

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Obesitas adalah kondisi penumpukan lemak yang tidak normal atau berlebihan sehingga dapat mengganggu kesehatan (WHO, 2017). Masalah obesitas tidak hanya menjadi tantangan di Indonesia, tetapi juga di seluruh dunia. Berdasarkan data WHO, setidaknya 2,8 juta kematian setiap tahun disebabkan oleh obesitas. Selain itu, menurut estimasi *Disability-Adjusted Life Years* (DALYs), terdapat sekitar 35,8 juta kematian (2,3%) yang diakibatkan oleh kelebihan berat badan atau obesitas (Djuartina, 2020). Obesitas, yang sering terjadi pada usia dewasa, memiliki risiko morbiditas tinggi dan berkontribusi pada berbagai komplikasi seperti hipertensi, nyeri, hematuria, proteinuria, batu ginjal, serta gangguan fungsi ginjal (Raina et al., 2016).

Endotelin-1 (ET-1) adalah molekul penting dalam mengatur homeostasis volume tubuh pada kondisi normal, sekaligus berperan sebagai vasokonstriktor yang kuat dalam keadaan patologis. Peptida yang terdiri dari 21 asam amino ini dihasilkan oleh sel endotel dan memberikan efek biologisnya melalui reseptor endotelin A (ETA) atau endotelin B (ETB). Baik ET-1 maupun reseptornya diekspresikan pada berbagai jenis sel di ginjal. Penelitian pada hewan dan dasar ilmu pengetahuan menunjukkan bahwa ET-1 memiliki berbagai pengaruh pada ginjal, termasuk penyempitan pembuluh darah ginjal, penghambatan reabsorpsi natrium dan air, serta kerusakan glomerulus dan tubulus ginjal (Rebholz, 2017).

Glomerular Filtration Rate (LFG) adalah volume plasma yang dapat dibersihkan sepenuhnya dari senyawa tertentu oleh ginjal dalam satuan waktu tertentu. LFG biasanya dihitung dengan mengukur kadar kreatinin serum, terutama pada individu dengan risiko gangguan fungsi ginjal (Irshad, 2011). Kreatinin dan ureum merupakan indikator utama fungsi ginjal, di mana peningkatan kadar ureum sering kali menandakan penurunan fungsi ginjal yang dapat menyebabkan uremia (Loho et al., 2016).

Disfungsi ginjal pada individu obesitas dapat terjadi bahkan sebelum berkembangnya hipertensi atau diabetes. Kerusakan ginjal akibat obesitas dikenal sebagai *obesity-related renal injury* (Wahba & Mak, 2007). Penelitian pada tikus wistar obesitas menunjukkan bahwa ekspresi ET-1 lokal di ginjal,

glomerulus, lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol, yang cedera glomerulus sebagai tanda awal perkembangan kronis (CKD) tanpa penyakit penyerta lainnya (Dahlan, 2020). menunjukkan bahwa individu obesitas remaja akhir memiliki in yang lebih tinggi dibandingkan kelompok dengan berat (Utami et al., 2022).



Berdasarkan berbagai temuan ini, peneliti tertarik untuk mengeksplorasi kadar ET-1 urin dan fungsi ginjal pada individu obesitas, guna memahami sejauh mana kerusakan vaskular ginjal yang terjadi dan dampaknya terhadap fungsi ginjal.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang diatas maka rumusan masalah pada penelitian ini yaitu “bagaimana kadar ET-1 urine dan fungsi ginjal pada obesitas dan non obesitas?”.

1.3 Tujuan Penelitian

1. Tujuan Umum

Menganalisis kadar ET-1 urine dan fungsi ginjal pada obesitas dan non obesitas

2. Tujuan Khusus

- a. Mengetahui kadar ET-1 dalam urin antara individu obesitas dan non-obesitas.
- b. Mengetahui kadar ureum, kreatinin, dan LFG sebagai indikator fungsi ginjal antara individu obesitas dan non-obesitas.
- c. Mengetahui perbedaan antara kadar ET-1 urin, ureum, kreatinin dan LFG pada individu obesitas dan non obesitas
- d. Mengetahui hubungan antara kadar ET-1 dalam urin dengan ureum, kreatinin dan LFG pada individu obesitas dan non obesitas.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Penambahan Pengetahuan Ilmiah:

- a. Memperdalam pemahaman mengenai hubungan antara kadar ET-1 urin dan fungsi ginjal pada individu obesitas dan non obesitas dewasa.
- b. Memberikan kontribusi pada literatur medis tentang biomarker potensial untuk deteksi dini gangguan fungsi ginjal pada populasi obesitas.

2. Klinis dan Praktis:

- a. Mengidentifikasi apakah kadar ET-1 urin dapat menjadi indikator awal untuk gangguan fungsi ginjal pada individu obesitas.
- b. Membantu dalam pengembangan strategi pencegahan dan pengelolaan risiko penyakit ginjal pada populasi obesitas.

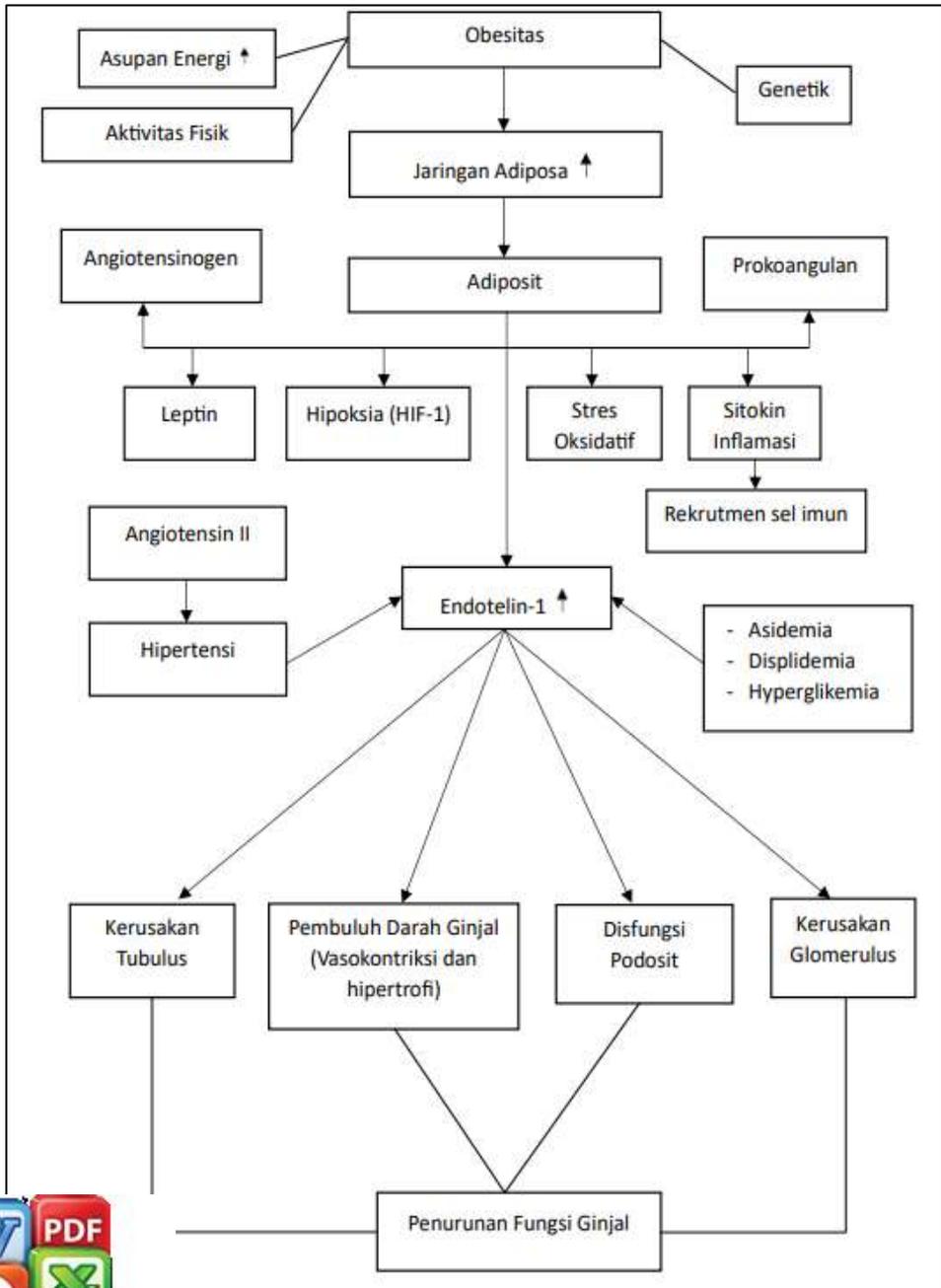
Masyarakat:

Menyediakan data epidemiologis yang berguna untuk merancang intervensi kesehatan masyarakat yang lebih efektif.

Menjadi landasan dasar ilmiah untuk kebijakan kesehatan yang dapat meningkatkan pencegahan obesitas dan komplikasi terkait.



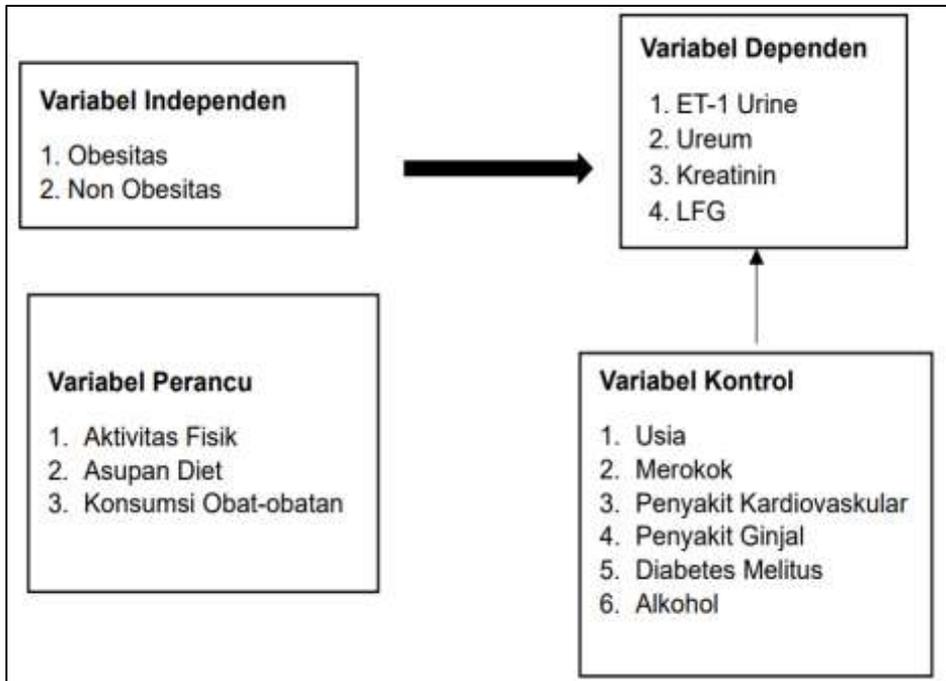
1.5 Kerangka Teori



Gambar 1. Kerangka Teori



1.6 Kerangka Konsep



Gambar 2. Kerangka Konsep

Hipotesis Penelitian

H1: Kadar ET-1 dalam urin lebih tinggi pada individu obesitas dibandingkan dengan non obesitas.

H2: Fungsi ginjal lebih menurun (diukur dengan kadar ureum dan kreatinin tinggi serta LFG rendah pada individu obesitas dibandingkan dengan non-obesitas.

H3: Ada hubungan antara kadar ET-1 dalam urin dan fungsi ginjal pada individu obesitas.



BAB II METODE PENELITIAN

2.1 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian observasional dengan pendekatan cross-sectional.

2.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Universitas Hasanuddin, Universitas Mahasiswa Islam (UMI), Laboratorium Hasanuddin University Medical Research Center (HUMRC) serta Laboratorium Kesehatan Masyarakat Kota Makassar, Sulawesi Selatan. Waktu Penelitian dilakukan pada bulan September – November 2024.

2.3 Populasi dan Sampel Penelitian

1. Populasi

Populasi penelitian yaitu seluruh subjek obesitas dan non obesitas dewasa muda 19-25 tahun yang terdapat di Universitas Hasanuddin dan Universitas Mahasiswa Islam (UMI) Kota Makassar

2. Sampel dan cara pengambilan sampel

Teknik pengambilan sampel ini dilakukan dengan cara mengambil seluruh total sampel yang ada yang memenuhi kriteria. Kriteria-kriteria yang ditetapkan mencakup kriteria inklusi dan eksklusi

2.4 Kriteria inklusi dan eksklusi

1. Kriteria Inklusi

- Dewasa dengan BMI obesitas I ($\geq 25 \text{ Kg/M}^2$) sesuai klasifikasi BMI WHO wilayah Asia-Pasifik
- Usia dewasa muda 19-25 tahun

2. Kriteria Eksklusi

- Subjek dengan penyakit diabetes
- Subjek dengan penyakit hipertensi
- Subjek dengan penyakit ginjal kronis.
- Konsumsi alkohol dan merokok

2.5 Sampel dan Cara Pengambilan Sampel



ukuran sampel penelitian dihitung berdasarkan rumus:

$$\left(\frac{z_{\beta}}{r/(1-r)} \right)^2 + 3 = 25,67 = 26 \text{ sampel}$$

z untuk 0,05 = 1,645

z_{β} = nilai standar untuk 0,2 = 0,842

r = korelasi minimal yang dianggap bermakna = 0,48

jumlah minimal sampel dalam penelitian ini adalah 26 orang pada setiap kelompok obesitas dan non obesitas.

2.6 Variabel Penelitian

1. Variabel independent/ bebas penelitian ini yaitu obesitas dan non obesitas
2. Variabel dependent/ terikat penelitian ini yaitu ET-1 Urin, Ureum, Kreatinin dan LFG.

2.7 Definisi Operasional

Definisi operasional menjelaskan bagaimana variabel tersebut akan diukur atau diamati dalam penelitian.

Tabel 1. Definisi Operasional

No	Variabel Independen	Definisi Operasional
1.	Obesitas	Obesitas adalah seseorang yang memiliki lemak tubuh berlebih yang memiliki IMT ≥ 25 kg/m ² , diukur menggunakan persamaan berat badan/ tinggi badan dinyatakan dalam satuan kg/m ² tergolong dalam obesitas.
2.	Non Obesitas	Seseorang yang memiliki IMT 18,5-22,9 kg/m ²
3.	Endotelin-1 urin	Senyawa peptida berupa molekul sinyal vasokonstriktor yang diamati melalui urine dengan satuan ng/L.
4.	Kreatinin	Produk limbah metabolisme otot pada pemecahan kreatin fosfat, setelah diproduksi, kreatin dialirkan ke pembuluh darah kemudian menuju ginjal untuk disaring atau dibuang melalui urin, kadar kreatinin dalam darah mencerminkan seberapa baik fungsi ginjal dalam menyaring darah. Nilai rujukan serum kreatinin untuk laki-laki dewasa: 0,6-1,1 mg/dL (55-96 μ mol/L) dan perempuan dewasa: 0,5-0,8 mg/dL (40-66 μ mol/L) (Edmund, 2010).
		Produk limbah yang dihasilkan dari pemecahan protein dalam tubuh, yang awalnya menghasilkan amonia yang toksik, kemudian dihati akan dirubah menjadi ureum dengan bentuk yang lebih aman, lalu dibawa melalui



		pembuluh darah menuju ginjal untuk dapat dibuang Nilai rujukan serum ureum : 6-20 mg/dL atau 2,1-7,1 mmol urea/hari) (Edmund, 2010).
6.	LFG	Kemampuan ginjal untuk memfiltrasi suatu zat per satuan waktu. Perhitungan LFG berdasarkan kadar kreatinin serum (Scr), usia ukuran tubuh, jenis kelamin menggunakan persamaan MDRD (Modification of Diet in Renal Disease) : $eLFG (ml/menit/1,73 m^2) = (175 (Scr)^{-1,54} \times (Usia)^{-0,203} \times (0,742 \text{ jika perempuan}) \times 1,210 \text{ jika ras African-American})$. Hasil dari persamaan ini diperhitungkan dengan permukaan tubuh ($1,73 m^2$). Persamaan MDRD cocok untuk pasien dewasa usia 18 tahun sampai dengan 70 tahun (Irshad, 2011). Nilai rujukan serum > 120 ml/menit/ $1,73 m^2$ (Stafford dkk, 2008).

2.8 Instrumen Penelitian

1. Alat

Tabel 2. Instrumen Penelitian (Alat)

Timbangan berat badan	<i>Plate Sealer</i>
Pengukur tinggi badan	Tabung mikrosentrifugasi
Meteran	Inkubator
Tensimeter	<i>Microplate Reader</i>
Termometer	Mikropipet dan tip
Pot urine steril	<i>Plain tubes</i>
<i>Falcon tubes</i>	Rak dan cup sampel
<i>Pre-coasted Elisa Plate</i>	<i>Thermo Scientific Indiko</i>

2. Bahan

Tabel 3. Instrumen Penelitian (Bahan)

Sampel urine	<i>Standard Solution (640 ng/L)</i>
<i>Distilled water/ air suling</i>	<i>Stop solution</i>
<i>Standard diluent</i>	<i>Biotinylated human et-1 antibody</i>
<i>Substrate solution a</i>	<i>Streptavidin-HRP</i>
<i>solution b</i>	<i>Wash buffer concentrate (25x)</i>
erum darah	Detergents
uffer (ph 8,1) 30 mmol/l	Presentative
,0) 50 mmol/l	
se (microorganisms) ≥	Alpha-ketoglutarate 7,5 mmol



Creatininase (microorganisms) \geq 500 μ kat/l	NADH > 0,20 mmol
Peroxidase (horseradish) \geq 16,7 μ kat/l	Urease (Jack Bean) > 5000 U/l
Sarcosine oxidase (microorganisms) \geq 133 μ kat/l	GLDH (microorganism) > 450 U/l
Ascorbate oxidase (microorganisms) \geq 33 μ kat/l	Tris Buffer 100 mmol/l
4-aminophenazone 2,0 mmol/l	Nan ₂ < 0,1%
Potassium hexacyanoferrate 163 mmol/l	Filler, stabilisers
HTIB	

2.9 Prosedur Penelitian

1. Alokasi subyek

Penelitian ini melibatkan individu dengan obesitas dan non-obesitas yang memenuhi kriteria inklusi yang telah ditentukan.

2. Prosedur Pengambilan Sampel

- a. Pengukuran tinggi badan dan berat badan dilakukan untuk menghitung Indeks Massa Tubuh (IMT), yang digunakan untuk menentukan apakah seseorang termasuk dalam kategori berat badan normal atau obesitas.
- b. Subjek disaring berdasarkan kuesioner untuk memastikan kelayakan mereka sesuai dengan kriteria inklusi dan eksklusi. Penjelasan terkait prosedur penelitian, tindakan yang akan dilakukan, serta potensi dampaknya diberikan kepada subjek yang memenuhi syarat. Subjek yang setuju untuk berpartisipasi akan diminta untuk menandatangani lembar persetujuan (informed consent). Berbagai pengukuran fisik dilakukan, termasuk frekuensi nadi dan nafas, lingkar perut dan lengan, suhu, presentase lemak, GDS (Gula Darah Sewaktu) dan tekanan darah pada subjek.
- c. Pengambilan urin pada subjek yaitu urine dikumpulkan dari subjek penelitian pada pagi hari dalam wadah pengumpulan urine steril, kemudian urine dimasukkan ke dalam tabung falcon 10 ml dan disentrifugasi dengan kecepatan 2000 rpm selama 15 menit pada suhu 2-8°C. Sampel urin yang disentrifugasi disimpan pada suhu -



bagai aliquot untuk menghindari siklus pembekuan/pencairan penggunaan lebih lanjut.

ena diambil dari vena mediana cubiti menggunakan metode er. Sampel dimasukkan ke dalam tabung khusus tanpa julan atau mengandung clot activator. Setelah dibiarkan

membeku selama 30 menit pada suhu ruang, sampel disentrifugasi selama 5 menit pada kecepatan 3000 rpm.

- e. Pemeriksaan ET-1 urin dilakukan di Laboratorium Hasanuddin University Medical Research Center (HUMRC) dengan metode sandwich-ELISA dengan kit Human ET-1 ELISA BT-LAB (Bioassay Technology Laboratory), China. sedangkan ureum dan kreatinin dilakukan di Laboratorium Kesehatan Masyarakat Makassar 1 (LABKESMAS 1) dengan metode enzimatik.

3. Prosedur Pemeriksaan Laboratorium

a. Prinsip Tes Metode Sandwich-ELISA

Pelat mikro ELISA yang dipakai telah dilapisi dengan antibodi spesifik terhadap manusia ET-1. Sampel atau standar ditambahkan ke well pelat mikro. ET-1 dalam sampel atau standar akan berikatan dengan antibodi yang sudah terlapisi pada pelat mikro. Kemudian antibodi pendeteksi biotinilasi spesifik untuk konjugat Human ET-1 dan streptavidin-Horseradish Peroxidase (HRP) ditambahkan berturut-turut ke setiap sumur pelat mikro dan diinkubasi. Larutan substrat TMB (3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine) ditambahkan ke setiap well. Hanya well yang mengandung Human ET-1, antibodi pendeteksi biotinilasi, dan konjugat streptavidin-HRP yang akan tampak berwarna biru. Reaksi enzim-substrat dihentikan dengan penambahan larutan penghenti dan warnanya menjadi kuning. Kepadatan optik (OD) diukur secara spektrofotometri pada panjang gelombang 450 nm.

b. Prosedur Assay ET-1 Urine

Siapkan semua reagen dan sampel sebelum digunakan, ditambahkan 50 µl standar dan 40 µl sampel ke sumur. Lalu tambahkan 10 µl *Biotinylated Human ET-1 Antibody* ke sumur yang berisi sampel, kemudian dimasukkan 50 µl *Streptavidin-HRP* ke sumur yang terdapat sampel dan standar kecuali *blank control well*, selanjutnya ditutupi dengan *plate sealer*, inkubasi selama 60 menit pada suhu 37 °C, lepaskan *sealer* dan cuci *plate* dengan 300 µl *Wash Buffer* selama 1 menit dan diulangi sebanyak 5 kali. Kemudian tambahkan 50 µl *Substrate Solution A dan B* secara berurutan pada setiap sumur, lalu tutupi dengan *sealer* dan inkubasi 10 menit dengan suhu 37 °C pada ruangan gelap, selanjutnya tambahkan 50 µl *Stop Solution* setiap akan terlihat perubahan warna dari biru menjadi kuning. Kepadatan optik (nilai OD) masing-masing sumur dengan

akan terlihat perubahan warna dari biru menjadi kuning. Kepadatan optik (nilai OD) masing-masing sumur dengan

Hasil Kadar ET-1 Urine

standar digunakan untuk menentukan jumlah atau kadar dalam

yang tidak diketahui. Kurva standar dihasilkan dengan



memplot rata-rata O.D dan nilai konsentrasi et 1 reagen standar yang telah diketahui dengan konsentrasi standar pada sumbu x dan nilai OD pada sumbu y. Pertama, hitung rata-rata O.D. nilai untuk setiap standar dan sampel. Buat kurva standar menggunakan kertas grafik atau perangkat lunak statistik. Untuk menentukan jumlah atau kadar dalam setiap sampel, pertama-tama. Temukan O.D. nilai pada sumbu Y dan memperpanjang garis horizontal ke kurva standar. Pada titik persimpangan, tarik garis vertikal ke sumbu X dan terlihat konsentrasi atau kadar yang sesuai.

d. Prinsip Tes Metode Enzimatik Kreatinin dan Ureum

Prinsip pengukuran kreatinin menggunakan metode enzimatik kolorimetrik dapat dijelaskan sebagai berikut, kreatinin diubah menjadi sarkosin melalui aksi enzim kreatininase dan kreatinase. Selanjutnya, sarkosin dikonversi menjadi glisin, formaldehida, dan hidrogen peroksida dengan adanya oksigen melalui reaksi yang dikatalisis oleh enzim sarkosin oksidase. Hidrogen peroksida yang dihasilkan bereaksi dengan 4-aminofenazon dan HTIB (2,46-triiodo-3-hydroxybenzoic acid) untuk membentuk quinone imine chromogen dalam suatu reaksi yang dikatalisis oleh enzim peroksidase, membentuk kompleks berwarna. Intensitas warna yang dihasilkan sebanding secara langsung dengan konsentrasi kreatinin yang ada dalam sampel. Warna ini kemudian diukur secara kolorimetrik pada panjang gelombang 540 nm. Sedangkan prinsip pengukuran urea ialah sebagai berikut, urea bereaksi dengan air (H_2O) dalam keberadaan enzim urease, menghasilkan amonia (NH_3) dan karbon dioksida (CO_2). Amonia yang dihasilkan kemudian berinteraksi dengan α -ketoglutarat (α -KG) dan NADH melalui aksi enzim glutamat dehidrogenase (GLDH), membentuk L-glutamat dan NAD^+ . Konsumsi NADH dalam reaksi ini menyebabkan penurunan absorbansi yang diukur secara spektrofotometrik. Penurunan absorbansi pada panjang gelombang tertentu (biasanya 340 nm) sebanding dengan konsentrasi urea dalam sampel.

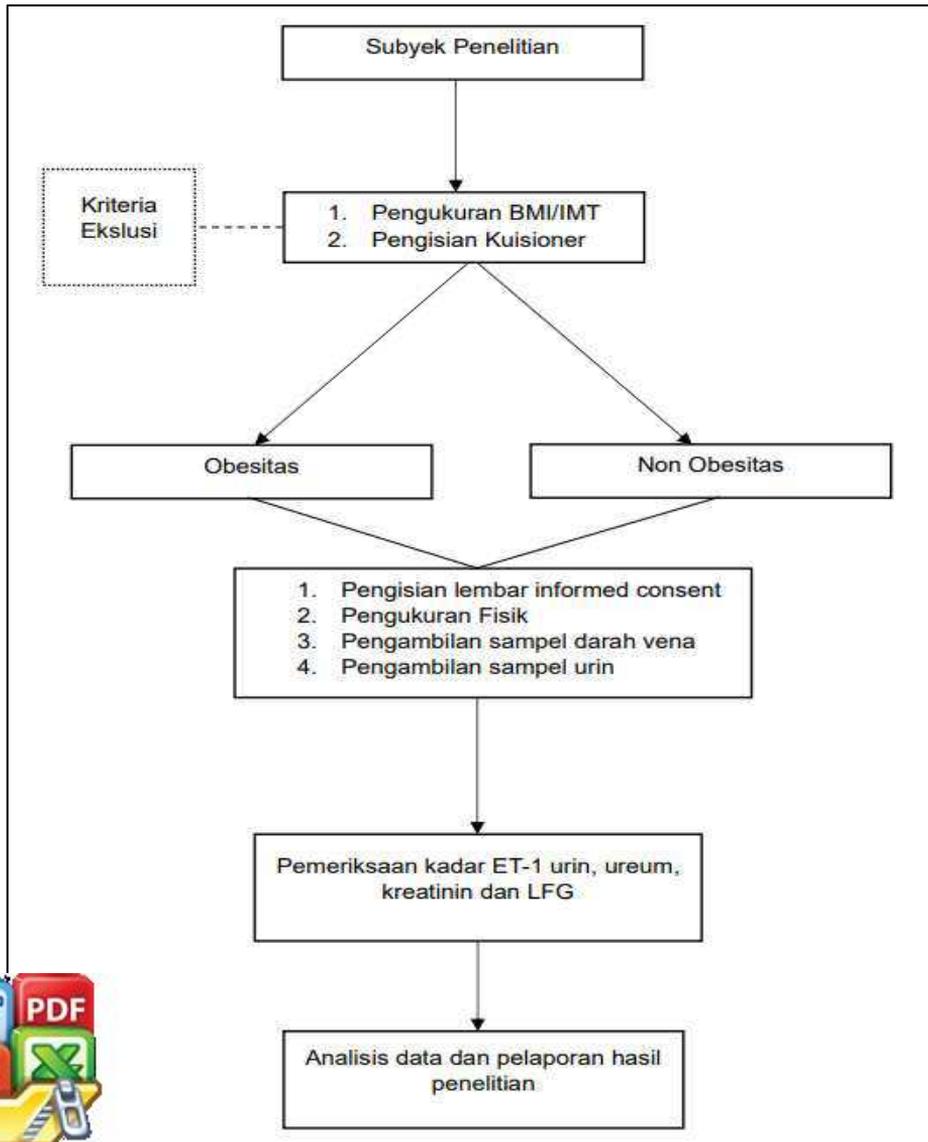
e. Prosedur Assay Kreatinin dan Ureum

Pertama dilakukan pembacaan kontrol pada alat, selanjutnya catat penomoran sampel dan cup sampel berdasarkan urutan kode sampel, tempatkan sampel pada cup sampel sebanyak 500 μ l. Cup sampel reagen yang sesuai dengan pemeriksaan (ureum atau kreatinin) dimasukkan ke dalam alat Thermo Scientific Indiko. Kemudian running (proses pengujian dimulai dengan alat otomatis yang akan memasukkan reagen dan sampel), terdapat dua jarum pengisap yang terpasang dalam alat yaitu penghisap reagen dan sampel. Setelah selesai, catat dan Hasil Kadar Kreatinin dan Ureum



Perubahan warna yang dihasilkan menggunakan Thermo Scientific Indiko, (spektrofotometer) pada panjang gelombang yang sesuai dengan pewarna yang digunakan. Perubahan warna ini sebanding dengan konsentrasi ureum dan kreatinin dalam serum. Bandingkan data absorbansi dengan kurva standar ureum dan kreatinin untuk menentukan konsentrasi kreatinin dalam sampel serum.

2.10 Alur Penelitian



Gambar 3. Alur Penelitian



2.11 Analisis Data

Semua data yang dimasukkan dalam penelitian ini dikelompokkan menurut tujuan dan jenis data, dan analisis data dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak SPSS. Distribusi data dinilai menggunakan uji normalitas Kolmogorov-Smirnov. Metode statistik yang digunakan adalah perhitungan statistik deskriptif (range, median, mean, standar deviasi, sebaran data) dan uji statistik (parametrik atau non parametrik).

2.12 Etika Penelitian

Dalam melakukan suatu penelitian, peneliti terlebih dahulu menetapkan etika penelitian mengenai calon responden, antara lain:

1. Formulir Persetujuan (*Informed Consent*)
2. Formulir persetujuan diberikan kepada sampel penelitian untuk menandatangani persetujuan untuk berpartisipasi dalam penelitian ini. Sebelum sampel penelitian menandatangani formulir persetujuan penelitian, peneliti memberikan informasi kepada sampel penelitian tentang tujuan dan sifat kesukarelaan, dan tanggapan terhadap kuesioner ini dilakukan dalam keadaan sadar. Para peneliti kemudian memberikan formulir persetujuan kepada responden dan meminta mereka untuk menandatangani.
3. Kerahasiaan subjek (*Privacy and Confidentiality*)
4. Peneliti akan menjaga kerahasiaan identitas penelitian dengan tidak memberikan nama (kode responden saja) pada setiap survei. Peneliti juga menjaga kerahasiaan dengan menyimpan data penelitian dalam file dan komputer yang tidak dapat diakses oleh orang lain.
5. Tanpa Nama (*Anonymity*)
6. Untuk menjaga kerahasiaan responden, peneliti tidak akan menuliskan nama responden pada lembar pengumpulan data, melainkan akan menuliskannya dalam bentuk kode pada setiap lembar.
7. Memberi manfaat (*Beneficence and Non-maleficence*)
8. Peneliti melakukan penelitian ini sesuai prosedur penelitian untuk memaksimalkan hasil bagi peserta penelitian. Sebaiknya peneliti mencermati dampak yang mungkin merugikan responden dan meminimalisirnya dengan memasukkan serta menjelaskan indikasi dan kontraindikasi terkait pengambilan sampel darah.



menghargai hak-hak subjek (*Respect for Human Dignity*)
Tidak responden dalam penelitian ini dialihkan kepada mereka untuk hak untuk menghentikan atau menolak berpartisipasi dalam penelitian. Jika ada responden yang mengundurkan diri sebagai responden, hal ini merupakan hal yang lumrah dan tidak dilarang, bahkan oleh peneliti sendiri.

10. Prinsip Keadilan (*Respect for Justice*)
11. Responden yang menjadi subjek penelitian akan diperlakukan sama dan adil.



Optimized using
trial version
www.balesio.com