

**HUBUNGAN *POLIMORFISME VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH*
FACTOR (VEGF) SEBAGAI FAKTOR RISIKO KEJADIAN DIABETES
NEFROPATI PADA PASIEN DIABETES MELLITUS TIPE 2 DENGAN
KEGAGALAN KENDALI GLUKOSA DARAH**

SKRIPSI



**Diajukan Oleh :
CENDANA SAPUTRA YAP
G1A119097**

**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS JAMBI
2022**

**HUBUNGAN *POLIMORFISME VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH*
FACTOR (VEGF) SEBAGAI FAKTOR RISIKO KEJADIAN DIABETES
NEFROPATI PADA PASIEN DIABETES MELLITUS TIPE 2 DENGAN
KEGAGALAN KENDALI GLUKOSA DARAH**

**Untuk memenuhi persyaratan mencapai derajat Sarjana Kedokteran pada
Program Studi Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
Universitas Jambi**



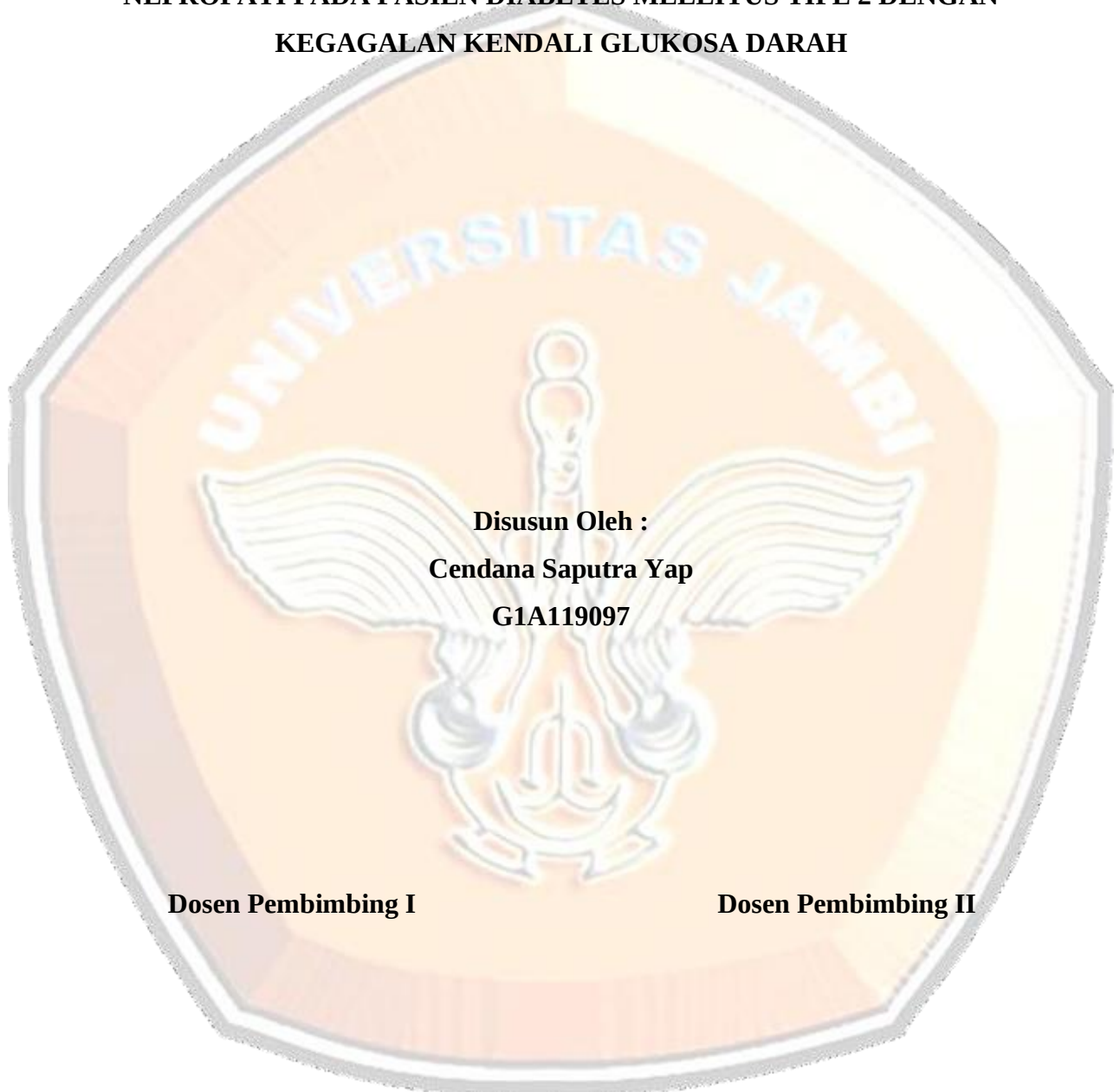
**Diajukan Oleh :
CENDANA SAPUTRA YAP
G1A119097**

**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS JAMBI**

2022

PERSETUJUAN SKRIPSI

HUBUNGAN *POLIMORFISME VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR (VEGF)* SEBAGAI FAKTOR RISIKO KEJADIAN DIABETES NEFROPATI PADA PASIEN DIABETES MELLITUS TIPE 2 DENGAN KEGAGALAN KENDALI GLUKOSA DARAH



Disusun Oleh :

Cendana Saputra Yap

G1A119097

Dosen Pembimbing I

Dosen Pembimbing II

dr. Anggelia Puspasari, M.Biomed.
NIP : 198703182014042002

dr. Susan Tarawifa, M.Kes
NIP : 199103312019032013

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi dengan judul **HUBUNGAN POLIMORFISME VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR (VEGF) SEBAGAI FAKTOR RISIKO KEJADIAN DIABETES NEFROPATI PADA PASIEN DIABETES MELLITUS TIPE 2 DENGAN KEGAGALAN KENDALI GLUKOSA DARAH** yang disusun oleh Cendana Saputra Yap, NIM G1A119097 telah dipertahankan didepan Tim Penguji pada tanggal 22 Desember 2022 dan dinyatakan lulus.

Susunan Tim Penguji

Penguji 1 (Ketua)	: dr. Citra Maharani, M.Biomed
Penguji 2 (Sekretaris)	: dr. Rina Nofrienis, M.Sc
Penguji 3 (Anggota)	: dr. Anggelia Puspasari, M. Biomed
Penguji 4 (Anggota)	: dr. Susan Tarawifa, M.Kes

Disetujui :

Pembimbing Substansi

Pembimbing Metodologi

dr. Anggelia Puspasari, M. Biomed

NIP 198703182014042002

dr. Susan Tarawifa, M.Kes

NIP 199103312019032013

Diketahui :

**Dekan Fakultas Kedokteran dan Ilmu
Kesehatan Universitas Jambi**

**Ketua Jurusan Pendidikan Dokter
Fakultas Kedokteran dan Ilmu
Kesehatan Universitas Jambi**

Dr. dr. Humaryanto, Sp.OT, M.Kes
NIP 197302092005011001

dr. Raihanah Suzan, M.Gizi, Sp.GK
NIP 198304012008122004

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Cendana Saputra Yap

NIM : G1A119097

Jurusan : Program Studi Kedokteran Fakultas Kedokteran dan Ilmu
Kesehatan Universitas Jambi

Judul Skripsi : Hubungan *Polimorfisme Vascular Endothelial Growth Factor*
(VEGF) Sebagai Faktor Risiko Kejadian Diabetes Nefropati Pada
Pasien Diabetes Mellitus Tipe 2 Dengan Kegagalan Kendali
Glukosa Darah

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa Tugas Akhir Skripsi yang saya tulis ini benar-benar hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai tulisan atau pikiran saya sendiri. Apabila di kemudian hari dapat dibuktikan bahwa Tugas Akhir Skripsi ini adalah hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Jambi, Desember 2022

Yang Membuat Pernyataan

Cendana Saputra Yap
NIM G1A119097

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis ucapkan atas berkat dan kasih karunia Tuhan Yang Maha Esa yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan proposal skripsi yang berjudul **“Hubungan *Polimorfisme Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) Sebagai Faktor Risiko Kejadian Diabetes Nefropati Pada Pasien Diabetes Mellitus Tipe 2 Dengan Kegagalan Kendali Glukosa Darah”** dengan tepat waktu.

Selama dalam proses penulisan skripsi ini, penulis banyak memperoleh bantuan dari berbagai pihak baik berupa saran, bimbingan, informasi, data, serta dukungan moril maupun materil. Untuk itu pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terimakasih kepada:

1. Dr. dr. Humaryanto, Sp.OT., M. Kes selaku Dekan Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Jambi.
2. dr. Anggelia Puspasari, M. Biomed selaku dosen pembimbing substansi yang telah merelakan waktunya untuk memberikan arahan dan bimbingan mulai dari awal pengajuan judul hingga selesainya pembuatan proposal ini. Ribuan terima kasih saya haturkan kepada beliau untuk pengorbanan, keikhlasan, dan dorongan motivasi yang tiada henti.
3. dr. Susan Tarwifa, M. Kes selaku dosen pembimbing metodologi penelitian yang telah meluangkan waktunya untuk memberikan arahan, motivasi dan bimbingan serta masukan yang sangat membangun dalam pembuatan proposal ini.
4. Dosen pembimbing akademik, dr. An Aldia Asria, Sp.JP dan dr. Attiya Istarini., Sp.N yang selalu membimbing saya selama menjalani studi di Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Jambi.
5. Seluruh dosen dan staf akademik Program Studi Kedokteran Universitas Jambi yang telah memberikan ilmu dan motivasinya.

6. Orang tua tersayang yang selalu memberikan kasih sayang, dukungan, dan doa yang tiada henti hingga saya bisa menjadi seperti ini. Terima kasih yang tak terhingga saya ucapkan kepada kedua orang tua saya karena sudah mendengarkan rentetan keluh kesah, selalu ada dikala suka dan duka, dan selalu mengingatkan dikala lupa.
7. Kakak dan abang kandung saya tersayang yang selalu mendengarkan keluh kesah, menghibur disaat lelah dan sedih, memberikan masukan dan selalu memberikan motivasi yang sangat berarti.
8. Teruntuk Rahmad Alfariz dan teman lainnya, yang selalu ada dikala suka dan duka menemani perjuangan dari awal kuliah dan selalu memberikan motivasi dan masukannya.
9. Teruntuk tim penelitian saya Kak Peggy, Astian, Cut dan Wika terima kasih telah membantu penelitian saya sehingga dapat rampung dengan tepat waktu.
10. Teman-teman Capillary 2019 yang selalu memberi semangat serta membantu secara langsung maupun tidak langsung pembuatan proposal ini.
11. Semua pihak yang tidak bisa saya sebutkan satu per satu yang telah membantu dalam penyelesaian laporan skripsi ini.

Akhir kata dengan segala kerendahan hati penulis menyadari bahwa laporan skripsi ini masih jauh dari kriteria sempurna. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritikan dan saran yang sifatnya membangun demi kesempurnaan penulisan proposal skripsi ini.

Jambi, Desember 2022

Penulis

DAFTAR ISI

PERSETUJUAN SKRIPSI.....	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
SURAT PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR SINGKATAN.....	xi
RIWAYAT HIDUP PENULIS.....	xiii
ABSTRAK	xiv
ABSTRACT	xv
BAB I 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.....	3
1.4.Manfaat Penelitian.....	4
1.4.1 Bagi Peneliti	4
1.4.2 Bagi Institusi.....	4
1.4.3 Bagi Masyarakat.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Diabetes Nefropati.....	6
2.1.1 Definisi.....	6
2.1.2 Epidemiologi	6
2.1.3 Klasifikasi	8
2.1.4 Faktor Risiko	8
2.1.5 Patologi	9
2.1.6 Diagnosis	11
2.2. Glukosa Darah.....	14
2.2.1 Definisi.....	14
2.2.2 Kontrol Glukosa Darah	15

2.2.3 Kontrol Glukosa Darah Pasien Diabetes Mellitus Tipe 2	16
2.3 VEGF.....	17
2.3.1 Definisi.....	17
2.3.2 Hubungan Variasi Genetik VEGF Dengan Kejadian Diabetes Nefropati Pada Pasien Diabetes Mellitus Tipe 2 Dengan Kegagalan Kendali Glukosa Darah.....	18
2.3.3 Varian Gen VEGF	20
2.4 Kerangka Teori.....	22
2.5 Kerangka Konsep	23
2.6 Hipotesis.....	23
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	24
3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian.....	24
3.2 Tempat dan Waktu penelitian.....	24
3.3.1 Populasi Penelitian.....	24
3.3.2 Sampel Penelitian dan Besar Sampel	24
3.3.3. Kriteria Inklusi dan Kriteria Eksklusi.....	25
3.3.3.1 Kriteria Inklusi	25
3.3.3.2 Kriteria Eksklusi.....	26
3.4 Definisi Operasional.....	26
3.5 Alat dan Bahan	28
3.5.1 Ekstraksi DNA	28
3.5.2 ARMS-PCR SNP rs699947	28
3.6. Cara Penelitian.....	29
3.6.1 ARMS-PCR SNP rs699947	29
3.6.2 Elektroforesis	29
3.7 Pengambilan Data.....	30
3.7.1 Data Sekunder	30
3.8 Pengolahan Data dan Analisis Hasil.....	30
3.8.1 Pengolahan Data	30
3.8.2 Analisis Hasil	31
3.9 Etika Penelitian.....	31

3.10 Keterbatasan Penelitian	31
3.11 Alur Penelitian.....	32
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	33
4.1 Hasil dan Pembahasan.....	33
4.1.1 Karakteristik Dasar Penelitian.....	33
4.1.2 Variasi Genetik VEGF rs699947	34
4.1.3 Distribusi Genotip dan Keseimbangan Hardy Weinberg Variasi Genetik VEGF-A rs699947 C/A	34
4.1.4 Peran Variasi Genetik VEGF-A rs699947 C/A terhadap Diabetes Nefropati.....	35
4.2 Pembahasan	36
4.2.1 Karakteristik Dasar Subjek Penelitian	36
4.2.2 Peran Variasi Genetik VEGF-A rs699947 C/A terhadap Diabetes Nefropati.....	37
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	40
5.1 Kesimpulan.....	40
5.2 Saran.....	40
DAFTAR PUSTAKA	41
LAMPIRAN.....	50

DAFTAR SINGKATAN

AGEs	: <i>Advanced Glycation End Products</i>
CKD	: <i>Chronic Kidney Disease</i>
CKD – EPI	: <i>Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration</i>
DKD	: <i>Diabetic Kidney Disease</i>
DFU	: <i>Diabetic Foot Ulcer</i>
DM	: <i>Diabetes Melitus</i>
DMT1	: <i>Diabetes Mellitus Tipe 1</i>
DMT2	: <i>Diabetes Mellitus Tipe 2</i>
DN	: <i>Diabetes Nefropati</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
DR	: <i>Diabetes Retinopati</i>
EDTA	: <i>Ethylenediaminetetraacetic Acid</i>
ESRD	: <i>End Stage Renal Disease</i>
F-2,6-BP	: <i>Fruktosa 2,6-bifosfat</i>
FABG	: <i>3-Oxoacyl-[Acyl-Carrier-Protein] Reductase</i>
FRMD3	: <i>FERM Domain Containing 3</i>
GBM	: <i>Glomerular Basement Membrane</i>
GFR	: <i>Glomerular Filtration Rate</i>
GLUT1	: <i>Glucose transporter - 1</i>
GLUT2	: <i>Glucose transporter - 2</i>
HEMGH	: <i>Zinc-Binding Motif</i>
HIF	: <i>Hypoxia-Inducible Factor</i>
HSPG2	: <i>Heparin Sulfate Proteoglycan 2</i>
IFTA	: <i>Interstisyel Fibrosis-tübüleratrofi</i>
KDGIO	: <i>Kidney Disease Improving Global Outcomes</i>
MAF	: <i>Minor Allele Frequency</i>
NO	: <i>Nitric Oxide</i>
Nrp-1	: <i>Neuropilin-1</i>
Nrp-2	: <i>Neuropilin-2</i>

PAS	: <i>Periodic Acid Schiff</i>
PCR	: <i>Polymerase Chain Reaction</i>
PDR	: <i>Proliferatif Diabetik Retinopathy</i>
PFK-2	: <i>Fosfofruktokinase-1</i>
PFK-2	: <i>Fosfofruktokinase-2</i>
PCR	: <i>Polymerase Chain Reaction</i>
SGLT	: <i>Sodium-glucose co-transporters</i>
TIN	: <i>Tubulointerstitial Nephritis</i>
UNC13B	: <i>Unc-13 Homolog B</i>
USG	: <i>Ultrasonografi</i>
VEGF	: <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>

RIWAYAT HIDUP PENULIS

Cendana Saputra Yap, Lahir di Dairi, Sumatera Utara pada tanggal 15 Mei 2000. Penulis lahir dari pasangan Alm. Timbul Coan Yap dan Linawati Sinaga serta merupakan anak keempat dari 4 bersaudara dengan kakak yakni Yenni Sartika Yap. Tuah Fredy Yap, dan Jekki Karina Yap.

Pada tahun 2005, penulis memulai pendidikan di TK Kartika kemudian dilanjutkan ke SDN 030279 pada 2006. Enam tahun setelahnya, penulis melanjutkan pendidikan di SMPN 1 Sidikalang. Selanjutnya pada tahun 2015, penulis melanjutkan sekolah di SMAN 1 Sidikalang dan lulus pada tahun 2018. Lalu melanjutkan pendidikan di Program Studi Kedokteran Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Jambi.

Selama mengikuti perkuliahan, penulis aktif dalam beberapa kegiatan kampus. Penulis merupakan anggota dari CIMSA FK UNJA sebagai *Local Officer On Medical Education* 2021/2022 dan *Supervising Council* 2022/2023 dan merupakan anggota dari Divisi keuangan TBM ASET Universitas Jambi. Selain itu pada periode 2020/2019 penulis bergabung menjadi anggota organisasi di HIMA PSPD sebagai staff Pendidikan dan Profesi.

ABSTRAK

Latar belakang: Diabetes nefropati merupakan komplikasi microvaskular tersering pada diabetes melitus. Hiperglikemia tidak terkontrol tidak selalu menjadi faktor risiko kejadian DN. Faktor genetik dapat terkait terhadap kejadian DN. Variasi genetik menyebabkan kadar protein VEGF penderita DM kelebihan produksi, akhirnya mengganggu *cross-talk* podosit dan sel endotel dan kerusakan endotel menyebabkan DN. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui hubungan *polimorfisme vascular endothelial growth factor* (VEGF) sebagai faktor risiko kejadian diabetes nefropati pada pasien diabetes mellitus tipe 2 dengan kegagalan kendali glukosa darah.

Metode: Penelitian ini adalah penelitian analitik kategorik dengan pendekatan laboratorium dan desain penelitian *case-control*. Sampel berupa DNA pasien DMT2 yang telah diekstraksi sebelumnya dan dilakukan terhadap 48 pasien terdiri dari 24 orang pasien DM dengan DN dan 24 orang pasien DM tanpa DN pada etnis Melayu-Jambi. Penilaian genotip, digunakan metode tetra ARMS-PCR terhadap gen VEGF-A rs699947 C/A.

Hasil: Hasil Ditemukan bahwa pada pasien dengan genotip AC ($p\text{-value}=0,581$; OOR 95% CI: 1,543 (0,329-7,226) memiliki risiko lebih tinggi daripada pasien dengan genotip AA.

Kesimpulan: Varian genetik VEGF rs699947 C/A tidak memiliki hubungan sebagai faktor risiko kejadian diabetes nefropati pada pasien diabetes mellitus tipe 2 dengan kegagalan kendali glukosa darah.

Kata Kunci: Nefropati diabetik, VEGF, Variasi Genetik, Melayu-Jambi, Indonesia

ABSTRACT

Background: Diabetic Nephropathy is the common microvascular complication in diabetes mellitus. Uncontrolled hyperglycemia is not always a risk factor for DN. Genetik factors may be related to the occurrence of DN. Genetik variation causes VEGF protein levels in DM sufferers to overproduce, eventually disrupting *the cross-talk of* podocytes and endothelial cells and causing endothelial damage to DN. The aim of this study was to determine the relationship between *vascular endothelial growth factor* (VEGF) polymorphism as a risk factor for diabetic nephropathy in patients with type 2 diabetes mellitus and failure to control blood glucose.

Methods: This research was design with categorical analytical research with a laboratory category and a *case-control*. Samples were DNA from DMT2 patients that had been previously extracted and carried out on 48 patients consisting of 24 DM patients with DN and 24 DM patients without DN in Malay-Jambi ethnicity. For genotypic assessment, the tetra ARMS-PCR method was used for the VEGF-A rs699947 C/A gene.

Results: Results It was found that patients with AC genotype (p-value=0.581 ; OOR 95% CI: 1.543 (0.329-7.226) had a higher risk than patients with AA genotype.

Conclusion: The VEGF rs699947 C/A genetik variant has no association as a risk factor for diabetic nephropathy in patients with type 2 diabetes mellitus with failure to control blood glucose

Keywords: Diabetic nephropathy, VEGF, Genetik Variation, Malay-Jambi, Indonesia

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Diabetes mellitus tipe 2 (DMT2) adalah penyakit metabolik kronis multifaktorial yang ditandai dengan hiperglikemia postprandial yang menyebabkan komplikasi makrovaskular dan mikrovaskular dalam jangka panjang. Komplikasi mikrovaskular yang paling sering terjadi adalah diabetes nefropati (DN) dan diabetes retinopati (DR).¹ Diabetes nefropati merupakan salah satu pemicu peningkatan resiko kematian, baik dengan atau tanpa komplikasi lainnya.²

Pada pasien diabetes, sel endotel akan menurunkan regulasi transpor glukosa sebagai respon terhadap glukosa darah yang tinggi yang menyebabkan penghasilan glukosa intraseluler yang berlebihan, yang dapat memicu terjadinya generasi mediator patogen yang berkontribusi pada perkembangan komplikasi diabetes, yaitu Diabetes Nefropati.³ Kejadian terjadinya kegagalan pengendalian gula darah pasien DMT2 yang menunjukkan kejadian hiperglikemia pada akhirnya menunjukkan kerusakan pada ginjal. Kadar glukosa menjadi beban yang tinggi mengakibatkan konsentrasi dari natrium klorida dan reabsorpsi glukosa menunjukkan peningkatan di tubulus proksimal dan berakibat terjadinya pengurangan konsentrasi natrium klorida di tubulus distal dan makula densa. Hal ini menyebabkan terjadinya dilatasi serta vasokonstriksi arteriol aferen.^{4,5}

Dalam berbagai studi epidemiologi menunjukkan bahwa kendali faktor lingkungan seperti gaya hidup, tekanan darah dan kadar glukosa plasma tidak selalu dapat mencegah kejadian DN. Keadaan hiperglikemia dengan kontrol yang baik dan sebaliknya tidak selamanya menjadi salah satu faktor risiko terjadinya kejadian DN. Hal tersebut dikaitkan dengan pengaruh faktor genetik terhadap kejadian DN.

Dalam sebuah studi meta-analisis oleh Moyart AL telah mengidentifikasi 24 varian genetik dalam 16 gen yang memiliki hubungan dengan diabetes nefropati yang diantaranya adalah *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF).⁶

VEGF diekspresikan terutama oleh podosit glomerulus. Kelebihan protein VEGF dapat mengikat reseptor spesifik pada sel endotel kapiler glomerulus, menyebabkan peningkatan permeabilitas glomerulus dan ultrafiltrasi. Kelebihan produksi VEGF, mengganggu *cross-talk* antara podosit dan sel endotel dan memperburuk kerusakan endotel yang ada.^{7,8} Kelebihan produksi VEGF ini dapat menyebabkan lebih banyak kehilangan podosit pada tahap akhir yang menyebabkan glomerulosklerosis, atrofi tubular dan peningkatan proteinuria lebih lanjut yang dikenal sebagai DN.

VEGF-A merupakan salah satu varian VEGF yang paling sering dikaitkan dengan kejadian DN. Kelebihan podosit VEGF-A yang diinduksi hiperglikemia kronis dan oksida nitrat endotel yang rendah akan mendorong perkembangan kejadian DN.⁹

Varian genetik VEGF-A SNP (rs699947) menyebabkan Kadar protein VEGF pada penderita DM dengan komplikasi akan cenderung menurun karena fibroblas diabetik tidak dapat meningkatkan produksi VEGF pada kadar normal sebagai respon terhadap kondisi hipoksia. Hal ini menyebabkan proses fisiologis yang akhirnya memberikan keadaan kadar VEGF meningkat untuk menyesuaikan kebutuhan yang ada. Hipoksia jangka panjang yang mempengaruhi isoform pro-angiogenik VEGF A 164 dan isoform dis-angiogenik 120 dan 188 mengakibatkan kerusakan struktur pembuluh darah ginjal yang mengarah pada situasi patologis pada sel epitel tubular yang merujuk pada kejadian DN.¹⁰

Dalam sebuah studi menyatakan bahwa VEGF-A SNP (rs699947) dengan frekuensi alel A memiliki risiko lebih tinggi daripada alel C dalam menyebabkan kejadian DN.¹⁰ Sebuah studi di Cina menunjukkan efek perlindungan dari individu yang membawa alel C pada kejadian retinopati diabetik terkait dengan kadar albumin, HbA1c dan insulin. Dalam sebuah penelitian di China, ditemukan adanya hubungan antara variasi genetik VEGF-2578C/A (rs699947) dengan terjadinya komplikasi mikrovaskular.¹¹

Sebuah studi *cross-sectional* menyatakan bahwa hubungan varian genetik VEGF SNP (rs699947) berpengaruh dalam menyebabkan terjadinya komplikasi dari diabetes mellitus tipe 2 menuju komplikasi mikrovaskular.¹¹

Terdapat studi yang dilakukan pada populasi Cina, Jepang, Irlandia Eropa telah dilakukan penelitian hubungan antara penyakit yang berhubungan dengan kejadian DN dengan variasi genetik VEGF dan memiliki hasil bahwa didapatkan hubungan yang berarti terhadap variasi genetik tersebut.^{11,12,13}

Hal yang berbeda ditemukan pada penelitian yang dilakukan pada populasi populasi Asia Timur, Amerika Serikat, Korea dan Turki tidak ditemukan hubungan yang pasti terhadap variasi genetik VEGF rs699947 dengan kejadian penyakit DN.^{14,15}

Berdasarkan uraian di atas maka peneliti memiliki ketertarikan dalam melakukan penelitian yang berjudul **“Hubungan Polimorfisme Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) Sebagai Faktor Risiko Kejadian Diabetes Nefropati Pada Pasien Diabetes Mellitus Tipe 2 Dengan Kegagalan Kendali Glukosa Darah”**.

1.2. Rumusan Masalah

1. Bagaimana distribusi frekuensi *polimorfisme vascular endothelial growth factor* (VEGF) sebagai faktor risiko kejadian diabetes nefropati pada pasien diabetes mellitus tipe 2 dengan kegagalan kendali glukosa darah?
2. Bagaimana hubungan *polimorfisme vascular endothelial growth factor* (VEGF) sebagai faktor risiko kejadian diabetes nefropati pada pasien diabetes mellitus tipe 2 dengan kegagalan kendali glukosa darah?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

1. Mengetahui hubungan *polimorfisme vascular endothelial growth factor* (VEGF) sebagai faktor risiko kejadian diabetes nefropati pada pasien diabetes mellitus tipe 2 dengan kegagalan kendali glukosa darah

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengetahui distribusi frekuensi hubungan *polimorfisme vascular endothelial growth factor* (VEGF) sebagai faktor risiko kejadian diabetes

nefropati pada pasien diabetes mellitus tipe 2 dengan kegagalan kendali glukosa darah.

2. Membuktikan hubungan *polimorfisme vascular endothelial growth factor* (VEGF) sebagai faktor risiko kejadian diabetes nefropati pada pasien diabetes mellitus tipe 2 dengan kegagalan kendali glukosa darah.

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1 Bagi Peneliti

1. Peneliti dapat memahami hubungan *polimorfisme vascular endothelial growth factor* (VEGF) sebagai faktor risiko kejadian diabetes nefropati pada pasien diabetes mellitus tipe 2 dengan kegagalan kendali glukosa darah.
2. Peneliti dapat mempraktikan, mengasah dan mengembangkan ilmu yang telah dipelajari di Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Jambi.
3. Menjadi syarat penulis untuk menyelesaikan pendidikan di Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Jambi.

1.4.2 Bagi Institusi

1. Memberikan informasi mengenai hubungan *polimorfisme vascular endothelial growth factor* (VEGF) sebagai faktor risiko kejadian diabetes nefropati pada pasien diabetes mellitus tipe 2 dengan kegagalan kendali glukosa darah.
2. Hasil penelitian diharapkan dapat digunakan sebagai data dasar untuk penelitian lebih lanjut dan juga dapat dipakai sebagai bahan acuan untuk melakukan penelitian mengenai hubungan *polimorfisme vascular endothelial growth factor* (VEGF) sebagai faktor risiko kejadian diabetes nefropati pada pasien diabetes mellitus tipe 2 dengan kegagalan kendali glukosa darah sehingga dapat menjadi tambahan kajian dan referensi.
3. Hasil penelitian ini dapat sebagai arsip yang disimpan di perpustakaan FKIK UNJA untuk menambah pengetahuan mahasiswa mengenai hubungan *polimorfisme vascular endothelial growth factor* (VEGF) sebagai

faktor risiko kejadian diabetes nefropati pada pasien diabetes mellitus tipe 2 dengan kegagalan kendali glukosa darah

1.4.3 Bagi Masyarakat

1. Memberikan informasi kepada subjek penelitian dan masyarakat luas mengenai hubungan *polimorfisme vascular endothelial growth factor* (VEGF) sebagai faktor risiko kejadian diabetes nefropati pada pasien diabetes mellitus tipe 2 dengan kegagalan kendali glukosa darah.
2. Memberikan informasi bahwa faktor gen dapat menyebabkan terjadinya kejadian Diabetes Nefropati.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Diabetes Nefropati

2.1.1 Definisi

Diabetes mellitus merupakan penyebab utama dari morbiditas dan mortalitas di seluruh dunia. Penyakit ginjal kronis akibat dari diabetes mellitus, disebut juga sebagai diabetes nefropati (DN), menyumbang lebih 40% penyakit ginjal stadium akhir (ESRD) Hal tersebut juga menjadi prediktor yang kuat pada penyakit kardiovaskuler dan berhubungan dengan mortalitas. Di antara pasien dengan diabetes mellitus tipe 1, prevalensinya berada di angka 40%. 10 tahun setelah terdiagnosis dari diabetes mellitus tipe 2, pasien dengan DN berkisar 25%. Prevalensi dunia dari diabetes mellitus sangat cepat meningkat, sehingga membuat DM menjadi salah kontributor yang signifikan pada peningkatan biaya kesehatan.

16

Diabetes Nefropati dalam prosesnya dibagi menjadi lima tahapan berdasarkan perubahan kecepatan filtrasi glomerulus dan ekskresi albumin pada urin. Hal ini berawal dari filtrasi glomerulus yang berlebihan yang menyebabkan terjadinya hiperglikemia. Pada tahap ini ciri histologi mengalami keabnormalan tanpa ada gejala klinis. Pada tahap ketiga adalah awal dari stadium nefropati yang mengakibatkan kehilangan albumin urin (30-300 mg/hari) dan tahap keempat ditandai dengan terjadinya proteinuria (>300 mg/hari). Tahap kelima merupakan tahap akhir penyakit ginjal yang membutuhkan terapi berupa transplantasi.¹⁸

2.1.2 Epidemiologi

Diabetes Nefropati merupakan hal yang sangat umum di seluruh dunia. Dalam beberapa perkembangan DN pada pasien dengan diabetes dilaporkan sekitar 1,75 (95% CI: 1,62 – 1,89). Dalam Sebuah *studi cross-sectional* dari program manajemen penilaian risiko di Cina ditemukan 38,8% prevalensi DM pada 15856 pasien dengan diabetes. Sebuah studi berbasis populasi melaporkan bahwa 2,9% prevalensi DN di antara penduduk pedesaan Cina. Sebuah studi yang

dilakukan oleh kelompok ditemukan 34,4% prevalensi DN di India. Sebuah studi multisenter dari India melaporkan prevalensi gabungan diabetes-DN sekitar 62,3%. Demikian pula, sebuah studi berbasis populasi dari Uni Emirat Arab menemukan 11,4% insiden kumulatif DN setelah tindak lanjut dari 9 tahun. Tingkat prevalensi tertinggi diabetes mellitus (DM) dan CKD-DM diamati di antara orang tua di wilayah Mediterania timur. Studi manajemen data klinis diabetes di Jepang mengungkapkan terdapat 15,3% pasien DMT2 memiliki eGFR yang rendah. Temuan studi diabetes prospektif Inggris (UK) yang menggabungkan 4006 pasien DMT2 mengungkapkan bahwa 28% pasien mengalami gangguan ginjal setelah rata-rata tindak lanjut 15 tahun. Prevalensi DN pada populasi Amerika Serikat (AS) ditemukan 2,2% menurut analisis *cross-sectional* dari survei pemeriksaan kesehatan dan gizi nasional ketiga. Ini juga menyatakan bahwa prevalensi DN di AS meningkat sebanding dengan prevalensi diabetes seperti yang diamati 1988-2008.¹⁷

Penyakit ginjal diabetik akan menimbulkan beban ekonomi yang berat, tidak hanya untuk pengobatan ESRD tetapi juga karena komplikasi makrovaskular terkait dari DN. Biaya tahunan pengobatan ESRD pada pasien dengan diabetes tipe 2 di AS diperkirakan USD 39,35 miliar pada 2010, meningkat dari USD 16,74 miliar pada 1998. Di negara maju, kelompok etnis tertentu termasuk penduduk asli Amerika, Afrika-Amerika dan penduduk asli Australia memiliki prevalensi ESRD yang lebih tinggi karena diabetes. Kekhawatirannya adalah bahwa negara-negara dan minoritas yang paling terkena dampak epidemi DN akan menjadi yang paling tidak mampu menanggung biayanya.¹⁸

2.1.3 Klasifikasi

Diabetes dapat diklasifikasikan menjadi dua berdasarkan lesi yang terjadi pada glomerulus dan lesi sistem interstitial dan vaskular.¹⁹

Tabel 2. 1 Diabetes Nefropati dibagi menjadi empat lesi glomerulus¹⁹

Tingkatan	Deskripsi dan Kriteria
I	Perubahan ringan atau tidak spesifik pada mikroskop cahaya dan penebalan GBM yang sesuai dibuktikan dengan mikroskop elektron: GBM > 395 nm (perempuan), GBM > 430 nm (pria)
II a	Ekspansi mesangial ringan pada >25% dari mesangium yang diamati; area proliferasi mesangial < area rongga kapiler.
II b	Ekspansi mesangial yang parah pada > 25% dari mesangium yang diamati. Area proliferasi mesangial < area rongga kapiler.
III	Setidaknya satu sklerosis nodular yang meyakinkan (lesi Kimmelstiel-Wilson).
IV	Glomerulosklerosis diabetik lanjut pada >50% glomerulus

Tabel 2. 2 Sistem penilaian terpisah untuk lesi interstitial dan vaskular DN¹⁹

Lesi	Kriteria	Nilai
Lesi tubulointerstitial	Tanpa IFTA	0
	IFTA <25%	1
	25% < IFTA < 50%	2
	IFTA >50%	3
Inflamasi interstitial	Tidak ada	0
	Berhubungan dengan IFTA	1
	Dalam satu area tanpa IFTA	2
Hialinosis Arteriolar	Tidak ada	0
	Satu hialin arteriolar	1
	Lebih dari satu hialin arteriolar	2
Arteriosclerosis	Tidak ada penebalan intima yang diamati	0
	Penebalan intima kurang dari ketebalan media	1
	Penebalan intima lebih dari ketebalan media	2

2.1.4 Faktor Risiko

Terdapat berbagai macam faktor risiko yang merujuk dalam perkembangan diabetes nefropati. Faktor risiko ini dibagi menjadi dua, yaitu faktor risiko yang dapat dimodifikasi dan faktor risiko yang tidak dapat dimodifikasi.²⁰

1. Faktor Risiko Yang Dapat Dimodifikasi

- Kontrol gula darah yang buruk

- Hipertensi
- Dislipidemia
- Aktivitas fisik yang rendah
- Obesitas
- Merokok
- Resistensi insulin atau sindrom metabolik

0. Faktor Risiko Yang Tidak Dapat Di Modifikasi

- Bertambahnya usia
- Usia muda dengan diabetes mellitus
- Durasi diabetes mellitus yang lama
- Faktor genetik
- Etnis (*American Indian, Asian*)
- Riwayat keluarga dengan diabetes nefropati, diabetes mellitus tipe 2, penyakit ginjal kronis non diabetes, hipertensi atau resistensi insulin

2.1.5 Patologi

Penebalan membran basal glomerulus (GBM) adalah salah satu perubahan terukur paling awal pada DN. Ini hasil dari penumpukan komponen matriks ekstraseluler seperti kolagen tipe IV, laminin, dan nidogen/entactin di lamina rara interna GBM. Deposisi lebih lanjut di lapisan lain dari GBM terjadi dengan perkembangan penyakit, mengakibatkan hampir dua kali lipat dari ukuran normal. Sejalan dengan itu, terjadi perubahan sifat GBM dengan peralihan dari (ubiquitous) $\alpha 1(\text{IV})$ and $\alpha 2(\text{IV})$ rantai kolagen $\alpha 3(\text{IV})$ and $\alpha 4(\text{IV})$.Transisi ini kemungkinan mempengaruhi kualitas komposisi GBM dan dapat menjelaskan, setidaknya sebagian, korelasi ketebalan GBM dengan sifat fungsionalnya seperti “kebocoran” makromolekul atau tingkat proteinuria.²¹

Lesi ciri lain dari DN adalah perluasan mesangium. Hal ini sebagian besar disebabkan oleh peningkatan deposisi komponen matriks mesangial ekstraseluler dan hanya sedikit karena proliferasi sel mesangial. Memang hanya ada peningkatan yang sangat sederhana dan terbatas pada jumlah sel per glomerulus sejak dini, dan seiring kemajuan DN. Secara umum, ekspansi mesangial secara difus seragam di

dalam glomerulus. Namun, deposit nodular dapat terbentuk dan merupakan lesi Kimmelstiel-Wilson yang patognomonik. Ini berkembang karena ekspansi berkelanjutan atau mesangiolisis dan pembentukan aneurisma kapiler, dan ditemukan pada 25% pasien diabetes pada pemeriksaan postmortem. Saat deposisi kolagen berlangsung dengan DN yang berkelanjutan, glomerulosklerosis terjadi kemudian dan menyebabkan jaringan parut pada glomeruli.²¹

Efek pada pembuluh darah ginjal penting untuk akumulasi bahan asam-Schiff (PAS)-positif periodik di sekitar ole arteri aferen dan eferen, yang disebut sebagai hyalinosis arteriolar. Deposisi bahan serupa di ruang subendotel kapiler glomerulus disebut sebagai topi hialin. Ini, bersama dengan tetes kapsul (bahan hialin di bawah sel epitel parietal kapsula Bowman), merupakan lesi eksudatif DN.²¹

Penebalan membran basal tubular berkembang secara paralel dengan GBM. Lebar salah satu dari berkorelasi kuat dengan derajat hiperglikemia pada diabetes tipe 1. derajat ringan dengan beberapa perekrutan makrofag dapat terlihat. Fibrosis interstisial progresif dan atrofi tubulus mencerminkan DN lanjut dan perkembangan menuju ESRD. Faktanya, derajat fibrosis tubulointerstitial berkorelasi kuat dengan penurunan progresif GFR.²¹

Baru-baru ini, klasifikasi baru patologi DN diperkenalkan atas nama *Renal Pathology Society*. Hal ini dapat membantu penentuan stadium nefropati berdasarkan derajat patologi glomerulus, dengan sistem penilaian terpisah untuk lesi tubulus dan vaskular. Namun, deskripsi klasik DN sebagian besar didasarkan pada patologi glomerulus ginjal pada diabetes tipe 1. Sementara pasien dengan diabetes tipe 2 dan DN (T2DN) telah ditemukan memiliki perubahan glomerulus nomonik yang sama, gambaran patologis keseluruhan dalam glomerulus dan di kompartemen ginjal yang berbeda pada pasien ini lebih heterogen. Pada pasien T2DN dengan diabetes tipe 1. Namun, seperti patologi ginjal, DN pada diabetes tipe 2 adalah penyakit yang lebih heterogen, dengan derajat variabel glomerulosklerosis, fibrosis interstisial tubulin, dan vaskulopati. Selain itu, karena peningkatan mortalitas kardiovaskular, banyak pasien diabetes tipe 2 meninggal sebelum mereka berkembang menjadi ESRD.²¹

2.1.6 Diagnosis

1. Manifestasi klinis

Ciri khas DN adalah albuminuria persisten (kategori A3, sangat meningkat), dengan retinopati yang ada bersama dan tidak ada bukti penyakit ginjal alternatif. Pada DMT1, definisi ini sangat spesifik, yaitu jika ciri-ciri ini ada maka gambaran histologisnya hampir pasti adalah glomerulopati diabetik. Jarang DN bermanifestasi pada orang dengan DMT1 dalam 10 tahun pertama setelah diagnosis, tetapi antara 10 dan 20 tahun kejadian DN adalah sekitar 3% per tahun. Secara keseluruhan, sekitar 15% orang dengan DMT1 memiliki albuminuria berat (A3) dan 15% lainnya menunjukkan albuminuria sedang (A2). Setelah 20 tahun, angka kejadian menurun sehingga orang dengan fungsi ginjal normal dan ekskresi albumin urin normal setelah 30 tahun DM T1 memiliki risiko lebih rendah terkena DN. Oleh karena itu, risiko pengembangan DN bervariasi antara individu dan tidak hanya tergantung pada durasi DMT1, tetapi juga dipengaruhi oleh faktor lain, seperti kontrol glikemik, tekanan darah dan kerentanan genetik.²²

DMT2 menyumbang 90% dari diabetes secara global, sehingga mayoritas orang yang mengembangkan DN melakukannya karena DMT2. Epidemiologi DN pada DMT2 menunjukkan lebih banyak variasi daripada DMT1, dengan tingkat prevalensi yang dilaporkan lebih luas di berbagai negara dan kelompok etnis. Sebagai contoh, sebuah *studi cross-sectional* yang secara acak menyaring 28.538 orang dari 33 negara yang memiliki DMT2 tetapi tanpa penyakit ginjal yang diketahui melaporkan bahwa tingkat prevalensi albuminuria adalah sepertiga lebih tinggi pada kelompok Asia dan Hispanik (55%) dibandingkan dengan patologi.^{23,24}

DN yang terjadi tanpa retinopati yang menyertai sebanyak sepertiga kasus, sebuah skenario yang jauh lebih umum pada DMT2 dibandingkan dengan DMT1.²⁵ Selain itu, sementara adanya albuminuria persisten dengan retinopati yang menyertai pada DMT2 menunjukkan DN pada sebagian besar kasus, hal ini tidak selalu demikian. Studi biopsi prospektif DMT2 di mana biopsi ginjal diambil untuk penelitian (berlawanan dengan alasan klinis yang menimbulkan bias seleksi dan meningkatkan risiko menemukan diagnosis alternatif telah melaporkan bahwa sebagian kecil (<10%) dari mereka dengan keduanya parah (A3) albuminuria dan

retinopati memiliki bentuk penyakit ginjal non-diabetes. Namun, ini belum menjadi temuan universal, dengan penelitian lain melaporkan spesifisitas 100% untuk kombinasi albuminuria parah (A3) dan retinopati untuk memprediksi penampilan histologis klasik DN. Beberapa variasi ini mungkin mencerminkan perbedaan epidemiologi DN pada DMT2 pada populasi yang berbeda, tetapi desain studi, praktik biopsi dan ukuran sampel studi yang umumnya kecil di mana biopsi ginjal dilakukan juga dapat berkontribusi. Yang lebih penting adalah apresiasi yang berkembang dari spektrum yang lebih luas dari patologi ginjal yang mendasari DN pada DMT2²⁶. Dalam satu penelitian terhadap 52 pasien dengan DMT2 dan gambaran klinis DN (ekskresi protein urin 900-9200 mg/24 jam, kreatinin serum 80-796 $\mu\text{mol/L}$ [0,9-9 mg/dL], tidak ada data tentang retinopati), ginjal temuan biopsi bervariasi dengan glomerulopati diabetik klasik (36,5%), terutama perubahan iskemik (30,8%) dan penyakit glomerulus lain yang ditumpangkan pada DN (32,7%). Temuan serupa dilaporkan pada 34 orang dengan DMT2 dan albuminuria sedang (A2), di mana perubahan diabetes terlihat pada 10 biopsi (29,4%), perubahan iskemik/fibrotik pada 14 (41,2%) dan patologi minimal dilaporkan pada sisanya 10 (29,4%).²⁷

2. Gambaran Histologis

Biopsi ginjal digunakan untuk membuat diagnosis hanya pada sebagian kecil kasus DN, tetapi gambaran histologis yang khas dijelaskan dalam sistem klasifikasi internasional. Kelas I sampai IV masing-masing ditandai dengan penebalan membran basal glomerulus, perluasan mesangial, sklerosis nodular (lesi Kimmelstiel-Wilson) dan glomerulosklerosis berat. Selain fitur glomerulus yang khas ini, fibrosis interstisial dan atrofi tubulus (IFTA), fibrosis interstisial, hyalinosis arteriol, dan arteriosklerosis juga sering ditemukan²⁷

3. Skrining

DKD (*Diabetic Kidney Disease*) biasanya tidak menimbulkan gejala, jadi pedoman dari kelompok ADA dan KDIGO merekomendasikan bahwa semua orang dengan diabetes harus memiliki fungsi ginjal dan albuminuria yang diukur saat diagnosis dan setelahnya setiap tahun pada DMT2; di DMT1, ini bisa dimulai dari 5 tahun setelah diagnosis.²⁸ Albuminuria paling baik dinilai menggunakan

pengukuran ACR pada sampel urin spot (idealnya sampel pagi hari); pengumpulan urin berjangka waktu atau 24 jam untuk mengukur ekskresi albumin juga tepat meskipun kurang nyaman dan lebih rentan terhadap kesalahan pengumpulan. Fungsi ginjal harus dinilai menggunakan perhitungan eGFR serum-kreatinin (persamaan CKD-EPI direkomendasikan karena kinerjanya yang unggul dalam kisaran eGFR 60-90 mL/menit/1,73 m²).

4. Konfirmasi Kelainan Persisten

Jika penurunan eGFR atau peningkatan albuminuria terdeteksi, ini harus dikonfirmasi pada pengujian ulang selama 3 sampai 6 bulan, minimal dua tingkat ACR yang meningkat lebih dari 3 bulan diperlukan sebelum seseorang dianggap mengalami peningkatan albuminuria. Ini untuk membedakan dari perubahan sementara serta untuk memperhitungkan variasi intra-individu yang terlihat di ACR. Demikian pula, dua nilai eGFR di bawah 60 mL/menit/1,73 m² setidaknya 90 hari terpisah diperlukan untuk membuat diagnosis CKD.²⁸

5. Diagnosis Klinis

Pada DMT1, diagnosis klinis DKD dapat ditegakkan bila terdapat albuminuria sedang (A2) atau berat (A3) yang menetap atau penurunan eGFR yang menetap hingga <60 mL/menit/1,73 m² terjadi setidaknya 5 tahun setelah onset diabetes. % kasus, retinopati diabetik juga akan hadir, dan seharusnya tidak ada saran klinis penyakit ginjal alternatif. Albuminuria tidak diperlukan untuk membuat diagnosis DKD dalam pengaturan eGFR yang terus berkurang, tetapi skenario klinis ini harus segera mempertimbangkan bentuk lain dari penyakit ginjal non-albuminuria, seperti halnya albuminuria tanpa adanya retinopati.²⁷

Pada DMT2, diagnosis klinis dapat lebih menantang karena peningkatan heterogenitas presentasi klinis, meskipun prinsip yang sama dari albuminuria persisten atau penurunan eGFR yang persisten berlaku. Albuminuria tidak harus ada untuk membuat diagnosis DKD asalkan eGFR terus-menerus <60 mL/menit/1,73 m². Durasi diabetes yang lebih lama dan adanya retinopati merupakan petunjuk penting menuju diagnosis saat gejala tersebut muncul, tetapi durasi diabetes yang singkat atau tidak adanya retinopati tidak berguna untuk menyingkirkan DKD pada DMT2. Oleh karena itu penting untuk mengevaluasi

fitur yang mungkin menunjukkan bentuk alternatif penyakit ginjal dan melanjutkan ke biopsi ginjal ketika ada ketidakpastian diagnostik.²⁷

6. Diagnosis banding DN

Nefropati iskemik. Disarankan oleh penyakit vaskular di tempat lain, riwayat merokok, hipertensi, penyakit aorta atau ginjal asimetris pada USG ginjal. beberapa faktor risiko nefropati iskemik sangat umum.²⁹

Penyakit ginjal terkait disproteinemia. Ada berbagai penyakit ginjal yang berhubungan dengan disproteinemia yang awalnya diskriminasi dengan elektroforesis serum dan uji rantai ringan bebas serum. Ini termasuk *monoclonal gammopathy of renal significance*, yang didefinisikan sebagai gangguan proliferasi klonal yang menghasilkan imunoglobulin monoklonal nefrotoksik, tetapi tidak memenuhi kriteria pengobatan untuk keganasan hematologis tertentu.²⁹

Nefritis tubulointerstitial (TIN), klasik terkait dengan eosinofil dan leukosit urin tetapi dapat muncul dengan sedimen urin normal. TIN sering disebabkan oleh obat-obatan (misalnya, obat antiinflamasi non steroid, penghambat pompa proton, antibiotik, diuretik), dan riwayat pengobatan yang cermat untuk menetapkan hubungan temporal antara inisiasi obat penyebab dan timbulnya penurunan eGFR dapat berguna. Diagnosis memerlukan biopsi ginjal.²⁹

2.2. Glukosa Darah

2.2.1 Definisi

Glukosa adalah bahan bakar karbohidrat terpenting dalam tubuh. Dalam keadaan kenyang, sebagian besar glukosa yang bersirkulasi berasal dari makanan; dalam keadaan puasa, glukoneogenesis dan glikogenolisis mempertahankan konsentrasi glukosa. Sangat sedikit glukosa ditemukan dalam makanan sebagai glukosa; sebagian besar ditemukan dalam karbohidrat yang lebih kompleks yang dipecah menjadi monosakarida melalui proses pencernaan. Sekitar setengah dari total karbohidrat dalam makanan berbentuk polisakarida dan sisanya sebagai gula sederhana. Sekitar dua pertiga gula dalam makanan adalah sukrosa, yang merupakan disakarida dari glukosa dan fruktosa. Glukosa diklasifikasikan sebagai monosakarida karena tidak dapat dipecah lebih lanjut dengan hidrolisis.

Selanjutnya diklasifikasikan sebagai heksosa karena kerangka enam karbonnya dan sebagai aldosa, karena adanya gugus *aldehid* pada karbon 1. Gugus *aldehid* mengembun dengan gugus hidroksil sehingga glukosa ada sebagai struktur cincin hemiasetal. Struktur cincin ini menjelaskan banyak reaksi glukosa.³⁰

Ketika 2 jam setelah makan, kadar glukosa darah akan kembali ke rentang puasa dan merangsang glikogenolisis untuk memenuhi glukosa dalam darah dan menjadi sumber utama selama 12 jam puasa. Namun, setelah puasa selama 16 jam pemeliharaan glukosa darah akan diambil alih secara bersama melalui glikogenolisis dan glukoneogenesis. Setelah 30 jam makan, simpanan cadangan glukosa di dalam hati akan habis dan mengakibatkan glukoneogenesis menjadi sumber utama glukosa darah.³¹

Biasanya konsentrasi glukosa dalam darah dipertahankan pada konsentrasi yang relatif stabil dari 80 sampai 120 mg/dl. Sifat pereduksi glukosa yang kuat membuatnya relatif mudah untuk diukur dan dengan demikian estimasi klinis glukosa yang bersirkulasi adalah salah satu tes paling awal yang tersedia untuk dokter. Pengenalan teknologi mikro glukosa oksidase baru-baru ini memungkinkan pasien untuk mengukur konsentrasi glukosa darahnya sendiri dan tidak diragukan lagi menjadikan estimasi glukosa darah sebagai tes kimia darah yang paling banyak digunakan. Pemahaman tentang metode pengukuran glukosa darah akan membantu dokter untuk menginterpretasikan nilai-nilai dan menghindari jebakan pengujian yang tidak akurat.³²

2.2.2 Kontrol Glukosa Darah

Penyerapan glukosa ke dalam sel bergantung pada transporter spesifik. Beberapa memerlukan natrium (Na^+) sebagai co-transporter sementara yang lain tidak. Transpor glukosa yang bergantung pada Na^+ menggunakan pompa Na^+/K^+ ATPase untuk menghasilkan gradien potensial negatif yang mendorong transpor pasif Na^+ ke dalam sel. Gradien ini juga memungkinkan molekul lain, seperti glukosa, untuk diangkut ke dalam sel melawan gradien konsentrasinya. Secara khusus, glukosa dalam lumen usus dan tubulus ginjal diserap melalui kotransporter natrium-glukosa (SGLT). Ekspresi transporter ini dapat berubah tergantung

kebutuhan glukosa tubuh. Begitu glukosa memasuki sel-sel ini, pengangkut glukosa independen Na^+ membawa glukosa ke dalam darah. Transpor glukosa bebas Na^+ mengacu pada transporter khusus yang bervariasi dalam jenis tergantung pada jaringan tertentu. Pengangkut glukosa tipe 1 (GLUT1) ditemukan di sel darah merah dan otak dan tidak diatur oleh insulin. GLUT2 ada di epitel usus, hati, ginjal dan terutama pankreas. Transporter ini diatur oleh hormon yang berbeda untuk mengontrol kadar glukosa plasma sesuai kebutuhan.^{33,34,35}

Kadar glukosa plasma mengalami pengaturan melalui beberapa jalur utama: glikolisis, glukoneogenesis, dan glikogenesis/glikogenolisis. Insulin dapat mempengaruhi glikolisis dan glukoneogenesis melalui *defosforilasi enzim fosfofruktokinase-2* (PFK-2), yang meningkatkan kadar *fruktosa 2,6-bisfosfat* (F-2,6-BP). Molekul ini secara langsung meningkatkan aktivitas enzim PFK-1, yang mengubah fruktosa-6-fosfat menjadi *fruktosa 1, 6-bisfosfat* dan mengikat glukosa ke jalur glikolisis dan mengarahkannya menjauh dari glukoneogenesis. Sebaliknya, glukagon juga mempengaruhi glikolisis dan glukoneogenesis melalui fosforilasi *fruktosa 2,6-bisfosfatase*, yang menurunkan kadar F-2,6-BP dan selanjutnya, aktivitas PFK-1. Aktivitas ini mengalihkan glukosa dari glikolisis dan menuju glukoneogenesis dan glikogenolisis.^{36,37,38}

2.2.3 Kontrol Glukosa Darah Pasien Diabetes Mellitus Tipe 2

Diabetes tipe 2 terjadi pada sebagian besar pasien dengan penambahan berat badan. Jenis ini memiliki keterkaitan dengan obesitas, disregulasi metabolik progresif, dan resistensi insulin. Tubuh memproduksi insulin pada diabetes tipe 2, tetapi sel-selnya kurang sensitif terhadap insulin; karenanya, tingkat insulin yang lebih tinggi diperlukan untuk merangsang sel untuk mengambil glukosa. Pada diabetes tipe 2, glukosa tetap tinggi di luar sel yang mengakibatkan sel kelaparan meskipun kadar glukosa dalam plasma tinggi. Sel beralih ke katabolisme protein dan asam lemak, yang dapat mengakibatkan peningkatan urea dan keton. Ketika kadar glukosa tetap tinggi dalam plasma, itu dapat menyebabkan kerusakan osmotik pada saraf yang mengakibatkan neuropati perifer, mengurangi penyembuhan luka, meningkatkan peradangan melalui reaksi yang menciptakan stres oksidatif dan

peradangan dan dimodifikasi menjadi produk glikasi lanjut (AGEs) yang mempromosikan mikrovaskuler dan komplikasi makrovaskular. Khususnya, glukosa dapat bereaksi dengan gugus amino protein secara non-enzimatis, membentuk senyawa seperti fruktosamin, yang mencerminkan tingkat kontrol glukosa selama 2 minggu. Presentasi klinis meliputi polidipsia, poliuria, penurunan berat badan dengan polifagia. Oleh karena itu, peningkatan luas glukosa dalam plasma dapat menyebabkan kerusakan organ yang ireversibel dari waktu ke waktu dan pengendalian kadar glukosa sangat penting untuk mencegah hasil jangka panjang ini.³⁹⁻⁴³

2.3 VEGF

2.3.1 Definisi

VEGF pertama kali dikenali pada tahun 1983 dan diberi nama faktor vasopermeabilitas (VPF) karena kemampuannya untuk meningkatkan permeabilitas pembuluh darah terkait tumor. VEGF 50000 kali lipat lebih kuat daripada histamin dalam menginduksi permeabilitas.^{44,45}

VEGF (juga disebut VEGF-A) adalah faktor angiogenik utama. Ini mempromosikan migrasi sel endotel, proliferasi, diferensiasi dan kelangsungan hidup, meningkatkan permeabilitas pembuluh darah dan mengatur vasodilatasi.⁴⁶ Selain itu, VEGF merangsang kemotaksis monosit dan menginduksi ekspresi molekul adhesi.⁴⁷

VEGF-A (selanjutnya disebut VEGF) adalah anggota pendiri keluarga faktor pertumbuhan endotel vaskular, yang pada mamalia mencakup empat anggota lainnya: VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D dan faktor pertumbuhan plasenta (PlGF). VEGF disambung secara alternatif untuk menghasilkan banyak isoform, dalam dua keluarga. Penyambungan alternatif ekson 5-7 dari gen VEGF tunggal menghasilkan isoform dengan aktivitas dan ketersediaan yang berbeda, sedangkan penyambungan alternatif ekson 8 membentuk dua keluarga yang dilambangkan, VEGF_{xxx} dan VEGF_{xxx}b (di mana xxx adalah jumlah asam amino). VEGF₁₆₅ adalah isoform yang paling dominan dan aktif di ginjal manusia.⁴⁸ Isoform VEGF murine memiliki satu asam amino lebih sedikit.⁴⁹ Isoform VEGF_{xxx} memiliki sifat *pro-angiogenik*,

sedangkan varian splice VEGFxxx_b memiliki sifat *anti-angiogenik*^{50,51} Yakni, VEGF165_b menghambat angiogenesis yang diinduksi VEGF165.⁵² Pada korteks ginjal dewasa, kedua keluarga isoform berada dalam keseimbangan yang hampir mutlak, sehingga dapat menjelaskan paradoks VEGF ginjal yang tinggi tetapi tidak ada angiogenesis.⁵³ Podosit glomerulus adalah jenis sel utama yang menghasilkan isoform VEGF (VEGFxxx dan VEGFxxx_b) di ginjal manusia. VEGF diekspresikan dalam sel tubulus mesangial dan endotel.⁵⁴⁻⁵⁶

VEGF mengarahkan aktivitas biologisnya melalui pengikatan pada dua reseptor tirosin kinase spesifik pada permukaan sel. Reseptor ini (VEGFRs) adalah VEGFR-1 (Flt-1) dan VEGFR-2 (Flk-1/KDR). Selain itu beberapa reseptor, yang tidak memiliki aktivitas tirosin kinase, seperti neuropilin (Nrp-1 dan -2) dan proteoglikan sulfat heparan, bertindak sebagai ko-reseptor yang memperkuat sinyal VEGF/VEGFR.^{57,58} VEGFR-2 bertanggung jawab atas sebagian besar efek angiogenik VEGF, sedangkan VEGFR-1 memediasi migrasi sel endotel dan monosit/makrofag. Varian sambatan VEGFR-1 yang dapat larut telah diidentifikasi. VEGFR-1 terlarut (sFlt-1) tidak memiliki domain transmembran dan intraseluler dari VEGFR-1 dan mengatur ketersediaan VEGF bebas.⁵⁹⁻⁶² Pada ginjal dewasa, reseptor VEGF diekspresikan pada sel mesangial, pada sel endotel glomerulus dan peritubular, tetapi terutama pada podosit.⁶³⁻⁶⁷ Faktanya, hanya VEGFR-2 yang diekspresikan secara *in vivo* pada prosesus tubuh dan kaki sel podosit.⁶⁷

2.3.2 Hubungan Variasi Genetik VEGF Dengan Kejadian Diabetes Nefropati Pada Pasien Diabetes Mellitus Tipe 2 Dengan Kegagalan Kendali Glukosa Darah

Kadar VEGF plasma dilaporkan lebih tinggi pada pasien diabetes dibandingkan pada individu yang sehat. Produksi VEGF dan proliferasi sel lebih lanjut distimulasi dengan fluktuasi konsentrasi glukosa sekitar dibandingkan dengan medium glukosa tinggi secara terus-menerus.^{68,69} Sintesis dan sekresi VEGF dipengaruhi oleh beberapa faktor, termasuk jenis kelamin, hipoksia, hiperglikemia, merokok, lipid darah, reaksi inflamasi, dan sumbu stres aktif.⁷⁰

Di ginjal, VEGF-A diekspresikan terutama oleh podosit glomerulus. Namun, ini bukan satu-satunya sel yang mengekspresikan glikoprotein, dengan mRNA VEGF-A juga terdeteksi di tubulus distal (Cooper et al., 1999).⁷¹ VEGFR-2, sebaliknya, diekspresikan oleh sel endotel glomerulus dan oleh sel endotel kapiler peritubular, serta oleh fibroblas interstitial kortikal dan renomedullary (Cooper et al., 1999).⁷¹

VEGF diekspresikan secara berlebihan dalam podosit pada fase awal DN di bawah pengaruh beberapa mediator (tahap ini mungkin tidak terlihat oleh manusia). Demikian pula, retinopati diabetik ditandai dengan peningkatan ekspresi VEGF dan secara khusus dengan peralihan penyambungan dari isoform anti ke pro-angiogenik. Tingkat VEGFxxx diregulasi dan membanjiri isoform VEGFxxx pada mata diabetes yang menyebabkan angiogenesis.⁵¹

Kelebihan protein VEGF dapat mengikat reseptor spesifik pada sel endotel kapiler glomerulus, menyebabkan peningkatan permeabilitas glomerulus dan ultrafiltrasi. Perubahan ini dapat terjadi baik secara langsung, melalui kerusakan endotel kapiler berfenestrasi dan/atau komponen membran dasar, atau secara tidak langsung melalui induksi awal NO.⁷²⁻⁷⁴ kelebihan produksi VEGF, mengganggu *cross-talk* antara podosit dan sel endotel dan memperburuk kerusakan endotel yang ada.^{7,8}

Pengurangan podosit mencerminkan penurunan regulasi VEGF ginjal pada tahap penyakit ini.⁷⁴ Penurunan VEGF ini bersifat relatif dan tidak absolut karena podosit yang hidup masih mampu mengekspresikan sitokin secara berlebihan pada kondisi diabetes.⁷⁵ Kelebihan produksi VEGF ini dapat menyebabkan lebih banyak kehilangan podosit. Ketersediaan NO di medula glomerulus juga berkurang seiring dengan perkembangan diabetes yang pada akhirnya terjadinya DN. *Uncoupling* VEGF-endothelial *nitric oxide axis* pada tahap akhir menyebabkan glomerulosklerosis, atrofi tubular dan peningkatan proteinuria lebih lanjut yang dikenal sebagai DN.^{72,76}

2.3.3. Varian Gen VEGF

VEGF-A rs699947 merupakan variasi genetik dari gen VEGF yang terletak pada kromosom 6, sekuen basa 43768652 pada sekuen referensi GRCh 6p21.3 atau pada sekuen basa nukleotida -2578 C/A promotor gen VEGF. Frekuensi alel minor (MAF) dari SNP ini berkisar dari 0,274.

Polimorfisme nukleotida tunggal VEGF (SNP) rs699947 (-2578C>A) dilaporkan mengubah status ekspresi gen. Mekanisme hipoksia terkait dengan isoform VEGF yang mengakibatkan DN dan perkembangan DN selanjutnya ditentukan pada pentingnya VEGF dalam patofisiologi ginjal. Hipoksia jangka panjang yang mempengaruhi isoform pro-angiogenik VEGF A 164 dan isoform dis-angiogenik 120 dan 188 mengakibatkan kerusakan struktur pembuluh darah ginjal yang mengarah pada situasi patologis pada sel epitel tubular.¹⁰

Sebuah studi *cross-sectional* menyatakan bahwa hubungan varian genetik VEGF SNP (rs699947) berpengaruh dalam menyebabkan terjadinya komplikasi dari diabetes mellitus tipe 2. dinyatakan bahwa variasi genetik menyebabkan Kadar protein VEGF pada penderita DM dengan komplikasi akan cenderung menurun karena fibroblas diabetik tidak dapat meningkatkan produksi VEGF pada kadar normal sebagai respon terhadap kondisi hipoksia. Hal ini menyebabkan tubuh berusaha untuk memperbaiki kadar VEGF ke keadaan normal yang berujung dengan kegagalan kontrol kadar VEGF yang menyebabkan lonjakan kadar VEGF yang tinggi. Kadar dan aktivitas VEGF yang tidak normal menyebabkan terganggunya proses penyembuhan luka ulkus pada ekstremitas terutama angiogenesis, sehingga fase proliferasi sel dan deposisi matriks juga lebih lambat.

8

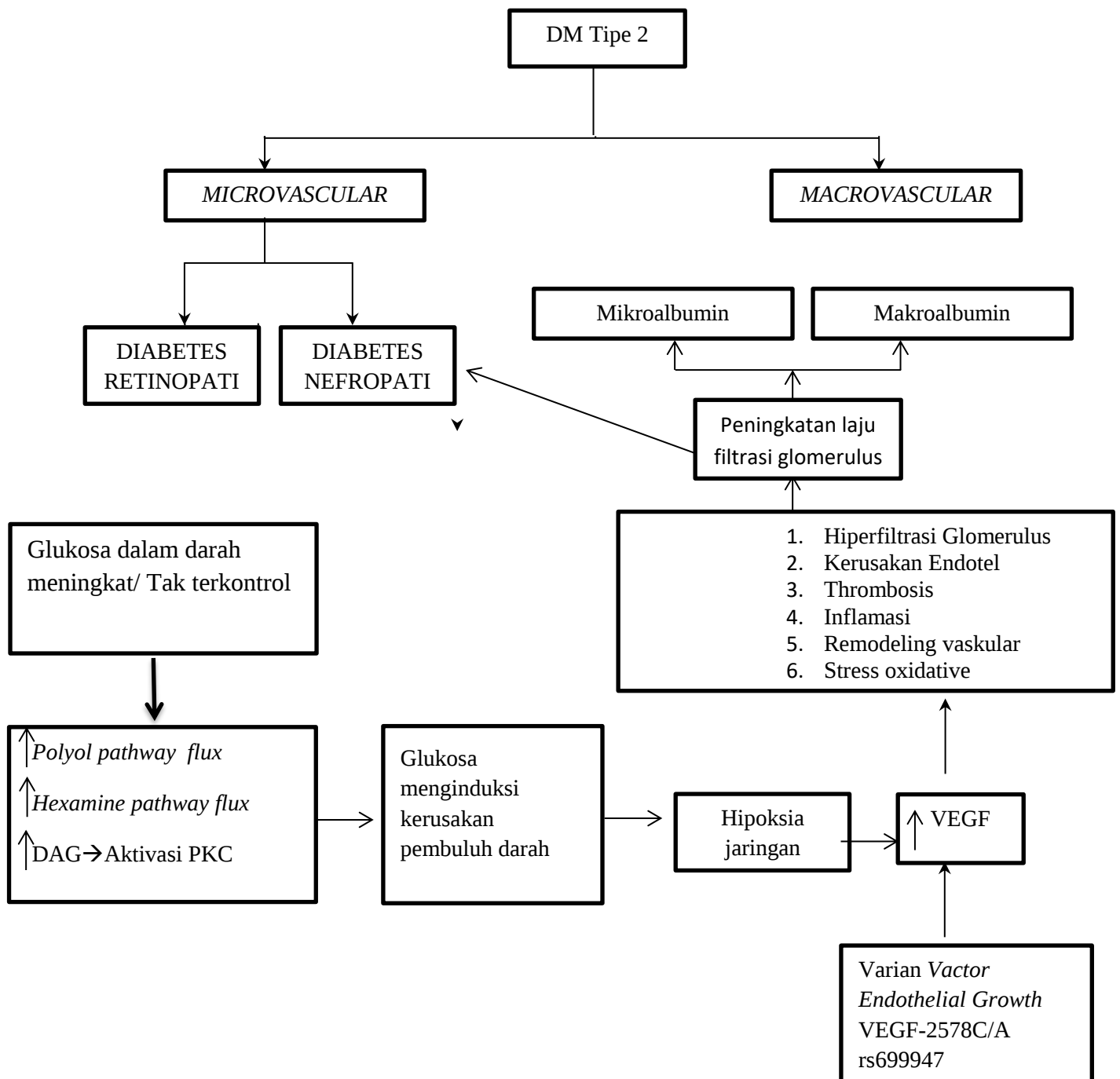
Sebuah studi di Cina menunjukkan efek perlindungan dari individu yang membawa alel C pada kejadian retinopati diabetik terkait dengan kadar albumin, HbA1c dan insulin. Dalam sebuah penelitian di China, ditemukan adanya hubungan antara variasi genetik VEGF-2578C/A (rs699947) dengan terjadinya retinopati diabetik. Hubungan tersebut terlihat dari variasi kadar HbA1c pada pasien retinopati diabetik. Bila diamati pada penelitian ini, alel A dapat meningkatkan kadar HbA1c pada retinopati diabetik.⁷⁷

Selain itu, studi epidemiologi telah menunjukkan varian genotip VEGF-2578C/A (rs699947) pada populasi Jepang menjadi faktor risiko retinopati diabetik. Berdasarkan pengamatan, diketahui bahwa genotip AA dengan snp rs699947 pada gen VEGF merupakan faktor predisposisi yang mungkin berhubungan dengan retinopati diabetik, yang dapat meningkatkan regulasi kadar mRNA pada gen VEGF melalui sintesis VEGF intraokular. Alel C juga dikatakan menunjukkan efek perlindungan yang terkait dengan kadar HbA1c, tekanan darah sistolik dan diastolik, serta kadar kolesterol total dan trigliserida serum. Genotip AA secara statistik signifikan dengan PDR (retinopati diabetik proliferatif) di mana nilai $p=0,002$ dengan OR untuk PDR CA+CC adalah 7,5 (95% CI: 1,8–30,9, $p=0,002$) dalam model resesif, jadi genotip AA pada rs699947, retinopati diabetik dikaitkan (OR=7.5, 95% CI: 1.8-30.9, $p=0.002$) dengan genotip CC sebagai faktor pelindung dalam proses penyakit karena ekspresi mRNA yang lebih rendah pada dialisis peritoneal dibandingkan dengan genotip CA/AA. Oleh karena itu, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ada hubungan antara rs699947 dengan retinopati diabetik.⁷⁸

Studi pada populasi Eropa dan Asia Timur menunjukkan bahwa populasi Eropa dikaitkan dengan terjadinya signifikan retinopati $p < 0,05$ dan OR = 1,47, 95% CI = 1,07-2,02, di mana frekuensi VEGF-2578C/A (rs699947)-menggabungkan 4 studi di Eropa [CC 113 (26,84%), AC 215 (51,07%) dan AA 103 (24,47%)], tetapi pada populasi Asia Timur tidak ada hubungan dengan kejadian retinopati diabetik.

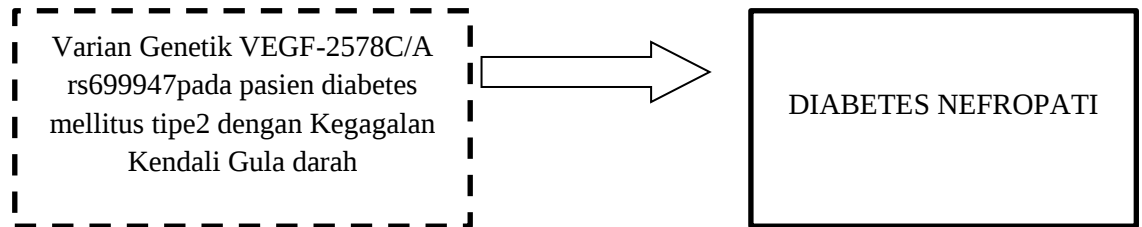
Sebuah studi meta-analisis dari empat populasi Eropa juga menunjukkan bahwa genotip VEGF-2578C/A (rs699947) dikaitkan dengan peningkatan risiko diabetes mellitus tipe 2 (model resesi yang sama; rasio odds (OR): 1,4 (95% CI: 1.1-) 1.8), 1.5 (95% CI: 1.1-2.0) dan 1.2 (95% CI: 1.0 -1.5), genotip CA merupakan faktor protektif pada diabetes melitus tipe 2. Genotip CC dan haplotipe AA pada diabetes melitus tipe 2. risiko diabetes melitus tipe 2.⁷⁹

2.4 Kerangka Teori



Gambar 2. 1 Kerangka Teori

2.5 Kerangka Konsep



Keterangan :

 : Variabel Dependen
 : Variabel Independen

2.6 Hipotesis

Berdasarkan dari kerangka konsep yang telah dibuat maka didapatkan hipotesis sebagai berikut

H0: Tidak ada Hubungan *Polimorfisme Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) Sebagai Faktor Risiko Kejadian Diabetes Nefropati Pada Pasien Diabetes Mellitus Tipe 2 Dengan Kegagalan Kendali Glukosa Darah

H1: Ada Hubungan *Polimorfisme Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) Sebagai Faktor Risiko Kejadian Diabetes Nefropati Pada Pasien Diabetes Mellitus Tipe 2 Dengan Kegagalan Kendali Glukosa Darah.

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian berikut merupakan lanjutan penelitian terdahulu dari penelitian Elfiani dkk (2020)⁸⁰ Penelitian ini menggunakan jenis penelitian analitik komparatif kategorik dengan rancangan *case control*. Penelitian analitik komparatif kategorik dengan rancangan *case control* dilakukan untuk Mengetahui Hubungan *Polimorfisme Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)* Sebagai Faktor Risiko Kejadian Diabetes Nefropati Pada Pasien Diabetes Mellitus Tipe 2 Dengan Kegagalan Kendali Glukosa Darah

3.2 Tempat dan Waktu penelitian

1. Penelitian akan dilakukan di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan Universitas Jambi
2. Waktu penelitian akan dilakukan dalam rentang waktu Juli 2022 sampai dengan September 2022

3.3 Subjek Penelitian

3.3.1 Populasi Penelitian

Populasi penelitian ini diambil dari populasi penelitian sebelumnya yang sudah dilakukan oleh Elfiani dkk (2020)⁸¹ yang merupakan pasien diabetes Mellitus tipe 2 yang berdomisili di Jambi dan menjalani perawatan rutin di Rumah Sakit Umum Daerah (RSUD) Raden Mattaher, Rumah Sakit Pertamedika Baiturrahim Jambi, Rumah Sakit Mayang Medical Center Jambi.

3.3.2 Sampel Penelitian dan Besar Sampel

Sampel penelitian ini merupakan kelompok pasien diabetes nefropati dan kelompok pasien tanpa diabetes nefropati dengan jumlah yang sama. Penelitian memakai sampel DNA pasien DMT2 dengan DN dan tanpa DN yang telah diekstraksi sebelumnya, dan telah digunakan pada penelitian sebelumnya yang berasal dari penelitian Elfiani dkk (2020) dengan judul *Plasma Levels of the Engulfment and Cell Motility Protein-1 are Associated with Kidney Damage in*

*Diabetic Nephropathy*⁸⁰ yang di mana merupakan menjadi salah satu prediktor diabetes nefropati.

Besar sampel penelitian ditentukan dengan menggunakan rumus uji hipotesis (2 arah) terhadap perbedaan 2 proporsi.

$$n_1 = n_2 = \left(\frac{z\alpha\sqrt{2PQ} + z\beta\sqrt{(P_1Q_1 + P_2Q_2)^2}}{(P_1 - P_2)^2} \right)$$

Keterangan:

n 1 = Jumlah sampel penderita DM tipe-2 dengan DKD

n 2 = Jumlah sampel penderita DM tipe-2 tanpa DKD

α (2 arah) = Tingkat kemaknaan = 0,05 $\rightarrow z\alpha =$

1,96 power = 80% $\rightarrow z\beta = 0,842$

P1 = Proporsi DM tipe-2 dengan DKD = 0,3

(literatur 20% - 40%)

P2 = Proporsi DM tipe-2 tanpa DKD = 0,7

P = $\frac{1}{2} (P_1 + P_2) = 0,5$

Q = $1 - P = 0,5 \rightarrow Q_1 = 0,7 ; Q_2 = 0,3$

n1 = n2 = 23,31943

Dari hasil penggunaan rumus di atas bahwa dibutuhkan minimal sampel dengan jumlah 24 orang untuk setiap kelompok baik diabetes tanpa DN maupun diabetes tanpa DN.

3.3.3. Kriteria Inklusi dan Kriteria Eksklusi

Kriteria inklusi dan eksklusi diambil berdasarkan pada penelitian sebelumnya oleh Elfiani dkk (2020).⁸⁰ Adapun, kriteria inklusi dan eksklusi yang digunakan adalah sebagai berikut.

3.3.3.1 Kriteria Inklusi

1. Semua sampel DNA yang sudah diekstraksi dan memiliki kualitas yang baik. Kualitas dan jumlah DNA dilakukan di Laboratorium Biomedik Universitas Andalas diukur menggunakan nanodrop dengan indeks nanodrop di setidaknya ~ 1.8 , Genotip dilakukan oleh dua langkah tetra

Amplifikasi refraktori sistem mutasi-rantai polimerase reaksi (ARMS-PCR) yang menunjukkan produk umum dan alel spesifik produk.⁸¹

3.3.3.2 Kriteria Eksklusi

1. Sampel DNA yang tidak berhasil di *genotyping* dengan metode yang sudah ditetapkan
2. Sampel DNA yang tidak memiliki data demografi yang lengkap

3.4 Definisi Operasional

Variabel untuk membatasi ruang lingkup atau pengertian variabel-variabel yang diamati/diteliti, perlu sekali variabel-variabel tersebut diberi batasan atau definisi operasional. Definisi operasional ini juga bermanfaat untuk mengarahkan kepada pengukuran atau pengamatan terhadap variabel-variabel yang akan diteliti serta untuk pengembangan instrumen.

Tabel 3. 1 Definisi Operasional

Definisi Variabel	Metode Pengukuran	Hasil	Skala
Varian Genetik VEGF snp rs699947 merupakan snp yang terletak pada urutan basa ke 43768652 dengan reference sequence NCBI GRCh 6p21.3 dengan substitusi basa C menjadi A, dengan nilai minor alel frequency (MAF) > 0.2 berdasarkan data based NCBI khususnya bila ada data untuk populasi Asia.	<i>Genotyping</i> menggunakan metode ARMS PCR	Fragment berbagai ukuran hasil restriksi yang menunjukkan alel dan tervisualisasi dari hasil <i>elektroforesis</i> . Alel A ditunjukkan dengan fragmen berukuran 149bp. Alel C ditunjukkan dengan fragmen berukuran 243bp	Nominal
Diabetes Nefropati merupakan pasien diabetes mellitus tipe 2 dengan kadar	Penentuan diagnosis berdasarkan hasil laboratorium yang diperiksa dengan	Merupakan penderita DN dan tidak DN	Nominal

Definisi Variabel	Metode Pengukuran	Hasil	Skala
<i>albumin creatinine ratio (ACR) urine</i> $\geq$ 30 mg/g Cr22	<i>immunoturbidimetry</i> yang telah didapatkan melalui rekam medis		
eGFR <i>glomerular filtration rate</i> atau laju filtrasi glomerulus adalah laju rata-rata penyaringan darah yang terjadi di glomerulus.	Dilakukan dengan sampel biopsi jaringan atau slide sitologi dan juga dengan sampel plasma (ctDNA / circulating free tumor DNA)	Nilai GFR normal > 60 mg/dL	Nominal
Tekanan darah merupakan rerata tekanan darah sistolik dan diastolik pada dua pengukuran pada individu yang sama. Pengukuran pertama pada 5 menit setelah subjek istirahat, pengukuran kedua minimal 1 menit dari pengukuran pertama.	<i>Sphygmomanometer</i> dengan mengacu pada bunyi Korotkoff.	Tekanan darah dinyatakan sebagai sistolik/diastolik dalam mmHg, sistolik mmHg <120 mmHg atau tekanan darah diastolik < 80 mmHg.	Interval
Glukosa Plasma merupakan kadar glukosa plasma dari subjek penelitian dengan pemeriksaan gula darah puasa, gula darah 2 jam setelah makan.	Pengukuran dilakukan dengan teknik kolorimetri, CHOD-PAP, dari sampel plasma darah EDTA	Kadar glukosa plasma puasa $\geq$ 126 mg/dl, kadar glukosa plasma sewaktu $\geq$ 200 mg/dl	Ordinal
Hiperglikemia tak terkontrol Merupakan keadaan kadar glukosa darah dalam darah tinggi pada keadaan mendapatkan pengobatan	Pengukuran dilakukan dengan teknik kolorimetri, CHOD-PAP, dari sampel plasma darah EDTA	kadar glukosa plasma sewaktu $\geq$ 180 mg/dl	Ordinal

3.5 Alat dan Bahan

3.5.1 Ekstraksi DNA

Alat dan bahan : mikropipet dan tips, *sentrifuge* dingin 13.000 rpm, water bath, tabung vakum EDTA, jarum 22 G, holder, kapas alkohol, vortex, tabung Eppendorf, kit ekstraksi DNA dari FavorPrepR yang terdiri dari Proteinase-K, FABG Buffer (30-60% Guanidine hydrochloride), W1 Buffer (30-60% Guanidine hydrochloride), *Wash Buffer*, *Elution Buffer*, *FABG column*, 2 ml tabung koleksi, Ethanol 96-100%.

3.5.2 ARMS-PCR SNP rs699947

DNA template hasil ekstraksi primer untuk SNP rs699947.

Tabel 3.5. ARMS-PCR SNP rs699947

Direction	Primer sequence	Product Size
FO-VEGF	5 CCTTTTCCTCATAAGGGCCTTAG -3	353 bp
RO-VEGF	5- AGGAAGCAGCTTGGA AAAATTC -3	
FI-VEGF (Fwt) A alele	5-TAGGCCAGACCCTGGCAA-3	149bp
RI-VEGF (Rmt) C alele	5- GTCTGATTATCCACCCAGATCG- 3	243bp

***Fo-outer forward primer, Ro-Reverse outer primer; AT-annealing temperature; FI-Inner forward primer, RI-Inner Reverse primer**

Alat dan bahan : mikropipet dan tips, 50 μ M normal ARMS primer, 50 μ M mutant ARMS primer, 50 μ M *common* primer, 50 μ M setiap kontrol primer, 1 mM 4dNTP mix (APPENDIX 2), 10 $\times$ PCR *amplification buffer containing* 12 mM MgCl₂(APPENDIX 2), kontrol DNA dari sampel yang diketahui (10 to 50 ng/ μ l in H₂O), *Light mineral oil*, 5 U/ μ l Taq DNA *polymerase* (Perkin-Elmer Cetus AmpliTaq or equivalent), Nusieve 3:1 agarose (FMC Bioproducts) 1 $\times$ TBE *buffer* (APPENDIX 2) yang mengandung 0.5 μ g/ml *ethidium bromide*, penanda ukuran molekul DNA, Tes sampel DNA (10 to 50 ng/ μ l in H₂O; support protocols) Perkin-Elmer Cetus *thermal cycler* (480 or TC) dan pilih tabung reaksi yang cocok.

3.6. Cara Penelitian

3.6.1 ARMS-PCR SNP rs699947

1. Sebelum melakukan ARMS, perlu dilakukan pembuatan *master mix* ARMS. Primer ARMS harus oligonukleotida sekitar 30 atau lebih. Primer Panjangnya kurang dari 28 harus dihindari.
2. Persiapan sampel DNA yang berasal dari penelitian sebelumnya telah dibekukan sebelumnya dan dicairkan kembali sebelum penggunaan.
3. Tambahkan satu tetes mineral oil ke setiap tabung reaksi dan tutup dengan kuat. *Microcentrifuge* 10 detik dengan kecepatan tinggi.
4. Lakukan pencampuran antara PCR master mix dan bahan yang lain dengan perbandingan sebagai berikut: 15 μ L Master Mix; 2 μ L masing masing primer; 2 μ L DNA *template* dan *nuclease free water* hingga volume 30 μ L. Campuran yang telah dimasukkan ke tabung PCR kemudian di vortex selama 30 detik agar tercampur dengan baik.
5. Campuran kemudian dimasukkan kedalam *thermocycler* dengan kondisi reaksi PCR : suhu inisiasi denaturasi 95 °C selama 10 menit; diikuti 10 siklus melting 95 °C selama 15 detik; suhu annealing 65 °C 28 selama 50 detik; suhu elongasi 72 °C selama 40 detik; 25 siklus melting suhu 95°C selama 15 detik, annealing 59°C selama 50 detik dan elongasi 72 °C selama 50 detik. Total reaksi PCR dilakukan sebanyak 35 siklus.

3.6.2 Elektroforesis

1. Siapkan gel agarosa 3% menggunakan 4,5 g Nusieve 3: 1 agarose dan 150 ml 1 $\times$ TBE *buffer* dengan 0,5 μ g / ml *ethidium bromide*.
2. Beri label tabung *microcentrifuge* 0,5ml untuk setiap reaksi. Tambahkan 10 μ l loading buffer setiap tabung.
3. Transfer 25 μ l reaksi ARMS dari bawah lapisan *mineral oil* yang sesuai tabung berlabel. Campur dengan pipet. 8. Muat 20 μ l setiap reaksi per jalur dan sertakan penanda ukuran molekul DNA satu jalur gel. 9. *Electrophoresis* 1 hingga 2 jam pada 120 V dan foto di bawah transiluminasi UV. 10. Analisis setiap jalur untuk mengetahui fragmen ukuran fragmen kontrol dan

ARMS yang diharapkan fragmen alel C berukuran 243 bp dan alel A berukuran 149bp.

3.7 Pengambilan Data

Pada penelitian ini data yang digunakan adalah data primer, yaitu pasien yang telah didiagnosis diabetes nefropati dan memenuhi kriteria inklusi yang berasal dari penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Elfiani dkk (2020).⁸¹

3.7.1 Data Sekunder

Data sekunder merupakan data penunjang atau pelengkap yang diambil dari rekam medis pasien berupa hasil pemeriksaan kadar glukosa darah serta hasil pemeriksaan *Albumin Creatinine Ratio (ACR)* urin pada pasien dan riwayat DM yang berasal dari penelitian terdahulu oleh Elfiani dkk (2020).⁸¹

3.8 Pengolahan Data dan Analisis Hasil

3.8.1 Pengolahan Data

Pengolahan data pada penelitian mencakup :

1. *Editing*

Tahapan ini dilakukan bertujuan untuk melakukan kegiatan pengecekan terhadap kelengkapan data yang telah dicatat di lembar observasi.

2. *Coding*

Coding adalah tindakan mengubah data yang berbentuk huruf menjadi sebuah data berbentuk angka/bilangan. Manfaat dari data *coding* adalah guna memudahkan saat melakukan *entry* data.

3. *Processing*

Tahapan berikutnya adalah melakukan pemrosesan data agar data yang sudah di *entry* dapat dianalisis. *Processing* dilakukan dengan cara meng-*entry* data ke paket program computer.

4. *Cleaning*

Cleaning (pembersihan data) adalah tindakan pengecekan ulang data yang sudah di-*entry*, apakah terdapat kesalahan atau tidak.

3.8.2 Analisis Hasil

Karakteristik demografi dan klinis (baseline subjek) akan ditampilkan dalam bentuk proporsi bila skala data adalah ordinal atau nominal. Bila skala data adalah rasio atau interval tampilan dalam bentuk rerata $\pm$ simpangan deviasi bila berdistribusi normal atau interquartile range bila tidak berdistribusi normal. Data dalam skala rasio dan interval akan dilakukan uji normalitas, bila tidak normal maka akan dilakukan transformasi data. Dilakukan uji beda data baseline dengan chi square bila skala ordinal atau nominal. Dilakukan uji beda data baseline dengan student t-test bila skala rasio atau interval dan distribusi data normal, bila distribusi data tidak normal maka dilakukan uji nonparametric Mann-Whitney. Frekuensi alel dan genotip akan ditampilkan dalam bentuk proporsi dan dilakukan uji beda dengan chi square antara kelompok kasus dan kontrol. Nilai odds ratio akan dihitung untuk menentukan nilai odds alel risiko atau genotype risiko terhadap kejadian Diabetes Nefropati. Analisis multivariate dengan regresi logistik dilakukan untuk melihat pengaruh genotip (p value, nilai odds ratio dan confident interval) terhadap kejadian Diabetes Nefropati setelah mengendalikan faktor selain genotip. Nilai p signifikan bila $< 0,05$. Hardy Weinberg equilibrium dihitung, nilai $p > 0,05$ menandakan frekuensi alel sesuai dengan persamaan Hardy Weinberg.

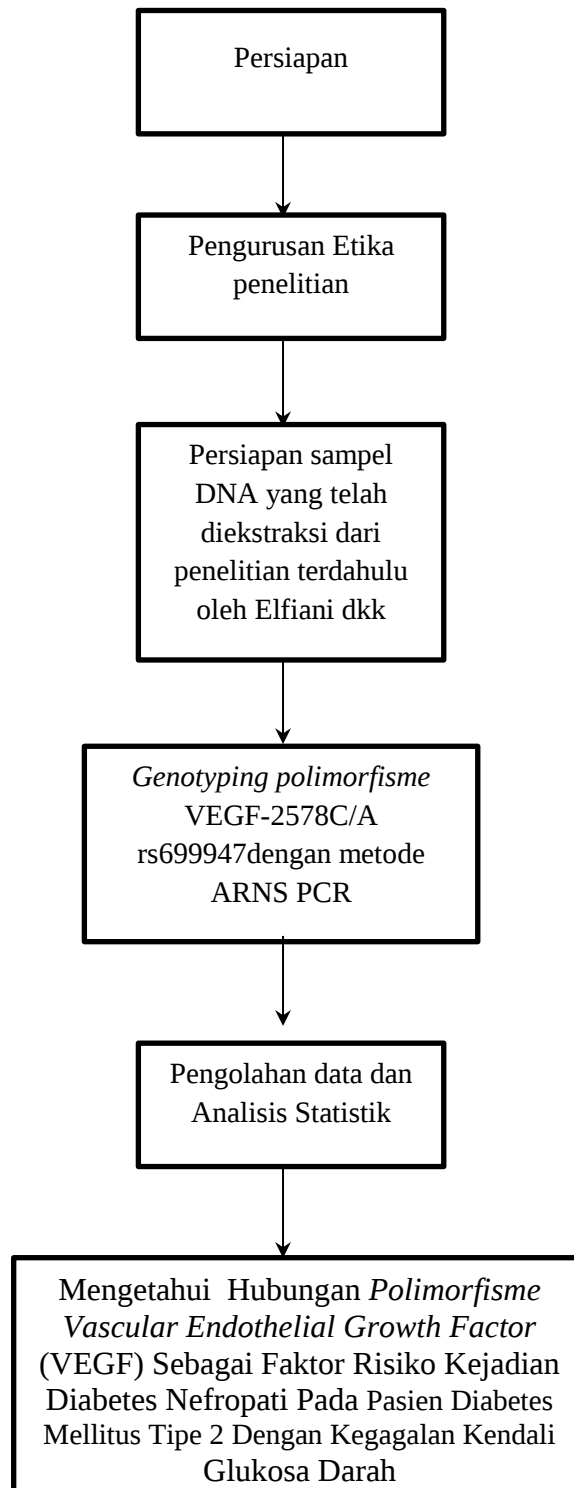
3.9 Etika Penelitian

Sebelum melaksanakan penelitian ini, peneliti terlebih dahulu akan melakukan permintaan izin penelitian terhadap pihak kampus Fakultas Kedokteran dan Ilmu kesehatan Universitas Jambi. Selain itu, peneliti meminta izin kepada peneliti sebelumnya untuk melakukan penelitian serta menggunakan sampel DNA yang telah diekstraksi oleh peneliti sebelumnya yaitu Elfiani dkk (2020).

3.10 Keterbatasan Penelitian

Peneliti hanya melakukan kegiatan penelitian sementara atau satu kali saja dalam satu waktu dengan tidak melakukan follow up atau melakukan pengamatan jangka panjang terhadap subjek penelitian. Pada penelitian ini jumlah sampel yang akan diteliti hanya dalam jumlah kecil sehingga hasil penelitian yang di dapat masih dipengaruhi oleh jumlah sampel yang masih sedikit.

3.11 Alur Penelitian



Gambar 3. 1 Alur Penelitian

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil

4.1.1 Karakteristik Dasar Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada Juli 2022 sampai November 2022 bertempat di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Jambi. Penelitian ini menggunakan 48 sampel DNA yang terdiri atas 24 sampel DNA dengan kondisi pasien mengalami Diabetes Nefropati dengan keadaan glukosa darah tak terkontrol serta 24 sampel DNA dengan kondisi pasien mengalami Diabetes Mellitus Tipe 2 dengan keadaan glukosa darah tak terkontrol. Seluruh sampel yang digunakan telah memenuhi kriteria. Sampel yang diambil merupakan sampel yang berasal dari pasien dengan Etnis Melayu yang berdomisili di daerah Kota Jambi.

Tabel karakteristik dasar penelitian dapat dilihat dibawah.

Tabel 4.1 Karakteristik Subjek Penelitian

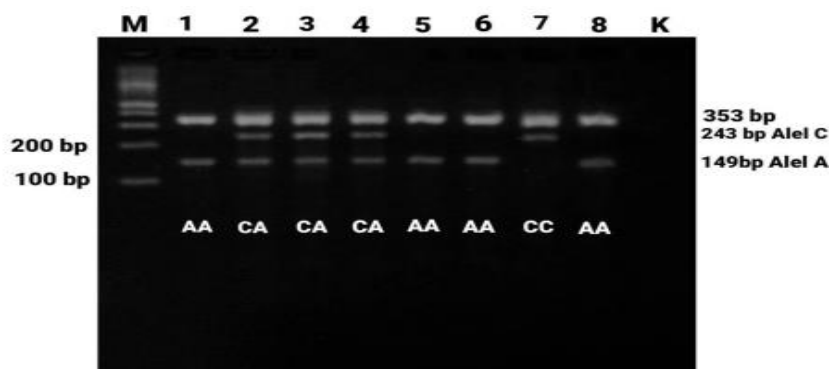
Karakteristik	DN	NON DN	Nilai P
Usia (Tahun)	51 (29-60)	50,5 (22-60)	0,852 ^b
Jenis Kelamin			
Laki-Laki	10 (41,7%)	10 (41,7%)	1,000
Perempuan	14 (58,3%)	14 (58,3%)	
Tekanan Darah Sistolik (mmHg)	140,83 ± 17,17	121,38 ± 11,04	<0,001 ^a
Tekanan Darah Diastolik (mmHg)	80 (60-100)	80 (70-90)	0,361 ^b
ACR urin (mg/g Cr)	377,30 (32,16-5237,69)	12,03 (3,84-26,26)	<0,001 ^b
eGFR (mL/menit/1,73 m ²)	66,73 ± 31,58	94,03 ± 22,83	0,001 ^a
GDP (mg/dl)	168,67±50,926	164,17±49,183	0,642
GDNPP (mg/dl)	248,84±50,384	266,88±70,432	0,671

*Nilai P signifikan <0,05, ^a Uji *independent t-test*, ^b Uji *non parametric* digunakan setelah dilakukan uji normalitas dan tidak terdistribusi dengan normal. ACR : *albumin creatinine ratio*, eGFR: *glomerular filtration rate*, GDP: Gula darah puasa, GDNPP: Gula darah post prandial.

Dalam uji didapatkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang berarti pada karakteristik usia dan tekanan darah diastolik, gula darah puasa dan gula darah post prandial pada kelompok kontrol dan kasus. Dilain hal didapatkan perbedaan yang berarti pada kelompok kontrol dan kasus dengan sebjek karakteristik berupa tekanan darah sistolik, ACR urin dan eGFR.

4.1.2 Variasi Genetik VEGF rs699947

Genotyping dilakukan dengan metode tetra ARMS PCR. Produk PCR ditampilkan melauli proses elektroforesis. Produk utama PCR berupa 353 bp. Produk PCR adalah fragmen DNA dengan panjang 149bp untuk alel A dan alel C ditunjukkan dengan panjang fragmen 243 bp.heterozygot CA ditampilkan dengan 3 produk PCR yang berbeda dengan panjang fragmen 353 bp, 243 bp, dan 149 bp. Homozigot AA dan CC ditampilkan pada 2 produk PCR berlainan yaitu produk utama dan produk alel yang spesifik.



Gambar 4.1 Elektroforesis tetra ARMS PCR VEGF-A rs699947 C / A. Alel ditunjukkan oleh produk PCR 149 bp, alel C ditunjukkan oleh produk PCR 243 dan produk umum ditunjukkan oleh produk PCR 353 bp. Jalur 2, 3, dan 4 menampilkan CA heterozigot. Jalur 7 diperlihatkan CC homozigot. Jalur 1, 5, 6, dan 8 menunjukkan homozigot AA.

4.1.3 Distribusi Genotip dan Keseimbangan Hardy Weinberg Variasi Genetik VEGF-A rs699947 C/A

Penelitian ini menunjukkan bahwa frekuensi tertinggi genotip yang ditemukan adalah CC yang selanjutnya diikuti oleh AC dan AA. Keseimbangan Hardy Weinberg menunjukkan nilai X^2 adalah 4,41 dengan nilai p adalah 0,11029. Distribusi genotip rs699947 menunjukkan bahwa tidak menyimpang dengan keseimbangan Hardy Weinberg.

Tabel 4.2 Frekuensi genotip rs699947 C / A dan kesetimbangan Hardy Weinberg

Variasi Genetik	Frekuensi Observasi n(%)	Frekuensi Harapan	X^2 (df)	Nilai P	MAF
AA	11	7	4,41	0,11029	0,40
AC	16	23			
CC	21	18			
Total	48	48			

MAF: *minor allele frequency*

4.1.4 Peran Variasi Genetik VEGF-A rs699947 C/A terhadap Diabetes Nefropati

Penelitian ini menunjukkan frekuensi genotip CC pada kontrol lebih tinggi daripada kelompok kasus. Frekuensi genotip AA pada kontrol lebih tinggi pada kasus. Frekuensi genotip AC pada kasus lebih tinggi daripada kontrol.

Tabel 4.3 Hubungan genotip dengan kejadian Diabetes Nefropati

Genotip	DN n=24	Kontrol n=24	Nilai P ^a	OR (95%CI)
AA	5	6	Reff	
AC	9	7	0,581	1,543 (0,329-7,226)
CC	10	11	0,907	1,091 (0,252-4,714)
AC+CC	19	18	0,731	1,267 (0,328-4,889)

*Chi-square; DN merupakan kelompok Diabetes Nefropati; Reff merupakan genotip/alel pembanding

4.2 Pembahasan

4.2.1 Karakteristik Dasar Subjek Penelitian

Dalam penelitian ini matching antara subjek kelompok kontrol dan kasus dilakukan berdasarkan usia dan jenis kelamin. Jumlah jenis kelamin sampel tidak terdapat perbedaan berarti secara statistik antara kelompok kontrol dan kasus.

Karakteristik subjek penelitian dengan skala kontinyu dilakukan uji normalitas dengan metode *Shapiro-Wilk*. Uji *Independent t-test* digunakan pada data yang memiliki distribusi normal dan uji *Man-Whitney test* dilakukan data yang memiliki distribusi tidak normal.

Akibat intoleransi glukosa yang disebabkan oleh faktor degeneratif, yang menyebabkan penurunan fungsi tubuh, terutama metabolisme glukosa, serta penurunan aktivitas fisik, penurunan massa otot, peningkatan jaringan adiposa, yang mengarah pada faktor risiko perkembangan. Komplikasi diabetes⁴⁴.

Studi epidemiologis menunjukkan bahwa pria memiliki risiko lebih tinggi terkena diabetes nefropati dibandingkan wanita. Pria memiliki risiko lebih tinggi terkena diabetes nefropati berdasarkan data dari Indonesia dan Australia yang menunjukkan bahwa risiko diabetes nefropati lebih tinggi pada pria dibandingkan wanita. Setiap tahun lebih banyak pria daripada wanita. Studi *Kohort* Penilaian dan Skrining Awal India juga menemukan bahwa ada lebih banyak laki-laki (62,5%) daripada perempuan (37,5%). Namun, penelitian lain di Spanyol menunjukkan bahwa wanita lebih cenderung mengalami disfungsi ginjal dibandingkan pria (16,6% pada wanita; 13,2% pada pria; $p < 0,001$).⁴⁵

Berdasarkan tinjauan literatur, peningkatan serum CR diamati, menunjukkan penurunan fungsi ginjal. Tingkat CR serum dihilangkan dengan kombinasi filtrasi dan sekresi ginjal, konsentrasi plasma relatif sama, tingkat yang lebih tinggi dari normal menunjukkan disfungsi ginjal, sehingga serum CR terkait erat dengan timbulnya diabetes Nefropati. Kreatinin urin dianggap lebih penting dalam perkembangan diabetes nefropati dan merupakan indikator spesifik penyakit ginjal. Tingkat kreatinin 2,5 mg/dL dapat mengindikasikan kerusakan ginjal. Kadar kreatinin urin sangat berguna dalam mengevaluasi fungsi glomerulus. Dapat

dijelaskan bahwa kreatinin urin merupakan faktor predisposisi terjadinya diabetes nefropati⁴⁷.

Hipertensi sistemik menyebabkan hiperfiltrasi dan gangguan hemodinamik, yang berkontribusi pada perkembangan lesi pada glomerulus yang berkontribusi menyebabkan diabetes nefropati. Kekuatan hemodinamik intraglomerular yang abnormal mengubah pertumbuhan dan fungsi sel glomerulus, mesangial, dan epitel dengan meningkatkan tekanan fisik dan mekanik, yang menyebabkan pembentukan matriks mesangial dan penebalan membran basal, yang merupakan ciri khas diabetes nefropati⁴⁸.

Berdasarkan *American Diabetes Association*, 2017. Glukosa darah puasa (BG) ≥ 126 mg/dL (7,0 mmol/L). Puasa didefinisikan sebagai tidak ada asupan kalori selama minimal 8 jam, dengan glukosa darah postprandial 2 jam ≥ 200 mg/dL (11,1 mmol/L) dengan tes toleransi glukosa oral (OGTT). Ketika kadar glukosa darah melebihi 200 mg/dL, maka dikategorikan sebagai glukosa darah yang tinggi, yang menyebabkan produksi produk glikosilasi lanjut (AGE), yang dapat mengubah struktur protein dan disfungsi pembuluh darah, kerusakan glomerulus, proteinuria, dan gagal ginjal. kegagalan⁷⁹.

4.2.2 Peran Variasi Genetik VEGF-A rs699947 C/A terhadap Diabetes Nefropati

Pada penelitian ini Variasi Genetik VEGF-A rs699947 didapatkan nilai MAF sebesar 0,40. Penelitian ini menunjukkan signifikansi yang berdasarkan kesetimbangan Hardy Weinberg dengan nilai rujukan p adalah 0,11029. Hasil tersebut didapatkan melalui penggunaan kalkulator yang sudah ditetapkan oleh Keseimbangan Hardy Weinberg dengan memasukkan kode genotip.

Penelitian ini menunjukkan kelompok kasus genotip CC sejumlah 10 orang 47,6% dan genotip CC pada kelompok kontrol sejumlah 11 orang 52,4% dengan nilai OR 95% CI:1,091 (0,252-4,714) dilain hal pada kelompok kasus genotip AC sejumlah 9 orang 56,3% dan genotip AC pada kelompok kontrol sejumlah 7 orang 43,7% dengan nilai OR 95% CI: 1,543 (0,329-7,226) memiliki risiko kejadian Diabetes Nefropati dapat terjadi dibandingkan dengan genotip AA. Pada penelitian ini genotip AC+CC berjumlah sebanyak 37 orang terdiri dari 19 kelompok kasus

dan 18 kelompok kontrol menunjukkan bahwa tidak bermakna secara statistic dimana P value adalah 0,731, akan tetapi genotip AC dapat menjadi faktor risiko kejadian Diabetes Nefropati dengan nilai OR 95% CI:1,267 (0,328-4,889).

Penelitian ini menunjukkan bahwa alel C yang ditemukan pada genotip AC dan model resesif AC+CC menunjukkan alel C sebagai pembawa faktor risiko dalam menyebabkan kejadian DN dan sebaliknya alel A menunjukkan sebagai alel pelindung terhadap kejadian DN.

Dalam sebuah studi menyatakan bahwa VEGF-A C/A SNP (rs699947) menyebabkan Kadar protein VEGF pada penderita DM dengan komplikasi akan cenderung menurun karena fibroblas diabetik tidak dapat meningkatkan produksi VEGF pada kadar normal sebagai respon terhadap kondisi hipoksia. Hal ini menyebabkan tubuh berusaha untuk memperbaiki kadar VEGF ke keadaan normal yang berujung dengan kegagalan kontrol kadar VEGF yang menyebabkan lonjakan kadar VEGF yang tinggi. Hipoksia jangka panjang yang mempengaruhi isoform pro-angiogenik VEGF A 164 dan isoform dis-angiogenik 120 dan 188 mengakibatkan kerusakan struktur pembuluh darah ginjal yang mengarah pada situasi patologis pada sel epitel tubular yang merujuk pada kejadian DN.¹⁰ Meskipun secara statistik tidak signifikan, frekuensi genotip AA lebih tinggi pada pasien yang tanpa ada mengalami DN dibandingkan pasien komplikasi DN, oleh karena itu genotip AA dapat menjadi faktor pelindung ESRD pada populasi Turki.

Sebuah studi di Cina menunjukkan efek perlindungan dari individu yang membawa alel C pada kejadian retinopati diabetik terkait dengan kadar albumin, HbA1c dan insulin. Dalam sebuah penelitian di China, ditemukan adanya hubungan antara variasi genetik VEGF-2578C/A (rs699947) dengan terjadinya komplikasi mikrovaskular. Hubungan tersebut terlihat dari variasi kadar HbA1c pada pasien retinopati diabetik. Bila diamati pada penelitian ini, alel A dapat meningkatkan kadar HbA1c pada retinopati diabetik.⁷⁷ Hal ini menunjukkan hasil yang berbeda dengan temuan yang dilakukan oleh peneliti.

Alel C juga dikatakan menunjukkan efek perlindungan yang terkait dengan kadar HbA1c, tekanan darah sistolik dan diastolik, serta kadar kolesterol total dan trigliserida serum. Genotip AA secara statistik signifikan dengan PDR (retinopati

diabetik proliferatif) di mana nilai $p=0,002$ dengan OR untuk PDR CA+CC adalah 7,5 (95% CI: 1,8–30,9, $p=0,002$) dalam model resesif, jadi genotip AA pada rs699947, retinopati diabetik dikaitkan (OR=7.5, 95% CI: 1.8-30.9, $p=0.002$) dengan genotip CC sebagai faktor pelindung dalam proses penyakit karena ekspresi mRNA yang lebih rendah pada dialisis peritoneal dibandingkan dengan genotip CA/AA. Oleh karena itu, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ada hubungan antara rs699947 dengan retinopati diabetik.⁷⁸

Sebuah studi meta-analisis dari empat populasi Eropa juga menunjukkan bahwa genotip VEGF-2578C/A (rs699947)-2578A/A, -1154A/A dan -634G/G dikaitkan dengan peningkatan risiko diabetes mellitus tipe 2 (model resesi yang sama; rasio odds (OR): 1,4 (95% CI: 1.1-1.8), 1.5 (95% CI: 1.1-2.0) dan 1.2 (95% CI: 1.0 -1.5), genotip CA merupakan faktor protektif pada diabetes melitus tipe 2. Genotip CC dan haplotipe AA pada diabetes melitus tipe 2. risiko diabetes melitus tipe 2.⁷⁹

Sebuah studi pada populasi Cina menyatakan Frekuensi genotip AA dan AC VEGF-A C/A (rs699947) lebih rendah pada pasien komplikasi mikrovaskular dibandingkan pasien dengan sehat ($P = 0,020$, $P = 0,031$), menunjukkan bahwa genotip AC dan AA berhubungan negatif dengan risiko komplikasi mikrovaskular yang berasal dari individu sehat (OR = 0,496, 95%CI = 0,274–0,899; ATAU = 0,130, 95%CI = 0,015–1,112). Tren penurunan signifikan alel rs699947 A diamati pada pasien DFU bila dibandingkan dengan kontrol ($P = 0,004$), menunjukkan alel A secara jelas berkorelasi dengan penurunan risiko komplikasi mikrovaskular (OR = 0,490, 95% CI = 0,298–0,804). Tetapi tidak ada perbedaan signifikan yang terdeteksi pada distribusi genotip dan alel rs13207351 antara pasien dan kelompok kontrol ($P > 0,05$)⁸⁵

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan dari penelitian didapatkan kesimpulan sebagai berikut:

1. Pasien dengan Diabetes Mellitus Tipe 2 dengan gula darah tak terkontrol dengan frekuensi genotip AC dan ACCC (Pembawa Alel C) lebih banyak terdapat pada diabetes nefropati, akan tetapi tidak bermakna secara statistik
2. Varian genetik VEGF rs699947 C/A tidak memiliki hubungan sebagai faktor risiko kejadian diabetes nefropati pada pasien diabetes mellitus tipe 2 dengan kegagalan kendali glukosa darah.

5.2 Saran

1. Penelitian lebih lanjut dibutuhkan dengan subjek penelitian yang lebih besar.
2. Penelitian pada populasi dan wilayah lain perlu dilakukan oleh peneliti selanjutnya.

DAFTAR PUSTAKA

1. Šeruga M, Makuc J, Završnik M, Cilenšek I, Ekart R, Petrovič D. Polymorphism of angiotensin-converting enzyme (rs4340) and diabetic nephropathy in Caucasians with type 2 diabetes mellitus. *Balk J Med Genet*. 2016 Dec 31;19(2):29–34.
2. Mihardja L, Delima D, Massie RGA, Karyana M, Nugroho P, Yunir E. Prevalence of kidney dysfunction in diabetes mellitus and associated risk factors among productive age Indonesian. *J Diabetes Metab Disord*. 2018 Jun;17(1):53–61.
3. Thomas MC, Brownlee M, Susztak K, Sharma K, Jandeleit-Dahm KAM, Zoungas S, et al. Diabetic kidney disease. *Nat Rev Dis Primer*. 2015 Dec 17;1(1):15018.
4. Alicic RZ, Rooney MT, Tuttle KR. Diabetic kidney disease: Challenges, progress, and possibilities. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*. 2017 Dec 7;12(12):2032–2045. Doi: 10.2215/CJN.11491116.
5. Anders HJ, Huber TB, Isermann B, Schiffer M. CKD in diabetes: Diabetic kidney disease versus nondiabetic kidney disease. *Nature Reviews Nephrology*. 2018 Jun;14(6):361–377.doi: 10.1038/s41581-018-0001-y.
6. Mooyaart AL. Genetik associations in diabetic nephropathy. *Clin Exp Nephrol*. 2014 Apr;18(2):197–200.
7. Wang W, Dentler WL, Borchardt RT. VEGF increases BMEC monolayer permeability by affecting occluding expression and tight junction assembly. *Am J Physiol-Heart Circ Physiol*. 2001 Jan 1;280(1):H434–40.
8. Isermann B, Vinnikov IA, Madhusudhan T, Herzog S, Kashif M, Blautzik J, et al. Activated protein C protects against diabetic nephropathy by inhibiting endothelial and podocyte apoptosis. *Nat Med*. 2007 Nov;13(11):1349–58.
9. Tufro A, Veron D. VEGF and Podocytes in Diabetic Nephropathy. *Semin Nephrol*. 2012 Jul;32(4):385–93.

10. The role of VEGF rs699947 polymorphism in End-Stage Renal Disease: A preliminary study. *Kastamonu Med J.* 2021 Mar 30;19–23.
11. Bassar IK, Jamsari J, Nasrul E, Humaryanto H. Relationship between Gene Polymorphism of Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) rs699947 with VEGF and Matrix Metalloproteinase-14 Protein Levels in Patient with Diabetic Foot Ulcer. *Open Access Maced J Med Sci.* 2022 Apr 29;10(A):720–4.
12. Alvin C. Powers. Diabetes Melitus in Kasper, et al editors. *Harrison's The Principle of the Internal Medicine.* 19th ed. United States :McGrawHill Education; 2015. Hal 2413-22
13. Kumar V., Abbas A. K., Aster, J. C., 2015 *Buku Ajar Patologi Robbins.* Singapura: Elsevier. Ed 9th. pp 297.
14. World Health Organization. Global status report on non communicable diseases 2014. WHO; 2014. (diakses 14Maret 2020) Diunduh dari [URL:http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/148114/1/9789241564854_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/148114/1/9789241564854_eng.pdf)
15. International Diabetes Federation. *Diabetes atlas sixth edition.* IDF; 2015
16. Keri KC, Samji NS, Blumenthal S. Diabetic nephropathy: newer therapeutic perspectives. *J Community Hosp Intern Med Perspect.* 2018 Jul 4;8(4):200–7.
17. Hussain S, Chand Jamali M, Habib A, Hussain MS, Akhtar M, Najmi AK. Diabetic kidney disease: An overview of prevalence, risk factors, and biomarkers. *Clin Epidemiol Glob Health.* 2021 Jan;9:2–6.
18. Reutens AT, Atkins RC. Epidemiology of Diabetic Nephropathy. In: Lai KN, Tang SCW, editors. *Contributions to Nephrology [Internet].* Basel: KARGER; 2011 [cited 2022 May 19]. p. 1–7. Available from: <https://www.karger.com/Article/FullText/324934>
19. Qi C, Mao X, Zhang Z, Wu H. Classification and Differential Diagnosis of Diabetic Nephropathy. *J Diabetes Res.* 2017;2017:1–7.
20. Thomas MC, Brownlee M, Susztak K, Sharma K, Jandeleit-Dahm KAM, Zoungas S, et al. Diabetic kidney disease. *Nat Rev Dis Primer.* 2015 Dec 17;1(1):15018.

21. Khoury CC, Chen S, Ziyadeh FN. Pathophysiology of Diabetic Nephropathy. In: Chronic Renal Disease [Internet]. Elsevier; 2015 [cited 2022 May 19]. p. 151–62. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780124116023000135>
22. Koye DN, Shaw JE, Reid CM, Atkins RC, Reutens AT, Magliano DJ. Incidence of chronic kidney disease among people with diabetes: a systematic review of observational studies. *Diabet Med*. 2017 Jul;34(7):887–901.
23. Saeedi P, Petersohn I, Salpea P, Malanda B, Karuranga S, Unwin N, et al. Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas, 9th edition. *Diabetes Res Clin Pract*. 2019 Nov;157:107843.
24. Parving HH, Lewis JB, Ravid M, Remuzzi G, Hunsicker LG. Prevalence and risk factors for microalbuminuria in a referred cohort of type II diabetic patients: A global perspective. *Kidney Int*. 2006 Jun;69(11):2057–63.
25. He F, Xia X, Wu XF, Yu XQ, Huang FX. Diabetic retinopathy in predicting diabetic nephropathy in patients with type 2 diabetes and renal disease: a meta-analysis. *Diabetologia*. 2013 Mar;56(3):457–66.
26. Parving HH, Gall MA, Skøtt P, Jørgensen HE, Løkkegaard H, Jørgensen F, et al. Prevalence and causes of albuminuria in non-insulin-dependent diabetic patients. *Kidney Int*. 1992 Apr;41(4):758–62.
27. Selby NM, Taal MW. An updated overview of diabetic nephropathy: Diagnosis, prognosis, treatment goals and latest guidelines. *Diabetes Obes Metab*. 2020 Apr;22(S1):3–15.
28. American Diabetes Association. 11. Microvascular Complications and Foot Care: *Standards of Medical Care in Diabetes—2019*. *Diabetes Care*. 2019 Jan 1;42(Supplement_1):S124–38.
29. Leung N, Bridoux F, Batuman V, Chaidos A, Cockwell P, D’Agati VD, et al. The evaluation of monoclonal gammopathy of renal significance: a

- consensus report of the International Kidney and Monoclonal Gammopathy Research Group. *Nat Rev Nephrol*. 2019 Jan;15(1):45–59.
30. McMillin JM. Blood Glucose. In: Walker HK, Hall WD, Hurst JW, editors. *Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations*. 3rd edition. Boston: Butterworths; 1990.
 31. Marks D, Marks A, Smith C. *Biokimia Kedokteran Dasar*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC; 2012.
 32. Triplitt CL. Understanding the kidneys' role in blood glucose regulation. *Am J Manag Care*. 2012 Jan;18(1 Suppl):S11-16.
 33. Deshpande AD, Harris-Hayes M, Schootman M. Epidemiology of Diabetes and Diabetes-Related Complications. *Phys Ther*. 2008 Nov 1;88(11):1254–64.
 34. Abdulla H, Phillips B, Smith K, Wilkinson D, Atherton P, Idris I. Physiological Mechanisms of Action of Incretin and Insulin in Regulating Skeletal Muscle Metabolism. *Curr Diabetes Rev*. 2014 Nov 24;10(5):327–35.
 35. Nauck MA, Meier JJ. Incretin hormones: Their role in health and disease. *Diabetes Obes Metab*. 2018 Feb;20:5–21.
 36. Venugopal SK, Sankar P, Jialal I. Physiology, Glucagon. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 [cited 2022 Dec 7]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537082/>
 37. Young A. Effects on Plasma Glucose and Lactate. In: *Advances in Pharmacology* [Internet]. Elsevier; 2005 [cited 2022 Dec 7]. p. 193–208. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1054358905520106>
 38. Geidl-Flueck B, Gerber P. Insights into the Hexose Liver Metabolism—Glucose versus Fructose. *Nutrients*. 2017 Sep 16;9(9):1026.
 39. Deshpande AD, Harris-Hayes M, Schootman M. Epidemiology of Diabetes and Diabetes-Related Complications. *Phys Ther*. 2008 Nov 1;88(11):1254–64.

40. American Diabetes Association. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: *Standards of Medical Care in Diabetes—2018*. Diabetes Care. 2018 Jan 1;41(Supplement_1):S13–27.
41. Zhang X, Imperatore G, Thomas W, Cheng YJ, Lobelo F, Norris K, et al. Effect of lifestyle interventions on glucose regulation among adults without impaired glucose tolerance or diabetes: A systematic review and meta-analysis. Diabetes Res Clin Pract. 2017 Jan;123:149–64.
42. Gounden V, Ngu M, Anastasopoulou C, Jialal I. Fructosamine. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 [cited 2022 Dec 7]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470185/>
43. Hoffman LS, Fox TJ, Anastasopoulou C, Jialal I. Maturity Onset Diabetes in the Young. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 [cited 2022 Dec 7]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK532900/>
44. Houck KA, Ferrara N, Winer J, Cachianes G, Li B, Leung DW. The Vascular Endothelial Growth Factor Family: Identification of a Fourth Molecular Species and Characterization of Alternative Splicing of RNA. Mol Endocrinol. 1991 Dec;5(12):1806–14.
45. Neufeld G, Cohen T, Gengrinovitch S, Poltorak Z. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors. FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol. 1999 Jan;13(1):9–22.
46. Carmeliet P. Angiogenesis in health and disease. Nat Med. 2003 Jun 1;9(6):653–60.
47. Ferrara N, Gerber HP. The Role of Vascular Endothelial Growth Factor in Angiogenesis. Acta Haematol. 2001;106(4):148–56.
48. Kretzler M, Schröppel B, Merkle M, Huber S, Mundel P, Horster M, et al. Detection of multiple vascular endothelial growth factor splice isoforms in single glomerular podocytes. Kidney Int. 1998 Sep;54:S159–61.

49. Ng YS, Rohan R, Sunday ME, Demello DE, D'Amore PA. Differential expression of VEGF isoforms in mouse during development and in the adult. *Dev Dyn*. 2001 Feb 1;220(2):112–21.
50. Bates DO, Cui TG, Doughty JM, Winkler M, Sugiono M, Shields JD, et al. VEGF_{165b}, an inhibitory splice variant of vascular endothelial growth factor, is down-regulated in renal cell carcinoma. *Cancer Res*. 2002 Jul 15;62(14):4123–31.
51. Perrin RM, Konopatskaya O, Qiu Y, Harper S, Bates DO, Churchill AJ. Diabetic retinopathy is associated with a switch in splicing from anti- to pro-angiogenic isoforms of vascular endothelial growth factor. *Diabetologia*. 2005 Nov;48(11):2422–7.
52. Woolard J, Wang WY, Bevan HS, Qiu Y, Morbidelli L, Pritchard-Jones RO, et al. VEGF_{165b}, an Inhibitory Vascular Endothelial Growth Factor Splice Variant. *Cancer Res*. 2004 Nov 1;64(21):7822–35.
53. Bevan HS, van den Akker NMS, Qiu Y, Polman JAE, Foster RR, Yem J, et al. The Alternatively Spliced Anti-Angiogenic Family of VEGF Isoforms VEGF_{xxx}b in Human Kidney Development. *Nephron Physiol*. 2008 Nov 27;110(4):p57–67.
54. Simon M, Röckl W, Hornig C, Gröne EF, Theis H, Weich HA, et al. Receptors of vascular endothelial growth factor/vascular permeability factor (VEGF/VPF) in fetal and adult human kidney: localization and [125I]VEGF binding sites. *J Am Soc Nephrol*. 1998 Jun;9(6):1032–44.
55. Schrijvers BF, Flyvbjerg A, De Zeeuw AS. The role of vascular endothelial growth factor (VEGF) in renal pathophysiology. *Kidney Int*. 2004 Jun;65(6):2003–17.
56. Cui TG, Foster RR, Saleem M, Mathieson PW, Gillatt DA, Bates DO, et al. Differentiated human podocytes endogenously express an inhibitory isoform of vascular endothelial growth factor (VEGF_{165b}) mRNA and protein. *Am J Physiol-Ren Physiol*. 2004 Apr;286(4):F767–73.
57. Ferrara N, Gerber HP, LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med*. 2003 Jun 1;9(6):669–76.

58. Takahashi H, Shibuya M. The vascular endothelial growth factor (VEGF)/VEGF receptor system and its role under physiological and pathological conditions. *Clin Sci*. 2005 Sep 1;109(3):227–41.
59. Gospodarowicz D, Abraham JA, Schilling J. Isolation and characterization of a vascular endothelial cell mitogen produced by pituitary-derived folliculo stellate cells. *Proc Natl Acad Sci*. 1989 Oct;86(19):7311–5.
60. Kendall RL, Thomas KA. Inhibition of vascular endothelial cell growth factor activity by an endogenously encoded soluble receptor. *Proc Natl Acad Sci*. 1993 Nov 15;90(22):10705–9.
61. Roeckl W, Hecht D, Sztajer H, Waltenberger J, Yayon A, Weich HA. Differential Binding Characteristics and Cellular Inhibition by Soluble VEGF Receptors 1 and 2. *Exp Cell Res*. 1998 May;241(1):161–70.
62. Petrova TV, Makinen T, Alitalo K. Signaling via Vascular Endothelial Growth Factor Receptors. *Exp Cell Res*. 1999 Nov;253(1):117–30.
63. Robert B, Zhao X, Abrahamson DR. Coexpression of neuropilin-1, Flk1, and VEGF₁₆₄ in developing and mature mouse kidney glomeruli. *Am J Physiol-Ren Physiol*. 2000 Aug 1;279(2):F275–82.
64. Harper SJ, Xing CY, Whittle C, Parry R, Gillatt D, Peat D, et al. Expression of neuropilin-1 by human glomerular epithelial cells in vitro and in vivo. *Clin Sci Lond Engl* 1979. 2001 Oct;101(4):439–46.
65. Chen S, Kasama Y, Lee JS, Jim B, Marin M, Ziyadeh FN. Podocyte-Derived Vascular Endothelial Growth Factor Mediates the Stimulation of $\alpha 3$ (IV) Collagen Production by Transforming Growth Factor- $\beta 1$ in Mouse Podocytes. *Diabetes*. 2004 Nov 1;53(11):2939–49.
66. Thomas S, Vanuystel J, Gruden G, Rodríguez V, Burt D, Gnudi L, et al. Vascular Endothelial Growth Factor Receptors in Human Mesangium *in Vitro* and in Glomerular Disease. *J Am Soc Nephrol*. 2000 Jul;11(7):1236–43.
67. Ku CH, White KE, Dei Cas A, Hayward A, Webster Z, Bilous R, et al. Inducible Overexpression of sFlt-1 in Podocytes Ameliorates Glomerulopathy in Diabetic Mice. *Diabetes*. 2008 Oct 1;57(10):2824–33.

68. Renner W, Kotschan S, Hoffmann C, Obermayer-Pietsch B, Pilger E. A Common 936 C/T Mutation in the Gene for Vascular Endothelial Growth Factor Is Associated with Vascular Endothelial Growth Factor Plasma Levels. *J Vasc Res.* 2000;37(6):443–8.
69. Watson CJ, Webb NJA, Bottomley MJ, Brenchley PEC. IDENTIFICATION OF POLYMORPHISMS WITHIN THE VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR (VEGF) GENE: CORRELATION WITH VARIATION IN VEGF PROTEIN PRODUCTION. *Cytokine.* 2000 Aug;12(8):1232–5.
70. Cha DR, Kim NH, Yoon JW, Jo SK, Cho WY, Kim HK, et al. Role of vascular endothelial growth factor in diabetic nephropathy. *Kidney Int.* 2000 Sep;58:S104–12.
71. Cooper ME, Vranes D, Youssef S, Stacker SA, Cox AJ, Rizkalla B, et al. Increased renal expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptor VEGFR-2 in experimental diabetes. *Diabetes.* 1999 Nov 1;48(11):2229–39.
72. Liu Y, Cox SR, Morita T, Kourembanas S. Hypoxia Regulates Vascular Endothelial Growth Factor Gene Expression in Endothelial Cells: Identification of a 5' Enhancer. *Circ Res.* 1995 Sep;77(3):638–43.
73. Raij L, Baylis C. Glomerular actions of nitric oxide. *Kidney Int.* 1995 Jul;48(1):20–32.
74. Chen S, Ziyadeh FN. Vascular endothelial growth factor and diabetic nephropathy. *Curr Diab Rep.* 2008 Dec;8(6):470–6.
75. Gröne HJ, Simon M, Gröne EF. Expression of vascular endothelial growth factor in renal vascular disease and renal allografts. *J Pathol.* 1995 Nov;177(3):259–67.
76. Nakagawa T. Uncoupling of VEGF with NO as a mechanism for diabetic nephropathy. *Diabetes Res Clin Pract.* 2008 Nov;82:S67–9.
77. Sun L, Yuan Q, Cao N, Guo W, Yao L, Feng JM, et al. VEGF genetik polymorphisms may contribute to the risk of diabetic nephropathy in patients with diabetes mellitus: A meta-analysis. *Sci World J.* 2014;2014.

78. Zhang L, et al. Prevalence and factors associated with CKD: a population study from Beijing. *Am J Kidney Dis.* 2018;51(3):373-84.
79. Westhuyzen J. Cystatin C: A promising marker and predictor for impaired renal function. *Ann Clin Lab Sci.* 2016; 36: 387-94.
80. Elfiani E, Nasrul E, Yanwirasti Y, Ali Z, Puspasari A. Plasma Levels of the Engulfment and Cell Motility Protein-1 are Associated with Kidney Damage in Diabetic Nephropathy: A Single-Center Pilot Study in Indonesia Population. *Open Access Maced J Med Sci.* 2020 Jul 25;8(A):418–22.
81. Puspasari A, Elfiani E, Tarawifa S, Enis Rn, Hayani A. Genetik Variant Of Tgf- β Associated With Decreased Renal Function In Type Ii Diabetes Mellitus Patient : Single Center Pilot Study In Indonesia Study Design. 2021;53(4):319–28
82. Dharnidharka VR, Kwon C, Stevens G. Serum cystatin C is superior to serum creatinine as a marker of kidney function: A meta-analysis. *Am J Kidney Dis.* 2012; 40: 221-6
83. McKnight AJ, Maxwell AP, Patterson CC, Brady HR, Savage DA. Association of VEGF-1499C→T polymorphism with diabetic nephropathy in type 1 diabetes mellitus. *J Diabetes Complications.* 2007;21(4):242–5.
84. Nakamura S, Iwasaki N, Funatsu H, Kitano S, Iwamoto Y. Impact of variants in the VEGF gene on progression of proliferative diabetic retinopathy. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2009;247(1):21–6.
85. Li X, Lu Y, Wei P. Association between VEGF genetik variants and diabetic foot ulcer in Chinese Han population: A case–control study. *Medicine (Baltimore).* 2018 May;97(20):e10672.

LAMPIRAN

LAMPIRAN 1



RISET DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JAMBI
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN

Alamat : Jl. Letjend Soeprapto No. 33 Telanaipura Jambi Telp/Fax: (0741) 60246
website: www.fkikunja.ac.id e-mail: fkik@unja.ac.id

SURAT KETERANGAN
Nomor: 2978/UN21.8/PT.01.04/2022

Setelah menelaah usulan dan protokol penelitian di bawah ini, Komisi Etik Penelitian Kesehatan, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Jambi, menyatakan bahwa penelitian dengan judul:

"Hubungan Polimorfisme Angiotensin Converting Enzyme (rs4340) Dengan Diabetes Nefropati Pada Pasien Diabetes Mellitus Tipe 2 Di Kota Jambi"

Lokasi Penelitian : Laboratorium Biomedik FKIK UNJA
Waktu Penelitian : Juni 2022 – September 2022
Subyek Penelitian : Penderita dan Non Penderita
Peneliti Utama : Cendana Saputra Yap

Telah melalui prosedur kaji etik dan dinyatakan layak untuk dilaksanakan.

Demikianlah surat keterangan lolos kaji etik ini dibuat untuk diketahui dan dimaklumi oleh yang berkepentingan dan berlaku sejak Juni 2022 sampai dengan Juni 2023.

Jambi, 13 Oktober 2022
Ketua,


Dr. dr. Deri Mulyadi, S.H., M.H.Kes., M.Kes.,
Sp. O.T.(K) Hip and Knee
NIP. 197105242002121003

LAMPIRAN 2

Hasil Analisis Statistik

Data Karakteristik Dasar Subjek Penelitian

Data Deskriptif Kelompok Diabetes Nefropati

Descriptive Statistics								
	N	Range	Minimum	Maximum	Mean		Std. Deviation	Variance
	Statistic	Statistic	Statistic	Statistic	Statistic	Std. Error	Statistic	Statistic
Jenis Kelamin	24	1	1	2	1,58	,103	,504	,254
Usia	24	31	29	60	51,04	1,434	7,025	49,346
SBP	24	60	110	170	140,83	3,506	17,173	294,928
DBP	24	40	60	100	81,67	2,142	10,495	110,145
ACR Urin	24	5205,53	32,16	5237,69	1289,2483	347,03993	1700,14152	2890481,178
eGFR	24	106,10	13,80	119,90	66,7292	6,44569	31,57732	997,127
Valid N (listwise)	24							

Data Deskriptif Kelompok Kontrol

Descriptive Statistics								
	N	Range	Minimum	Maximum	Mean		Std. Deviation	Variance
	Statistic	Statistic	Statistic	Statistic	Statistic	Std. Error	Statistic	Statistic
Jenis Kelamin	24	1	1	2	1,58	,103	,504	,254
Usia	24	38	22	60	50,13	1,832	8,975	80,549
SBP	24	40	100	140	121,38	2,254	11,041	121,897
DBP	24	20	70	90	79,58	1,274	6,241	38,949
ACR_Urin	24	22,42	3,84	26,26	13,4892	1,13101	5,54082	30,701
eGFR	24	80,20	54,60	134,80	94,0292	4,66005	22,82947	521,185
Valid N (listwise)	24							

1. Usia

Descriptives

Penggolongan				Statistic	Std. Error
Usia	Kasus	Mean		51.04	1.434

	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	48.08	
		Upper Bound	54.01	
	5% Trimmed Mean		51.63	
	Median		51.00	
	Variance		49.346	
	Std. Deviation		7.025	
	Minimum		29	
	Maximum		60	
	Range		31	
	Interquartile Range		10	
	Skewness		-1.168	.472
	Kurtosis		2.793	.918
	Kontrol	Mean		50.13
95% Confidence Interval for Mean		Lower Bound	46.34	
		Upper Bound	53.91	
5% Trimmed Mean		51.03		
Median		50.50		
Variance		80.549		
Std. Deviation		8.975		
Minimum		22		
Maximum		60		
Range		38		
Interquartile Range		13		
Skewness		-1.474	.472	
Kurtosis		2.881	.918	

Tests of Normality

		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Penggolongan	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Usia	Kasus	.135	24	.200*	.895	24	.017
	Kontrol	.202	24	.012	.858	24	.003

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

a. Lilliefors Significance Correction

Test Statistics^a

Tranform_Us
ia

Mann-Whitney U	279.000
Wilcoxon W	579.000
Z	-.186
Asymp. Sig. (2-tailed)	.852

a. Grouping Variable:

Penggolongan

2. Jenis Kelamin

Jenis Kelamin * Penggolongan Crosstabulation

			Penggolongan		Total
			Kasus	Kontrol	
Jenis Kelamin	Laki-Laki	Count	10	10	20
		% within Jenis Kelamin	50.0%	50.0%	100.0%
		% within Penggolongan	41.7%	41.7%	41.7%
		% of Total	20.8%	20.8%	41.7%
	Perempuan	Count	14	14	28
		% within Jenis Kelamin	50.0%	50.0%	100.0%
		% within Penggolongan	58.3%	58.3%	58.3%
		% of Total	29.2%	29.2%	58.3%
	Total	Count	24	24	48
		% within Jenis Kelamin	50.0%	50.0%	100.0%
		% within Penggolongan	100.0%	100.0%	100.0%
		% of Total	50.0%	50.0%	100.0%

Chi-Square Tests

Value	df	Asymptotic Significance (2-sided)	Exact Sig. (2- sided)	Exact Sig. (1- sided)
-------	----	---	--------------------------	--------------------------

Pearson Chi-Square	.000 ^a	1	1.000		
Continuity Correction ^b	.000	1	1.000		
Likelihood Ratio	.000	1	1.000		
Fisher's Exact Test				1.000	.615
Linear-by-Linear Association	.000	1	1.000		
McNemar Test				.541 ^c	
N of Valid Cases	48				

a. 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 10.00.

b. Computed only for a 2x2 table

c. Binomial distribution used.

Risk Estimate

	Value	95% Confidence Interval	
		Lower	Upper
Odds Ratio for Jenis Kelamin (Laki-Laki / Perempuan)	1.000	.317	3.151
For cohort Penggolongan = Kasus	1.000	.563	1.775
For cohort Penggolongan = Kontrol	1.000	.563	1.775
N of Valid Cases	48		

3. SBP

Descriptives

Penggolongan			Statistic	Std. Error
SBP	Kasus	Mean	140.83	3.506
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	
			Upper Bound	
		5% Trimmed Mean	140.83	
		Median	140.00	
		Variance	294.928	

Kontrol	Std. Deviation		17.173	
	Minimum		110	
	Maximum		170	
	Range		60	
	Interquartile Range		20	
	Skewness		.197	.472
	Kurtosis		-.721	.918
	Mean		121.38	2.254
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	116.71	
		Upper Bound	126.04	
	5% Trimmed Mean		121.53	
	Median		120.00	
	Variance		121.897	
	Std. Deviation		11.041	
	Minimum		100	
	Maximum		140	
	Range		40	
	Interquartile Range		18	
	Skewness		-.165	.472
	Kurtosis		-.283	.918

Tests of Normality							
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
Penggolongan		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
SBP	Kasus	.144	24	.200*	.945	24	.216
	Kontrol	.200	24	.014	.932	24	.106

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

a. Lilliefors Significance Correction

Independent Samples Test

Levene's
Test for
Equality
of
Variances

t-test for Equality of Means

		F	Sig. .	t	df	Sig. (2- taile d)	Mean Differen ce	Std. Error Differen ce	95% Confidence Interval of the Difference	
									Low er	Uppe r
SB P	Equal varianc es assume d	4.19 5	.04 6	4.66 9	46	.000	19.458	4.167	11.07 0	27.84 7
	Equal varianc es not assume d			4.66 9	39.23 8	.000	19.458	4.167	11.03 0	27.88 6

4. DBP

Descriptives

Penggolongan			Statistic	Std. Error
DBP	Kasus	Mean	81.67	2.142
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	77.24
			Upper Bound	86.10
		5% Trimmed Mean	81.85	
		Median	80.00	
		Variance	110.145	
		Std. Deviation	10.495	
		Minimum	60	
		Maximum	100	
		Range	40	
		Interquartile Range	10	
		Skewness	-.114	.472
		Kurtosis	.456	.918
	Kontrol	Mean	79.58	1.274

	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	76.95	
		Upper Bound	82.22	
	5% Trimmed Mean		79.54	
	Median		80.00	
	Variance		38.949	
	Std. Deviation		6.241	
	Minimum		70	
	Maximum		90	
	Range		20	
	Interquartile Range		0	
	Skewness		.024	.472
	Kurtosis		-.112	.918

Tests of Normality

		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
Penggolongan		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
DBP	Kasus	.271	24	.000	.869	24	.005
	Kontrol	.318	24	.000	.778	24	.000

a. Lilliefors Significance Correction

Test Statistics^a

DBP	
Mann-Whitney U	248.500
Wilcoxon W	548.500
Z	-.914
Asymp. Sig. (2-tailed)	.361

a. Grouping Variable:
Penggolongan

5. ACR urin

Descriptives

Penggolongan		Statistic	Std. Error
Kasus	Mean	1289.2483	347.03993

ACR_Uri n		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	571.3415	
			Upper Bound	2007.1551	
		5% Trimmed Mean		1141.1877	
		Median		377.3050	
		Variance		2890481.178	
		Std. Deviation		1700.14152	
		Minimum		32.16	
		Maximum		5237.69	
		Range		5205.53	
		Interquartile Range		2509.01	
		Skewness		1.265	.472
		Kurtosis		.327	.918
	Kontrol	Mean		13.4892	1.13101
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	11.1495	
			Upper Bound	15.8288	
		5% Trimmed Mean		13.3188	
		Median		12.0350	
		Variance		30.701	
		Std. Deviation		5.54082	
		Minimum		3.84	
		Maximum		26.26	
		Range		22.42	
		Interquartile Range		7.59	
		Skewness		.621	.472
		Kurtosis		-.069	.918

Tests of Normality							
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Penggolongan	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
ACR_Uri n	Kasus	.262	24	.000	.754	24	.000
	Kontrol	.133	24	.200*	.958	24	.394

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

a. Lilliefors Significance Correction

Test Statistics^a

ACR_Uri	
n	
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	300.000
Z	-5.938
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000

a. Grouping Variable:
Penggolongan

6. EGFR

Descriptives

Penggolongan			Statistic	Std. Error
EGFR	Kasus	Mean	66.7292	6.44569
		95% Confidence Interval for Mean	53.3952	
		Lower Bound		
		Upper Bound	80.0631	
		5% Trimmed Mean	66.6611	
		Median	67.7000	
		Variance	997.127	
		Std. Deviation	31.57732	
		Minimum	13.80	
		Maximum	119.90	
		Range	106.10	
		Interquartile Range	55.88	
		Skewness	.079	.472
		Kurtosis	-1.080	.918
	Kontrol	Mean	94.0292	4.66005
		95% Confidence Interval for Mean	84.3891	
		Lower Bound		
		Upper Bound	103.6692	
		5% Trimmed Mean	93.9648	

Equal variances not assumed			- 3.43 2	41.8 84	.001	- 27.3000 0	7.95380	- 43.352 74	- 11.247 26
--------------------------------------	--	--	----------------	------------	------	-------------------	---------	-------------------	-------------------

7. GDP

Descriptives

Penggolongan		Statistic		Std. Error
GDP	Kasus	Mean	168.67	16.975
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	129.52
			Upper Bound	207.81
		5% Trimmed Mean	169.46	
		Median	171.00	
		Variance	2593.500	
		Std. Deviation	50.926	
		Minimum	90	
		Maximum	233	
		Range	143	
		Interquartile Range	95	
		Skewness	-.362	.717
		Kurtosis	-.942	1.400
	Kontrol	Mean	164.17	10.039
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	143.40
			Upper Bound	184.93
		5% Trimmed Mean	161.45	
		Median	155.50	
		Variance	2418.928	
		Std. Deviation	49.183	
		Minimum	100	
		Maximum	277	
		Range	177	

	Interquartile Range	69	
	Skewness	.944	.472
	Kurtosis	.365	.918

Tests of Normality							
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Penggolongan	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
GDP	Kasus	.141	9	.200*	.936	9	.543
	Kontrol	.124	24	.200*	.913	24	.040

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

a. Lilliefors Significance Correction

Test Statistics ^a	
	GDP
Mann-Whitney U	96.500
Wilcoxon W	396.500
Z	-.465
Asymp. Sig. (2-tailed)	.642
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.648 ^b

a. Grouping Variable:

Penggolongan

b. Not corrected for ties.

8. GDNPP

Descriptives				
Penggolongan			Statistic	Std. Error
GDNPP	Kasus	Mean	248.44	16.795
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	
			209.72	
			Upper Bound	
			287.17	
		5% Trimmed Mean	246.27	
		Median	248.00	
		Variance	2538.528	

Kontrol	Std. Deviation		50.384	
	Minimum		180	
	Maximum		356	
	Range		176	
	Interquartile Range		58	
	Skewness		1.023	.717
	Kurtosis		2.165	1.400
	Mean		266.88	14.377
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	237.13	
		Upper Bound	296.62	
	5% Trimmed Mean		261.56	
	Median		248.00	
	Variance		4960.636	
	Std. Deviation		70.432	
	Minimum		183	
	Maximum		456	
	Range		273	
	Interquartile Range		97	
	Skewness		1.123	.472
	Kurtosis		.858	.918

Tests of Normality							
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
Penggolongan		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
GDNPP	Kasus	.223	9	.200*	.925	9	.432
	Kontrol	.161	24	.107	.901	24	.023

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

a. Lilliefors Significance Correction

Test Statistics ^a	
	GDNPP
Mann-Whitney U	97.500
Wilcoxon W	142.500
Z	-.425

Asymp. Sig. (2-tailed)	.671
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.677 ^b

a. Grouping Variable:

Penggolongan

b. Not corrected for ties.

VEGF_GENOTYPE

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	CC	21	43,8	43,8	43,8
	CA	16	33,3	33,3	77,1
	AA	11	22,9	22,9	100,0
	Total	48	100,0	100,0	

CCvsAA * Penggolongan Crosstabulation

Count

		Penggolongan		
		DN	NON-DN	Total
CCvsA	CC	10	11	21
A	AA	5	6	11
Total		15	17	32

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymptotic Significance (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,014 ^a	1	,907		
Continuity Correction ^b	,000	1	1,000		
Likelihood Ratio	,014	1	,907		
Fisher's Exact Test				1,000	,602
N of Valid Cases	32				

a. 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 5.16.

b. Computed only for a 2x2 table

Risk Estimate

	Value	95% Confidence Interval	
		Lower	Upper
Odds Ratio for CCvsAA (CC / AA)	1,091	,252	4,714
For cohort Penggolongan = DN	1,048	,477	2,303
For cohort Penggolongan = NON-DN	,960	,488	1,888
N of Valid Cases	32		

CAvsAA * Penggolongan Crosstabulation

Count

		Penggolongan		Total
		DN	NON-DN	
CAvsA	CA	9	7	16
A	AA	5	6	11
Total		14	13	27

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymptotic Significance (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,304 ^a	1	,581		
Continuity Correction ^b	,025	1	,873		
Likelihood Ratio	,305	1	,581		
Fisher's Exact Test				,704	,436
N of Valid Cases	27				

a. 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 5.30.

b. Computed only for a 2x2 table

Risk Estimate

	Value	95% Confidence Interval	
		Lower	Upper
Odds Ratio for CAVsAA (CA / AA)	1,543	,329	7,226
For cohort Penggolongan = DN	1,238	,568	2,695
For cohort Penggolongan = NON-DN	,802	,370	1,740
N of Valid Cases	27		

CACCvsAA * Penggolongan Crosstabulation

Count

		Penggolongan		Total
		DN	NON-DN	
CACCvsA	CC+CA	19	18	37
A	AA	5	6	11
Total		24	24	48

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymptotic Significance (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,118 ^a	1	,731		
Continuity Correction ^b	,000	1	1,000		
Likelihood Ratio	,118	1	,731		
Fisher's Exact Test				1,000	,500
N of Valid Cases	48				

a. 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 5.50.

b. Computed only for a 2x2 table

Risk Estimate

	Value	95% Confidence Interval	
		Lower	Upper
Odds Ratio for CACCvsAA (CC+CA / AA)	1,267	,328	4,889
For cohort Penggolongan = DN	1,130	,550	2,319
For cohort Penggolongan = NON-DN	,892	,474	1,680
N of Valid Cases	48		

Lampiran 3



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS JAMBI
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN

Alamat : Jl. Letjen Soeprapto No.33 Telanaipura Jambi Kode Pos 36122
Telp/Fax : (0741) 60246 website : www.fkik.unja.ac.id

**KARTU BIMBINGAN
SKRIPSI**

Nama/NIM : Cendana Saputra Yap 61419097

Pembimbing I : dr. Anggela Puspasari, M. Biomed

Pembimbing II : dr. Susan Tarawafa, M. Kes

Judul Penelitian : Hubungan Polimorfisme Angiotensin Converting Enzyme (rs4340) Terhadap Diabetes Nefropati pada pasien Diabetes Mellitus Tipe 2 di Kota Jambi

Konsultasi

No.	Tanggal	Materi Konsultasi	Rekomendasi Pembimbing	Tanda tangan pembimbing
1.	09/03/2022	Pengajuan Judul	ACC Judul	
2.	12/05/2022	Acc Judul	Lanjut BAB I - IV	
3.	19/05/2022	Bimbingan Bab I, II, III	Revisi Bab I, II, III	
4.	28/05/2022	Bimbingan Bab I, II, III	Revisi Bab I, II, III	
5.	28/05/2022	Bimbingan Bab I, II, III	Revisi BAB I - IV	
6.	29/05/2022	Acc Bab I, II, III	ACC	
7.	29/05/2022	Acc Bab I, II, III	ACC	
8.	24/06/2022	Optimasi penulisan	Lanjut penulisan	

Mengetahui,
Ketua Program Studi Kedokteran
FKIK Universitas Jambi


dr. Esa Indah Agudra, M. Biomed

Pembimbing


dr. Anggela Puspasari, M. Biomed



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN

UNIVERSITAS JAMBI

FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN

Alamat : Jl. Letjen Soeprapto No.33 Telanaipura Jambi Kode Pos 36122

Telp/Fax : (0741) 60246 website : www.fkik.unja.ac.id

Konsultasi

No.	Tanggal	Materi Konsultasi	Rekomendasi Pembimbing	Tanda tangan pembimbing
9.	29/09 2022	Penelitian dengan Sampel	Lanjutan Penelitian	dr. Anggela
10.	05/10 2022	Lanjutan penelitian	Pakai Sampel selanjutnya	dr. Anggela
11.	11/11 2022	Lanjutan penelitian	Pakai selanjutnya Sampel	dr. Anggela
12.	28/11 2022	Lanjutan penelitian Primer Batu	Pakai Sampel selanjutnya	dr. Anggela
13.	04/12 2022	Lanjutan penelitian membaca hasil elektrofors	Lakukan Elfo	dr. Anggela
14.	11/12 2022	Perincian BAB IV & V + SPSS	olah data lanjutan	dr. Anggela
15.	12/12 2022	SPSS Analisis Data Penelitian	olah data lanjutan	dr. Anggela
16.	15/12 2022	BAB I, II, III, IV, V	ACC	dr. Anggela
17.	15/12 2022	Penyerahan BAB I - V	ACC.	dr. Julian Tamarja
18.				
19.				
20.				
21.				
22.				
23.				
24.				
25.				
26.				
27.				
28.				

Dokumentasi Penelitian

a. Sampel DNA



b. Pencampuran / *mixing*



c. *Spin down* dan Vortex



d. PCR



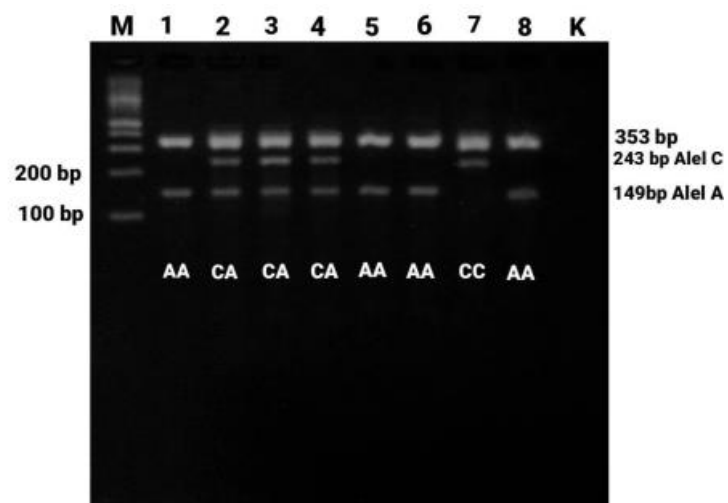
e. Pembuatan Agar



f. Elfo



g. Pembacaan Produk dari Komputer



h. Persiapan sampel dan BHP lainnya

