

**HUBUNGAN RASIO IL-6 URIN/KREATININ URIN DAN  
ERITROSIT DISMORFIK PADA FLOW CYTOMETRY URINE  
ANALYZER DENGAN KELAINAN GLOMERULAR  
PADA PASIEN HEMATURI**

**THESIS**

**Untuk Memenuhi Persyaratan Memperoleh  
Gelar Spesialis Patologi Klinik**



oleh :

**dr. Shylvia Lie**

**NIM 138070500011004**

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS I PATOLOGI KLINIK  
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2018**

## ABSTRAK

Lie S, 2016. Thesis. Hubungan Rasio IL-6 Urin/Kreatinin Urin dan Eritrosit Dismorfik pada *Flow Cytometry Urine Analyzer* dengan Kelainan Glomerular pada Pasien Hematuri. Program Pendidikan Dokter Spesialis I Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Pembimbing Dr. dr. Hani Susianti, Sp.PK(K) dan dr. Anik Widijanti, Sp.PK(K).

**Latar Belakang:** Kelainan glomerular merupakan penyebab tersering penyakit ginjal tahap akhir. Biopsi ginjal adalah standar baku emas menentukan kelainan glomerular, tetapi invasif dan memerlukan persyaratan khusus. Eritrosit pada kelainan glomerular berbentuk dismorfik. Urinalisis dengan *flow cytometry urine analyzer* diharapkan dapat menggantikan pemeriksaan mikroskopis dalam membedakan asal hematuri. Rasio IL-6 urin/kreatinin urin diketahui berkorelasi positif dengan skor jejas glomerulus. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hubungan rasio IL-6 urin/kreatinin urin dan eritrosit dismorfik pada *flow cytometry urine analyzer* guna mengetahui apakah dapat digunakan untuk membedakan kelainan glomerular dan non glomerular.

**Metode:** Subyek penelitian dibagi menjadi kelompok hematuri glomerular, non glomerular dan kontrol sehat. Penentuan hematuri glomerular menggunakan kriteria klinis. Penghitungan eritrosit dismorfik menggunakan *flow cytometry urine analyzer* dan mikroskop fase kontras. Kadar IL-6 urin diukur dengan metode ELISA dan kreatinin urin diukur dengan metode enzimatis.

**Hasil:** Kadar IL-6 urin antara kelompok hematuri glomerular dengan non glomerular dan kelompok hematuri non glomerular dengan kontrol berbeda bermakna ( $p=0,014$ ,  $p=0,007$ ). Kadar IL-6 urin antara kelompok hematuri glomerular dan kontrol tidak berbeda bermakna. Rasio IL-6 urin/kreatinin urin tidak berbeda bermakna antar ketiga kelompok. Kadar IL-6 urin dan rasio IL-6 urin/kreatinin urin hematuri glomerular berkorelasi negatif dengan persentase eritrosit dismorfik pada *flow cytometry urine analyzer* dan mikroskop fase kontras. Persentase eritrosit dismorfik pada *flow cytometry urine analyzer* (*cut off* 51,24%) memiliki sensitivitas 96,70% dan spesifisitas 90,00%, sedangkan rasio IL-6 urin/kreatinin urin (*cut off* 0,135 ng/mg) memiliki sensitivitas 80,00% dan spesifisitas 23,30%, dalam membedakan hematuri glomerular dan non glomerular.

**Kesimpulan:** Persentase eritrosit dismorfik pada *flow cytometry urine analyzer* memiliki nilai diagnostik lebih baik dibanding rasio IL-6 urin/kreatinin urin dalam membedakan hematuri glomerular dan non glomerular.

**Kata kunci:** rasio IL-6 urin/kreatinin urin, eritrosit dismorfik, *flow cytometry urine analyzer*, kelainan glomerular, hematuri

**ABSTRACT**

**Lie S, 2016.** Thesis. The Relationship of Urinary IL-6/Urinary Creatinine Ratio and Dysmorphic Erythrocyte in Flow Cytometry Urine Analyzer with Glomerular Disease on Hematuria Patients. Clinical Pathology Resident Faculty of Medicine Brawijaya University Malang. Preceptor Dr. dr. Hani Susianti, Sp.PK(K) and dr. Anik Widijanti, Sp.PK(K).

**Background:** Glomerular abnormalities are the most common cause of end-stage renal disease. Renal biopsy is the gold standard to determine glomerular abnormalities, but it is invasive and requires special requirements. Erythrocytes in glomerular disorders are dysmorphic. Urinalysis with flow cytometry urine analyzer is expected to replace microscopic examination in distinguishing the origin of hematuria. Urinary IL-6/urinary creatinine ratio was known to be positively correlated with glomerular lesion score. This study aims to determine the relationship of urinary IL-6/urinary creatinine ratio and dysmorphic erythrocytes in flow cytometry urine analyzer to differentiate glomerular and non glomerular abnormalities.

**Methods:** The subjects were divided into glomerular hematuria, non glomerular hematuria and healthy subjects. Determination of glomerular hematuria is using clinical criteria. Calculation of dysmorphic erythrocyte is using flow cytometry urine analyzer and contrast microscope. Urinary IL-6 levels were measured by ELISA method and urinary creatinine was measured by enzymatic method.

**Results:** Urinary IL-6 levels between glomerular hematuria, non-glomerular hematuria and healthy subjects were significantly different ( $p = 0.014$ ,  $p = 0.007$ ). Urinary IL-6 levels between glomerular hematuria and healthy subjects did not differ significantly. Urinary IL-6/urinary creatinine ratio did not differ significantly between the three groups. Urinary IL-6 levels and urinary IL-6/urinary creatinine ratio of glomerular hematuria were negatively correlated with percentage of dysmorphic erythrocytes in flow cytometry urine analyzer and phase contrast microscope. Dysmorphic erythrocytes percentage in flow cytometry urine analyzer (cut off 51.24%) had a sensitivity of 96.70% and specificity of 90.00%, whereas urinary IL-6/urinary creatinine ratio (cut off 0.135 ng/mg) had a sensitivity of 80.00 % and specificity of 23.30% in differentiating glomerular and non glomerular hematuria.

**Conclusion:** Dysmorphic erythrocytes percentage in flow cytometry urine analyzer has better diagnostic value than urinary IL-6/urinary creatinine ratio in differentiating glomerular and non glomerular hematuria.

**Keywords:** urinary IL-6/urinary creatinine ratio, dysmorphic erythrocyte, flow cytometry urine analyzer, glomerular disease, hematuria

DAFTAR ISI

Halaman

JUDUL ..... i

ABSTRAK ..... ii

ABSTRACT ..... iii

DAFTAR ISI ..... iv

DAFTAR TABEL ..... vi

DAFTAR GAMBAR ..... vii

DAFTAR SINGKATAN ..... x

BAB 1. PENDAHULUAN ..... 1

    1.1 Latar belakang ..... 1

    1.2 Rumusan masalah ..... 3

    1.3 Tujuan penelitian ..... 3

        1.3.1 Tujuan umum ..... 3

        1.3.2 Tujuan khusus ..... 4

    1.4 Manfaat penelitian ..... 4

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA ..... 5

    2.1 Anatomi dan fisiologi ginjal ..... 5

    2.2 Kelainan glomerular ..... 16

        2.2.1 Patofisiologi kelainan glomerular ..... 18

            2.2.1.1 Interleukin-6 (IL-6) pada kelainan glomerular ..... 24

        2.2.2 Manifestasi klinis kelainan glomerular ..... 28

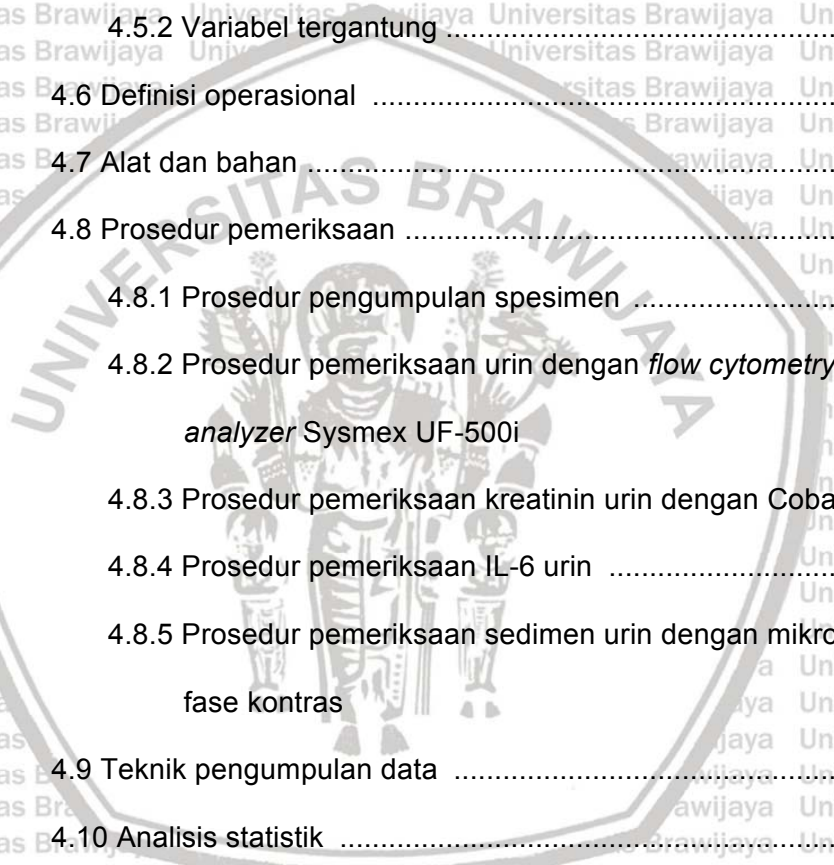
            2.2.2.1 Sindrom nefritik akut ..... 28

                2.2.2.1.1 *Post-streptococcal glomerulonephritis* ..... 28

                2.2.2.1.2 Endokarditis bakterial subakut ..... 29

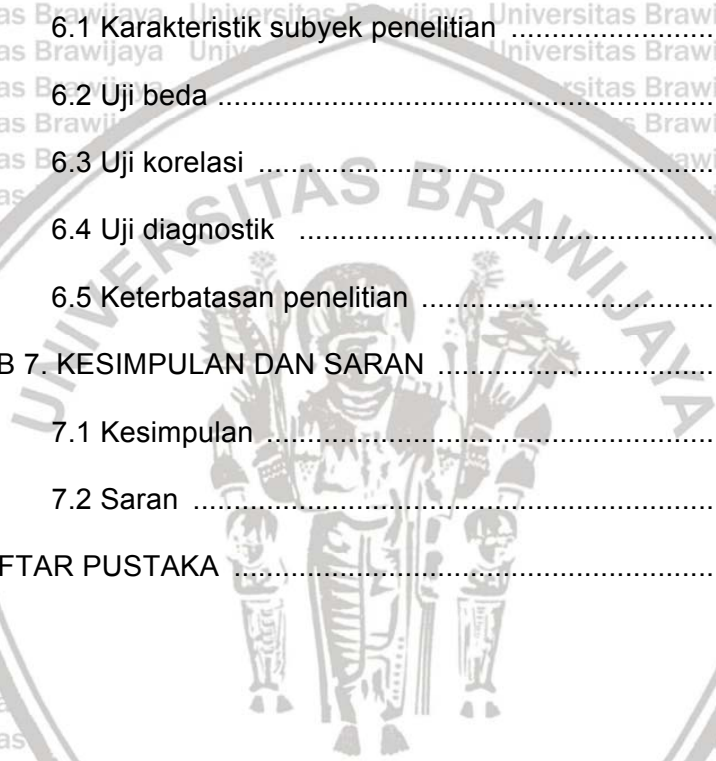
                2.2.2.1.3 Nefritis lupus ..... 30

2.2.2.1.4	Antiglomerular basement membrane (anti-GBM disease)	30
2.2.2.1.5	Nefropati IgA	31
2.2.2.2	Sindrom nefrotik	31
2.2.2.2.1	Minimal change disease	31
2.2.2.2.2	Focal segmental glomerulosclerosis (FSGS)	32
2.2.2.2.3	Nefropati diabetik	32
2.2.3	Diagnosis kelainan glomerular	33
2.3	Hematuri	33
2.3.1	Epidemiologi hematuri	34
2.3.2	Etiologi hematuri	34
2.3.3	Patofisiologi hematuri	36
2.3.4	Pemeriksaan urinalisis pada hematuri	41
2.3.4.1	Pemeriksaan hematuri dengan mikroskop fase kontras	47
2.3.5	Pemeriksaan histopatologi pada kelainan glomerular	51
2.4	Kerangka Teori	54
<b>BAB 3. KERANGKA KONSEP PENELITIAN</b>		<b>56</b>
3.1	Kerangka konsep	56
3.2	Hipotesis	57
<b>BAB 4. METODE PENELITIAN</b>		<b>58</b>
4.1	Jenis dan rancangan penelitian	58
4.2	Tempat dan waktu penelitian	58
4.2.1	Tempat penelitian	58
4.2.2	Waktu penelitian	59
4.3	Populasi dan sampel penelitian	59



4.3.1 Populasi penelitian .....	59
4.3.2 Penghitungan besar sampel penelitian .....	59
4.4 Kriteria inklusi dan eksklusi .....	61
4.4.1 Kriteria inklusi .....	61
4.4.2 Kriteria eksklusi .....	61
4.5 Variabel penelitian .....	62
4.5.1 Variabel bebas .....	62
4.5.2 Variabel tergantung .....	62
4.6 Definisi operasional .....	62
4.7 Alat dan bahan .....	66
4.8 Prosedur pemeriksaan .....	66
4.8.1 Prosedur pengumpulan spesimen .....	66
4.8.2 Prosedur pemeriksaan urin dengan <i>flow cytometry urine</i> analyzer Sysmex UF-500i .....	67
4.8.3 Prosedur pemeriksaan kreatinin urin dengan Cobas c 501 .....	69
4.8.4 Prosedur pemeriksaan IL-6 urin .....	70
4.8.5 Prosedur pemeriksaan sedimen urin dengan mikroskop fase kontras .....	72
4.9 Teknik pengumpulan data .....	74
4.10 Analisis statistik .....	76
4.10.1 Analisis deskriptif .....	76
4.10.2 Uji normalitas data .....	76
4.10.1 Uji beda .....	76
4.10.2 Uji korelasi .....	76
4.10.3 Uji diagnostik .....	77
4.11 Alur penelitian .....	79

<b>BAB 5. HASIL PENELITIAN</b> .....	<b>80</b>
5.1 Karakteristik subyek penelitian .....	80
5.2 Uji normalitas data .....	80
5.3 Uji beda .....	82
5.4 Uji korelasi .....	83
5.5 Uji diagnostik .....	88
<b>BAB 6. PEMBAHASAN</b> .....	<b>91</b>
6.1 Karakteristik subyek penelitian .....	91
6.2 Uji beda .....	92
6.3 Uji korelasi .....	98
6.4 Uji diagnostik .....	100
6.5 Keterbatasan penelitian .....	102
<b>BAB 7. KESIMPULAN DAN SARAN</b> .....	<b>103</b>
7.1 Kesimpulan .....	103
7.2 Saran .....	103
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	<b>105</b>



DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 2.1 Skor injuri jejas glomerulus .....	27
Tabel 4.1 Pembuatan larutan standar .....	71
Tabel 4.2 Penghitungan sensitivitas, spesifisitas, nilai ramal positif dan nilai ramal negatif <i>flow cytometry urine analyzer</i> .....	77
Tabel 4.3 Penghitungan sensitivitas, spesifisitas, nilai ramal positif dan nilai ramal negatif rasio IL-6 urin/kreatinin urin .....	77
Tabel 4.4 Penghitungan sensitivitas, spesifisitas, nilai duga positif dan nilai duga negatif rasio IL-6 urin/kreatinin urin dan eritrosit dismorfik pada <i>flow cytometry urine analyzer</i> .....	78
Tabel 4.5 Penghitungan sensitivitas, spesifisitas, nilai duga positif dan nilai duga negatif rasio IL-6 urin/kreatinin urin dan eritrosit dismorfik pada <i>flow cytometry urine analyzer</i> .....	78
Tabel 5.1 Karakteristik klinis dan laboratoris subyek penelitian .....	81
Tabel 5.2 Nilai diagnostik eritrosit dismorfik pada <i>flow cytometry urine analyzer</i> , rasio IL-6 urin/kreatinin urin, eritrosit dismorfik pada <i>flow cytometry urine analyzer</i> dan rasio IL-6 urin/kreatinin urin, eritrosit dismorfik pada <i>flow cytometry urine analyzer</i> dan/atau rasio IL-6 urin/kreatinin urin untuk membedakan hematuri glomerular dengan non glomerular .....	90





DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 2.1 Traktus urinarius ..... 6

Gambar 2.2 Nefron dan komponen penyusunnya ..... 8

Gambar 2.3 Filtrasi pada glomerulus ..... 10

Gambar 2.4 Potongan melintang glomerulus ..... 11

Gambar 2.5 Lapisan barrier filtrasi glomerulus ..... 11

Gambar 2.6 Skema aktivasi respon imun *innate* dan adaptif pada ..... 20  
kelainan glomerular

Gambar 2.7 Skema tiga jalur aktivasi komplemen ..... 22

Gambar 2.8 Sel T pada imunitas adaptif ..... 23

Gambar 2.9 Barrier filtrasi glomerulus dan terjadinya hematuri ..... 24

Gambar 2.10 Histogram volume eritrosit yang menandakan glomerular hematuri ..... 43

Gambar 2.11 Histogram volume eritrosit yang menandakan non ..... 44  
glomerular hematuri

Gambar 2.12 Eritrosit disomorfik pada mikroskop cahaya (400x) ..... 44

Gambar 2.13 Eritrosit isomorfik pada mikroskop cahaya (400x) ..... 44

Gambar 2.14 *Ghost red blood cell* dan jamur pada mikroskop cahaya (400x) ..... 45

Gambar 2.15 Silinder eritrosit pada mikroskop cahaya (400x) ..... 45

Gambar 2.16 Sel epitel transisional (kiri) dan sel epitel tubulus (kanan) ..... 46

Gambar 2.17 Sel epitel tubulus ..... 46

Gambar 2.18 Prinsip mikroskop fase kontras ..... 48

Gambar 2.19 Gambar yang dihasilkan mikroskop fase kontras konvensional ..... 49  
(kiri) dan mikroskop fase kontras kuantitatif (kanan)

Gambar 2.20 Eritrosit disomorfik pada mikroskop fase kontras (400x) ..... 50

Gambar 2.21 Eritrosit isomorfik pada mikroskop fase kontras (400x) ..... 50



Gambar 2.22 Akantosit atau sel G1 (tanda panah) pada mikroskop fase kontras . 51 (400x)	51
Gambar 4.1 Kriteria eritrosit dismorfik, isomorfik dan campuran pada <i>flow cytometry urine analyzer</i> .....	66
Gambar 4.2 Scattergram dan histogram eritrosit .....	69
Gambar 4.3 Metode <i>enzymatic colorimetric</i> pada pemeriksaan kreatinin urin .....	70
Gambar 4.4 Mikroskop fase kontras Zeiss AxioStar .....	74
Gambar 4.5 Set sistem SY untuk analisis sedimen urin .....	74
Gambar 4.6 SY <i>Double Grid Slide</i> berisi 10 kamar hitung dan <i>disposable</i> .....	74
Gambar 4.7 Kamar hitung persegi panjang pada SY <i>Double Grid Slide</i> berisi 24 kotak .....	75
Gambar 4.8 Kamar hitung persegi pada SY <i>Double Grid Slide</i> berisi 81 kotak .....	75
Gambar 5.1 Grafik korelasi kadar IL-6 urin dengan persentase eritrosit dismorfik pada <i>flow cytometry urine analyzer</i> kelompok hematuri glomerular .....	83
Gambar 5.2 Grafik korelasi kadar IL-6 urin dengan persentase eritrosit dismorfik pada mikroskop fase kontras kelompok hematuri glomerular .....	84
Gambar 5.3 Grafik korelasi rasio IL-6 urin/kreatinin urin dengan persentase eritrosit dismorfik pada <i>flow cytometry urine analyzer</i> kelompok hematuri glomerular .....	85
Gambar 5.4 Grafik korelasi rasio IL-6 urin/kreatinin urin dengan persentase eritrosit dismorfik pada mikroskop fase kontras kelompok hematuri glomerular .....	85
Gambar 5.5 Grafik korelasi kadar IL-6 urin dengan persentase eritrosit dismorfik pada <i>flow cytometry urine analyzer</i> kelompok hematuri non glomerular .....	86
Gambar 5.6 Grafik korelasi kadar IL-6 urin dengan persentase eritrosit dismorfik pada mikroskop fase kontras kelompok hematuri non glomerular .....	86

Gambar 5.7 Grafik korelasi rasio IL-6 urin/kreatinin urin dengan persentase eritrosit dismorfik pada *flow cytometry urine analyzer* kelompok hematuri non glomerular ..... 87

Gambar 5.8 Grafik korelasi rasio IL-6 urin/kreatinin urin dengan persentase eritrosit dismorfik pada mikroskop fase kontras kelompok hematuri non glomerular ..... 87

Gambar 5.9 Kurva ROC untuk eritrosit dismorfik pada *flow cytometer urine analyzer* ..... 88

Gambar 5.10 Kurva ROC untuk rasio IL-6 urin/kreatinin urin ..... 89



**DAFTAR SINGKATAN**

- ADH : *Anti-Diuretic Hormone*
- ANCA : *Anti-Neutrophil Cytoplasmic Antibody*
- APC : *Antigen Presenting Cell*
- APOL1 : *Apolipoprotein L1*
- ASTO : *Anti-streptolisin O*
- BACT : *Bacteria*
- BLD : *blood*
- CD : *Cluster of Differentiation*
- ch : *channels*
- CKD : *Chronic Kidney Disease*
- CSF : *Colony Stimulating Factor*
- CTLA : *Cytotoxic T-Lymphocyte Associated Antigen*
- DAMPs : *Danger-Associated Molecular Patterns*
- DTH : *Delayed Type Hypersensitivity*
- ELISA : *Enzyme Linked Immunoassay*
- FSGS : *Focal Segmental Glomerulosclerosis*
- GBM : *Glomerular Basement Membrane*
- GFR : *Glomerular Filtration Rate*
- GNA : *Glomerulonefritis Akut*
- GNAPS : *Glomerulonefritis Akut Post Streptokokus*
- gr : *gram*
- HCC : *Hepatocellular carcinoma*
- HIV : *Human Immunodeficiency Virus*
- ICAM : *Intercellular Adhesion Molecule*

IFN : Interferon

IgA : Immunoglobulin A

IgD : Immunoglobulin D

IRD : Instalasi Rawat Darurat

IgE : Immunoglobulin E

IL : Interleukin

JK : jenis kelamin

LE : Leukosit esterase

LED : Laju Endap Darah

LES : Lupus Eritematosus Sistemik

LPB : Lapang Pandang bBesar

LPS : Lipopolisakarida

MAC : *Membrane Attack Complex*

MASP : *MBL-Associated Serine Proteases*

MBL : *Mannose Binding Lectin*

MCP : *Monocyte Chemotactic Protein*

MCV : Mean Corpuscular Volume

mg : miligram

ml : mililiter

MN : *Mononuclear*

NAP1r : *Nephritis Associated Plasmin Receptor*

NK cell : *Natural Killer cell*

NLRs : *Nod-like Receptors*

nm : nanometer

NO : Nitrit Oksida

NRN : Nilai Ramal Negatif

- NRP : Nilai Ramal Positif
- PAMPs : *Pathogen-Associated Molecular Patterns*
- PDGF : *Platelet-derived growth factors*
- pH : Derajat keasaman
- PMN : *Polymorphonuclear*
- PPDS : Program Pendidikan Dokter Spesialis
- RANTES : *Regulated upon Activation Normal T cell Expressed and Presumably Secreted*
- RBC : *Red blood cell*
- ROC : *Receiver Operating Characteristic*
- ROS : *Reactive Oxygen Species*
- rpm : *revolutions per minute*
- SLE : *Systemic Lupus Erythematosus*
- SPEB : *Streptococcal pyrogenic exotoxin B*
- TGF : *Transforming Growth Factor*
- Th : *T helper*
- TLRs : *Toll-Like Receptors*
- TNF : *Tumor Necrosis Factor*
- Treg : *T regulator*
- μL : mikroliter
- VCAM : *Vascular Cell Adhesion Molecule*
- WBC : *white blood cell*
- X'TAL : kristal
- YLC : *Yeast like cell*

## BAB 1

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar belakang

Hematuri adalah adanya darah di urin dan dibedakan menjadi hematuri makroskopis dan mikroskopis (Karnath *et al.*, 2007; Sultana *et al.*, 2011).

Prevalensi hematuri asimtomatik di Amerika antara 0,19 sampai 21% berdasarkan usia dan jenis kelamin populasi yang diteliti (Rodgers *et al.*, 2006; Sultana *et al.*, 2011). Prevalensi hematuri makroskopis dan mikroskopis pada populasi Indian Zuni yang normal dan menderita nefropati diabetik usia lebih dari lima tahun di Meksiko adalah 33,2% (Tentori *et al.*, 2003).

Hematuri dapat berasal dari kelainan glomerular atau non glomerular dan perbedaan ini sangat dibutuhkan untuk mengetahui penyebabnya (Crop *et al.*, 2010; Dinda, 2001). Eritrosit pada kelainan glomerular berbentuk dismorfik, sedangkan eritrosit pada kelainan non glomerular berbentuk isomorfik (Dinda, 2001; Fine, 2002; Abolfathi *et al.*, 2007; Sultana *et al.*, 2011; Poloni *et al.*, 2012).

Kelainan glomerular merupakan penyebab tersering penyakit ginjal tahap akhir, dikarenakan keterlambatan diagnosis. Insidensi penyakit ginjal tahap akhir lebih tinggi di negara berkembang dibandingkan negara maju (Sultana *et al.*, 2011).

Biopsi ginjal merupakan standar baku emas menentukan penyakit glomerular, tetapi memerlukan keahlian khusus dan sarana kesehatan yang memadai. Biopsi ginjal merupakan pemeriksaan invasif yang berisiko tinggi dan diperlukan sampel yang memadai untuk mendapatkan hasil yang akurat. (Tisher & Crocker, 2012; Wall, 2014)

Pemeriksaan urinalisis hingga saat ini masih berperan penting untuk mengetahui asal hematuri (Huussen *et al.*, 2004; Crop *et al.*, 2010). Pemeriksaan sedimen urin dengan metode *flow cytometry* dapat membedakan eritrosit

berdasarkan ukurannya. Urinalisis dengan *flow cytometry urine analyzer* memiliki sensitivitas 83% dan spesifisitas 94% dengan nilai *cut-off* lebih dari 80% eritrosit isomorfik untuk mendeteksi hematuri non glomerular. (Apeland *et al.*, 2001).

Urinalisis dengan *flow cytometry urine analyzer* memiliki sensitivitas 90,3% dan spesifisitas 92,5% dalam mendeteksi hematuri glomerular menggunakan kriteria Kitasato. (Hyodo *et al.*, 1999). Keunggulan *flow cytometry urine analyzer* adalah

tidak memerlukan keahlian khusus dalam pengoperasiannya, lebih objektif, sudah diotomatisasi, lebih cepat dan mudah. Kelemahannya adalah tidak dapat

membedakan bentuk sel, sensitivitasnya rendah dalam mendeteksi isi silinder

dan memiliki keterbatasan dalam membedakan hematuri glomerular dengan non glomerular. Analisis sedimen urin dengan *flow cytometry* belum dapat

sepenuhnya menggantikan analisis mikroskopis untuk penilaian klinis pasien oleh klinisi dan menentukan asal hematuria. (Apeland *et al.*, 2001; Scarnhorst *et*

*al.*, 2006) Penentuan jenis eritrosit dismorfik atau isomorfik memiliki standar baku emas mikroskop fase kontras (Dinda, 2001; Sultana *et al.*, 2011). Mikroskop fase

kontras dengan nilai *cut-off* eritrosit dismorfik 20% memiliki spesifisitas 97,5% dan sensitivitas 89,8% untuk membedakan hematuri glomerular dengan non

glomerular (Albofathi *et al.*, 2007). Penggunaan nilai *cut-off* eritrosit dismorfik lebih dari 20% memiliki spesifisitas lebih dari 90% dalam membedakan hematuri

glomerular dengan non glomerular dengan mikroskop fase kontras, (Zaman and Proesman, 2000, Sultana *et al.*, 2011). Beberapa penelitian lain menggunakan

nilai *cut-off* eritrosit dismorfik yang berbeda-beda antara 10-90% untuk membedakan kelainan glomerular dengan non glomerular (Kohler *et al.*, 1991;

Dinda, 2001). Kelemahan mikroskop fase kontras adalah tidak semua fasilitas kesehatan memiliki, memerlukan keahlian khusus, memakan waktu lama,

reproduksibilitas kurang baik dan manual (Albofathi *et al.*, 2007).



Interleukin 6 disekresi sel mesangial dan sel tubulus ginjal, menyebabkan proliferasi sel dan matriks mesangial serta infiltrasi sel inflamasi (Kanemoto *et al.*, 2014; Ma *et al.*, 2015). Hal tersebut menyebabkan kerusakan *barier* glomerulus dan mengakibatkan terbentuknya eritrosit dismorfik (Cousier, 2012). Penelitian Kanemoto *et al.* (2014) melaporkan bahwa IL-6 urin berkorelasi dengan inflamasi akut glomerulus. Urin dinilai sebagai sampel yang ideal untuk pemeriksaan biomarker karena pengambilan sampelnya tidak invasif, tidak memerlukan persiapan yang rumit, dan lebih mudah didapat. (Park *et al.*, 2016). Penelitian Ma *et al.* (2015) melaporkan bahwa rasio IL-6 urin/kreatinin urin berkorelasi positif dengan skor jejas glomerulus dan kemungkinan rasio ini dapat digunakan sebagai indikator biologis untuk membedakan hematuri glomerular dan non glomerular.

Berdasarkan uraian di atas peneliti merasa perlu meneliti hubungan rasio IL-6 urin/kreatinin urin dan eritrosit dismorfik pada *flow cytometry urine analyzer* dengan kelainan glomerular pada pasien hematuri, sehingga dapat dilakukan penatalaksanaan yang tepat dan cepat pada kasus hematuri.

## 1.2 Rumusan masalah

1. Apakah rasio IL-6 urin/kreatinin urin dan persentase eritrosit dismorfik pada *flow cytometry urine analyzer* dapat digunakan untuk membedakan kasus hematuri glomerular dan non glomerular pada pasien hematuri?
2. Bagaimana korelasi kadar IL-6 urin dan rasio IL-6 urin/kreatinin urin dengan persentase eritrosit dismorfik pada *flow cytometry urine analyzer* dan mikroskop fase kontras ?
3. Berapa nilai diagnostik (sensitivitas, spesifisitas, nilai duga positif dan nilai duga negatif) rasio IL-6 urin/kreatinin urin dan persentase eritrosit dismorfik pada *flow cytometry urine analyzer* untuk membedakan kasus hematuri glomerular dan non glomerular?

### 1.3 Tujuan penelitian

#### 1.3.1 Tujuan umum

1. Penelitian ini bertujuan menentukan rasio IL-6 urin/kreatinin dan persentase eritrosit dismorfik pada *flow cytometry urine analyzer* dapat digunakan untuk membedakan kasus hematuri glomerular dan non glomerular pada pasien hematuri.

#### 1.3.2 Tujuan khusus

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui :

1. Korelasi kadar IL-6 urin dan rasio IL-6 urin/kreatinin urin dengan persentase eritrosit dismorfik pada *flow cytometry urine analyzer* dan mikroskop fase kontras.
2. Nilai diagnostik (sensitivitas, spesifisitas, nilai duga positif dan nilai duga negatif) rasio IL-6 urin/kreatinin urin dan persentase eritrosit dismorfik pada *flow cytometry urine analyzer*

#### 1.4 Manfaat penelitian

Mengembangkan wawasan peserta didik pendidikan dokter spesialis

Patologi Klinik untuk mengetahui :

1. Peran IL-6 pada kasus hematuri glomerular dan non glomerular
2. Korelasi kadar IL-6 urin dan rasio IL-6/kreatinin urin dengan persentase eritrosit dismorfik pada *flow cytometry urine analyzer* dan mikroskop fase kontras.
3. Nilai diagnostik (sensitivitas, spesifisitas, nilai duga positif dan nilai duga negatif) rasio IL-6 urin/kreatinin urin dan persentase eritrosit dismorfik pada *flow cytometry urine analyzer* untuk membedakan kasus hematuri glomerular dan non glomerular.

## BAB 2

## TINJAUAN PUSTAKA

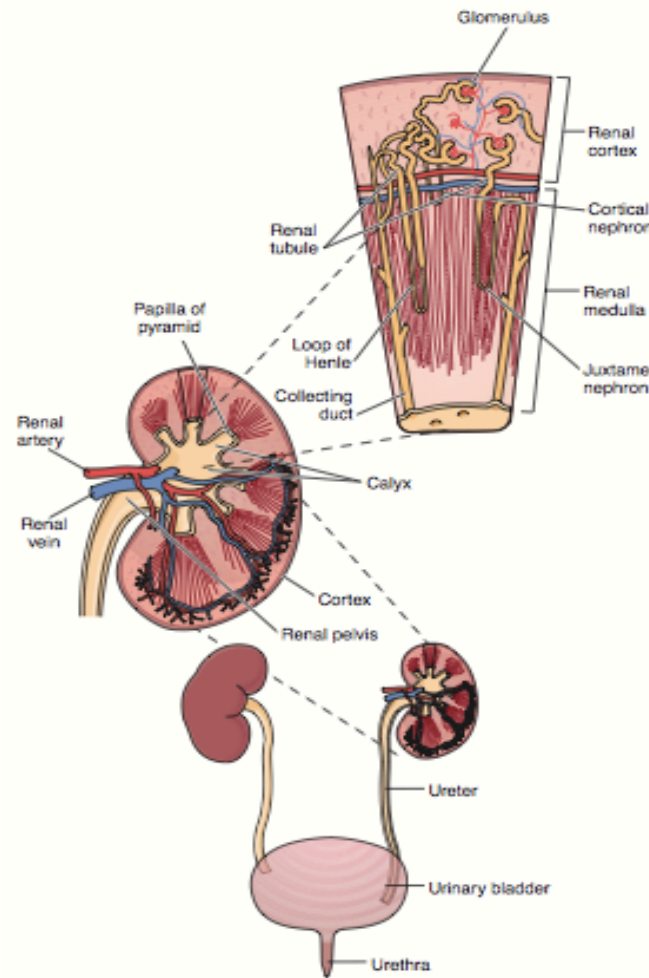
## 2.1 Anatomi dan fisiologi ginjal

Ginjal terdapat sepasang dan terletak di ruang peritoneal, antara prosesus transversus vertebra Torakal 12 hingga Lumbal 3. Ginjal kanan terletak lebih rendah dibandingkan ginjal kiri. Kutub atas ginjal terletak lebih medial dibanding kutub bawah ginjal. (Lana, 2013) Masing-masing ginjal orang dewasa memiliki

berat sekitar 150 gram. Ginjal umumnya terdiri dari 8 hingga 10 lobus. Masing-masing lobus terdiri dari piramid jaringan medula yang ujungnya membentuk papila ginjal. Masing-masing papila ginjal mengalirkan urin ke kaliks minor. Beberapa kaliks minor bergabung membentuk kaliks mayor dan bermuara ke pelvis ginjal. Gerakan peristaltik membantu urin mengalir dari pelvis ke ureter dan menuju ke kandung kemih. Irisan melintang ginjal akan menampilkan dua daerah yaitu bagian luar (korteks) dan bagian dalam (medula). Korteks berwarna coklat kemerahan dan tampak bergranul. Struktur glomerulus, tubulus distal dan duktus kolektivus korteks berada di bagian korteks. Medula ginjal berwarna lebih muda dan tampak bergaris-garis. Lengkung *Henle*, duktus kolektivus medula, dan pembuluh darah mengisi bagian medula ginjal. Medula ginjal dibagi menjadi dua yaitu medula luar yang dekat dengan korteks dan medula dalam yang menjauhi korteks. (Tanner, 2009)

Masing-masing ginjal terdiri dari satu hingga satu setengah juta unit fungsional yang disebut nefron. Sekitar 85 persen dari seluruh nefron adalah nefron korteks yang berada di korteks ginjal (George and Neilson, 2013, Strasinger and Di Lorenzo, 2008). Nefron korteks memiliki lengkung *Henle* yang pendek dan berfungsi membuang sisa produk metabolisme serta mereabsorpsi nutrisi (Strasinger and Di Lorenzo, 2008). Nefron juksta medula memiliki

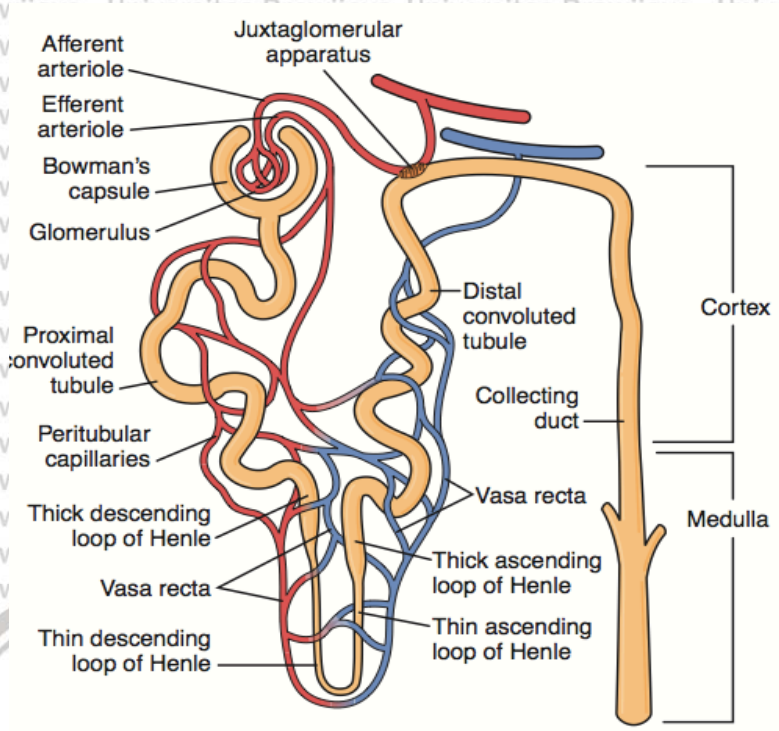
glomerulus yang terletak di antara korteks dengan medula bagian luar dan memiliki lengkung *Henle* yang panjang. Kapiler peritubulus yang mengelilingi nefron korteks digunakan bersama-sama oleh nefron di sekitarnya. Nefron juksta medula menggunakan kapiler terpisah yang disebut vasa rekta. Nefron korteks melakukan sebagian besar filtrasi glomerulus karena berjumlah lebih banyak dan memiliki ukuran arteriol aferen yang lebih besar daripada arteriol eferen. Nefron juksta medula dengan lengkung *Henle* yang lebih panjang mengakibatkan gradien hiperosmolar yang dapat memekatkan urin (George and Neilson, 2013, Strasinger and Di Lorenzo, 2008).



**Gambar 2.1** Traktus urinarius (Strasinger and Di Lorenzo, 2008)

Aliran darah ginjal mengalirkan darah sekitar 20% dari curah jantung atau sekitar 1000 mL/menit (George and Neilson, 2013). Darah mengalir ke nefron melalui arteriol aferen, kemudian ke kapiler glomerulus dan difiltrasi menjadi cairan tubulus (George and Neilson, 2013; Strasinger and Di Lorenzo, 2008). Ujung-ujung distal kapiler glomerulus menyatu membentuk arteriol aferen dan membentuk segmen pertama kapiler peritubulus yang mengelilingi tubulus korteks (George and Neilson, 2013). Perbedaan ukuran kedua arteriol tersebut mengakibatkan perbedaan tekanan hidrostatik dan menjaga konsistensi tekanan kapiler glomerulus serta aliran darah di glomerulus. Perbedaan tekanan hidrostatik berperan pada fungsi filtrasi glomerulus. Darah dari arteriol eferen memasuki kapiler peritubulus dan vasa rekta, kemudian mengalir melewati korteks dan medula ginjal menuju ke tubulus. Kapiler di sekitar tubulus proksimal menampung hasil reabsorpsi nutrisi penting dari cairan dalam tubulus proksimal. Kapiler di sekitar tubulus distal menambahkan zat yang harus dibuang ke dalam tubulus distal. Vasa rekta yang mengelilingi lengkung *Henle* berfungsi mengatur pertukaran air dan garam untuk menjaga gradien osmosis (konsentrasi garam) dalam medula saat pemekatan urin. Akhir dari aliran kapiler peritubulus adalah vena renalis. (Strasinger and Di Lorenzo, 2008)

Glomerulus merupakan awal tubulus ginjal dan terdiri dari sekumpulan anyaman delapan kapiler di dalam kapsul *Bowman's*. Glomerulus merupakan penyaring yang tidak selektif terhadap zat dengan berat molekul kurang dari 70.000 kDa. Faktor yang mempengaruhi filtrasi glomerulus adalah struktur sel di dinding kapiler dan kapsul *Bowman's*, tekanan hidrostatik dan onkotik, serta sistem renin angiotensin aldosteron. (Strasinger and Di Lorenzo, 2008)



**Gambar 2.2 Nefron dan komponen penyusunnya** (Strasinger and Di Lorenzo, 2008)

Daerah interkapiler glomerulus ginjal disebut mesangial. Sel mesangial jarang ditemukan di glomerulus dan berjumlah dua hingga tiga sel. Matriks ekstraseluler terdapat di antara sel mesangial, podosit dan sel endotel.

Hubungan langsung antara sel mesangial dengan membran basal glomerulus membentuk sudut mesangial. Hubungan ini menimbulkan fungsi mekanik dan traksi ekstensi pada membran basal glomerulus yang berguna dalam menyeimbangkan tekanan hidraulik pada pembentukan ultrafiltrasi. Sel mesangial memiliki aktin dan miosin sehingga dapat mengubah diameter kapiler glomerulus jika terpapar vasodilator atau vasokonstriktor. Sel mesangial glomerulus memiliki fungsi :

1. Mekanik atau struktural
  - Perivaskuler, sel interkapiler (perisit)

- Menjaga tegangan membran basal glomerulus saat memproduksi ultrafiltrat

- Meregulasi/mengatur kontraksi permukaan filtrasi

- Pembentukan dan penyusunan matriks

- Proliferasi reparatif setelah injuri imun

## 2. Ultrafiltrasi

- Memfiltrasi plasma seperti membran basal glomerulus
- Menyaring makromolekul dan imun kompleks

## 3. Sel efektor imun

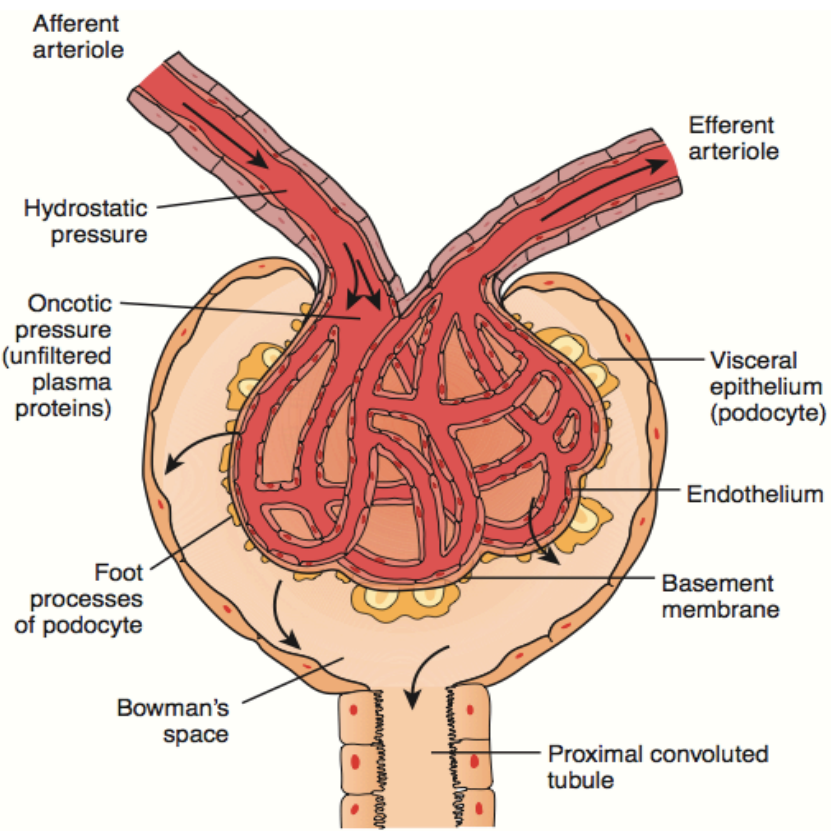
- Sel yang mempresentasikan antigen
- Fagositosis
- Produksi *reactive oxygen species*
- Kemoatraktan leukosit

## 4. Biosintesis

- Lemak : prostaglandin, leukotrien, lipoksin, *platelet activating factor*
- Enzim : renin, *neutral proteinase*
- Komponen matriks
- Sitokin : interleukin-1, 6, dan 8, *Tumor Necrosis Factor* (TNF), *GM-Colony Stimulating Factor* (GM-CSF).
- *Growth factors* : *platelet-derived growth factors* (PDGF), *transforming growth factor* (TGF)  $\beta$ 1, *insulinlike growth factor-1*
- Molekul adhesi : ICAM-1, VCAM-1, MCP-1, RANTES
- Vasoaktif : endotelin-1, nitrit oksida (NO) (Mene, 1996)

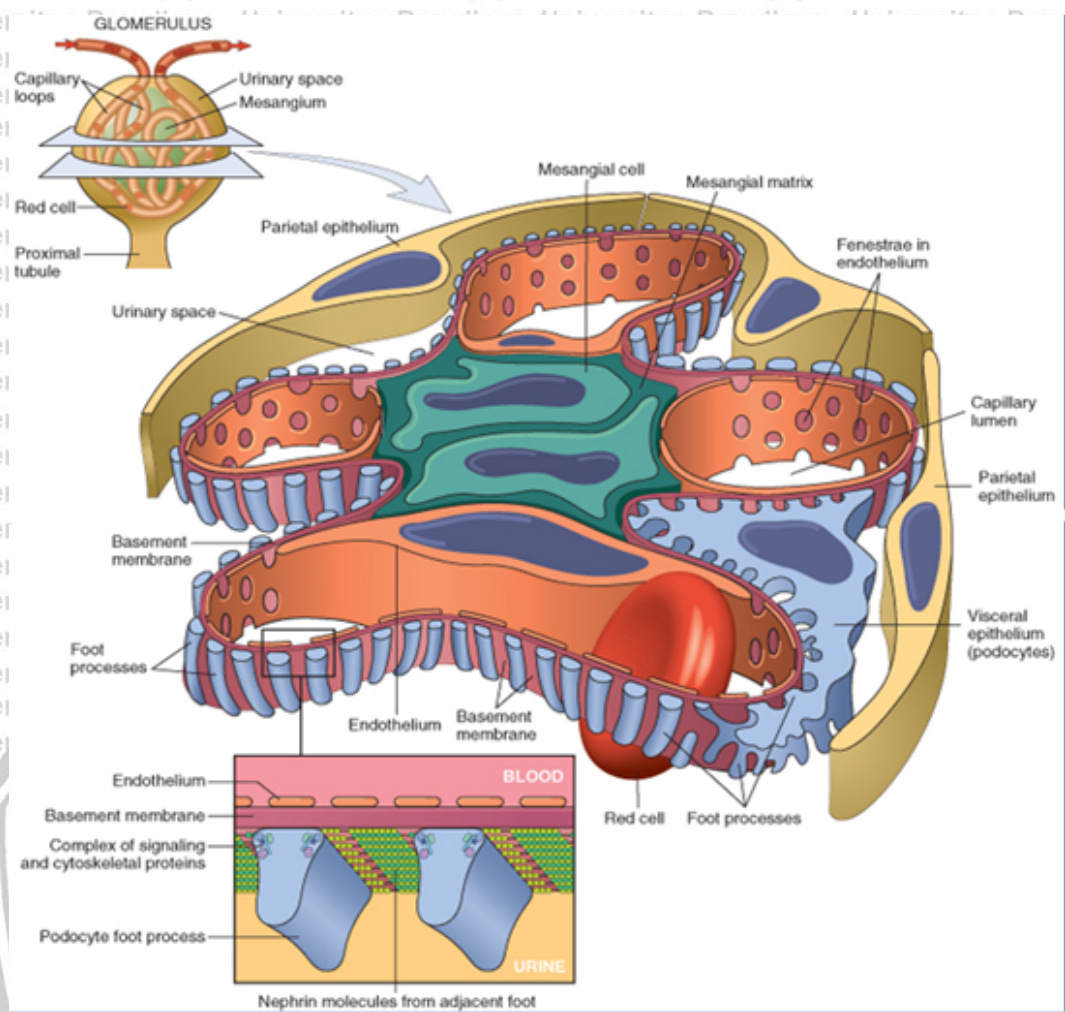
Filtrat plasma harus melewati tiga lapisan sel yaitu dinding membran kapiler, membran basal (lamina basalis), dan epitel viseral kapsul *Bowman's* (Strasinger and Di Lorenzo, 2008; Tanner, 2009). Sel endotel kapiler ginjal

berbeda dengan endotel kapiler pada organ lain. Endotel kapiler ginjal memiliki banyak lubang dan berfungsi sebagai penyaring. Lubang-lubang tersebut meningkatkan permeabilitas kapiler tetapi mencegah zat dengan molekul besar dan sel darah melewatinya. Penyaringan terhadap zat-zat tersebut juga terjadi pada membran basal dan membran tipis yang menutupi celah filtrasi, yang terbentuk dari pertemuan penonjolan sitoplasma podosit di bagian dalam kapsul Bowman's. (Strasinger and Di Lorenzo, 2008)

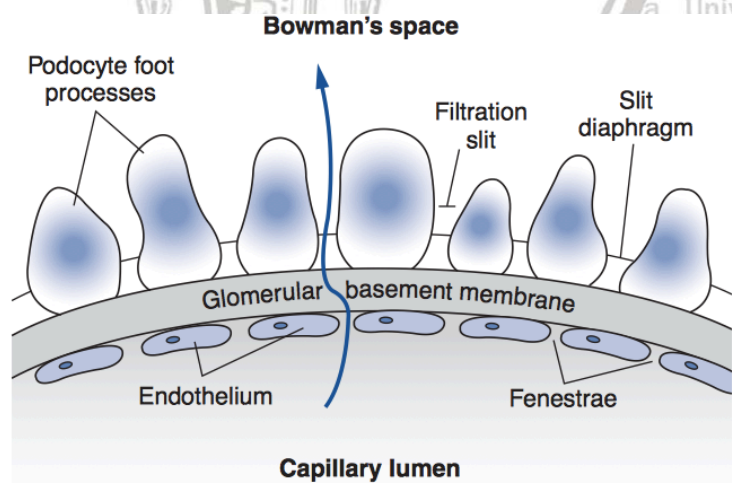


**Gambar 2.3 Filtrasi pada glomerulus** (Strasinger and Di Lorenzo, 2008)





Gambar 2.4 Potongan melintang glomerulus (dhemit.dynu.com)



Gambar 2.5 Lapisan barrier filtrasi glomerulus (Tanner, 2009)

Lapisan pertama barrier filtrasi glomerulus adalah endotel kapiler yang disebut *lamina fenestrata* karena memiliki beberapa lubang atau jendela (*fenestrae*). Diameter lubang-lubang tersebut antara 50 hingga 100 nanometer (nm) dan protein plasma masih dapat melewatinya. Lapisan kedua adalah membran basal yang terdiri dari anyaman fibril halus yang menempel pada matriks seperti jel. Lapisan ketiga adalah podosit yang merupakan lapisan dalam kapsul *Bowman's*. Podosit atau *foot cells* adalah sel epitel dengan pemanjangan sitoplasma berupa *foot processes* yang berada di bagian luar membran basal.

Ruang di antara penonjolan sitoplasma disebut celah filtrasi, dengan lebar sekitar 40 nm dan dilapisi membran tipis (*slit diaphragm*). Komponen penting pada membran tipis ini adalah *nephrin*, yang berfungsi seperti *retsleting*. (Tanner, 2009)

Sebagian besar protein bermolekul besar dan sel darah dikeluarkan dari filtrasi melalui pengaturan barrier fisikokimia dengan mengatur ukuran celah dan muatan elektrostatis negatif. Glomerulus bukanlah barrier yang cukup baik untuk memfiltrasi albumin. Albumin memiliki muatan negatif tetapi memiliki ukuran molekul 3,6 nm, sedangkan celah glomerulus memiliki diameter 4 nm. Sejumlah kecil albumin dapat melewati membran dan memasuki filtrat. Individu dengan fungsi nefron yang normal mengekskresi albumin tidak lebih dari 8 sampai 10 miligram (mg) per harinya. (Longo *et al.*, 2012)

Tekanan hidrostatik yang disebabkan kecilnya ukuran arteriol eferen dan kapiler glomerulus membantu filtrasi glomerulus. Tekanan ini berperan melawan tekanan cairan di kapsul *Bowman's* dan tekanan onkotik protein plasma yang tidak terfiltrasi kapiler glomerulus. Mekanisme autoregulasi di aparatus juksta glomerulus menjaga tekanan darah glomerulus tetap stabil dengan meningkatkan atau mengurangi ukuran arteriol aferen, meskipun tekanan darah sistemik berubah-ubah. Pelebaran arteriol aferen dan penyempitan arteriol

eferen saat tekanan darah sistemik menurun berfungsi mencegah penurunan aliran darah ke ginjal dan mengurangi kadar zat toksik sisa metabolisme dalam darah. Penyempitan arteriol aferen saat tekanan darah sistemik meningkat mencegah overfiltrasi atau kerusakan pada glomerulus. (Strasinger and Di Lorenzo, 2008)

Tubuh tidak dapat kehilangan 120 milliliter (ml) air yang mengandung nutrisi esensial setiap harinya, sehingga diperlukan reabsorpsi oleh tubulus.

Proses ini terdiri dari transport aktif dan pasif. Transport aktif mereabsorpsi substansi yang diikat oleh protein pembawa di membran sel tubulus. Energi elektrokimia yang timbul karena ikatan tersebut dapat memindahkan substansi melewati membran sel tubulus dan masuk ke aliran darah. Transport aktif diperlukan saat reabsorpsi glukosa, asam amino, dan garam di tubulus proksimal. Transport aktif juga diperlukan saat reabsorpsi klorida di lengkung *Henle* yang mengarah ke atas, serta natrium pada tubulus distal. (Strasinger and Di Lorenzo, 2008)

Transport pasif adalah memindahkan substansi melewati membran sel melalui perbedaan konsentrasi atau potensial elektrik pada sisi membran yang berlawanan. Perbedaan konsentrasi dan potensial elektrik ini disebut gradien.

Reabsorpsi pasif air dilakukan di seluruh bagian nefron, kecuali lengkung *Henle* yang mengarah ke atas. Lengkung *Henle* yang mengarah ke atas adalah bagian yang impermeabel terhadap air. Urea direabsorpsi pasif di tubulus proksimal dan lengkung *Henle* yang mengarah ke atas. Reabsorpsi pasif natrium mengikuti reabsorpsi aktif klorida di lengkung *Henle* yang mengarah ke atas. Transport aktif dapat dipengaruhi perbedaan konsentrasi substansi yang dipindahkan, seperti pada transport pasif. Bila konsentrasi zat yang seharusnya direabsorpsi komplis melebihi batas normal di dalam plasma, maka konsentrasi filtrat melebihi kapasitas maksimal reabsorpsi dan substansi tersebut dapat ditemukan di urin.

Ambang ginjal adalah batas konsentrasi zat dapat direabsorpsi ginjal dengan transport aktif. (Strasinger and Di Lorenzo, 2008)

Pemekatan filtrat dimulai di lengkung *Henle* yang mengarah ke bawah dan atas, dimana pada bagian ini filtrat terpapar gradien osmotik yang tinggi di medula ginjal. Air dipindahkan secara osmosis ke lengkung *Henle* yang mengarah ke bawah, sedangkan natrium dan klorida direabsorpsi di lengkung *Henle* yang mengarah ke atas. Reabsorpsi air yang berlebihan di filtrat dicegah dengan adanya membran yang impermeabel air di lengkung *Henle* yang mengarah ke atas. Reabsorpsi selektif ini disebut *countercurrent mechanism* dan berfungsi menjaga gradien osmotik di medula. Gradien osmotik berperan penting pada pemekatan filtrat yang terakhir di duktus kolektivus. Reabsorpsi natrium di tubulus distal dipengaruhi oleh hormon aldosteron. Sekresi aldosteron dipengaruhi konsentrasi natrium dalam tubuh. (Strasinger and Di Lorenzo, 2008)

Akhir dari pemekatan filtrat melalui reabsorpsi air terjadi di tubulus distal.

Reabsorpsi dipengaruhi gradien osmotik di medula dan hormon vasopresin atau *antidiuretic hormone* (ADH). Hormon anti diuretik (ADH) mengatur permeabilitas dinding tubulus distal dan duktus kolektivus terhadap air. Kadar ADH yang tinggi meningkatkan permeabilitas dinding dan reabsorpsi air, sehingga dihasilkan urin yang pekat. Kadar ADH yang rendah meningkatkan impermeabilitas dinding dan reabsorpsi air menurun, sehingga dihasilkan urin yang encer. Sekresi ADH dipengaruhi status hidrasi tubuh. (Strasinger and Di Lorenzo, 2008)

Sekresi tubulus berfungsi memindahkan zat dari aliran darah kapiler peritubulus ke filtrat tubulus. Sekresi tubulus berfungsi membuang produk sisa metabolisme yang tidak terpakai dan tidak disaring oleh glomerulus, serta mengatur keseimbangan asam basa tubuh melalui sekresi ion hidrogen. Beberapa produk sisa metabolisme, termasuk metabolit obat, tidak dapat difiltrasi glomerulus karena berikatan dengan protein plasma. Afinitas protein plasma

dengan sel tubulus yang lebih kuat dari afinitas sisa metabolisme dengan protein plasma mengakibatkan pelepasan sisa metabolisme dan dapat memasuki filtrat di tubulus. Proses ini terutama terjadi di tubulus proksimal. (Strasinger and Di Lorenzo, 2008)

Derajat keasaman (pH) tubuh normal adalah 7,4 dan harus dijaga keseimbangannya. Keseimbangan ini dipengaruhi ion bikarbonat ( $\text{HCO}_3^-$ ) yang disaring oleh glomerulus dan dikembalikan ke darah untuk menjaga keseimbangan pH tubuh. Sekresi ion hidrogen ( $\text{H}^+$ ) oleh sel tubulus ke filtrat mencegah bikarbonat diekskresi ke dalam urin. Proses ini terutama terjadi di tubulus proksimal. Ion hidrogen memiliki ukuran molekul yang kecil dan dapat setiap saat difiltrasi dan direabsorpsi. Ion hidrogen dapat berikatan dengan ion fosfat membentuk  $\text{HPO}_4^-$  dan diekskresikan ke dalam urin. Ion hidrogen juga dapat bereaksi dengan amonia ( $\text{NH}_3$ ) membentuk ion amonium ( $\text{NH}_4^+$ ) dan disekresikan di tubulus distal. Amonia dihasilkan dari pemecahan asam amino glutamin di tubulus proksimal. Gangguan pada mekanisme keseimbangan ini menyebabkan ginjal tidak dapat memproduksi urin yang asam dan terjadi asidosis metabolik atau asidosis tubulus ginjal. (Strasinger and Di Lorenzo, 2008)

Fungsi ginjal tidak hanya berbeda antara janin dan neonatus, tetapi maturasi berlanjut selama neonatus. Sistem urogenital berkembang mulai minggu ketiga kehamilan. Produksi urin dimulai pada minggu kelima kehamilan. Nefrogenesis dinyatakan lengkap pada minggu ke-34 hingga ke-36 kehamilan.

Fungsi ginjal neonatus berbeda secara kuantitas maupun kualitas dengan dewasa. Peningkatan filtrasi glomerulus dijumpai saat kelahiran dan penurunan resistensi vaskular ginjal menyebabkan peningkatan tekanan darah. Laju filtrasi glomerulus bayi baru lahir sekitar  $40 \text{ mL}/\text{menit}/1,73 \text{ m}^2$  dan mencapai  $66 \text{ mL}/\text{menit}/1,73 \text{ m}^2$  saat usia 2 minggu. Laju filtrasi glomerulus menyerupai usia dewasa  $100\text{-}125 \text{ mL}/\text{menit}/1,73 \text{ m}^2$  setelah usia 2 tahun. (Sulemanji dan Vakili,

2013). Angka rata-rata perkiraan laju filtrasi glomerulus pada populasi yang berusia di atas 70 tahun adalah kurang dari 60 mL/menit/1,73 m<sup>2</sup>. Individu yang berusia lebih dari 70 tahun secara fisiologis mengalami penurunan fungsi ginjal yang berkaitan dengan usia tanpa ada hubungan dengan penyakit yang mendasari. Kondisi tersebut diduga berhubungan dengan kista ginjal yang membesar dan bertambah jumlahnya, peningkatan kekerasan lapisan korteks, penurunan volume kortikal, peningkatan volume medula dan aterosklerosis pada arteri renalis. Mekanisme perubahan struktur ginjal pada individu berusia lebih dari 70 tahun hingga saat ini masih diteliti. (Denic *et al.*, 2016)

## 2.2 Kelainan glomerular

Kelainan glomerular atau glomerulonefropati adalah kelainan yang terutama mempengaruhi struktur dan fungsi aparatus glomerulus ginjal. Kelainan ini sering ditemui dan dicurigai bila didapatkan hematuri, silinder eritrosit atau proteinuri. (Teitelbaum and Kooienga, 2009)

Klasifikasi sindrom glomerular adalah :

1. Sindrom nefritik akut : *poststreptococcal glomerulonephritis*, endokarditis bakterial subakut, nefritis lupus, *antiglomerular basement membrane disease*, nefropati IgA, *ANCA small-vessel vasculitis* (granulomatosis dengan poliangiitis/*Wegener's*, poliangiitis mikroskopis, sindrom *Churg-Strauss*), *Henoch-Schonlein purpura*, krioglobulinemi, glomerulonefritis membranoproliferatif, glomerulonefritis mesangioproliferatif
2. Sindrom pulmonar-renal : sindrom *Goodpasture's*, *ANCA small-vessel vasculitis*, *Henoch-Schonlein purpura*, krioglobulinemi
3. Sindrom nefrotik : *minimal change disease*, *focal segmental glomerulosclerosis*, *membranous glomerulonephritis*, nefropati diabetik, amiloidosis AL dan AA, *light-chain deposition disease*, *fibrillary-immunotactoid disease*, *Fabry's disease*

4. Sindrom membran basal : penyakit anti-GBM, sindrom *Alport's*, *thin basement membrane disease*, *nail-patella syndrome*
5. Sindrom vaskuler glomerulus : nefropati aterosklerosis, nefropati hipertensi, embolis kolesterol, penyakit sel sabit, mikroangiopati trombotik, sindrom antifosfolipid, *ANCA small-vessel vasculitis*, *Henoch-Schonlein purpura*, kriglobulinemi, amiloidosis AL dan AA
6. Sindrom yang berhubungan dengan penyakit infeksi : *poststreptococcal glomerulonephritis*, endokarditis bakterial subakut, HIV, Hepatitis B dan C, sifilis, leprosi, malaria, *schistosomiasis* (Longo et al., 2012)

Klasifikasi kelainan glomerular berdasarkan etiologinya :

1. Kelainan glomerular primer adalah kelainan yang berawal di glomerulus dan menyebabkan kerusakan langsung hanya di glomerulus.
2. Kelainan glomerular sekunder adalah glomerulopati yang disebabkan penyakit multisistem, misalnya nefropati diabetik, nefritis lupus, vaskulitis yang berhubungan dengan ANCA, amiloidosis, infeksi yang berkaitan dengan glomerulonefritis, kriglobulinemi tipe 1, 2, atau 3.
3. Glomerular sklerosis fokal dan segmental sekunder adalah kelebihan perfusi pada gomerulus sehat yang diakibatkan hilangnya nefron lebih dari 50% karena sebab lain, misalnya penyakit ginjal nonglomerular kronik, glomerulopati primer atau sekunder dengan remisi parsial atau komplik yang sudah kehilangan nefron lebih dari 50%. (Hebert et al., 2013)

Klasifikasi kelainan glomerular primer berdasarkan gejala klinis :

1. Sindrom nefrotik : *minimal change disease*, *membranous glomerular nephropathy*, *focal segmental glomerulosclerosis*, glomerulonefritis membranoproliferatif, nefropati C1q, dan *fibrillary glomerulonephritis*

2. Glomerulonefritis akut : glomerulonefritis membranoproliferatif, nefropati IgA
3. Glomerulonefritis progresifitas cepat : penyakit membran basal antiglomerular, *immune complex crescentic glomerulonephritis*, *Pauci-immune crescentic glomerulonephritis*, nefropati IgA, *membranous glomerular nephropathy*
4. Hematuri asimtomatik dan/atau proteinuri : nefropati IgA, glomerulonefritis membranoproliferatif (Stephany, 2010)

### 2.2.1 Patofisiologi kelainan glomerular

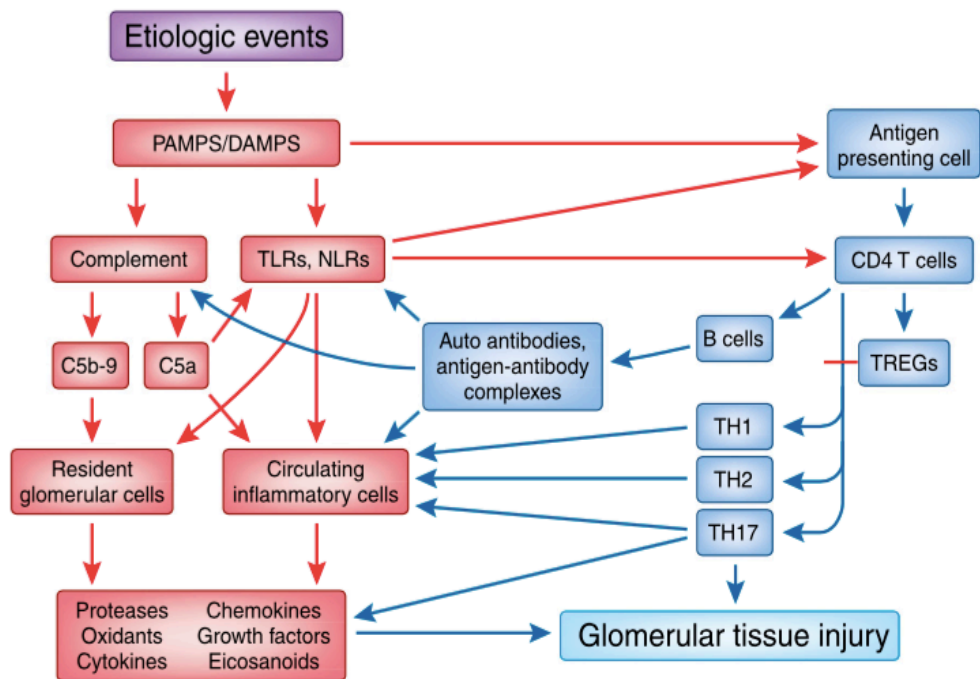
Kelainan glomerular dapat berhubungan dengan mutasi genetik, infeksi, paparan toksin, autoimun, aterosklerosis, hipertensi, emboli, trombosis, ataupun diabetes mellitus. Hipertensi dan aterosklerosis dapat menyebabkan stres, iskemi, atau oksidan lipid yang mengakibatkan glomerulosklerosis kronis. Hipertensi maligna dapat dengan cepat mengakibatkan glomerulosklerosis dengan nekrosis fibrinoid pada arteriol dan glomerulus, mikroangiopati trombotik, dan gagal ginjal akut. Nefropati diabetik adalah injuri sklerotik yang berhubungan dengan penebalan membran basal glomerulus sekunder akibat hiperglikemi yang lama, produk akhir glikosilasi, dan *reactive oxygen species* (ROS). Mutasi pada NPHS1 (mengkode nefrin) dan NPHS2 (mengkode podosin) mempengaruhi diameter celah glomerulus dan mengakibatkan sindrom nefrotik kongenital. Mutasi pada kanal kation TRPC6 mengakibatkan *focal segmental glomerulosclerosis* (FSGS) pada individu dewasa. Polimorfisme pada gen yang mengkode apolipoprotein L1 (APOL1) merupakan faktor risiko utama pada ras Afrika Amerika dengan penyakit ginjal tahap akhir non diabetik. (Couser, 2012)

Inflamasi pada kapiler glomerulus disebut glomerulonefritis. Sebagian besar antigen pada glomerulus dan mesangial yang terlibat dalam glomerulonefritis tidak diketahui. Epitel glomerulus atau sel mesangial diduga



memiliki kesamaan epitop dengan protein imunogen lain di tubuh. Bakteri, jamur dan virus dapat menginfeksi ginjal secara langsung dan memproduksi antigennya sendiri. Aktivasi lokal *Toll-like receptors* (TLRs) pada sel glomerulus, deposisi kompleks imun ataupun injuri komplemen pada glomerulus menginduksi infiltrasi sel mononuklear yang kemudian mengaktifkan respon imun adaptif melalui pelepasan kemokin. (Couser, 2012)

*Toll-like receptors* (TLRs) adalah reseptor yang ada di seluruh membran sel dan intraseluler antara sitoplasma dan endosom. Reseptor ini memiliki fungsi mengenali antigen seperti peptidoglikan, lipopolisakarida (LPS), dan asam nukleat bakteri serta virus (*pathogen-associated molecular patterns/PAMPs*) dan antigen yang berasal dari endogen sel (*danger-associated molecular patterns/DAMPs*). Ikatan antara antigen dengan TLRs berperan penting dalam mengaktifasi sistem imun *innate* dalam respon segera terhadap patogen. *Toll-like receptors* juga dapat mengaktifasi imunitas adaptif dan respon imun yang spesifik terhadap antigen dengan mengaktifasi sel dendritik menjadi sel yang mempresentasikan antigen. *Nod-like receptors* (NLRs) juga berhubungan dengan injuri jaringan pada glomerulonefritis yang berkaitan dengan infeksi maupun autoimun. (Couser, 2012)



**Gambar 2.6 Skema aktivasi respon imun *innate* dan adaptif pada kelainan glomerular** (Couser, 2012)

Keterangan : Etiologi kelainan dikenali PAMPs atau DAMPs lalu mengaktifkan respon imun *innate* (merah) dan respon imun adaptif (biru), yang juga berinteraksi satu sama lain. Aktivasi respon imun *innate* terjadi langsung dan mengaktifkan TLRs atau NLRs pada sel-sel inflamasi di sirkulasi dan sel-sel glomerulus. Aktivasi TLRs mengakibatkan pelepasan mediator inflamasi yang menyebabkan kerusakan glomerulus. Beberapa PAMPs dan DAMPs mengaktifkan komplemen secara langsung melalui sistem imun *innate*. TLRs juga berperan mengaktifkan sistem imun adaptif melalui sel yang mempresentasikan antigen dan memicu diferensiasi sel Th CD4, aktivasi sel B dan produksi antibodi. Antibodi mengakibatkan deposit kompleks imun dan pembentukan kompleks imun yang kemudian mengaktifkan TLRs dan komplemen. Aktivasi komplemen mengakibatkan disekresikannya C5a dan C5b-9 yang menyebabkan kerusakan glomerulus. C5a mengakibatkan penarikan sel-sel inflamasi di sirkulasi (neutrofil, makrofag, basofil, dan sel NK) dan dilepaskannya mediator inflamasi. C5b-9 memiliki efek serupa C5a dan dapat mengaktifkan sel-sel glomerulus. Sel Th1 CD4 dan sel Th2 menyebabkan kerusakan jaringan melalui makrofag dan basofil. Sel Th17 mengakibatkan kerusakan glomerulus secara langsung. Sel Treg berfungsi menurunkan respon imun adaptif.

Respon imun *innate* mengaktifkan komplemen melalui jalur *mannose binding lectin* (MBL) atau jalur alternatif. Aktivasi jalur MBL terjadi saat MBL berikatan dengan residu manosa pada patogen dan mengaktifkan serin protease,

MASP-1, dan MASP-2. Hal tersebut mengaktifasi C4 dan C2. Jalur alternatif teraktivasi langsung melalui hidrolisis C3 dan meningkat dengan disertai defek di regulasi komplemen. Zimogen non-Ig seperti sel yang rusak dan protein bakteri atau virus dapat mengaktifasi jalur alternatif komplemen melalui C3. Produk hasil aktivasi komplemen merupakan mediator utama pada glomerulonefritis yang terinduksi antibodi. Hal ini menyebabkan C1q berikatan dengan imunoglobulin (Ig), yang kemudian mengaktifasi komplemen jalur klasik melalui C4 dan C2.

Imunoglobulin G (IgG) subklas 1 dan 3 serta imunoglobulin M (IgM) merupakan aktivator komplemen jalur klasik. IgG subklas 2 dan 4, imunoglobulin A (IgA), imunoglobulin D (IgD) dan imunoglobulin E (IgE) kurang mengaktifasi komplemen. Ketiga jalur aktivasi komplemen melalui pemecahan C3 dan C5 mengakibatkan pelepasan faktor kemotaktik seperti C5a yang menarik sel-sel inflamasi (neutrofil, makrofag, dan trombosit) di sirkulasi. Kesemua komponen tersebut terlibat dalam pembentukan *membrane attack complex* (MAC). Sejumlah C5b-9 dapat memasuki membran sel glomerulus dan memicu perubahan sel-sel glomerulus menjadi sel efektor. Sel-sel glomerulus tersebut kemudian berproliferasi, melepaskan berbagai sitokin, *growth factors*, eikosanoid, oksidan, protease dan mediator inflamasi yang lain. Hal tersebut menyebabkan peningkatan produksi komponen matriks, pembentukan jaringan ikat kronis dan sklerosis. C5a juga diketahui dapat mengaktifasi TLRs. (Couser, 2012)

Sel Th CD4 menstimulasi sel B dan sel plasma untuk memproduksi antibodi yang spesifik terhadap antigen tertentu. Penumpukan antibodi mengaktifasi komplemen melalui jalur klasik dan menyebabkan disekresikan faktor kemotaktik yang menarik sel-sel inflamasi di sirkulasi sehingga terjadi kerusakan jaringan. Penumpukan kompleks imun di subendotel mengakibatkan infiltrasi sel-sel inflamasi, proliferasi sel mesangial, penambahan matriks

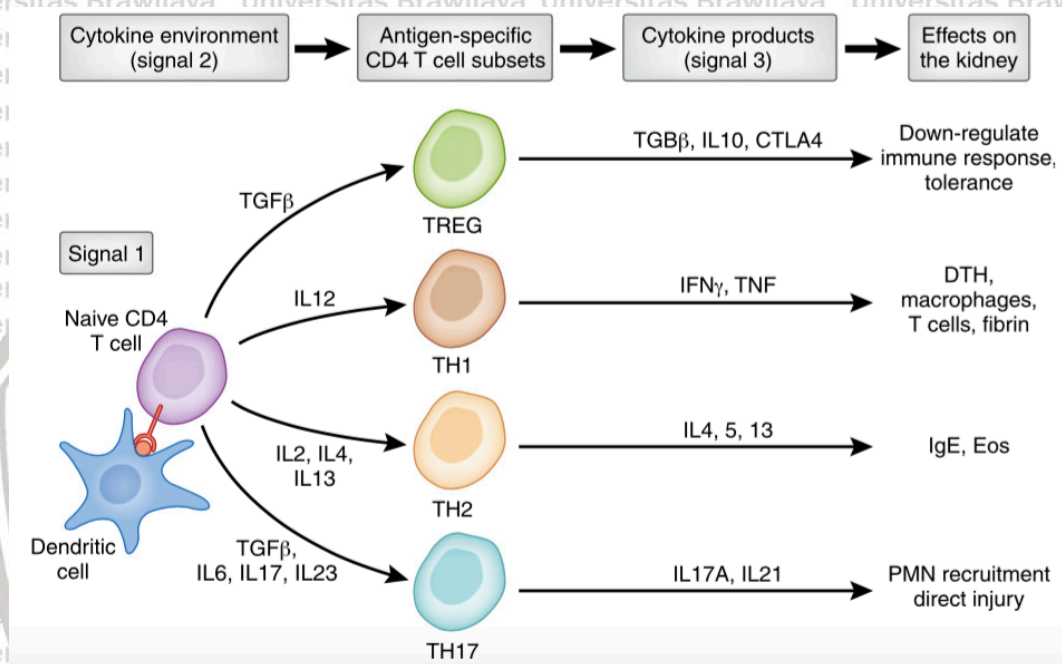


yang diproduksi sel Th17 berperan penting dalam inflamasi yang diinduksi sel T.

Sel Th17 memasuki inflamasi karena sekresi kemokin dan reseptor di jaringan.

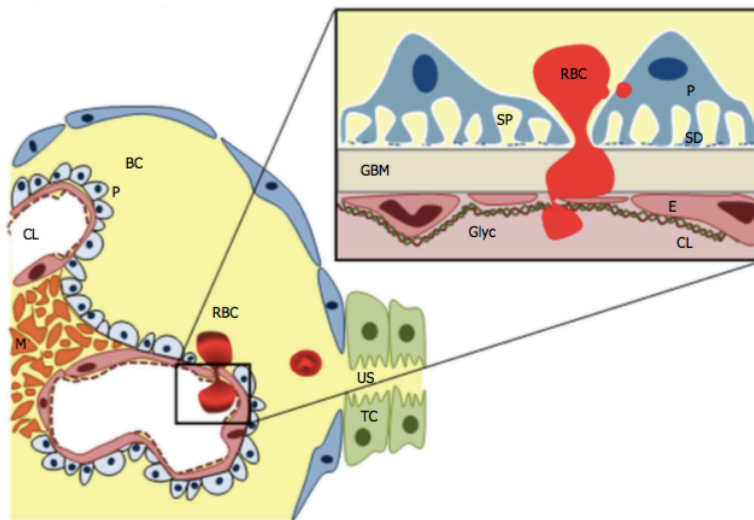
Sel Th17 mensekresikan sitokin seperti IL-9, IL-17, IL-21, IL-22 dan TNF- $\alpha$ .

Sitokin-sitokin tersebut menginduksi sel-sel inflamasi lain memproduksi kemokin proinflamasi, menarik neutrofil dan monosit, serta mengaktifasi sel-sel di glomerulus. (Couser, 2012)



**Gambar 2.8 Sel T pada imunitas adaptif** (Couser, 2012)

Keterangan: Sel dendritik mempresentasikan antigen ke sel T CD4 naif (sinyal 1). Berdasarkan sitokin yang dominan di sekitar sel T CD4 naif (sinyal 2), sel T tersebut berdiferensiasi menjadi subtype sel T CD4 yang memiliki peran berbeda pada kelainan glomerular. Adanya TGF $\beta$  mengakibatkan sel T CD4 naif berdiferensiasi menjadi Treg. Sel Treg mensekresikan TGF $\beta$ , IL 10, dan CTLA4 yang berfungsi mengatur dan menurunkan respon imun. IL-12 menstimulasi diferensiasi sel T CD4 naif menjadi sel Th1. Sel Th1 mensekresikan IFN $\gamma$  dan TNF yang mengakibatkan reaksi hipersensitifitas tipe lambat yang dimediasi sel T dan makrofag. Adanya IL-2, IL-4, dan IL-13 menyebabkan diferensiasi sel T CD4 naif menjadi sel Th2. Sel Th2 mensekresikan IL-4, IL-5, dan IL-13 yang menimbulkan reaksi hipersensitivitas tipe alergi serta melibatkan IgE dan eosinofil. Adanya TGF $\beta$ , IL-6 dan IL-17 mengakibatkan diferensiasi sel T CD4 naif menjadi sel Th17. Sel Th17 merupakan sel yang paling berperan pada patofisiologi kelainan glomerular. Sel Th17 menghasilkan IL-17a dan IL-21 yang membantu datangnya sel-sel inflamasi lain dan menyebabkan kerusakan jaringan secara langsung.



**Gambar 2.9** Barrier filtrasi glomerulus dan terjadinya hematuri (Yuste *et al.*, 2015)

Keterangan : C: lumen kapiler, BC: kapsul *Bowman*, E: sel endotel, GBM: membran basal glomerulus, Glyc: glikosaminoglikan, M: mesangial, P: podosit, RBC: sel darah merah, SD: *slit diaphragm*, SP: ruang subpodosit, TC: sel tubulus, US: ruang urin

### 2.2.1.1 Interleukin-6 (IL-6) pada kelainan glomerular

Mekanisme imunologis diduga sebagai penyebab utama terjadinya kelainan glomerular. Mediator inflamasi (komplemen, sitokin, dan ROS) berperan pada patogenesis dan terjadinya kerusakan glomerulus pada penyakit glomerulus. Mediator-mediator inflamasi memberikan efek lokal pada hemodinamik ginjal dan mengakibatkan penyempitan atau pelebaran pembuluh darah. Mediator-mediator inflamasi dapat mempengaruhi sel yang berbeda (misal sel glomerulus dan sel interstitial tubulus), meningkatkan atau menghambat proliferasi sel, meningkatkan fungsi autokrin dan parakrin sel, meningkatkan sekresi matriks ekstraseluler oleh sel, atau menghambat dekomposisi matriks ekstraseluler. Mediator-mediator tersebut juga mengatur injuri inflamasi dan mengakibatkan perubahan sklerotik. (Ma *et al.*, 2015)

Interleukin 6 (IL-6) merupakan mediator inflamasi dan berperan pada penyakit glomerular. Interleukin-6 berperan pada terjadinya hematuri renal, keparahan glomerular dan proteinuri. (Song *et al.*, 2013) Interleukin-6 diketahui sebagai stimulator sel B memproduksi IgG dan sitokin multifungsi yang mempengaruhi perkembangan organ, respon fase akut, inflamasi dan respon imun (Su *et al.*, 2017). Interleukin-6 adalah sitokin multifungsi yang disekresikan monosit, fibroblas, limfosit T, makrofag yang teraktivasi, sel endotel, podosit dan terutama di sel mesangial dan sel epitel tubulus ginjal (Song *et al.*, 2013; Su *et al.*, 2017). Interleukin-6 mengakibatkan atrofi tubulus, infiltrasi sel interstitial ginjal, proliferasi sel mesangial ginjal, terjadinya glomerulosklerosis, peningkatan permeabilitas glomerulus pada stenosis arteri renalis dan meningkatkan pelepasan mediator inflamasi, seperti *platelet-activating factor*, tromboksan B<sub>2</sub>, dan anion superoksida (Kanemoto *et al.*, 2014; Ma *et al.*, 2015). Interleukin-6 juga diketahui dapat menginduksi ekspresi molekul adesi, faktor-faktor prokoagulan dan sel inflamasi pada sel endotel vaskuler. (Ma *et al.*, 2015)

Ma *et al.* (2015) menyimpulkan bahwa rasio IL-6 urin/kreatinin urin berkorelasi positif dengan skor injuri glomerulus dan kemungkinan dapat digunakan sebagai indikator biologis untuk membedakan hematuri glomerular dan non glomerular. Kanemoto *et al.* (2014) menyimpulkan IL-6 urin berkorelasi dengan inflamasi akut glomerulus, misal hiperselularitas mesangial, pembentukan seluler atau fibroseluler kresen, dan proliferasi endokapiler.

Interleukin-6 berikatan spesifik dengan reseptor yang menempel pada membran rantai alfa dan disebut mIL-6R. Interleukin-6 yang menempel pada IL-6R mengakibatkan homodimerisasi gp130 dan transduksi sinyal dimulai. Sel yang dapat mengekspresikan IL-6R adalah makrofag, neutrofil, sel T CD4, podosit dan hepatosit. Reseptor IL-6 terlarut (*soluble* IL-6R atau sIL-6R) dapat

ditemukan di darah dan urin. Ikatan IL-6 dengan sIL-6R juga dapat mengaktifkan gp130. (Su *et al.*, 2017)

Hipoksemia, nefrotoksin, lipid yang teroksidasi, produk glikasi, kompleks imun, sitokin dan kemokin dapat menstimulasi sel tubulus ginjal mensekresikan IL-6. Interleukin-6 menstimulasi sel tubulus proksimal mensekresi kolagen I dan mempercepat fibrosis tubulointerstitial. (Sue *et al.* 2017). Interleukin-6 yang disekresikan sel tubulus proksimal ginjal berkorelasi dengan adanya infiltrasi sel-sel inflamasi di glomerulus, atrofi tubulus, dan fibrosis interstitial ginjal (Yung *et al.*, 2013). Interleukin-6 di urin merupakan penanda proliferasi sel mesangial dan kerusakan tubulointerstitial ginjal (Ranieri *et al.*, 1996; Yung *et al.*, 2013). Interleukin-6 yang diproduksi sel tubulus proksimal ginjal distimulasi IL-1, IL-17 dan TNF- $\alpha$ . (Daha and van Kooten, 2000). Kadar IL-6 di urin dapat mencerminkan kadar IL-6 di jaringan ginjal (Song *et al.*, 2013). Mediator pro-inflamasi (lipopolisakarida, TNF-alfa dan IL-1B) menstimulasi sekresi IL-6 oleh podosit. Peningkatan kadar glukosa darah meningkatkan sekresi IL-6 dan memicu transduksi sinyal di podosit. Hambatan pada IL-6R dan gp130 diduga dapat menghambat progresifitas nefropati diabetik. (Su *et al.*, 2017)

Angiotensin II menstimulasi ekspresi gen IL-6 dan pelepasan IL-6 oleh ginjal (Song *et al.*, 2013). Paparan Angiotensinogen II (Ang II) selama 6-24 jam mengakibatkan fosforilasi STAT3 melalui transduksi sinyal gp130. Aktivitas STAT3 berkorelasi positif dengan proliferasi sel glomerulus pada kelainan glomerular. Sitokin pro inflamasi (IL-1, lipopolisakarida, TNF-a dan IL-4) menginduksi sekresi IL-6 oleh sel endotel. Interleukin-6 meningkatkan ekspresi gen reseptor Angiotensinogen II tipe 1 (ATR1) dan memicu vasokonstriksi oleh Ang II serta produksi ROS. Kesemua hal tersebut mengakibatkan disfungsi endotel. (Su *et al.*, 2017).



Interleukin-6 di serum, urin dan glomerulus meningkat pada nefritis lupus dan selaras dengan aktivitas penyakit. Imun kompleks dan komplemen dapat menstimulasi sel mesangial memproduksi IL-6 pada penderita nefropati IgA. Peningkatan kadar IL-6 didapatkan pada diabetes mellitus tipe 1 dan berkaitan dengan autoimun. Peningkatan kadar IL-6 pada diabetes mellitus tipe 2 berhubungan dengan aterosklerosis. Hiperglikemi menstimulasi produksi IL-6 oleh podosit, sel mesangial, jaringan interstitial dan sel epitel tubulus. (Su *et al.*, 2017)

**Tabel 2.1 Skor injuri glomerulus** (Song *et al.*, 2013; Ma *et al.*, 2015)

Parameter	Kriteria	Skor
Proliferasi sel masangial	Tidak ada	0
	Ringan	1
	Sedang	2
	Berat	3
Pelebaran matriks mesangial	Normal	0
	Perubahan ringan tanpa disertai perubahan diameter kapiler	1
	Perubahan sedang dengan pelebaran difus dan stenosis diameter kapiler <50%	2
	Perubahan berat dengan pelebaran difus dan stenosis diameter kapiler >50%	3
Pengerasan	Normal	0
	Segmen fokal terdistribusi dengan glomerulosklerosis <30%	1
	Glomerulosklerosis 30-60%	2
	Glomerulosklerosis >60%	3
Pembentukan kresen	Normal	0
	Segmen fokal terdistribusi <25%	1
	Segmental difus terdistribusi 30-50%	2
	Segmen fokal terdistribusi >50%	3
Penebalan membran basal	< 30%	1
	30-60%	2
	>60%	3
Adesi sakulus	< 30%	1
	30-60%	2
	>60%	3

## 2.2.2 Manifestasi klinis kelainan glomerular

### 2.2.2.1 Sindrom nefritik akut

Sindrom nefritik akut memiliki manifestasi klinis klasik berupa hipertensi, hematuri, silinder eritrosit, piuria, dan proteinuri ringan sampai sedang. Inflamasi mengakibatkan kerusakan glomerulus yang luas sehingga terjadi penurunan *glomerular filtration rate* (GFR) dan timbul gejala uremia (retensi garam dan air, edema dan hipertensi). (Longo *et al.*, 2012)

#### 2.2.2.1.1 *Post-streptococcal glomerulonephritis*

Glomerulonefritis ini merupakan glomerulonefritis proliferasi endokapiler akut. Glomerulonefritis akut post streptokokus (GNAPS) umumnya mengenai usia 2 sampai 14 tahun di negara berkembang, sedangkan di negara maju umumnya mengenai usia tua. Penderita GNAPS lebih banyak dijumpai berjenis kelamin laki-laki. Jenis streptokokus tipe M (nefritogenik) sering menjadi penyebab GNAPS. Streptokokus M tipe 47, 49, 55, 2, 60 dan 57 menimbulkan manifestasi klinis impetigo 2-6 minggu sebelum gejala GNA muncul. Streptokokus M tipe 1, 2, 4, 3, 25, 49, dan 12 menimbulkan manifestasi klinis faringitis 1-3 minggu sebelum gejala GNA muncul. Biopsi ginjal pada GNA post streptokokus menunjukkan hiperselularitas sel mesangial dan endotel, infiltrasi PMN pada glomerulus, deposit imun IgM, IgG, C3, C4, C5-9 granular subendotel dan subepitel. GNA post streptokokus adalah penyakit yang dimediasi imun karena antigen streptokokus, kompleks imun yang bersirkulasi, dan aktivasi komplemen. Proteinase sistin kationik yang dikenal sebagai *streptococcal pyrogenic exotoxin B* (SPEB) berasal dari proteolisis prekursor zimogen (zSPEB) dan NAPIr (*nephritis associated plasmin receptor*). Kedua antigen ini memiliki afinitas biokimia terhadap plasmin dan berikatan menjadi suatu kompleks yang kemudian mengaktifasi komplemen melalui jalur alternatif. Manifestasi klinis klasik GNA post streptokokus adalah hematuri, piuria, ditemukan silinder eritrosit

di urin, edema, hipertensi, gagal ginjal, dan oliguri. Penderita juga mengeluh sakit kepala, lemah badan, penurunan nafsu makan, dan nyeri pinggang (karena pembengkakan kapsul ginjal) pada lebih dari 50% kasus. Sebanyak 5% penderita anak-anak dan 20% penderita dewasa didapatkan proteinuri pada rentang nefrotik. Sebesar 90% penderita didapatkan penurunan  $CH_{50}$  dan C3 dengan kadar C4 normal pada minggu pertama sakit. Positif faktor reumatoid didapatkan pada 30-40% kasus, krioglobulin dan kompleks imun yang bersirkulasi didapatkan pada 60-70% kasus, dan positif ANCA terhadap mieloperoksidase didapatkan pada 10% kasus. Hasil kultur positif untuk streptokokus tidak selalu didapatkan (sekitar 10-70% didapatkan kultur positif), tetapi dijumpai peningkatan titer ASTO pada 30% kasus, anti-DNAse pada 70% kasus, dan anti-antihialuronidase pada 40% kasus. Hal-hal tersebut dapat membantu penegakan diagnosis GNAPS. (Longo *et al.*, 2012)

#### 2.2.2.1.2 Endokarditis bakterial subakut

*Endocarditis-associated glomerulonephritis* merupakan komplikasi endokarditis bakterial subakut yang terutama diderita pasien yang tidak diterapi dalam waktu lama, hasil kultur darah negatif atau menderita endokarditis kanan. Glomerulonefritis tidak umum dijumpai pada pasien endokarditis bakterial subakut karena diperlukan 10-14 hari untuk menimbulkan kerusakan akibat kompleks imun. Pemeriksaan histopatologis ginjal penderita endokarditis bakterial subakut didapatkan adanya perdarahan subkapsular menyerupai gigitan kutu, dan pada pemeriksaan mikroskopis tampak proliferasi di sekitar area nekrosis dengan deposit IgG, IgM dan C3 di mesangial, subendotel, dan subepitel ginjal. Pasien bermanifestasi klinis hematuri mikroskopis atau gros, piuria, dan proteinuri ringan. Pasien dengan RPGN umumnya menderita penurunan fungsi ginjal yang cepat. Anemia normokrom normositik, peningkatan LED, hipokomplemenemia, peningkatan titer faktor reumatoid, krioglobulin tipe 3,

imun kompleks di sirkulasi, dan terkadang peningkatan kreatinin serum dapat ditemukan pada penderita. (Longo *et al.*, 2012)

#### **2.2.2.1.3 Nefritis lupus**

Nefritis lupus merupakan komplikasi LES yang umum dan serius. Kelainan ini banyak dijumpai pada rewaja wanita Afrika-Amerika. Tiga puluh hingga tiga puluh lima persen penderita memiliki manifestasi klinis kelainan ginjal saat didiagnosis LES. Nefritis lupus diakibatkan penumpukan kompleks imun di sirkulasi, yang kemudian mengaktifasi kaskade komplemen dan mengakibatkan kerusakan jaringan, infiltrasi leukosit, aktivasi faktor prokoagulan, dan pelepasan beberapa sitokin pro inflamasi. Mikroangiopati trombotik juga dipicu oleh antibodi antifosfolipid pada sebagian kecil pasien. Manifestasi klinis nefritis lupus yang paling sering dijumpai adalah proteinuri, tetapi dapat pula ditemukan hematuri, hipertensi, kegagalan ginjal, dan silinder eritrosit. Biopsi ginjal dilakukan bila telah dijumpai adanya abnormalitas pada hasil urinalisis. Antibodi anti-dsDNA berkorelasi positif dengan kelainan ginjal. (Longo *et al.*, 2012)

#### **2.2.2.1.4 Antiglomerular basement membrane disease (anti-GBM disease)**

Kelainan anti-GBM adalah glomerulonefritis yang disebabkan autoantibodi terhadap antigen membran basal glomerulus. Bila disertai perdarahan paru-paru, maka disebut sindrom pulmoner-renal atau sindrom *Goodpasture's*. Epitop target kelainan ini terdapat pada struktur kuarteren  $\alpha 3$  NC1 domain kolagen IV. Tubuh membentuk autoantibodi terhadap epitop ini karena imun manusia tidak menoleransi epitop kuarteren. Sindrom tersebut dapat dijumpai pada laki-laki akhir usia 20 tahunan dan laki-laki serta perempuan usia 60 sampai 70 tahun.

Hemoptisis, penurunan mendadak hemoglobin, demam, sesak nafas dan hematuri dapat dijumpai pada penderita usia muda. Biopsi ginjal sebaiknya

segera dilakukan untuk menegakkan diagnosis dan memperbaiki prognosis pada kasus yang diduga sindrom *Goodpasture's*. (Longo *et al.*, 2012)

#### **2.2.2.1.5 Nefropati IgA**

Penumpukan IgA di mesangial dan hiperselularitas mesangial ditemukan pada penderita nefropati IgA. Puncak insidensi nefropati IgA adalah pada laki-laki dekade kedua dan ketiga. Manifestasi klinis nefropati IgA adalah hematuri makroskopis berulang atau hematuri mikroskopis asimtomatik persisten selama atau segera setelah infeksi saluran nafas atas. Hematuri juga sering disertai proteinuri. Sekitar 5-30% penderita mengalami remisi kompli. (Longo *et al.*, 2012)

#### **2.2.2.2 Sindrom nefrotik**

Sindrom nefrotik memiliki manifestasi klinis klasik berupa proteinuri berat, hematuri yang minimal, hipoalbuminemia, hiperkolesterolemia, edema dan hipertensi. Sindrom ini cepat mengalami perburukan dan penurunan laju filtrasi glomerulus bila tidak diterapi. (Longo *et al.*, 2012)

##### **2.2.2.2.1 Minimal change disease**

*Minimal Change Disease* menyebabkan 70-90% sindrom nefrotik pada anak-anak dan hanya 10-15% pada dewasa. Kelainan ini dapat berdiri sendiri atau menyertai kondisi lain seperti penyakit Hodgkin, alergi, atau penggunaan obat anti inflamasi. Adanya sitokin di sirkulasi yang diduga berhubungan dengan sel T mempengaruhi muatan listrik kapiler dan integritas podosit. Manifestasi klinis kelainan ini adalah edema dan sindrom nefrotik dengan sedimen urin aseluler. Proteinuri 24 jam rata-rata sebesar 10 gram dengan hipoalbuminemi berat. Kelainan ini terkadang disertai hipertensi (30% pada anak-anak dan 50% pada dewasa), hematuri mikroskopis (20% pada anak-anak dan 33% pada dewasa), gejala atopi atau alergi (40% pada anak-anak dan 30% pada dewasa), dan penurunan fungsi ginjal (kurang dari 5% pada anak-anak, 30% pada

dewasa). Pasien dengan hipoalbuminemi dan edema intrarenal (nefrosarka) sering ditemukan dengan gagal ginjal akut. Kekambuhan terjadi pada 70-75% anak-anak setelah remisi pertama kali. (Longo *et al.*, 2012)

#### **2.2.2.2.2 Focal segmental glomerulosclerosis (FSGS)**

*Focal segmental glomerulosclerosis* adalah skar glomerular segmental yang mengenai beberapa bagian glomerulus, tetapi tidak mengenai keseluruhan glomerulus. Manifestasi klinis FSGS umumnya adalah proteinuri. Penyebab FSGS adalah multifaktorial. TGF $\beta$  diduga menyebabkan proliferasi sel dan sintesis matriks. Mutasi genetik diduga menyebabkan abnormalitas podosit.

Perubahan patologis pada FSGS terutama pada sambungan kortikomedular di glomerulus. Manifestasi klinis FSGS adalah hematuri, hipertensi, proteinuri atau insufisiensi renal. (Longo *et al.*, 2012)

#### **2.2.2.2.3 Nefropati diabetik**

Nefropati diabetik adalah penyebab tersering gagal ginjal kronis di Amerika Serikat. Sekitar 40% pasien diabetes tipe 1 dan 2 mengalami nefropati diabetik.

Faktor risiko nefropati diabetik adalah hiperglikemi, hipertensi, dislipidemia, merokok, dan riwayat nefropati diabetik di keluarga. Perubahan morfologi pada ginjal terjadi dalam satu hingga 2 tahun setelah onset klinis diabetes. Penebalan membran basal glomerulus merupakan indikator yang sensitif terhadap adanya diabetes, tetapi tidak berkorelasi dengan nefropati diabetik. Hilangnya gugusan heparan sulfat pada membran basal glomerulus mengakibatkan muatan membran filtrasi menjadi negatif. Hal ini mengakibatkan peningkatan filtrasi protein ke dalam urin, terutama albumin yang bermuatan negatif. Hiperglikemi mengakibatkan gangguan pada sitoskeleton aktin di mesangial ginjal dan otot polos pembuluh darah. Hal tersebut mengakibatkan peningkatan tekanan di kaliper glomerulus (hipertensi intraglomerulus). Peningkatan tekanan tersebut

dalam jangka waktu lama mengakibatkan kerusakan membran basal glomerulus (mengakibatkan peningkatan proteinuri) dan glomerulosklerosis. Albuminuri pada rentang 30-300 mg/24 jam disebut mikroalbuminuri. Pada pasien diabetes tipe 1 ataupun 2, mikroalbuminuri muncul 5 hingga 10 tahun sejak awal didiagnosis. (Longo *et al.*, 2012) Pada nefropati diabetik sangat jarang dijumpai akantosit dalam analisis sedimen urin. Bila ditemukan akantosit lebih dari 5% patut dicurigai adanya glomerulonefritis pada pasien. (Heine *et al.*, 2004)

### 2.2.3 Diagnosis kelainan glomerular

Pemeriksaan untuk menegakkan diagnosis kelainan glomerular dilakukan keseluruhan dan penegakan diagnosis berdasarkan rangkuman keseluruhan pemeriksaan, baik hasil positif maupun negatif. pemeriksaan tunggal yang dapat membedakan kelainan glomerular dengan selain kelainan glomerular hingga saat ini belum ada. Biopsi ginjal juga tidak dapat membedakan dengan pasti kelainan glomerular dengan non glomerular. (Longo *et al.*, 2012)

### 2.3 Hematuri

Hematuri adalah adanya eritrosit di dalam urin, baik dapat dilihat secara langsung atau terdeteksi pada pemeriksaan mikroskopis (Rodgers *et al.*, 2006; Sultana *et al.*, 2011). Hematuri yang dapat dilihat secara langsung disebut hematuri makroskopis atau *gross hematuria* (Meyers, 2004; Rodgers *et al.*, 2006; Karnath *et al.*, 2007; Sultana *et al.*, 2011; Denker dan Brenner, 2013). *American Urological Association* mendefinisikan hematuri mikroskopis adalah ditemukannya tiga atau lebih eritrosit per lapang pandang besar (LPB) pada analisis mikroskopis urin (Karnath *et al.*, 2007). Pemeriksaan urin dengan stik dapat digunakan untuk mengetahui adanya hematuri secara cepat. Pemeriksaan urin dengan stik tidak selalu memberikan hasil yang sama dengan pemeriksaan mikroskopis urin. Hasil pemeriksaan stik darah positif dengan pemeriksaan

mikroskopis eritrosit normal dapat ditemukan pada kasus hemoglobinuria dan mioglobinuria. (Rodgers *et al.*, 2006).

### 2.3.1 Epidemiologi hematuri

Prevalensi asimtomatik hematuri bervariasi antara 0,19 sampai 21%, tergantung usia dan jenis kelamin populasi yang diteliti (Rodgers *et al.*, 2006;

Sultana *et al.*, 2011). Penelitian di Inggris menyatakan bahwa prevalensi asimtomatik hematuri pada populasi laki-laki dewasa adalah 2,5%. Prevalensi hematuri meningkat menjadi 22% pada laki-laki usia di atas 60 tahun (Rodgers *et al.*, 2006). Prevalensi hematuri makroskopis adalah 2,5% (Juran, 2012).

Prevalensi hematuri baik makroskopis maupun mikroskopis bervariasi antara 5 sampai 20% (Sultana *et al.*, 2011). Penelitian Tentori dan kawan-kawan pada populasi Indian Meksiko mendapatkan prevalensi hematuri mikroskopis dan makroskopis penderita di atas usia 5 tahun adalah 33,2% (Tentori *et al.*, 2003).

### 2.3.2 Etiologi hematuri

Etiologi hematuri dapat dibedakan menjadi glomerular dan non glomerular (Karnath *et al.*, 2007; Juran, 2012). Hematuri non glomerular dapat disebabkan kelainan pada traktus urinarius atas dan atau bawah (Juran, 2012). Hematuri makroskopis dengan bekuan darah hampir tidak pernah menunjukkan kelainan pada glomerulus dan lebih menunjukkan perdarahan pada sistem penampungan urin (Denker and Brenner, 2013). Etiologi hematuri mikroskopis adalah :

1. Kelainan glomerular
  - a. Nefropati IgA
  - b. Penyakit membran basal tipis (*benign familial hematuria*)
  - c. Nefritis herediter (sindrom *Alport*)
  - d. *Loin pain hematuria syndrome* (bermanifestasi klinis *gross hematuri*)
  - e. Glomerulonefritis karena sebab lain



2. Kelainan non glomerular

a. Traktus urinarius atas

- *Nefrolithiasis*
- Pielonefritis
- Kanker ginjal
- Penyakit ginjal polistik
- *Medullary sponge kidney*
- Hiperkalsiuri, hiperurikosuri, atau keduanya, tanpa adanya batu
- Kanker pelvis ginjal atau sel transisional ureter
- Trauma ginjal
- Nekrosis papila
- Infark ginjal / malformasi arterivena / trombosis vena ginjal / sindrom

*Nutcracker*

- Striktur uretera dan hidronefrosis
- Penyakit sel sabit
- Tuberkulosis ginjal

b. Traktus urinarius bawah

- Sistitis, prostatitis, uretritis
- Kanker kandung kemih
- Kanker prostat atau *benign prostate hypertrophy*
- Polip dan tumor jinak uretera dan kandung kemih
- *Schistosoma haematobium* (di Afrika Utara)
- Trauma (kateterisasi atau trauma kandung kemih)

3. Lain – lain

a. Hematuri karena aktivitas fisik

b. Kontaminasi menstruasi

- c. Antikoagulan yang berlebihan (umumnya warfarin)
- d. Hubungan seksual
- e. Hematuri yang tidak diketahui sebabnya (Sultana *et al.*, 2011; Karnath *et al.*, 2007; Crop *et al.*, 2010; Juran, 2012)

Penyebab tersering hematuri glomerular pada usia kurang dari 50 tahun adalah nefropati IgA dan *thin basement membrane disease* atau penyakit membran basal tipis. Pada usia lebih dari 50 tahun penyebab tersering hematuri glomerular adalah nefropati IgA. Penyebab tersering hematuri non glomerular pada usia kurang dari 50 tahun adalah *nefrolithiasis*, pielonefritis, sistitis, prostatitis dan uretritis. Penyebab tersering hematuri non glomerular pada usia lebih dari 50 tahun adalah kelainan ginjal, kelainan prostat dan kanker sel transisional (kandung kemih dan uretra) (Juran, 2012).

### 2.3.3 Patofisiologi hematuri

Lokasi anatomis traktus urinarius yang mengalami kelainan mempengaruhi terjadinya hematuri (Sultana *et al.*, 2011). Hematuri dapat berasal dari glomerulus, tubulus ginjal, interstitial ginjal, ataupun traktus urinarius (pelvis ginjal, ureter, kandung kemih, dan uretra) (Meyers, 2004). Hematuri tanpa disertai proteinuri ataupun silinder disebut *isolated hematuria* (Fatica and Fowler, 2009). Eritrosit yang berasal dari nefron menyebabkan hematuri glomerular (Sultana *et al.*, 2011). Patofisiologi perubahan bentuk eritrosit pada kelainan glomerular menjadi dismorfik hingga saat ini masih belum jelas diketahui (Crop *et al.*, 2010).

Glomerular hematuri adalah kelainan pada traktus urinarius dengan hematuri mikroskopis (eritrosit lebih dari tiga per lapang pandang besar) atau hematuri gross sebagai karakteristik utamanya. Kelainan ini dapat tanpa disertai adanya edema berat dan hipertensi, dengan atau tanpa proteinuri, dan fungsi ginjal yang normal. Reaksi imun yang menyebabkan perubahan patologis pada

membran basal glomerulus, abnormalitas pada serat kolagen, dan perubahan struktur kimia membran basal glomerulus diduga berhubungan dengan hematuri yang terjadi. Perubahan muatan listrik pada membran eritrosit dan perubahan bentuk eritrosit diduga juga berperan dalam terjadinya hematuri glomerular. (Ma *et al.*, 2015)

Bukti yang meyakinkan hematuri berasal dari glomerular adalah ditemukan silinder eritrosit atau silinder hemoglobin pada pemeriksaan sedimen urin. Mukoprotein yang disebut uromodulin atau protein *Tamm Horsfall* disekresi pada lengkung *Henle* tebal yang mengarah ke atas. Mukoprotein akan berubah menjadi substansi seperti gelatin bila konsentrasinya cukup (berat jenis urin lebih dari 1.010 gr/mL), pH urin asam (kurang dari 6) dan urin stasis dalam waktu lama. Hal ini mengakibatkan mukoprotein mengikuti bentuk lumen tubulus dan semua sel serta protein di filtrat urin akan terperangkap dalam selubung atau silinder yang terbentuk. Pembentukan silinder akan sempurna saat urin memasuki duktus kolektivus. Sel yang ditemukan di urin setelah melewati nefron (misal di ureter atau kandung kemih) tidak dapat terperangkap dan menjadi penyusun silinder. Penemuan silinder yang berisi sel di dalamnya pada pemeriksaan urinalisis sangat mendukung kerusakan glomerular. (Huussen *et al.*, 2004). Silinder eritrosit dan/atau silinder leukosit di urin mendukung diagnosis hematuri glomerular. (Hebert *et al.*, 2013)

Eritrosit dismorfik ditemukan di urin bila barrier fisiologis glomerulus yang dilewati eritrosit mengalami kerusakan (Huussen *et al.*, 2004; Sultana *et al.*, 2011). Barrier ini terdiri dari endotel kapiler, membran basal glomerulus dan lapisan epitel (podosit) (Huussen *et al.*, 2004; Sultana *et al.*, 2011). Kerusakan barrier ini mengakibatkan eritrosit melewatinya dan mengikuti aliran urin ke sistem tubulus (Huussen *et al.*, 2004; Sultana *et al.*, 2011). Kerusakan mekanis yang terjadi saat eritrosit melewati penyaringan di membran glomerulus menyebabkan

perubahan sitoskeleton eritrosit dan terjadi perubahan bentuk eritrosit (Meyers, 2004; Poloni *et al.*, 2012). Eritrosit tersebut mengikuti aliran urin dan mengalami perubahan bentuk karena perubahan tekanan osmotik di sistem tubulus, terutama duktus koligentes (Sultana *et al.*, 2011; Crop *et al.*, 2010). Perubahan tekanan osmotik saja pada penelitian *in vitro* tidak dapat menyebabkan terbentuknya eritrosit dismorfik (Huussen *et al.*, 2004). Perbedaan tekanan osmotik, perubahan osmolalitas urin, derajat keasaman, dan protein dalam urin diduga dapat menyebabkan terbentuknya eritrosit dismorfik (Huussen *et al.*, 2004; Abolfathi, 2007; Sultana *et al.*, 2011; Crop *et al.*, 2010). Iritasi, inflamasi atau invasi pada epitel traktus urinarius dapat menyebabkan hematuri isomorfik. (Sultana *et al.*, 2011; Crop *et al.*, 2010)

Eritrosit dismorfik memiliki ukuran yang kecil atau *mean corpuscular volume* (MCV) yang rendah dan terfragmentasi dengan ukuran dan bentuk yang bervariasi (Albofathi, 2007; Offringa and Benbassat, 1992; Crop *et al.*, 2010). Eritrosit dismorfik memiliki bentuk dan kontur yang ireguler serta morfologi yang bermacam-macam (Poloni *et al.*, 2012). Eritrosit dismorfik memiliki bentuk antara lain akantosit atau sel G1, eritrosit yang menyerupai donat, eritrosit yang menyerupai jamur, eritrosit berbentuk sferis dengan lebih dari satu penonjolan, eritrosit berukuran kecil yang disertai deformitas, dan fragmentosit (Albofathi *et al.*, 2007). Nilai diagnostik eritrosit dismorfik untuk mendiagnosis kelainan glomerular hingga saat ini masih diperdebatkan (Crop *et al.*, 2010). Persentase eritrosit dismorfik yang tinggi mengarah ke kelainan glomerular sedangkan persentase yang rendah lebih mengarah ke kelainan non glomerular. Batasan persentase untuk membedakan kedua kelainan tersebut bervariasi antara 10% hingga 90%. (Crop *et al.*, 2010) Penelitian Dinda menyebutkan bahwa penggunaan *cut off* eritrosit dismorfik lebih dari sama dengan 20%, dengan pewarnaan supravital dan mikroskop cahaya memiliki sensitifitas 100% dan

spesifisitas 82% untuk mendiagnosis kelainan glomerular (Dinda, 2001).

Huussen *et al.* (2004) menggunakan nilai *cut-off* eritrosit dismorfik lebih dari 40%

dengan gambaran polimorfik pada pemeriksaan menggunakan mikroskop

cahaya untuk mendiagnosis kelainan glomerular dengan nilai sensitivitas 100%

dan spesifisitas 66,7%. Gambaran polimorfik adalah ditemukannya lebih dari 3

macam kelainan bentuk eritrosit. Silinder eritrosit atau silinder hemoglobin yang

ditemukan di urin meningkatkan sensitivitas menjadi 100% dan spesifisitas

menjadi 88,1% untuk mendiagnosis kelainan glomerular. (Huussen *et al.*, 2004)

Bentuk eritrosit dismorfik yang telah diidentifikasi dan bermakna terhadap

kelainan glomerular adalah akantosit atau sel G1. (Crop *et al.*, 2010)

Hematuri glomerular memiliki karakteristik ditemukannya peningkatan

eritrosit dengan bentuk akantosit pada urinalisis, selain ditemukannya silinder

eritrosit atau silinder eritrosit dan leukosit. Akantosit lebih sering dijumpai

daripada silinder eritrosit atau silinder eritrosit dengan leukosit pada pasien

dengan hematuri glomerular (Heine *et al.*, 2004; Hebert *et al.*, 2013). Beberapa

penelitian menyatakan bahwa akantosit lebih spesifik untuk menentukan kelainan

glomerular dibandingkan eritrosit dismorfik (Huussen *et al.*, 2004). Silinder

eritrosit atau silinder eritrosit dan leukosit di urin mengindikasikan kelainan

glomerular yang lebih berat. Akantosit atau sel G1 berasal dari eritrosit yang

mengalami perubahan bentuk atau terdistorsi saat melewati barier filtrasi

glomerulus (Heine *et al.*, 2004; Hebert *et al.*, 2013). Akantosit atau sel G1 yang

termasuk dalam eritrosit dismorfik memiliki bentuk seperti cincin atau donat

dengan ukuran bervariasi dan terdapat satu atau lebih penonjolan (Poloni *et al.*,

2012; Heine *et al.*, 2004; Huussen *et al.*, 2004; Dinda *et al.*, 1997). Penelitian

Dinda dan kawan-kawan menyimpulkan bahwa akantosit lebih dari 4% di urin

memiliki sensitivitas 100% dan spesifisitas 100% dibandingkan eritrosit dismorfik

yang memiliki sensitivitas 90% dan spesifisitas 100% untuk menentukan kelainan

glomerular (Dinda *et al.*, 1997). Penelitian lain menyimpulkan bahwa lebih dari 5% akantosit pada urinalisis memiliki sensitivitas 50% dan spesifisitas 95% untuk menentukan hematuri glomerular. (Heine *et al.*, 2004; Hebert *et al.*, 2013)

Eritrosit isomorfik memiliki ukuran dan bentuk yang sama (monomorfik) atau MCV yang normal dan bentuk serta ukuran yang sama dengan eritrosit di darah tepi (Offringa and Benbassat, 1992; Albofathi, 2007). Eritrosit isomorfik berbentuk bundar atau bikonkaf dengan tepi yang halus (Poloni *et al.*, 2012).

Beberapa eritrosit isomorfik dapat mengalami krenasi dengan tepi bergerigi yang reguler (Albofathi, 2007; Poloni *et al.*, 2012). Eritrosit isomorfik yang kehilangan hemoglobin disebut *ghost cell*. (Albofathi, 2007)

Hematuri glomerular umumnya disertai peningkatan albuminuria. Adanya kerusakan pada barier filtrasi glomerulus juga menyebabkan albumin memasuki urin. Albuminuria juga merupakan karakteristik proteinuri glomerular tetapi tidak memiliki nilai diagnostik. Ambang batas albuminuria abnormal adalah 30 mg albumin/gram kreatinin urin. Albuminuria dapat terjadi pada proteinuri tubular atau proteinuri yang disebabkan peningkatan produksi. Penurunan reabsorpsi albumin di tubulus terjadi pada kerusakan tubulus. Albumin secara normal direabsorpsi sempurna dan disaring sekitar 1 gram/hari. Peningkatan produksi imunoglobulin dapat mengakibatkan peningkatan ekskresi imunoglobulin rantai ringan atau rantai berat di urin berupa peningkatan proteinuri. Rantai ringan monoklonal yang bebas atau rantai berat monoklonal yang bebas menginduksi glomerulopati (penyakit deposisi rantai ringan, penyakit deposisi rantai berat, amiloidosis) dan mengakibatkan proteinuri glomerular. Paraprotein yang disaring dapat menyebabkan kerusakan tubulus dan mengakibatkan albuminuri. Adanya albuminuri tidak dapat menyingkirkan proteinuri tubular atau peningkatan produksi. (Hebert *et al.*, 2013)

Albuminuri yang abnormal patut dicurigai bila pada urinalisis *dipstick* didapatkan nilai 2+ atau lebih (lebih dari 100 mg/dL). Positif palsu albuminuri dapat disebabkan urin yang sangat pekat (berat jenis lebih besar sama dengan 1.030) atau pada urin yang sangat alkalis (pH lebih dari 7.0) karena bikarbonat. Hasil positif palsu tersebut dapat dikonfirmasi dengan penambahan asam sulfosalisilat 20%. Bila tidak didapatkan kekeruhan setelah penambahan asam sulfosalisilat, maka hasil tersebut adalah positif palsu. Lebih dari 40% proteinuri total adalah albumin (rasio albumin urin/protein urin lebih dari 0,4) pada kelainan glomerular, bila rasio kreatinin/protein total urin lebih dari 0,4 dan rasio albumin urin/protein urin 60% sampai 80% dari proteinuri total. Jika penyebab proteinuri adalah kelainan tubulointerstitial, maka albumin kurang dari 40% dari protein urin total (rasio albumin urin/protein urin kurang dari 0,4). (Hebert *et al.*, 2013)

#### 2.3.4 Pemeriksaan urinalisis pada hematuri

Pemeriksaan hematuri harus disertai dengan anamnesis yang jelas. Hematuri yang didapatkan pada awal berkemih diduga disebabkan kelainan pada uretra distal, sedangkan hematuri yang didapatkan pada akhir berkemih diduga disebabkan kelainan pada leher kandung kemih, uretra posterior, atau uretra pars prostatika pada laki-laki. Hematuri yang terjadi sepanjang berkemih diduga berasal dari traktus urinarius atas atau bawah. Hematuri yang berasal dari kelainan glomerular berwarna seperti kola atau coklat gelap, sedangkan hematuri pelvis renal dan traktus urinarius bawah umumnya berwarna merah muda atau merah (Meyers, 2004; Karnath *et al.*, 2007).

Analisis sedimen urin sebaiknya dilakukan pada urin segar (Bottini *et al.*, 2005). Pemeriksaan lebih dari dua jam sejak pengambilan sampel dapat menurunkan akurasi interpretasi karena sel telah mengalami perubahan morfologi dan terdapat kerusakan atau lisis pada sel ataupun silinder (Abolfathi,

2007; Bottini *et al.*, 2005). Urin alkali dengan berat jenis rendah meningkatkan kemungkinan kerusakan dan lisis sel. Penambahan formaldehid untuk pengawet urin memiliki korelasi yang baik dengan morfologi eritrosit hingga penyimpanan selama 90 hari pada suhu ruang. Pemeriksaan urin segar tetap memiliki hasil yang lebih baik untuk analisis dibandingkan pemberian pengawet. (Bottini *et al.*, 2005)

Pemeriksaan urinalisis dengan *flow cytometry urine analyzer* lebih mudah, cepat dan akurat dalam menghitung elemen yang ada di urin dibandingkan pemeriksaan dengan mikroskop cahaya. *Flow cytometry urine analyzer* tidak dapat mengidentifikasi kelainan bentuk pada eritrosit dismorfik ataupun mengidentifikasi isi silinder. Pemeriksaan dengan mikroskop cahaya masih diperlukan untuk mengidentifikasi eritrosit dismorfik dan isi silinder. (Apeland *et al.*, 2001)

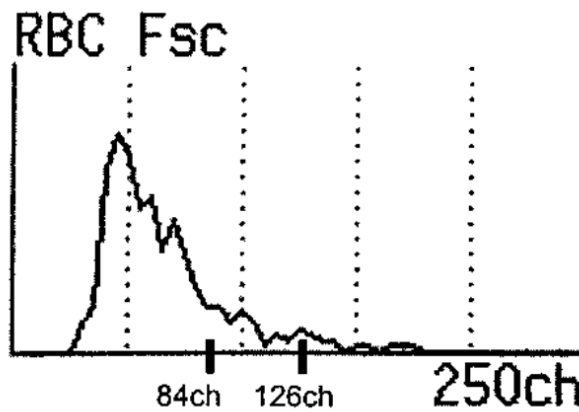
Prinsip yang digunakan pada *flow cytometry urine analyzer* untuk mengidentifikasi dan menghitung elemen di urin adalah *flowmetry* dan impedan. Urin diaspirasi secara otomatis ke dalam sistem, didilusi dan diberi warna dengan dua pewarna fluoresen. Pewarna tersebut adalah fenantiridin untuk mewarna asam nukleat dan karbosianin untuk mewarna retikulum sitoplasma. Elemen-elemen urin melewati *argon laser beam* dan berada di antara sepasang elektroda. *Scattered light*, fluoresen, dan impedan yang mengenai setiap partikel direkam dan diproses secara digital. Lima parameter dasar yang dihitung secara kuantitatif adalah jumlah eritrosit, leukosit, sel epitel, silinder dan bakteri. Jamur, kristal, silinder patologis, *small round cells* (umumnya sel epitel tubulus), dan spermatozoa juga dapat diidentifikasi. (Apeland *et al.*, 2001)

Kriteria Kitasato dapat digunakan untuk membedakan hematuri glomerular dengan non glomerular berdasarkan histogram eritrosit. Hematuri glomerular adalah volume eritrosit kurang dari sama dengan 126 *channels* (ch) lebih dari



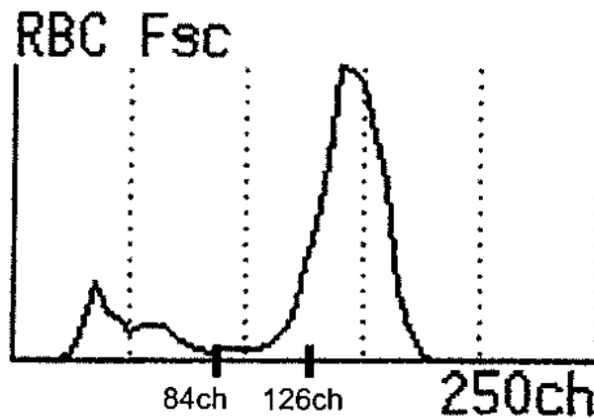
80% dan volume eritrosit lebih dari sama dengan 84 ch kurang dari 80%. Hematuri non glomerular adalah volume eritrosit lebih dari sama dengan 84 ch lebih dari 80%. Hematuri campuran adalah volume eritrosit kurang dari sama dengan 126 ch kurang dari 80% dan volume eritrosit lebih dari sama dengan 84 ch kurang dari 80%. (Apeland *et al.*, 2001)

Elemen lain diperlukan untuk membantu membedakan asal hematuri bila eritrosit yang ditemukan tidak khas atau campuran. Leukosit, bakteri atau jamur dalam jumlah banyak di urin menandakan kelainan non glomerular. Peningkatan jumlah *small round cells* (umumnya sel epitel tubulus) atau silinder patologis di urin menandakan kelainan glomerular. Jumlah eritrosit kurang dari 11 eritrosit per mikroliter atau kurang dari 1 eritrosit per lapang pandang besar pada pemeriksaan *flow cytometry urine analyzer* kurang dapat dipercaya dan diperlukan konfirmasi dengan mikroskop cahaya untuk memperjelas asal hematuri. (Apeland *et al.*, 2001)



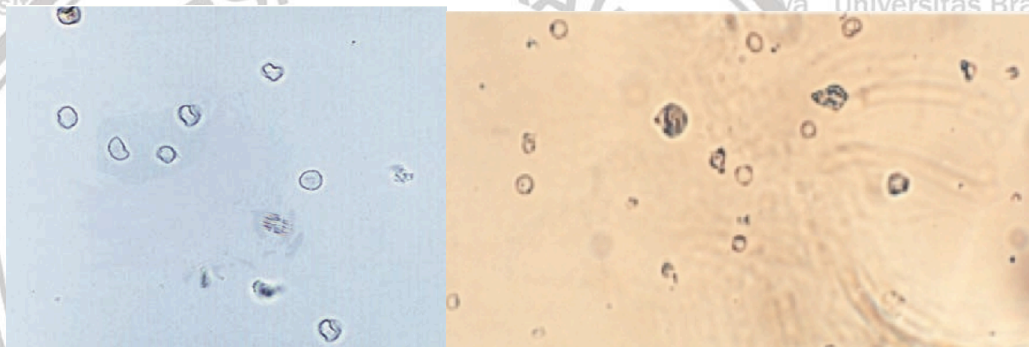
**Gambar 2.10** Histogram volume eritrosit yang menandakan glomerular hematuri (Apeland *et al.*, 2001)

Keterangan : 97% volume eritrosit kurang dari sama dengan 126 ch dan 15% volume eritrosit lebih dari sama dengan 84 ch

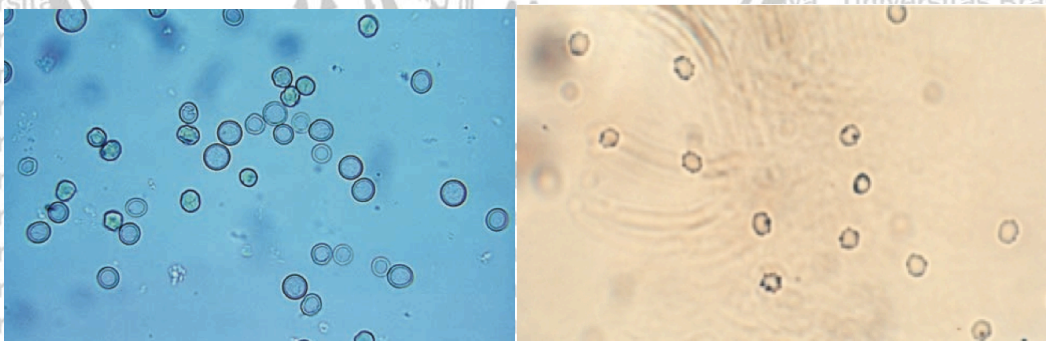


**Gambar 2.11** Histogram volume eritrosit yang menandakan non glomerular hematuri (Apeland *et al.*, 2001)

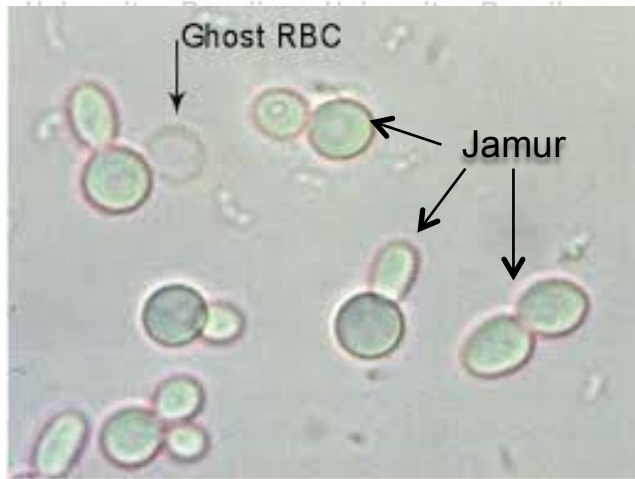
Keterangan : 29% volume eritrosit kurang dari sama dengan 126 ch dan 83% volume eritrosit lebih dari sama dengan 84 ch



**Gambar 2.12** Eritrosit dismorfik pada mikroskop cahaya (400x) (Strasinger and Di Lorenzo, 2008; Abolfathi, 2007)



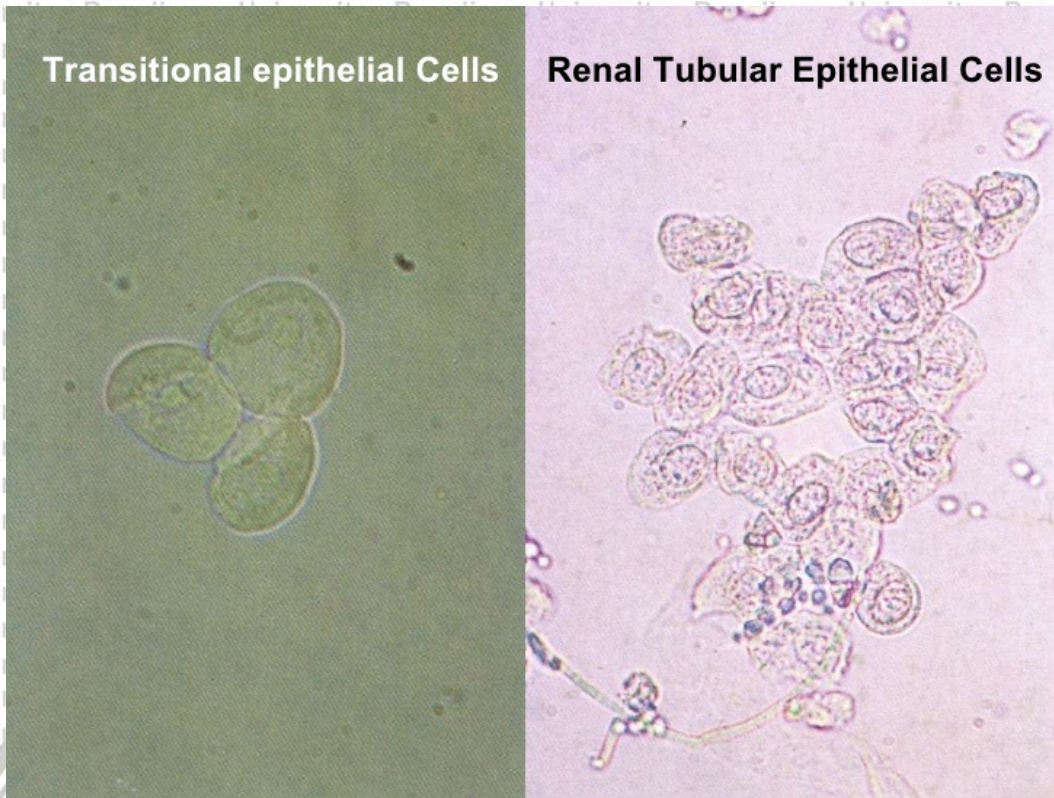
**Gambar 2.13** Eritrosit isomorfik pada mikroskop cahaya (400x) (Strasinger and Di Lorenzo, 2008; Abolfathi, 2007)



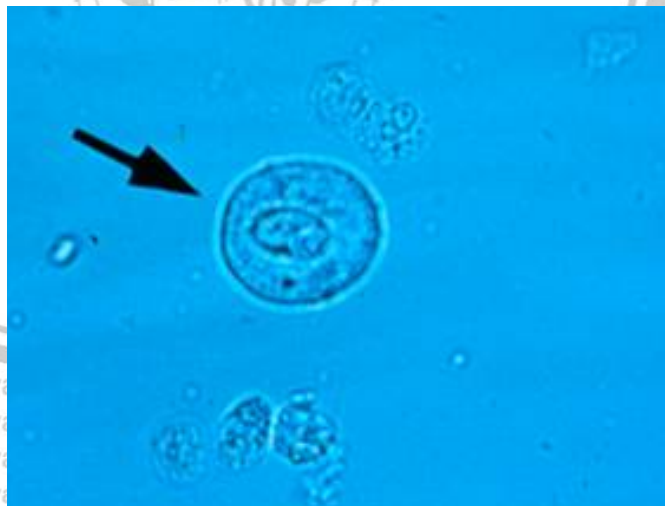
**Gambar 2.14 Ghost red blood cell dan jamur pada mikroskop cahaya (400x)**  
 (<http://webmedia.unmc.edu/alliedhealth/honeycutt/CLS426/SLMicroscopicsUA.pdf>)



**Gambar 2.15 Silinder eritrosit pada mikroskop cahaya (400x)**  
 (<https://www.auanet.org/education/hematuria.cfm>;  
<http://www.medical-labs.net/wp-content/uploads/2014/03/Red-Cell-Casts.jpg>)



**Gambar 2.16 Sel epitel transisional (kiri) dan sel epitel tubulus (kanan)**  
(<https://image.slidesharecdn.com/urinalysis1-100811141145-phpapp01/95/urinalysis-37-728.jpg?cb=1281536068>)



**Gambar 2.17 Sel epitel tubulus**  
([http://www.uthsc.edu/nephrology/documents/powerpoint-urinalysis-files/slide0012\\_image024.jpg](http://www.uthsc.edu/nephrology/documents/powerpoint-urinalysis-files/slide0012_image024.jpg))

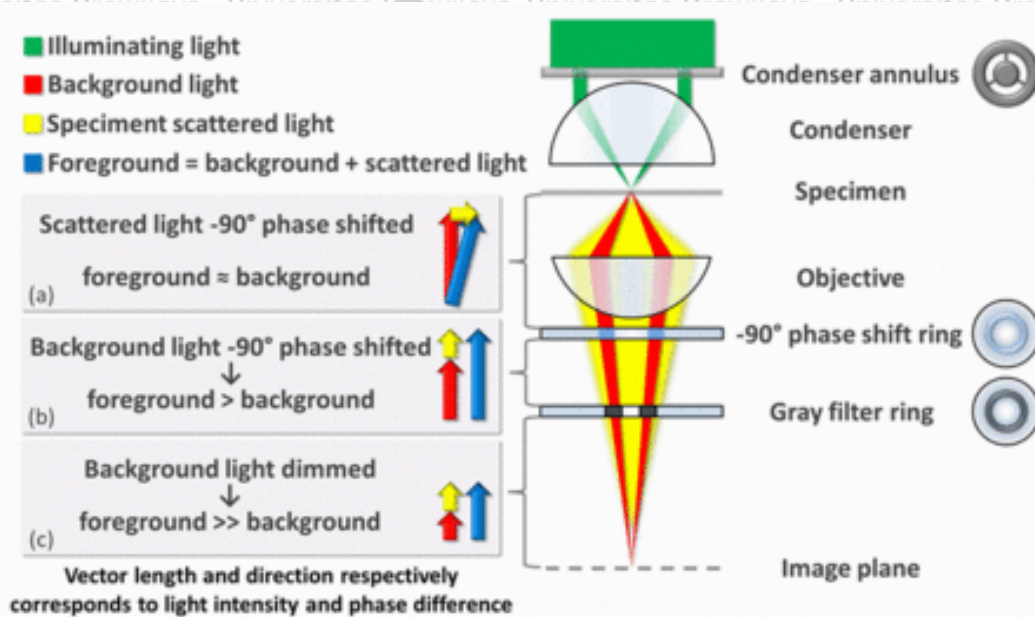
#### 2.3.4.1 Pemeriksaan hematuri dengan mikroskop fase kontras

Fase kontras adalah metode yang digunakan pada mikroskop dan dikembangkan sejak tahun 1934 oleh fisikawan Belanda, Frits Zernicke. Fase kontras hanya digunakan pada spesimen yang tidak berwarna dan transparan, yang disebut objek fase. Mikroskop fase kontras menggunakan filter optik untuk mengubah modulasi fase menjadi modulasi amplitudo, sehingga objek fase dapat terlihat. Mikroskop fase kontras menggunakan objektif dan kondensor khusus yang mengalihkan cahaya yang melewati objek fase menjadi melewati di sekitar objek fase. (Sultana *et al.*, 2011)

Mikroskop dengan peningkatan kontras untuk sel hidup disebut mikroskop fase kontras. Objek transparan sulit dikenali dengan mikroskop cahaya karena objek tersebut tidak menyerap atau menyebarkan cahaya. Prinsip dasar pembuatan perubahan fase pada mikroskop fase kontras adalah dengan memisahkan cahaya latar yang menerangi spesimen dari cahaya yang disebarkan untuk membentuk detil bagian depan, serta untuk memanipulasinya.

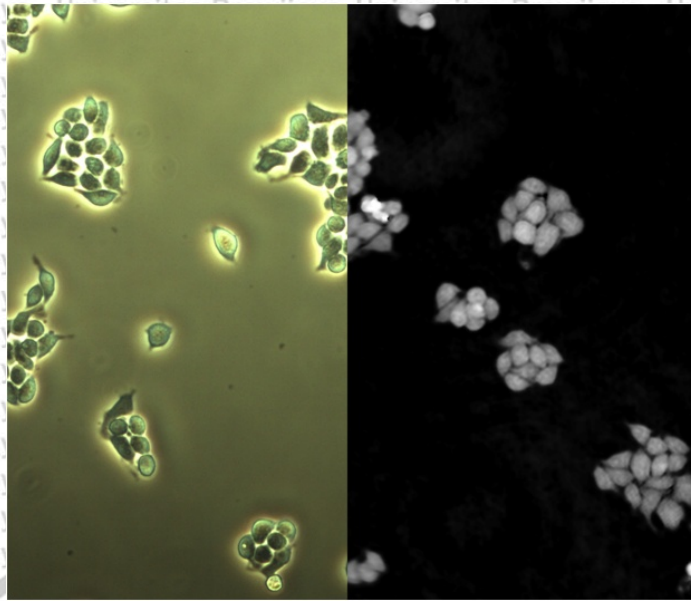
Mikroskop fase kontras meningkatkan kontras gambar dengan dua tahap. Cahaya latar digeser fasenya sebesar  $-90^\circ$  dengan melewatkannya melalui cincin penggeser fase. Hal ini menghilangkan perbedaan fase antara latar belakang dengan cahaya yang disebarkan, sehingga didapatkan peningkatan perbedaan intensitas antara latar depan dengan latar belakang. Latar belakang direduksi oleh cincin filter abu untuk lebih meningkatkan kontras. Beberapa cahaya yang tersebar digeser fasenya dan direduksi oleh cincin. Cahaya latar belakang terpengaruh ke tingkat yang lebih besar sehingga tercipta efek fase kontras. Penjelasan di atas mengenai fase kontras negatif. Pada fase kontras positif, cahaya latar digeser fasenya sebesar  $+90^\circ$ . Cahaya latar akan menjadi  $180^\circ$  di luar fase dibandingkan cahaya yang tersebar. Hal ini mengakibatkan

cahaya yang tersebar dikurangi dari cahaya latar belakang dan dihasilkan gambar latar depan yang lebih gelap dari latar belakang. Mikroskop fase kontras konvensional memperkuat kontras secara optik, mencampur kecerahan dan pengubahan fase pada satu gambar. Mikroskop fase kontras yang terbaru, mikroskop fase kontras kuantitatif, membuat dua gambar terpisah secara digital dan dihasilkan gambar dengan perbedaan ketebalan optik setelah kuantifikasi pergeseran fase diterapkan pada objek. (PHI AB, 2017)



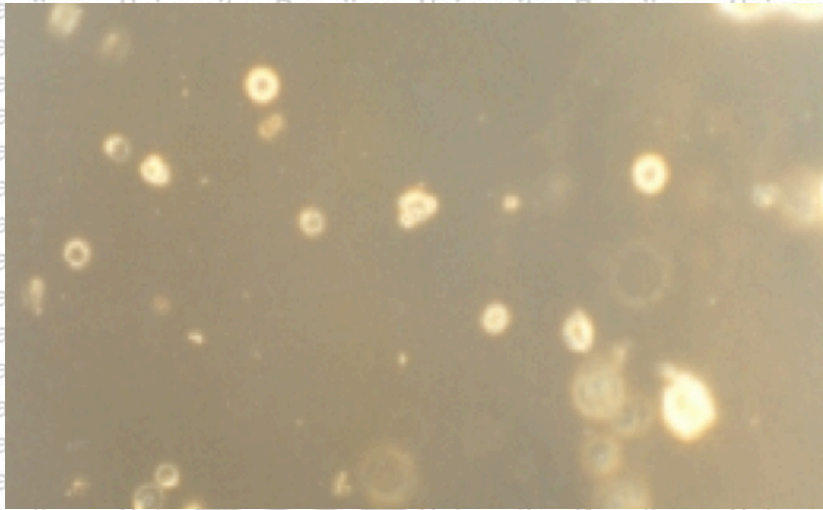
**Gambar 2.18 Prinsip mikroskop fase kontras** (PHI AB, 2017)

Keterangan : Cahaya latar yang membentuk cincin (hijau) melewati anulus kondensor difokuskan pada spesimen oleh kondensor. Beberapa cahaya latar disebarkan oleh spesimen (kuning). Sisa cahaya yang ada tidak terpengaruh spesimen dan membentuk cahaya latar (merah). Saat mengamati spesimen biologis yang tak berwarna, cahaya yang tersebar lemah dan umumnya fase bergeser sebesar  $-90^\circ$ -relatif terhadap cahaya latar. Hal ini menyebabkan latar depan (vektor biru) dan latar belakang (vektor merah) memiliki intensitas yang sama dan menghasilkan gambar dengan kontras rendah. (PHI AB, 2017)

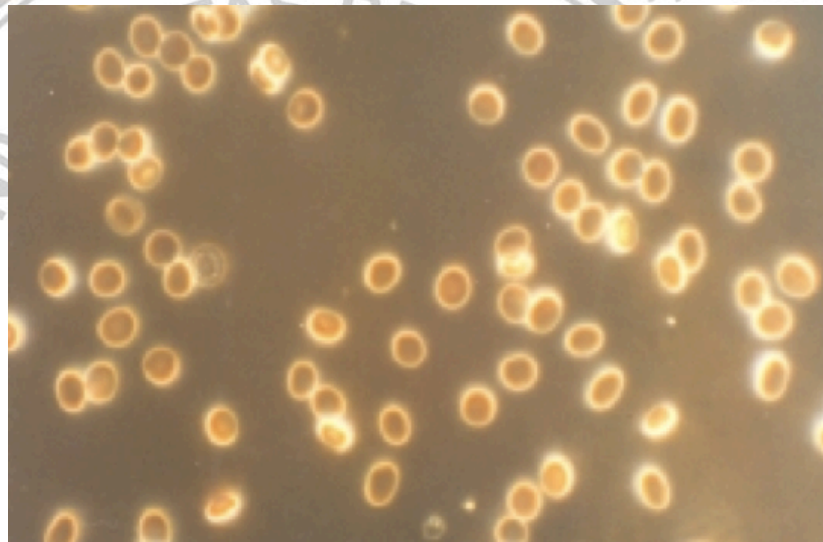


**Gambar 2.19** Gambar yang dihasilkan mikroskop fase kontras konvensional (kiri) dan mikroskop fase kontras kuantitatif (kanan) (PHI AB, 2017)

Pemeriksaan sedimen urin dengan mikroskop fase kontras dapat membedakan hematuri glomerular dan non glomerular. Pemeriksaan dengan mikroskop fase kontras merupakan standar baku emas membedakan eritrosit dismorfik dengan isomorfik (Dinda, 2001; Sultana *et al.*, 2011; Bottini *et al.*, 2005). Mikroskop fase kontras memiliki sensitivitas antara 92% sampai 97% untuk menentukan eritrosit dismorfik (Mehta *et al.*, 1994). Mikroskop fase kontras memiliki sensitivitas 90% dan spesifisitas 100% untuk menentukan hematuri glomerular (Huussen *et al.*, 2004). Mikroskop cahaya memiliki sensitivitas 82% dan spesifisitas 100% untuk menentukan kelainan glomerular (Huussen *et al.*, 2004).

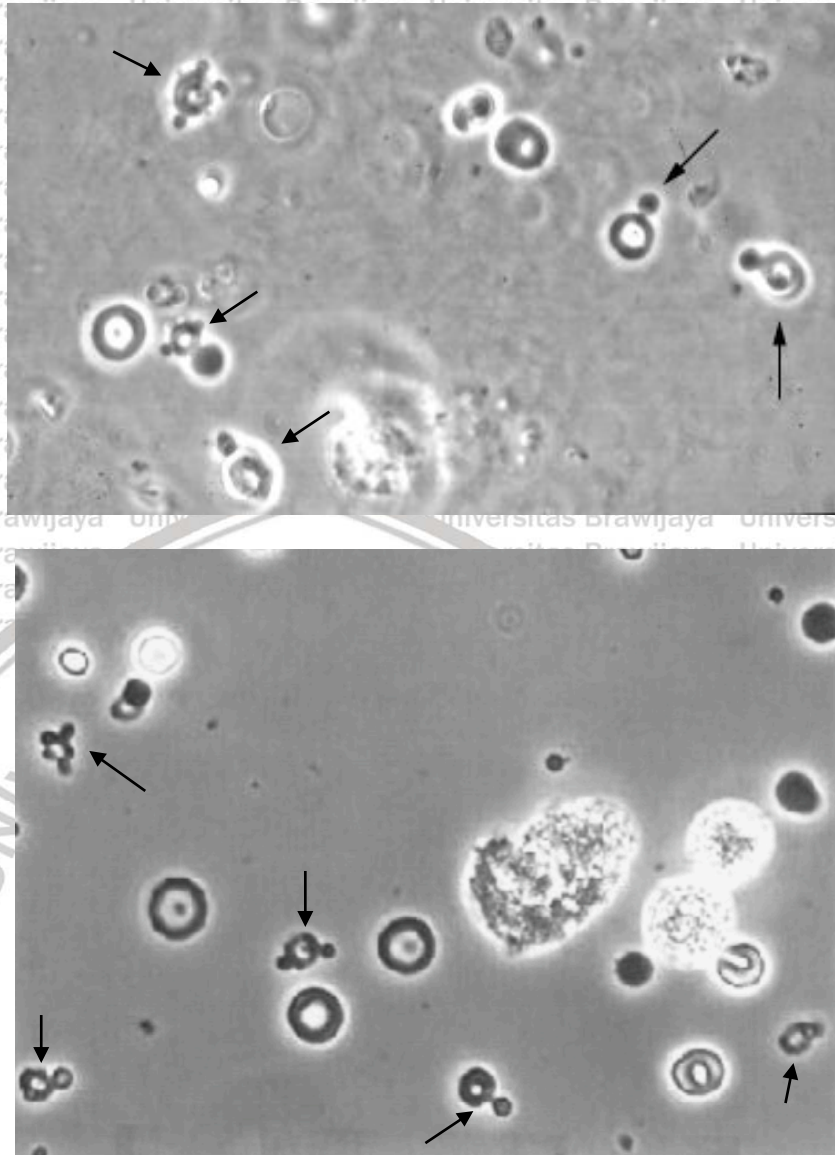


**Gambar 2.20 Eritrosit dismorfik pada mikroskop fase kontras (400x)**  
(Abolfathi, 2007)



**Gambar 2.21 Eritrosit isomorfik pada mikroskop fase kontras (400x)**  
(Abolfathi, 2007)





**Gambar 2.22 Akantosit atau sel G1 (tanda panah) pada mikroskop fase kontras (400x)**

(<http://cursoenarm.net/UPTODATE/contents/mobipreview.htm?5/17/5401>; Heine *et al.*, 2004)

### 2.3.5 Pemeriksaan histopatologi pada kelainan glomerular

Biopsi ginjal perkutaneus berperan penting pada praktik klinis dalam menentukan diagnosis, prognosis, memonitor progresifitas penyakit, pemilihan terapi yang akurat dan memonitor respon terapi. Biopsi ginjal merupakan pemeriksaan yang invasif dan berisiko tinggi terjadi komplikasi sehingga harus dilakukan di layanan kesehatan yang memiliki fasilitas dan tenaga kesehatan

yang lengkap. Biopsi ginjal dipertimbangkan sebagai standar baku emas penegakan diagnosis bila manifestasi klinis dan pemeriksaan laboratorium meragukan dalam penegakan diagnosis penyakit ginjal. Biopsi ginjal diindikasikan pada penderita berikut :

- Penderita gagal ginjal akut yang baru terdiagnosis atau tidak ada perbaikan setelah 3 sampai 4 minggu terapi suportif, termasuk dialisis akut. Biopsi ginjal diharapkan dapat membedakan antara nekrosis tubular akut dan penyakit lain yang memerlukan terapi yang berbeda.
- Penderita gagal ginjal kronik yang tidak diketahui etiologinya dan ginjal berukuran normal. Biopsi ginjal tidak disarankan pada penderita yang ukuran ginjalnya mengecil dan terdapat kerusakan berat parenkim ginjal, termasuk glomerulosklerosis, injuri vaskuler kronik dan fibrosis interstitial.
- Penderita sindrom nefrotik yang berusia kurang dari 1 tahun, penderita usia dewasa yang tidak disertai penyakit yang mendasari sebelum terapi diberikan dan penderita sindrom nefrotik yang resisten pemberian steroid.
- Penderita dengan proteinuria persisten  $\geq 2$  g/24 jam/ $1,73m^2$  dan berkaitan dengan sedimen urin patologis atau terdapat perburukan fungsi ginjal, disarankan biopsi ginjal untuk mengetahui penyakit yang mendasari.
- Penderita hematuri mikroskopis yang menetap dalam 6 bulan, penderita dengan gross hematuria episodik, penderitanya yang memiliki riwayat hematuria di keluarga dan disertai proteinuria dan/atau sedimen urin patologis. Penyebab hematuria non glomerular harus disingkirkan terlebih dahulu sebelum dilakukan biopsi ginjal.
- Penderita penyakit sistemik seperti lupus eritematosus sistemik, *Schonlein-Henoch* purpura, sindrom *Goodpasture's*, poliarteritis nodosa,

granulomatosis *Wegener*, dan disproteinemia disarankan biopsi ginjal untuk penegakan diagnosis dan pemilihan terapi.

- Penderita yang akan dilakukan pencangkokan ginjal dilakukan biopsi ginjal untuk memastikan penyakit yang mendasari. (Tisher & Crocker, 2012)

Biopsi ginjal perkutaneus merupakan standar baku emas menentukan jenis penyakit glomerular. Pemeriksaan sampel dengan mikroskop cahaya, imunohistopatologi dan mikroskop elektron dilakukan untuk mendapatkan hasil akurat dan presisi. Sampel biopsi ginjal harus minimal terdapat 15 sampai 20

glomerulus guna didapatkan hasil analisis yang akurat. (Wall, 2014) Biopsi ginjal

memiliki risiko peningkatan morbiditas dan mortalitas pada penderita sepsis,

hipertensi yang tak terkontrol, kelainan perdarahan, infeksi parenkim ginjal, ginjal

tapal kuda atau ginjal ektopik (kecuali cangkok ginjal) dan pasien yang tidak

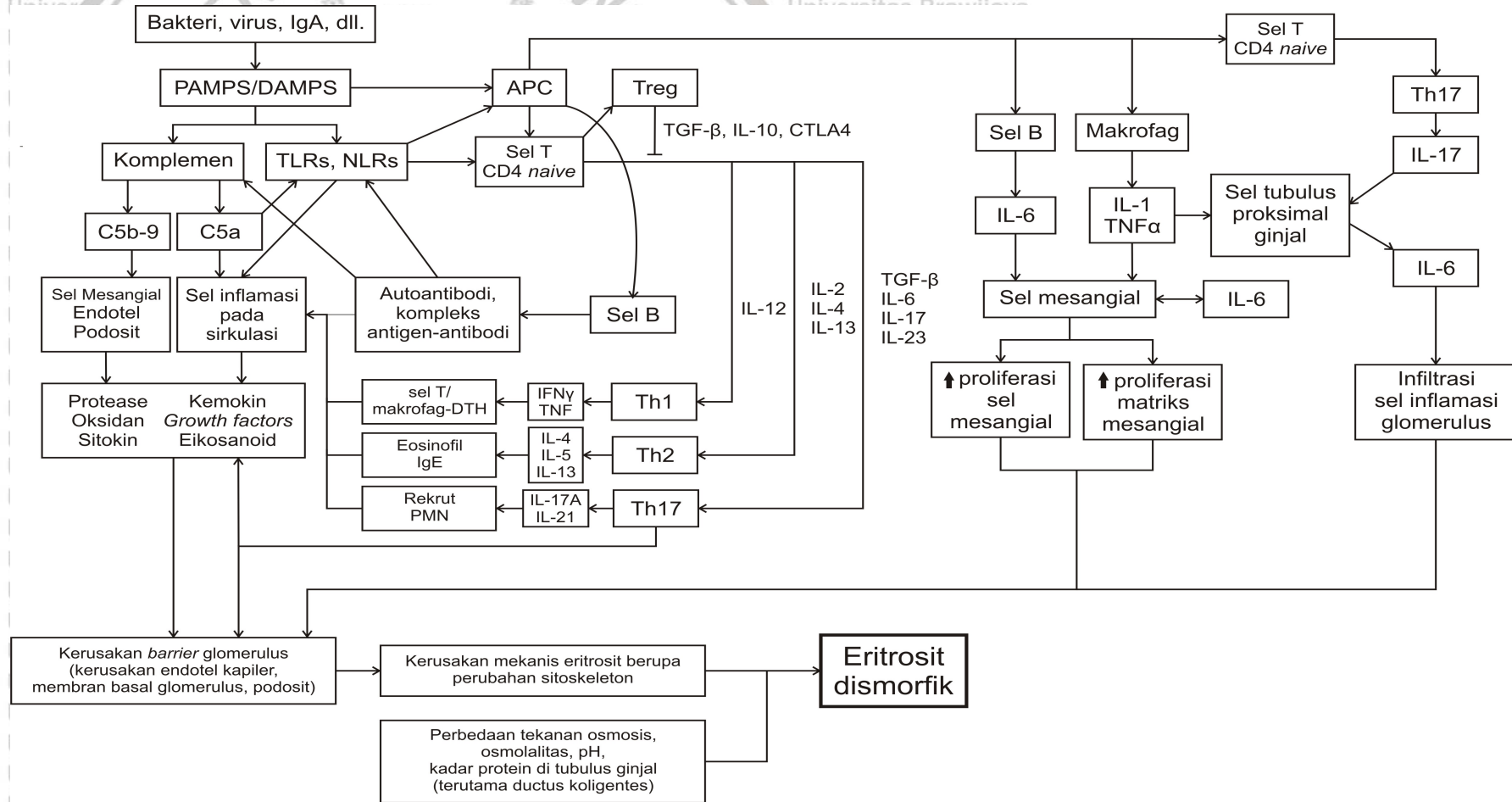
kooperatif. Biopsi ginjal harus dilakukan oleh operator yang ahli dalam

ultrasonografi, *computed tomography*, atau fluoroskopi. Komplikasi yang dapat

terjadi adalah perdarahan, nyeri pada lokasi biopsi, fistula arteriovenous, dan

hematom. (Tisher & Crocker, 2012; Wall, 2014)

## 2.4 Kerangka teori



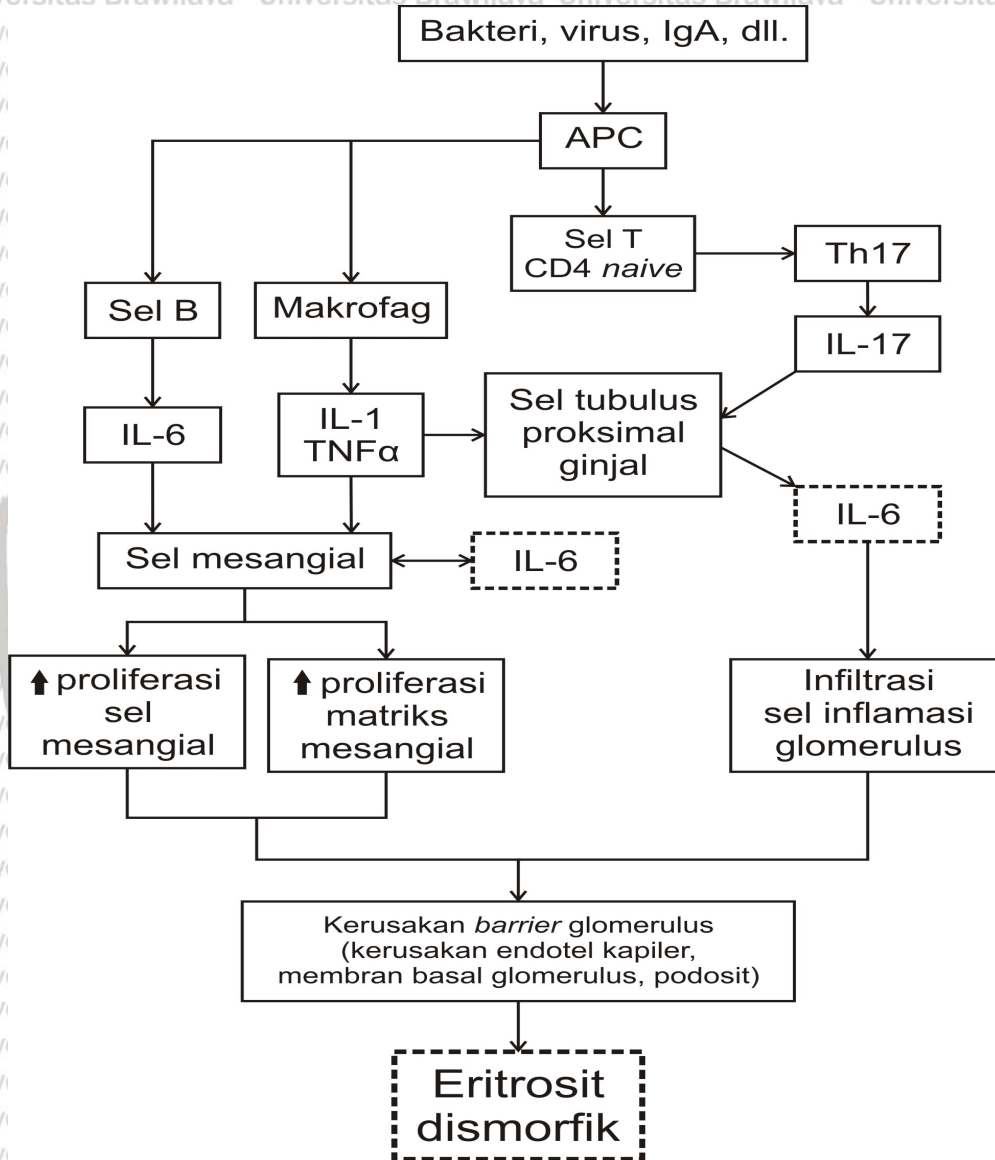
Keterangan : Etiologi kelainan yang dikenali sebagai PAMPs atau DAMPs mengaktifasi respon imun *innate* dan respon imun adaptif, yang juga berinteraksi satu sama lain. Aktivasi respon imun *innate* terjadi langsung dan mengaktifasi TLRs atau NLRs pada sel-sel inflamasi di sirkulasi dan sel-sel glomerulus. Aktivasi TLRs mengakibatkan pelepasan mediator inflamasi yang menyebabkan kerusakan glomerulus. Beberapa PAMPs dan DAMPs mengaktifasi komplemen secara langsung melalui sistem imun *innate*. TLRs juga berperan mengaktifasi sistem imun adaptif melalui sel yang mempresentasikan antigen dan memicu diferensiasi sel Th CD4, aktivasi sel B dan produksi antibodi. Antibodi mengakibatkan deposit kompleks imun ataupun pembentukan kompleks imun yang kemudian mengaktifasi TLRs dan komplemen. Aktivasi komplemen mengakibatkan disekresikannya C5a yang kemudian menarik sel-sel inflamasi di sirkulasi (neutrofil, makrofag, basofil, dan sel NK), dan dilepaskan mediator inflamasi, menyebabkan kerusakan glomerulus. C5b-9 mengaktifasi sel-sel glomerulus (sel mesangial, endotel dan podosit) serta menimbulkan kerusakan di jaringan glomerulus. Sel dendritik (APC) mempresentasikan antigen ke sel T CD4 naif. Sitokin yang dominan di sekitar sel T CD4 naif mempengaruhi diferensiasi sel T menjadi sub tipe sel T CD4 yang memiliki peran berbeda pada kelainan glomerular. Dominasi TGF $\beta$  mengakibatkan diferensiasi sel T CD4 naif menjadi Treg. Sel Treg mensekresikan TGF $\beta$ , IL 10, dan CTLA4 yang berfungsi mengatur dan menurunkan respon imun. IL-12 menstimulasi diferensiasi sel T CD4 naif menjadi sel Th1. Sel Th1 mensekresikan IFN $\gamma$  dan TNF yang mengakibatkan reaksi hipersensitifitas tipe lambat yang dimediasi sel T dan makrofag. IL-2, IL-4, dan IL-13 menyebabkan diferensiasi sel T CD4 naif menjadi sel Th2. Sel Th2 mensekresikan IL-4, IL-5, dan IL-13 yang menimbulkan reaksi hipersensitivitas tipe alergi dan melibatkan IgE serta eosinofil. Sel Th1 CD4 dan sel Th2 menyebabkan kerusakan jaringan melalui makrofag dan basofil. Adanya TGF $\beta$ , IL-6 dan IL-17 mengakibatkan diferensiasi sel T CD4 naif menjadi sel Th17. Sel Th17 merupakan sel yang paling berperan pada patofisiologi kelainan glomerular. Sel Th17 menghasilkan IL-17a dan IL-21 yang membantu datangnya sel-sel inflamasi lain dan menyebabkan kerusakan jaringan secara langsung. Sel Treg menurunkan respon imun adaptif. Makrofag yang teraktivasi mensekresikan IL-1 dan TNF $\alpha$  yang menstimulasi sel mesangial dan sel tubulus proksimal ginjal mensekresikan IL-6. Sel B yang teraktivasi mensekresikan IL-6 dan menstimulasi sel mesangial mensekresikan IL-6. Sel Th-17 mensekresikan IL-17 dan menstimulasi sel tubulus proksimal ginjal menghasilkan IL-6. Sel mesangial juga dapat distimulasi IL-6 yang dihasilkan sel mesangial sendiri. Efek stimulasi IL-6 pada sel mesangial adalah meningkatkan proliferasi sel mesangial dan meningkatkan proliferasi matriks mesangial. Efek IL-6 yang dihasilkan sel tubulus proksimal ginjal adalah meningkatkan infiltrasi sel inflamasi di glomerulus ginjal. Kedua hal tersebut mengakibatkan kerusakan *barier* glomerulus, yang meliputi kerusakan endotel kapiler, membran basal glomerulus dan podosit. Kerusakan tersebut mengakibatkan perubahan pada sitokeleton eritrosit saat eritrosit melewati *barier* glomerulus. Hal ini menyebabkan perubahan bentuk eritrosit menjadi dismorfik. Perbedaan tekanan osmosis, osmolalitas, pH dan kadar protein di tubulus ginjal, terutama di duktus koligentes, juga dapat mempengaruhi perubahan bentuk eritrosit menjadi dismorfik.



BAB 3

KERANGKA KONSEP PENELITIAN

3.1 Kerangka konsep



Keterangan

   : diteliti

Keterangan : Etiologi kelainan glomerular, misal bakteri, virus, dan IgA dipresentasikan APC ke makrofag dan sel T CD4 *naive*. Makrofag yang teraktivasi mensekresikan IL-1 dan TNF  $\alpha$ , kemudian menstimulasi sel mesangial dan sel tubulus proksimal ginjal mensekresikan IL-6. Sel B yang teraktivasi mensekresikan IL-6, kemudian menstimulasi sel mesangial mensekresikan IL-6. Sel T CD4 *naive* yang berdiferensiasi menjadi *Th-17*

mensekresikan IL-17. Hal tersebut mengakibatkan sel tubulus proksimal ginjal mensekresikan IL-6. Sel mesangial dapat distimulasi IL-6 yang dihasilkan sel mesangial sendiri. Efek stimulasi IL-6 pada sel mesangial adalah peningkatan proliferasi sel dan matriks mesangial. Efek IL-6 yang dihasilkan sel tubulus proksimal ginjal adalah peningkatan infiltrasi sel inflamasi di glomerulus ginjal. Hal-hal tersebut mengakibatkan kerusakan *barier* glomerulus, yang meliputi kerusakan endotel kapiler, membran basal glomerulus dan podosit. Kerusakan *barier* mengakibatkan perubahan sitokeleton eritrosit saat melewati glomerulus, sehingga eritrosit berubah bentuk menjadi dismorfik. IL-6 yang terdeteksi di urin adalah IL-6 yang dihasilkan sel mesangial dan sel tubulus proksimal ginjal.

### 3.2 Hipotesis

1. Rasio IL-6 urin/kreatinin urin dan persentase eritrosit dismorfik pada *flow cytometry urine analyzer* dapat digunakan untuk membedakan kasus hematuri glomerular dan non glomerular pada pasien hematuri.
2. Kadar IL-6 urin dan rasio IL-6 urin/kreatinin urin berkorelasi positif dengan persentase eritrosit dismorfik pada *flow cytometry urine analyzer* dan mikroskop fase kontras pada kasus hematuri glomerular.
3. Rasio IL-6 urin/kreatinin urin dan persentase eritrosit dismorfik pada *flow cytometry urine analyzer* memiliki nilai diagnostik yang baik untuk membedakan kasus hematuri glomerular.





## BAB 4

### METODE PENELITIAN

#### 4.1 Jenis dan rancangan penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dalam rancang bangun penelitian observasional analitik dengan disain potong lintang (*cross sectional*). Penelitian ini dilakukan selama 6 bulan berupa studi observasional dengan pengambilan sampel urin untuk mengetahui jumlah dan bentuk eritrosit di urin, membandingkan hasil *flow cytometry urine analyzer* dengan mikroskop fase kontras, serta mengukur kadar IL-6 urin dan kreatinin urin. Penelitian dilakukan untuk mengetahui hubungan kadar IL-6 urin dan rasio IL-6 urin/kreatinin urin dan eritrosit dismorfik pada *flow cytometry urine analyzer* dengan kelainan glomerular pada pasien hematuri. Penelitian ini juga dilakukan untuk uji beda, uji korelasi, dan uji diagnostik (sensitivitas, spesifisitas, nilai ramal positif, dan nilai ramal negatif) rasio IL-6 urin/kreatinin urin dan eritrosit dismorfik pada *flow cytometry urine analyzer*, serta mencari nilai *cut off* rasio IL-6 urin/kreatinin urin dan persentase eritrosit dismorfik pada *flow cytometry urine analyzer* untuk membedakan hematuri glomerular dengan non glomerular.

#### 4.2 Tempat dan waktu penelitian

##### 4.2.1 Tempat penelitian

- Di RSUD dr. Saiful Anwar Malang bagian rawat jalan, rawat inap, dan IRD untuk pengambilan sampel dan data pasien (nama, nomor rekam medis, usia dan jenis kelamin).
- Di Laboratorium Sentral RSUD dr. Saiful Anwar Malang untuk pemeriksaan kreatinin urin pada Cobas c501 dengan metode *enzymatic colorimetric* dan pemeriksaan sampel urin dengan

mikroskop fase kontras, mikroskop cahaya dan *flow cytometry urine analyzer* Sysmex UF 500i.

- Di Laboratorium Faal FK Universitas Brawijaya untuk pemeriksaan IL-6 urin dengan metode ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*).

#### 4.2.2 Waktu penelitian

Penelitian dilakukan selama bulan Februari sampai bulan Juli 2017 (enam bulan). Penelitian dikerjakan setelah mendapatkan persetujuan dari komite etik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya/RSUD dr. Saiful Anwar Malang. Semua subyek penelitian dalam penelitian ini diminta untuk menandatangani lembar persetujuan (*Informed Consent*).

#### 4.3 Populasi dan sampel penelitian

##### 4.3.1 Populasi penelitian

- Populasi penelitian adalah pasien rawat jalan, IRD, dan rawat inap RSUD dr. Saiful Anwar Malang, berjenis kelamin laki-laki dan perempuan, anak-anak hingga dewasa.
- Sampel pada penelitian ini adalah pasien yang menderita hematuri makroskopis maupun mikroskopis.
- Kontrol sehat adalah calon PPDS yang melaksanakan tes kesehatan di poli *General Check Up* RSUD dr. Saiful Anwar Malang dan dinyatakan sehat.

##### 4.3.2 Penghitungan besar sampel penelitian

Sampel diambil dengan metode *consecutive sampling*.

Besar sampel dihitung dengan rumus besar sampel untuk analitik numerik tidak berpasangan (Dahlan, 2006).

Besar sampel yang diperlukan adalah :

$$N_1 = N_2 = 2 \left( \frac{(Z\alpha + Z\beta) S}{X_1 - X_2} \right)^2$$

Keterangan :

$N_1$  : Besar sampel kelompok 1

$N_2$  : Besar sampel kelompok 2

$Z_{\alpha}$  : Deviat baku alfa

$Z_{\beta}$  : Deviat baku beta

$S$  : Simpang baku gabungan

$X_1 - X_2$  : Selisih rerata minimal yang dianggap bermakna

Simpang baku gabungan :

$$S = \sqrt{\frac{S_1^2 (n_1 - 1) + S_2^2 (n_2 - 1)}{n_1 + n_2 - 2}}$$

Keterangan :

$S$  : Simpang baku gabungan

$S_1$  : Simpang baku kelompok 1 pada penelitian sebelumnya

$S_2$  : Simpang baku kelompok 2 pada penelitian sebelumnya

$n_1$  : Besar sampel kelompok 1

$n_2$  : Besar sampel kelompok 2

Penghitungan simpang baku gabungan :

$S_1$  : 6,91 (Song et al., 2013)

$S_2$  : 3,70 (Song et al., 2013)

$n_1$  : 20 (Song et al., 2013)

$n_2$  : 30 (Song et al., 2013)

$$S = \sqrt{\frac{6,91^2 (20 - 1) + 3,70^2 (30 - 1)}{20 + 30 - 2}}$$

$S = 5,21$

Penghitungan besar sampel :

$Z_{\alpha}$  : 10%  $\rightarrow$  1,64



$$Z_{\beta} : 5\% \rightarrow 1,96$$

$$S : 5,21$$

$$X_1 - X_2 : 5$$

$$N_1 = N_2 = 2 \left( \frac{(1,64 + 1,96) 5,21}{5} \right)^2$$

$$N_1 = N_2 = 28,14 \text{ sampel}$$

Jumlah sampel minimal tiap kelompok adalah 28 sampel.

Penelitian ini menggunakan jumlah sampel 30 untuk masing-masing kelompok kelainan glomerular dan kelainan non glomerular.

Kontrol normal menggunakan 30 sampel.

#### 4.4 Kriteria inklusi dan eksklusi

##### 4.4.1 Kriteria inklusi

- Subyek berjenis kelamin laki-laki dan perempuan yang berusia 2 sampai 70 tahun.
- Subyek menderita hematuri
- Sukarelawan sehat adalah calon program pendidikan dokter spesialis yang dinyatakan sehat di poli *General Check Up* RSUD dr. Saiful Anwar Malang

##### 4.4.2 Kriteria eksklusi

- Subyek menderita hematuri yang bukan disebabkan kelainan pada traktus urinarius (menstruasi, post partum, post kuretase, perdarahan dari saluran cerna (*hematochezia*) dan lain-lain)
- Subyek menderita infeksi saluran kemih (konfirmasi anamnesis, pemeriksaan fisik, dan urinalisis)
- Volume urin kurang dari 10 mL.

## 4.5 Variabel penelitian

### 4.5.1 Variabel bebas

- Kelainan glomerular

### 4.5.2 Variabel tergantung

- Eritrosit dismorfik pada *flow cytometry urine analyzer*
- Rasio IL-6 urin/kreatinin urin

## 4.6 Definisi operasional

- Hematuri adalah adanya eritrosit di dalam urin yang dapat dilihat secara langsung atau terdeteksi pada pemeriksaan mikroskopis (Rodgers *et al.*, 2006; Sultana *et al.*, 2011).
- Hematuri makroskopis adalah didapatkan urin berwarna merah atau coklat gelap dan dapat dilihat perdarahan dengan mata dengan volume minimal 1 mL darah pada 1 liter urin. (Jimbo, 2010; Gulati, 2014; Meyers, 2004).
- Hematuri mikroskopis adalah didapatkan tiga atau lebih eritrosit per lapang pandang besar di dua atau tiga lapang pandang pemeriksaan mikroskopis spesimen urin pada minimal 2 dari 3 pemeriksaan urinalisis dengan rentang waktu antara 2 sampai 3 minggu. (Karnath *et al.*, 2007)
- Penentuan hematuri menggunakan *flow cytometry urine analyzer* adalah didapatkan eritrosit lebih dari 20 eritrosit per mikroliter (setara dengan lebih dari tiga eritrosit per LPB). (Sysmex, 2009)
- Eritrosit dismorfik adalah eritrosit yang berukuran kecil dan terfragmentasi dengan ukuran dan bentuk yang bervariasi (Albofathi, 2007; Offringa and Benbassat, 1992; Crop *et al.*, 2010). Eritrosit dismorfik dapat berbentuk akantosit atau sel G1, menyerupai donat atau jamur, sferis dengan lebih dari satu penonjolan, berukuran kecil dan disertai deformitas, dan fragmentosit (Albofathi *et al.*, 2007). Eritrosit dismorfik pada *flow*

*cytometry urine analyzer* adalah eritrosit dengan RBC-P70Fsc antara 0ch sampai 70ch dan RBC-Fsc-DW antara 0ch sampai 255ch (Sysmex, 2009).

- Eritrosit isomorfik adalah eritrosit yang berukuran dan berbentuk seragam, sama dengan eritrosit di darah tepi (Albofathi, 2007; Offringa and Benbassat, 1992). Eritrosit isomorfik berbentuk bundar atau bikonkaf dengan tepi yang halus (Poloni *et al.*, 2012). Eritrosit isomorfik pada *flow cytometry urine analyzer* adalah eritrosit dengan RBC-P70Fsc antara 100ch sampai 255 ch dan RBC Fsc DW antara 0ch sampai 50ch (Sysmex, 2009).

- Eritrosit campuran adalah didapati keduanya kedua bentuk eritrosit yaitu dismorfik dan isomorfik. Campuran eritrosit dismorfik dan isomorfik pada *flow cytometry urine analyzer* adalah RBC-P70Fsc antara 70ch sampai 100ch dengan RBC-Fsc-DW antara 0ch sampai 225ch, dan RBC-P70Fsc antara 100ch sampai 255ch dengan RBC-Fsc-DW antara 50ch sampai 225ch (Sysmex, 2009).

- Persentase eritrosit dismorfik pada *flow cytometry urine analyzer* didapat dari jumlah *small* RBC (per mikroliter) dibagi dengan jumlah *non-lysed* RBC (per mikroliter) lalu dikalikan 100%. Persentase eritrosit isomorfik pada *flow cytometry urine analyzer* didapat dari jumlah *large* RBC (per mikroliter) dibagi dengan jumlah *non-lysed* RBC (per mikroliter) lalu dikalikan 100%. (Sysmex, 2009)

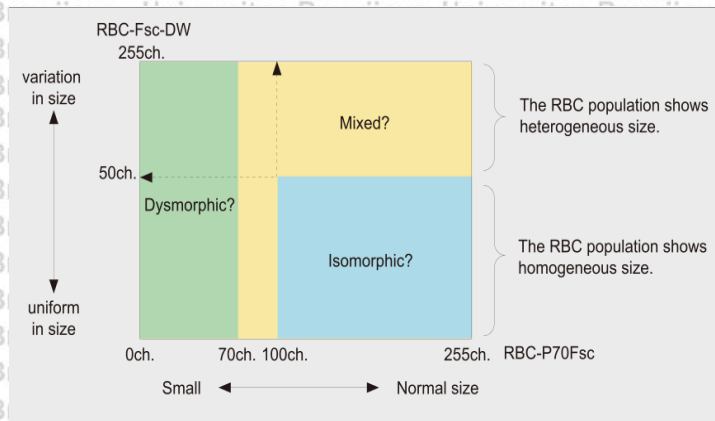
- Penentuan hematuri glomerular dan non glomerular menggunakan kriteria klinis berdasarkan persentase eritrosit dismorfik dan isomorfik yang didapat dengan pemeriksaan mikroskop *Axiostar* mode fase kontras

(Dinda, 2001; Bottini *et al.*, 2005; Scharnhorst *et al.*, 2006; Sultana *et al.*, 2011).

- Persentase eritrosit dismorfik pada mikroskop fase kontras dihitung menggunakan kamar hitung persegi *SY double grid slide*. Persentase dihitung berdasarkan jumlah eritrosit dismorfik pada 10 kotak persegi dibagi dengan jumlah keseluruhan eritrosit (dismorfik dan isomorfik) dalam 10 kotak persegi, lalu dikalikan 100%. (Davis, 2012)
- Persentase eritrosit isomorfik pada mikroskop fase kontras dihitung menggunakan kamar hitung persegi *SY double grid slide*. Persentase dihitung berdasarkan jumlah eritrosit isomorfik pada 10 kotak persegi dibagi dengan jumlah keseluruhan eritrosit (dismorfik dan isomorfik) dalam 10 kotak persegi, lalu dikalikan 100%. (Davis, 2012)
- Hematuri glomerular adalah hematuri yang disebabkan kelainan pada glomerulus ginjal (Sultana *et al.*, 2011; Crop *et al.*, 2010). Penentuan hematuri glomerular menggunakan kriteria klinis, yaitu didapatkan silinder eritrosit atau leukosit atau sel tubulus ginjal pada lebih dari satu kali pemeriksaan urinalisis, atau didapatkan eritrosit dismorfik lebih dari 50% disertai proteinuri pada lebih dari satu kali pemeriksaan urinalisis dengan mikroskop fase kontras (Scharnhorst *et al.*, 2006).
- Hematuri non glomerular adalah hematuri yang disebabkan kerusakan epitel traktus urinarius dan didapatkan eritrosit isomorfik (Sultana *et al.*, 2011; Crop *et al.*, 2010). Penentuan hematuri non glomerular menggunakan kriteria klinis, yaitu didapatkan eritrosit isomorfik hingga 100% dan eritrosit dismorfik kurang dari 50% pada lebih dari satu kali pemeriksaan urinalisis dengan mikroskop fase kontras (Scharnhorst *et al.*, 2006).



- Sampel urin yang sebelumnya dianalisis dengan *flow cytometry urine analyzer* dihomogenkan lalu diperiksa proteinuri dengan *multistix*. Urin kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 1.500 rpm selama 5 menit untuk diambil supernatan (pemeriksaan kadar IL-6 dan kreatinin) dan dianalisis sedimennya (mikroskopis). (Tedesco *et al.*, 2017)
- Identifikasi silinder dan sel tubulus menggunakan mikroskop *Axiostar* mode cahaya. Identifikasi adanya silinder menggunakan lensa objektif pembesaran 10x (lapang pandang kecil) dan identifikasi komponen silinder menggunakan lensa objektif pembesaran 40x. (Apeland *et al.*, 2001)
- Rasio IL-6 urin/kreatinin urin adalah pemeriksaan kadar IL-6 di urin yang dirasionalkan dengan kreatinin urin. Penghitungan rasio dengan kreatinin urin untuk mengoreksi perbedaan konsentrasi urin karena perbedaan status hidrasi dan mendapatkan hasil IL-6 yang lebih akurat. (Newberry and Costello, 1997; Ma *et al.*, 2015). Kadar IL-6 urin diukur dengan *human IL-6 ELISA Kit Bioassay Technology Laboratory* dengan satuan ng/L. Kadar kreatinin urin diukur dengan *autoanalyzer cobas c501* metode enzimatik dengan satuan mg/dL. Rasio IL-6 urin/kreatinin urin dihitung berdasarkan kadar IL-6 urin yang disesuaikan satuannya (ng/dL) dirasionalkan dengan kadar kreatinin urin (mg/dL) sehingga didapatkan rasio dengan satuan ng/mg.



**Gambar 4.1** Kriteria eritrosit dismorfik, isomorfik dan campuran pada *flow cytometry urine analyzer* (Sysmex©)

#### 4.7 Alat dan bahan

- Wadah penampung urin yang transparan dengan mulut lebar, bersih, bertutup rapat, dan berlabel
- Alat sentrifugasi
- Wadah sampel untuk penyimpanan supernatan urin
- *Mulistix*
- Mikroskop fase kontras, lensa objektif 10x dan 40x, lensa okuler 10x
- Sysmex UF 500i *flow cytometry urine analyzer*
- *Cobas c 501 autoanalyzer*
- S-Y *microscopic slide* dengan tabung pemeriksa sampel urin dan pipet yang terstandar
- Pipet 1000  $\mu\text{L}$ , 100  $\mu\text{L}$ , 50  $\mu\text{L}$ , 40  $\mu\text{L}$ , 10  $\mu\text{L}$  dan tipnya
- *Human Interleukin 6 (IL-6) ELISA Kit Bioassay Technology Laboratory*
- Inkubator suhu 37°C
- Spektrofotometer dengan panjang gelombang 450 nm

#### 4.8 Prosedur pemeriksaan

##### 4.8.1 Prosedur pengumpulan spesimen

- Sampel urin yang digunakan adalah urin sewaktu porsi tengah.

- Volume urin minimal 10 ml, ditampung di wadah yang bersih, tidak bocor, dapat ditutup rapat dan telah diberi label identitas subyek penelitian (nama, nomor rekam medis, usia, jenis kelamin, tanggal dan jam pengambilan sampel).
- Subyek diminta membersihkan kemaluan dan daerah sekitar lubang kencing dengan air hingga bersih sebelum penampungan urin. Subyek diminta membersihkan dengan tisu dari arah depan ke belakang lalu berkemih untuk subyek perempuan atau membersihkan dari arah dalam ke luar untuk subyek laki-laki.
- Urin di awal berkemih tidak ditampung dahulu. Subyek diminta menampung urin setelah sekitar 2 detik berkemih hingga terisi lebih dari dua pertiga wadah tanpa menghentikan berkemih.
- Subyek tetap melanjutkan berkemih setelah urin ditampung.
- Wadah penampungan ditutup rapat dan diletakkan di tempat pengumpulan sampel penelitian. Sampel diperiksa dengan *flow cytometry urine analyzer* dan mikroskop fase kontras dalam waktu kurang dari 2 jam setelah pengumpulan sampel.

#### 4.8.2 Prosedur pemeriksaan urin dengan *flow cytometry urine analyzer* Sysmex UF-500i

- Sysmex UF-500i adalah *flow cytometry urine analyzer* otomatis yang memeriksa sedimen urin dengan metode *fluorescent flow cytometry*.
- Sampel pemeriksaan dihomogenkan dan dimasukkan ke dalam tabung pemeriksaan yang terstandar sebanyak 10 mL. Sampel urin yang tidak disentrifugasi tersebut diaspirasi 0,8 ml urine melalui *sample probe* dan didilusi dalam 2 *channel* reaksi yang berbeda, yaitu *channel* untuk sedimen urine dan *channel* khusus untuk bakteri. Dalam *channel* sedimen, komponen eritrosit, leukosit, sel-sel epitel, kristal, dan silinder

akan dicampur dengan pewarna selama 10 detik pada suhu 35°C, lalu nukleus, sitoplasma, dan membran sel akan diwarnai dengan *polymethine fluorescent dye*.

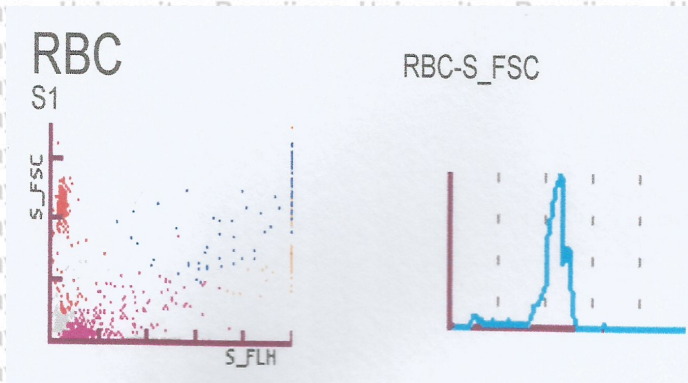
- Konduktivitas sampel dianalisis dan sampel diaspirasi untuk dialirkan ke *flow cell*. Partikel-partikel tersebut kemudian dilewatkan dalam suatu *flow cell*, satu demi satu, dan ditembak sinar laser. Berdasarkan intensitas cahaya yang dipancarkan, maka eritrosit, leukosit, sel-sel epitel, kristal, silinder dan bakteri akan diklasifikasikan dan dihitung jumlahnya masing-masing. Hasilnya dipresentasikan dalam bentuk angka, histogram, dan *scattergram*.

- Eritrosit ditampilkan dalam *scattergram*. Eritrosit pada urin memiliki diameter rata-rata 8 mikrometer dan tidak ada inti sel. Eritrosit terdistribusi di bagian bawah *scattergram* dengan intensitas fluoresen kecil karena hanya membran eritrosit yang terwarnai dengan *UX II search-sed*.

- Dikarenakan bentuk eritrosit dapat bermacam-macam, maka distribusi intensitas *forward scattered light* berubah dan tergantung pada bentuk eritrosit tersebut. Bila banyak didapatkan eritrosit yang berukuran kecil, misal eritrosit glomerular, maka eritrosit terdistribusi pada daerah dengan intensitas *forward scattered light* yang rendah.

- Eritrosit yang lisis dan ada perubahan ukuran ditampilkan pada *scattergram* S\_FLH (fluoresen, intensitas tinggi) dan S\_FSC (intensitas *forward scatter*).

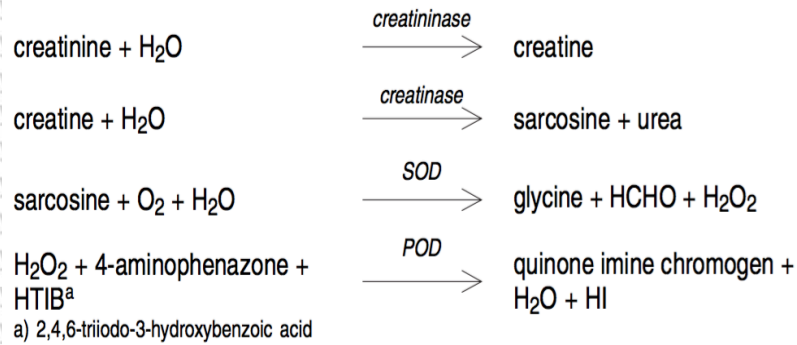
- Distribusi eritrosit dapat dilihat pada histogram RBC (eritrosit) x S\_FSC (histogram yang menunjukkan intensitas *scattered light* eritrosit). (Sysmex©)



**Gambar 4.2 Scattergram dan histogram eritrosit (Sysmex©)**

#### 4.8.3 Prosedur pemeriksaan kreatinin urin dengan cobas c 501

- Sampel pemeriksaan dalam tabung pemeriksaan terstandar sebanyak 10 mL setelah pemeriksaan pada *flow cytometry urine analyzer* dihomogenkan dan dilanjutkan dengan sentrifugasi.
- Sentrifus dengan kecepatan 1.500 rpm selama 5 menit.
- Keluarkan sampel urin dari alat sentrifus dan ambil supernatan sebanyak 2 ml dengan pipet. Simpan supernatan tersebut dalam wadah sampel yang bersih serta dapat ditutup rapat tanpa tambahan pengawet urin. Sampel urin dapat disimpan selama 2 hari pada suhu 15-25°C, 6 hari pada suhu 2-8°C dan 6 bulan pada suhu (-15) – (-25)°C
- Supernatan dilakukan pemeriksaan kreatinin urin di alat cobas c501 dengan metode *enzymatic colorimetric*.
- Rentang kadar kreatinin urin pada pemeriksaan adalah 1,1 mg/dL sampai 1.526 mg/dL. (Roche, 2006)



**Gambar 4.3 Metode enzymatic colorimetric pada pemeriksaan kreatinin urin** (Roche, 2006)

#### 4.8.4 Prosedur pemeriksaan IL-6 urin

- Ambil supernatan sebanyak 2 ml dengan pipet. Simpan supernatan tersebut dalam wadah sampel yang bersih serta dapat ditutup rapat.
- Simpan sampel pada suhu -80°C. Sampel dikeluarkan dari freezer dan dibiarkan hingga mencapai suhu ruang sebelum dilakukan pemeriksaan IL-6 pada hari pemeriksaan IL-6 urin. Supernatan dilakukan pemeriksaan IL-6 urin dengan metode ELISA di Laboratorium Faal FK Universitas Brawijaya Malang.
- Pemeriksaan IL-6 urin menggunakan *human IL-6 ELISA Kit Bioassay Technology Laboratory*. Pemeriksaan ini menggunakan prinsip *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) berdasarkan metode *biotin double antibody sandwich*. Penambahan antibodi anti IL-6 yang telah berlabel biotin agar dapat terbentuk kompleks imun dengan streptavidin-HRP. Enzim yang tidak berikatan setelah diinkubasi, dibuang dengan pencucian. Penambahan larutan kromogen A dan B agar larutan berubah warna menjadi biru. Setelah penambahan larutan peberhenti yang mengandung asam, larutan berubah warna menjadi kuning. Warna kuning yang terbentuk berkorelasi positif dengan kadar *human IL-6*.

- Sebelum memulai pemeriksaan dibuat kurva standar dengan cara membuat lima macam larutan standar yang berbeda konsentrasi (tabel 4.1)

**Tabel 4.1 Pembuatan larutan standar (BT Laboratory©)**

Larutan standar	Komposisi
Larutan standar 5 (320 ng/L)	120 µL larutan standar + 120 µL diluen standar
Larutan standar 4 (160 ng/L)	120 µL larutan standar 5 + 120 µL diluen standar
Larutan standar 3 (80 ng/L)	120 µL larutan standar 4 + 120 µL diluen standar
Larutan standar 2 (40 ng/L)	120 µL larutan standar 3 + 120 µL diluen standar
Larutan standar 1 (20 ng/L)	120 µL larutan standar 2 + 120 µL diluen standar

- Blanko adalah sumur yang tidak diberi sampel dan antibodi anti IL-6 berlabel biotin.
- Pada masing-masing sumur larutan standar tambahkan 50 µL larutan standar sesuai kadarnya dan 50 µL streptavidin-HRP (antibodi biotin sudah termasuk dalam larutan standar).
- Tutup dengan membran penutup, kocok perlahan untuk menghomogenisasi larutan, lalu inkubasi pada suhu 37°C selama 60 menit.
- Setelah diinkubasi lepaskan membran penutup lalu cuci setiap sumur dengan larutan pencuci sebanyak 5 kali dan keringkan dasar sumur.
- Tambahkan 50 µL larutan kromogen A ke setiap sumur larutan standar dan sumur blanko. Kemudian tambahkan 50 µL larutan kromogen B ke setiap sumur larutan standar dan sumur blanko. Kocok perlahan untuk

menghomogenisasi larutan. Inkubasi pada suhu 37°C selama 10 menit dan jauhkan dari cahaya untuk pembentukan warna.

- Tambahkan 50  $\mu\text{L}$  *stopping solution* ke setiap sumur larutan standar dan blanko untuk menghentikan reaksi (terjadi perubahan warna dari biru menjadi kuning). Ukur absorbansi dengan panjang gelombang 450 nm, dalam 10 menit setelah penambahan *stopping solution*. Hasil yang didapat kemudian dibuat kurva standar.
- Pemeriksaan kadar IL-6 urin di sampel dilakukan dengan menambahkan 40  $\mu\text{L}$  sampel pada sumur sampel, lalu tambahkan 10  $\mu\text{L}$  antibodi anti IL-6 dan 50  $\mu\text{L}$  streptavidin HRP.
- Lanjutkan dengan penutupan sumur dengan membran penutup, inkubasi pada suhu 37°C selama 60 menit, pencucian, penambahan larutan kromogen A dan larutan kromogen B, inkubasi pada suhu 37°C, penambahan *stopping solution* ke setiap sumur dan ukur absorbansi dengan panjang gelombang 450 nm seperti prosedur pemeriksaan larutan standar. (BT Laboratory©)

Rentang kadar IL-6 pada pemeriksaan adalah 2 ng/L sampai 600 ng/L.

Sensitivitas pemeriksaan adalah 1,03 ng/L. Koefisien variasi *intra-assay* pemeriksaan ini adalah kurang dari 10% dan koefisien variasi *inter-assay* pemeriksaan ini kurang dari 12%. *Human IL-6 ELISA Kit Bioassay Technology*

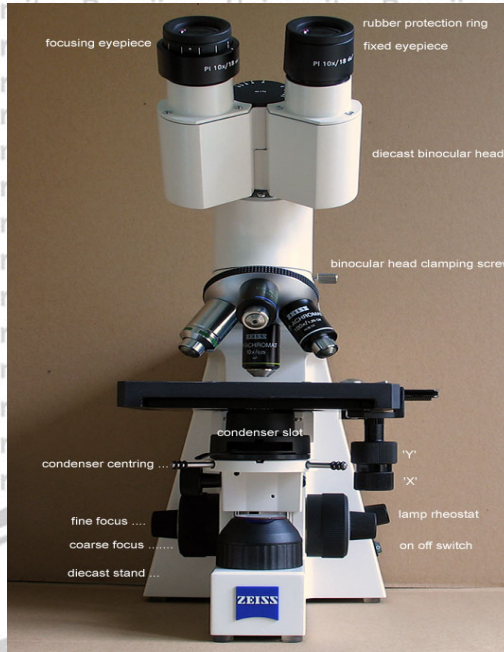
*Laboratory* dapat disimpan selama 6 bulan pada suhu 2-8°C atau selama 12 bulan pada suhu -20°C. (BT Laboratory©)

#### 4.8.5 Prosedur pemeriksaan sedimen urin dengan mikroskop fase kontras

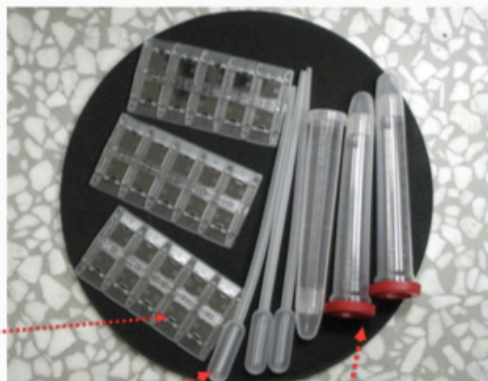
Sedimen urin hasil sentrifugasi diperiksa dengan mikroskop fase kontras ZEISS *Axiostar*. Pemeriksaan urin dilakukan pada hari yang sama dengan pengumpulan sampel. Homogenkan sedimen dengan sisa supernatan dengan



pipet. Teteskan sedimen melalui lubang di bagian atas S-Y *double grids* dengan pipet hingga satu ruang hitung terisi penuh. Aturilah mikroskop dalam posisi cahaya yang terang. Pertama, amati di bawah mikroskop dengan pembesaran objektif awal 10 kali dan mode cahaya dengan mengatur filter pada H. Setelah menemukan eritrosit yang akan dianalisis, gantilah ke lensa objektif 40 kali untuk mengevaluasi morfologi dan menghitung eritrosit serta menganalisis sedimen urin (mencari dan mengidentifikasi silinder). Gambar sedimen urin dapat diperjelas dengan menggunakan mikrometer dan menurunkan kondensor. Mode mikroskop fase kontras digunakan dengan mengubah filter ke Ph1 untuk lensa objektif 10 kali dan Ph2 untuk lensa objektif 40 kali. *American Urological Association* menyatakan minimal 10-20 lapang pandang besar harus dievaluasi saat penghitungan dan analisis hematuri (Davis, 2012). Penelitian ini melihat minimal 10 bidang hitung kemudian dihitung persentase masing-masing eritrosit isomorfik dan dismorfik. Bila menginginkan jumlah komponen sedimen per mikroliter, maka digunakan rumus perhitungan sebagai berikut. Bila menggunakan kamar hitung 81 persegi, rata-rata hasil penghitungan 10 bidang hitung dikalikan 4,5. Bila menggunakan kamar hitung 24 persegi panjang, rata-rata hasil penghitungan 10 bidang hitung merupakan jumlah komponen sedimen per mikroliter. (SY System, 2015)



Gambar 4.4 Mikroskop Zeiss Axiostar (Walker, 2004)

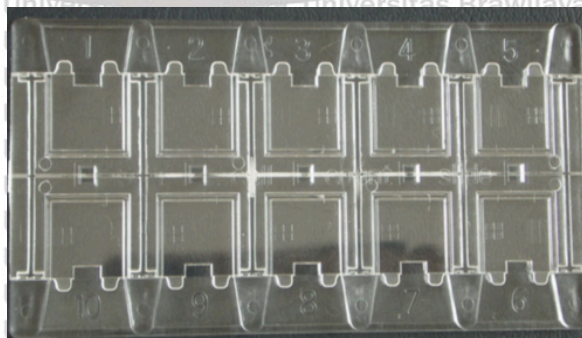


Double Grid Slide

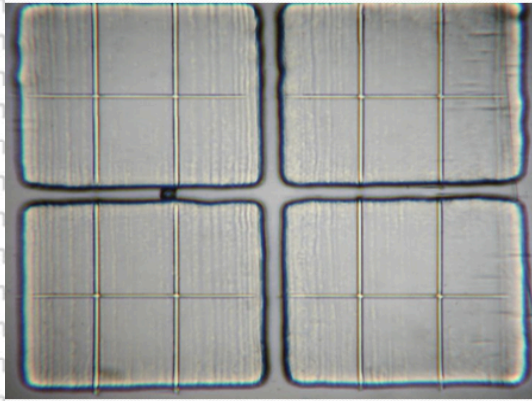
SY pipette

Standardized centrifuge tube

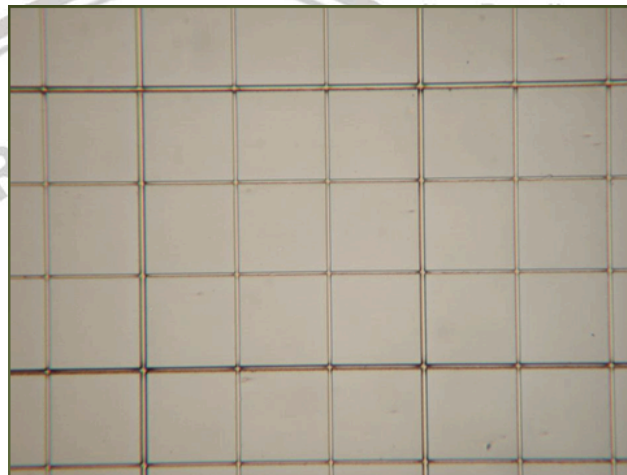
Gambar 4.5 Set sistem SY untuk analisis sedimen urin (SY System, 2015)



Gambar 4.6 SY Double Grid Slide berisi 10 kamar hitung dan disposable (SY System, 2015)



**Gambar 4.7 Kamar hitung persegi panjang pada SY Double Grid Slide berisi 24 kotak (SY System, 2015)**



**Gambar 4.8 Kamar hitung persegi pada SY Double Grid Slide berisi 81 kotak (SY System, 2015)**

#### **4.9 Teknik pengumpulan data**

Setiap memperoleh sampel penelitian yang memenuhi kriteria akan dilakukan anamnesis, pemeriksaan fisik, dan pemeriksaan urinalisis. Data dicatat dalam lembar (*form*) yang telah disiapkan. Subyek akan diambil sampel urin sewaktu lalu dilakukan pemeriksaan kreatinin urin, kadar IL-6 urin dan urinalisis yang terkait penelitian. Pemeriksaan urinalisis dilakukan dengan *flow cytometry urine analyzer* Sysmex UF 500i dan analisis sedimen urin dengan mikroskop fase kontras. Semua data yang diperoleh dari hasil penelitian dicatat dalam buku khusus penelitian (*log book*) dan disimpan dalam file komputer.

## 4.10 Analisis statistik

### 4.10.1 Analisis deskriptif

Analisis deskriptif untuk mendapatkan gambaran karakteristik sampel.

Ciri-ciri variabel dideskripsikan dengan proporsi, rerata (*mean*), standar deviasi (SD), nilai minimal-maksimal, dan median. (Dahlan, 2006).

### 4.10.2 Uji Normalitas Data

Dalam penelitian ini data kelompok hematuri glomerular, non glomerular dan kontrol yang terkumpul dilakukan uji normalitas distribusi data dengan *Shapiro-Wilk* karena jumlah sampel penelitian kurang dari 50. Data persentase eritrosit dismorfik pada kelompok hematuri glomerular dan non glomerular dilakukan uji normalitas distribusi data dengan *Kolmogorov Smirnov* karena jumlah data lebih dari 50. (Dahlan, 2006).

### 4.10.3 Uji beda

Uji beda adalah mengetahui ada atau tidaknya perbedaan pada dua kelompok sampel penelitian. Bila distribusi data normal, digunakan uji beda dengan ANOVA untuk uji beda lebih dari 2 kelompok. Bila uji beda bermakna ( $<0,05$ ) dilanjutkan dengan analisis *post hoc Tukey*. Bila distribusi data tidak normal menggunakan uji *Kruskal-Wallis*. Uji beda antar 2 kelompok dilakukan dengan uji t tidak berpasangan. Bila distribusi data tidak normal, digunakan uji beda *Mann Whitney*. Nilai  $p < 0,05$  dikatakan sebagai hubungan yang signifikan secara statistik (Dahlan, 2006). Uji beda digunakan untuk mengetahui ada atau tidak adanya perbedaan kadar IL-6 urin dan rasio IL-6 urin/kreatinin urin pada kasus hematuri glomerular, non glomerular, dan kontrol.

### 4.10.4 Uji korelasi

Uji korelasi adalah menguji ada atau tidak adanya tingkat keeratan hubungan antara dua variabel terukur. Bila distribusi data normal, digunakan uji korelasi *Pearson*. Bila distribusi data tidak normal, digunakan uji korelasi

*Spearman*. Nilai  $p < 0,05$  dikatakan sebagai hubungan yang signifikan secara statistik (Dahlan, 2006). Uji korelasi digunakan untuk mengetahui ada atau tidak adanya tingkat keeratan hubungan antara kadar IL-6 urin dan rasio IL-6 urin/kreatinin urin dengan persentase eritrosit dismorfik pada *flow cytometry urine analyzer* dan mikroskop fase kontras pada kasus hematuri glomerular dan non glomerular.

#### 4.10.5 Uji diagnostik

Analisis data menggunakan tabel 2x2 dengan perhitungan *predictive validity* untuk mendapatkan sensitivitas, spesifisitas, nilai ramal positif (NRP) dan nilai ramal negatif (NRN) dengan membuat kurva *receiver operating curve* (ROC) dalam menentukan nilai *cut off* persentase eritrosit dismorfik pada *flow cytometry urine analyzer* dan rasio IL-6 urin/kreatinin urin. (Dahlan, 2006)

**Tabel 4.2 Penghitungan sensitivitas, spesifisitas, nilai ramal positif dan nilai ramal negatif *flow cytometry urine analyzer***

		Kriteria Klinis	
		Glomerular	Non glomerular
<i>Flow cytometry urine analyzer</i>	Glomerular	a	b
	Non glomerular	c	d

**Tabel 4.3 Penghitungan sensitivitas, spesifisitas, nilai ramal positif dan nilai ramal negatif rasio IL-6 urin/kreatinin urin**

		Kriteria Klinis	
		Glomerular	Non glomerular
Rasio IL-6 urin/kreatinin urin	Glomerular	a	b
	Non Glomerular	c	d

**Tabel 4.4 Penghitungan sensitivitas, spesifisitas, nilai ramal positif dan nilai ramal negatif rasio IL-6 urin/kreatinin urin dan eritrosit dismorfik pada flow cytometry urine analyzer**

	Kriteria Klinis	
	Glomerular	Non glomerular
Rasio IL-6 urin/ kreatinin urin dan eritrosit dismorfik pada flow cytometry urine analyzer	Glomerular Non Glomerular	a b c d

**Tabel 4.5 Penghitungan sensitivitas, spesifisitas, nilai ramal positif dan nilai ramal negatif rasio IL-6 urin/kreatinin urin dan/atau eritrosit dismorfik pada flow cytometry urine analyzer**

	Kriteria Klinis	
	Glomerular	Non glomerular
Rasio IL-6 urin/ kreatinin urin dan/atau eritrosit dismorfik pada flow cytometry urine analyzer	Glomerular Non Glomerular	a b c d

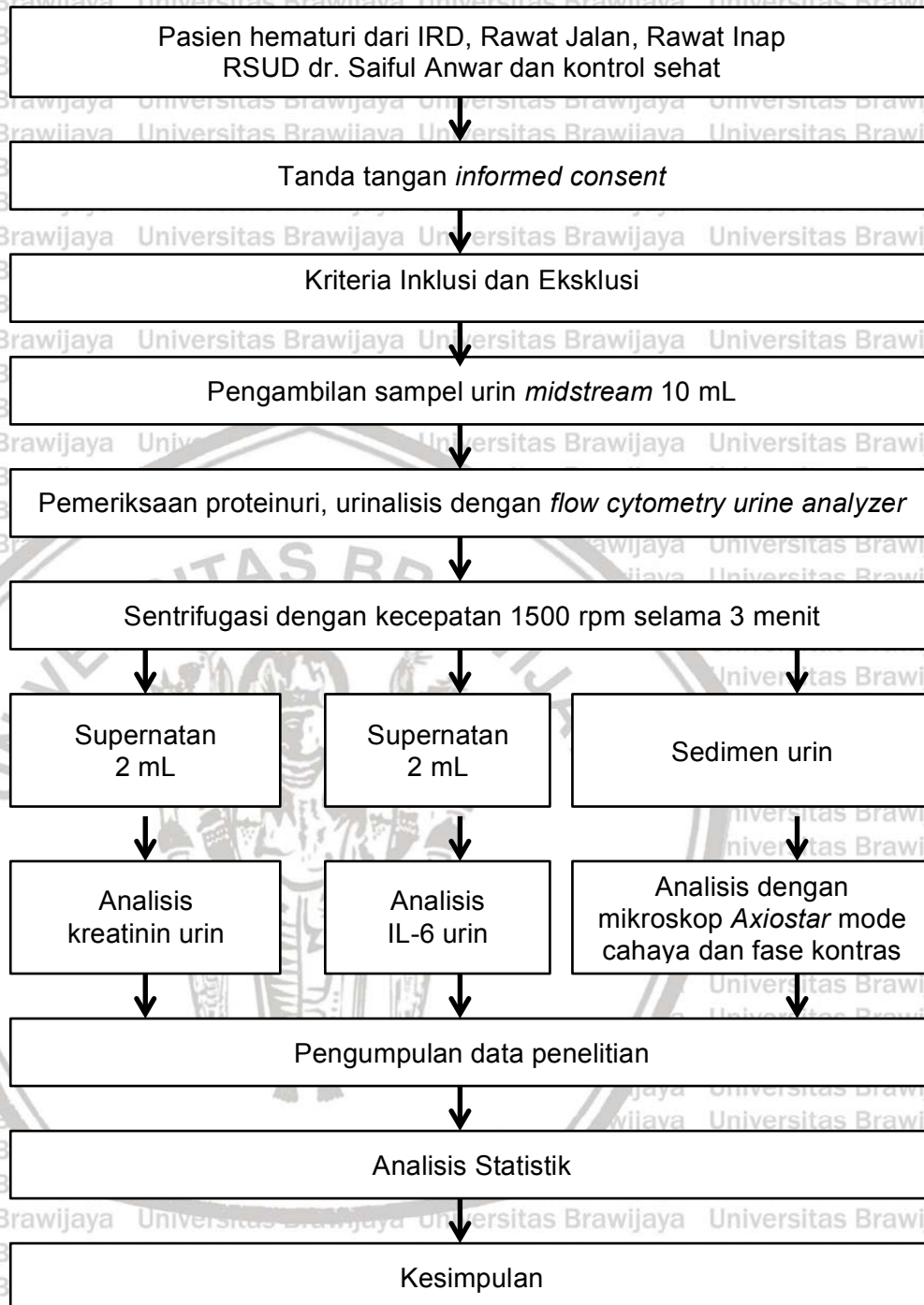
Sensitivitas :  $\frac{a}{(a+c)} \times 100\%$

Spesifisitas :  $\frac{d}{(b+d)} \times 100\%$

Nilai ramal positif :  $\frac{a}{(a+b)} \times 100\%$

Nilai ramal negatif :  $\frac{d}{(c+d)} \times 100\%$

#### 4.11 Alur penelitian



## BAB 5

## HASIL PENELITIAN

**5.1 Karakteristik subyek penelitian**

Subyek penelitian pada akhir penelitian berjumlah 90 subyek yang terdiri dari masing-masing 30 pasien untuk hematuri glomerular dan non glomerular serta 30 kontrol sehat. Karakteristik klinis dan laboratoris subyek penelitian meliputi jenis kelamin, usia, kadar IL-6 urin, rasio IL-6 urin dengan kreatinin urin (IL-6 urin/kreatinin urin), persentase eritrosit dismorfik pada *flow cytometry urine analyzer* dan mikroskop fase kontras serta diagnosis klinis ditulis pada Tabel 5.1.

**5.2 Uji normalitas data**

Pengujian normalitas data kadar IL-6 urin pada kelompok hematuri glomerular dan kelompok kontrol dengan uji *Shapiro-Wilk* menunjukkan nilai  $p > 0,05$  ( $p = 0,254$  dan  $p = 0,199$ ), yang menunjukkan distribusi normal.

Pengujian normalitas data kadar IL-6 urin pada kelompok hematuri non glomerular dengan uji *Shapiro-Wilk* menunjukkan nilai  $p < 0,05$  ( $p = 0,000$ ).

Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa distribusi data kadar IL-6 pada kelompok hematuri non glomerular tidak normal, sehingga perlu dilakukan transformasi data dengan logaritmik dan akar kuadrat. Transformasi dengan logaritmik dan akar kuadrat belum berhasil menunjukkan distribusi data yang normal dengan nilai  $p < 0,05$  ( $p = 0,012$ ).

Pengujian normalitas data rasio IL-6 urin/kreatinin urin pada kelompok hematuri glomerular, non glomerular dan kontrol dengan uji *Shapiro-Wilk* menunjukkan nilai  $p < 0,05$  ( $p = 0,000$ ,  $p = 0,000$ ,  $p = 0,001$ ). Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa distribusi data rasio IL-6 urin/kreatinin urin kelompok hematuri glomerular, non glomerular dan kontrol tidak normal, sehingga perlu dilakukan transformasi data. Transformasi data logaritmik pada



**Tabel 5.1 Karakteristik klinis dan laboratoris subyek penelitian**

Parameter	Hematuri Glomerular (n = 30)	Hematuri Non Glomerular (n = 30)	Kontrol Sehat (n = 30)	p
<b>Jenis Kelamin</b>				
Laki-laki	18	18	17	
Perempuan	12	12	13	
<b>Usia</b>				
2 - 17 tahun	13	5	0	
18 - 70 tahun	17	25	30	
Rerata ± SD	29,10 ± 25,10	40,70 ± 20,40	28,43 ± 2,66	
<b>IL-6 urin (ng/L)</b>				
Rerata ± SD	96,87 ± 23,11*	116,5 ± 44,01	93,80 ± 20,52*	<0,05
Minimal-maksimal	56,52 - 166,10	60,2 - 308,3	55,74 - 125,6	
Median	98,57	119,2	125,60	
<b>Rasio IL-6 urin/kreatinin urin (ng/mg)</b>				
Rerata ± SD	0,37 ± 0,40	0,37 ± 0,48	0,21 ± 0,18	>0,05
Minimal-maksimal	0,03 - 1,80	0,03 - 2,45	0,02 - 0,62	
Median	0,22	0,22	0,14	
<b>Persentase Eritrosit Dismorfik pada <i>flow cytometry urine analyzer</i></b>				
Rerata ± SD	69,3 ± 21,5	18,1 ± 20,8		<0,05
Minimal-maksimal	0,0 - 97,3	0,3 - 74,1		
Median	73,8	7,2		
<b>Persentase Eritrosit Dismorfik pada mikroskop fase kontras</b>				
Rerata ± SD	82,8 ± 18,6	1,8 ± 8,5		<0,05
Minimal-maksimal	51,0 - 100,0	0,0 - 46,0		
Median	88,0	0,0		
<b>Diagnosis</b>				
<i>Urolithiasis</i>		11		
<i>Stroke</i>		5		
Kanker kandung kemih		3		
Nefropati diabetik	7	3		
Trauma		3		
DHF		1		
Leukemia akut	1	1		
Retinoblastoma		1		
CKD	1	1		
<i>Acute Kidney Injury</i>		1		
Sindroma Nefritik	12			
Sindroma Nefrotik	3			
GNAPS	2			
Sepsis	2			
LES	1			
HCC	1			

Keterangan : DHF: *Dengue Hemorrhagic Fever*, CKD: *Chronic kidney Disease*, GNAPS : Glomerulonefritis akut post streptokokus; LES : Lupus Eritematosus sistemik; HCC : *Hepatocellular carcinoma*.

\*) uji beda kelompok hematuri glomerular dan kontrol p > 0,05

kelompok hematuri glomerular, non glomerular dan kontrol berhasil menunjukkan distribusi data yang normal dengan nilai  $p > 0,05$  ( $p = 0,801$ ,  $p = 0,426$ ,  $p = 0,616$ ).

Pengujian normalitas data persentase eritrosit dismorfik kelompok hematuri glomerular dan non glomerular pada *flow cytometry urine analyzer* dengan uji *Shapiro-Wilk* menunjukkan nilai  $p < 0,05$  ( $p = 0,001$ ,  $p = 0,000$ ).

Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa distribusi data persentase eritrosit dismorfik pada *flow cytometry urine analyzer* tidak normal, sehingga perlu dilakukan transformasi data. Transformasi data persentase eritrosit dismorfik kelompok hematuri glomerular dan non glomerular pada *flow cytometry urine analyzer* dengan logaritmik belum berhasil menunjukkan distribusi data yang normal dengan nilai  $p < 0,05$  ( $p = 0,001$ ,  $p = 0,012$ ).

Pengujian normalitas data persentase eritrosit dismorfik pada mikroskop fase kontras dengan uji *Shapiro-Wilk* menunjukkan nilai  $p < 0,05$  ( $p = 0,000$ ,  $p = 0,001$ ). Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa distribusi data persentase eritrosit dismorfik pada mikroskop fase kontras tidak normal, sehingga perlu dilakukan transformasi data. Transformasi dengan logaritmik belum berhasil menunjukkan distribusi data yang normal dengan nilai  $p < 0,05$  ( $p = 0,001$ ,  $p = 0,010$ ).

### 5.3 Uji Beda

Uji beda kadar IL-6 urin antara kelompok hematuri glomerular dan non glomerular menggunakan uji *Mann-Whitney* karena salah satu parameter distribusi datanya tidak normal. Hasil uji *Mann-Whitney* menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan nilai  $p = 0,014$ . Hasil uji beda kadar IL-6 urin antara kelompok hematuri glomerular dan kelompok kontrol dengan uji t test tidak berpasangan menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan dengan nilai  $p = 0,589$ . Hasil uji beda kadar IL-6 urin dengan uji *Mann-Whitney* antara

kelompok hematuri non glomerular dan kontrol menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan nilai  $p = 0,007$ .

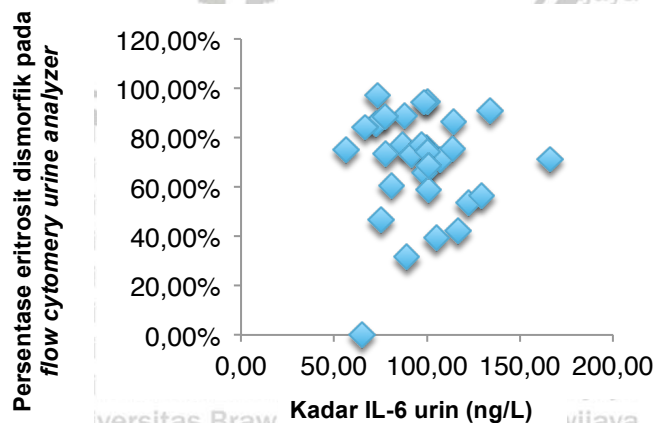
Hasil uji beda rasio IL-6 urin/kreatinin urin antara kelompok hematuri glomerular, non glomerular dan kontrol dengan ANOVA menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan ( $p=0,075$ ). Hasil uji beda *post hoc* dengan *Tukey* menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan antara kelompok hematuri glomerular dan non glomerular ( $p = 0,986$ ), hematuri glomerular dan kontrol ( $p = 0,140$ ), dan hematuri non glomerular dan kontrol ( $p = 0,100$ ).

Hasil uji beda persentase eritrosit dismorfik pada *flow cytometry urine analyzer* dan mikroskop fase kontras dengan uji *Mann-Whitney* didapatkan hasil berbeda signifikan dengan nilai  $p = 0,022$ .

#### 5.4 Uji Korelasi

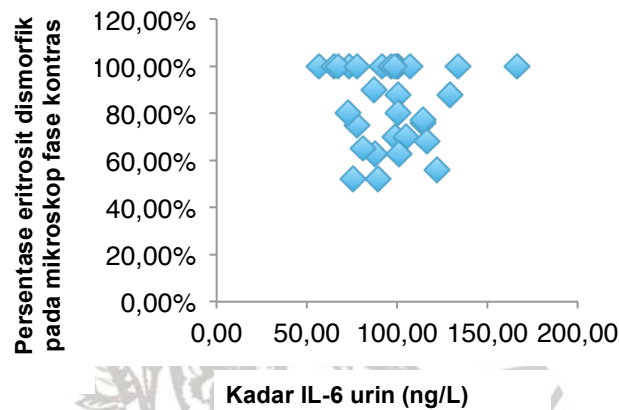
Uji korelasi kadar IL-6 urin dengan persentase eritrosit dismorfik pada *flow cytometry urine analyzer* kelompok hematuri glomerular menggunakan uji korelasi *Spearman* karena salah satu parameter distribusi datanya tidak normal.

Hasil uji korelasi *Spearman* menunjukkan kadar IL-6 tidak berkorelasi dengan persentase eritrosit dismorfik pada *flow cytometry urine analyzer* ( $r = - 0,154$ ,  $p = 0,416$ ) pada gambar 5.1.



**Gambar 5.1** Grafik korelasi kadar IL-6 urin dengan persentase eritrosit dismorfik pada *flow cytometry urine analyzer* kelompok hematuri glomerular

Uji korelasi kadar IL-6 urin dengan persentase eritrosit dismorfik pada mikroskop fase kontras kelompok hematuri glomerular juga menggunakan uji korelasi *Spearman* karena salah satu parameter distribusi datanya tidak normal. Uji korelasi *Spearman* menunjukkan kadar IL-6 urin tidak berkorelasi dengan persentase eritrosit dismorfik pada mikroskop fase kontras ( $r = -0,126$ ,  $p = 0,508$ ) pada gambar 5.2.



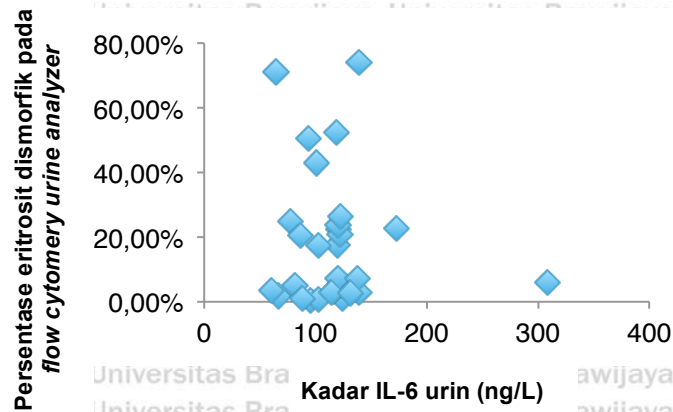
**Gambar 5.2** Grafik korelasi kadar IL-6 urin dengan persentase eritrosit dismorfik pada mikroskop fase kontras kelompok hematuri glomerular

Uji korelasi kadar IL-6 urin dengan persentase eritrosit dismorfik pada *flow cytometry urine analyzer* kelompok hematuri non glomerular menggunakan uji korelasi *Spearman* karena salah satu parameter distribusi datanya tidak normal.

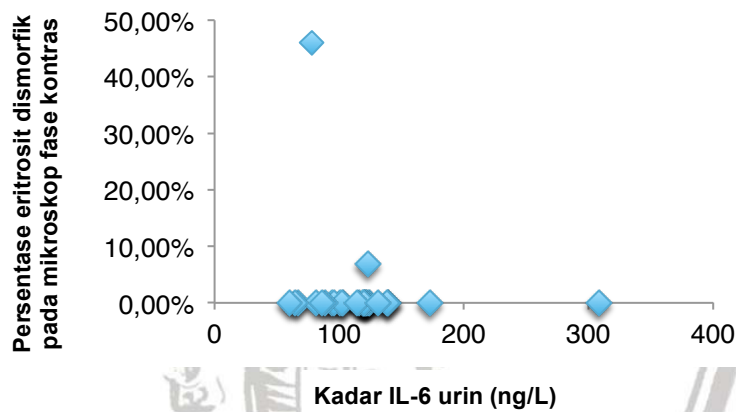
Hasil uji korelasi *Spearman* menunjukkan kadar IL-6 urin tidak berkorelasi dengan persentase eritrosit dismorfik pada *flow cytometry urine analyzer* ( $r = 0,030$ ,  $p = 0,874$ ) pada gambar 5.3.

Uji korelasi kadar IL-6 urin dengan persentase eritrosit dismorfik pada mikroskop fase kontras kelompok hematuri non glomerular juga menggunakan uji korelasi *Spearman* karena salah satu parameter distribusi datanya tidak normal.

Uji korelasi *Spearman* menunjukkan kadar IL-6 urin tidak berkorelasi dengan persentase eritrosit dismorfik pada mikroskop fase kontras ( $r = -0,086$ ,  $p = 0,650$ ) pada gambar 5.4

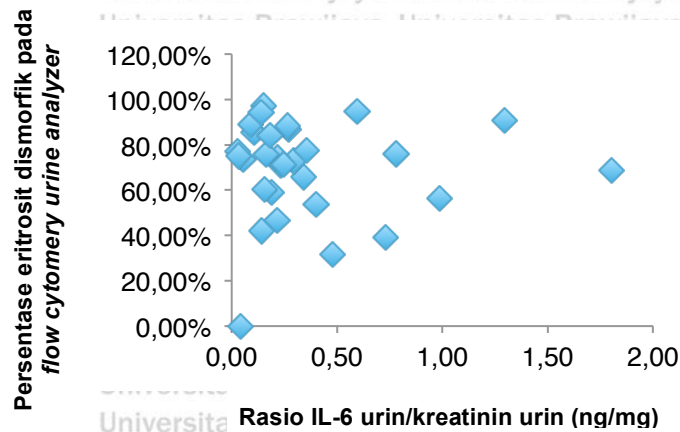


**Gambar 5.3** Grafik korelasi kadar IL-6 urin dengan persentase eritrosit dismorfik pada *flow cytometry urine analyzer* kelompok hematuri non glomerular



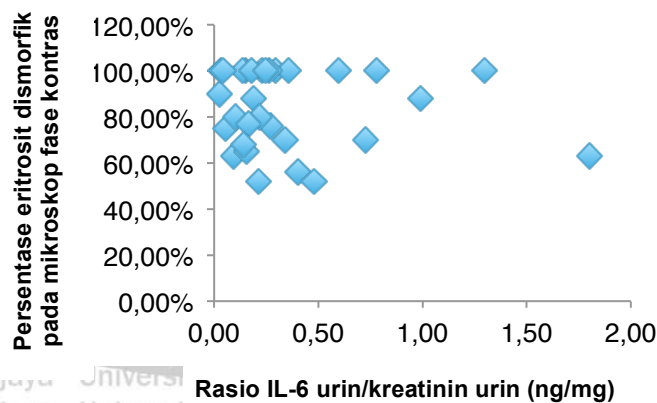
**Gambar 5.4** Grafik korelasi kadar IL-6 urin dengan persentase eritrosit dismorfik pada mikroskop fase kontras kelompok hematuri non glomerular

Uji korelasi rasio IL-6 urin/kreatinin urin dengan persentase eritrosit dismorfik pada *flow cytometry urine analyzer* kelompok hematuri glomerular menggunakan uji korelasi *Spearman* karena salah satu parameter distribusi datanya tidak normal. Hasil uji korelasi *Spearman* menunjukkan rasio IL-6 urin/kreatinin urin tidak berkorelasi dengan persentase eritrosit dismorfik pada *flow cytometry urine analyzer* ( $r = 0,084$ ,  $p = 0,658$ ) pada gambar 5.5.



**Gambar 5.5** Grafik korelasi rasio IL-6 urin/kreatinin urin dengan persentase eritrosit dismorfik pada *flow cytometry urine analyzer* kelompok hematuri glomerular

Uji korelasi rasio IL-6 urin/kreatinin urin dengan persentase eritrosit dismorfik pada mikroskop fase kontras kelompok hematuri glomerular juga menggunakan uji korelasi *Spearman* karena salah satu parameter distribusi datanya tidak normal. Hasil uji korelasi *Spearman* menunjukkan rasio IL-6 urin/kreatinin urin tidak berkorelasi dengan persentase eritrosit dismorfik pada mikroskop fase kontras ( $r = -0,057$ ,  $p = 0,763$ ) pada gambar 5.6.

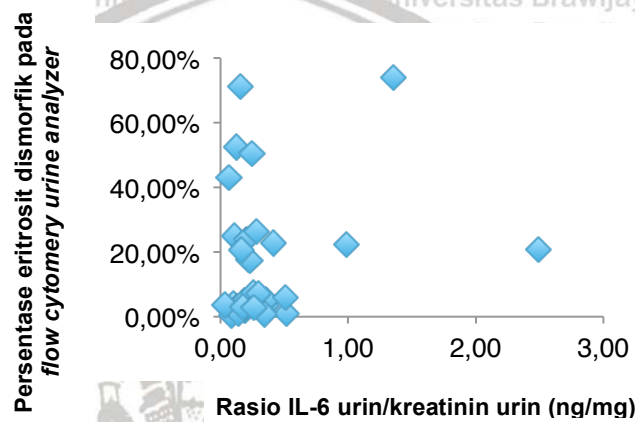


**Gambar 5.6** Grafik korelasi rasio IL-6 urin/kreatinin urin dengan persentase eritrosit dismorfik pada mikroskop fase kontras kelompok hematuri glomerular

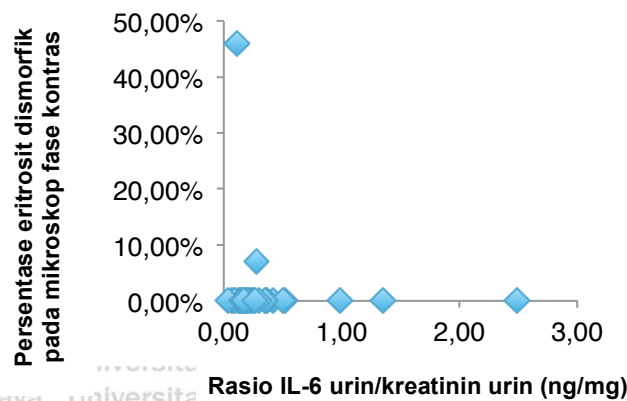
Uji korelasi rasio IL-6 urin/kreatinin urin dengan persentase eritrosit dismorfik pada *flow cytometry urine analyzer* kelompok hematuri non glomerular menggunakan uji korelasi *Spearman* karena salah satu parameter distribusi datanya tidak normal. Hasil uji korelasi *Spearman* menunjukkan rasio IL-6

urin/kreatinin urin tidak berkorelasi dengan persentase eritrosit dismorfik pada *flow cytometry urine analyzer* ( $r = 0,084$ ,  $p = 0,658$ ) pada gambar 5.7.

Uji korelasi rasio IL-6 urin/kreatinin urin dengan persentase eritrosit dismorfik pada mikroskop fase kontras kelompok hematuri non glomerular juga menggunakan uji korelasi *Spearman* karena salah satu parameter distribusi datanya tidak normal. Hasil uji korelasi *Spearman* menunjukkan rasio IL-6 urin/kreatinin urin tidak berkorelasi dengan persentase eritrosit dismorfik pada mikroskop fase kontras ( $r = - 0,100$ ,  $p = 0,598$ ) pada gambar 5.8.



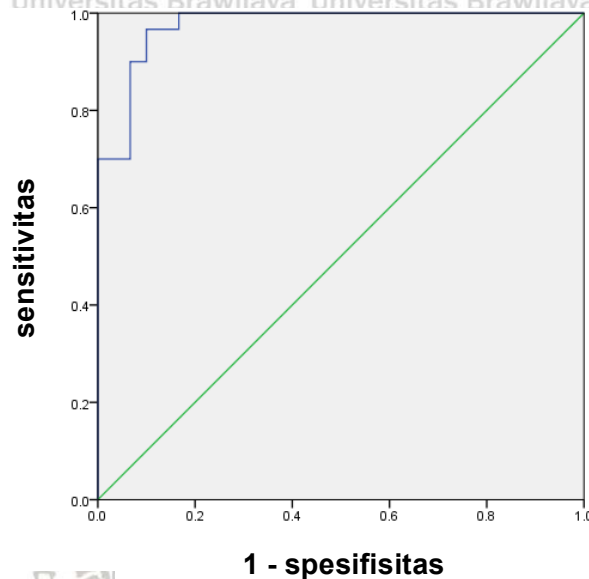
**Gambar 5.7** Grafik korelasi rasio IL-6 urin/kreatinin urin dengan persentase eritrosit dismorfik pada *flow cytometry urine analyzer* kelompok hematuri non glomerular



**Gambar 5.8** Grafik korelasi rasio IL-6 urin/kreatinin urin dengan persentase eritrosit dismorfik pada mikroskop fase kontras kelompok hematuri non glomerular

### 5.5 Uji Diagnostik

Analisis dengan kurva *receiver operating characteristic* (ROC) menunjukkan nilai *area under the curve* (AUC) sebesar 97,40% (95% *confidence interval* = 94,20% - 100,00%, nilai  $p = 0,000$ ) untuk persentase eritrosit dismorfik (Gambar 5.5).



**Gambar 5.9** Kurva ROC untuk eritrosit dismorfik pada *flow cytometry urine analyzer*

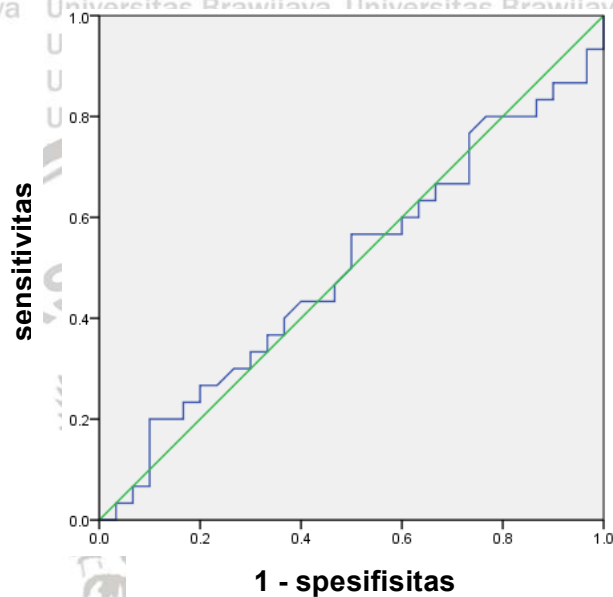
Beberapa titik potong yang merupakan hasil tarik ulur antara nilai sensitivitas dan spesifisitas dalam bentuk *coordinates of the curve* ditentukan berdasarkan nilai AUC. Titik potong untuk eritrosit dismorfik pada *flow cytometry urine analyzer* berada pada nilai 51,24%. Titik potong tersebut kemudian digunakan sebagai nilai *cut off* untuk membedakan hematuri glomerular dengan non glomerular. Persentase eritrosit dismorfik di atas nilai *cut-off* dianggap sebagai hematuri glomerular, sedangkan persentase eritrosit di bawah nilai *cut off* dianggap sebagai kemungkinan hematuri non glomerular.

Analisis menggunakan tabel kontingensi 2x2 dilakukan setelah nilai *cut-off* diperoleh melalui penentuan titik potong. Hasil uji diagnostik untuk eritrosit dismorfik pada *flow cytometry urine analyzer* ditunjukkan sebagai nilai



sensitivitas, spesifisitas, nilai ramal positif (NRP) dan nilai ramal negatif (NRN) pada Tabel 5.2.

Analisis dengan kurva *receiver operating characteristic* (ROC) menunjukkan nilai *area under the curve* (AUC) sebesar 50,00% (95% *confidence interval* = 35,2% - 64,80%, nilai  $p = 1,000$ ) untuk rasio IL-6 urin/kreatinin urin (Gambar 5.6).



**Gambar 5.10** Kurva ROC untuk rasio IL-6 urin/kreatinin urin

Beberapa titik potong yang merupakan hasil tarik ulur antara nilai sensitivitas dan spesifisitas dalam bentuk *coordinates of the curve* ditentukan berdasarkan nilai AUC. Titik potong untuk rasio IL-6 urin/kreatinin urin berada pada nilai 0,135 ng/mg. Titik potong tersebut kemudian digunakan sebagai nilai *cut off* untuk membedakan hematuri glomerular dengan non glomerular. Nilai rasio IL-6 urin/kreatinin urin di atas nilai *cut-off* dianggap sebagai hematuri glomerular, sedangkan nilai rasio di bawah nilai *cut off* dianggap sebagai kemungkinan hematuri non glomerular.

Analisis menggunakan tabel kontingensi 2x2 dilakukan setelah nilai *cut-off* diperoleh melalui penentuan titik potong. Hasil uji diagnostik untuk rasio IL-6 urin/kreatinin urin ditunjukkan sebagai nilai sensitivitas, spesifisitas, nilai ramal positif (NRP) dan nilai ramal negatif (NRN) pada tabel 5.2. Hasil uji diagnostik penggabungan eritrosit dismorfik pada *flow cytometry urine analyzer* dan rasio IL-6 urin/kreatinin urin ditunjukkan sebagai nilai sensitivitas, spesifisitas, nilai ramal positif (NRP) dan nilai ramal negatif (NRN) pada tabel 5.2. Hasil uji diagnostik eritrosit dismorfik pada *flow cytometry urine analyzer* dan/atau rasio IL-6 urin/kreatinin urin ditunjukkan sebagai nilai sensitivitas, spesifisitas, nilai ramal positif (NRP) dan nilai ramal negatif (NRN) pada tabel 5.2.

**Tabel 5.2 Nilai diagnostik eritrosit dismorfik pada *flow cytometry urine analyzer*, rasio IL-6 urin/kreatinin urin, eritrosit dismorfik pada *flow cytometry urine analyzer* dan rasio IL-6 urin/kreatinin urin, eritrosit dismorfik pada *flow cytometry urine analyzer* dan/atau rasio IL-6 urin/kreatinin urin**

	Eritrosit dismorfik pada <i>flow cytometry urine analyzer</i>	Rasio IL-6 urin/kreatinin urin	Eritrosit dismorfik pada <i>flow cytometry urine analyzer</i> dan rasio IL-6 urin/kreatinin urin	Eritrosit dismorfik pada <i>flow cytometry urine analyzer</i> dan/atau rasio IL-6 urin/kreatinin urin
<b>Sensitivitas (%)</b>	96,70	80,00	66,67	96,67
<b>Spesifisitas (%)</b>	90,00	23,30	93,33	20,00
<b>NRP (%)</b>	89,28	51,06	90,91	54,72
<b>NRN (%)</b>	84,38	53,85	73,68	85,71

NRP : nilai ramal positif; NRN : nilai ramal negatif.

## BAB 6

## PEMBAHASAN

**6.1 Karakteristik subyek penelitian**

Penelitian ini melibatkan 90 subyek penelitian yang terdiri dari 30 penderita hematuri glomerular, 30 penderita hematuri non glomerular dan 30 kontrol sehat. Kelompok kontrol sehat terdiri dari 57% subyek berjenis kelamin laki-laki dan 43% subyek berjenis kelamin perempuan. Kelompok hematuri glomerular dan non glomerular terdiri dari 60% subyek berjenis kelamin laki-laki dan 40% subyek berjenis kelamin perempuan. Angka kejadian hematuri glomerular dan non glomerular pada penelitian ini didapatkan hasil lebih banyak penderita berjenis kelamin laki-laki dibandingkan perempuan. Hal serupa didapatkan pada prevalensi hematuria *American Urological Association* (2012) yang melaporkan salah satu faktor risiko penderita hematuri adalah laki-laki. Penelitian Song *et al.* (2013) juga mendapatkan hasil serupa, hematuri glomerular lebih banyak ditemukan pada penderita laki-laki.

Kelompok hematuri glomerular lebih banyak ditemukan pada penderita usia lebih dari 18 tahun (57%) dibanding usia kurang dari 18 tahun (43%). Hematuri non glomerular juga lebih banyak didapatkan pada usia lebih dari 18 tahun (83%) dibanding usia kurang dari 18 tahun (17%). Hasil serupa didapatkan pada penelitian Froom *et al.* (1985) dan *American Urological Association* (2012) yang melaporkan hematuria lebih banyak didapatkan pada penderita usia dewasa. *American Urological Association* (2012) melaporkan hematuri non glomerular lebih banyak ditemukan pada usia lebih dari 35 tahun. Penelitian Song *et al.* (2013) juga mendapatkan penderita hematuri glomerular lebih banyak berusia lebih dari 35 tahun.

Angka kejadian hematuri lebih tinggi pada laki-laki dan usia dewasa dihubungkan dengan *benign prostatic hyperplasia* dan *urolithiasis* yang sering diderita laki-laki dewasa. Laki-laki usia lebih dari 35 tahun dan ada riwayat merokok berisiko tinggi menderita keganasan urologi. (Sharp *et al.*, 2013) Gejala *urgency*, *frequency*, dan *dysuria* meningkatkan risiko hematuria pada penderita *benign prostatic hyperplasia* (American Urological Association, 2012)

## 6.2 Uji beda

Interleukin-6 adalah sitokin multifungsi yang diproduksi oleh monosit, fibroblas, sel endotel, sel mesangial ginjal, sel limfosit T dan makrofag yang teraktivasi. (Song *et al.*, 2013) Interleukin-6 meningkatkan proliferasi sel mesangial dan pelepasan mediator inflamasi. Interleukin-6 berperan penting pada kelainan patologis pada glomerulonefritis. (Kanemoto *et al.*, 2014; Ma *et al.*, 2015) Peningkatan kadar IL-6 di plasma diduga dapat mempengaruhi peningkatan kadar IL-6 di urin (Newberry and Costello, 1997). Interleukin-6 dapat terdeteksi di urin karena berat molekulnya kecil, yaitu 26 kDa. (Park *et al.*, 2016).

Song *et al.* (2013) menyatakan bahwa kadar IL-6 urin terutama berasal dari sel mesangial ginjal dan sel epitel tubulus proksimal ginjal. Song *et al.* (2013) dan Ma *et al.* (2015) menyatakan kadar IL-6 urin berkorelasi dengan derajat kerusakan glomerulus pada penderita hematuri glomerular.

Interleukin-6 terutama disekresikan pada penyakit glomerular yang disertai proliferasi mesangial atau *mesangial proliferative glomerulonephritis*, misal nefropati IgA. Kadar IL-6 urin penderita *non proliferative glomerulonephritis*, misal *membranous nephropathy* dan *minimal change nephrotic syndrome* didapatkan dalam batas normal. (Huussen *et al.*, 2004; Sultana *et al.*, 2011;

Yuste *et al.*, 2015) Peningkatan kadar IL-6 urin terutama didapatkan pada fase akut kelainan glomerular dan menurun setelah fase akut teratasi. Peningkatan

kadar IL-6 urin juga dapat disebabkan reaksi inflamasi di saluran kemih, tidak hanya inflamasi pada parenkim ginjal. (Ohta *et al.*, 1992) Kadar IL-6 urin dapat digunakan untuk menilai respon terapi yang diberikan (Kanemoto *et al.*, 2014) Penurunan kadar IL-6 urin didapatkan pada penderita kelainan glomerular, misal sindrom nefrotik, yang diterapi steroid atau obat anti inflamasi (Iwano *et al.*, 1993; Kanemoto *et al.* 2014; Al-Eisa *et al.*, 2017) Ekskresi IL-6 di urin menurun pada penderita penyakit ginjal kronis (*chronic kidney disease/CKD*) karena gangguan fungsi ginjal. (Su *et al.* 2017)

Tubuh individu sehat yang berada dalam kondisi stres psikologis akan memproduksi hormon stres kortisol yang kemudian menstimulasi pelepasan IL-6 di sirkulasi. Peningkatan IL-6 di plasma juga didapatkan pada individu yang kurang tidur. (Fink, 2010) Pelajar sehat yang menghadapi ujian akademis tidak didapatkan perubahan persentase sel inflamasi di darah tepi tetapi didapatkan peningkatan kadar IL-6 di plasma. Peningkatan kadar IL-6 juga didapatkan pada individu yang berada dalam kondisi stres akut misal berbicara di depan masyarakat. (Segerstrom and Miller, 2004) Kadar IL-6 di plasma dipengaruhi variasi diurnal dengan kadar tertinggi pada pagi hari. Nilsson *et al.* (2016) melaporkan bahwa Beberapa penelitian melaporkan kadar IL-6 meningkat saat malam hari dan menginduksi tubuh untuk tidur atau beristirahat. (Nilsson *et al.*, 2016)

Peningkatan kadar IL-6 urin pada penderita *urolithiasis* diduga berasal dari leukosit, sel epitel atau sel lain yang memproduksi IL-6. Oksalat yang merupakan penyusun utama batu kalsium oksalat diduga dapat menstimulasi sekresi IL-6 dan menginflamasi sel epitel ginjal yang mensekresi IL-6. (Huang *et al.*, 2005). Peningkatan kadar IL-6 di plasma dan urin pada penderita kanker kandung kemih diduga disebabkan reaksi imun melawan tumor pada *urothelium*

(Seguchi *et al.*, 1992). Tindakan pembedahan pada penderita *urolithiasis* atau keganasan urologi juga dapat menyebabkan peningkatan kadar IL-6 plasma.

(Bantis *et al.*, 2014) Penderita yang menderita disfungsi organ dan dirawat di ruang intensif dengan kadar IL-6 tinggi, berkaitan dengan kemungkinan infeksi dan sepsis (Takahashi *et al.*, 2016)

Kadar IL-6 urin dirasioakan dengan kreatinin urin untuk mendapatkan hasil yang lebih akurat dengan menghilangkan perbedaan konsentrasi yang diakibatkan perbedaan status hidrasi (Ma *et al.* 2015) Kreatinin difiltrasi bebas di

glomerulus dan sedikit disekresikan tubulus proksimal ginjal. Kadar kreatinin di plasma atau serum dipengaruhi jenis kelamin, ras, massa otot, makanan yang dikonsumsi (konsumsi daging meningkatkan kadar kreatinin), obat-obatan, aktivitas fisik dan fungsi ginjal. Perbedaan kadar kreatinin tersebut dapat menyebabkan perbedaan jumlah kreatinin yang diekskresi di ginjal. (NKF, 2002)

Ekskresi kreatinin dalam satu hari bervariasi antara 4% sampai 8% karena dipengaruhi jenis makanan yang dikonsumsi dan aktivitas fisik. (Kalantari dan Bolton, 2013) Ekskresi kreatinin pada penderita CKD menurun. (NKF, 2002; Kalantari dan Bolton, 2013)

Kadar IL-6 urin dan rasio IL-6 urin/kreatinin urin antara kelompok hematuri glomerular dan kontrol didapatkan tidak berbeda signifikan. Rata-rata kadar IL-6 urin dan rasio IL-6 urin/kreatinin urin antara kelompok hematuri glomerular dan kontrol hampir sama. Hal ini dapat disebabkan penderita hematuri glomerular pada penelitian ini adalah *non proliferative glomerulonephritis*, tidak dalam fase akut dan/atau mendapatkan terapi steroid

atau obat anti inflamasi, atau menderita CKD. Kelompok kontrol yang merupakan calon PPDS yang menjalani ujian masuk diduga dalam kondisi stres psikologis dan individu sehat yang menghadapi ujian dapat mengalami peningkatan kadar

IL-6. Perbedaan waktu pengambilan sampel urin antar kedua kelompok juga diduga mempengaruhi hasil penelitian. Pengambilan sampel kelompok hematuri tidak selalu pagi hari, sedangkan pengambilan sampel kelompok kontrol sebagian besar saat pagi hari antara jam 8.00 sampai jam 10.00. Adanya pengaruh variasi diurnal sekresi IL-6, dimana sekresi tertinggi diduga pagi hari, dapat mempengaruhi hasil penelitian. Perbedaan karakteristik subjek penelitian juga dapat mempengaruhi hasil penelitian.

Kadar IL-6 urin antara kelompok hematuri glomerular dan non glomerular didapatkan perbedaan yang signifikan. Rerata kadar IL-6 urin kelompok non glomerular lebih tinggi dibanding kelompok glomerular. Hal ini berbeda dengan penelitian Ohta *et al.* (1992) yang menyatakan bahwa peningkatan kadar IL-6 urin didapatkan pada penderita hematuri glomerular dibanding non glomerular. Kadar IL-6 urin lebih tinggi pada kelompok hematuri non glomerular dapat disebabkan sekresi IL-6 dari leukosit, sel epitel ginjal atau sel lain yang memproduksi IL-6 pada penderita *urolithiasis*, adanya reaksi imun melawan tumor pada penderita kanker kandung kemih, tindakan pembedahan sebelum pengambilan sampel, menderita disfungsi organ dan kemungkinan sepsis pada kelompok hematuri non glomerular dapat mempengaruhi hasil penelitian. Perbedaan karakteristik subjek penelitian dan diagnosis klinis yang bervariasi juga dapat mempengaruhi hasil penelitian.

Kadar IL-6 urin antara kelompok hematuri non glomerular dan kontrol menunjukkan perbedaan yang signifikan. Hasil serupa didapatkan pada penelitian Rhee *et al.* (1998) yang melaporkan perbedaan signifikan kadar IL-6 urin pada penderita *urolithiasis* dibanding kelompok kontrol disebabkan stimulasi sekresi IL-6 oleh oksalat.

Rasio IL-6 urin/kreatinin urin antara kelompok hematuri glomerular dengan non glomerular dan kelompok hematuri non glomerular dengan kontrol tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan. Hal ini berbeda dengan uji beda kadar IL-6 urin pada kelompok tersebut. Belum ada penelitian mengenai rasio IL-6 urin/kreatinin urin pada hematuri non glomerular hingga saat ini. Perbedaan karakteristik subjek penelitian dan diagnosis klinis yang bervariasi antar ketiga kelompok diduga mempengaruhi hasil penelitian. Rentang usia antar ketiga kelompok sangat berbeda.

Eritrosit dismorfik merupakan penanda hematuri glomerular dan mengindikasikan keluarnya eritrosit melalui kapiler glomerulus ke urin. Eritrosit dismorfik diketahui sebagai penanda kerusakan atau disfungsi *barier* filtrasi glomerulus. *Barier* filtrasi glomerulus terdiri dari lapisan endotel yang merupakan lapisan vaskuler, sel endotel, membran basal glomerulus, podosit dan ruang subpodosit. (Yuste *et al.*, 2015) Eritrosit dismorfik ditemukan di urin bila barier fisiologis glomerulus yang dilewati eritrosit mengalami kerusakan (Huussen *et al.*, 2004; Sultana *et al.*, 2011)

Eritrosit pada *flow cytometry urine analyzer* ditampilkan dalam *scattergram*. Eritrosit terdistribusi di bagian bawah *scattergram* dengan intensitas fluoresen kecil karena hanya membran eritrosit yang terwarnai dengan *UX II search-sed*. Bila banyak didapatkan eritrosit yang berukuran kecil (eritrosit dismorfik) maka eritrosit terdistribusi pada daerah dengan intensitas forward scattered light yang rendah. Penggunaan sinar merah pada *flow cytometry urine analyzer* dapat menyebabkan interferensi penghitungan eritrosit oleh kristal, bakteri dan *yeast like cell*. Ketiga komponen tersebut berukuran kecil dan berada berdekatan dengan eritrosit pada *scattergram* sehingga mengganggu penghitungan eritrosit, terutama eritrosit dismorfik. (Sysmex, 2009)



Apeland *et al.* (2001) melaporkan bahwa pemeriksaan urinalisis pada kasus hematuria dengan *flow cytometry urine analyzer* masih belum dapat menggantikan pemeriksaan mikroskopis. Jumlah eritrosit  $\geq 20/\mu\text{L}$  dan disertai banyak kristal (X'TAL), bakteri (BACT) atau *yeast like cell* (YLC) akan memunculkan tanda RBC/X'TAL, RBC/BACT atau RBC/YLC *abnormal classification* (Abn/Cls) pada *flow cytometry urine analyzer*. Hal tersebut menyebabkan interferensi perhitungan eritrosit dan memerlukan konfirmasi dengan pemeriksaan mikroskopis. (Sysmex, 2009) Hasil serupa didapatkan pada penelitian Noushin *et al.* yang menyatakan tanda dismorfik yang diberikan pada hasil *flow cytometry urine analyzer*, atau pasien diduga menderita sindrom nefritik harus dikonfirmasi dengan pemeriksaan mikroskopis (Noushin *et al.*, 2007).

Persentase eritrosit dismorfik pada *flow cytometry urine analyzer* dan mikroskop fase kontras kelompok hematuri glomerular memiliki nilai yang lebih tinggi dibanding kelompok hematuri non glomerular. Hal ini sejalan dengan penelitian Crop *et al.* (2010) yang menyatakan bahwa persentase eritrosit dismorfik yang tinggi mengarah ke kelainan glomerular sedangkan persentase yang rendah lebih mengarah ke kelainan non glomerular.

Persentase eritrosit dismorfik pada *flow cytometry urine analyzer* dan mikroskop fase kontras berbeda signifikan. Hal ini kemungkinan disebabkan ada kristal, bakteri dan *yeast like cell* yang mempengaruhi hasil pemeriksaan. Tanda RBC/YLC didapatkan pada 13 sampel, RBC/BACT pada 2 sampel, dan RBC/X'TAL pada 1 sampel di kelompok hematuri glomerular. Konfirmasi mikroskopis tidak menemukan jamur pada sampel yang bertanda RBC/YLC, didapatkan bakteri pada sampel bertanda RBC/BACT dan ditemukan kristal kalsium oksalat pada sampel bertanda RBC/X'TAL. Tanda RBC/YLC didapatkan

pada 3 sampel, RBC/BACT pada 1 sampel, dan RBC/X'TAL pada 1 sampel di kelompok hematuri non glomerular. Konfirmasi mikroskopis menemukan jamur pada 1 sampel yang bertanda RBC/YLC, didapatkan bakteri pada sampel bertanda RBC/BACT dan ditemukan kristal kalsium oksalat pada sampel bertanda RBC/X'TAL. Bila tidak didapatkan tanda RBC/X'TAL, RBC/BACT, atau RBC/YLC pada hasil *flow cytometry urine analyzer*, maka hasil tersebut dapat digunakan. Bila didapatkan tanda tersebut pada hasil *flow cytometry urine analyzer*, maka hasil tersebut memerlukan konfirmasi mikroskopis dahulu.

### 6.3 Uji korelasi

Mediator pro-inflamasi (lipopolisakarida, TNF-alfa dan IL-1B) dapat menstimulasi sekresi IL-6. (Su *et al.*, 2017) Interleukin-6 di urin disekresikan oleh podosit, sel endotel, sel mesangial dan sel epitel tubulus ginjal (Su *et al.*, 2017) Sel mesangial merupakan tempat sekresi utama IL-6 di urin tetapi bukan penyusun utama barier filtrasi glomerulus. Interleukin-6 terutama disekresikan pada penyakit glomerular yang disertai proliferasi mesangial, yaitu nefropati IgA, glomerulonefritis membranoproliferatif, nefritis lupus dan nefropati diabetik. (Kurogi, 2002; Huussen *et al.*, 2004; Sultana *et al.*, 2011; Yuste *et al.*, 2015) Kadar IL-6 urin pada penderita nefropati IgA lebih berkorelasi dengan inflamasi akut glomerulus dibanding derajat proliferasi sel mesangial. (Kanemoto *et al.*, 2014) Kadar serum IL-6 penderita diabetes mellitus tipe 2 dengan nefropati diabetik dan makroalbuminuria didapatkan lebih tinggi dibanding penderita diabetes mellitus tipe 2 tanpa nefropati diabetik, ekskresi albumin normal dan mikroalbuminuria (Elmarakby *et al.*, 2013). Penurunan kadar IL-6 urin didapatkan pada penderita hematuri glomerular yang diterapi steroid atau obat anti inflamasi (Iwano *et al.*, 1993; Kanemoto *et al.* 2014; Al-Eisa *et al.*, 2017)

Podosit dapat mensekresi IL-6. Deksametason dan vitamin D diduga menekan sekresi IL-6 oleh podosit karena efek anti-inflamasinya (Su *et al.*, 2017). Podosit pada individu dewasa tidak dapat beregenerasi dan melakukan mitosis. Bila podosit mengalami injuri maka luas permukaannya meningkat melalui mekanisme hipertrofi sel. Kontak langsung antara membran basal glomerulus dengan epitel parietal Kapsul Bowman menyebabkan sklerosis segmental. Kurangnya jumlah sel podosit didapatkan pada penderita nefropati IgA berat. Injuri pada sel endotel dan sel mesangial dapat diatasi dengan regenerasi. (Tomino, 2012)

Peningkatan kadar IL-6 urin pada kasus hematuri non glomerular dapat disebabkan oksalat yang menstimulasi sekresi IL-6 oleh sel epitel ginjal, reaksi imun melawan tumor pada *urothelium* penderita kanker kandung kemih, dan tindakan pembedahan urologi. (Seguchi *et al.*, 1992; Huang *et al.*, 2005; Bantis *et al.*, 2014). Penderita yang menderita disfungsi organ dapat mengalami peningkatan kadar IL-6 dan hal ini diduga berkaitan dengan sepsis (Takahashi *et al.*, 2016)

Kadar IL-6 urin dan rasio IL-6 urin/kreatinin urin pada kelompok hematuri glomerular tidak berkorelasi dengan persentase eritrosit dismorfik pada *flow cytometry urine analyzer* dan mikroskop fase kontras. Subyek hematuri glomerular pada penelitian ini tidak dilakukan biopsi ginjal sehingga proliferasi sel mesangial tidak dapat dipastikan. Terapi yang kemungkinan diberikan diduga menurunkan kadar IL-6 urin tetapi tidak dapat memperbaiki kerusakan podosit yang telah terjadi, sehingga didapatkan peningkatan persentase eritrosit dismorfik dengan kadar IL-6 urin dan rasio IL-6 urin/kreatinin urin yang rendah pada kelompok hematuri glomerular.

Kadar IL-6 urin dan rasio IL-6 urin/kreatinin urin pada kelompok hematuri non glomerular tidak berkorelasi dengan persentase eritrosit dismorfik pada *flow cytometry urine analyzer* dan mikroskop fase kontras. Persentase eritrosit dismorfik pada kelompok hematuri non glomerular rendah karena penyebab hematuri bukan kerusakan pada glomerulus. Korelasi positif lemah kemungkinan dipengaruhi YLC, bakteri, maupun kristal yang terdapat pada beberapa sampel, sehingga menginterferen penghitungan eritrosit dismorfik pada *flow cytometry urine analyzer*. Persentase eritrosit dismorfik pada sampel tersebut didapatkan meningkat, tetapi setelah dikonfirmasi mikroskopis didapatkan persentase yang lebih rendah. Kadar IL-6 urin dan rasio IL-6 urin yang tinggi dapat diakibatkan stimulasi sekresi IL-6 oleh oksalat, reaksi imun pada penderita kanker kandung kemih, tindakan pembedahan atau disfungsi organ yang terjadi pada subjek hematuri non glomerular.

#### 6.4 Uji Diagnostik

Uji diagnostik dilakukan dengan membuat kurva *receiver operating characteristic* (ROC), menentukan nilai *cut-off* dan menentukan nilai sensitivitas dan spesifisitas. Sumbu x adalah 1-spesifisitas dan sumbu y adalah sensitivitas. Bentuk kurva ROC dan *area under the curve* (AUC) yang terbentuk dapat membantu menilai seberapa tinggi suatu pemeriksaan dapat membedakan. Kurva yang semakin mendekati ujung kiri atas dengan *area under the curve* (AUC) yang luas memiliki nilai diagnostik membedakan yang paling baik. *Area under the curve* (AUC) memiliki nilai antara 0% dan 100%. Uji diagnostik yang sempurna memiliki nilai AUC 100%, sedangkan AUC 50% tidak dapat digunakan untuk membedakan. Nilai AUC 90-100% memiliki akurasi diagnostik yang memuaskan, nilai AUC 80-90% memiliki akurasi diagnostik sangat baik, nilai AUC 70-80% memiliki akurasi diagnostik baik, nilai AUC 60-70% memiliki akurasi

diagnostik cukup baik, nilai AUC 50-60% memiliki akurasi diagnostik yang tidak baik dan nilai AUC kurang dari 50% menandakan pemeriksaan tersebut tidak memiliki nilai diagnostik. (Simundic, 2009)

Pemeriksaan uji saring adalah pemeriksaan atau prosedur medis yang dilakukan pada suatu populasi untuk mengetahui kecenderungan anggota populasi tersebut menderita suatu penyakit/kelainan. Penurunan morbiditas atau mortalitas pada populasi tertentu merupakan tujuan pemeriksaan skrining.

Pemeriksaan dengan nilai sensitivitas tinggi berpotensi digunakan untuk pemeriksaan skrining karena kecil kemungkinan terjadi negatif palsu dan kecil kemungkinan terlewat individu yang sakit. Pemeriksaan dengan nilai spesifisitas tinggi berpotensi digunakan untuk pemeriksaan diagnostik karena kecil kemungkinan positif palsu. Bila pemeriksaan diagnostik memiliki nilai spesifisitas rendah, akan banyak individu yang memiliki hasil skrining positif dan mendapatkan terapi atau tindakan yang seharusnya tidak perlu dilakukan.

(Maxim *et al.* 2014)

Analisis dengan kurva *receiver operating characteristic* (ROC) menunjukkan nilai *area under the curve* (AUC) eritrosit dismorfik pada *flow cytometry urine analyzer* lebih baik dibanding rasio IL-6 urin/kreatinin urin (97,40% dibanding 50,00%). Hal ini menunjukkan eritrosit dismorfik pada *flow cytometry urine analyzer* memiliki akurasi diagnostik yang memuaskan dan dapat digunakan untuk membedakan hematuri glomerular dengan non glomerular.

Analisis nilai *cut off* eritrosit dismorfik pada *flow cytometry urine analyzer* 51,24% dengan tabel kontingensi 2x2 menunjukkan nilai sensitivitas 96,70%, spesifisitas 90,00%, nilai ramal positif 89,28%, nilai ramal negatif 84,38%. Hasil ini lebih baik dibanding rasio IL-6 urin/kreatinin urin ataupun penggabungan kedua parameter. Nilai sensitivitas tertinggi didapatkan pada eritrosit dismorfik

pada *flow cytometry urine analyzer*. Hal ini menunjukkan eritrosit dismorfik pada *flow cytometry urine analyzer* dapat digunakan sebagai uji saring membedakan hematuri glomerular dan non glomerular. Penggabungan eritrosit dismorfik pada *flow cytometry urine analyzer* dan rasio IL-6 urin/kreatinin urin didapatkan nilai spesifisitas tertinggi tetapi penurunan nilai sensitivitas. Parameter ini tidak disarankan digunakan untuk pemeriksaan diagnostik karena akurasi diagnostik rasio IL-6 urin/kreatinin urin tidak baik dan nilai sensitivitas yang rendah.

### 6.5 Keterbatasan Penelitian

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan, yaitu :

- Penentuan hematuri glomerular menggunakan kriteria klinis, tidak menggunakan biopsi ginjal sebagai standar baku emas penegakan diagnosis kelainan glomerular
- Subjek penelitian ini memiliki karakteristik yang sangat bervariasi, yaitu rentang usia yang berbeda antar ketiga kelompok dan proporsi jenis kelamin yang berbeda antar ketiga kelompok. Ras, massa otot, jenis makanan yang dikonsumsi, aktivitas fisik sebelum pengambilan sampel, fungsi ginjal, pengobatan dan tindakan operatif yang diterima subjek, perbedaan waktu pengambilan sampel urin dan jenis batu penderita urolithiasis tidak dipertimbangkan dalam analisis sebagai salah satu faktor perancu variabel yang diteliti.
- Pengukuran kadar IL-6 urin dan kreatinin urin hanya dilakukan satu kali dan menggunakan urin sewaktu.

## BAB 7

## KESIMPULAN DAN SARAN

## 7.1 Kesimpulan

1. Kadar IL-6 urin berbeda bermakna antara kelompok hematuri glomerular dengan non glomerular dan antara kelompok hematuri non glomerular dengan kontrol. Kadar IL-6 urin tidak berbeda bermakna antara kelompok hematuri glomerular dengan kontrol.
2. Rasio IL-6 urin/kreatinin urin tidak berbeda bermakna antar kelompok hematuri glomerular, non glomerular, dan kontrol.
3. Kadar IL-6 urin dan rasio IL-6 urin/kreatinin urin pada kelompok hematuri glomerular dan non glomerular tidak berkorelasi dengan persentase eritrosit dismorfik pada *flow cytometry urine analyzer* dan mikroskop fase kontras.
4. Rasio IL-6 urin/kreatinin urin tidak dapat digunakan untuk membedakan hematuri glomerular dan non glomerular.
5. Persentase eritrosit dismorfik pada *flow cytometry urine analyzer* dapat digunakan untuk uji saring membedakan hematuri glomerular dan non glomerular.
6. Persentase eritrosit dismorfik pada *flow cytometry urine analyzer* memiliki nilai diagnostik yang lebih baik dibandingkan dengan rasio IL-6 urin/kreatinin urin.

## 7.2 Saran

1. Penelitian selanjutnya sebaiknya menggunakan biopsi ginjal sebagai standar baku emas kelainan glomerular dan menggunakan sampel urin pagi hari.

2. Pemilihan subjek penelitian sebaiknya memiliki karakteristik yang sama (usia dan jenis kelamin) serta mempertimbangkan massa otot, makanan yang dikonsumsi, aktivitas fisik sebelum pengambilan sampel, fungsi ginjal, jenis batu pada penderita *urolithiasis*, pengobatan dan tindakan operatif sebelum pengambilan sampel supaya hasil penelitian lebih akurat.

3. Penelitian yang melibatkan pengukuran berseri kadar IL-6 urin dan kreatinin urin untuk memastikan ada atau tidaknya korelasi kadar IL-6 urin dan rasio IL-6 urin/kreatinin urin dengan persentase eritrosit dismorfik pada *flow cytometry urine analyzer* dan mikroskop fase kontras.





Lampiran 4  
Uji Normalitas Data

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Rasio_IL_6_Cr_glomerular	.244	30	.000	.735	30	.000
Rasio_IL_6_Cr_non_glomerular	.303	30	.000	.563	30	.000
Rasio_IL_6_Cr_kontrol	.186	30	.009	.849	30	.001
IL_6_glomerular	.133	30	.189	.957	30	.254
IL_6_non_glomerular	.234	30	.000	.720	30	.000
IL_6_kontrol	.126	30	.200 <sup>*</sup>	.953	30	.199

\*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
eri_dis_fcm_glomerular	.154	30	.001	.867	30	.000
eri_dis_fcm_non_glomerular	.270	30	.000	.643	30	.000

a. Lilliefors Significance Correction

Uji normalitas data setelah transformasi logaritmik

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
log_IL_6_non_glomerular	.163	30	.041	.906	30	.012
log_rasio_IL_6_Cr_glomerular	.116	30	.200 <sup>*</sup>	.979	30	.801
log_rasio_IL_6_Cr_non_glomerular	.112	30	.200 <sup>*</sup>	.966	30	.426
log_rasio_IL_6_Cr_kontrol	.074	30	.200 <sup>*</sup>	.973	30	.616

\*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
log_eri_dis_fcm_glomerular	.164	30	.011	.851	30	.001
log_eri_dis_fcm_non_glomerular	.370	30	.000	.621	30	.012

a. Lilliefors Significance Correction

Lampiran 5

Uji Beda

Uji beda kadar IL-6 urin antara kelompok hematuri glomerular dan non glomerular

Hypothesis Test Summary

	Null Hypothesis	Test	Sig.	Decision
1	The distribution of all_IL_6 is the same across categories of dx.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	.014	Reject the null hypothesis.

Asymptotic significances are displayed. The significance level is .05.

Uji beda kadar IL-6 urin antara kelompok hematuri glomerular dan kontrol

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means							
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference		
								Lower	Upper	
IL_6	Equal variances assumed	.008	.930	.544	60	.589	3.06767	5.64383	8.22968	14.36501
	Equal variances not assumed			.544	59.201	.589	3.06767	5.64383	8.23304	14.36837

Uji beda kadar IL-6 urin antara kelompok hematuri non glomerular dan kontrol

Hypothesis Test Summary

	Null Hypothesis	Test	Sig.	Decision
1	The distribution of all_IL_6 is the same across categories of dx.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	.007	Reject the null hypothesis.

Asymptotic significances are displayed. The significance level is .05.

**Uji beda rasio IL-6 urin/kreatinin urin antara kelompok hematuri glomerular, non glomerular dan kontrol**

**ANOVA**

ngmg\_rasio

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.885	2	.443	2.676	.075
Within Groups	14.394	87	.165		
Total	15.280	89			

**Multiple Comparisons**

Dependent Variable: ngmg\_rasio

	(I) ngmg_dx	(J) ngmg_dx	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Tukey HSD	glo	nonglo	-.01708	.10502	.986	-.2675	.2333
		kontrol	.20134	.10502	.140	-.0491	.4518
	nonglo	glo	.01708	.10502	.986	-.2333	.2675
		kontrol	.21842	.10502	.100	-.0320	.4688
	kontrol	glo	-.20134	.10502	.140	-.4518	.0491
		nonglo	-.21842	.10502	.100	-.4688	.0320
LSD	glo	nonglo	-.01708	.10502	.871	-.2258	.1917
		kontrol	.20134	.10502	.059	-.0074	.4101
	nonglo	glo	.01708	.10502	.871	-.1917	.2258
		kontrol	.21842	.10502	.040	.0097	.4272
	kontrol	glo	-.20134	.10502	.059	-.4101	.0074
		nonglo	-.21842	.10502	.040	-.4272	-.0097

**Uji beda persentase eritrosit dismorfik pada flow cytometry urine analyzer dan mikroskop fase kontras**

**Hypothesis Test Summary**

	Null Hypothesis	Test	Sig.	Decision
1	The distribution of eri_dis is the same across categories of dx.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	.022	Reject the null hypothesis.

Asymptotic significances are displayed. The significance level is .05.

Lampiran 6

Uji Korelasi

Uji korelasi kadar IL-6 urin dan rasio IL-6 urin/kreatinin urin dengan persentase eritrosit dismorfik pada kelompok hematuri glomerular

Correlations

		glo_eri_dis_fcm	glo_eri_dis_fk	glo_IL_6	glo_rasio
glo_eri_dis_fcm	Correlation Coefficient	1.000	.511**	-.154	-.123
	Sig. (2-tailed)	.	.004	.416	.517
	N	30	30	30	30
glo_eri_dis_fk	Correlation Coefficient	.511**	1.000	-.126	-.057
	Sig. (2-tailed)	.004	.	.508	.763
	N	30	30	30	30
Spearman's rho	Correlation Coefficient	-.154	-.126	1.000	.595**
	Sig. (2-tailed)	.416	.508	.	.001
	N	30	30	30	30
glo_IL-6	Correlation Coefficient	-.123	-.057	.595**	1.000
	Sig. (2-tailed)	.517	.763	.001	.
	N	30	30	30	30
glo_rasio	Correlation Coefficient	-.123	-.057	.595**	1.000
	Sig. (2-tailed)	.517	.763	.001	.
	N	30	30	30	30

\*\* . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Uji korelasi kadar IL-6 urin dan rasio IL-6 urin/kreatinin urin dengan persentase eritrosit dismorfik pada kelompok hematuri non glomerular

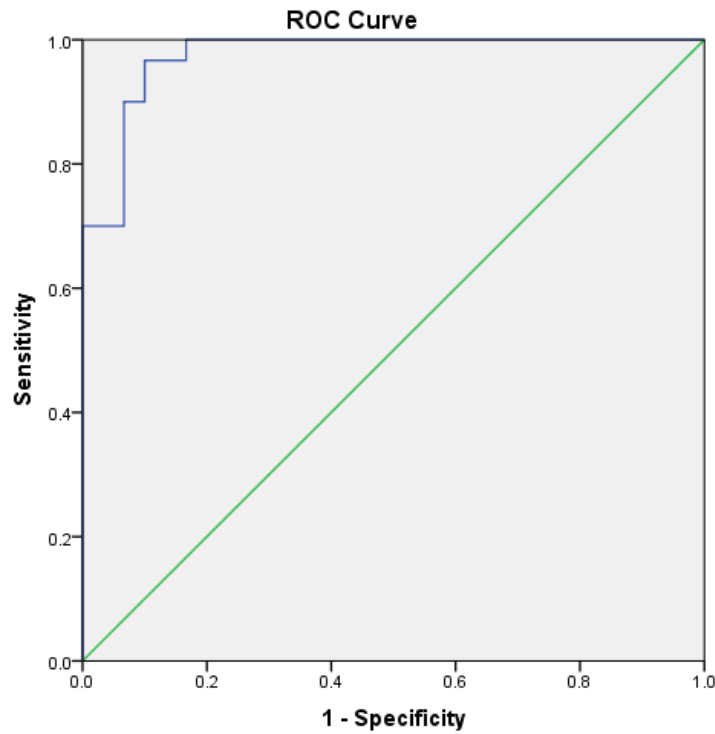
Correlations

		non_eri_dis_fcm	non_eri_dis_fk	non_IL_6	non_rasio
non_eri_dis_fcm	Correlation Coefficient	1.000	.277	-.086	-.100
	Sig. (2-tailed)	.	.138	.650	.598
	N	30	30	30	30
non_eri_dis_fk	Correlation Coefficient	.277	1.000	.030	.084
	Sig. (2-tailed)	.138	.	.874	.658
	N	30	30	30	30
Spearman's rho	Correlation Coefficient	-.086	.030	1.000	.533**
	Sig. (2-tailed)	.650	.874	.	.002
	N	30	30	30	30
non_IL-6	Correlation Coefficient	-.100	.084	.533**	1.000
	Sig. (2-tailed)	.598	.658	.002	.
	N	30	30	30	30

\*\* . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Lampiran 7  
Uji Diagnostik

Uji diagnostik persentase eritrosit dismorfik pada flow cytometry urine analyzer



Area Under the Curve

Test Result Variable(s): all\_eri\_dis\_fcm

Area	Std. Error <sup>a</sup>	Asymptotic Sig. <sup>b</sup>	Asymptotic 95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
.974	.016	.000	.942	1.000

a. Under the nonparametric assumption

b. Null hypothesis: true area = 0.5

**Coordinates of the Curve**

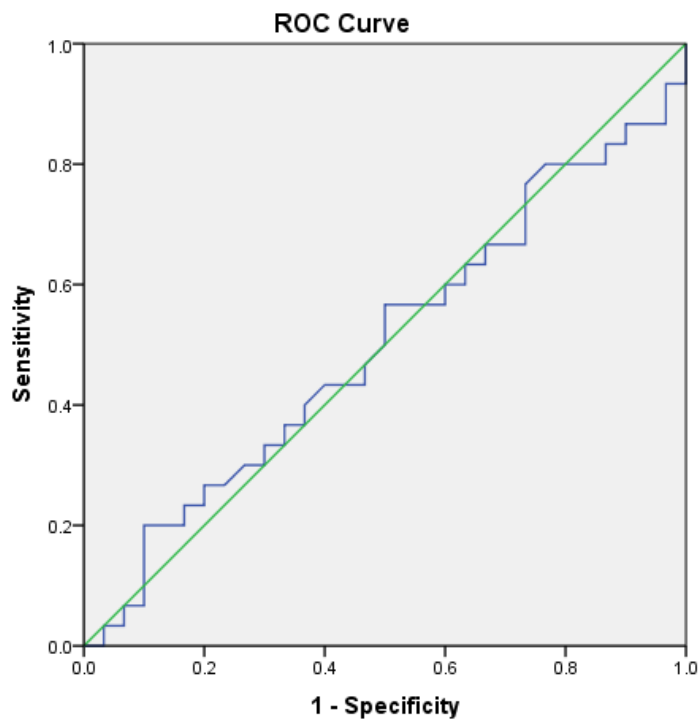
Test Result Variable(s): all\_eri\_dis\_fcm

Positive if Greater Than or Equal To <sup>a</sup>	Sensitivity	1 - Specificity
-.9967	1.000	1.000
.0051	1.000	.967
.0083	1.000	.933
.0101	1.000	.900
.0141	1.000	.867
.0231	1.000	.833
.0291	1.000	.800
.0297	1.000	.767
.0315	1.000	.733
.0340	1.000	.700
.0379	1.000	.667
.0451	1.000	.633
.0508	1.000	.600
.0555	1.000	.567
.0650	1.000	.533
.0718	1.000	.500
.1231	1.000	.467
.1754	1.000	.433
.1917	1.000	.400
.2075	1.000	.367
.2164	1.000	.333
.2262	1.000	.300
.2325	1.000	.267
.2433	1.000	.233
.2564	1.000	.200
.3316	1.000	.167
.4150	.967	.167
.4674	.967	.133
.5124	.967	.100
.5226	.900	.100
.5426	.900	.067
.5950	.867	.067
.6400	.800	.067
.6650	.767	.067
.6900	.733	.067
.7055	.700	.067
.7259	.700	.033

.7454	.700	.000
.7550	.667	.000
.7650	.633	.000
.7850	.600	.000
.8400	.533	.000
.8900	.467	.000
.9500	.433	.000
2.0000	.000	.000

a. The smallest cutoff value is the minimum observed test value minus 1, and the largest cutoff value is the maximum observed test value plus 1. All the other cutoff values are the averages of two consecutive ordered observed test values.

### Uji diagnostik rasio IL-6 urin/kreatinin urin



Diagonal segments are produced by ties.

### Area Under the Curve

Test Result Variable(s): ngmg\_rasio

Area	Std. Error <sup>a</sup>	Asymptotic Sig. <sup>b</sup>	Asymptotic 95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
.500	.075	1.000	.352	.648

The test result variable(s): ngmg\_rasio has at least one tie between the positive actual state group and the negative actual state group. Statistics may be biased.

- a. Under the nonparametric assumption
- b. Null hypothesis: true area = 0.5

### Coordinates of the Curve

Test Result Variable(s): ngmg\_rasio

Positive if Greater Than or Equal To <sup>a</sup>	Sensitivity	1 - Specificity
-.9740	1.000	1.000
.0290	.967	1.000
.0330	.933	1.000
.0380	.933	.967
.0485	.900	.967
.0605	.867	.967
.0755	.867	.933
.0885	.867	.900
.0960	.833	.900
.1025	.833	.867
.1070	.800	.867
.1170	.800	.833
.1280	.800	.800
.1350	.800	.767
.1405	.767	.733
.1465	.733	.733
.1535	.700	.733
.1570	.667	.733
.1585	.667	.700
.1620	.667	.667
.1690	.633	.667
.1770	.633	.633





.1835	.600	.633
.1880	.600	.600
.1910	.567	.600
.1955	.567	.567
.2065	.567	.533
.2145	.567	.500
.2165	.533	.500
.2240	.500	.500
.2375	.467	.467
.2455	.433	.467
.2510	.433	.433
.2595	.433	.400
.2665	.400	.367
.2750	.367	.367
.2875	.367	.333
.2965	.333	.333
.3200	.333	.300
.3450	.300	.300
.3515	.300	.267
.3590	.267	.233
.3820	.267	.200
.4090	.233	.200
.4485	.233	.167
.4925	.200	.167
.5105	.200	.133
.5555	.200	.100
.6620	.167	.100
.7550	.133	.100
.8845	.100	.100
.9885	.067	.100
1.1435	.067	.067
1.3250	.033	.067
1.5760	.033	.033
2.1440	0.000	.033
3.4880	0.000	0.000

The test result variable(s): ngmg\_rasio has at least one tie between the positive actual state group and the negative actual state group.

a. The smallest cutoff value is the minimum observed test value minus 1, and the largest cutoff value is the maximum observed test value plus 1. All the other cutoff values are the averages of two consecutive ordered observed test values.

## Lampiran 8

## Lembar Penjelasan kepada Subyek Penelitian

1. Saya, dr. Shylvia Lie dari bagian Laboratorium Patologi Klinik RSUD dr. Saiful Anwar Malang dengan ini meminta Anda untuk berpartisipasi dengan sukarela dalam penelitian yang berjudul Hubungan Rasio IL-6 Urin/Kreatinin Urin dan Eritrosit Dismorfik pada *Flow Cytometry Urine Analyzer* dengan Kelainan Glomerular pada Pasien Hematuri. Penelitian ini diperlukan untuk mengetahui bagaimana hubungan rasio IL-6 urin/kreatinin urin dan eritrosit dismorfik pada *Flow Cytometry Urine Analyzer* dengan kelainan glomerular.
2. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui bagaimana hubungan rasio IL-6 urin/kreatinin urin dan eritrosit dismorfik pada *Flow Cytometry Urine Analyzer* dengan kelainan glomerular pada pasien hematuri; dapat memberi manfaat jika rasio IL-6 urin/kreatinin urin dan eritrosit dismorfik pada *Flow Cytometry Urine Analyzer* dengan kelainan glomerular pada pasien hematuri memiliki hubungan yang positif, maka dapat digunakan untuk diagnosis dan penatalaksanaan kelainan glomerular. Penelitian ini akan berlangsung selama 6 bulan dan sampel berupa urin sewaktu.
3. Prosedur pengambilan sampel urin sangat jarang menimbulkan efek samping, misal infeksi. Apabila terjadi kondisi yang tidak diinginkan dikarenakan tindakan penelitian, maka semua biaya perawatan akan ditanggung peneliti, dan dapat menghubungi (*contact person*) sebagai berikut : Shylvia Lie (no telepon 0817435088).
4. Keuntungan yang Anda peroleh dalam keikutsertaan Anda adalah akan mendapat tambahan hasil pemeriksaan berupa rasio IL-6 urin/kreatinin urin, yang merupakan suatu penanda adanya kelainan glomerular.
5. Seandainya Anda tidak menyetujui, Anda boleh tidak mengikuti penelitian ini sama sekali. Untuk itu Anda tidak akan dikenakan sanksi apapun dan tidak akan mempengaruhi pelayanan rumah sakit terhadap Anda.
6. Nama dan jati diri Anda akan tetap dirahasiakan.

Lampiran 9

Pernyataan Persetujuan Berpartisipasi dalam Penelitian

Saya yang bertanda tangan dibawah ini menyatakan bahwa:

- 1. Saya telah mengerti tentang apa yang tercantum dalam lembar penjelasan diatas dan telah dijelaskan oleh peneliti.
- 2. Dengan ini saya menyatakan bahwa secara sukarela bersedia / tidak bersedia \*) untuk ikut serta menjadi salah satu subyek penelitian yang berjudul Hubungan Rasio IL-6 Urin/Kreatinin Urin dan Eritrosit Dismorfik pada *Flow Cytometry Urine Analyzer* dengan Kelainan Glomerular pada Pasien Hematuri di RSUD dr. Saiful Anwar Malang.



Peneliti

Saksi 1

Malang, .....

Yang membuat pernyataan

( dr. Shylvia Lie) (.....) (.....)

NIM 138070500011004


Saksi 2

Saksi 3



Lampiran 10

Etik Penelitian



**RUMAH SAKIT UMUM DAERAH  
Dr SAIFUL ANWAR**

**Jl. Jaksa Agung Suprpto No.2 Malang**  
**KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN**  
**TERAKREDITASI KARS VERSI 2012 TINGKAT PARIPURNA**

☆☆☆☆☆☆

24 Februari 2015 s.d. 23 Februari 2018

Jl. Jaksa Agung Suprpto No.2 MALANG 65111  
 Telp. ( 0341 ) 362101, Fax. ( 0341 ) 369384  
 E-mail : staf-rsu-drsaifulanwar@jatimprov.go.id  
 Website : www.rsusaifulanwar.jatimprov.go.id

---

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK  
PELAKSANAAN PENELITIAN**

**("ETHICAL CLEARANCE")**

**No: 400/134/K.3/302 /2017**

**KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN RSUD Dr SAIFUL ANWAR MALANG, SETELAH MEMPELAJARI DENGAN SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG DIUSULKAN, DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA PENELITIAN DENGAN**

**JUDUL : Hubungan Rasio II-6 Urin/Kreatinin Urin dan Eritrosit Dismorfik pada Flow Cytometry Urine Analyzer dengan Kelainan Glomerular pada Pasien Hematuri**

**PENELITI UTAMA : dr. Shylvia Lie**

**UNIT / LEMBAGA / TEMPAT PENELITIAN**

**RSUD Dr Saiful Anwar Malang**

**DINYATAKAN LAIK ETIK**

**MALANG, 21 Agustus 2017**

a.n KETUA TIM KOMISI ETIK PENELITIAN  
WAKIL KETUA TIM KOMISI ETIK PENELITIAN



**dr. A. Susanto Nugroho, SpA (K)**



Lampiran 1

Data kontrol sehat

No	JK	Usia (tahun)	IL-6 urin (ng/L)	Kreatinin urin (mg/dL)	Rasio IL-6/kreatinin (ng/mg)	Protein	RBC (/LPB)
1	L	29	108,80	28,9	0,38	-	0,1
2	L	26	77,09	117,9	0,07	-	0,3
3	L	30	97,91	56,1	0,17	-	0,6
4	L	27	101,30	119,6	0,08	-	0,7
5	L	28	115,90	29,8	0,39	-	0,3
6	P	26	85,70	41,7	0,21	-	0,2
7	P	30	81,44	68,5	0,12	-	0,5
8	L	26	84,46	84,3	0,10	-	0,6
9	L	25	125,20	20,1	0,62	-	0,2
10	P	33	117,00	24,4	0,48	-	0,6
11	L	30	84,24	47,5	0,18	-	0,1
12	L	34	70,05	30,3	0,23	-	0,1
13	P	27	73,67	129,4	0,06	-	0,2
14	L	25	90,55	127,2	0,07	-	0,2
15	P	25	117,50	19,3	0,60	-	0,3
16	P	27	86,82	38,2	0,23	-	0,3
17	L	30	68,44	172,1	0,04	-	0,3
18	L	28	125,60	39,1	0,32	-	0,4
19	P	27	81,88	169,9	0,05	-	1
20	P	34	103,70	43,1	0,24	-	1,2



No	JK	Usia (tahun)	IL-6 urin (ng/L)	Kreatinin urin (mg/dL)	Rasio IL-6/kreatinin (ng/mg)	Protein	RBC (/LPB)
21	P	28	101,40	18,3	0,55	-	1,9
22	L	31	124,80	39,8	0,31	-	0
23	L	31	88,69	73,5	0,12	-	0,6
24	P	27	98,05	87,3	0,11	-	0,1
25	P	33	70,95	156,3	0,05	-	0,6
26	P	28	80,75	96,9	0,08	-	0,6
27	P	25	118,70	76,2	0,16	-	0,3
28	L	27	119,50	118,8	0,10	-	0,3
29	L	28	58,27	139,1	0,04	-	0,1
30	L	28	55,74	255,9	0,02	-	0,1

Keterangan : JK : jenis kelamin, L : laki-laki, P : perempuan



Lampiran 2

Data pasien hematuri glomerular

No	JK	Usia (th)	IL-6 urin (ng/L)	Kreatinin urin (mg/dL)	Rasio IL-6/ kreatinin (ng/mg)	Protein	Silinder	Flow cytometry urine analyzer				Fase Kontras	
								RBC (/LPB)	LRBC (%)	SRBC (%)	Tanda	Isomorfik (%)	Dismorfik (%)
1	P	30	77,67	141,3	0,05	2+	Negatif	25,0	26,6	73,4	RBC/YLC	25,0	75,0
2	P	18	122,30	30,5	0,40	2+	Negatif	18,0	46,4	53,6	RBC/YLC	44,0	56,0
3	L	26	87,16	334,4	0,03	Negatif	Hialin 0-1	20,0	23,0	77,0	-	10,0	90,0
4	P	4	100,60	16,9	0,60	Negatif	Negatif	25,0	5,3	94,7	RBC/YLC	0,0	100,0
5	L	5	129,40	13,1	0,99	Negatif	Negatif	107,0	43,6	56,4	RBC/YLC	12,0	88,0
6	L	53	72,47	68,8	0,11	3+	Negatif	20,0	14,5	85,5	-	20,0	80,0
7	L	5	98,84	28,9	0,34	Trace	Negatif	120,0	34,2	65,8	RBC/YLC	30,0	70,0
8	L	26	56,52	174,8	0,03	2+	Leukosit 0-1	8,0	25,0	75,0	universal	0,0	100,0
9	P	11	91,81	31,1	0,30	Negatif	Negatif	26,4	27,0	73,0	universal	0,0	100,0
10	P	4	99,92	12,8	0,78	Trace	Negatif	25,0	26,6	73,4	RBC/YLC	0,0	100,0



No	JK	Usia (th)	IL-6 urin (ng/L)	Kreatinin urin (mg/dL)	Rasio IL-6/kreatinin (ng/mg)	Protein	Silinder	Flow cytometry urine analyzer				Fase Kontras	
								RBC (/LPB)	LRBC (%)	SRBC (%)	Tanda	Isomorfik (%)	Dismorfik (%)
11	P	4	96,86	27,3	0,35	Trace	Negatif	100,0	22,7	77,3	RBC/YLC	0,0	100,0
12	P	8	73,31	48,5	0,15	3+	Granuler 4-6	12,9	2,7	97,3	Dysmorphic?	0,0	100,0
13	L	30	100,70	53,0	0,19	2+	Eritrosit 0-1	133,0	41,1	58,9	Mixed?	12,0	88,0
14	P	2	133,70	10,3	1,30	Trace	Negatif	15,0	9,1	90,9	RBC/YLC	0,0	100,0
15	P	4	107,00	46,6	0,23	Trace	Negatif	24,0	29,0	71,0	Mixed?	0,0	100,0
16	L	35	114,30	42,4	0,27	1+	Negatif	19,4	13,4	86,6	RBC/YLC	24,0	76,0
17	L	5	105,00	14,4	0,73	Trace	Negatif	113,9	60,7	39,3	RBC/YLC	30,0	70,0
18	L	69	87,96	96,0	0,09	1+	Negatif	41,0	11,1	88,9	universal	37,0	63,0
19	L	50	100,30	46,1	0,22	1+	Negatif	7,0	25,7	74,3	mixed?	20,0	80,0
20	P	53	98,29	70,7	0,14	2+	Negatif	29,1	5,6	94,4	RBC/BACT	0,0	100,0
21	L	60	89,19	18,6	0,48	1+	Negatif	10,8	68,4	31,6	universal	48,0	52,0





No	JK	Usia (th)	IL-6 urin (ng/L)	Kreatinin urin (mg/dL)	Rasio IL-6/ kreatinin (ng/mg)	Protein	Silinder	Flow cytometry urine analyzer				Fase Kontras	
								RBC (/LPB)	LRBC (%)	SRBC (%)	Tanda	Isomorfik (%)	Dismorfik (%)
22	L	52	113,90	69,1	0,16	3+	Negatif	8	24,4	75,6	universal	23,0	77,0
23	P	50	75,42	35,1	0,21	2+	Granuler 20-22	50	53,4	46,6	RBC/BACT	48,0	52,0
24	P	63	100,80	5,6	1,80	2+	Negatif	123,7	31,4	68,6	RBC/YLC	37,0	63,0
25	L	22	80,95	51,8	0,16	3+	Negatif	45,9	39,5	60,5	Mixed?	35,0	65,0
26	L	60	64,94	155,7	0,04	2+	Negatif	14	100,0	0,0	RBC/XTAL	0,0	100,0
27	L	13	66,83	37,0	0,18	3+	Negatif	39	15,9	84,1	RBC/YLC	0,0	100,0
28	L	14	77,39	29,4	0,26	3+	Granuler 1-2	34,3	11,5	88,5	RBC/YLC	0,0	100,0
29	L	64	116,50	82,0	0,14	Trace	Negatif	24,9	57,9	42,1	Mixed?	32,0	68,0
30	L	3	166,10	67,9	0,24	Trace	Negatif	14	28,7	71,3	mixed?	0,0	100,0

Keterangan : JK : jenis kelamin, th : tahun, L : laki-laki, P : perempuan

Lampiran 3

Data pasien hematuri non glomerular

No	JK	Usia (th)	IL-6 urin (ng/L)	Kreatinin urin (mg/dL)	Rasio IL-6/kreatinin (ng/mg)	Protein	Silinder	Flow cytometry urine analyzer				Fase Kontras	
								RBC (/LPB)	LRBC (%)	SRBC (%)	Tanda	Isomorfik (%)	Dismorfik (%)
1	P	42	121,60	122,0	0,10	2+	Negatif	2556,4	95,9	4,1	Isomorfik	100,0	0,0
2	L	49	139,40	106,8	0,13	2+	Negatif	141,1	97,0	3,0	Isomorfik	100,0	0,0
3	P	68	119,00	95,4	0,12	Negatif	Negatif	15,7	47,5	52,5	Mixed?	100,0	0,0
4	P	33	119,40	55,7	0,21	Negatif	Negatif	14,9	82,3	17,7	Isomorfik	100,0	0,0
5	L	64	100,50	151,7	0,07	Negatif	Negatif	8	57,0	43,0	Mixed?	100,0	0,0
6	L	27	172,40	41,3	0,42	3+	Negatif	20,4	77,2	22,8	Isomorfik	100,0	0,0
7	P	57	77,90	71,3	0,11	Trace	Negatif	44,4	75,0	25,0	RBC/YLC	64,0	46,0
8	P	64	124,40	24,1	0,52	2+	Negatif	1479,8	99,0	1,0	Isomorfik	100,0	0,0
9	L	44	66,94	34,9	0,19	Negatif	Negatif	10,2	98,2	1,8	Isomorfik	100,0	0,0
10	L	62	116,00	32,0	0,36	Trace	Negatif	78,1	96,7	3,3	Isomorfik	100,0	0,0





No	JK	Usia (th)	IL-6 urin (ng/L)	Kreatinin urin (mg/dL)	Rasio IL-6/kreatinin (ng/mg)	Protein	Silinder	Flow cytometry urine analyzer				Fase Kontras	
								RBC (/LPB)	LRBC (%)	SRBC (%)	Tanda	Isomorfik (%)	Dismorfik (%)
11	L	59	81,62	23,0	0,35	Trace	Negatif	15,2	94,8	5,2	Mixed?	100,0	0,0
12	L	50	64,61	41,0	0,16	2+	Negatif	9,7	28,9	71,1	RBC/BACT	100,0	0,0
13	P	67	123,00	66,2	0,19	2+	Negatif	719,3	95,1	4,9	isomorphic	100,0	0,0
14	P	50	120,70	12,2	0,99	1+	Negatif	42,2	77,6	22,4	isomorphic	100,0	0,0
15	P	44	121,90	4,9	2,49	Negatif	Negatif	85,4	79,2	20,8	Mixed?	100,0	0,0
16	L	39	308,30	61,1	0,50	Trace	Negatif	61	94,1	5,9	isomorphic	100,0	0,0
17	P	13	103,20	44,8	0,23	2+	Negatif	523,8	82,6	17,4	RBC/YLC	100,0	0,0
18	L	50	93,81	38,1	0,25	Negatif	Negatif	12	49,5	50,5	universal	100,0	0,0
19	L	20	139,30	10,3	1,35	Negatif	Negatif	15	25,9	74,1	RBC/YLC	100,0	0,0
20	L	13	95,69	112,5	0,09	Negatif	Negatif	12	99,7	0,3	isomorphic	100,0	0,0
21	P	3	102,10	29,3	0,35	Negatif	Negatif	41,1	99,3	0,7	isomorphic	100,0	0,0

No	JK	Usia (th)	IL-6 urin (ng/L)	Kreatinin urin (mg/dL)	Rasio IL-6/kreatinin (ng/mg)	Protein	Silinder	Flow cytometry urine analyzer				Fase Kontras	
								RBC (/LPB)	LRBC (%)	SRBC (%)	Tanda	Isomorfik (%)	Dismorfik (%)
22	L	23	88,71	63,7	0,14	1+	Negatif	190,6	99,0	1,0	isomorphic	100,0	0,0
23	L	22	60,23	176,3	0,03	Negatif	Negatif	240	96,5	3,5	isomorphic	100,0	0,0
24	L	37	120,20	46,9	0,26	Negatif	Negatif	36,3	92,8	7,2	isomorphic	100,0	0,0
25	L	40	120,20	60,3	0,20	Trace	Negatif	13	76,3	23,7	Isomorphic	100,0	0,0
26	L	53	138,10	46,3	0,30	1+	Negatif	9,6	92,9	7,1	Isomorphic	100,0	0,0
27	P	4	86,43	54,3	0,16	Negatif	Negatif	10,1	79,3	20,7	RBC/XTAL	100,0	0,0
28	L	59	122,50	43,8	0,28	1+	Negatif	11,7	73,7	26,3	isomorphic	93,0	7,0
29	P	13	114,70	66,2	0,17	2+	Negatif	58,6	97,0	3,0	isomorphic	100,0	0,0
30	L	31	130,90	49,8	0,26	Negatif	Negatif	58,1	97,2	2,8	isomorphic	100,0	0,0

Keterangan : JK : jenis kelamin, th : tahun, L : laki-laki, P : perempuan

## KELENGKAPAN BERKAS PERMOHONAN ETHICAL CLEARANCE

1. **Protokol Penelitian**
2. **Surat Permohonan Ethical Clearance dari Institusi (Ditandatangani Oleh Dekan / Direktur Institusi)**
3. **Surat Permohonan Ethical Clearance (Ditandatangani Oleh Peneliti Utama mengetahui pembimbing penelitian, atau Ka. Lab / Ka. SMF)**
4. **Curriculum Vitae Peneliti Utama**
5. **Membuat formulir ethical clearance sesuai form oleh peneliti dan ditandatangani oleh pembimbing penelitian atau Ka Instansi**
6. **Melengkapi form PSP (penjelasan yang disampaikan kepada partisipan sebelum menandatangani informed consent).**
7. **Form informed consent. contoh di file PSP & Informed consent.doc**
8. **Semua berkas dibuat rangkap 3 (Asli)**
9. **Berkas dimasukkan dalam map hard case**





**RUMAH SAKIT UMUM DAERAH  
dr. SAIFUL ANWAR  
Jl. Jaksa Agung Suprpto No.2 Malang  
KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN**

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK  
("ETHICAL CLEARANCE")**

No: /KEPK/ /2017

KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN RSU Dr SAIFUL ANWAR MALANG,  
SETELAH MEMPELAJARI DENGAN SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN  
YANG DIUSULKAN, DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA PENELITIAN  
DENGAN

JUDUL: HUBUNGAN RASIO IL-6 URIN/KREATININ URIN DAN ERITROSIT  
DISMORFIK PADA *FLOW CYTOMETRY URINE ANALYZER* DENGAN KELAINAN  
GLOMERULAR PADA PASIEN HEMATURI

PENELITI UTAMA: dr. SHYLVIA LIE

UNIT / LEMBAGA / TEMPAT PENELITIAN: LABORATORIUM SENTRAL RSUD  
dr. SAIFUL ANWAR MALANG

**DINYATAKAN LAIK ETIK**

MALANG,

KETUA

dr. MOHAMMAD SAIFUR ROHMAN, Sp.JP, Ph.D





RUMAH SAKIT UMUM DAERAH dr. SAIFUL ANWAR  
Jl. Jaksa Agung Suprpto No.2 Malang  
KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN

FORMULIR ETIK PENELITIAN KESEHATAN

<p><b>1. Peneliti Utama (Title Unit Pelayanan):</b> dr. Shylvia Lie (Laboratorium Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya/RSUD dr. Saiful Anwar Malang)</p> <p><b>Multisenter:</b> Ya <input type="checkbox"/> Tidak <input checked="" type="checkbox"/></p>
<p><b>2. Judul Penelitian:</b> Hubungan Rasio IL-6 Urin/Kreatinin Urin dan Eritrosit Dismorfik pada <i>Flow Cytometry Urine Analyzer</i> dengan Kelainan Glomerular pada Pasien Hematuri</p>
<p><b>3. Subyek:</b> Pasien <input checked="" type="checkbox"/> Non-pasien <input checked="" type="checkbox"/> Hewan <input type="checkbox"/></p> <p><b>Jumlah Subyek:</b> 90 orang</p> <p><b>Keterangan:</b> Subyek penderita adalah subjek yang mendapat manfaat langsung (baik dari segi terapeutik maupun diagnostik) dari penelitian yang dilakukan atas dirinya.</p>
<p><b>4. Perkiraan waktu Penelitian yang dapat diselesaikan untuk tiap subjek.</b> Agustus 2017 sampai Januari 2018</p>
<p><b>5. Ringkasan usulan penelitian yang mencakup objektif / tujuan penelitian / manfaat / relevansi dari hasil penelitian dan alasan/motivasi untuk melakukan penelitian (ditulis dalam bahasa yang mudah dipahami oleh orang yang bukan dokter).</b></p> <p>Tujuan: mengetahui adanya hubungan rasio IL-6 urin/kreatinin urin dan eritrosit dismorfik pada <i>flow cytometry urine analyzer</i> dengan kelainan glomerular pada pasien hematuri.</p> <p>Manfaat: Dapat menambah wawasan ilmu pengetahuan bahwa terdapat hubungan rasio IL-6 urin/kreatinin urin dan eritrosit dismorfik pada <i>flow cytometry urine analyzer</i> dengan kelainan glomerular pada pasien hematuri, dan dapat dijadikan dasar teori patofisiologi kelainan glomerular.</p>
<p><b>6. Masalah etik (Nyatakan pendapat anda tentang masalah etik yang mungkin dihadapi):</b> Sesuai dengan prinsip Bellmount, yaitu :</p> <p>a. Prinsip menghormati harkat dan martabat manusia (<i>Respect for person</i>)</p> <ul style="list-style-type: none"><li>- Sebelum pelaksanaan kegiatan semua subyek, pasien dan/atau orangtua pasien, diberikan penjelasan dan diminta kesediaannya setelah mendapatkan penjelasan tersebut (<i>informed consent</i>)</li><li>- Semua subyek yang terpilih akan diberikan nomor atau kode yang hanya diketahui oleh tim dan akan dibuka apabila diperlukan</li></ul> <p>b. Prinsip berbuat baik (<i>Beneficience</i>)</p> <ul style="list-style-type: none"><li>- Subyek yang bersedia mengikuti penelitian akan mendapatkan diagnosis yang lebih dini sehingga penanganan dapat lebih cepat</li></ul> <p>c. Prinsip tidak merugikan (<i>Nonmaleficence</i>)</p> <ul style="list-style-type: none"><li>- Pengambilan sampel urin akan diarahkan oleh petugas yang kompeten sesuai standar prosedur operasional yang ada di laboratorium.</li><li>- Subyek penelitian tidak akan mengalami kerugian sedikitpun karena subyek akan mendapatkan pemeriksaan <i>general check up</i></li></ul> <p>d. <i>Justice</i></p> <ul style="list-style-type: none"><li>- Semua subyek kegiatan mempunyai hak yang sama, yaitu boleh mengikuti kegiatan ini atau tidak (tidak ada paksaan)</li></ul>



**7. Bila penelitian ini menggunakan subjek manusia, apakah percobaan pada hewan sudah dilakukan? Bila belum, sebutkan alasan untuk memulai penelitian ini langsung pada manusia.**

Belum. Penelitian ini dilakukan untuk menilai apakah terdapat hubungan rasio IL-6 urin/kreatinin urin dan eritrosit dismorfik pada *flow cytometry urine analyzer* dengan kelainan glomerular pada pasien hematuri. Penelitian ini langsung dikerjakan pada manusia karena tindakan invasif pada pasien minimal. Sampel diambil setelah mendapatkan persetujuan penderita.

**8. Prosedur Eksperimen (Frekuensi, interval, dan jumlah total segala tindakan invasive yang akan dilakukan, dosis dan cara pemberian obat, isotop, radiasi, dan tindakan lain)**

Sampel pada penelitian ini yaitu pasien hematuri makroskopis atau mikroskopis.

Data pasien diambil pada periode September 2017 sampai Januari 2018. Pada seluruh sampel akan dilakukan pengambilan sampel urin sewaktu. Dalam hal ini tidak dilakukan intervensi terhadap obat-obatan serta radiasi.

1. Menyiapkan peralatan yang akan digunakan, yaitu wadah penampung urin yang transparan dengan mulut lebar, bersih, bertutup rapat, berlabel, dan tisu untuk membersihkan.
2. Melakukan cuci tangan sebelum pengambilan sampel urin.
3. Subyek diminta membersihkan kemaluan dan daerah sekitar lubang kencing dengan air hingga bersih sebelum penampungan urin, lalu mengeringkan dengan tisu dari arah depan ke belakang untuk perempuan dan dari dalam ke luar untuk laki-laki.
4. Urin di awal berkemih tidak ditampung dahulu, setelah sekitar 2 detik berkemih subyek diminta menampung urin hingga wadah terisi lebih dari tiga perempat wadah tanpa menghentikan berkemih.
5. Wadah penampungan urin ditutup rapat dan diletakkan di tempat pengumpulan sampel penelitian.
6. Segera memeriksakan sampel di Laboratorium Sentral RSUD dr. Saiful Anwar Malang

**9. Bahaya potensial yang langsung atau tidak langsung, segera atau kemudian dan cara untuk mencegah atau mengatasi kejadian (termasuk rasa nyeri dan keluhan lain):**

Pengambilan sampel urin dilakukan pada waktu penderita memang harus diambil urinnya.

**10. Pengalaman terdahulu (sendiri atau orang lain) dari tindakan yang hendak diterapkan:**

**Pengalaman dokter peneliti dalam pengambilan sampel biologis dalam penelitian ini.**

Pengalaman terdahulu: tidak ada masalah.

**11. Bila peneliti ini menggunakan orang sakit dan dapat memberi manfaat untuk subjek yang bersangkutan, uraikan manfaat itu:**

Keuntungan yang diperoleh dengan mengikutsertakan diri Anda adalah Anda akan mendapatkan tambahan hasil pemeriksaan berupa rasio IL-6/kreatinin urin yang dapat mendukung penegakan diagnosis kelainan glomerular.

**12. Bagaimana cara memilih pasien / sukarelawan sehat?**

Pemilihan subyek yang memenuhi kriteria inklusi menderita hematuri mikroskopis atau makroskopis, tidak menderita infeksi saluran kemih, volume urin minimal 10 mL. Sukarelawan sehat adalah individu yang tidak menderita hematuri dan hasil pemeriksaan urinalisis tidak ada kelainan. Subyek diberi penjelasan mengenai penelitian ini dan diberi kesempatan bertanya, serta hak untuk mengikuti atau tidak mengikuti penelitian.



**13. Bila peneliti ini menggunakan subjek manusia, jelaskan hubungan antara peneliti utama dengan subjek yang diteliti.**

Dokter-pasien  Guru-murid  Majikan-anak buah  Lainnya

**14. Bila peneliti ini menggunakan orang sakit, jelaskan diagnosis dan nama dokter yang bertanggung jawab merawatnya. Bila menggunakan orang sehat, jelaskan cara pemeriksaan kesehatannya.**

Menggunakan orang sakit, dalam hal ini yang menderita hematuria baik makroskopis maupun mikroskopis.

**15. Jelaskan cara pencatatan selama penelitian, termasuk efek samping dan komplikasi bila ada.**

Dilakukan pengambilan sampel urin waktu penderita memang harus diambil urinnya, dengan efek samping minimal. Data dicatat dengan baik di buku penelitian dan hasil pemeriksaan urin juga dicatat pada masing-masing sampel pasien.

**16. Bila penelitian ini menggunakan subjek manusia, jelaskan bagaimana cara memberitahu dan mengajak subjek (lampiran contoh surat persetujuan subjek). Bila pemberitahuan dan kesediaan subjek bersifat lisan, atau bila karena sesuatu hal subjek tidak dapat atau tidak perlu dimintakan persetujuan, berilah alasan yang kuat untuk itu.**

Dijelaskan bahwa salah satu cara pengambilan spesimen urin waktu penderita memang harus diambil urinnya dengan efek samping minimal.

**17. Bila penelitian ini menggunakan subjek manusia, apakah subjek dapat ganti rugi bila ada gejala efek samping? Berapa banyak?**

Efek samping minimal dan sangat jarang terjadi infeksi.

**18. Bila penelitian ini menggunakan subjek manusia, apakah subjek diasuransikan.**

Ya  Tidak

**Mengetahui  
Pembimbing Penelitian**

**Malang,  
Peneliti Utama**

Dr. dr. Hani Susianti, Sp.PK (K)

dr. Shylvia Lie

**Telah Diperiksa dan Disetujui pada Tanggal: .....**

**Ketua  
Komisi Etik Penelitian Kesehatan**

**dr. Mohammad Saifur Rohman, Sp.JP, Ph.D**

## PENJELASAN UNTUK MENGIKUTI PENELITIAN

1. Saya, dr. Shylvia Lie dari bagian Laboratorium Patologi Klinik RSUD dr. Saiful Anwar Malang dengan ini meminta Anda untuk berpartisipasi dengan sukarela dalam penelitian yang berjudul Hubungan Rasio IL-6 Urin/Kreatinin Urin dan Eritrosit Dismorfik pada *Flow Cytometry Urine Analyzer* dengan Kelainan Glomerular pada Pasien Hematuri. Penelitian ini diperlukan untuk mengetahui bagaimanakah hubungan rasio IL-6 urin/kreatinin urin dan eritrosit dismorfik pada *Flow Cytometry Urine Analyzer* dengan kelainan glomerular.
2. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui bagaimana hubungan rasio IL-6 urin/kreatinin urin dan eritrosit dismorfik pada *Flow Cytometry Urine Analyzer* dengan kelainan glomerular pada pasien hematuri; dapat memberi manfaat jika rasio IL-6 urin/kreatinin urin dan eritrosit dismorfik pada *Flow Cytometry Urine Analyzer* dengan kelainan glomerular pada pasien hematuri memiliki hubungan yang positif, maka dapat digunakan untuk diagnosis dan penatalaksanaan kelainan glomerular. Penelitian ini akan berlangsung selama 6 bulan dan sampel berupa urin sewaktu.
3. Prosedur pengambilan sampel urin sangat jarang menimbulkan efek samping, misal infeksi. Apabila terjadi kondisi yang tidak diinginkan dikarenakan tindakan penelitian, maka semua biaya perawatan akan ditanggung peneliti, dan dapat menghubungi (*contact person*) sebagai berikut : Shylvia Lie (no telp 0817435088).
4. Keuntungan yang Anda peroleh dalam keikutsertaan Anda adalah akan mendapat tambahan hasil pemeriksaan berupa rasio IL-6 urin/kreatinin urin, yang merupakan suatu penanda adanya kelainan glomerular.
5. Seandainya Anda tidak menyetujui, Anda boleh tidak mengikuti penelitian ini sama sekali. Untuk itu Anda tidak akan dikenakan sanksi apapun dan tidak akan mempengaruhi pelayanan rumah sakit terhadap Anda.
6. Nama dan jati diri Anda akan tetap dirahasiakan.
7. Keputusan ini dibuat subyek setelah menerima penjelasan dari peneliti.

PENELITI

dr. Shylvia Lie

**PERNYATAAN PERSETUJUAN UNTUK  
BERPARTISIPASI DALAM PENELITIAN**

Saya yang bertanda tangan dibawah ini menyatakan bahwa:

1. Saya telah mengerti tentang apa yang tercantum dalam lembar penjelasan diatas dan telah dijelaskan oleh peneliti.
2. Dengan ini saya menyatakan bahwa secara sukarela bersedia / tidak bersedia \*) untuk ikut serta menjadi salah satu subyek penelitian yang berjudul Hubungan Rasio IL-6 Urin/Kreatinin Urin dan Eritrosit Dismorfik pada *Flow Cytometry Urine Analyzer* dengan Kelainan Glomerular pada Pasien Hematuri.

Malang, .....

Peneliti

Saksi 1

Yang membuat pernyataan

(dr. Shylvia Lie)  
NIM 138070500011004

(.....)

(.....)

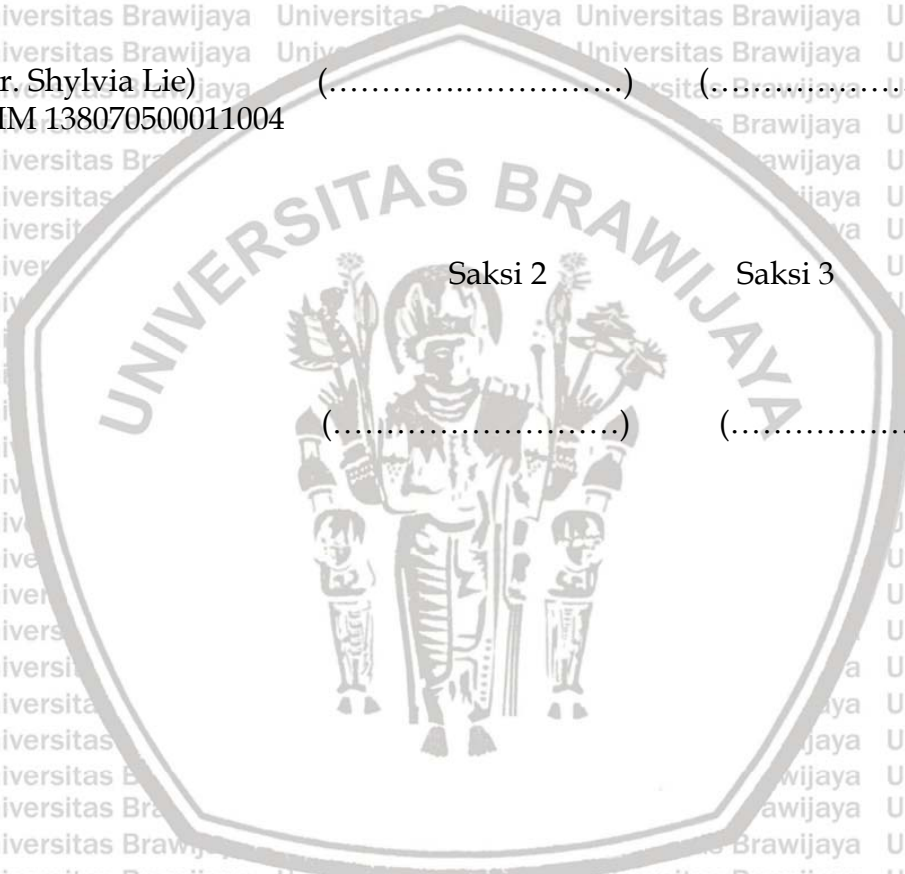
Saksi 2

Saksi 3

(.....)

(.....)

\*) Coret salah satu



## Curriculum Vitae Peneliti Utama

Nama : Shylvia Lie  
NIM : 138070500011004  
Tempat, tanggal lahir : Mojokerto, 14 Mei 1985  
Alamat : Jl. Kayutangan Golf 3 no 5 Araya, Malang.  
No. Telpon : 0817435088

Pendidikan : S1 Pendidikan Dokter

Pekerjaan : Dokter





**RUMAH SAKIT UMUM DAERAH**  
**dr. SAIFUL ANWAR**  
**Jl. Jaksa Agung Suprpto No.2 Malang**

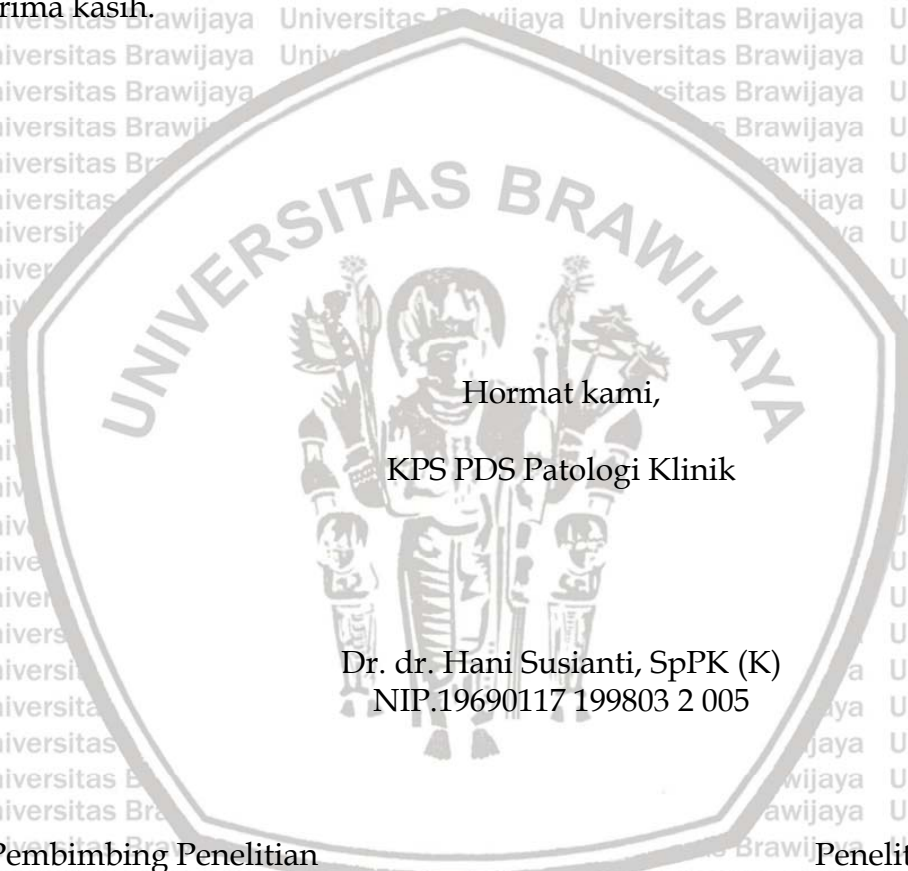
Malang, 25 Juli 2017

Kepada : Yth. Ketua Komisi Etik Penelitian  
RSUD dr. Saiful Anwar

Di

Malang

Dengan Hormat,  
Mohon untuk diterbitkan "Ethical Clearance" untuk penelitian kami dengan judul " Hubungan Rasio IL-6 Urin/Kreatinin Urin dan Eritrosit Dismorfik pada *Flow Cytometry Urine Analyzer* dengan Kelainan Glomerular pada Pasien Hematuri".  
Demikian surat permohonan ini kami buat, atas perhatian Saudara Kami ucapkan terima kasih.



Hormat kami,

KPS PDS Patologi Klinik

Dr. dr. Hani Susianti, SpPK (K)  
NIP.19690117 199803 2 005

Pembimbing Penelitian

Peneliti

Dr. dr. Hani Susianti, Sp.PK (K)  
NIP.19690117 199803 2 005

dr. Shylvia Lie  
NIM. 138070500011004



