

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit Ginjal Kronik atau PGK kini telah dikenal luas sebagai salah satu penyebab utama kematian di seluruh dunia. *Global Burden Disease* (GBD) telah menelusuri penyebab kematian di seluruh dunia selama dekade terakhir (Jameson, dkk., 2018). Matriks metalloproteinase (MMP) merupakan sekelompok endopeptidase zink dan kalsium yang membelah protein matriks ekstraseluler (ECM). Matriks metalloproteinase berfungsi dalam interaksi yang erat dengan *tissue inhibitors of matrix metalloproteinases* (TIMP) endogen yang keduanya mengatur pergantian sel, memodulasi berbagai faktor pertumbuhan, dan berpartisipasi dalam perkembangan fibrosis jaringan dan apoptosis (Chen TK, Knicely DH dan Grams ME 2019).

Angka prevalensi PGK di Indonesia pada tahun 2018 cukup tinggi yaitu mencapai 3.8 permil populasi menderita penyakit ginjal kronik yang terdiagnosis dokter. Prevalensi tertinggi terdapat pada provinsi Kalimantan utara yaitu sebanyak 6.4 permil sedangkan prevalensi terendah di Indonesia terdapat pada provinsi Sulawesi Barat pada angka 1.8 permil. Prevalensi gagal ginjal pada laki-laki (0.3%) lebih tinggi dibandingkan dengan perempuan (0.2%). Berdasarkan karakteristik umur, prevalensi tertinggi yaitu pada kategori usia di atas 75 tahun (0.6%), di mana mulai terjadi peningkatan pada usia 35 tahun ke atas, tersering pada usia 65-74 tahun (Hustrini NM, Susalit E, dan Rotmans 2022).

Data Pusat Pembiayaan dan Jaminan Kesehatan tahun 2012 menyebutkan total biaya hemodialisis sebesar 227 miliar rupiah per tahunnya, merupakan tindakan medis yang menyerap porsi terbesar dari biaya kesehatan yang ditanggung oleh PT. ASKES maupun jaminan asuransi lainnya, pada tahun 2015, realisasi pembiayaan pelayanan kesehatan oleh BPJS sebanyak 2.78 triliun rupiah dihabiskan untuk penyakit ginjal, baik rawat inap maupun rawat jalan. Jumlah tersebut meningkat dibanding tahun 2014 yaitu sebesar 2.2 triliun rupiah (Hustrini NM, Susalit E, dan Rotmans 2022).

Berbagai peran MMP dan TIMP terus dijelaskan dalam perkembangan dan perbaikan ginjal, serta sejumlah penyakit ginjal. *Tissue inhibitor of*

metalloproteinase 2 (TIMP-2) pada beberapa dekade kini telah diidentifikasi sebagai biomarker dini untuk kejadian *Acute Kidney Injury* atau AKI dan telah menjadi bagian dari satu-satunya pemeriksaan yang disetujui oleh *United States Food Drug Association* atau US FDA. Beberapa penelitian menunjukkan korelasi positif antara eGFR dan TIMP-2. Pada beberapa pasien dengan *End Stage Kidney Disease* atau ESKD memiliki kadar TIMP-2 yang cukup tinggi, sedangkan pada pasien dengan kasus *Chronic Kidney Disease* atau CKD stage 1 dan 2 memiliki kadar TIMP-2 yang cukup rendah (Kovesdy CP 2022).

Berdasarkan beberapa penelitian ini maka penulis tertarik untuk melihat dan mengamati kembali secara detail bagaimana korelasi kadar TIMP-2 terhadap beberapa stadium dari penyakit ginjal kronik dengan estimasi hasil laju filtrasi glomerulus. Selain itu, penelitian yang membahas peranan *tissue inhibitor of metalloproteinase 2* (TIMP-2) sebagai biomarker pada PGK masih jarang dilakukan di Indonesia, termasuk di kota Makassar.

1.2 Rumusan Masalah

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

“Bagaimana hasil analisis TIMP-2 serum dengan nilai GFR pada berbagai Stadium Penyakit Ginjal Kronik ?”

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Tujuan umum penelitian ini adalah untuk mengetahui analisis kadar TIMP-2 dengan nilai GFR pada berbagai stadium penyakit ginjal kronik.

1.3.2 Tujuan Khusus

- a. Mengetahui rerata kadar TIMP-2 pada pasien PGK.
- b. Mengetahui korelasi antara kadar TIMP-2 serum dengan nilai GFR pada pasien PGK.
- c. Mengetahui korelasi kadar TIMP-2 serum dengan berbagai stadium PGK berdasarkan nilai GFR.

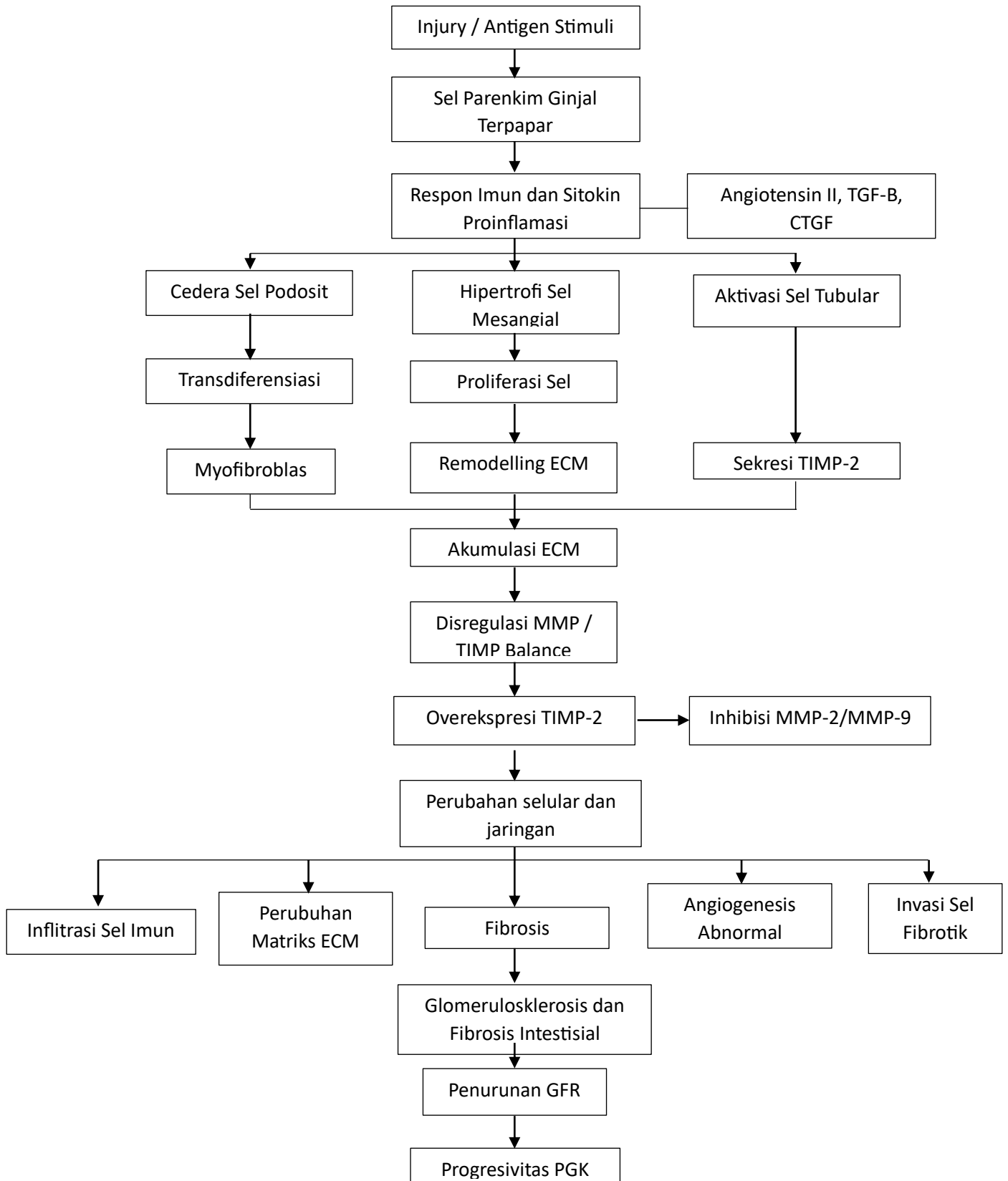
1.4 Hipotesis

- a. Terdapat peningkatan kadar TIMP-2 serum pada pasien PGK.
- b. Terdapat korelasi negatif antara kadar TIMP-2 serum dan nilai GFR pada subjek penyakit ginjal kronik. Semakin tinggi kadar TIMP-2 serum, semakin rendah nilai GFR.
- c. Terdapat korelasi positif antara kadar TIMP-2 serum dengan stadium PGK berdasarkan nilai GFR. Semakin tinggi kadar TIMP-2 serum, semakin tinggi stadium penyakit.

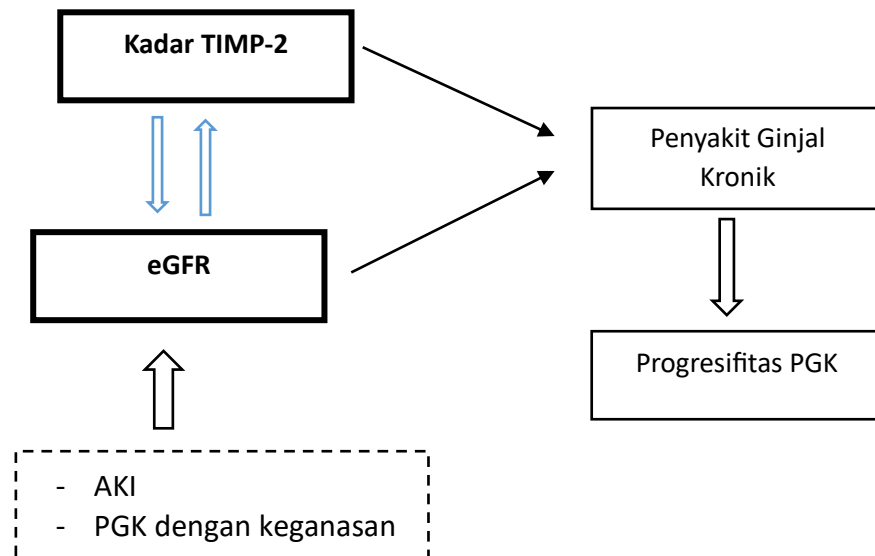
1.5 Manfaat penelitian

- a. **Manfaat ilmiah:** Memberi informasi ilmiah mengenai analisis kadar TIMP-2 dan eGFR serta hubungan keduanya pada pasien PGK.
- b. **Manfaat aplikasi:** Memberi informasi tentang peranan TIMP-2 dan eGFR kepada klinisi untuk menilai progresifitas PGK.
- c. **Manfaat untuk penelitian selanjutnya:** Menjadi bahan acuan dan pembandingan bagi penelitian selanjutnya dengan menggunakan biomarker PGK lainnya.

1.6 Kerangka Teori

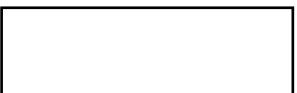


1.7 Desain Konseptual



KETERANGAN :

 = Variabel Bebas

 = Variabel Tergantung

 = Variabel Perancu

BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian observasional analitik dengan desain *cross sectional*.

2.2 Tempat dan Waktu Penelitian

2.2.1 Tempat Penelitian

- a. Poliklinik dan ruang rawat inap pasien Ginjal Hipertensi Rumah Sakit Dr. Wahidin Sudirohusodo untuk rekrutmen subjek penelitian.
- b. Laboratorium Patologi Klinik Rumah Sakit Dr. Wahidin Sudirohusodo untuk pengambilan sampel.
- c. Laboratorium *Hasanuddin University Medical Research Center* (HUMRC) FKUH untuk pemeriksaan TIMP-2 serum menggunakan metode *Enzyme-linked immunosorbent Assay* (ELISA).

2.2.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan mulai November 2024 sampai Mei 2025

2.3 Populasi Penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah seluruh subjek Penyakit Ginjal Kronik di Poliklinik rawat jalan maupun rawat inap di Rumah Sakit Dr. Wahidin Sudirohusodo, Makassar.

2.4 Sampel dan Cara Pengambilan Sampel

2.4.1 Sampel

Sampel dalam penelitian ini adalah populasi subjek penyakit ginjal kronik yang berobat di poliklinik rawat jalan di Rumah Sakit Dr. Wahidin Sudirohusodo, Makassar yang memenuhi kriteria inklusi.

2.4.2 Pengukuran Besar Sampel

Rumus yang sering digunakan untuk menghitung ukuran sampel dalam penelitian korelasi (Hulley et.al 2013) adalah :

$$n = \frac{Z_{\alpha/2}^2 + Z_{\beta}^2}{\text{Effect Size}^2}$$

Keterangan :

- n = ukuran sampel
- $Z_{\alpha/2}$ = nilai z untuk tingkat signifikansi (α), biasanya 1.96 untuk tingkat signifikansi 0.05
- Z_{β} = nilai z untuk kekuatan uji (power), biasanya 0.84 untuk kekuatan uji 80%
- Effect size = yaitu korelasi yang diharapkan dalam populasi (Korelasi moderate $r = 0.4$), dengan rumus

$$f^2 = \frac{r^2}{1 - r^2}$$

Sehingga :

$$f^2 = \frac{0.4^2}{1 - 0.4^2} = \frac{0.16}{1 - 0.16} = \frac{0.16}{0.84} = 0.1905$$

$$\begin{aligned} n &= \frac{(1.96 + 0.84)^2}{0.1905} \\ n &= \frac{(2.8)^2}{0.1905} \\ n &= \frac{7.84}{0.1905} = 41 \end{aligned}$$

Berdasarkan perhitungan ini, ukuran sampel yang diperlukan untuk penelitian Korelasi Kadar *Tissue Inhibitor of Metalloproteinase-2* Serum dengan *Estimated Glomerular Filtration Rate* pada Penyakit Ginjal Kronik adalah minimal 41 sampel, total untuk semua stadium.

2.5 Kriteria Inklusi dan eksklusi

2.5.1 Kriteria Inklusi

- a. Semua pasien yang terdiagnosis penyakit ginjal kronik oleh dokter klinisi
- b. Subjek bersedia ikut dalam penelitian dan menandatangani form persetujuan

2.5.2 Kriteria Eksklusi

- a. Pasien dengan riwayat keganasan
- b. Pasien dengan tanda-tanda sepsis
- c. Pasien dengan riwayat transplantasi ginjal
- d. Pasien PGK yang menjalani hemodialisa

2.6 Izin Penelitian dan *Ethical Clearance*

Setiap tindakan dalam pelaksanaan penelitian ini dilakukan seizin dan sepengetahuan subjek yang dijadikan sampel penelitian melalui lembar *informed consent*. Kelayakan etik penelitian ini diperoleh dari Komite Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin-Rumah Sakit Universitas Hasanuddin-Rumah Sakit Wahidin Sudirohusodo Makassar (KEPK FKUH-RSUH-RSWS) dengan nomor *Ethical Clearance*: 75/UN4.6.4.5.31/PP36/2025

2.7 Teknik Pengumpulan Data

2.7.1 Alokasi Subjek

Penelitian dilakukan pada pasien penyakit ginjal kronik yang memeriksakan diri di Rumah Sakit Wahidin Sudirohusodo Makassar yang memenuhi kriteria inklusi dan bersedia mengikuti penelitian dengan menandatangani *informed consent*.

2.7.2 Pengumpulan Data

Penelitian ini dilaksanakan dengan beberapa tahap sebagai berikut:

- a. Melakukan pencatatan identitas pasien yang memenuhi kriteria inklusi dan memberikan penjelasan lengkap mengenai tujuan dan manfaat penelitian
- b. Pasien/wali mengisi dan menandatangani *informed consent* sebagai tanda persetujuan.
- c. Pengambilan sampel darah vena pada pasien PGK sebanyak 3 mL dalam

tabung tanpa antikoagulan

- d. Nilai GFR diukur menggunakan rumus penghitungan GFR berdasarkan serum kreatinin. Hasil kreatinin serum diperoleh dari data sekunder rekam medis pasien.
- e. Pemeriksaan kadar TIMP-2 serum dengan metode ELISA dengan kit ELISA Elabscience® Human TIMP-2 USA di Instalasi Laboratorium Biologi Molekular Hasanuddin *University Medical- Research center*.

2.8 Prosedur Kerja Pemeriksaan TIMP-2

Tes TIMP-2 dengan menggunakan metode ELISA

2.8.1 Pra Analitik

2.8.1.1 Alat dan Bahan

- a. 96 *well microplate* yang dilapisi antibodi poliklonal anti human TIMP-2
- b. Total TIMP-2 Conjugate: antibodi poliklonal anti *human* TIMP-2 terkonjugasi *horseradish peroxidase*
- c. Larutan standar
- d. *Assay diluents*
- e. *Calibrator Diluent*
- f. *Wash Buffer Concentrate*
- g. *Color Reagent A* (hidrogen peroksida)
- h. *Color Reagent B* (kromogen *tetramethylbenzidine*).
- i. *Stop Solution*
- j. *Plate Covers*
- k. ELISA reader

2.8.1.2 Persiapan Reagen

- a. Jenis sampel: serum, diencerkan 10 kali dengan mencampur 25 μL serum dengan 225 μL diluen kalibrator.
- b. Sampel stabil selama 24 jam pada suhu 2-8°

2.8.2 Analitik

- a. Prinsip Tes

Tes ini menggunakan prinsip *enzyme-linked immune-sorbent assay* (ELISA) *sandwich*. *Microplate* telah dilapisi antibodi poliklonal spesifik untuk TIMP-2. Larutan standar dan sampel dimasukkan ke dalam *well*, dan akan terikat pada antibodi yang terimobilisasi. Setelah inkubasi dilakukan

pencucian untuk membuang substansi yang tidak terikat. Antibodi poliklonal spesifik untuk TIMP-2 yang terikat enzim kemudian ditambahkan. Setelah inkubasi dan pencucian untuk membuang enzim yang tidak terikat, ditambahkan larutan substrat yang akan bereaksi dengan enzim dan terbentuk warna. Substrat yang dikatalisis oleh enzim menghasilkan produk warna biru yang berubah menjadi kuning setelah penambahan larutan asam *stop solution*. Intensitas warna sebanding dengan jumlah TIMP-2 dalam sampel. Baca absorbansi pada panjang gelombang 450 nm dalam plat *micro reader*.

b. Cara Kerja

- 1) Reagen, larutan standar dan sampel dipersiapkan sesuai petunjuk.
- 2) Sebanyak 100 μL *Assay Diluent* ditambahkan ke tiap *well*.
- 3) Sebanyak 50 μL larutan standar, kontrol dan sampel ditambahkan ke dalam *well*, inkubasi selama dua jam pada suhu ruangan di dalam *microplate shaker*.
- 4) *Well plate* diaspirasi dan dicuci sebanyak empat kali.
- 5) Sebanyak 200 μL *conjugate* ditambahkan ke tiap *well* dan diinkubasi selama dua jam pada suhu ruangan di dalam *shaker*.
- 6) Langkah ke-4 diulangi kembali.
- 7) Sebanyak 200 μL larutan substrat ditambahkan ke tiap *well* dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruangan.
- 8) *Stop solution* ditambahkan ke tiap *well* dan dibaca oleh alat spektrofotometer pada panjang gelombang 450 nm.

2.9 Definisi Operasional dan Kriteria Objektif

- a. Pasien Penyakit Ginjal Kronik adalah pasien yang terdiagnosis PGK oleh dokter klinisi pada rekam medis pasien, yang memenuhi kriteria diagnosis yaitu adanya kerusakan ginjal selama 3 bulan atau lebih yang mencakup:
 - 1) ditemukan satu atau lebih penanda kerusakan ginjal (albuminuria, kelainan pada sedimen urin, gangguan tubulus ginjal, abnormalitas gambaran histologi ginjal, kerusakan ginjal berdasarkan hasil pencitraan atau radiologi, dan riwayat transplantasi ginjal); dan atau
 - 2) adanya penurunan laju filtrasi glomerulus kurang dari 60 mL/menit/1,73 m².
- b. Kadar *tissue inhibitor metalloproteinase-2* adalah kadar TIMP-2 serum

pasien yang diperiksa menggunakan metode ELISA. Hasil dinyatakan dalam satuan ng/mL.

- c. Nilai *estimated Glomerular Filtration Rate* (eGFR) pada penelitian adalah perhitungan estimasi GFR pasien dengan menggunakan rumus *Cockcroft-Gault* sebagai berikut:

$$\text{eGFR (ml/mnt)} : \frac{(140 - \text{umur}) \times \text{berat badan(kg)} \times 1,73}{72 \times \text{kreatinin serum(mg/dl)}} \times (0,85 \text{ jika wanita})$$

- d. Stadium PGK yaitu klasifikasi kategori penyakit berdasarkan acuan nilai eGFR sebagai berikut:

Tabel 1. Kategori acuan nilai eGFR

Kategori GFR	GFR (ml/min/1.73 m ²)	Penilaian
G1	≥ 90	Normal
G2	60-89	Penurunan GFR ringan
G3a	45-59	Penurunan GFR ringan-sedang
G3b	30-44	Penurunan GFR sedang-berat
G4	15-29	Penurunan GFR berat
G5	< 15	Gagal ginjal

2.10 Analisis Data

Seluruh data yang diperoleh dikelompokkan sesuai tujuan dan jenis data, kemudian dianalisis dengan metode statistik yang sesuai menggunakan SPSS sebagai berikut:

- Perhitungan statistik deskriptif yaitu nilai minimum, maksimum, mean dan standar deviasi untuk variabel data numerik.
- Analisis statistik dilakukan menggunakan uji Kolmogorov-Smirnov untuk menilai normalitas data. Uji Spearman, Kruskal-Wallis, dan Mann-Whitney digunakan sesuai distribusi data. Hasil analisis disajikan dalam bentuk tabel, diagram, grafik dan narasi. Hasil analisis dinyatakan bermakna jika $p \leq 0,05$.

2.11 Alur Penelitian

