskiy et al., 2013).

Matriks metalloproteinase-9 disekresi oleh berbagai jenis sel, di antaranya neutrofil yang mengandung beberapa protease yang dilepaskan oleh neutrofil dari aktivasi MMP-9, makrofag, dan fibroblas. Matriks metalloproteinase-9 disintesis selama proses diferensiasi granulosit di sumsum tulang belakang pada neutrofil, dan disekresikan dalam bentuk prekursor (proMMP-9) yang dapat diubah menjadi bentuk aktif oleh p-amino phenyl mercuric acetate (APMA) in vitro atau in vivo (Takeshita et al., 2001).

1. Struktur Metalloproteinase-9

Matriks metalloproteinase-9 terbagi menjadi enam komponen berdasarkan spesifisitas substratnya yaitu kolagenase (MMP-1, MMP-8, MMP-13, MMP-18), gelatinase (MMP-2, serta MMP-9), stromelysin (MMP-3, MMP-10, dan MMP-11), matrilysin (MMP-7, dan MMP-26), metalloproteinase tipe membran (MMP-14, MMP-15, MMP-16, MMP-17, MMP-24, dan MMP-25) dan tipe lainnya (MMP-12, MMP-19, MMP-20, MMP-21, MMP-23, MMP-27, dan MMP-28) (Jung and Zimowska, 2016).

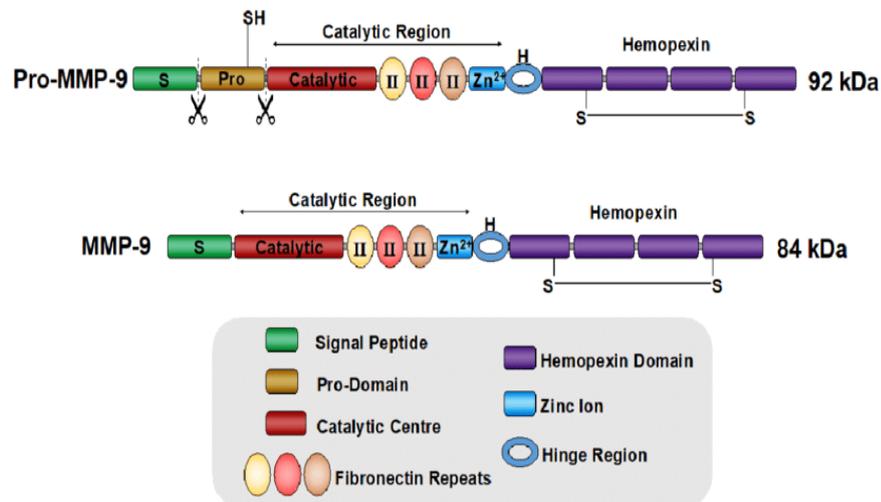
Berdasarkan strukturnya terdapat sekitar 26 anggota keluarga MMP yang dapat dikelompokkan (gambar 5) (Amalinei et. al., 2010).

Struktur MMP-9 secara garis besar terdiri dari :

- a. Jalur insersi membran plasma merupakan sinyal peptida yang mengarahkan MMP untuk mensekresi.
- b. Prodomain.
- c. Katalitik domain berikatan dengan zinc.
- d. Domain hemopexin merupakan domain yang menjadi perantara interaksi substrat dengan enzim spesifik.
- e. Regio hinge yang berhubungan dengan katalitik dan domain hemopexin (Dufour et al., 2010).

Menurut spesifisitas substrat, persamaan rangkaian dan organisasi domain, maka MMP dibagi menjadi enam grup yaitu:

- 1) Kolagenase,
- 2) Gelatinase,
- 3) Stromelysin,
- 4) Matrilysin,
- 5) Membrane-type MMPs Transmembrane, MMP lainnya (Amalinei, Caruntu and Balan, 2007).



Gambar 5. Struktur dari MMP-9 (Dufour et al, 2010).

2. Fungsi Matriks Metalloproteinase-9

Matriks metalloproteinase-9 berperan dalam sejumlah proses biologis yang melibatkan *remodeling* matriks, mulai dari implantasi embrio sampai pada kematian jaringan. Matriks metalloproteinase aktif pada pH netral serta mengkatalisis degradasi, dan remodel lingkungan sel selama perkembangan/pertumbuhan jaringan. Keseimbangan antara proses sintesis dan degradasi pada setiap komponen matriks sangat penting untuk menjaga keseimbangan jaringan. Hilangnya kontrol ekspresi gen serta aktivitas enzim MMP dikaitkan dengan sejumlah kondisi patologis seperti kanker (Jung and Zimowska, 2016).

Matriks metalloproteinase-9 sangat berperan penting dalam fungsi sel imun. Delesi MMP-9 meningkatkan rekrutmen eosinophil dan sel Th-2 kedalam paru-paru selama paparan alergen. Dalam kondisi patologis, MMP-9 mengalami upregulasi selama perkembangan dan penyembuhan luka, serta kondisi patologis yang melibatkan proses inflamasi, seperti artritis, diabetes dan kanker. Dalam kondisi patologis ini, proteolitik MMP-9

akan membantu merangsang respon imun untuk menginisiasi pathogenesis serta memperburuk progresi penyakit (Yabluchanskiy et al., 2013).

3. Aktivasi dan Regulasi MMP-9

Enzim MMP-9 disekresikan dalam bentuk proMMP-9 yang tidak aktif. ProMMP-9 dapat diaktifkan dengan berbagai cara, termasuk proteolisis terbatas oleh enzim MMP lain (enzim lain seperti furin), aktivator atau konvertase plasminogen, dan spesies oksigen reaktif (Jung and Zimowska, 2016).

Aktivasi proMMP-9 (berat molekul 92 kDa) oleh berbagai activator MMP-9 terjadi dalam dua langkah (Mondal et al., 2020):

- a. langkah pertama: terjadi pemotongan pada glutamate-59 untuk menghasilkan bentuk intermediat (BM 86 kDa).
- b. Langkah kedua: dimana terjadi pemotongan pada arginine-106 untuk memproduksi MMP-9 aktif (BM 82 kDa).

Setelah aktivasi, MMP-9 dibelah di C-terminal hemopexin-like domain (BM 65 kDa) atau dihapus langsung dari situs aktif, menjadikannya tidak aktif (BM 50-60 kDa). Proteolisis enzimatik dari prodomain adalah mekanisme aktivasi MMP-9. Aktivator MMP-9 termasuk MMP-2, MMP-3, MMP-7, MMP-10, MMP-13, cathepsin G dan plasmin. Ditemukan juga bahwa trombospondin-1 dapat meningkatkan aktivasi MMP-9 (Mondal, et al., 2020).

Metalloproteinase matriks aktif dapat diatur oleh inhibitor spesifik jaringan dari metalloproteinase (TIMPs). Penghambat jaringan

metalloproteinase adalah glikoprotein yang dapat berikatan dengan daerah katalitik MMP dan menghambat aktivitasnya. Wilayah N-terminal TIMP berinteraksi dengan situs aktif MMP, yang dapat memblokir situs untuk substrat dan dengan demikian mencegah aktivitas enzim. Faktor penentu dalam mengidentifikasi enzim tertentu adalah adanya gugus karboksil dalam TIMPs yang masing-masing memiliki kapasitas penghambatan yang berbeda, seperti kemampuan untuk berikatan dengan MMP tertentu, misalnya TIMP-1 adalah penghambat utama MMP-3 dan MMP-9, serta TIMP-2 dapat memengaruhi semua MMP (Jung and Zimowska, 2016).

Ketidakseimbangan antara MMP dan TIMP penting dalam proses degeneratif, di mana pengikatan TIMP-1 dan TIMP-2 menghambat aktivitas proMMP-9 dan MMP-9 dalam rasio molar 1:1 (Takeshita et al., 2001).

C. Hubungan MMP-9 dengan Nefropati Diabetik

Matriks metalloproteinase (MMP) adalah kerabat dari seng dan endopeptidase yang bergantung pada kalsium yang secara kolektif menurunkan semua komponen kandungan ekstraseluler dan protein membran basal, kemudian berfungsi mengontrol perbaikan jaringan patofisiologi (Pulido-Olmo et al., 2016).

Salah satu tugas MMPs adalah mengeluarkan serta mengaktifkan beberapa faktor pertumbuhan termasuk IGF-II, HBEGF, TNF- α dan TGF- β , yang berhubungan dengan hipertrofi ginjal, proliferasi sel tubulus, dan

fibrosis ginjal, serta mengganti kandungan ekstraseluler (Thraillkill, Clay Bunn and Fowlkes, 2009).

Pergantian kandungan ekstraseluler yang diatur oleh MMP merupakan tanda dari perbedaan keadaan patologis seperti stres oksidatif, apoptosis, transisi endotel-mesenkimal dan peradangan (Schulz, 2007; Hua and Nair, 2015; Zhao et al., 2017). Albumin dalam sel epitel pariental ginjal menunjukkan adanya tanda keluarnya MMP-9 (Zhang et al., 2015)

Matriks metalloproteinase-9 (Gelatinase-B, macrophage gelatinase atau neutrophil

gelatinase mRNA dalam endapan urin manusia dan nitrogen urea dalam darah dapat memberikan nilai diagnosis yang tinggi untuk diabetes. Matriks metalloproteinase-9 urin dapat digunakan untuk mengevaluasi tingkat cedera ginjal pada pasien nefropati diabetik. Infeksi bakteri paling umum yaitu infeksi saluran kemih (ISK), dimana peran pertahanan terhadap ISK tergantung pada neutrofil, keluarnya MMP-9 dari neutrofil memungkinkan sel-sel ini untuk bersatu dengan membran basal epitel untuk melawan infeksi bakteri ISK. Penyakit ginjal diabetik (PGD) merupakan penyebab utama penyakit ginjal kronik (PGK) yang ditandai dengan ekspansi mesangial, glomerulosklerosis, atrofi tubulus, dan fibrosis interstisial. Mekanisme server seperti ketidakseimbangan sistem renin-angiotensin, peradangan, proteinuria, dan hipertensi berhubungan dengan perkembangan DKD dari stadium awal hingga stadium lanjut (Vergara A *et al.*, 2019).

Ciri khas PGD adalah peningkatan deposisi matriks ekstraseluler (ECM), menyebabkan penebalan membran dasar glomerulus dan tubulus dengan pembesaran mesangial, sklerosis, dan fibrosis tubulointerstitial. Level ECM diatur oleh keseimbangan homeostatis antara deposisi dan degradasi komponen ECM (Rodriguez JA, Orbe J et al., 2008).

Beberapa MMP ditemukan di ginjal, kompartemen nefron, pembuluh darah dan jaringan ikat (Tan RJ and Liu Y, 2012; Parrish AR, 2017). Matriks metalloproteinase dapat berkontribusi pada beragam jalur fisiologis dan patologis di ginjal, dilakukan pada pasien dengan PGD menunjukkan bahwa pengukuran aktivitas mereka dalam serum atau urin dapat menjadi penanda awal PGD di masa depan.

Matriks metalloproteinase adalah protease yang berikatan dengan seng dalam mendegradasi komponen matriks ekstraseluler (ECM). Gambaran awal matriks metalloproteinase digambarkan sebagai protein pengatur ECM disebabkan kemampuannya untuk mendegradasi protein ECM seperti kolagen, gelatin, laminin, aggrecan, fibronectin, elastin, dan proteoglikan. Matriks metalloproteinase juga dapat memproses faktor pertumbuhan, reseptor permukaan sel, sitokin, dan kemokin, serta MMP lainnya, dan protease (Marchant DJ *et al.*, 2014).

Aktivasi atau inaktivasi biomolekul oleh titik pembelahan MMP menuju fungsi tak terduga dari protease ini di luar remodeling ECM. Oleh karena itu, MMPs memiliki fungsi fisiologis yang relevan dan ekspresi yang berubah atau disregulasi mengarah pada perkembangan beberapa penyakit seperti penyakit inflamasi kronis, penyakit pembuluh darah dan

ginjal, diabetes, gangguan neurologis, dan kanker (Zakiyanov, O *et al.*, 2019).

Ekspresi MMP diatur pada tingkat transkripsi, menjaga enzim ini pada tingkat rendah dalam keadaan fisiologis normal. Namun, ekspresi MMP diinduksi sebagai respons terhadap rangsangan yang berbeda ketika remodeling ECM diperlukan. Mekanisme patologis fibrosis sangat kompleks karena serangkaian peristiwa molekuler menyebabkan deposisi ECM yang berlebihan. Menanggapi rangsangan berbahaya, sel-sel ginjal (glomerulus, tubular, vaskular atau sel-sel infiltrasi yang sudah ada sebelumnya) mengeluarkan molekul profibrotik dan proinflamasi yang akan mendorong perekrutan sel-sel inflamasi dalam mekanisme umpan balik positif. Dalam keadaan inflamasi dapat menyebabkan transisi epitel ke mesenkim (EMT) dari sel tubulus, penerimaan fibroblast serta proliferasi dan diferensiasi fibroblast menjadi miofibroblast. Semua jenis sel ini memproduksi dan menyimpan ECM sehingga bermanfaat secara aktif terhadap perkembangan fibrosis (Torres IB *et al.*, 2019).

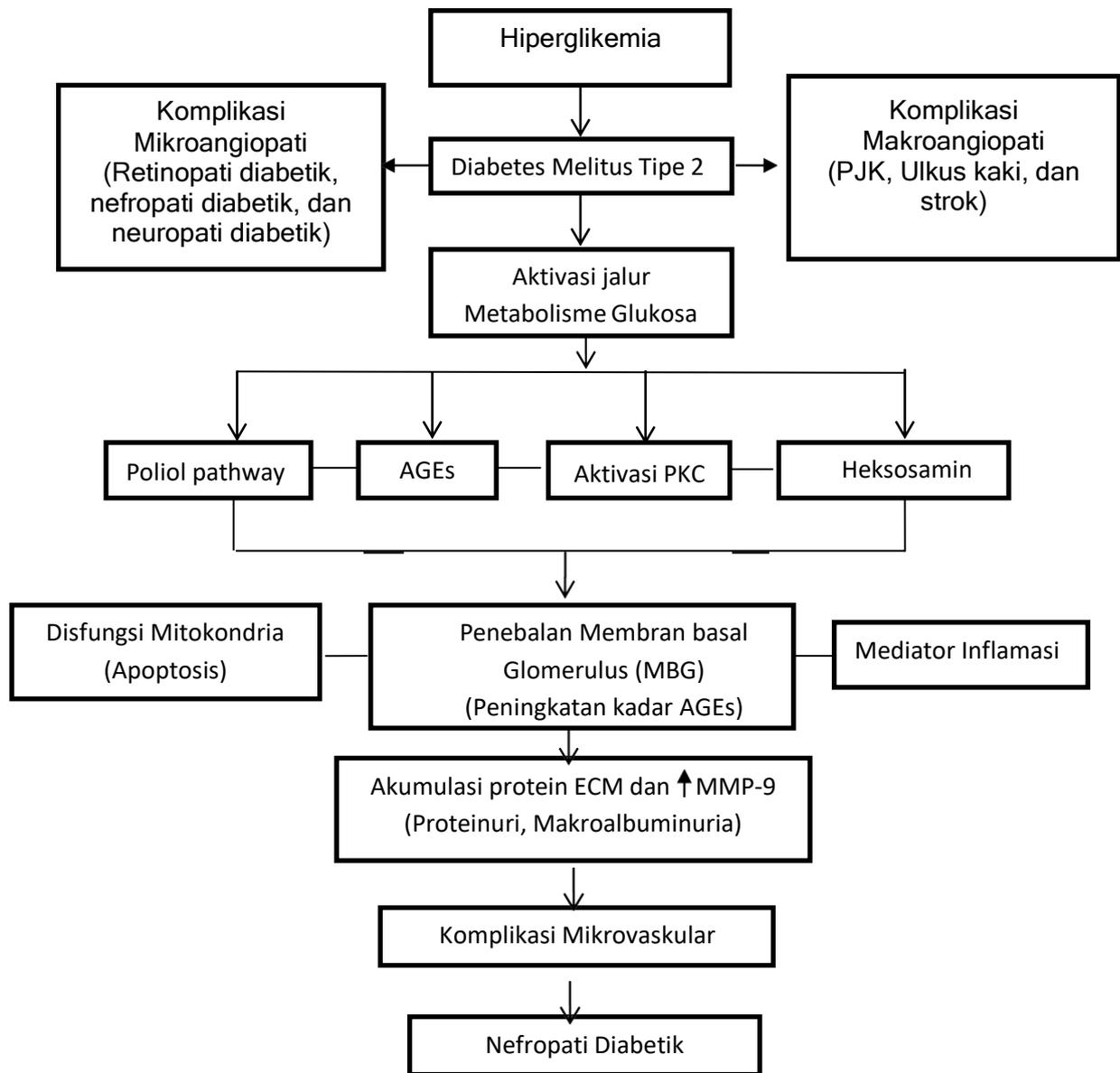
Fungsi utama MMPs adalah untuk mendegradasi komponen ECM, dimana akan tampak jelas bahwa aktivasi MMP serta penurunan TIMPs di ginjal akan bermanfaat tetapi hubungan ini terjadi secara tidak langsung. Beberapa penelitian menyatakan bahwa *down-regulation* aktivitas MMPs atau *upregulation* TIMPs di ginjal dapat berkontribusi pada fibrosis (Lu Y *et al.*, 2011).

Terjadinya penyakit ginjal diabetik pada manusia akan merubah aktivitas MMP. Matriks metalloproteinase tidak hanya terlibat dalam

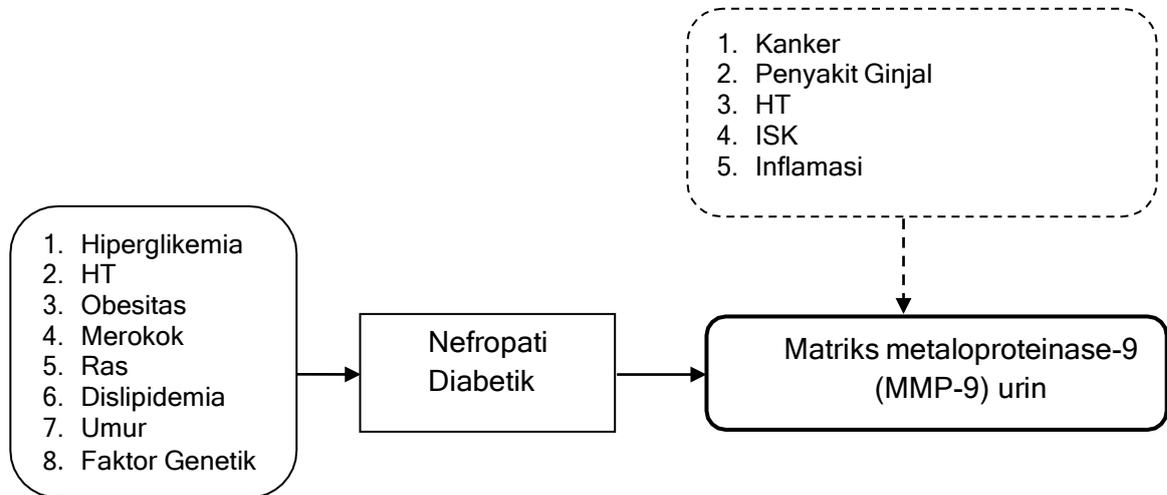
remodeling ECM, tetapi juga berperan dalam pelepasan berbagai faktor pertumbuhan seperti tumor necrosis factor (TNF- α), dan transforming growth factor 1 (TGF- β 1). Oleh karena itu, disregulasi kelompok protein ini mengganggu pergantian ECM normal dan dapat merangsang EMT dan fibrosis dengan meningkatkan ketersediaan faktor pertumbuhan (Fernandes, Nuria-Garcia *et al.*, 2020).

Matriks metalloproteinase-9 adalah proteinase yang telah diteliti pada PGD manusia. Konsentrasi dan aktivitas kedua protein meningkat dalam urin pasien DMT1 dan DMT2. Peningkatan MMP paling sering terjadi pada pasien dengan albuminuria, serta telah berkorelasi pada cedera ginjal. Penelitian lain juga menunjukkan terjadinya peningkatan MMPs pada pasien normal albuminuria yang dapat menunjukkan keterlibatan ginjal dini sebelum berkembangnya proteinuria (Fernandes, Nuria-Garcia *et al.*, 2020).

D. Kerangka Teori Penelitian

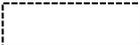


E. Kerangka Konsep



Gambar 2.6 Kerangka Konsep Penelitian

Keterangan:

-  = Variabel bebas
-  = Variabel terikat
-  = Variabel perancu
-  = Variabel tidak diteliti