

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Desain Penelitian

Desain Penelitian ini merupakan studi analitik korelasi dengan rancangan penelitian secara potong lintang.

3.2. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Departemen Patologi Klinik FK USU / RSUP H. Adam Malik Medan bekerjasama dengan Departemen Ilmu Penyakit Dalam FK USU/RSUP H. Adam Malik Medan. Penelitian dilaksanakan mulai bulan Desember 2015 – Maret 2016.

3.3. Populasi Penelitian

Populasi terjangkau penelitian ini adalah penderita gagal ginjal terminal yang menjalani hemodialisis reguler di Instalasi Hemodialisa, RSUP. H. Adam Malik Medan. Subjek Penelitian adalah penderita gagal ginjal terminal yang rawat jalan yang sedang menjalani hemodialisis reguler di Instalasi Hemodialisa, RSUP. H. Adam Malik Medan serta telah memenuhi kriteria inklusi.

3.4. Sampel Penelitian

3.4.1. Cara pengambilan sampel penelitian

Pengambilan sampel dilakukan secara *consecutive sampling* terhadap semua subjek penelitian yang memenuhi kriteria inklusi.

3.4.2. Besar sampel

Digunakan rumus besar sampel untuk uji korelasi. Besar sampel ditentukan dengan rumus :

$$n = \left\{ \frac{Z\alpha + Z\beta}{0.5 \ln (1+r)/(1-r)} \right\}^2 + 3$$

n = besar sampel

$Z\alpha$ = nilai baku normal dari table Z yang besarnya tergantung pada nilai α yang ditentukan. Untuk $\alpha = 0,05 \rightarrow Z\alpha = 1.96$.

$Z\beta$ = nilai baku normal dari table Z yang besarnya tergantung pada nilai β yang ditentukan. Untuk $\beta = 0,1 \rightarrow Z\beta = 1.282$.

r = korelasi minimal yang dianggap bermakna, di tetapkan $r = 0.6$

Menurut rumus diatas maka diperlukan sampel minimal sebanyak : 25 sampel. Untuk mengantisipasi adanya *drop out* maka ditetapkan kemungkinan angka *drop out* $f = 20\%$.Dengan rumus : $n' = n / 1 - f$, maka diperoleh sampel minimal sebanyak 31 orang.

3.5. Kriteria Penelitian

3.5.1. Kriteria Inklusi

1. Penderita gagal ginjal terminal yang HD rutin 2x/minggu selama > 3 bulan
2. Bersedia mengikuti penelitian

3.5.2. Kriteria Eksklusi

1. Mendapat suplemen besi baik oral maupun intravena 3 bulan terakhir yang tercatat dalam rekam medik
2. Episode perdarahan yaitu kejadian perdarahan (muntah darah, buang air besar berdarah, mimisan, gusi berdarah) yang diketahui oleh pasien atau yang tercatat dalam rekam medis dalam 4 minggu terakhir.
3. Mendapat transfusi darah (*whole blood* atau *packed red cell*) yang tercatat dalam rekam medis dalam 4 minggu terakhir.
4. Infeksi bakteri; adanya peningkatan leukosit >11.000/mm atau tercatat dalam rekam medis dalam 4 minggu terakhir.
5. Keganasan; yang tercatat dalam rekam medik.
6. Malnutrisi ; Albumin < 3 g/ dl , yang tercatat dalam rekam medik

3.6. Identifikasi Variabel

3.6.1 Variabel Bebas

Hepsidin dan *Reticulocyte Hemoglobin* (Ret.He)

3.6.2 Variabel Terikat

Penderita Gagal Ginjal Terminal

3.7 Definisi Operasional

| No | Variabel | Definisi Operasional |
|----|---|---|
| 1 | Anemia Renal | keadaan yang timbul akibat berkurangnya penyediaan besi untuk eritropoesis, karena cadangan besi yang berkurang atau kosong yang pada akhirnya mengakibatkan pembentukan Hb berkurang. Hb < 14 g/dl untuk laki-laki dan Hb < 12 g/dl untuk wanita (PERNEFRI 2011) |
| 2 | Hemodialisa reguler | Penderita Gagal Ginjal Terminal yang menjalani HD sebanyak 2x dalam seminggu dan lamanya > 3 bulan. (Rachmiwatie 2013) |
| 2 | Defisiensi Besi Absolut | Kadar Feritin < 200 ng/mL dan ST < 20% (PERNEFRI 2011) |
| 3 | Penderita GGT | Penderita Penyakit Ginjal Kronik yang Laju Filtrasi Gromerulus < 15 ml/menit/1.73m ² (PERNEFRI 2011) |
| 4 | Ret-He | Konten hemoglobin di dalam retikulosit yang memberikan gambaran berapa banyak besi yang tersedia untuk eritropoesis. Normal 28,2-35,7 pg/sel (Sysmex, 2007) |
| 5 | Feritin | Cadangan besi dalam tubuh akan disimpan dalam bentuk feritin. Konsentrasi feritin dalam serum memiliki korelasi yang kuat dengan total cadangan besi dalam tubuh. Normal : 150-400 ng/ml (Roche 2005a) |
| 6 | <i>Serum Iron (SI)</i> | hasil pemeriksaan kadar Besi Serum dengan satuan µg/dl. Diperiksa dengan metode Guanidine/Ferrozine dengan nilai normal wanita: 37-145µg/dl, pria : 61-157µg/dl (Roche 2005b) |
| 7 | <i>Total Iron Binding Capacity (TIBC)</i> | merupakan pengukuran untuk konsentrasi besi maksimum yang dapat diikat oleh transferin. Merupakan hasil penjumlahan <i>SI</i> dan <i>UIBC</i> dlm satuan µg/dl |
| 8 | Hepsidin | Hormon yang dihasilkan di hati yang berperan dalam metabolisme besi. Kadar normal : 27-158 ng/ml (Macdougall 2010) |

3.8. Cara Kerja

3.8.1. Pengambilan Sampel

- a. Subyek penelitian setelah mendapat Penjelasan tentang tujuan penelitian dilakukan anamnesis tentang riwayat penyakit gagal ginjal yang dialami dan faktor risikonya seperti hipertensi, diabetes melitus, dislipidemia, riwayat minum obat atau jamu dan riwayat merokok. Kemudian setelah memenuhi kriteria penelitian, mengisi surat persetujuan mengikuti penelitian atau *inform consent*.
- b. Kemudian dilakukan pemeriksaan laboratorium seperti darah lengkap, Ret.He, Feritin, *Serum Iron*, *TIBC*, Albumin serum, ureum dan kreatinin.
- c. Pengambilan dan Penyimpanan sampel darah
Sampel darah subjek diambil melalui tindakan flebotomi pada vena mediana cubiti. Tempat punksi vena terlebih dahulu dilakukan tindakan aseptik dengan alkohol 70% dan dibiarkan kering, kemudian dilakukan punksi dengan menggunakan *venoject*. Pengambilan darah dilakukan tanpa stasis yang berlebihan. Sejumlah 5 mL darah vena diambil dan dibagi ke dalam dua tabung : *vacutainer* K2EDTA (2 mL) dan *vacutainer gel clot activator* (3 mL). Bahan darah beku setelah dibiarkan membeku selama 20 menit pada suhu ruangan, dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit, serum dipisahkan dan dimasukkan ke dalam tabung plastik (*aliquot*) 1 ml. pengukuran kadar Hepsidin disimpan

dalam freezer -20°C sampai waktu pemeriksaan yang telah ditentukan (± 1 bulan) atau -80°C (± 6 bulan).

3.8.2. Pengolahan dan Pemeriksaan Sampel

3.8.2.1. Pemeriksaan Darah Lengkap

Sebanyak 2 mL darah dimasukkan kedalam *vacutainer* yang telah mengandung antikoagulan EDTA dan dihomogenkan perlahan sebanyak 10 kali. Analisa dilakukan menggunakan *Automatic Cell Counting Sysmex XT-4000i* untuk pemeriksaan *complete blood count* (CBC) dan Retikulosit serta Ret.He. Pemeriksaan CBC terdiri dari kadar hemoglobin (Hb), jumlah eritrosit (RBC), leukosit (WBC), hematokrit (HCT), nilai rata-rata eritrosit (MCV, MCH, MCHC, RDW), dan trombosit (PLT), . Pemeriksaan ini harus selesai dalam waktu 1 jam setelah pengambilan sampel.

3.8.2.2. Pemeriksaan Retikulosit Hemoglobin (Ret.He)

Pengukuran retikulosit hemoglobin dilakukan pada *chamber* yang terpisah, alat ini dapat membedakan eritrosit dan retikulosit dengan memberikan pewarnaan *polymethine dye fluorochrome* yang dapat mengikat RNA sitoplasma pada retikulosit dan memberikan warna sehingga bisa dibedakan dengan eritrosit karena eritrosit tidak mengandung RNA kemudian retikulosit dapat

dihitung. Kemudian dengan menggunakan forward scatter didapatkan ukuran rata-rata retikulosit (RET-Y). Sistem ini mengukur hemoglobinisasi melalui pembacaan *fluorimetric* yang dikandung retikulosit dengan menggunakan formula: $Ret.He = A \times \exp(B \times RET-Y)$ dimana $A = 5.8439$ and $B = 0.0098$ (Marziah, 2011).

3.8.2.3. Pemeriksaan Feritin

Prinsip pemeriksaan adalah *Electrochemiluminescence immunoassay* (ECLIA). Feritin dalam serum akan diinkubasi dengan antibodi biotin monoklonal spesifik feritin, dan antibodi monoklonal spesifik feritin yang dilabel dengan kompleks ruthenium sehingga membentuk kompleks *sandwich*. Kemudian ditambahkan mikropartikel yang dilapisi streptavidin sehingga terbentuklah kompleks berikatan dengan fase solid melalui interaksi biotin dengan streptavidin. Campuran reaksi diaspirasi ke dalam sel pengukur dimana mikropartikel secara magnetik akan ditangkap ke permukaan elektroda. Substansi yang tidak berikatan dibuang melalui *procell*. Aplikasi tegangan pada elektroda akan menginduksi emisi *chemiluminescent* yang diukur oleh photomultiplier. Pada reaksi Electro Chemiluminescent (ECL) terjadi reaksi antara kompleks ruthenium dengan TPA (trypropylamine) yang distimulasi secara elektrik untuk menghasilkan emisi cahaya. Jumlah cahaya yang dihasilkan berbanding lurus dengan kadar analit dalam sampel (Roche, 2005a).

3.8.2.4. Pemeriksaan Hepsidin

Pemeriksaan Hepsidin serum menggunakan prinsip *Sandwich-ELISA*. Setelah sampel dikumpulkan, dibiarkan sampel untuk membeku selama 2 jam pada suhu kamar atau semalam di 4°C sebelum sentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Supernatan dikumpulkan dan dilaksanakan uji segera atau disimpan pada suhu -20°C (± 1 bulan). Pengukuran dilakukan dengan menggunakan *spectrophotometer* dengan panjang gelombang 450 nm (warna biru). Adapun ringkasan pengukuran kadar hepsidin sesuai dengan langkah-langkah sebagai berikut: (Elabscience.2014)

1. Masukkan 100 μ L sampel darah ke masing-masing sumur (well) dan diinkubasi selama 90 menit pada suhu 37°C.
2. Kemudian ditambahkan 100 μ L Biotinylated Detection Ab dan diinkubasikan selama 1 jam pada suhu 37°C.
3. Aspirasi dan cuci sebanyak 3 kali.
4. Tambahkan 100 μ L HRP Conjugate dan diinkubasikan selama 30 menit pada suhu 37°C.
5. Aspirasi dan cuci sebanyak 5 kali
6. Kemudian tambahkan 90 μ L Substrate Reagent dan dinkubasikan selama 15 menit pada suhu 37°C
7. Lalu Tambahkan 50 μ L Stop Solution dan segera baca pada panjang gelombang 450 nm.
8. Kemudian hitung konsentrasinya.

3.8.3. Pemantapan Kualitas

Pemantapan mutu dilakukan dilakukan untuk menjamin dan mendapatkan hasil pemeriksaan yang baik. Sebelum dilakukan pemeriksaan terlebih dahulu dilakukan kalibrasi alat.

3.8.3.1. Kontrol Kualitas Hb dan Ret.He

Kontrol kualitas Hb dan RET-HE dilakukan dengan menjalankan program kontrol pada Sysmex XT-4000i. Menggunakan bahan kontrol komersial Sysmex e-Check (XE) assay untuk XT 4000i yang mempunyai nilai target masing-masing yang telah diketahui nilainya, yaitu rendah, normal dan tinggi. Data kualitas kontrol Hb dan Ret.He tercantum pada tabel berikut:

Tabel.3.1. Nilai kontrol Hb

| No | Tanggal | Nilai | Nilai | Nilai |
|----|------------|--------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|
| | | Hb rendah (g/dl) Lot. 52490810 | Hb Normal (g/dl) Lot.52500811 | Hb Tinggi (g/dl) Lot.524808812 |
| 1 | 01-12-2015 | 5,8 | 12,3 | 16,7 |
| 2 | 02-12-2015 | 5,8 | 12,3 | 16,7 |
| 3 | 03-12-2015 | 5,8 | 12,3 | 16,7 |
| 4 | 04-12-2015 | 5,8 | 12,3 | 16,7 |
| 5 | 06-12-2015 | 5,9 | 12,3 | 16,7 |
| 6 | 07-12-2015 | 5,8 | 12,3 | 16,8 |

Nilai rujukan yang digunakan oleh RSUP.H.Adam Malik, Medan untuk kadar Hb dewasa adalah:

- Laki-laki : 13,2-17,3 g/dl
- Perempuan : 11,7- 15,5 g/dl

Tabel.3.2. Nilai Kontrol Ret.He

| No | Tanggal | Nilai | Nilai | Nilai |
|----|------------|--|---------------------------------------|--|
| | | Ret.He rendah (pg) Lot. 52490810 | Ret.He Normal (pg) Lot.52500811 | Ret.He Tinggi (pg) Lot.524808812 |
| 1 | 01-12-2015 | 23,4 | 23,5 | 23,7 |
| 2 | 02-12-2015 | 23,3 | 23,5 | 23,8 |
| 3 | 03-12-2015 | 22,9 | 23,0 | 23,8 |
| 4 | 04-12-2015 | 22,8 | 23,5 | 23,9 |
| 5 | 06-12-2015 | 23,0 | 23,1 | 24,1 |
| 6 | 07-12-2015 | 22,7 | 23,6 | 23,8 |

Nilai rujukan yang digunakan oleh RSUP.H.Adam Malik, Medan untuk Ret.He adalah 28,8 – 32,9 pg.

3.8.3.2. Kontrol Kualitas Feritin

Kontrol kualitas untuk feritin digunakan *Elycsys PreciControl TumorMarker* dengan Lot. 17785300. Bila nilai kontrol masuk dalam *controlrange*, maka sampel penelitian dianggap terkontrol. Selama penelitian, kontrol kualitas pemeriksaan feritin dilakukan sebanyak 2 kali dengan nilai target yang akan dicapai.

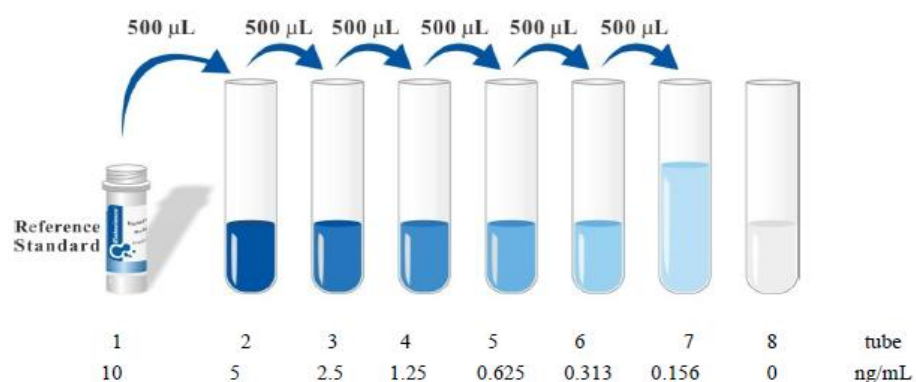
Tabel 3.3 Kontrol Feritin PC-TM

| No | tanggal | PeciControl | |
|----|------------|---------------|-------------------------|
| | | TM (ng/ml) | Nilai target (ng/ml) |
| 1 | 02-12-2015 | 179,5 | 165 ± 17,28 |
| 2 | 28-12-2015 | 179,1 | 165 ± 17,28 |

Nilai rujukan yang digunakan oleh RSUP.H.Adam Malik, Medan untuk kadar Feritin untuk dewasa adalah : 15- 300 ng/ml.

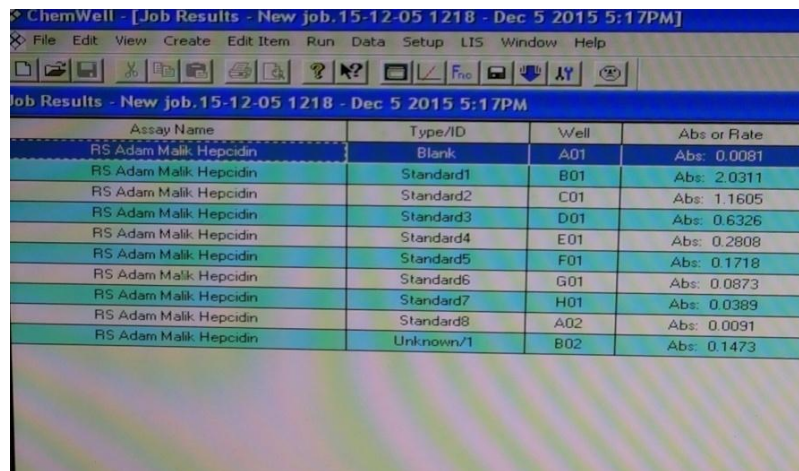
3.8.3.3. Kontrol Kualitas Hepsidin

Kontrol kualitas kadar hepsidin dengan menggunakan larutan standar yang dibuat dalam 8 variasi konsentrasi dimulai dari kadar 10 ng/ml sampai 0 ng/ml sebagaimana tergambar dibawah ini.



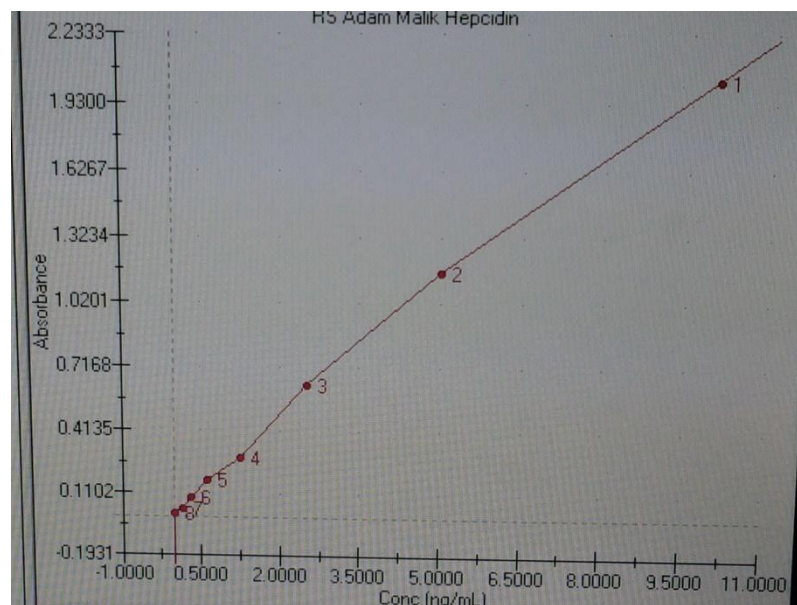
Gambar.3.1. Variasi konsentrasi larutan standar Hepsidin.

Kemudian dilakukan pengukuran nilai absorbansi dan hubungannya dengan konsentrasi kadar hepsidin dari larutan standar yang dibuat sebagaimana pada Gambar.3.2. dan Gambar.3.3. dibawah ini.



| Assay Name | Type/ID | Well | Abs or Rate |
|------------------------|-----------|------|-------------|
| RS Adam Malik Hepsidin | Blank | A01 | Abs: 0.0081 |
| RS Adam Malik Hepsidin | Standard1 | B01 | Abs: 2.0311 |
| RS Adam Malik Hepsidin | Standard2 | C01 | Abs: 1.1605 |
| RS Adam Malik Hepsidin | Standard3 | D01 | Abs: 0.6326 |
| RS Adam Malik Hepsidin | Standard4 | E01 | Abs: 0.2808 |
| RS Adam Malik Hepsidin | Standard5 | F01 | Abs: 0.1718 |
| RS Adam Malik Hepsidin | Standard6 | G01 | Abs: 0.0873 |
| RS Adam Malik Hepsidin | Standard7 | H01 | Abs: 0.0389 |
| RS Adam Malik Hepsidin | Standard8 | A02 | Abs: 0.0091 |
| RS Adam Malik Hepsidin | Unknown1 | B02 | Abs: 0.1473 |

Gambar.3.2. Nilai Absorbansi larutan standard hepsidin



Gambar.3.3. Kalibrasi kadar hepsidin

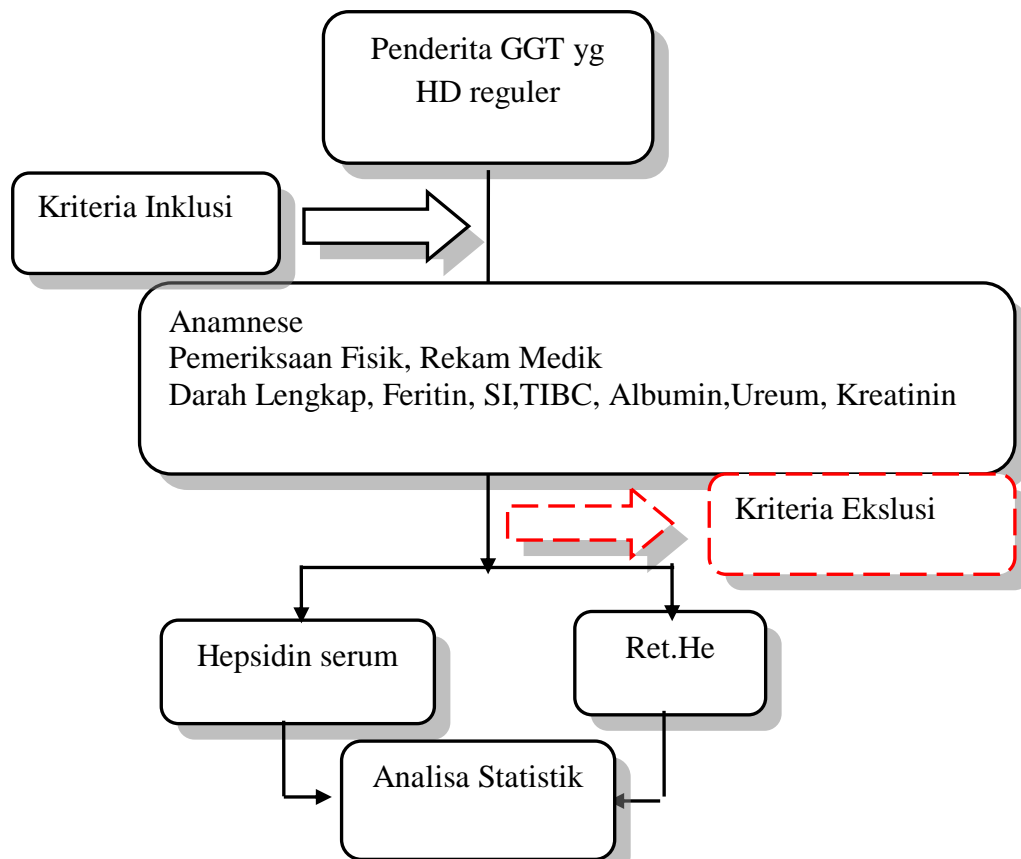
3.9 Masalah Etika (*Ethical Clearance*) dan Persetujuan Setelah Penjelasan (*Informed Consent*)

Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan etika (*ethical clearance*) dari komite Penelitian Bidang Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara, Medan dengan No.488/KOMET/FK USU/2015 dan izin penelitian dari Instalasi Litbang RSUP.H.Adam Malik Medan dengan No.LB.02.03.II.4.1883. *Informed Consent* diminta secara tertulis dari subjek penelitian atau diwakili oleh keluarganya yang ikut bersedia dalam penelitian setelah mendapat penjelasan mengenai maksud dan tujuan penelitian.

3.10. Analisis Data

Analisa data dilakukan menggunakan komputer dengan software SPSS (*Statistical Package for Social Sciences*, Chicago, IL, USA) untuk Windows. Gambaran karakteristik subjek penelitian disajikan dalam bentuk tabulasi dan dideskripsikan. Setelah dilakukan uji normalitas dengan tes *shapiro wilk* maka korelasi kadar Hepsidin dengan Hb, Feritin dan Ret-He digunakan *spearman rank* tes dikarenakan data tidak terdistribusi normal. Semua uji statistik dengan nilai $p < 0,05$ dianggap bermakna.

3.11. KERANGKA PENELITIAN



Gambar.3.4. Kerangka Penelitian

BAB IV

HASIL PENELITIAN

Penelitian dilakukan secara *cross sectional study* selama periode Desember 2015 sampai dengan Maret 2016 dengan melakukan pemeriksaan kadar Hepsidin dan Ret.He serta parameter lainnya. Berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi akhirnya didapat 31 orang subjek penelitian di Instalasi Hemodialisis, Divisi Nefrologi, Departemen Ilmu Penyakit Dalam/ RSUP. Haji Adam Malik Medan .

Sebanyak 31 orang pasien penderita gagal ginjal terminal yang menjalani HD reguler 2 kali seminggu di Instalasi HD RSUP.H.Adam malik Medan pada bulan Desember 2015 diperoleh data karakteristiknya sebagaimana tercantum pada tabel.4.1.

Data dari Tabel.4.1. menunjukkan sebanyak 31 subjek penelitian dikelompokkan berdasarkan usia dan jenis kelamin. Usia subjek penelitian dikelompokkan menjadi usia dewasa muda (15-49 tahun) dan usia tua (≥ 50 tahun) sesuai klasifikasi usia menurut WHO (2013). Usia subjek termuda peserta dalam penelitian ini adalah 23 tahun dan usia tertua 68 tahun dengan median 48 tahun.

Jenis kelamin subjek penelitian lebih banyak laki-laki (51,6%) dibandingkan perempuan (48,4%).

Tabel.4.1. Karakteristik Subjek Penelitian

| Karakteristik | Subjek (n=31) |
|---|------------------|
| Usia | |
| Rentang (Thn) | 23-68 |
| Median (Thn) | 48 |
| 15-49 (n(%)) | 17(54,8) |
| ≥50 (n(%)) | 14(45,2) |
| Jenis Kelamin | |
| Laki-laki (n(%)) | 16(51,6) |
| Perempuan (n(%)) | 15(48,4) |
| Indek Masa Tubuh | |
| <18,5 (n(%)) | 1(3,2) |
| 18,5 – 25 (n(%)) | 26(83,9) |
| >25 (n(%)) | 4(12,9) |
| Diagnosa Penyebab | |
| Hipertensi (n(%)) | 25(80,6) |
| Diabetes mellitus (n(%)) | 4(12,9) |
| Batu Ginjal (n(%)) | 2(6,5) |
| Lama HD (bln) | |
| Rentang | 4-114 |
| Median | 29 |
| eGFR (ml/mnt/1,73mm²) | |
| Rata-rata ± SD | 5,23 ±0,21 |

Indek masa tubuh penderita gagal ginjal terminal yang menjadi responden sebanyak 26 orang (83,9%) masih berada dalam rentang normal, hanya 1 orang (3,2%) yang memiliki indek masa tubuh yang kurus dan 4 orang (12,9%) yang memiliki indek masa tubuh yang berlebih.

Pada penelitian ini didapati diagnosa penyebab terbanyak dari penderita gagal ginjal terminal menjalani HD adalah Hipertensi Nefropati sebanyak 25 orang (80,6%), diikuti dengan Diabetes mellitus sebanyak 4 orang

(12,9%) dan terdapat 2 orang (6,5%) yang disebabkan oleh karena batu ginjal.

Tabel.4.2. Karakteristik parameter laboratorium subjek penelitian

| Karakteristik | Subjek (n=31) | Rentang (Minimal-maksimal) | Median |
|---------------------------------------|------------------|-------------------------------|--------|
| HB (g/dl) | 31 | 7,6 - 13,5 | 10,2 |
| Leukosit ($10^3/\text{mm}^3$) | 31 | 1.068 – 10.940 | 7.140 |
| MCV (fl) | 31 | 80,30 - 98,30 | 90,2 |
| MCH (pg) | 31 | 26,10 – 35 | 30,6 |
| Ret (%) | 31 | 0,35 – 3,30 | 1,26 |
| Ret-He (pg/sel) | 31 | 28,2 – 38,7 | 33,6 |
| Feritin (ng/ml) | 31 | 71,7 – 442,7 | 500,7 |
| Serum besi($\mu\text{g}/\text{dl}$) | 31 | 33 – 184 | 64 |
| TIBC ($\mu\text{g}/\text{dl}$) | 31 | 121 – 269 | 193 |
| Saturasi Transferin (%) | 31 | 21,15 – 71,32 | 34,5 |
| Albumin (g/dl) | 31 | 3,1 – 4,1 | 3,8 |
| Ureum (mg/dl) | 31 | 61,8 – 158,8 | 116,5 |
| Kreatinin (mg/dl) | 31 | 8,06 – 20,31 | 14,15 |
| Hepsidin (ng/ml) | 31 | 0,09 – 4, | 0,3 |

Pada tabel.4.2. didapati Hb subjek penelitian terendah adalah 7,6 g/dl sedangkan Hb tertinggi adalah 13,5 g/dl dengan median masih rendah dari nilai populasi normal yaitu 10,2 g/dl. Median leukosit subjek masih dalam rentang normal yaitu $7.140/\text{mm}^3$.

Median feritin sebagai parameter cadangan besi jaringan menunjukkan nilai lebih tinggi dari populasi normal yaitu 500,7 ng/ml. Median kadar albumin sebagai parameter fungsi sintesis dari hati didapati masih dalam batas normal yaitu 3,8 g/dl. Median ureum dan kreatinin

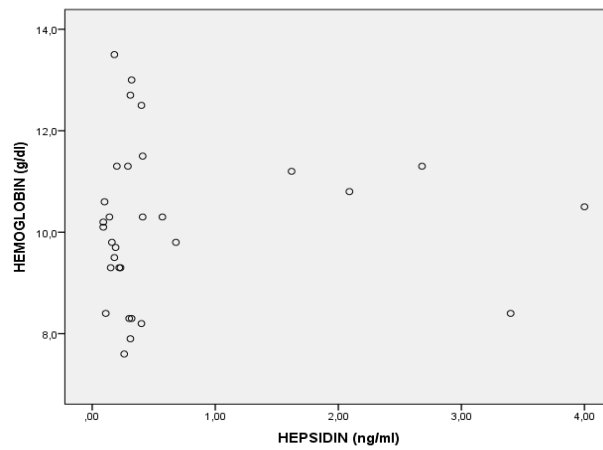
sebagai gambaran fungsi ginjal kadarnya masih lebih tinggi dari nilai populasi normal sebesar 116,5 mg/dl dan 14,15 mg/dl, berurutan.

Pada penelitian ini didapati kadar Ret.He sebagai gambaran ketersediaan besi di sumsum tulang pada subjek penelitian masih dijumpai kadar yang normal rendah yaitu 28,2 pg/sel sedangkan kadar tertinggi adalah 38,7 pg/sel dengan median 33,6 pg/sel. Median kadar hepsidin dari subjek penelitian menunjukkan kadar yang rendah yaitu 0,3 ng/ml.

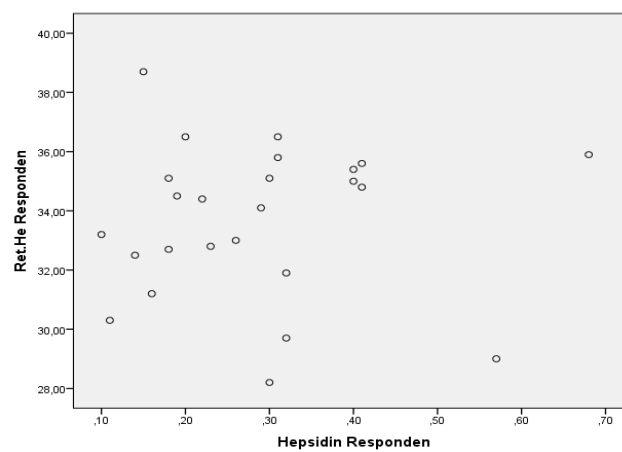
Tabel.4.3. Korelasi antara Hepsidin dengan Hb, Ret.He dan Feritin

| Parameter | Subjek (n) | r | p |
|----------------------|---------------|---------|-------|
| Hepsidin dan Hb | 31 | 0,159 | 0,363 |
| Hepsidin dan Ret.He | 31 | 0,135 | 0,467 |
| Hepsidin dan Feritin | 31 | - 0,051 | 0,785 |

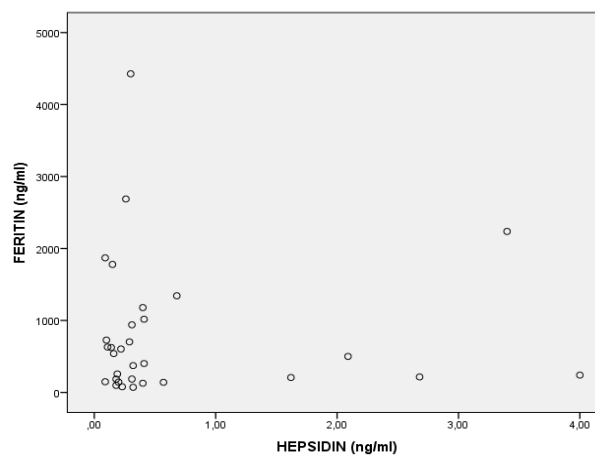
Pada tabel 4.3. Diperoleh nilai korelasi dengan uji *spearman's rho* antara kadar Hepsidin dengan Hb, Ret.He dan Feritin ($r= 0,159$, $p=0,363$; $r = 0,135$, $p = 0,467$; $r= - 0,051$, $p = 0,785$, berurutan).



Gambar. 4.1. Scatterplot antara Hepsidin dan Hb



Gambar.4.2. Scatterplot antara Hepsidin dan Ret.He.



Gambar.4.3. Scatterplot antara Hepsidin dan Ferritin.

BAB V

PEMBAHASAN

Dari tabel 4.1. didapati jumlah subjek penelitian laki-laki lebih banyak (51,6%) dari perempuan.

Pada tabel.4.1. ditunjukkan sebagian besar subjek penelitian memiliki IMT yang normal yaitu sebesar 26 orang (83,9%). Hasil ini sejalan dengan penelitian Rachmiwatie (2013b) yang mendapati 28 orang (94%) penderita GGT dengan HD reguler yang non anemia defisiensi besi memiliki IMT yang normal. Pada penelitian ini digunakan perhitungan IMT sebagai parameter antropometri status nutrisi penderita, karena IMT memiliki korelasi yang baik dengan *Malnutrition inflammation score* (MIS)(Rachmiwatie 2013b).

Anemia renal masih merupakan komplikasi terbanyak pada penderita gagal ginjal terminal terutama yang menjalani hemodialisis reguler sebagaimana yang tercantum pada tabel.4.2. Median Hb dari subjek penelitian sebesar 10,2 g/dl menunjukkan keadaan anemia renal pada subjek penelitian. Hal ini sejalan dengan penelitian Rachmiwatie (2013) yang mendapatkan median Hb pada penderita GGT yang menjalani HD dan tidak mengalami anemia defisiensi besi sebesar 8,5 g/dl dengan rentang 5,8- 12,4 g/dl. Keadaan anemia ini juga dapat dipengaruhi oleh lamanya HD yang dijalani oleh subjek penelitian (tabel.4.1.) yang

menunjukkan median lamanya HD selama 29 bulan. Kondisi ini sesuai dengan pernyataan Wilson (2006) bahwa penderita GGT akan mengalami kehilangan darah sekitar 48 mL setiap kali menjalani proses hemodialisis. Penderita GGT yang telah menjalani hemodialisis lebih lama akan memiliki risiko kehilangan darah (kehilangan zat besi) lebih besar.

Data lain menunjukkan jumlah lekosit sebagaimana pada tabel.4.1. dapat menggambarkan tingkat infeksi yang mungkin terjadi pada penderita GGT dengan HD reguler. Infeksi dapat memperberat keadaan inflamasi akibat dilepaskan hepsidin yang merupakan salah satu protein fase akut dan berperan sebagai regulator zat besi di dalam tubuh (Adamson 2010; Macdoughall 2012). Namun hasil penelitian ini menunjukkan bahwa jumlah leukosit keseluruhan subjek penelitian masih dalam batas normal. Hal ini memberikan asumsi bahwa tidak dijumpai tingkat infeksi akut sebagai faktor perancu yang dapat mengganggu hasil penelitian.

Pada tabel.4.2 juga didapati median kadar feritin serum seluruh subjek pada penelitian ini 500,7 ng/mL. Hal tersebut menggambarkan tingginya kadar feritin menunjukkan keadaan cadangan besi yang cukup di jaringan walaupun kadar feritin juga dapat diasumsikan sebagai bagian dari keadaan inflamasi yang dialami oleh penderita gagal ginjal terminal. Penelitian Kalantar-Zadeh *et.al.*(2004) menyimpulkan bahwa kadar feritin serum yang tinggi pada penderita GGT yang menjalani HD rutin bukan merupakan indikator adanya kelebihan zat besi dalam tubuh, melainkan

sebagai protein fase akut, karena keadaan uremia kronik dan tindakan hemodialisis itu sendiri merupakan faktor penyebab kondisi inflamasi yang terjadi pada penderita GGT dengan HD rutin.

Pada penelitian ini didapati median Ret.He sebesar 33,6 pg/sel. Hasil ini menunjukkan bahwa ketersediaan besi pada sumsum tulang dari seluruh subjek penelitian masih dalam batas normal dengan rentang 28,2-38,7 pg/sel. Nilai rentang kadar Ret.He normal adalah 28,2–35,7 pg/sel (Sysmex 2007).

Pada penelitian ini juga didapat median kadar hepsidin sebesar 0,3 ng/ml. Hasil ini menunjukkan hepsidin pada penderita gagal ginjal terminal dengan HD reguler pada penelitian ini tidak dipengaruhi oleh laju filtrasi glomerulus, sebagaimana tergambar pada Tabel. 4.1, didapati nilai rata-rata *eGFR* subjek penelitian sebesar $5,23 \pm 0,21$ ml/mnt/ $1,73\text{mm}^2$. Hal ini sejalan dengan penelitian Peters (2010) yang melaporkan 83 pasien PGK non dialisis, dan 48 pasien HD, dengan hasil bahwa tidak terdapat korelasi kadar hepsidin dengan LFG ($r = 0,12$, $p = 0,30$) dan didapat kesimpulan bahwa LFG bukan merupakan faktor utama yang menentukan kadar hepsidin pada pasien PGK. Selain itu rendahnya median kadar hepsidin pada penelitian ini sesuai dengan pernyataan Swinkels (2008) dan Babitt (2010) yang menunjukkan bahwa induksi eritropoiesis akibat hipoksia atau anemia itu sendiri yang menghambat produksi hepsidin. Menurut Darshan dkk, kadar hepsidin menurun pada kondisi anemia, hipoksia, peningkatan eritropoiesis, dan defisiensi besi (Darshan 2010),serta pemberian

Erythropoietin-Stimulating Agent(ESA)(Swinkels 2008; Babitt 2010). Pada penelitian ini keseluruhan subjek penelitian mendapat terapi ESA dengan dosis 2000-3000 unit 1 kali per kali HD. Saya berasumsi bahwa HD reguler dan terapi ESA yang diterima pasien berhasil menurunkan keadaan inflamasi terutama akibat keadaan uremia yang tinggi selama ini pada penderita gagal ginjal terminal sehingga memberikan efek penekanan kadar hepsidin serum yang diproduksi oleh hati.

Pada tabel.4.3 diperoleh data terdapat korelasi searah yang lemah namun tidak signifikan secara statistik antara kadar hepsidin serum dan kadar Hb dan Ret.He ($r= 0,159$, $p= 0,363$ dan $r= 0,135$, $p = 0,467$, berurutan). Hal ini berbeda dengan penelitian Eguci *et.al.* (2012) dari 52 pasien yang menjalani peritoneal dialisis didapati ada korelasi negatif antara hepsidin dan Hb dengan persamaan $y= -12.758x +2027$, $R^2 = 0.1026$, $p=0,020$, Hasil ini juga berbeda dengan penelitian Zhang P *et.al* (2014) yang mendapati dari 60 orang pasien HD reguler didapati korelasi negatif antara hepsidin dan hemoglobin ($r= - 0,24$, $p<0.05$).) namun hasil penelitian ini sejalan dengan Eguci *et.al.* (2012) bahwa hepsidin tidak berkorelasi dengan Ret.He dengan nilai $r = - 0,114$, $p= 0,427$ dan meyakini bahwa hepsidin tidak memiliki efek pada perubahan besi dari retikulosit. Selain itu dari Tabel.4.3 juga didapati adanya korelasi negatif yang lemah antara hepsidin dengan feritin namun tidak signifikan secara statistik ($r= - 0,051$, $p=0,785$). Hal ini sejalan dengan penelitian Taheri *et.al.*(2015), yang meneliti dari 44 orang pasien HD dibandingkan dengan

orang sehat, tidak terdapat korelasi yang signifikan antara feritin serum dan hepsidin serta pro-hepsidin ($r=0,6, p= 0.08$) demikian juga dengan penelitian Rubab dkk (2015) yang mendapati dari 42 subjek yang menjalani HD reguler dan mendapat terapi EPO, tidak terdapat korelasi yang signifikan antara kadar hepsidin dan feritin ($r=0,242, p=0,122$). Hal ini berbeda dengan yang diperoleh oleh Eguchi *et.al.* (2012) yang mendapati adanya korelasi positif yang sedang antara hepsidin dan feritin ($r=0,3115, p= 0,0001$), dan penelitian Zhang *et.al.* (2014) yang menunjukkan terdapat korelasi positif antara hepsidin dan feritin ($r= 0,79, p= <0,05$).

Keterbatasan penelitian ini tidak mengikutsertakan pemeriksaan CRP dan IL-6 sebagai penanda inflamasi. Namun Eguchi *et.al.* (2012) mendapati pada penelitiannya bahwa CRP dan IL-6 tidak memiliki korelasi yang signifikan dengan kadar hepsidin serum ($r= 0,0025, p= 0,722$ dan $r= 0,0185, p=0,362$, berurutan).

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. KESIMPULAN

Dari penelitian ini dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Tidak Terdapat korelasi yang signifikan antara Hepsidin dengan Ret.He pada penderita gagal ginjal terminal yang menjalani hemodialisis reguler
2. Tidak Terdapat korelasi yang signifikan antara Hepsidin dengan Hb pada penderita gagal ginjal terminal yang menjalani hemodialisis reguler.
3. Tidak Terdapat korelasi yang signifikan antara Hepsidin dengan Feritin pada penderita gagal ginjal terminal yang menjalani hemodialisis reguler.

6.2. SARAN

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan jumlah sampel yang lebih besar.
2. Perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan membandingkan kadar hepsidin pada penderita gagal ginjal terminal sebelum mendapat ESA dan setelah mendapat ESA.