

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit Ginjal Kronis (PGK) merupakan masalah kesehatan masyarakat global dengan prevalensi dan insidens yang tinggi, sehingga menimbulkan masalah kesehatan serius dan memiliki biaya kesehatan yang mahal. Penyakit ginjal kronik (PGK) adalah penyakit adanya kelainan pada struktur atau fungsi ginjal yang berlangsung lebih dari 3 bulan dan kriteria kerusakan ginjal mencakup 1 atau lebih penanda kerusakan ginjal [1]. Tingkat keparahan PGK dapat diukur dengan rendahnya nilai estimasi laju filtrasi glomerulus (eLFG) berbasis kreatinin serum [2]. Proses penurunan fungsi ginjal akibat PGK bersifat progresif dan *irreversibel* sehingga dianggap salah satu kontributor terbesar terhadap morbiditas dan mortalitas akibat penyakit tidak menular (PTM) [3].

Berdasarkan *Global Burden of Disease* tahun 2017, prevalensi PGK secara global adalah 9,1% sekitar 700 juta kasus. Kematian global pada tahun 2017, PGK sebagai penyebab kematian terbesar ke-12 [2]. Hasil Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) tahun 2018 oleh Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan menunjukkan bahwa prevalensi PGK di Indonesia sebesar 3,8 orang per 1000 penduduk, dan sekitar 60% pasien PGK tersebut harus menjalani dialisis [4]. Angka ini lebih rendah dibandingkan prevalensi PGK di negara-negara lain, juga hasil penelitian Perhimpunan Nefrologi Indonesia (PERNEFRI) tahun 2006, yang mendapatkan prevalensi PGK sebesar 12,5%. Prevalensi penyakit ginjal tertinggi terdapat di provinsi Kalimantan Utara sebesar 0,64% dan terendah di Sulawesi Barat 0,18%. [5].

Pedoman Peningkatan Hasil Global Penyakit Ginjal / *Kidney Disease Improves Global Outcomes* (KDIGO) merekomendasikan penggunaan nilai estimasi laju filtrasi glomerulus dan proteinuria sebagai biomarker laboratorium untuk menilai risiko perkembangan PGK [1]. Nilai estimasi laju filtrasi glomerulus biasanya dievaluasi dengan pengukuran kreatinin serum yang juga memiliki beberapa keterbatasan. Pada anak-anak dengan PGK, nefron mengalami hipertrofi dan hiperfiltrasi. Perubahan kompensasi ini mempertahankan nilai estimasi laju filtrasi glomerulus (eLFG) dan karena itu pengukuran kreatinin serum dapat meremehkan kerusakan yang sedang terjadi. [2].

Nilai estimasi laju filtrasi glomerulus merupakan parameter yang memberikan gambaran fungsi ginjal. Penyakit Ginjal Kronis (PGK) terjadi penurunan total nefron baik ukuran maupun jumlahnya, perubahan struktur tubulointerstisial, penebalan membran basalis glomerulus dan glomerulosklerosis. Faktor yang mempengaruhi estimasi LFG adalah massa otot, diet, jenis kelamin, usia, etnis, riwayat penyakit dan konsumsi obat-obatan (obat antiinflamasi non steroid). Nilai eLFG ditentukan oleh tekanan filtrasi glomerulus, permukaan dinding kapiler glomerulus, dan permeabilitas

untuk zat terlarut. Berdasarkan *National Kidney Foundation*, nilai eLFG normal berkisar antar 90-120 mL/menit/1.73m² [6]. *The Kidney Disease Improving Global Outcomes* (KDIGO) membuat stadium PGK yang menggunakan *creatinin-based* eLFG dan albuminuria [1]. Perhitungan nilai eLFG pada PGK dilakukan untuk menentukan stadium kerusakan ginjal. Stadium kerusakan ginjal dibedakan menjadi 5 stadium berdasarkan nilai eLFG dapat dilihat pada (Tabel 1). dan adanya penurunan eLFG telah dijadikan sebagai salah satu kriteria diagnostik PGK [7].

Tabel 1. Stadium PGK Berdasarkan Nilai eLFG [1]

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

*Keterangan: Apabila tidak ada bukti kerusakan ginjal, baik LFG kategori G1 maupun G2 tidak memenuhi kriteria PGK

Estimasi Laju Filtrasi Glomerulus (eLFG) = *Estimated Glomerular Filtration Rate* (eGFR) merupakan kemampuan glomerulus ginjal untuk memfiltrasi darah. Stadium PGK berdasarkan nilai eLFG dapat dilihat pada (Tabel 1) berikut [1]. Besarnya nilai eLFG sama dengan klirens suatu bahan yang difiltrasi secara bebas oleh glomerulus, tidak direabsorpsi dan tidak disekresi oleh tubulus ginjal. Beberapa rumus yang digunakan untuk memperkirakan nilai eLFG melalui kadar kreatinin serum : ([8]; [9])

1. Rumus *Cockroft-Gault*

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

2. Rumus *Modification of Diet in Renal Disease* (MDRD) :

$$\text{eLFG (ml/mnt/1,73m}^2\text{)} = 186 \times (\text{kreatinin serum})^{-1,154} \times (\text{umur})^{-0,203} \times (0,742)^{\text{wanita}} \times (1,210)^{\text{pria}}$$

3. Rumus *Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration* (CKD- EPI) *creatinin*

eLFG (ml/menit/1,73m²)

$$= 141 \times \min(\text{SCr}/k, 1)^\alpha \times \max(\text{SCr}/k, 1)^{-1,209} \times (0,993)^{(\text{usia})} [\times 1,018 \text{ (jika wanita)}] [\times 1,159 \text{ (jika ras negro)}]$$

Scr : kreatinin serum dalam mg/dL

α : ketepatan untuk wanita (-0,329) dan untuk pria (0,411)

k : ketetapan wanita (0,7) dan pria (0,9)

min : nilai minimal dari sCr/k atau 1

maks: nilai maksimal sCr/k atau 1

4. Rumus *Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration (CKD-EPI) Cystatin C*

eLFG (ml/menit/1,73m²)

$$= 133 \times \min(\text{SCysC}/0,8, 1) - 0,499 \times \max(\text{SCysC}/0,8, 1) - 1,328 \times (0,996)^{(\text{usia})} [\times 0,932 \text{ (bila wanita)}]$$

5. Perhitungan eGFR pada anak ditentukan dengan Rumus *Schwartz*

$$eLFG = (k \times \text{TB} / \text{Serum kreatinin (mg/dL)})$$

k : konstanta (nilai konstanta berdasarkan usia dan jenis kelamin)

Neonatus – 1 tahun : k=0,33 (prematuur); 0,45
(aterm) Anak usia 1-13 tahun : k=0,55

Anak perempuan >13 tahun : k=0,55

Anak laki-laki >13 tahun : k=0,70

TB : tinggi badan (cm)

Biomarker plasma dan urin baru sebagai penanda kerusakan PGK dapat mengidentifikasi pasien dengan kreatinin serum normal tetapi ditemukan cedera sel tubulus, disfungsi tubulus, peradangan, fibrosis tubulointerstitial, dan peningkatan permeabilitas glomerulus. [10]. Biomarker penanda tubulus sebagai reabsorpsi endogen adalah *Alpha 1 microglobulin* (α 1M), *Beta-2 microglobulin* (B2M), albumin dan urea [11]. Biomarker penanda disfungsi tubulus α 1M urin yang lebih tinggi dan penanda cedera tubulus proksimal didapatkan KIM-1 (*kidney injury molecule-1*) urin yang lebih tinggi dengan penurunan eLFG dan kejadian PGK [12].

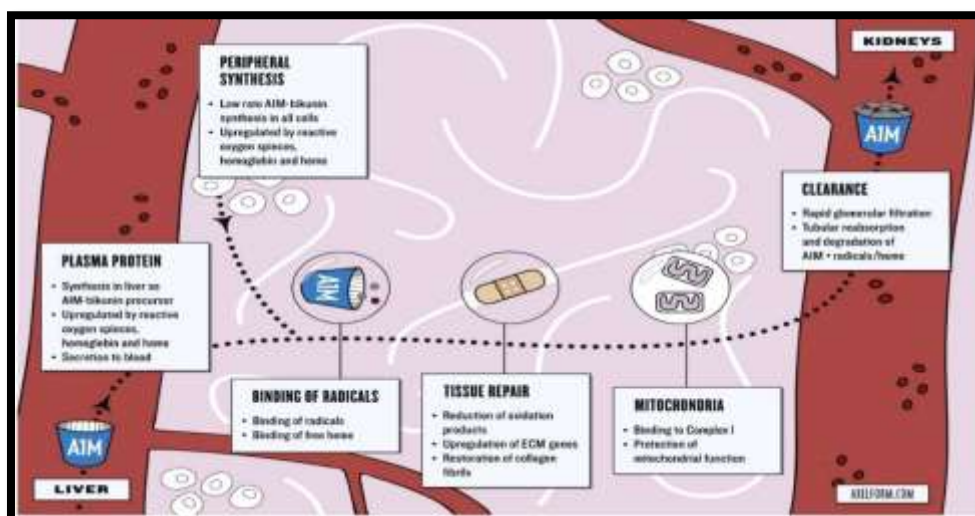
Alpha 1 microglobulin (α 1M) merupakan protein berukuran relatif kecil memiliki berat molekul 26 kDa dan terdiri dari polipeptida tunggal dengan 183 asam amino [13]. Protein ini diproduksi oleh hepatosit dan disaring secara bebas oleh glomerulus, α 1M sekitar 99% bebas dalam ultrafiltrat selanjutnya dikatabolisme di tubulus. Metabolisme sintesis protein α 1M terjadi di hati, setengah dari protein yang beredar berikatan kompleks dengan Immunoglobulin A (IgA). Protein α 1M didalam darah terdapat dua bentuk α 1M yaitu bentuk monomer bebas dan kompleks kovalen [14]. Sekitar 50% dari total plasma α 1M ditemukan dalam bentuk bebas, α 1M dalam plasma berikatan kompleks dengan imunoglobulin (IgA) melalui ikatan disulfida yang resisten terhadap reduksi, sekitar 7% berikatan dengan albumin dan 1% berikatan dengan protrombin [15]. Bentuk bebas α 1M mudah disaring oleh glomerulus dan diserap kembali oleh sel tubulus proksimal. [16].Kadar α 1M dalam tubuh sangat bervariasi dapat dilihat dalam (Tabel 2) [17].

Kerusakan glomerulus dan tubulus menyebabkan kerusakan ginjal dalam fungsi reabsorpsi endogen sehingga terjadi penurunan nilai laju filtrasi glomerulus dan mekanisme reabsorpsi di tubulus menjadi terlalu jenuh dan rusak menyebabkan banyak protein ultrafiltrat dalam urin. [18]. Peningkatan kadar α 1M terjadi akibat kerusakan ginjal yang tidak berfungsi dengan baik dan tidak mempunyai kemampuan mengeluarkan protein-protein tertentu sehingga protein α 1M sebagai penanda gangguan reabsorpsi tubulus. Kadar α 1M yang relatif tinggi di ginjal, penggunaannya sebagai pelindung ginjal dari cedera akibat stress oksidatif dan sebagai biomarker kerusakan tubulus [13].

Tabel 2. Nilai Referensi Kadar α 1M bebas, Total, IgA- α 1M [17].

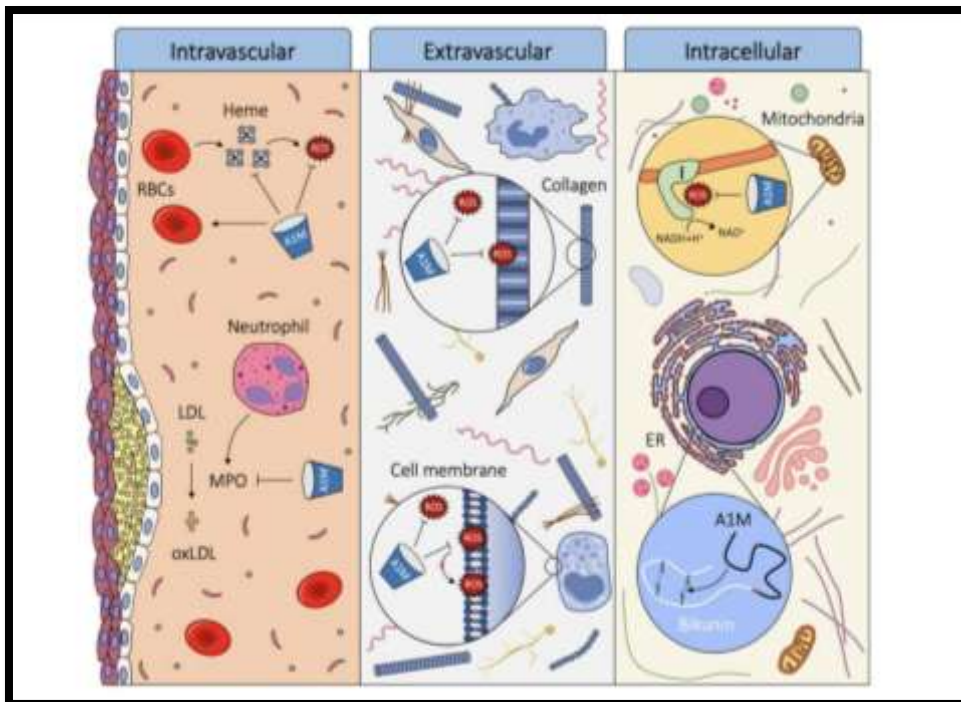
Spesimen	Bentuk α 1M	Nilai Referensi/Batas
Serum	α 1M bebas	3.5 μ mol/l ^a
	IgA- α 1M	2.6 μ mol/l ^a
	Total α 1M	4.6 μ mol/l ^a
Plasma	α 1M bebas	11.7 mg/l
	IgA- α 1M	59.2 mg/l
Urin	α 1M	0.31 μ mol/l ^a
	α 1M	>95 limit referensi: 1.27 g/mol creatinine (usia 18-40 th) 2.20 g/mol creatinine (usia>40 th)
	IgA- α 1M	Tidak terdeteksi

Mekanisme molekuler $\alpha 1M$ dalam peran sebagai antioksidan pelindung sel dan jaringan dalam stres oksidatif meliputi tiga mekanisme molekuler yang berkontribusi sesuai fungsinya yaitu 1) aktivitas reduktase, 2) pengikatan radikal dan 3) pengikatan heme [14] [15] [19]. Sintesis $\alpha 1M$ terjadi di hati dan ekspresi $\alpha 1M$ diregulasi oleh peningkatan kadar hemoglobin, heme, dan radikal bebas. Protein $\alpha 1M$ disintesis sebagai $\alpha 1M$ -bikunin, protein prekursor yang diolah di aparatus golgi, dan protein $\alpha 1M$ dan bikunin disekresi secara terpisah. Setelah disekresi, $\alpha 1M$ dengan cepat diekstravasasi dan berkontribusi pada pemeliharaan jaringan melalui pengikatan radikal dan pengikatan heme, perbaikan jaringan, dan perlindungan mitokondria pada sel-sel yang terluka. Proses terakhir $\alpha 1M$ yang termodifikasi oleh heme dan radikal kembali diambil oleh aliran darah melalui mekanisme yang tidak diketahui, dan dibersihkan melalui filtrasi glomerulus serta reabsorpsi dan degradasi tubulus seperti dirangkum secara singkat dan diuraikan secara skematis pada (Gambar 1) [15].



Gambar 1. Mekanisme Molekul $\alpha 1M$ [15].

Fungsi $\alpha 1M$ dan peran biologis terhadap penyakit dibedakan dalam tiga kompartemen yaitu intravaskular, ekstrasvaskular dan intraseluler. Fungsi dalam intravaskular adalah aktivasi enzim reduktase, pengikatan heme, degradasi heme, perlindungan eritrosit terhadap hemolisis dan mencegah *myeloperoxidase* (MPO) dengan mengoksidasi *low-density lipoprotein* (LDL). Fungsi dalam ekstrasvaskular adalah $\alpha 1M$ menghambat penghancuran fibril kolagen yang terpapar radikal yang dihasilkan oleh reaksi hemoglobin, heme atau fenton, dan memperbaiki fibril kolagen sehingga penurunan kerusakan komponen struktural *extraceluller matrix* (ECM) di ruang ekstrasvaskular ginjal dan plasenta, termasuk fibril kolagen. Fungsi dalam intraseluler adalah peran fungsional $\alpha 1M$ dalam mitokondria belum sepenuhnya dipahami, namun diduga bahwa $\alpha 1M$ berperan dalam mempertahankan homeostasis redoks mitokondria [20]. Peran biologis $\alpha 1M$ (Gambar 2) [13].



Gambar 2. Peran Biologis *Alpha 1 Microglobulin* [13]

Kondisi patologis terkait kadar $\alpha 1M$ dalam tubuh (Tabel 3) [17]. Peningkatan kadar $\alpha 1M$ terjadi akibat kerusakan ginjal terutama filtrasi glomerulus dan reabsorpsi tubulus yang tidak berfungsi dengan baik dan tidak mempunyai kemampuan mengeluarkan protein-protein tertentu sehingga protein $\alpha 1M$ sebagai penanda gangguan reabsorpsi tubulus dan peningkatan risiko *acute kidney injury* (AKI), perkembangan PGK yang cepat. (Bullen et al. 2021). Penurunan drastis nilai laju filtrasi glomerulus dan akumulasi $\alpha 1M$ dalam darah akibat kelebihan beban pada beberapa nefron untuk menyerap kembali protein [17]. Penelitian oleh Miller *et al* (2021) menyimpulkan orang dewasa dengan hipertensi dan PGK didapatkan tiga dari delapan biomarker urin penanda disfungsi dan cedera tubulus ginjal yaitu *kidney injury molecule 1* (KIM-1), *monocyte chemoattractant protein-1* (MCP-1) dan ($\alpha 1M$) yang meningkat. [22].

Tabel 3. Kondisi Patologis dan Kadar α 1M [17].

Spesimen Tubuh	Kadar α 1M	Kondisi
Plasma/serum	Meningkat	<ul style="list-style-type: none"> • Penurunan laju filtrasi glomerulus • Penyakit ginjal non-IgA myeloma, nilai α1M total dan bebas serum korelasi positif dengan nilai kreatinin serum • Pemantauan fungsi ginjal • Melanoma maligna, nilai α1M bebas serum dan kompleks IgA
	Tidak ada perubahan	<ul style="list-style-type: none"> • Reaksi fase akut, penyakit neoplastic, gangguan system saraf pusat, infeksi, rheumatoid arthritis dan hepatitis
	Menurun	<ul style="list-style-type: none"> • Infeksi HIV dini tanpa gejala • Gangguan insufisiensi hati parah • Sirosis hati dekompensata
Urin	Meningkat	<ul style="list-style-type: none"> • Gangguan fungsi tubular • Keracunan logam berat • Nefropati • Kolik ginjal dan obstruksi ureter kronis • Nefropati penderita DM • Penurunan laju filtrasi glomerulus

Kadar α 1M serum meningkat seiring bertambahnya usia dan dipengaruhi oleh fungsi ginjal dan hati sebagai tempat filtrasi dan sintesis protein α 1M sehingga kadar α 1M meningkat pada gangguan fungsi ginjal dan gangguan fungsi hati. Hubungan antara peningkatan kadar α 1M seiring bertambahnya usia, karena penurunan fungsi ginjal secara bertahap. [14]. Ekskresi α 1M dalam urin meningkat pada pasien dengan LFG kurang dari 60 mL/menit, nefropati interstitial kronis, glomerulonefritis karena protein dapat melewati membran glomerulus yang rusak [23]. Kadar α 1M yang relatif tinggi di ginjal, penggunaannya sebagai pelindung ginjal dari cedera akibat stress oksidatif dan sebagai biomarker kerusakan tubulus [13].

Beberapa penelitian telah menjelaskan peran α 1M pada penyakit ginjal, namun masih sedikit penelitian yang menjelaskan hubungan α 1M dengan nilai estimasi laju filtrasi glomerulus pada pasien PGK. Penelitian yang membahas peranan α 1M serum sebagai biomarker pada PGK masih jarang dilakukan di Indonesia, termasuk belum pernah dilakukan di kota Makassar. Berdasarkan latar belakang di atas, penulis tertarik melakukan penelitian untuk mengetahui korelasi antara α 1M serum dengan nilai estimasi laju filtrasi glomerulus pada pasien PGK.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah di atas dapat dirumuskan pertanyaan sebagai berikut: “Bagaimana korelasi kadar *Alpha 1 Microglobulin* (α 1M) serum dengan nilai estimasi laju filtrasi glomerulus pada subjek penyakit ginjal kronis?”

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui nilai korelasi kadar *Alpha 1 Microglobulin* (α 1M) serum dengan nilai estimasi laju filtrasi glomerulus pada subjek penyakit ginjal kronis.

1.3.2 Tujuan Khusus

1.3.2.1 Mengetahui rerata kadar α 1M serum pada subjek penyakit ginjal kronis.

1.3.2.2 Mengetahui nilai eLFG pada subjek penyakit ginjal kronis

1.3.2.3 Mengetahui nilai korelasi antara kadar α 1M serum dan nilai estimasi laju filtrasi glomerulus pada subjek penyakit ginjal kronis.

1.4 Manfaat Penelitian

1.1.1 Manfaat Akademis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi wawasan dan pengetahuan yang baru tentang korelasi kadar α 1M serum dan nilai estimasi laju filtrasi glomerulus pada subjek penyakit ginjal kronis.

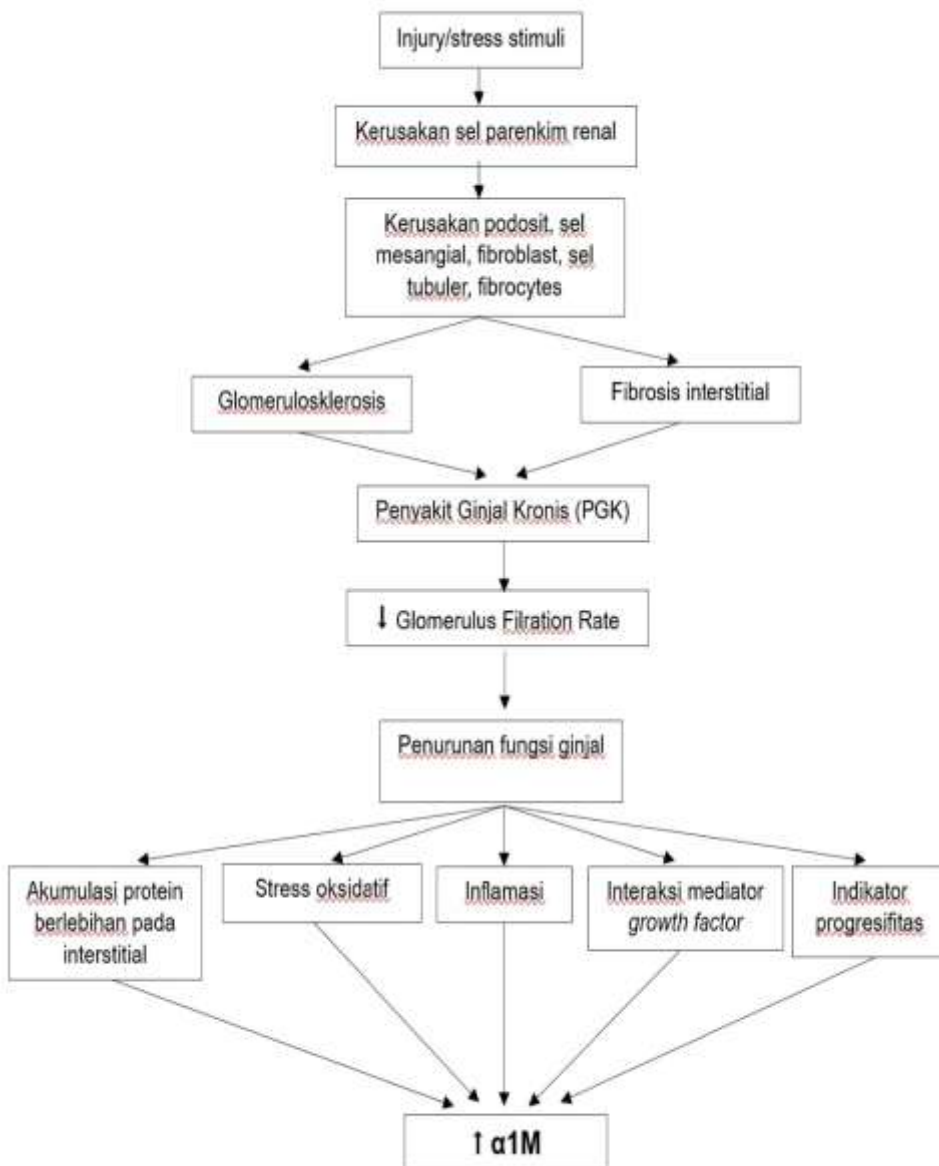
1.1.2 Manfaat Klinis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi bahan pertimbangan para klinisi dan tenaga kesehatan tentang kadar α 1M serum dan nilai estimasi laju filtrasi glomerulus dalam menilai progresifitas pada subjek penyakit ginjal kronis sebagai nilai prognostik.

1.1.3 Manfaat Pengembangan Penelitian

Hasil penelitian diharapkan sebagai dasar pengembangan penelitian lebih lanjut peranan α 1M serum sebagai biomarker pada subjek penyakit ginjal kronis.

1.5 Kerangka Teori



1.6 Kerangka Konsep



BAB II METODE PENELITIAN

2.1 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian dengan desain *cross sectional*.

2.2 Tempat dan Waktu Penelitian

2.2.1 Tempat Penelitian

- a. Poliklinik, instalansi gawat darurat dan ruang rawat inap pasien Ginjal Hipertensi Rumah Sakit Wahidin Sudirohusodo untuk perekrutan subjek penelitian.
- b. Laboratorium Patologi Klinik Rumah Sakit Wahidin Sudirohusodo untuk pengambilan sampel, persiapan sampel serum dan pemeriksaan kreatinin serum untuk perhitungan eLFG.
- c. Laboratorium *Hasanuddin University Medical Research Center (HUMRC)* Rumah Sakit Perguruan Tinggi Negeri Universitas Hasanuddin untuk pemeriksaan $\alpha 1M$ serum menggunakan metode *enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)*.

2.2.2 Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan bulan Desember 2024 hingga April 2025.

2.3 Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah seluruh subjek penyakit ginjal kronis (PGK) di Poliklinik rawat jalan, instalansi gawat darurat, dan rawat inap di Rumah Sakit Wahidin Sudirohusodo.

Sampel dalam penelitian ini adalah subjek yang berobat di poliklinik rawat jalan, instalansi gawat darurat dan rawat inap di Rumah Sakit Wahidin Sudirohusodo yang telah didiagnosis PGK oleh dokter klinisi KSM Penyakit Dalam Divisi Ginjal sebagai Penyakit Ginjal Kronis dan semua stadium PGK yang belum dilakukan hemodialisa berdasarkan rekam medis pasien.

2.4 Pengukuran Besar Sampel

Penelitian ini menggunakan metode *consecutive sampling* yaitu bersifat eksploratif dengan mengambil seluruh sampel yang memenuhi kriteria inklusi dan kriteria eksklusi selama periode penelitian sampai memenuhi jumlah minimal standar besar sampel. Besar sampel diperkirakan dengan menggunakan (*Lemeshow*) untuk besar populasi (N) yang tidak diketahui [24].

Keterangan:

$Z\alpha$ = Nilai Standar untuk 0.05 = 1.96, $Z\alpha/2$ = 3.84

P = Proporsi variabel yang diteliti = 15% = 0.15

Q = 1 - P = 0,85

d = Tingkat ketetapan absolut yang dikehendaki = 0,1

n = 48,96 \approx 49 sampel

$$n = \frac{(Z\alpha)^2 PQ}{d^2}$$

Berdasarkan perhitungan ini, jumlah minimal sampel dalam penelitian Korelasi Kadar *Alpha 1 microglobulin* (α 1M) Serum dengan Nilai Estimasi Laju Filtrasi Glomerulus pada Subjek Penyakit Ginjal Kronik adalah minimal 49 sampel pada semua stadium PGK.

2.5 Kriteria Inklusi dan Eksklusi

1. Kriteria Inklusi

- a. Semua pasien yang terdiagnosis penyakit ginjal kronis (PGK) oleh dokter klinisi KSM penyakit dalam divisi ginjal hipertensi Rumah Sakit Wahidin Sudirohusodo dan semua stadium PGK yang belum dilakukan hemodialisa berdasarkan rekam medis pasien.
- b. Pasien usia diatas 18 tahun.

2. Kriteria Eksklusi

- a. Pasien PGK dengan riwayat sindroma koroner akut
- b. Pasien PGK dengan riwayat gangguan fungsi hati
- c. Pasien PGK dengan riwayat sepsis
- d. Pasien PGK dengan riwayat keganasan
- e. Sampel serum ikterik, lipemik atau hemolisis dan tidak memungkinkan untuk pengambilan sampel ulang

2.6 Izin Subjek Penelitian dan *Ethical Clearance*

Setiap tindakan dilakukan setelah pemberian informasi melalui *informed consent* dalam melaksanakan penelitian. Kelayakan etik penelitian ini diperoleh dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin – Rumah Sakit Perguruan Tinggi Negeri Universitas Hasanuddin – Rumah Sakit Wahidin Sudirohusodo, Makassar dan rumah sakit jejaring dengan nomor *Ethical Clearance*: 1050/UN.4.6.4.5.31/PP36/2024 dan 27139/UN4.6.8/PT.01.04/2024.

2.7 Teknik Pengumpulan Data

1. Alokasi Subjek

Penelitian dilakukan pada subjek dewasa usia diatas 18 tahun yang berobat di Rumah Sakit Wahidin Sudirohusodo, Makassar yang memenuhi kriteria inklusi dan bersedia mengikuti prosedur penelitian dengan menandatangani *informed consent*.

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 Penyakit Ginjal Kronis (PGK) sebanyak 3 mL dalam tabung tanpa antikoagulan
- d. Nilai eLFG diukur menggunakan rumus penghitungan LFG berdasarkan kreatinin serum. Hasil kreatinin serum diperoleh dari data sekunder rekam medis pasien.
- e. Pemeriksaan kadar α 1M serum dengan metode ELISA dengan kit ELISA Assay Genie® di Instalasi Laboratorium Biologi Molekular Hasanuddin *University Medical- Research Center*.

2.8 Prosedur Kerja Pemeriksaan *Alpha 1 microglobulin* ($\alpha 1M$)

Pemeriksaan $\alpha 1M$ menggunakan metode *Enzyme-linked immunosorbent Assay* (ELISA) secara in vitro dalam serum manusia [25].

1. Pra Analitik [25].

a. Persiapan Pasien : tidak ada persiapan khusus

b. Persiapan Sampel

Jenis sampel: Sampel serum

Setelah pengambilan darah, diamkan darah menggumpal selama 30 menit pada suhu kamar atau semalaman disimpan pada suhu 2°C - 8°C. Sampel darah disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 1000 rpm. Ambil supernatan (serum) dan dapat disimpan pada suhu 2°C - 8°C, jika tidak sampel harus disimpan pada suhu -20°C dalam waktu 2 bulan atau suhu - 80°C dalam waktu 6 bulan.

c. Alat dan Bahan

- 1) 96 *well microplate* yang dilapisi antibodi poliklonal anti human $\alpha 1M$
- 2) Total *Alpha 1 microglobulin* ($\alpha 1M$) Conjugate: antibodi poliklonal terkonjugasi biotin, Avidin yang terkonjugasi dengan *horseradish peroxidase* (HRP)
- 3) Larutan standar dan Aquadest
- 4) *Wash Solution*
- 5) *Detection Reagent A* (substrat TMB)
- 6) *Detection Reagent B* (asam sulfat)
- 7) *Stop Solution*
- 8) *Plate Shakers* dan *Plate Covers*
- 9) *Plate reader* dan *ELISA reader*
- 10) Inkubator
- 11) *Centrifuger*
- 12) Kertas saring
- 13) Mikropipet dan tip pipet mikro
- 14) Tabung darah sampel

2. Analitik [25].

a. Prinsip tes

Tes ini menggunakan metode *sandwich enzyme-linked immune-sorbent assay* (ELISA). *Microplate* telah dilapisi antibodi poliklonal spesifik terhadap $\alpha 1M$. Antibodi terkonjugasi biotin digunakan sebagai antibodi pendeteksi. Larutan standar dan sampel dimasukkan ke dalam *well*, dan akan terikat pada antibodi terkonjugasi biotin yang spesifik terhadap $\alpha 1M$ dicuci sebanyak lima kali dengan larutan buffer pencuci. Avidin yang terkonjugasi dengan *horseradish peroxidase* (HRP) ditambahkan ke dalam *well* dan di inkubasi. Setelah inkubasi, ditambahkan larutan substrat *tetramethyl-benzidine* (TMB) yang akan bereaksi dengan sampel yang mengandung $\alpha 1M$, antibodi terkonjugasi biotin dan avidin terkonjugasi enzim yang akan dan terbentuk warna. Substrat yang dikatalisis oleh enzim menghasilkan produk warna biru yang berubah menjadi kuning setelah penambahan larutan asam sulfat *stop solution* dan perubahan warna diukur secara spektrofotometri dengan panjang gelombang 450 nm dalam plat *microplate reader*. Kadar $\alpha 1M$ dalam sampel kemudian ditentukan dengan membandingkan *optic density* (OD) sampel dengan kurva standar.

b. Cara Kerja

1. Alat dan bahan dipersiapkan sesuai petunjuk. *Microplates*, semua reagen dan sampel dibiarkan mencapai suhu kamar ($18^{\circ}C - 25^{\circ}C$) secara alami sebelum memulai prosedur pengujian.
2. Siapkan *microplates*, tambahkan sebanyak 100 μL larutan standar ke dalam masing-masing *well plates* dengan pengenceran standar.
3. Tambahkan sebanyak 50 μL sampel ke dalam *well plates*
4. Inkubasi selama 2 jam pada suhu $37^{\circ}C$ di dalam *microplate shaker*
5. Tambahkan sebanyak 100 μL *Detection Reagen A* ditambahkan ke dalam masing-masing *well plates*, *well plates* ditutup dan diinkubasi selama 1 jam pada suhu ruangan di dalam *microplate shaker*.
6. Semua *Well plate* diaspirasi dan dicuci bersih dengan 100 μL *Wash solution* sebanyak 3 kali.
7. Tambahkan *Detection Reagen B* sebanyak 100 μL ke dalam masing-masing *well plates*, *well plates* ditutup dan diinkubasi selama 1 jam pada suhu ruangan di dalam *microplate shaker*.
8. Semua *Well plate* diaspirasi dan dicuci bersih dengan 100 μL *Wash solution* sebanyak 5 kali.

9. Larutan substrat ditambahkan sebanyak 200 μL ke dalam *well plates* dan diinkubasi selama 10 menit pada suhu 37°C. Terjadi perubahan warna menjadi warna biru setelah penambahan larutan substrat.
10. *Stop solution* ditambahkan sebanyak 50 μL ke dalam masing-masing *well plates*. Terjadi perubahan warna biru menjadi warna kuning setelah penambahan *stop solution*.
11. Hasil dibaca oleh spektrofotometer pada panjang gelombang 450 nm menggunakan pembaca ELISA dalam waktu 15 menit setelah *stop solution* ditambahkan.

3. Pasca Analitik [25].

Alpha 1 microglobulin (α1M) :

Rentang deteksi 0.625 ng/mL– 40 ng/mL.

2.9 Definisi Operasional dan Kriteria Objektif

1. Pasien Penyakit Ginjal Kronis (PGK) adalah semua pasien yang terdiagnosis Penyakit Ginjal Kronis (PGK) oleh dokter klinisi KSM Penyakit Dalam Divisi Ginjal Hipertensi Rumah Sakit Wahidin Sudirohusodo dan semua stadium PGK yang belum dilakukan hemodialisa berdasarkan rekam medis pasien. Stadium PGK berdasarkan nilai eLFG yaitu :

Kategori LFG	LFG ($\text{ml}/\text{min}/1.73 \text{ m}^2$)	Penilaian
G1	≥ 90	Normal
G2	60-89	Penurunan LFG ringan
G3a	45-59	Penurunan LFG ringan-sedang
G3b	30-44	Penurunan LFG sedang-berat
G4	15-29	Penurunan LFG berat
G5	< 15	Gagal ginjal (Non Dialisis atau Sedang menjalani dialisis)

2. Kadar *Alpha 1 microglobulin* (α1M) adalah kadar α1M serum pasien diperiksa menggunakan metode ELISA. Rentang deteksi α1M adalah 0.625 ng/mL – 40 ng/mL.
3. Nilai estimasi laju filtrasi glomerulus (eLFG) adalah perhitungan nilai eLFG pasien dengan menggunakan rumus *Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration* (CKD- EPI) *creatinin* sebagai berikut:

$$\begin{aligned}
 & \text{eLFG (ml/menit/1,73m}^2\text{)} \\
 & = 141 \times \min(\text{SCr}/k, 1)^\alpha \times \max(\text{SCr}/k, 1)^{-1,209} \times (0,993)^{(\text{usia})} \left[\times \right. \\
 & \quad \left. 1,018 \text{ (jika perempuan)} \right] \left[\times 1,159 \text{ (jika ras negro)} \right]
 \end{aligned}$$

Nilai normal eLFG pada orang dewasa adalah ≥ 90 (ml/min/1.73 m²).

2.10 Analisis Data

Analisis data dilakukan jika seluruh data yang diperoleh dikelompokkan sesuai tujuan dan jenis data, kemudian dipilih metode statistik yang sesuai yaitu:

1. Perhitungan statistik deskriptif untuk variabel data numerik
2. Perhitungan sebaran frekuensi untuk variabel data kategorik
3. Uji statistik yang digunakan yaitu :
 - a. Uji normalitas data menggunakan *Kolmogorov-Smirnov* karena jumlah sampel ≥ 50 sampel
 - b. Uji statistik untuk menilai hipotesis korelasi antara kadar *Alpha 1 microglobulin* ($\alpha 1M$) dengan nilai estimasi laju filtrasi glomerulus pada pasien Penyakit Ginjal Kronis digunakan *Pearson correlation test* jika data berdistribusi normal atau *Spearman correlation test* jika data tidak berdistribusi normal. Hasil uji hipotesis dinyatakan bermakna jika $p \leq 0.05$
 - c. Hasil uji statistik korelasi dinyatakan dalam koefisien korelasi nilai (r) sebagai berikut :

Nilai (r)	Interpretasi Korelasi
0.00 – 0.20	Sangat lemah
0.21 – 0.40	Lemah
0.41 – 0.60	Sedang
0.61 – 0.80	Kuat
0.81 – 0.99	Sangat Kuat
1.00	Sempurna

2.11 Alur Penelitian

