

PENGARUH MSC-CM DOSIS TINGGI TERHADAP KADAR UREUM

PADA GAGAL GINJAL AKUT

(Studi Eksperimental *In Vivo* Umbilical Cord Mesencymal Stem Cell

***Conditioned Medium* pada Kultur Hipoksia Terhadap Tikus Jantan Galur**

Wistar Yang Diinduksi Gentamicin)

Skripsi

untuk memenuhi sebagian persyaratan

mencapai gelar Sarjana Kedokteran



Diajukan Oleh :

Tika Gesti Rahmawati

30101407339

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG

SEMARANG

2021

SKRIPSI

PENGARUH MSC-CM DOSIS TINGGI TERHADAP KADAR UREUM PADA GAGAL
GINJAL AKUT

Studi Eksperimental *In Vivo Umbilical Cord Mesencymal Stem Cell Conditioned Medium*
pada Kultur Hipoksia Terhadap Tikus Jantan Galur Wistar Yang Diinduksi Gentamicin

Diajukan oleh :

Tika Gesti Rahmawati

30101407339

telah dipertahankan didepan dewan penguji

pada tanggal 15 februari 2021

dan telah dinyatakan telah memenuhi syarat

Susunan Tim Penguji

Pembimbing I

Assoc. Prof./Dr. dr. H. Agung Putra, M. Si. Med

Pembimbing II

dr. Azizah Retno Kustiyah, Sp. A

Anggota Tim Penguji

Penguji I

Dr. dr. H. Imam Djamaluddin M.M. Kes(Epid)

Penguji II

dr. Mohammad Arif, SpPD

Semarang, 18 Februari 2021

Fakultas Kedokteran

Universitas Islam Sultan Agung

Dekan,

Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, SH, Sp. KF

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Tika Gesti Rahmawati

NIM : 30101407339

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi yang berjudul:

**" PENGARUH MSC-CM DOSIS TINGGI TERHADAP KADAR UREUM
PADA GAGAL GINJAL AKUT
(Studi Eksperimental *In Vivo* Umbilical Cord Mesencymal Stem Cell
Conditioned Medium pada Kultur Hipoksia Terhadap Tikus Jantan Galur
Wistar Yang Diinduksi Gentamicin)"**

Adalah benar hasil karya saya dan penuh kesadaran bahwa saya tidak melakukan tindakan plagiasi atau mengambil alih seluruh atau sebagian besar karya tulis orang lain tanpa menyebutkan sumbernya. Jika saya terbukti melakukan tindakan plagiasi, saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan aturan yang berlaku.



10 Februari 2021

Tika Gesti Rahmawati

PRAKATA

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Alhamdulillahirabbil'alamin, puji dan syukur penulis ucapkan ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat-Nya penulis telah diberi kesempatan, kesehatan, kesabaran, serta kekuatan sehingga skripsi yang berjudul, "**PENGARUH MSC-CM DOSIS TINGGI TERHADAP KADAR UREUM PADA GAGAL GINJAL AKUT (Studi Eksperimental *In Vivo* Umbilical Cord Mesencymal Stem Cell Conditioned Medium pada Kultur Hipoksia Terhadap Tikus Jantan Galur Wistar Yang Diinduksi Gentamicin)**" yang merupakan salah satu syarat untuk mendapatkan gelar Sarjana Kedokteran di Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang telah diselesaikan dengan baik.

Penulis menyadari akan kekurangan dan keterbatasan, sehingga selama menyelesaikan Skripsi ini, penulis mendapatkan bantuan, bimbingan, dorongan, dan petunjuk dari berbagai pihak. Oleh karena itu penulis ingin mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada:

1. Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, SH, Sp.KF.selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
2. Assoc. Prof. Dr. dr. H. Agung Putra, M. Si, Med dan dr. Azizah Retno Kustiyah, Sp.A selaku dosen pembimbing I dan II yang telah dengan sabar meluangkan waktu dan pikiran untuk mengarahkan dan membimbing penulis sehingga terselesaikannya skripsi ini.
3. Dr. dr. H. Imam Djamaluddin M, M.Kes(Epid) dan dr. Mohamad Arif, SpPD selaku dosen penguji yang telah dengan sabar meluangkan waktu dan pikiran

untuk mengarahkan dan membimbing penulis hingga terselesaikannya skripsi ini.

4. Kedua orang tua saya yang telah memberi pencerahan dan motivasi atas pengerjaan skripsi ini.
5. Para staf *Stem Cell and Cancer Research* (SCCR) yang telah membantu penelitian dari awal sampai selesai.
6. Sahabat-sahabat tersayang saya dari SD sampai dengan kuliah yang telah memberi semangat dan dukungan dan semua pihak yang telah ikut membantu terselesainya Karya Tulis Ilmiah ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Semoga Tuhan Yang Maha Esa, berkenan membalas semua kebaikan serta bantuan yang telah diberikan. Penulis menyadari bahwa karya tulis ilmiah ini masih sangat terbatas dan jauh dari sempurna, oleh karena itu kritik dan saran yang bersifat membangun sangat penulis harapkan.

Akhir kata penulis berharap semoga penelitian ini dapat menjadi bahan informasi yang bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan di bidang kedokteran.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Semarang, 10 Februari 2021

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
SURAT PERNYATAAN.....	iii
PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI PENELITIAN.....	iv
PRAKATA.....	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR SINGKATAN	x
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
INTISARI.....	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	4
1.3. Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1. Tujuan Umum	4
1.3.2. Tujuan Khusus	4
1.4. Manfaat Penelitian.....	4
1.4.1. Manfaat Teoritis.....	4
1.4.2. Manfaat Praktis	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1. Ureum.....	6
2.1.1. Definisi.....	6
2.1.2. Metabolisme Ureum.....	6
2.1.3. Reabsorbsi Urea.....	7
2.2. Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Kadar Ureum.....	8
2.3. Gagal Ginjal Akut	10
2.3.1. Definisi	10
2.3.2. Etiologi.....	11
2.2.3. Patogenesis.....	13

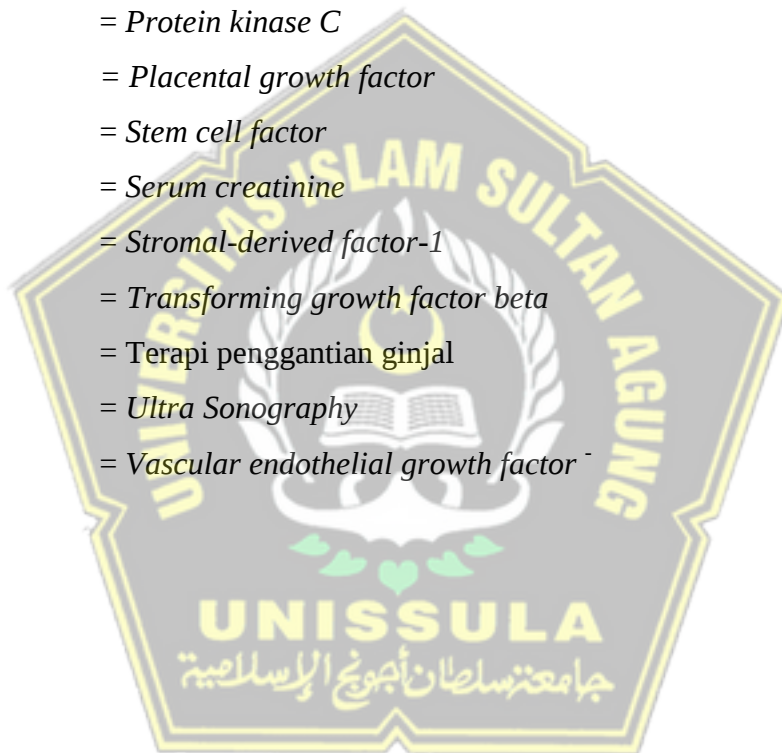
2.2.4. Diagnosis.....	15
2.2.3. Tatalaksana.....	16
2.4. <i>Mesenchymal Stem Cell (MSC)</i>	19
2.4.1. Definisi.....	19
2.4.2. Sumber	19
2.4.3. Karakteristik	20
2.4.4. Kultur MSC	21
2.4.5. Mobilisasi MSC.....	22
2.4.6. Peran MSC.....	23
2.4.7. Potensi Diferensiasi dan Kontrol MSC	24
2.5. <i>Mesenchymal Stem Cell Conditioned Medium (MSC-CM)</i>	25
2.6. Gentamisin.....	26
2.7. Hubungan <i>MSC Conditioned Medium</i> Dosis Tinggi Terhadap Kadar Ureum pada Gagal Ginjal Akut	28
2.8. Kerangka Teori.....	29
2.9. Kerangka Konsep	30
2.10. Hipotesis	30
BAB III METODE PENELITIAN.....	31
3.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian.....	31
3.2. Variabel dan Definisi Operasional	31
3.2.1. Variabel Penelitian.....	31
3.2.2. Definisi Operasional	31
3.3. Populasi dan Sampel Penelitian	32
3.3.1. Populasi Penelitian.....	32
3.3.2. Sampel Penelitian.....	33
3.3.3. Cara Pengambilan Sampel Penelitian	33
3.3.4. Besar Sampel.....	34
3.4. Instrumen dan Bahan Penelitian	34
3.4.1. Instrumen	34
3.4.2. Bahan Penelitian	35
3.5. Cara Penelitian	36
3.5.1. Pengajuan <i>Ethical Clearence</i>	36
3.5.2. <i>Informed Consent</i> Kepada Ibu Hamil	36
3.5.3. Pengambilan Sampel <i>Umbilical Cord Blood</i>	37

3.5.4. Teknik Isolasi <i>Mesenchymal Stem Cell</i> dari <i>Umbilical Blood Cord</i>	37
3.5.5. Kultur Sel	38
3.5.6. Proses Pemanenan Sel.....	38
3.5.7. Proses Penghitungan Sel	38
3.5.8. Pembacaan CD73, CD90 dan CD105 dengan <i>Flow Cytometry</i>	40
3.5.9. Prosedur Hipoksia dan Pembuatan <i>MSC Conditioned Medium</i> (MSC-CM).....	41
3.5.10. Pembuatan Hewan Coba Model Gagal Ginjal Akut.....	41
3.5.11. Pembuatan Preparat	42
3.5.12. Perlakuan pada Tikus Model Gagal Ginjal	43
3.5.13. Analisis Ureum dengan Spektrofotometer.....	43
3.6 Tempat dan Waktu Penelitian	44
3.6.1. Tempat Penelitian.....	44
3.6.1. Waktu Penelitian.....	44
3.7. Analisis Data	45
3.7.1. <i>Editing</i>	45
3.7.2. <i>Coding</i>	45
3.7.3. <i>Processing</i>	45
3.7.4. <i>Cleaning</i>	45
3.8. Analisis Data	45
3.9. Alur Penelitian.....	47
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	48
4.1. Hasil Penelitian.....	48
4.2. Pembahasan Penelitian	50
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	54
5.1. Kesimpulan.....	54
5.2. Saran	54
DAFTAR PUSTAKA	55
LAMPIRAN.....	63

DAFTAR SINGKATAN

ACE inhibitor	= <i>Angiotensin converting enzyme inhibitors</i>
AGBM	= <i>Antiglomerular basement membrane</i>
ANAs	= <i>Antinuclear antibodies</i>
ANCAs	= <i>Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies</i>
APC	= <i>Allophycocyanin</i>
ARB	= <i>Angiotensin II receptor blockers</i>
BMP	= <i>Bone morphogenic protein</i>
BUN	= <i>Nitrogen Urea Darah</i>
CD	= <i>Cluster of Differentiation</i>
CO ₂	= <i>Carbon dioxide</i>
CXCL	= <i>Chemokine ligand</i>
DMEM	= <i>Dulbecco's modified Eagle's medium</i>
EPO	= <i>Chemokines, erythropoietin</i>
FBS	= <i>Fetal bovine serum</i>
FGF	= <i>Fibroblast growth factor</i>
FITC	= <i>Fluorescein isothiocyanate</i>
GCSF	= <i>Granulocyte colony stimulating factor</i>
GGA	= <i>Gagal ginjal akut</i>
GM-CSF	= <i>Granulocyte macrophage-colony stimulating factor</i>
H ₂ O	= <i>Dihydrogen monoxide</i>
HCl	= <i>Hydrogen chloride</i>
HGF	= <i>Hepatocyte growth factor</i>
HIF-1	= <i>Hypoxia-Inducible Factors-1</i>
HLA-DR	= <i>Human Leukocyte Antigen-DR</i>
IGF	= <i>Insulin-like growth factor</i>
IL	= <i>Interleukin</i>
KDIGO	= <i>The International Kidney Disease: Improving Global Outcomes</i>
LDH	= <i>Lactate dehydrogenase</i>

LFG	= Laju filtrasi glomerular
MRI	= <i>Magnetic resonance imaging</i>
MSC	= <i>Mesenchymal stem cells</i>
MSC-CM	= <i>Mesenchymal stem cell conditioned medium</i>
NK	= <i>Natural killer</i>
NSAID	= <i>Nonsteroidal anti-inflammatory drugs</i>
PDGF	= <i>Platelet-derived growth factor</i>
PE	= <i>Phycoerythrin</i>
PKC	= <i>Protein kinase C</i>
PlGF	= <i>Placental growth factor</i>
SCF	= <i>Stem cell factor</i>
SCr	= <i>Serum creatinine</i>
SDF-1	= <i>Stromal-derived factor-1</i>
TGF- β	= <i>Transforming growth factor beta</i>
TPG	= Terapi penggantian ginjal
USG	= <i>Ultra Sonography</i>
VEGF	= <i>Vascular endothelial growth factor</i>



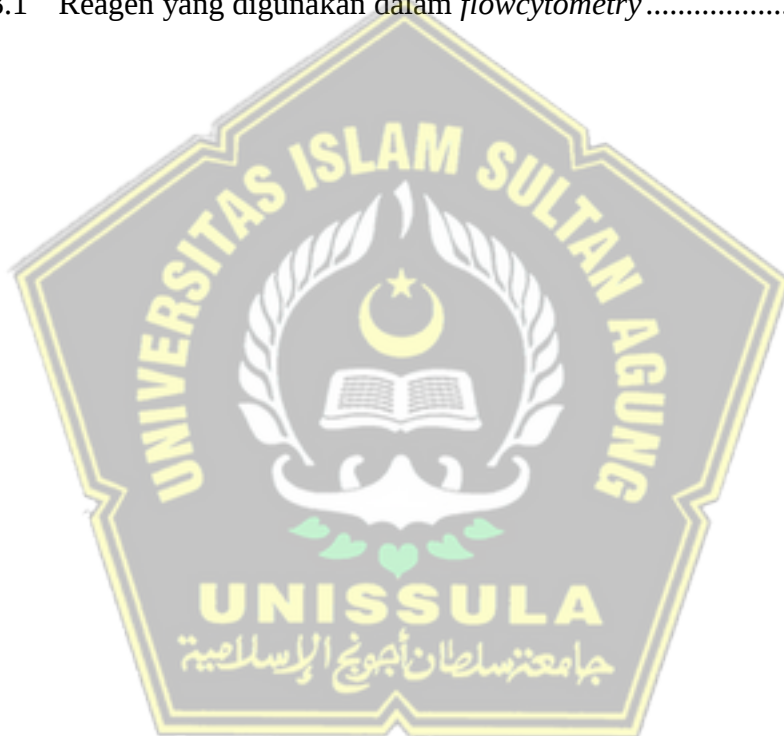
DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Aliran keseluruhan nitrogen dalam katabolisme	7
Gambar 2.2	Etiologi gagal ginjal akut.....	12
Gambar 2.3	Patogenesis gagal ginjal akut.....	14
Gambar 2.4	Morfologi dari kultur MSC	19
Gambar 2.5	Sumber MSC	20
Gambar 2.6	Tiga kriteria MSC.....	21
Gambar 2.7	Kerangka Teori	29
Gambar 2.8	Kerangka Konsep	30
Gambar 3.1	Bilik hitung	39
Gambar 3.2	Alur Penelitian	47
Gambar 4.1	Kadar ureum pada tiap kelompok	49



DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Terapi konservatif pada GGA	14
Tabel 2.2	Penyebab kenaikan kadar ureum.....	19
Tabel 2.3	Kadar <i>growth factor</i> berbagai sumber sel, waktu kultur, jumlah sel dan proses dari <i>conditioned medium</i>	26
Tabel 3.1	Reagen yang digunakan dalam <i>flowcytometry</i>	26



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Data Kadar Ureum	63
Lampiran 2	Hasil Uji Deskriptif Kadar Ureum.....	64
Lampiran 3	Hasil Uji Normalitas Kadar Ureum	66
Lampiran 4	Uji T Tidak Berpasangan.....	67
Lampiran 5	Dokumentasi Penelitian.....	68
Lampiran 6	<i>Ethical Clearence</i>	69
Lampiran 7	Surat Keterangan Penelitian.....	70



INTISARI

Gagal ginjal akut (GGA) merupakan kondisi yang mengancam nyawa. Dialisis merupakan pengobatan umum untuk GGA, namun terapi ini tidak menjamin perbaikan fungsi ginjal secara optimal. Diperlukan intervensi secara inovatif untuk meningkatkan perbaikan kondisi pasien. Penilaian perbaikan fungsi ginjal dapat dilihat dari kadar ureum serum dalam tubuh. Peningkatan kadar ureum yang tinggi dapat menjadi salah satu indikator terjadinya GGA. Salah satu pengembangan produk dari MSC adalah *Mesenchymal Stem Cell Conditioned Medium* (MSC-CM) dimana memiliki prospek yang menjanjikan untuk diproduksi sebagai obat untuk pengobatan regeneratif di masa yang akan datang. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh MSC-CM dosis tinggi terhadap kadar ureum pada GGA.

Penelitian ini merupakan penelitian *in vivo* dengan jenis penelitian *Post Test Only Control Group Design*. Penelitian ini menggunakan model gagal ginjal akut dengan cara diinduksi dengan gentamicin dan menggunakan 2 kelompok penelitian, yaitu kelompok kontrol (PBS), kelompok perlakuan (MSC-CM 0,4. Selanjutnya darah diambil dari tikus pada hari ke-8 selanjutnya dibuat serum dan kadar ureum diperiksa menggunakan spektrofotometer setelah itu dianalisis dengan uji *t* tidak berpasangan.

Hasil penelitian ini didapatkan rerata kadar ureum antara kelompok kontrol ($19,46 \pm 0,56$ mg/dL) dan kelompok perlakuan ($12,66 \pm 0,59$ mg/dL) dengan perbedaan yang signifikan atau bermakna ($p < 0,05$).

Kesimpulan penelitian ini menunjukkan terdapat pengaruh MSC-CM dosis tinggi terhadap kadar ureum pada gagal ginjal akut.

Kata Kunci : GGA, MSC-CM, Ureum

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Gagal ginjal akut (GGA) merupakan penurunan mendadak laju filtrasi glomerulus (LFG) yang terjadi selama beberapa jam hingga sehari-hari serta diikuti ketidakmampuan ginjal untuk mengatur keseimbangan cairan dan elektrolit secara tepat. GGA merupakan kondisi yang mengancam nyawa (Shah *et al.*, 2016). Dialisis merupakan pengobatan umum untuk GGA, namun terapi ini tidak menjamin perbaikan fungsi ginjal secara optimal. Perbaikan yang tidak optimal dapat menyebabkan fibrosis interstitial tubulus yang dapat berkembang menjadi penyakit ginjal kronis (Chawla dan Kimmel, 2012; Coca *et al.*, 2012). Diperlukan intervensi secara inovatif untuk meningkatkan perbaikan kondisi pasien (Lameire *et al.*, 2013). Penilaian perbaikan fungsi ginjal dapat dilihat dari kadar ureum serum dalam tubuh (Oh, 2011). Peningkatan kadar ureum yang tinggi dapat menjadi salah satu indikator terjadinya GGA (Lu *et al.*, 2018). Bukti yang berkembang menunjukkan bahwa *mesenchymal stem cell* (MSC) bisa menjadi terapi alternatif yang menjanjikan untuk GGA karena MSC tidak menimbulkan efek immunosupresi, dan MSC dapat bermigrasi ke daerah yang rusak untuk memperbaiki kerusakan struktural dan fungsional pada cedera ginjal (Togel dan Westenfelder, 2012; Wang *et al.*, 2014). Salah satu pengembangan produk dari MSC adalah *Mesenchymal Stem Cell Conditioned Medium* (MSC-CM) dimana memiliki prospek yang

menjanjikan untuk diproduksi sebagai obat untuk pengobatan regeneratif di masa yang akan datang (Pawitan, 2014). Namun sampai saat ini penelitian terkait dengan pengaruh MSC-CM terhadap kadar ureum pada gagal ginjal akut belum banyak dipublikasikan.

Insiden GGA terus meningkat beberapa tahun terakhir, terutama di kalangan pasien rawat inap lansia. Angka kejadian GGA dan tingkat kematiannya menunjukkan variasi yang signifikan di seluruh negara (Negi *et al.*, 2018). Angka kejadian GGA sekitar 21% dari total pasien yang di rawat di seluruh dunia (Mehta *et al.*, 2015). Sebanyak 13,3 juta orang per tahun di seluruh dunia menderita GGA, 85% di antaranya terjadi di negara berkembang. GGA juga diperkirakan berkontribusi terhadap sekitar 1,7 juta kematian setiap tahunnya (Lewington *et al.*, 2013). Menurut WHO *Country Health Profiles* tahun 2012, Penyakit ginjal menempati peringkat ke-10 penyebab kematian di Indonesia dengan persentase sebesar 2,6% (WHO, 2015). Ada semakin banyak bukti bahwa GGA dikaitkan dengan komplikasi jangka pendek dan jangka panjang yang serius, khususnya peningkatan mortalitas dan morbiditas, perkembangan penyakit ginjal kronis dan beban biaya perawatan kesehatan yang tinggi. Dengan demikian, GGA sekarang diakui sebagai masalah kesehatan masyarakat yang utama (Lewington *et al.*, 2013; Mehta *et al.*, 2015).

Studi yang telah dilakukan sekarang ini menunjukkan bahwa setelah dilakukan transplantasi, MSC dapat memperbaiki jaringan yang rusak melalui efek parakrin yang ditimbulkan (Paterson *et al.*, 2014). Kemampuan

MSC ini tidak diimbangi dengan kemampuan bertahan hidup yang lama serta memiliki kekurangannya dalam hal distribusi kepada pasien (Pawitan, 2014). Untuk itu beberapa terobosan terbaru pada pengembangan MSC terus dilakukan seperti pengembangan MSC-CM. Upaya dalam hal memaksimalkan potensi efek parakrin dari MSC-CM dapat menggunakan berbagai cara salah satunya dengan pengkondisian MSC pada lingkungan hipoksia (Madrigal *et al.*, 2014). Penelitian terbaru yang dilakukan Putra *et al* (2019) didapatkan penurunan yang signifikan terhadap nilai BUN dan kadar kreatinin setelah pemberian MSC yang dihipoksia pada tikus gagal ginjal akut yang diinduksi dengan gentamicin dibandingkan dengan MSC normal dan kontrol. Penelitian yang dilakukan oleh Abouelkheir *et al.* (2016) membuktikan bahwa pemberian MSC dan MSC-CM telah terbukti dapat memberi perbaikan pada fungsi ginjal pada tikus dengan model gagal ginjal akut, dimana baik MSC dan MSC-CM mampu menurunkan tingkat kerusakan jaringan dan apoptosis sel tubular. Model gagal ginjal akut diperoleh dengan menginduksi hewan coba menggunakan gentamicin yang menyebabkan kerusakan nekrosis tubular akut (Kasper *et al.*, 2015; Putra *et al.*, 2019). Berdasarkan referensi beberapa penelitian, dosis MSC-CM pada tikus model gagal ginjal akut maupun kronik yakni 200 μ L sebagai dosis terendah dan 400 μ L sebagai dosis tertinggi (Hu *et al.*, 2020).

Berdasarkan hal tersebut diatas maka diperlukan upaya penelitian berupa pengaruh MSC *conditioned medium* dosis tinggi terhadap kadar ureum pada gagal ginjal akut.

1.2. Rumusan Masalah

Adakah pengaruh MSC-CM dosis tinggi terhadap penurunan kadar ureum pada gagal ginjal akut?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Mengetahui pengaruh MSC-CM dosis tinggi terhadap penurunan kadar ureum pada gagal ginjal akut.

1.3.2. Tujuan Khusus

1.3.2.1 Mengetahui penurunan kadar ureum pada tikus gagal ginjal akut tanpa perlakuan (kontrol),

1.3.2.2 Mengetahui penurunan kadar ureum pada tikus gagal ginjal akut pada kelompok perlakuan.

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat Teoritis

1.4.1.1. Memberikan manfaat berupa ilmu pengetahuan tentang penggunaan MSC-CM terhadap kadar ureum pada tikus model gagal ginjal akut.

1.4.1.2. Penelitian ini diharapkan bermanfaat untuk para dokter dalam pengembangan penelitian terapi alternatif gagal ginjal akut.

1.4.2. Manfaat Praktis

- 1.4.2.1. Memberikan informasi kepada masyarakat tentang aplikasi dari MSC-CM pada gagal ginjal akut.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Ureum

2.1.1. Definisi

Ureum atau urea merupakan produk sisa hasil dari pemecahan protein berupa asam amino, dimana memiliki berat molekul 60 dalton yang diproduksi oleh hepar (Setiati *et al.*, 2014; Sherwood, 2014).

2.1.2. Metabolisme Ureum

Di dalam jaringan tubuh terjadi berbagai proses terutama pertukaran gugus-gugus amino antara asam-asam amino yang dikatalisisasi oleh aminotransferase. Dalam transformasinya dan proses daur ulang dari asam-asam amino, gugus-gugus amino tersebut dikeluarkan dari asam amino. Gugus amino yang dibebaskan selanjutnya akan diubah menjadi amonia dan selanjutnya dibawa ke hepar dimana gugus tersebut selanjutnya akan digabungkan menjadi ureum dalam suatu jalur metabolik yang disebut daur ureum (Sacher dan McPherso, 2012).

Selanjutnya ureum akan berdifusi bebas masuk ke dalam cairan intraseluler dan ekstraseluler. Zat ini akan mengalami proses pemekatan di dalam urine untuk selanjutnya akan dieksresikan. Pada kondisi keseimbangan nitrogen yang stabil, sekitar 25 gram ureum

diekskresikan setiap harinya. Kadar dalam darah mencerminkan keseimbangan antara produksi dan ekskresi ureum (Sacher dan McPherso, 2012). Secara singkat, biosintesis urea berlangsung dalam empat tahap: (1) transaminasi, (2) deaminasi oksidatif glutamat, (3) transpor amonia, dan (4) reaksi siklus urea (Murray, 2012).



Gambar 2.1. Aliran keseluruhan nitrogen dalam katabolisme asam amino (Murray, 2012)

2.1.3. Reabsorpsi Urea

Proses reabsorpsi secara pasif ureum selain melibatkan Cl^- dan H_2O , juga secara tidak langsung berkaitan dengan reabsorpsi aktif Na^+ . Reabsorpsi H_2O yang berlangsung secara osmotis di tubulus proksimal sekunder terhadap reabsorpsi aktif Na^+ menghasilkan gradien konsentrasi untuk ureum yang mendorong reabsorpsi pasif bahan sisa ini.. Reabsorpsi besar-besaran H_2O di tubulus proksimal

secara bertahap mengurangi filtrat dari semula 725 ml/mnt menjadi hanya 44 ml/mnt cairan yang tertinggal di lumen di akhir tubulus proksimal (65% dari H_2O di filtrat semula, atau 81 ml/mnt, telah direabsorpsi). Bahan-bahan yang telah terfiltrasi tetapi belum direabsorpsi menjadi semakin pekat di dalam cairan tubulus karena H_2O direabsorpsi semenrara mereka tertinggal. Ureum adalah salah satu bahan tersebut (Sherwood, 2014).

Konsentrasi ureum sewaktu difiltrasi di glomerulus identik dengan konsentrasinya di plasma yang masuk ke kapiler peritubulus. Namun, jumlah ureum yang ada dalam 125 ml cairan yang difiltrasi di awal tubulus proksimal terkonsentrasi hingga tiga kali lipat dalam 44 ml cairan yang tersisa di akhir tubulus proksimal. Akibatnya, konsentrasi ureum di dalam cairan tubulus menjadi jauh lebih besar daripada konsentrasi urea di kapiler sekitar. Karena itu, terbentuk gradien konsentrasi untuk ureum yang secara pasif menyebabkan ureum berdifusi dari lumen tubulus ke dalam plasma kapiler peritubulus. Karena dinding tubulus proksimal hanya agak permeabel terhadap ureum maka hanya sekitar 50% dari urea yang terfiltrasi direabsorpsi secara pasif melalui cara ini (Sherwood, 2014).

2.2. Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Kadar Ureum

Nirogen urea darah (BUN) berasal dari penguraian protein terutama protein yang berasal dari makanan. Laki-laki memperlihatkan angka rata-

rata yang sedikit lebih tinggi daripada perempuan. Pada orang sehat yang makanannya sering mengandung banyak protein, nitrogen urea darah biasanya berada di batas atas rentang normal. Kadar BUN yang rendah umumnya tidak dianggap abnormal . Hal ini mungkin mencerminkan rendahnya protein dalam makanan atau ekspansi volume plasma. Kadar BUN yang sangat rendah merupakan temuan penting pada penyakit hati yang berat, yang mengisyaratkan bahwa hati tidak mampu membentuk urea dari amonia dalam sirkulasi (Sacher dan McPherso, 2012).

Kondisi kadar ureum yang tinggi disebut uremia (walaupun dalam bahasa umum uremia sering dianggap sebagai peningkatan semua zat sisa nitrogenosa). Penyebab yang tersering adalah gagal ginjal yang menyebabkan gangguan ekskresi. Azotemia mengacu kepada peningkatan semua senyawa nitrogenosa yang memiliki berat molekul rendah pada gagal ginjal. Uremia prarenal berarti peningkatan BUN akibat mekanisme yang bekerja sebelum filtrasi darah oleh glomerulus. Mekanisme-mekanisme ini mencakup penurunan yang signifikan aliran darah ke ginjal seperti syok, dehidrasi, atau peningkatan katabolisme protein seperti perdarahan masif ke dalam saluran cerna disertai pencernaan hemoglobin dan penyerapannya sebagai protein dalam makanan (Sacher dan McPherso, 2012).

Uremia pasca renal terjadi apabila terdapat obstruksi saluran kemih bagian bawah di ureter, kandung kemih, atau uretra yang mencegah ekskresi urine. Urea di dalam urine yang tertahan dapat berdifusi kembali ke dalam aliran darah. Penyebab uremia di ginjal mencakup penyakit atau toksisitas

yang mempengaruhi glomerulus dan mikrovaskularisasi ginjal atau tubulus ginjal (Sacher dan McPherso, 2012).

Tabel 2.1. Penyebab kenaikan kadar ureum (Pagana, 2015)

Faktor	Rasio Ureum	Penyebab
Pra renal	Meningkat	• Hipovolemia, luka bakar, dehidrasi • Perdarahan saluran cerna, asupan protein berlebih • Katabolisme protein berlebih, kelaparan
Renal	Normal	• Sepsis • Penyakit ginjal (glomerulonefritis, pielonefritis, nekrosis tubular akut)
Pasca renal	Menurun	• Obat-obat nefrotoksik • Obstruksi ureter • Obstruksi outlet kandung kemih

2.3. Gagal Ginjal Akut

2.3.1. Definisi

Gagal ginjal akut (GGA) merupakan kelainan ginjal struktural dan fungsional dalam 48 jam yang diketahui melalui pemeriksaan darah, urin, jaringan, atau radiologis (Kasper *et al.*, 2015). Kriteria diagnosis GGA menurut *the International Kidney Disease: Improving Global Outcomes* (KDIGO) sebagai berikut (Khwaja, 2012):

1. Peningkatan serum kreatinin (SCr) $\geq 0,3$ mg/dL ($\geq 26,5$ μ mol/L) dalam 48 jam; atau
2. Peningkatan SCr $\geq 1,5$ x baseline, yang terjadi atau diasumsikan terjadi dalam kurun waktu 7 hari sebelumnya; atau
3. Volume urin $< 0,5$ mL/kgBB/jam selama > 6 jam

2.3.2. Etiologi

Pengertian gagal ginjal akut tidak termasuk etiologinya dan didiagnosis sebagai bentuk tunggal, terlepas berbagai patogenesisnya. Penting untuk menentukan penyebab GGA untuk meningkatkan hasil perawatan pada pasien (Meran *et al.*, 2014). GGA dibagi menjadi tiga etiologi yaitu prerenal, renal, dan postrenal hal ini dijelaskan lebih lanjut sebagai berikut (Kasper *et al.*, 2015):

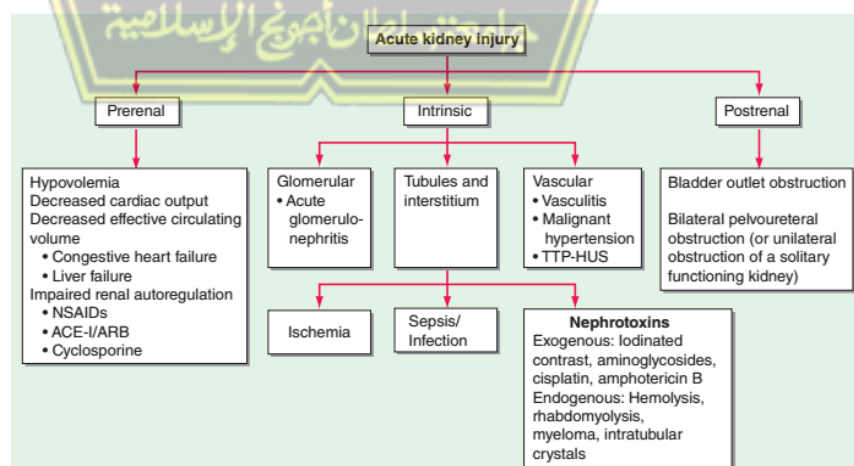
1. Hipovolemi: perdarahan, muntah-muntah, diare, penggunaan diuretik, luka bakar, hipovoleminemia berat, dehidrasi akibat kurang asupan cairan, diabetes insipidus dan lain-lain.
2. Gangguan hemodinamik ginjal yang menyebabkan hipoperfusi renal, antara lain:
 - Penurunan curah jantung: penyakit miokardium, katub jantung dan perikardium, hipertensi pulmonal, gagal jantung atau gangguan aliran balik jantung;
 - Vasodilatasi sistemik: sepsis antihipertensi, anafilaksis;
 - Obstruksi renovaskular: aterosklerosis, trombosis, emboli, vaskulitis;
 - Vasokonstriksi ginjal;
 - Gangguan autoregulasi ginjal;
 - Sindrom hepatorenal (GGA pre renal yang memperberat keadaan seperti sirosis hati stadium lanjut atau gagal hati akut)

- Sindroma kardiorenal

GGA yang terjadi pada renal atau intrinsik memiliki prevalensi sekitar 40%, penyebab GGA renal atau intrinsik adalah:

1. Penyakit glomerulus: glomerulonefritis, vaskulitis, lupus eritromatosus sistemik, koagulasi intravaskular diseminata, skleroderma;
2. Nekrosis tubular akut: iskemia, infeksi, toksin;
3. Nefritis interstisial: reaksi alergi obat, pielonefritis, limfoma, leukemia, sindroma Sjogren;
4. Obstruksi intratubular: asam urat akibat sindrom lisis tumor, obat-obatan.

GGA yang terjadi pada post renal atau obstruksi pada leher kandung kemih atau uretra memiliki prevalensi sekitar 5%,. Dapat disebabkan oleh urolitiasis, bekuan darah, keganasan, kompresi ekstrarenal (fibrosis retroperitoneum), hipertrofi prostat atau striktur.



Gambar 2.2. Etiologi gagal ginjal akut (Kasper *et al.*, 2015)

2.3.3. Patogenesis

Patogenesis GGA sesuai dengan etiologinya. Pada tahapan akhir yang umum di temukan pada semua kondisi adalah terjadinya nekrosis tubular akut (Goyal *et al.*, 2019). Pada kondisi terjadinya nekrosis tubular akut ditemukan hal-hal seperti berikut (Kumar *et al.*, 2015):

1. Jejas tubulus.

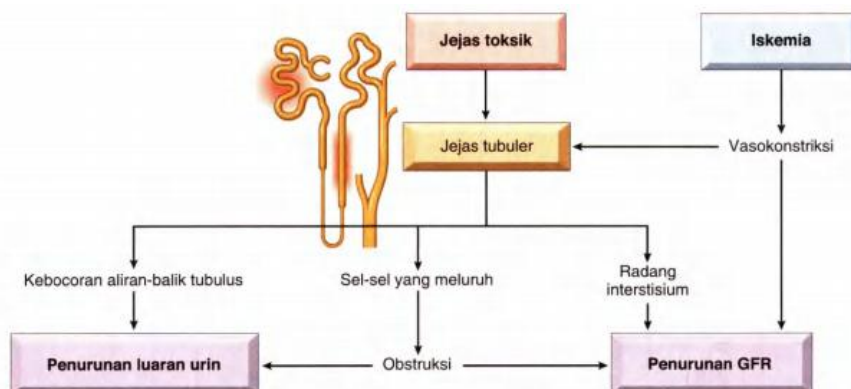
Sel-sel epitel tubulus terutama sensitif terhadap anoksia dan juga rentan terhadap toksin. Beberapa faktor menjadi presdiposisi jejas toksik pada tubulus, mencakup peningkatan konsentrasi berbagai molekul intrasel yang diresorpsi atau disekresi di sepanjang tubulus proksimal, demikian pula pajanan terhadap konsentrasi tinggi dari zat terlarut di dalam lumen yang menjadi pekat akibat reasorpsi air dari filtrat glomerulus.

2. Gangguan aliran darah

Gangguan aliran darah yang persisten dan berat mengakibatkan pengurangan pengiriman oksigen dan substrat ke sel-sel tubulus. Iskemia menyebabkan beberapa perubahan struktural pada sel-sel epitel Kehilangan polaritas sel merupakan peristiwa dini yang reversibel. Peristiwa tersebut mengakibatkan terjadinya redistribusi protein membran (misalnya Na^+ , K^+ , -ATPase) dari basolateral ke permukaan lumen sel-sel tubulus, mengakibatkan penurunan reabsorpsi natrium oleh tubulus

proksimal dan akibatnya meningkatkan pengiriman natrium ke tubulus distal. Pengiriman tersebut dilakukan melalui sistem umpan balik tubuloglomerulus, berkontribusi pada vasokonstriksi arteriol preglomerulus.

Redistribusi atau perubahan integrin yang melekatkan sel-sel tubulus mengakibatkan tercabutnya sel-sel dari membran basal dan dilepaskan ke dalam urin. Jika terdapat debris tubulus yang bertumpuk maka dapat membendung aliran keluar urin (obstruksi oleh cast), dan meningkatkan tekanan intratubulus dan akibatnya mengurangi LFG. Di samping itu, cairan dari tubulus yang rusak dapat bocor ke interstisium (kebocoran balik/*back leak*), mengakibatkan peningkatan tekanan intrastisialis dan tubulus mengalami kolaps. Sel-sel tubulus yang iskemik juga mengekspresikan kemokin, sitokin dan molekul-molekul adhesi seperti P-selektin yang mendatangkan leukosit dan dapat berpartisipasi dalam jejas jaringan (peradangan interstisial).



Gambar 2.3. Patogenesis gagal ginjal akut (Kumar *et al.*, 2015)

2.3.4. Diagnosis

1. Anamnesis

- a. Suspek pre-renal azotemia: muntah, diare, poliuria akibat glikosuria, riwayat konsumsi obat termasuk diuretik, *nonsteroidal anti-inflammatory drugs* (NSAID), *angiotensin converting enzyme* (ACE) inhibitors, dan *angiotensin receptor blocker* (ARB).
- b. Kolik pinggang yang menjalar ke daerah genital, sugestif obstruksi ureter
- c. Sering kencing di malam hari (nokturia) dan gangguan berkemih lain; dapat muncul pada penyakit prostat
- d. Riwayat penyakit prostat, batu ginjal, atau keganasan pelvis atau paraaorta, suspek *post-renal* (Alwi *et al.*, 2015).

2. Pemeriksaan Fisik

- a. Hipotensi ortostatik, takikardi, tekanan vena jugularis menurun, turgor kulit menurun, dan membran mukosa kering.
- b. Perut kembung dan nyeri suprapubik karena pembesaran kandung kemih
- c. GGA dengan purpura palpable, perdarahan paru, atau sinusitis, sugestif vaskulitis sistemik
- d. Reaksi idiosinkrasi (demam, artralgia, rash kemerahan yang gatal) menunjukkan suspek nefritis interstitial

- e. Tanda iskemik pada ekstremitas bawah positif menandakan suspek rhabdomyolisis (Alwi *et al.*, 2015).

3. Pemeriksaan Penunjang

- a. Laboratorium: darah perifer lengkap, urinalisis, sedimen urin, serum ureum, kreatinin, asam urat, kreatin kinase, elektrolit, *lactate dehydrogenase* (LDH), *blood urea nitrogen* (BUN), *antinuclear antibodies* (ANAs), *antineutrophilic cytoplasmic antibodies* (ANCA), *antiglomerular basement membrane antibodies* (AGBM), dan *cryoglobulins*.
- b. Radiologis: USG ginjal dan traktus urinarius, CT scan, pielografi antegrad atau retrograd, MRI
- c. Biopsi ginjal (Alwi *et al.*, 2015).

2.3.5. Tatalaksana

Agar tatalaksana pasien GGA dapat mencapai hasil yang diharapkan harus memperhatikan berbagai faktor dengan langkah-langkah seperti terlihat pada tabel berikut (Setiati *et al.*, 2014).

Tabel 2.2. Algoritma Tatalaksana GGA (Setiati *et al.*, 2014)

Langkah 1	Mengenal kondisi klinis yang dihadapi • Menentukan diagnosis GgGA secara dini dan benar • Menentukan etiologi GgGA • Mengenal komplikasi GgGA
Langkah 2	Pada tahap mana GgGA yang dihadapi? <i>Risk Injury-failure</i> Pemilihan jenis pengobatan yang tepat waktu, sangat tergantung pada tahap mana GgGA yang kita hadapi
Langkah 3	Memilih jenis pengobatan yang tepat Secara garis besar, ada 2 jenis pengobatan GgGA yaitu terapi konservatif (suportif) dan terapi pengganti ginjal

Terdapat 2 jenis pengobatan dalam tatalaksana terhadap komplikasi GGA, yaitu (Setiati *et al.*, 2014):

1. Terapi konservatif (suportif)
2. Terapi pengganti ginjal (TPG)

Yang dimaksud dengan terapi konservatif (suportif) adalah penggunaan obat-obatan atau cairan dengan tujuan mencegah atau mengurangi progresifitas, morbiditas dan mortalitas penyakit akibat komplikasi GGA. Bila terapi konservatif tidak berhasil, maka harus diputuskan untuk melakukan TPG.

Tujuan terapi konservatif pada GGA adalah sebagai berikut (Setiati *et al.*, 2014):

1. Mencegah progresifitas penurunan fungsi ginjal
2. Meringankan keluhan-keluhan akibat akumulasi toksin azotemia
3. Mempertahankan dan memperbaiki metabolisme secara optimal
4. Memelihara keseimbangan cairan, elektrolit dan asam basa

Beberapa prinsip terapi konservatif antara lain (Setiati *et al.*, 2014):

1. Hati-hati pemberian obat yang bersifat nefrotoksik
2. Hindari keadaan yang menyebabkan depleksi volume cairan ekstraselular dan hipotensi
3. Hindari gangguan keseimbangan elektrolit dan asidosis metabolik
4. Hindari instrumentasi (kateterisasi dan sistoskopi) tanpa indikasi medis yang kuat

5. Hindari pemeriksaan radiologi dengan media kontras tanpa indikasi medis yang kuat
6. Kendalikan hipertensi sistemik dan tekanan intraglomerular
7. Kendalikan keadaan hiperglikemia dan infeksi saluran kemih (ISK)
8. Diet protein yang proporsional Pengobatan yang sesuai terhadap etiologi GGA

Pada dasarnya terapi konservatif (suportif) adalah untuk menjaga homeostasis tubuh dengan mengurangi efek buruk akibat komplikasi GGA. Beberapa terapi suportif beserta dosis obat yang dianjurkan dapat terlihat pada tabel 2.2.

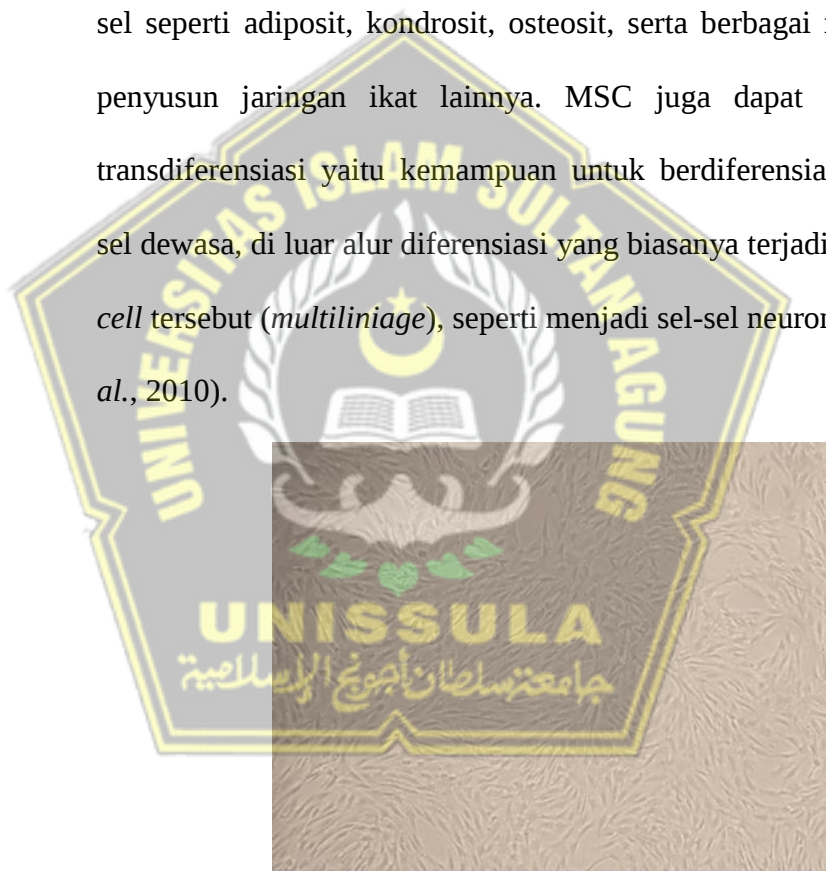
Tabel 2.3. Terapi konservatif pada GGA (Setiati *et al.*, 2014)

Pengelolaan suportif GGA	
Komplikasi	Terapi
Kelebihan cairan	Batasi garam (1-2 gram/hari) dan air (< 1 L/hari)
Intravaskular	Diuretik (biasanya furosemide +/- tiazide)
Hiponatremia	Batasi cairan (<1 liter/hari). Hindari pemberian cairan hipotonis (termasuk dextrosa 5%)
Hiperkalemi	Batasi intake kalium (<40 mmol/hari) Hindari suplemen kalium, diuretik hemat kalium. Beri resin "potassium-binding ion exchange" Beri glukosa 50% 500 cc + insulin 10 unit Beri Natrium-bikarbonat (50-100 mmol) Beri salbutamol 10-20 mg inhaler / 0,5 - 1 mg IV Kalsium glukonat 10% (10cc dalam 2-5 menit)
Asidosis metabolik	Batasi intake protein (0,8-1,0 gr/kgBB/hari) Beri natrium bikarbonat (kadar serum bikarbonat plasma > 15 mmol/L dan pH arteri >7,2)
Hiperfosfatemia	Batasi intake fosfat (800 mg/hari) Beri pengikat fosfat (kalsium asetat-karbonat, alumunium HCl sevelamer)
Hipokalsemia	Beri kalsium karbonat atau kalsium glukonat 10% (10-20 cc)
Hiperurisemia	Tidak perlu terapi bila kadar asam urat <15 mg/dl

2.4. *Mesenchymal Stem Cell* (MSC)

2.4.1. Definisi

Mesenchymal stem cell (MSC) adalah salah satu *adult stem cell* yang belum berdiferensiasi, dijumpai pada jaringan yang telah memiliki fungsi spesifik dalam tubuh dengan keadaan yang belum aktif. MSC memiliki potensi untuk berdiferensiasi menjadi beberapa sel seperti adiposit, kondrosit, osteosit, serta berbagai macam sel penyusun jaringan ikat lainnya. MSC juga dapat melakukan transdiferensiasi yaitu kemampuan untuk berdiferensiasi menjadi sel dewasa, di luar alur diferensiasi yang biasanya terjadi pada *stem cell* tersebut (*multiliniage*), seperti menjadi sel-sel neuron (Halim *et al.*, 2010).

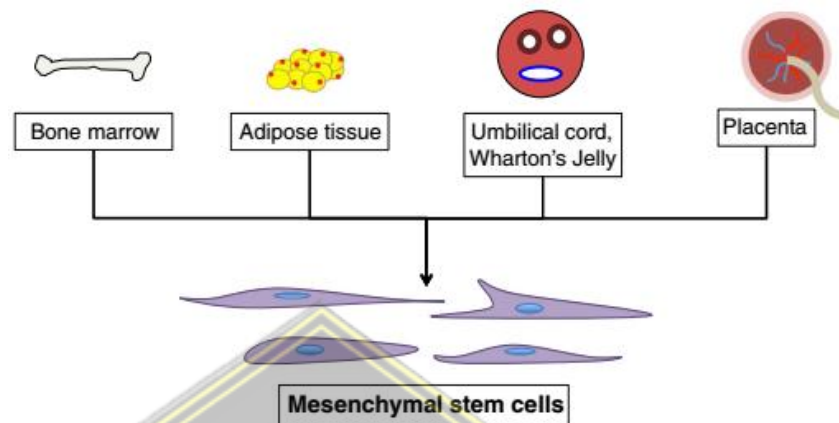


Gambar 2.4. Morfologi dari kultur MSC (Ibraheim *et al.*, 2018).

2.4.2. Sumber

MSC dapat diperoleh pada jaringan dewasa maupun fetal. Sumber MSC yakni antara lain dari sumsum tulang, jaringan

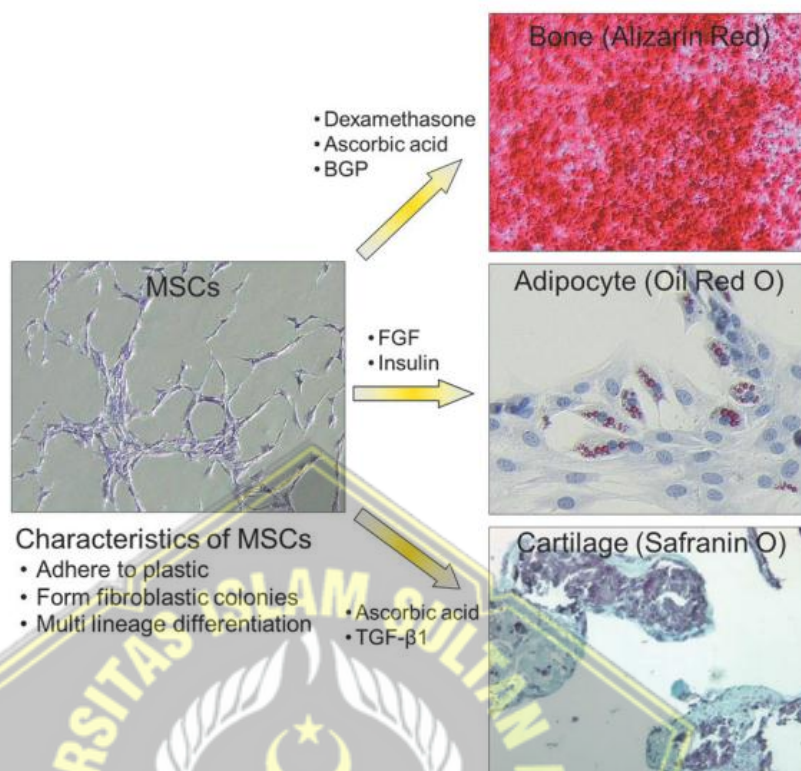
adiposa, *umbilical cord*, *wharton jelly* dan placenta (Lee *et al.*, 2016).



Gambar 2.5. Sumber MSC (Lee *et al.*, 2016)

2.4.3. Karakteristik

Mesenchymal stem cell (MSC) dicirikan mempunyai kemampuan untuk memperbarui diri dan mampu berdiferensiasi ke dalam banyak garis keturunan jaringan sel, seperti osteoblas, adiposit, kondrosit, tenosit, dan miosit (Ding *et al.*, 2011). MSC diperoleh dari sejumlah jaringan, termasuk sumsum tulang, jaringan adiposa, dan tali pusat, MSC juga ditandai oleh ekspresi permukaan CD penanda, termasuk CD44 +, CD73 +, CD90 +, dan CD105+, dan dibedakan dari sel hematopoietik oleh kurangnya CD34, CD45, CD14, dan HLA-DR (Ding *et al.*, 2011). MSC kemampuan imunomodulator, reparatif, dan regeneratif melalui pensinyalan parakrin, yang memiliki potensi terapi yang besar (Lee *et al.*, 2012; Schlosser *et al.*, 2012)



Gambar. 2.6. Tiga kriteria MSC. 1) sel-sel mampu menempel pada plastik, 2) membentuk koloni mirip fibroblas, 3) berdiferensiasi menjadi beberapa garis keturunan (tulang, otot, atau adiposa tergantung pada rangsangan yang diberikan pada percobaan *in vitro* (King *et al.*, 2014)

2.4.4. Kultur MSC

Metode kultur MSC selain menggunakan medium pertumbuhan, medium esensial alfa yang dimodifikasi (α -MEM, α -modified essential medium) juga dapat dilakukan dengan penambahan fetal bovine serum (FBS), penisilin, steptomisin, dan ampoterasin. Sel dapat tumbuh dengan baik setelah dilakukan pencucian dan dengan inkubasi 24 jam dalam inkubator pada suhu 37° C dengan humidifikasi CO₂ 5%. Formulasi medium pertumbuhan yang dapat dipergunakan untuk mengisolasi dan

mengkultur MSC antara lain Dullbecco's Modified Eagles Medium (DMEM), BGjb, Alpha MEM, DMEM-F12, McCoy's 5A, dan RPMI 1640. Formulasi medium pada umumnya menggunakan *Fetal Bovine Serum* 10% sebagai campuran faktor-faktor pertumbuhan yang belum teridentifikasi (Fedik, *et al*, 2014).

2.4.5. Mobilisasi MSC

Sudah dibuktikan bahwa MSC, ketika ditransplantasikan secara sistemik, menunjukkan kemampuan untuk menuju ke lokasi kerusakan jaringan pada hewan coba. Hal ini menunjukkan bahwa MSC memiliki kapasitas untuk bermigrasi. Mekanisme migrasi MSC masih tetap belum jelas. Reseptor kemokin serta ligannya dan molekul adhesi memainkan peranan yang penting dalam mekanisme *homing* pada jaringan yang spesifik melalui leukosit. Banyak penelitian telah melaporkan ekspresi fungsional berbagai reseptor kemokin dan molekul adhesi pada MSC manusia. Memanfaatkan potensi migrasi dari MSC oleh modulasi interaksi reseptor kemokin merupakan cara yang ampuh untuk meningkatkan kemampuan MSC untuk memperbaiki kelainan bawaan dari jaringan *mesenchymal* atau memfasilitasi perbaikan jaringan *in vivo* (Chamberlain *et al.*, 2007; Putra, 2019).

Mediator sinyal akan dilepaskan oleh suatu jaringan yang rusak yang tujuannya untuk memobilisasi *Mesenchymal Stem*

Cells agar menuju ketempat jaringan yang rusak tersebut. Terdapat banyak jenis mediator sinyal yaitu VEGF (*vascular endothelial growth factor*), *granulocyte colony stimulating factor* (GCSF), *chemokines*, *erythropoietin* (EPO), *stromal-derived factor-1* (SDF-1), *granulocyte macrophage-colony stimulating factor* (GM-CSF), *fibroblast growth factor*, *angiopoietin-2*, *platelet-derived growth factor-CC*, *stem cell factor* (SCF), *placental growth factor* (PlGF), dan interleukin (IL)-8, IL-6, IL-3, IL-2, serta IL-1 β (Ding *et al.*, 2011).

2.4.6. Peran MSC

MSC yang dapat disebut juga *stromal stem cell* merupakan sel yang mirip dengan fibroblas, yang mampu mengoptimalkan lingkungan mikro dari suatu sel hematopoietik. MSC termasuk *adult stem cell* yang memiliki potensi untuk berdiferensiasi menjadi berbagai jaringan seperti jaringan lemak, kartilago, tulang dan endotel, tergantung pada *niche* atau lingkungan mikronya. MSC terbukti dapat digandakan karena karakternya yang dapat menempel pada permukaan kultur jaringan (Putra, 2019; Velazquez, 2007).

MSC mempunyai kemampuan untuk memperbarui diri dan berdiferensiasi *multilineage*. MSC juga mempunyai kemampuan untuk menghambat proliferasi sel B, sel T, serta sel NK. MSC dalam proses menghambat tersebut tidak memerlukan APC. Oleh

karena itu MSC berperan sebagai imunomodulator (Putra, 2019; Yoshikawa *et al.*, 2008).

2.4.7. Potensi Diferensiasi dan Kontrol MSC

Ciri khas MSC adalah kapasitas intrinsik untuk memperbarui diri yang terlihat dalam properti klonogenik dan potensi diferensiasi dalam banyak keturunan (*multilineage*). Dalam kondisi yang diatur, MSC dapat berdiferensiasi menjadi kondrosit, osteoblas, dan adiposit, selain itu juga berperam sebagai sel stroma pendukung hematopoiesis (Sandhaanam *et al.*, 2013).

Faktor pertumbuhan yang mempunyai efek regulator terhadap MSC meliputi anggota dari superfamili TGF- β , *platelet-derived growth factor* (PDGF), *insulin-like growth factor* (IGF), dan *fibroblast growth factors* (FGF). Dari semua faktor pertumbuhan ini superfamili TGF- β , *bone morphogenic protein* (BMP) merupakan penginduksi yang paling poten dalam kondrogenesis MSC. Pada MSC manusia, TGF- β terlibat dalam peningkatan signifikan jumlah proteoglikan dan kolagen tipe II yang dihasilkan setelah dilakukan kultur. BMP yang dikenal peranannya dalam pembentukan tulang rawan, dapat berperan sendiri ataupun bersama dengan faktor pertumbuhan lainnya dalam menginduksi atau meningkatkan diferensiasi *condrogenic* MSC (Fedik *et al.*, 2014).

2.5. *Mesenchymal Stem Cell Conditioned Medium (MSC-CM)*

Conditioned medium (CM) merupakan faktor-faktor yang disekresikan oleh *stem cell* yang dapat ditemukan di medium kultur *stem cell*. Faktor-faktor ini disebut sebagai *secretome*, *microvesicles*, atau *exosome* (Kim dan Choi, 2013). *Secretome* dari MSC dapat menggantikan peran terapi MSC konvensional itu sendiri (Lotfinia *et al*, 2017). CM memiliki peluang sebagai pengobatan regeneratif (Pawitan, 2014). CM mengandung berbagai macam *growth factor* dan agen regeneratif jaringan yang disekresikan oleh *stem cell*. Faktanya bahwa *stem cell* mensekresi berbagai *growth factor* juga ditunjukkan oleh berbagai studi proteomik, yang mengungkapkan adanya berbagai faktor pertumbuhan dan sitokin lainnya pada CM (Cantineaux *et al.*, 2013; Mirabella *et al.*, 2011; Park *et al.*, 2010). Komponen dari CM yang larut pada *secretome* MSC dapat dipisahkan dengan menggunakan metode seperti *centrifugation*, *filtration*, *polymer precipitation*, *ion exchange chromatography* dan *size-exclusion chromatography* (Kim *et al.*, 2016; Vishnubhatla *et al.*, 2014). Sedangkan kualitas dari MSC-CM dapat ditingkatkan melalui stimulasi kondisi lingkungan hipoksia maupun inflamasi pada saat kultur MSC (Madrigal *et al.*, 2014).

Tabel 2.4. Kadar *growth factor* berbagai sumber sel, waktu kultur, jumlah sel dan proses dari *conditioned medium* (Pawitan, 2014).

No	Sumber SC	Kultur/Durasi	Jumlah Sel/Proses	Kadar <i>Growth Factor</i>
1	Human -BM- MSC	Monolayer -24 jam	4 × 10 ⁶ /Conc. 25x	VEGF Normoxia : 230 pg/mL Hypoxia : 450 pg/mL HGF Normoxia : 600 pg/mL Hypoxia : 750 pg/mL
2	Human - Adipose -SC dalam MEM-FBS	Spheroid- 2 hari	10 ⁵ /Centr	VEGF : 14.4 ± 0.4 ng/mL FGF2 : 13.2 ± 2.2 ng/mL HGF : 13.3 ± 2.3 ng/mL CXCL : 12 16.6 ± 2.9 ng/mL
3	Human -MSC	Monolayer -48 jam	70%/(—)	IGF-1 : 1515.6 ± 211.8 pg/mL VEGF : 465.8 ± 108.8 pg/mL TGF-β1 : 339.8 ± 14.4 pg/mL HGF : 20.3 ± 7.9 pg/mL

2.6. Gentamisin

Gentamisin merupakan antibiotika golongan aminoglikosida yang banyak digunakan untuk terapi infeksi berat terutama untuk infeksi yang disebabkan oleh bakteri gram negatif dan beberapa bakteri gram positif (Donbhaktuni *et al.*, 2016). Sebagaimana kelompok aminoglikosida yang lain, dapat menyebabkan nefrotoksisitas melalui hambatan sintesis protein pada sel penyusun ginjal (Balakumar *et al.*, 2010). Kondisi nekrosis yang terjadi pada paparan gentamisin yakni nekrosis tubular akut, dimana kondisi ini merupakan sindrom gagal ginjal akut intrinsik karena kondisi iskemia atau paparan agen nefrotoksik. Hal tersebut menyebabkan banyak sel tubulus mengalami kematian dan menurunkan fungsi tubulus sehingga berakibat gagal ginjal akut (Natalia *et al.*, 2017). Hal ini tergantung pada

dosis yang digunakan dan kondisi sebelum terapi diberikan (Balakumar *et al*, 2010). Pemberian gentamisin pada tikus Wistar dengan dosis 60 mg/kgBB/hari atau sama dengan 10 kali dosis terapeutik selama 7-10 hari pada penelitian ternyata menunjukkan perubahan morfologi pada ginjal tikus perlakuan. Penggunaan aminoglikosida 10 kali dosis terapeutik dapat menimbulkan efek nefrotoksik (Lintong *et al.*, 2012).

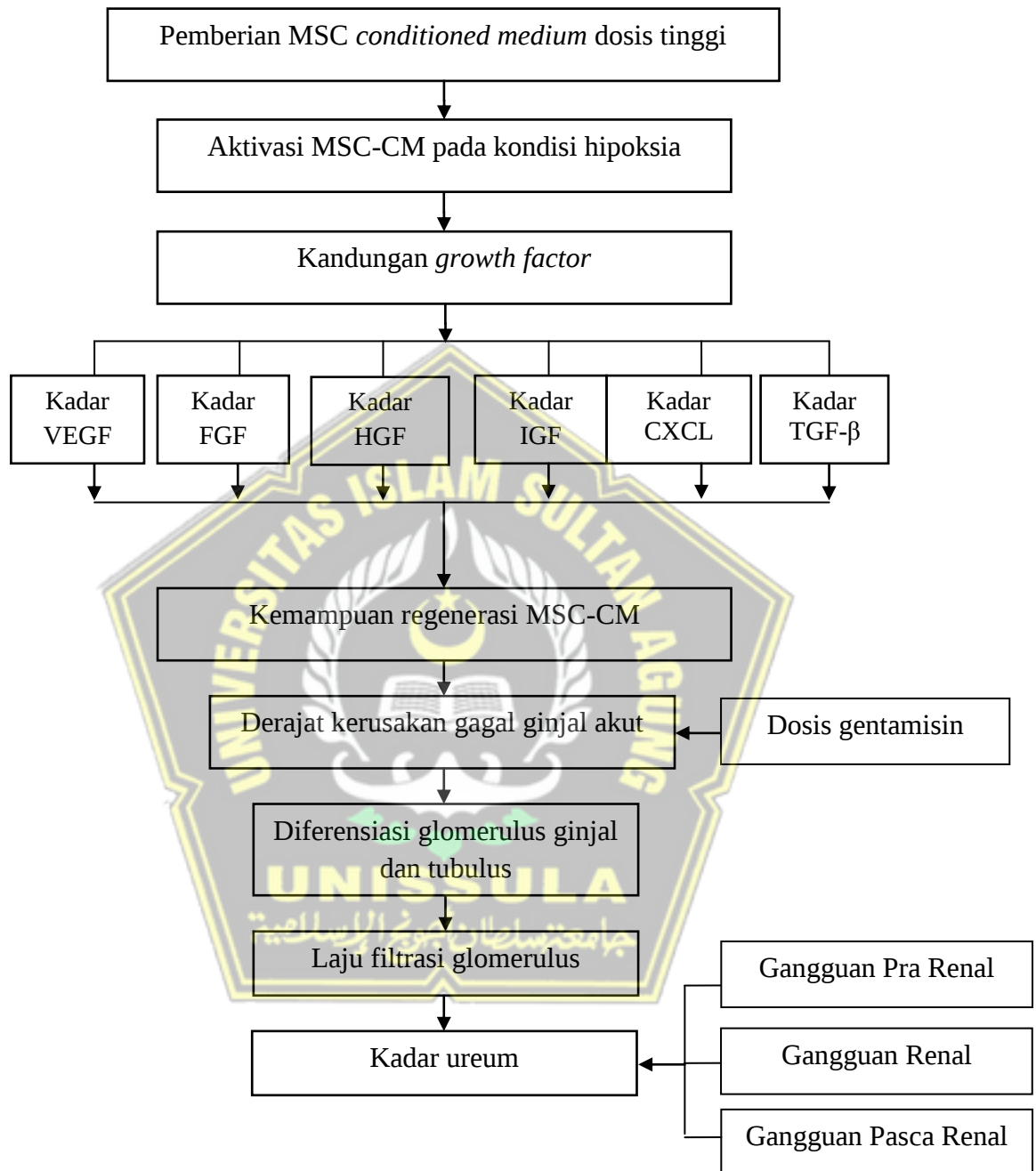
Nefrotoksisitas merupakan kondisi yang ditandai dengan perubahan morfofungsi sel, misalnya gangguan sintesa protein, peningkatan proses peroksidasi lipid dan kerusakan mitokondria. Kerusakan pada salah Satu penyebab kondisi patologis kronis pada ginjal. Selain perubahan morfofungsi ginjal, Gentamisin diduga dapat menyebabkan perubahan sementara atau permanen pada hasil pemeriksaan gambaran darah terkait dengan gangguan fungsi ginjal (El Badwi *et al*, 2012), pada gangguan ginjal, perubahan profil darah ditandai dengan terjadinya anemia, penurunan jumlah dan rungs' platelet, sehingga dapat meningkatkan tendensi perdarahan. Selain itu juga dapat disertai dengan penurunan fungsi leukosit dan limfosit, sehingga mengganggu fungsi pertahanan dan penderita gangguan mudah infeksi, juga dapat menyebabkan gangguan morfofungsi ginjal pada tikus (Lukiswanto dan Yuniarti, 2017).

2.7. Hubungan MSC *Conditioned Medium* Dosis Tinggi Terhadap Kadar Ureum Pada Gagal Ginjal Akut

MSC adalah sel multipoten yang mampu berdiferensiasi menjadi berbagai garis keturunan. MSC relatif mudah diperoleh dan dikembangkan dengan *in vitro* (Tamama *et al.*, 2011). Selain itu, alternatif terapi yang sedang dikembangkan adalah penggunaan *Mesenchymal stem cell conditioned medium* (MSC-CM). MSC-CM merupakan pengembangan produk dari *stem cell* dimana pada dasarnya memanfaatkan *secretome* dari MSC dapat menggantikan peran terapi MSC konvensional dalam penyembuhan berbagai penyakit termasuk luka (Lotfinia *et al.*, 2017; Pawitan, 2014).

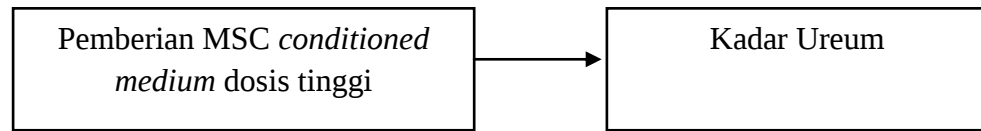
MSC-CM mampu memicu proses regenerasi dan perbaikan serta mediasi pembentukan organ-organ baru pada penelitian secara *ex vivo* (Justewicz *et al.*, 2012; Maguire, 2013). Sebuah penelitian menegaskan bahwa MSC-CM dari tali pusat manusia memiliki potensi besar untuk pengobatan stroke tanpa memerlukan transplantasi *stem cell* (Zhao *et al.*, 2015). Oleh karena itu, penerapan MSC-CM di tempat transplantasi sel induk langsung dapat mengatasi keterbatasan terapi berbasis sel saat ini (Cui *et al.*, 2017). Pada kondisi gagal ginjal akut, efek perlindungan parakrin dari MSC-CM secara signifikan menginduksi proliferasi sel dan menghambat nekrosis tubular pada ginjal (Reis *et al.*, 2012).

2.8. Kerangka Teori



Gambar 2.7. Kerangka teori

2.9. Kerangka Konsep



Gambar 2.8. Kerangka konsep

2.10. Hipotesis

Terdapat pengaruh MSC-CM dosis tinggi terhadap kadar ureum pada gagal ginjal akut.



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan menggunakan rancangan “*post test only control group design*” dengan menggunakan hewan coba.

3.2. Variabel dan Definisi Operasional

3.2.1. Variabel Penelitian

- 3.2.1.1. Variabel Bebas : Pemberian MSC *conditioned medium* dosis tinggi
- 3.2.1.2. Variabel Tergantung : Kadar ureum .

3.2.2. Definisi Operasional

- 3.2.2.1. Pemberian MSC *conditioned medium* dosis tinggi
Conditioned Medium diperoleh dari hasil *secretome* kultur *umbilical cord blood Mesenchymal Stem Cell* (MSC) yang diaktivasi dalam kondisi hipoksia dengan pengaliran gas CO₂ dalam *chamber* sehingga kadar O₂ menjadi 1,5% - 5% menggunakan alat *oxygen meter* yang diletakkan didalam *chamber* selama waktu 24 jam. MSC diisolasi dari *umbilical cord blood* yang berasal dari bayi yang telah melalui proses *informed consent*. MSC merupakan *stem*

cell yang mengekspresikan CD73+, CD90+ dan CD105+ dengan menggunakan pemeriksaan *flow cytometry*. Dosis MSC-CM yang digunakan sebesar 0,4.

Skala : Rasio

3.2.2.2. Kadar Ureum.

Merupakan hasil metabolisme akhir dari protein dimana disekresi oleh ginjal yang didapatkan sebanyak 0,1 mL sampel darah dan standar yang ditambahkan 1 mL reagen (campuran buffer dan urease, 100:1) ke dalam tabung sampel, standar dan blanko, selanjutnya dilakukan resuspensi dan diinkubasi pada suhu kamar (20-25°C) selama 5 menit, kemudian ditambahkan 1 mL reagen 2 kemudian di resuspensi dan diinkubasi pada suhu kamar (20-25°C) selama 10 menit. Konsentrasi sampel dan standar terhadap blanko dibaca dengan menggunakan spektrofotometri.

Skala : Rasio

3.3. Populasi dan Sampel Penelitian

3.3.1. Populasi Penelitian

3.3.1.1. Populasi Target

Populasi target dari penelitian ini adalah tikus putih jantan galur *Wistar* .

3.3.1.2. Populasi Terjangkau

Populasi terjangkau dari penelitian ini adalah tikus putih jantan galur *Wistar* yang diperoleh dari Laboratorium *Stem Cell and Cancer Research* Fakultas Kedokteran UNISSULA kemudian dipilih secara acak dengan mempertimbangkan kriteria inklusi dan eksklusi.

3.3.2. Sampel Penelitian

3.3.2.1 Kriteria Inklusi

1. Tikus putih jantan galur *Wistar* umur 2-3 bulan.
2. Tikus putih jantan galur *Wistar* yang sehat.
3. Tikus putih jantan galur *Wistar* dengan berat badan 200-250 gram.
4. Tikus yang berhasil diinduksi gagal ginjal akut

3.3.2.2 Kriteria Eksklusi

1. Tikus putih jantan galur *Wistar* yang memiliki kelainan anatomis
2. Tikus putih jantan galur *Wistar* yang sakit.

3.3.2.3 Kriteria *Drop Out*

Tikus mati selama penelitian

3.3.3. Cara Pengambilan Sampel Penelitian

Pengambilan sampel pada penelitian ini dengan menggunakan cara *randomized sampling*. Tikus putih jantan galur *Wistar* dibagi menjadi 2 kelompok yaitu kelompok kontrol (K) dan perlakuan (P).

3.3.4. Besar Sampel

Sampel minimal dihitung dengan menggunakan kriteria WHO sebanyak 5 ekor sampel per kelompok. Pada penelitian ini digunakan 12 ekor tikus putih jantan galur *Wistar* dengan masing-masing 6 ekor sampel per kelompok.

3.4. Instrumen dan Bahan Penelitian

3.4.1. Instrumen

1. *Micropipette with tip (blue tip, yellow tip, pink tip)*
2. *Pipette filler*
3. *Conical tube (15 ml, 50 ml)*
4. *Cryotube 1 ml*
5. *Inverted microscope*
6. *CO2 cylinder*
7. *Scissor*
8. *Pinset*
9. *Scalpel dan bisturi*
10. *Thermostirrer*
11. *Sentrifuge*
12. *Beaker glass*
13. *Aluminium foil*
14. *Dish*
15. *Flask*

16. *Tabung CO₂*
17. *Centrifuge*
18. *Imunocytochemistry*
19. *Biosafety Cabinet class 2*
20. *CO₂ Incubator*
21. *Hotplate stirrer*
22. *Disposable pipet*
23. *Heparin tube*
24. *Cell counter*
25. *24 well plate*
26. *Gunting bedah*
27. *Pipet kapiler*
28. *Freezer*
29. *Sentrifuge (Sarvall MC 12 V),*
30. *Spektrofotometer*
31. *Chamber*
32. *Oxygen meter*

3.4.2. Bahan Penelitian

1. *Mesenchymal Stem Cell*
2. *NaCl 0.9%*
3. *FBS*
4. *Medium dMEM*
5. *Alkohol 70%*

6. Fungizon 0.5%
7. *Streptomisin-penicilin* 1% (penstrep)
8. PBS
9. Alkohol 70%
10. H₂O₂
11. Antibodi CD105, CD90 and CD73
12. Parafin
13. Larutan xylol
14. Hematoksilin eosin
15. *Fluorescein isothiocyanate* (FITC)
16. *Allophycocyanin* (APC)
17. *Phycoerythrin* (PE)

3.5. Cara Penelitian

3.5.1. Pengajuan *Ethical Clearance*

Pengajuan *ethical clearance* penelitian ditujukan kepada dewan peninjau institusional dari etika Komite Etik Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

3.5.2. *Informed Consent* Kepada Ibu Hamil

Persetujuan atau *informed consent* terkait pengambilan darah dari *umbilical cord* dilakukan sebelum proses kelahiran pada ibu hamil.

3.5.3. Pengambilan Sampel *Umbilical Cord Blood*

1. Ambillah darah dari *umbilical cord* pasien @ 5cc
2. Masukkan ke dalam tabung heparin.

3.5.4. Teknik Isolasi *Mesenchymal Stem Cell* dari *Umbilical Blood Cord*

Seluruh proses dilakukan di dalam *biosafety cabinet class 2*, menggunakan peralatan yang steril dan dikerjakan dengan teknik sterilitas yang tinggi.

1. Masukkan fikol 4000 µl ke tabung sentrifuge.
2. Buka tutup tabung heparin pipet dengan pipet besar.
3. Masukkan ke dalam tabung berisi *ficoll* (secara hati-hati) jangan sampai tercampur hingga membentuk dua lapis. *Ficoll* dan darah.
4. Tutup tabung kemudian sentrifuge selama 15 menit dalam kecepatan 3000 RPM.
5. Setelah sentrifuge akan di dapatkan buffcoat (cincin putih ditengah).
6. Ambil *buffcoat* secara hati-hati masukkan ke tabung baru.
7. Beri PBS sebanyak 500µL.
8. Sentrifuge kembali selama 15 menit dalam kecepatan 3000 RPM.
9. Setelah di dapatkan pellet buang supernatan.
10. Beri PBS kemudian hitung.
11. Masukkan medium ke dalam tabung.

12. Pindahkan ke flash.
13. Inkubasi sampai konfluen 80%.

3.5.5. Kultur sel

1. Tanam di cawan petri jaringan
2. Inkubasi 37°C dan 5% CO₂
3. Setengah medium diganti setiap 2-3 hari sekali sampai sel konfluens 80%.

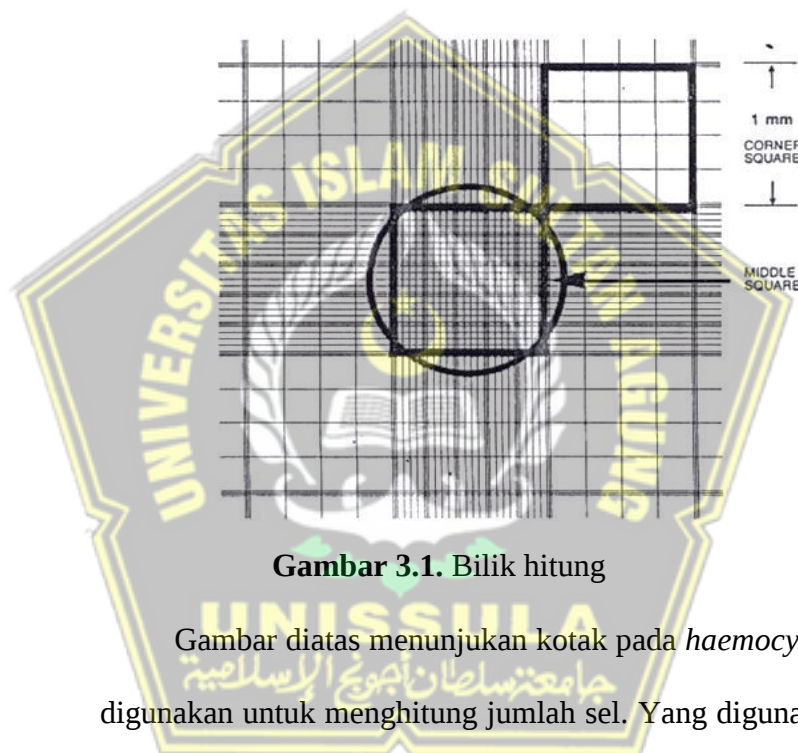
3.5.6. Proses Pemanenan Sel

1. Panen sel dilakukan menggunakan panen sel ketiga yang dipindahkan ke *coverslip*.
2. Wadah medium dibersihkan dengan menggunakan PBS 1 ml dan tripsin 1 ml untuk memisahkan medium dengan sel.
3. Inkubasi selama 3 menit pada suhu 37°C.
4. Memastikan sel sudah lepas dilihat di mikroskop.
5. Jika sudah lepas, ambil tripsin dan PBS menggunakan *micropipette*.
6. Kemudian ganti dengan medium komplit.

3.5.7. Proses Penghitungan Sel

1. 10µl sel disiapkan dan dimasukkan ke cryotube
2. triptofan blue 90µl ditambahkan ke dalam cryotube
3. 10µL ddi dipipetkan ke bilik hitung yg sudah ditutup dengan deck glass

4. Diihat dengan menggunakan mikroskop inverted pada 4 bilik hitung
5. Cara penghitungan:
 - Hitung sel pada 4 bilik hemositometer.
 - Sel yang hidup → bening terang.
 - Sel yang mati → biru gelap.



Gambar 3.1. Bilik hitung

Gambar diatas menunjukan kotak pada *haemocytometer* yang digunakan untuk menghitung jumlah sel. Yang digunakan adalah 4 kotak paling pojok (kiri, kanan, atas, dan bawah). Sedangkan kotak tengah tidak digunakan. Hitung jumlah sel dengan menggunakan rumus:

$$\frac{\sum n_1 + \sum n_2 + \sum n_3 + \sum n_4}{4} \times 10^4 \times \text{pengenceran}$$

3.5.8. Pembacaan CD73, CD90 dan CD105 dengan *Flow Cytometry*

1. Lepaskan sel dari *flask* dengan menggunakan BDTM accutaseTM *cell detachment solution* (cat No. 561527) atau larutan *detachment solution* yang lain, cuci sel dan lakukan resuspensi dengan konsentrasi 1×10^7 sel /ml di dalam BD PharmingenTM Stain Buffer (cat. No. 554656) atau *Phospat Buffer Saline* (PBS) *buffer*. Sel dapat diresuspensi pada konsentrasi 5×10^6 sel/ml jika jumlah sel terbatas.
2. Siapkan tabung *falcon* 5ml dan label sebagai berikut:

Tabel 3.1. Reagen yang digunakan dalam *flowcytometry*

Tabung	Reagen	Volume dimasukkan
1	FITC mouse anti-human CD90	5µl
2	PE mouse anti-human CD44	5µl
3	PerCP-CyTm 5.5 mouse anti-human CD105	5µl
4	APC Mouse anti-human CD73	5µl
5	Kosong	-
	hMSC positive isotype control cocktail	20µl
6	hMSC negative isotype control cocktail	20µl
	hMSC positive cocktail	20µl
7	PE hMSC negative cocktail	20µl

3. Ulangi tabung 5 -7 setiap penambahan sampel yang dianalisis.
4. Ambil 100 µl sampel kedalam masing masing tabung.
5. *Vortex* atau *tapping*.
6. Inkubasi 30 menit suhu kamar, dalam ruang gelap.
7. Cuci sebanyak 2 kali dengan *stain buffer* (PBS) dan resuspensi dengan 300-500µl *stain bufer* (PBS) atau 1 kali *washing buffer* (FBS).

8. Baca di *Flow Cytometry* gunakan tabung 1-5 sebagai kontrol untuk *set up cytometry* (sebagai kompensasi).

3.5.9. Prosedur Hipoksia dan Pembuatan MSC *Conditioned Medium* (MSC-CM)

1. Siapkan *chamber*
2. Masukkan *well plate* yang telah berisi MSC sebanyak 50.0000 sel dalam 20 sumuran kedalam *chamber*
3. Letakkan *oxygen meter* di dalam *chamber*
4. Pastikan *chamber* tersebut tertutup rapat
5. Alirkan CO₂ melalui selang yang terhubung ke *chamber*
6. Amati pada *oxygen meter* sampai kadar O₂ 1,5% - 5%
7. Inkubasi selama 24 jam dan amati kembali pada *oxygen meter* tetap dalam kadar 1,5% - 5%
8. Selanjutnya pisahkan *stem cell* dengan *conditioned medium* dengan disentrifuge pada kecepatan 3000 RPM.
9. Ambil supernatan.

3.5.10. Pembuatan Hewan Coba Model Gagal Ginjal Akut

1. Tikus diinduksi dengan gentamisin dosis 60 mg/KgBB secara intraperitoneal selama 10 hari.
2. Pada hari ke-11 dilakukan terminasi pada salah satu kelompok tikus yang prakondisi gagal ginjal akut untuk pembuatan preparat jaringan.

3. Pembuatan preparat jaringan untuk melihat apakah sudah terdapat kerusakan jaringan pasca induksi gentamisin. Preparat jaringan dibuat dengan menggunakan prepat parafin organ ginjal dan dilakukan pengecatan dengan menggunakan pulasan Hematoksilin dan Eosin serta dilihat pada mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x
4. Gagal ginjal akut pada preparat ginjal akan didapatkan gambaran glomerulus dan tubulus mengalami kerusakan, tampak tubulus tidak utuh tetapi terdapat penyatuan dan terjadi degenerasi hialin.

3.5.11. Pembuatan Preparat

1. Fiksasi

Jaringan eksisi dimasukkan kedalam larutan formalin buffer (larutan formalin 10% dalam *phospat Buffer Saline* pada Ph 7,0). Fiksasi jaringan dilakukan selama 18-24 jam. Setelah fiksasi selesai masukan jaringan fiksasi dalam larutan aquadest selama 1 jam untuk menghilangkan larutan fiksasi.

2. Dehidrasi

Masukan potongan jaringan dalam *alcohol* 30%, 40%, 50%, 50%, 70%, 80%, 90%, 96% (bertingkat) agar jaringan menjadi lebih jernih dan transparan. Masukan jaringan ke dalam larutan *alcohol-xylol* selama 1 jam kemudian masukan jaringan pada larutan *xylol* murni selama 2 x 2 jam.

3. Parafinasi

Jaringan dimasukkan dalam parafin cair selama 2 x 2 jam.

4. *Embedding*

Jaringan yang ditanam dalam parafin padat memiliki titik lebur 56-58°C, tunggu hingga parafin memadat, potong jaringan dalam parafin setebal 4 mikron dengan mikrotom. Hasil dari potongan jaringan ditempelkan pada *object glass* yang sebelumnya telah diolesi polilisin sebagai perekat. Masukkan jaringan pada kaca obyek deparafinasi dalam inkubator dan dipanaskan dengan suhu 56-58°C hingga parafin mencair.

5. Pewarnaan dengan Hematoksilin Eosin

Proses pewarnaan dengan menggunakan hematoksilin dan eosin, diamkan selama 1-5 menit, cuci dengan air mengalir, aliri dengan larutan yodium, cat dibuang, isapkan dengan *tissue* kemudian keringkan di udara.

3.5.12. Perlakuan pada Tikus Model Gagal Ginjal

Kelompok (K) : tikus gagal ginjal diberikan larutan PBS sebagai kontrol secara Intravena

Kelompok (P) : tikus gagal ginjal diberikan MSC-CM dosis tinggi (0,4)

3.5.13. Analisis Ureum dengan Spektrofotometer

1. Darah diambil dari sinus orbitalis tikus pada hari ke 8 setelah perlakuan dan kemudian disentrifuge dengan kecepatan 1500 rpm

selama 15-20 menit, selanjutnya hasil dari supernatannya dimasukkan ke dalam spektrofotometer yang diberi label sesuai dengan kelompok perlakuan.

2. Sebanyak 0,1 mL sampel darah lalu ditambahkan 1 mL reagen (campuran buffer dan urease 100:1) ke dalam tabung sampel standard dan blanko, kemudian diresuspensi dan diinkubasi pada suhu kamar (20-25°C) selama 5 menit.
3. Selanjutnya ditambahkan 1 mL reagen (campuran buffer dan urease 100:1) kemudian diresuspensi dan diinkubasi pada suhu kamar (20-25°C) selama 5 menit.
4. Konsentrasi sampel dan standar terhadap blanko dibaca dengan menggunakan spektrofotometer.

3.6. Tempat dan Waktu Penelitian

3.6.1. Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di laboratorium *Stem Cell & Cancer Research* FK Unissula (SCCR)

3.6.2. Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan November 2020.

3.7. Pengolahan Data

Pengolahan data pada penelitian ini melalui empat tahap, yaitu:

3.7.1. *Editing*

Setelah data terkumpul, pada tahap ini dilakukan pengecekan kembali data-data yang didapatkan.

3.7.2. *Coding*

Memberikan kode atau merubah kata menjadi angka pada data yang sudah di edit agar mempermudah memasukkan data.

3.7.3. *Processing*

Memperoses data yang akan dianalisis dengan cara memasukkan data ke komputer.

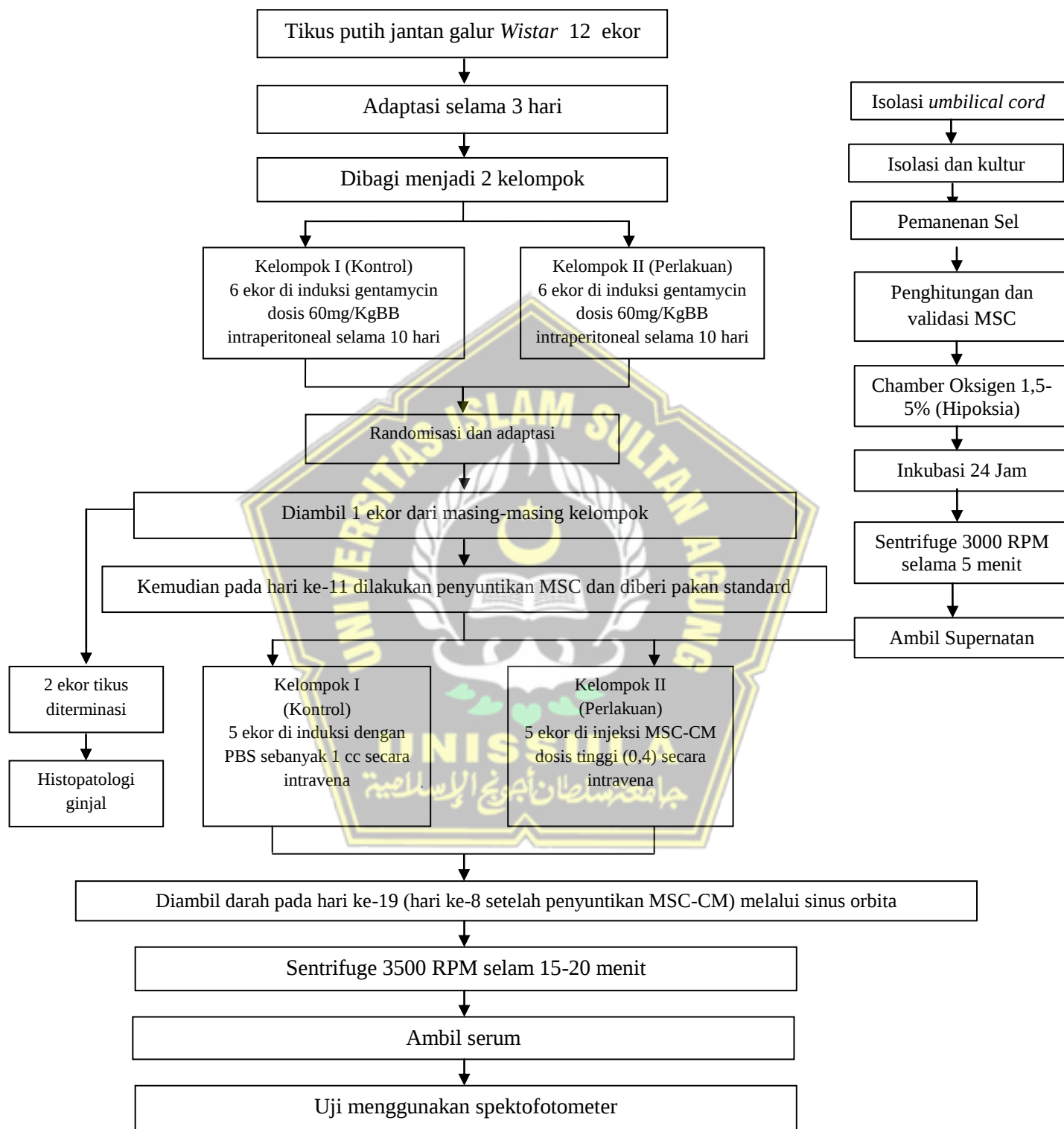
3.7.4. *Cleaning*

Pada tahap terakhir mengecek kembali data-data yang sudah dimasukkan agar terhindar dari kesalahan.

3.8. Analisis Data

Data yang sudah didapat, diproses, disunting, ditabulasi, dan dibersihkan, kemudian dilakukan deskriptif data menggunakan mean dan standar deviasi. Kemudian dilakukan uji normalitas data dengan uji *Shapiro Wilk*. Didapatkan data kadar ureum pada tikus gagal ginjal akut setelah perlakuan terdistribusi normal, selanjutnya dilakukan uji beda uji T tidak berpasangan. Pengolahan analisis data dilakukan dengan menggunakan SPSS 20.0 for Windows.

3.9. Alur Penelitian



Gambar 3.2. Alur Penelitian

BAB IV

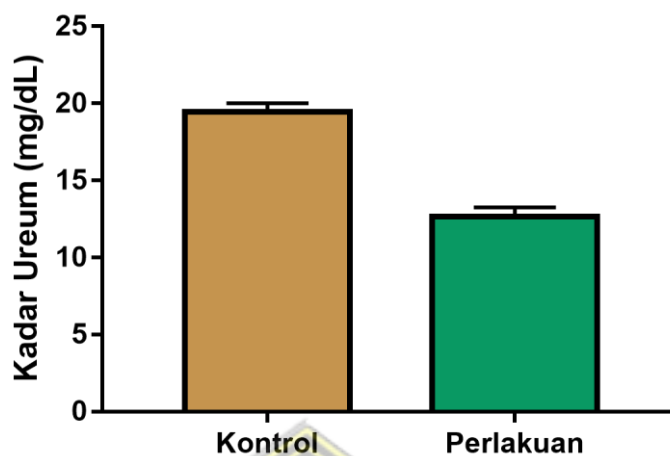
HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Hasil Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium *Stem Cell and Research Cancer* FK Unissula Semarang. Sampel penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah 12 ekor tikus jantan galur *Wistar* yang diambil secara random dengan berat badan 200-250 gram. Pada 12 tikus jantan galur *Wistar* dilakukan pengelompokan menjadi 2 kelompok yaitu kelompok kontrol (K/ injeksi PBS) dan perlakuan (P1/ MSC-CM dosis 0,4).

Penelitian ini diawali dengan pembuatan tikus model gagal ginjal akut dengan diinduksi gentamisin dosis 60 mg/KgBB secara intraperitoneal selama 10 hari. Pada hari ke-11 dilakukan terminasi pada salah satu kelompok tikus yang prakondisi gagal ginjal akut untuk pembuatan preparat jaringan. Kemudian pada hari ke-11 dilakukan perlakuan sesuai kelompok. Diambil darah pada hari ke-19 (hari ke-8 setelah penyuntikan MSC-CM) melalui sinus orbita dan dilakukan analisis serum ureum menggunakan spektrofotometer.

Rerata kadar ureum pada tiga kelompok ditunjukkan oleh gambar 4.1.



Gambar 4.1. Kadar ureum pada tiap kelompok. Kelompok K ($19,46 \pm 0,56$ mg/dL); P ($12,66 \pm 0,59$ mg/dL).

Data kadar ureum selanjutnya dianalisis dengan uji *Shapiro Wilk* untuk mengetahui sebaran datanya. Uji *Shapiro Wilk* menghasilkan nilai signifikansi (p) sebesar 0,454 ($p > 0,05$) untuk kelompok kontrol (K) dan 0,709 ($p > 0,05$) untuk kelompok perlakuan (P). Hasil uji *Shapiro Wilk* menunjukkan baik kelompok kontrol dan perlakuan memiliki data yang terdistribusi normal (Tabel 4.1).

Tabel 4. 1 Hasil Uji Normalitas Kelompok

Kelompok	Sig	Keterangan
Kelompok kontrol (K)	0,454	Data terdistribusi normal
Kelompok perlakuan (P)	0,709	Data terdistribusi normal

Keterangan: nilai $p > 0,05$ menunjukkan data terdistribusi normal pada kelompok kontrol ($p = 0,454$) dan kelompok perlakuan ($p = 0,709$).

Berdasarkan hasil uji normalitas data bersifat parametrik, sehingga uji beda menggunakan uji *independent sample t-test* untuk mengetahui adakah perbedaan kadar ureum yang signifikan antara kelompok kontrol dan perlakuan (tabel 4.2.).

Tabel 4. 2 Hasil Uji *Independent Sample T-Test*

		T	df	Sig. (2-tailed)
Hasil	Equal variances assumed	18,638	8	0,000

Berdasarkan analisis menggunakan uji *independent sample t-test* (tabel 4.2.), menunjukkan nilai $p=0,000$ yang berarti lebih kecil dari α (0,05) sehingga hipotesis kerja penelitian ini diterima. Nilai p menunjukkan bahwa ada perbedaan yang bermakna (signifikan) yang berarti bahwa terdapat pengaruh MSC-CM dosis tinggi terhadap kadar ureum pada gagal ginjal akut.

4.2. Pembahasan Penelitian

Hasil uji statistik deskriptif dalam penelitian ini penurunan rerata kadar ureum pada kelompok perlakuan (P) dibandingkan dengan kelompok kontrol (P). Berdasarkan hasil *independent sample t-test* diperoleh nilai $p=0,000$ ($p<0,05$) yang menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna terhadap rerata kadar ureum pada kelompok perlakuan (P) dibandingkan dengan kelompok kontrol (P). Hal ini menunjukkan bahwa terdapat pengaruh pemberian MSC-CM dosis tinggi terhadap kadar ureum pada gagal ginjal akut dibandingkan dengan kontrol.

Penelitian ini didapatkan hasil bahwa pemberian MSC-CM dosis tinggi (0,4 μ l) menurunkan kadar ureum secara signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Markovic *et al.* (2017) dimana pemberian

MSC-CM pada mencit yang diinduksi gagal ginjal akut dengan cisplatin menurunkan kadar BUN dan kreatinin serum secara signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Beberapa hasil penelitian membuktikan pemberian MSC-CM dapat memperbaiki kondisi apoptosis podosit di ginjal pada model tikus diabetes tipe 1 yang diinduksi oleh STZ dan memberikan perbaikan jaringan glomerulus pada model penyakit gagal ginjal kronis (Ali *et al.*, 2013; Li *et al.*, 2013; van Koppen *et al.*, 2013). Namun hasil berbeda diperoleh pada penelitian yang dilakukan oleh Gheisari *et al.* (2011) dimana pemberian MSC-CM tidak memberikan hasil yang berbeda pada kelompok kontrol medium pada penurunan kadar ureum dan kreatinin serum.

Pemberian gentamicin yang merupakan antibiotik aminoglikosida banyak digunakan dalam mengobati banyak infeksi yang dihasilkan oleh bakteri Gram-negatif dan endokarditis bakteri (Lopez-Novoa *et al.*, 2011). Jumlah yang relatif besar (sekitar 10%) dari dosis intravena dapat terakumulasi di ginjal, sedangkan sedikit terdistribusi ke jaringan lain (Masoud *et al.*, 2012). Toksisitas tubular gentamisin memiliki dua aspek yakni menyebabkan apoptosis sel epitel tubular akibat proses inflamasi dan perubahan fungsi ginjal yang terlibat dalam transportasi air dan zat terlarut (Abedi *et al.*, 2016). Kondisi nekrosis dan apoptosis yang diinduksi gentamisin pada sel epitel tubular, menurunkan fungsi tubular, dan proses reabsorpsi disfungsi air dan elektrolit (Abedi *et al.*, 2016).

MSC dilaporkan mengeluarkan sejumlah faktor yang dapat larut termasuk sitokin, kemokin, dan faktor pertumbuhan untuk regenerasi

jaringan. Hasil analisis proteomik dari MSC-CM berhasil mengidentifikasi beberapa faktor regeneratif terhadap jaringan yang cedera. Faktor-faktor ini termasuk faktor angiogenik, kemokin, sitokin, faktor pertumbuhan dan protein lain (Hoch *et al.*, 2012; Ribeiro *et al.*, 2012). Secara umum, protein ini memiliki banyak fungsi biologis termasuk pertumbuhan sel, migrasi, peradangan, apoptosis, dan fibrosis. Dalam kondisi cedera ginjal, faktor-faktor ini berkontribusi pada regenerasi ginjal melalui antiapoptosis, anti-inflamasi, antifibrosis, pembentukan kembali matriks, dan peningkatan proliferasi sel tubular (Tsuji *et al.*, 2018). Selain itu, faktor pertumbuhan yang berasal dari MSC mengandung komponen yang mampu meningkatkan pelebaran pembuluh darah. Prostaglandin menyebabkan vasodilatasi dan peningkatan darah ginjal dan laju filtrasi glomerulus. Oleh karena itu, MSC-CM dapat meningkatkan laju filtrasi glomerulus, dan akibatnya menurunkan kadar kreatinin dan urea (Abedi *et al.*, 2016).

Penelitian ini memiliki makna yakni pengaruh MSC-CM berpengaruh terhadap perbaikan fungsi ginjal dibandingkan pada kelompok kontrol. Sehingga pada tahapan pre klinik pada hewan coba, pemberian MSC-CM mampu memberikan perbaikan parameter fungsi ginjal yang rusak akibat induksi gentamicin. Kendala penelitian ini teknik isolasi MSC-CM yang begitu kompleks. Penelitian ini memiliki keterbatasan di mana peneliti tidak menganalisis keterlibatan berbagai molekul yang dilepaskan oleh MSC-CM dalam penelitian ini, sehingga mekanisme regenerasi pada penelitian ini masih belum jelas. Tidak dilakukan pemeriksaan terhadap gambaran

histologi jaringan, seperti tubular *injury score* sehingga perbaikan jaringan hanya dilihat berdasarkan fungsional ginjal melalui penurunan kadar ureum.



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan data penelitian pengaruh *hypoxic mesenchymal stem cell* terhadap kadar ureum pada gagal ginjal akut maka dapat ditarik kesimpulan:

- 5.1.1. Terdapat pengaruh MSC-CM dosis tinggi terhadap kadar ureum pada gagal ginjal akut.
- 5.1.2. Kadar ureum pada tikus gagal ginjal akut kelompok kontrol yaitu $19,46 \pm 0,56$ mg/dL.
- 5.1.3. Kadar ureum pada tikus gagal ginjal akut pada kelompok perlakuan (MSC-CM) yaitu $12,66 \pm 0,59$ mg/dL

5.2. Saran

Dilakukan penelitian lanjutan dengan menilai tubular *injury score* pasca pemberian MSC-CM pada tikus model GGA dengan berbagai dosis.

DAFTAR PUSTAKA

- Abedi A, Azarnia M, Zahvarehy MJ, foroutan T, Golestani S. 2016. Effect of Different Times of Intraperitoneal Injections of Human Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell Conditioned Medium on Gentamicin-Induced Acute Kidney Injury. *Miscellaneous*
- Abouelkheir, M., El Tantawy, D.A., Saad, M.A., Abdelrahman, K.M., Sobh, M.A., Lotfy, A., 2016, Mesenchymal stem cells versus their conditioned medium in the treatment of cisplatin-induced acute kidney injury: evaluation of efficacy and cellular side effects, *Int J Clin Exp Med* 9(12):23222-23234.
- Ali, I.H., Brazil, D.P., 2013, *Under the right conditions: protecting podocytes from diabetes-induced damage*, *Stem cell research & therapy* 4, 119.
- Alwi, I., Salim, S., Hidayat, R., Kurniawan, J., Tahapary, D.L., 2015, *Penatalaksanaan Di Bidang. Ilmu Penyakit Dalam : Panduan Praktik Klinis*, Interna Publishing, Jakarta.
- Balakumar P, Rohilla A, Thangathirupathi A. 2010. Gentamicin induced nephrotoxicity: Do we have a promising therapeutic approach to blunt it? *Pharmacol Res.* 62:179-186.
- Cantinieux, D., Quertainmont, R., Blacher, S., 2013, Conditioned medium from bone marrow-derived mesenchymal stem cells improves recovery after spinal cord injury in rats: an original strategy to avoid cell transplantation, *PLoS ONE* 8(8).
- Chamberlain, Giselle., Fox, James., Ashton, Brian., Middleton, Jim., 2007, Concise Review: Mesenchymal Stem Cells: Their Phenotype, Differentiation Capacity, Immunological Features, and Potential for Homing, *J. Stem Cells*, 25, 11, 1634.
- Chawla, L.S., Kimmel, P.L., 2012, Acute kidney injury and chronic kidney disease: an integrated clinical syndrome. *Kidney Int.* 2012, 82: 516–524.
- Coca S.G., Singanamala S., Parikh C.R., 2012, Chronic kidney disease after acute kidney injury: a systematic review and meta-analysis. *Kidney Int.* 81: 442–448.
- Cui C., Cui Y., Gao J., Li R., Jiang X., Tian Y., Wang K., Cui J., 2017, Intraparenchymal treatment with bone marrow mesenchymal stem cell-

- conditioned medium exerts neuroprotection following intracerebral hemorrhage, *Molecular Medicine Reports* 15: 2374-2382.
- Ding, D., Shyu, W., Lin, S., 2011, Mesenchymal stem cells, *Cell Transpl.* 20:5–14
- Dontabhaktuni A, David RT, Mayankbhai P. 2016. Gentamicin renal excretion in rats: probing Strategies to mitigate drug-induced nephrotoxicity. *Pharmacol* 7:43-55.
- El Badwi SMA, Bakhiet OA, Abdelel Gadir EH. 2012. Haemato-biochemical effect of aqueous extract Of *Khaya senegalensis* Stem bark on gentamicin-induced nephrotoxicity in Wistar rats. *J of BiolSci.*1:1-6.
- El Zaher, F.A., El Shawarby, A., Hammouda, G., Bahaa, N., 2017, Role of mesenchymal stem cells versus their conditioned medium on cisplatin-induced acute kidney injury in albino rat. A histological and immunohistochemical study, *The Egyptian Journal of Histology* 4(40):37-51.
- Elahi, K.C., Klein, G., Avci-Adali, M., Sievert, K.D., MacNeil, S., Aicher, W.K., 2016, Human mesenchymal stromal cells from different sources diverge in their expression of cell surface proteins and display distinct differentiation patterns, *Stem Cells Int.* 2016: 5646384.
- Fedik, A.R., Ferdiansyah, Purwati, 2014, *Stem Cell, Mesenchymal, Hematopoetik dan Model Aplikasi*. Edisi Kedua, Airlangga University Press, Surabaya, 1,10-12, 23-25, 26-38.
- Gheisari1Y, Ahmadbeigi N, Naderi M, Nassiri SM, Nadri S, Soleimani M. 2011. Stem cell-conditioned medium does not protect against kidney failure. *Cell Biol. Int.* 35: 209–213.
- Goyal, A., Siddiqui, A.H., Daneshpajouhnejad, P., Cozma, I., Bashir, K., 2019, *Acute Kidney Injury (Acute Renal Failure)*, Treasure Island (FL): StatPearls Publishing.
- Halim, D., Murti H., Sandra F., Boediono A., Djuwantono T., Setiawan B., 2010, *Stem Cell Dasar Teori dan Apikasi Klinis*, Erlangga, Jakarta.
- Hoch AI, Binder BY, Genetos DC, Leach JK. 2012. Differentiation-dependent secretion of proangiogenic factors by mesenchymal stem cells. *PLoS One.* 7(4, article e35579).

- Hu C, Zhao L, Zhang L, Bao Q, Li L. 2020. Mesenchymal stem cell-based cell-free strategies: safe and effective treatments for liver injury. *Stem Cell Res Ther.* 2020; 11: 377.
- Ibraheim, H., Giacomini, C., Kassam, Z., Dazzi, F., Powell, N., 2018, Advances in mesenchymal stromal cell therapy in the management of Crohn's disease, *Expert Rev Gastroenterol Hepatol.* 2018 Feb;12(2):141-153.
- Justewicz, D.M., Shokes, J.E., Reavis, B., Boyd, S.A., Burnette, T.B., Halberstadt, C.R., Spencer, T., Ludlow J.W., Bertram T.A., Jain D., 2012, Characterization of the human smooth muscle cell secretome for regenerative medicine, *Tissue Eng. Part C Methods* 18:797–816.
- Kasper, D.L., Hauser, S.L., Jameson, J.L., Fauci, A.S., Longo, D.L., Loscalzo, J., 2015, *Harrison's Principles of Internal Medicine.* 19th Edition. New York: McGraw-Hill.
- Khwaja A., 2012, KDIGO clinical practice guidelines for acute kidney injury, *Nephron Clin Pract.* 120(4):c179-84.
- Kim, D.K., Nishida, H., An, S.Y., Shetty, A.K., Bartosh, T.J., Prockop, D.J., 2016, Chromatographically isolated CD63⁺ CD81⁺ extracellular vesicles from mesenchymal stromal cells rescue cognitive impairments after TBI, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 113:170–175.
- Kim, H.O., Choi, S., 2013, Mesenchymal stem cell-derived secretome and microvesicles as a cell-free therapeutics for neurodegenerative disorders, *Tissue Engineering and Regenerative Medicine* 10(3):93–101.
- King, A., Balaji, S., Keswani, S.G., Crombleholme, T.M., The Role of Stem Cells in Wound Angiogenesis, *Adv. In Wound Care* 3(10): 614-625
- Kumar V., Abbas A.K., Aster J.C., 2015, *Buku Ajar Patologi Robbins Edisi 9*, Elsevier Saunders, Singapura.
- Lameire, N.H., Bagga, A., Cruz D., De Maeseneer, J., Endre, Z., Kellum, J.A., Liu, K.D., Mehta, R.L., Pannu, N., Van Biesen, W., Vanholder, R., 2013, Acute kidney injury: an increasing global concern, *Lancet.* 382(9887):170-9.
- Lee, D.E, Ayoub, N., Agrawal, D.K., 2016, Mesenchymal stem cells and cutaneous wound healing: novel methods to increase cell delivery and therapeutic efficacy, *Stem Cell Research & Therapy* 7:37.
- Lee, S.H., Jin, S.Y., Song, J.S., Seo, K.K., Cho, K.H., 2012, Paracrine effects of adiposederived stem cells on keratinocytes and dermal fibroblasts, *Ann Dermatol* 24:136–43.

- Lewington, A.J., Cerdá, J., Mehta, R.L., 2013, Raising awareness of acute kidney injury: a global perspective of a silent killer, *Kidney Int.* 84(3):457-67.
- Li, D., Wang, N., Zhang, L., Hanyu, Z., Xueyuan, B., Fu, B., Shaoyuan, C., Zhang, W., Xuefeng, S., Li, R., Chen, X., 2013, Mesenchymal stem cells protect podocytes from apoptosis induced by high glucose via secretion of epithelial growth factor. *Stem cell research & therapy* 4(5):103.
- Lintong PM, Kairupan CF, Sondak PLN. 2012. Gambaran Mikroskopik Ginjal Tikus Wistar (*Rattus Norvegicus*) Setelah Diinduksi Dengan Gentamisin. *Jurnal Biomedik.* 4(3): 185-192.
- Lopez-Novoa JM, Quiros Y, Vicente L, Morales AI, Lopez-Hernandez FJ. 2011. New insights into the mechanism of aminoglycoside nephrotoxicity: an integrative point of view. *Kidney Int.* 79:33-45.
- Lotfinia, M., Lak, S., Ghahhari, N.M., Johari, B., Maghsood, F., Parsania, S., Tabrizi, B.S., Kadiivar, M., 2017, Hypoxia pre-conditioned embryonic mesenchymal stem cell secretome reduces il-10 production by peripheral blood mononuclear cells, *Iranian Biomedical Journal* 21(1): 24-31.
- Lu HY, Ning XY, Chen YQ, Han SJ, Chi P, Zhu SN, Yue Y. 2018. Predictive Value of Serum Creatinine, Blood Urea Nitrogen, Uric Acid, and β 2-Microglobulin in the Evaluation of Acute Kidney Injury after Orthotopic Liver Transplantation. *Chin Med J (Engl)*. 131(9): 1059–1066.
- Lukiswanto BS, Yuniarti WM. 2017. Pengaruh Ekstrak Buah Delima Terstandar 40% Ellagic Acid terhadap Profil Darah Tikus Putih yang Mengalami Nefrotoksisitas Akibat Induksi Gentamisin. *JSV.* 35(2):208-215.
- Madrigal, M., Rao, K.S., Riordan, N.H., 2014, A review of therapeutic effects of mesenchymal stem cell secretions and induction of secretory modification by different culture methods. *Journal of Translational Medicine* 2014, 12:260.
- Maguire, G., 2013, Stem cell therapy without the cells. *Commun. Integr. Biol.* 6, e26631.
- Markovic BS, Gazdic M, Arsenijevic A, Jovicic N, Jeremic J, Djonov V, Arsenijevic N, Lukic ML, Volarevic V. 2017. Mesenchymal Stem Cells Attenuate Cisplatin-Induced Nephrotoxicity in iNOS-Dependent Manner. *Stem Cells Int.*

- Masoud MS, Anwar SS, Afzal MZ, Mehmood A, Khan SN, Riazuddin S. 2012. Pre-conditioned mesenchymal stem cells ameliorate renal ischemic injury in rats by augmented survival and engraftment. *J Transl Med.* 10:243.
- Mehta, R.L., Cerdá, J., Burdmann, E.A., Tonelli, M., García-García, G., Jha, V., Susantitaphong, P., Rocco, M., Vanholder, R., Sever, M.S., Cruz, D., Jaber, B., Lameire, N.H., Lombardi, R., Lewington, A., Feehally, J., Finkelstein, F., Levin, N., Pannu, N., Thomas, B., Aronoff-Spencer, E., Remuzzi, G., 2015, International Society of Nephrology's Oby25 initiative for acute kidney injury (zero preventable deaths by 2025): a human rights case for nephrology, *Lancet.* 385(9987):2616-43.
- Meran, S., Wonnacott, A., Amphlett, B., Phillips, A., 2014, How good are we at managing acute kidney injury in hospital? *Clin Kidney J.* 7: 144–150.
- Mirabella, T., Cilli, M., Carlone, S., Cancedda, R., Gentili, C., 2011, Amniotic liquid derived stem cells as reservoir of secreted angiogenic factors capable of stimulating neo-arteriogenesis in an ischemic model, *Biomaterials* 32(15): 3689–3699.
- Murray, R.K., 2012, Biokimia Harper Edisi 29. Penerbit Buku Kedokteran EGC: Jakarta.
- Natalia MC, Yunita EP, Triastui E. 2017. Pengaruh Mikrosfer Kitosan Minyak Kelapa Sawit pada Mus musculus dengan Nekrosis Tubular Akut. *Pharmaceutical Journal Of Indonesia.* 2(2): 37–43.
- Negi, S., Koreeda, D., Kobayashi, S., Yano, T., Tatsuta, K., Mima, T., Shigematsu, T., Ohya, M., 2018, Acute kidney injury: Epidemiology, outcomes, complications, and therapeutic strategies, *Semin Dial.* 31(5):519-527.
- Oh, M.S., 2011, Evaluation of renal function, water, electrolytes and acid base balance. In: Mc Pherson RA, Pincus MR, editors. Henry's clinical diagnosis and management by laboratory methods. 22 th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders.
- Pagana, K.D., 2015. *Diagnostic and Laboratory Test Reference.* 12 ed. Elsevier, United States of America.
- Park, B.S., Kim, W.S., Choi, J.S., 2010, Hair growth stimulated by conditioned medium of adipose-derived stem cells is enhanced by hypoxia: evidence of increased growth factor secretion, *Biomedical Research* 31(1):27–34.

- Paterson Y.Z., Rash N., Garvican E.R., Paillot R., Guest D.J., 2014, Equine mesenchymal stromal cells and embryo-derived stem cells are immune privileged *in vitro*, *Stem cell research and therapy* 5(4): 90.
- Pawitan, J.A., 2014, Prospect of Stem Cell Conditioned Medium in Regenerative Medicine, *BioMed Research International* (2014).
- Putra A., Pertiwi D., Milla M.N., Indrayani U.D., Jannah D., Sahariyani M., Trisnadi S., Wibowo J.W., 2019, Hypoxia-preconditioned mscs have superior effect in ameliorating renal function on acute renal failure animal model, *Open Access Maced J Med Sci.* 7(3):305-310.
- Putra, A., 2019, *Basic Molecular Stem Cell*, Semarang, Unissula Press.
- Reis, L.A., Borges, F.T., Simoes, M.J., Borges, A.A., Sinigaglia-Coimbra, R., Schor, N., 2012, Bone marrow derived mesenchymal stem cells repaired but did not prevent gentamicin induced acute kidney injury through paracrine effects, *Mesenchymal Stem Cells on G-Nephrotoxicity* 7(9):1- 11
- Ribeiro CA, Fraga JS, Graos M, et al. 2012. The secretome of stem cells isolated from the adipose tissue and Wharton jelly acts differently on central nervous system derived cell populations. *Stem Cell Research & Therapy.* 3(3):p. 18.
- Sacher, R.A., McPherso, R.A., 2012, *Tinjauan Klinis Hasil Pemeriksaan. Laboratorium Edisi 11*, Penerbit EGC, Jakarta.
- Sandhaanam, S.D., Pathalam, G., Dorairaj, S., Savariar, V., 2013, Mesenchymal stem cells (MSC): Identification, Proliferation and Differentiation, *PeerJ PrePrints*,.
- Schlosser, S., Dennler, C., Schweizer, R., Eberli, D., Stein, J.V., Enzmann, V., 2012, Paracrine effects of mesenchymal stem cells enhance vascular regeneration in ischemic murine skin, *Microvasc Res.* 83:267–75.
- Setiati, S., Alwi, I., Sudoyo, A.W., Stiyohadi, B., Syam, A.F., 2014, *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid II (ed) VI*, InternaPublishing, Jakarta.
- Shah, S.R., Tunio, S.A., Arshad, M.H., Moazzam, Z., Noorani, K., Feroze, A.M., Shafquat, M., Hussain, H.S., Jeoffrey, S.A.H., 2016, Acute kidney injury recognition and management: A review of the literature and current evidence, *Glob J Health Sci.*, 8(5): 120–124.

- Sherwood, L., 2014, *Fisiologi Manusia Dari Sel ke Sistem. Edisi 8.*, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Tamama, K., Kawasaki, H., Kerpedjieva, S.S., Guan, J., Ganju, R.K., Sen, C.K., 2011, Differential roles of hypoxia inducible factor subunits in multipotential stromal cells under hypoxic condition, *J Cell Biochem.* 112(3):804-17.
- Togel, F.E., Westenfelder, C., 2012, Kidney protection and regeneration following acute injury: progress through stem cell therapy. *Am J Kidney Dis.* 2012, 60: 1012–1022.
- Trivanović, D., Kocić, J., Mojsilović, S., Krstić, A., Ilić, V., Djordjević, I.O., Santibanez, J.F., Jovčić, G., 2013, Mesenchymal stem cells isolated from peripheral blood and umbilical cord wharton's jelly mesenchymal stem cells isolated from peripheral blood and umbilical cordwharton's jelly, *Srp Arh Celok Lek* 141(3- 4):178-86.
- Tsuji K, Kitamura S, Wada J. 2018. Secretomes from Mesenchymal Stem Cells against Acute Kidney Injury: Possible Heterogeneity. *Stem Cells Int.* 2018: 8693137.
- van Koppen, A., Joles, J.A, van Balkom, B.W., Lim, S.K., de Kleijn, D., Giles, R.H., Verhaar, M.C., 2012, *Human embryonic mesenchymal stem cell-derived conditioned medium rescues kidney function in rats with established chronic kidney disease.* *PloS one* 7(6):e38746.
- Velazquez, O.C., 2007, Angiogenesis and vasculogenesis: Inducing the growth of new blood vessels and wound healing by stimulation of bone marrow-derived progenitor cell mobilization and homing, *J VascSurg* 45: 39-47.
- Vishnubhatla, I., Corteling, R., Stevanato, L., Hicks, C., Sinden, J., 2014, The development of stem cell-derived exosomes as a cell-free regenerative medicine, *J. Circ. Biomark.* 3, 2.
- Wang, Y., Fu, W., Zhang, S., He, X., Liu, Z., Gao, D., Xu, T., 2014, CXCR-7 receptor promotes SDF-1alpha-induced migration of bone marrow mesenchymal stem cells in the transient cerebral ischemia/reperfusion rat hippocampus, *Brain Res.* 1575:78–86.
- World Health Organization, 2015, *Country Health Profiles 2012: Indonesia* diakses di <https://www.who.int/gho/countries/idn.pdf?ua=1> pada tanggal 1 Agustus 2019.

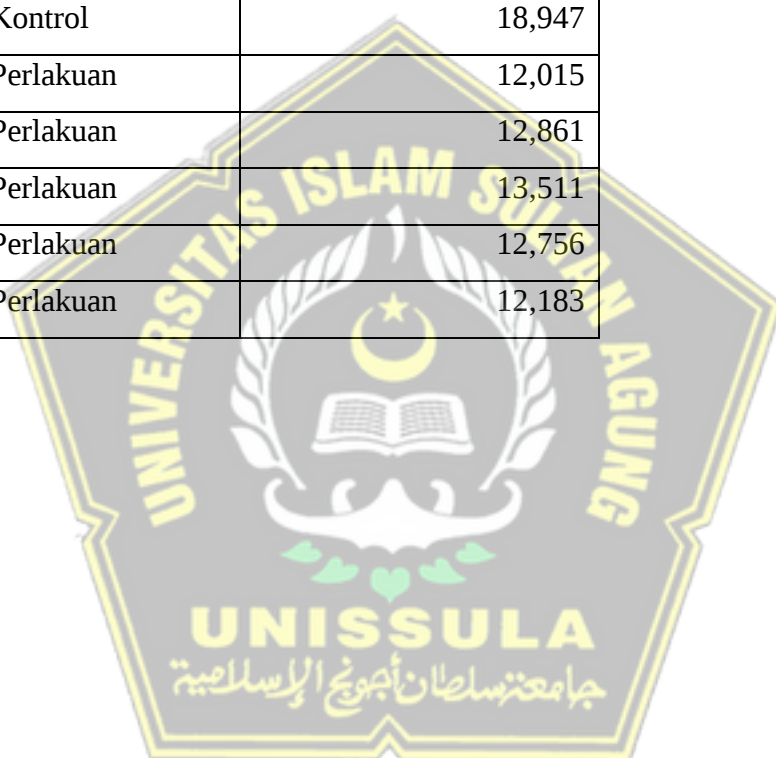
- Xing L, Cui R., Peng, L. *et al.* 2014. Mesenchymal stem cells, not conditioned medium, contribute to kidney repair after ischemia-reperfusion injury. *Stem Cell Res Ther* 5(101).
- Yoshikawa, T, Mitsuno, H, Nonaka, I, Sen, Y, Kawanishi, K, Inada, Y., 2008, Wound therapy by marrow mesenchymal cell transplantation, *Plast Reconstr Surg*.121: 860-77.
- Zhao Q., Hu J., Xiang J., Gu Y., Jin P., Hua F., Zhang Z., Liu Y., Zan K., Zhang Z., 2015, Intranasal administration of human umbilical cord mesenchymal stem cells-conditioned medium enhances vascular remodeling after stroke, *Brain Res*. 1624:489–496.



Lampiran 1. Data Kadar Ureum

Post Perlakuan

No	Nama	Kadar Ureum (mg/dL)
1	Kontrol	18,812
2	Kontrol	19,586
3	Kontrol	20,075
4	Kontrol	19,861
5	Kontrol	18,947
6	Perlakuan	12,015
7	Perlakuan	12,861
8	Perlakuan	13,511
9	Perlakuan	12,756
10	Perlakuan	12,183



Lampiran 2. Hasil Uji Deskriptif Kadar Ureum

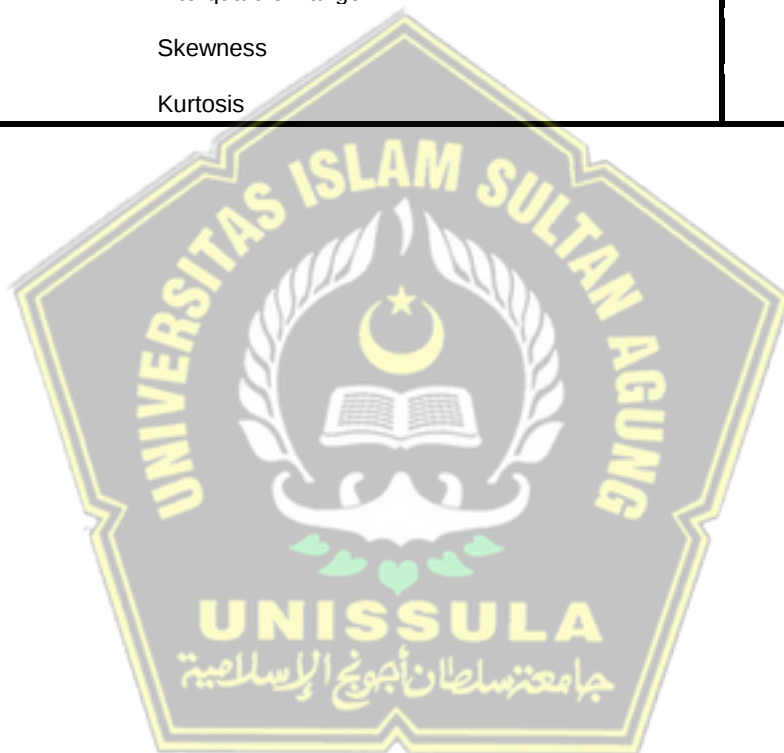
Case Processing Summary

		Cases					
		Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
Hasil	Kontrol	5	100.0%	0	.0%	5	100.0%
	Perlakuan	5	100.0%	0	.0%	5	100.0%

Descriptives

Kelompok			Statistic	Std. Error
Hasil	Kontrol	Mean	1.94562E1	.248787
		95% Confidence Interval for Lower Bound	1.87655E1	
		Mean Upper Bound	2.01469E1	
		5% Trimmed Mean	1.94576E1	
		Median	1.95860E1	
		Variance	.309	
		Std. Deviation	.556305	
		Minimum	18.812	
		Maximum	20.075	
		Range	1.263	
		Interquartile Range	1.088	
		Skewness	-.227	.913
		Kurtosis	-2.607	2.000
Perlakuan		Mean	1.26652E1	.266199
		95% Confidence Interval for Lower Bound	1.19261E1	
		Mean Upper Bound	1.34043E1	

5% Trimmed Mean	1.26543E1	
Median	1.27560E1	
Variance	.354	
Std. Deviation	.595239	
Minimum	12.015	
Maximum	13.511	
Range	1.496	
Interquartile Range	1.087	
Skewness	.447	.913
Kurtosis	-.571	2.000



Lampiran 3. Hasil Uji Normalitas Kadar Ureum

Tests of Normality							
Kelompok		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Hasil	Kontrol	.220	5	.200 [*]	.908	5	.454
	Perlakuan	.191	5	.200 [*]	.946	5	.709

a. Lilliefors Significance Correction

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



Lampiran 4. Uji T Tidak Berpasangan

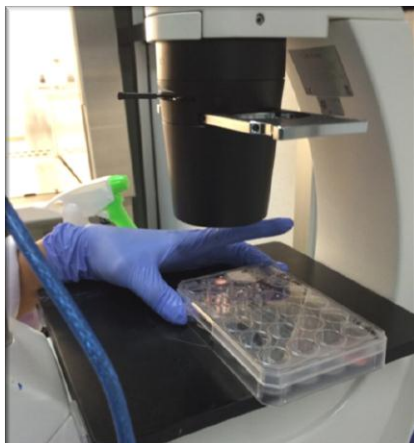
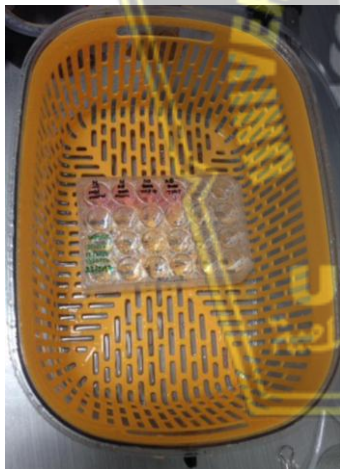
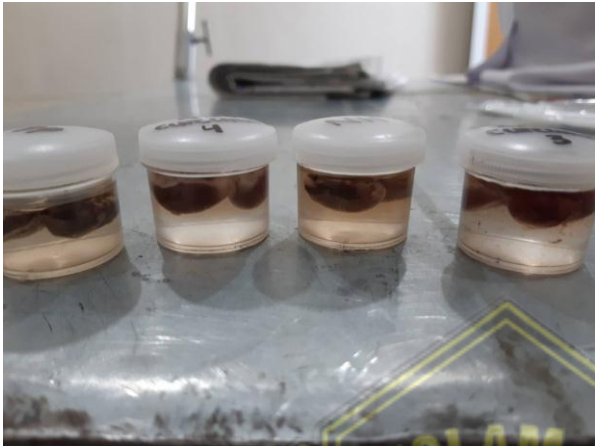
Group Statistics

Kelompok		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Hasil	Kontrol	5	1.94562E1	.556305	.248787
	Perlakuan	5	1.26652E1	.595239	.266199

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
Hasil	Equal variances assumed	.002	.961	18.638	8	.000	6.791000	.364358	5.950788	7.631212
	Equal variances not assumed			18.638	7.964	.000	6.791000	.364358	5.950121	7.631879

Lampiran 5. Dokumentasi Penelitian



Lampiran 6. Ethical Clearance

**KOMISI BIOETIKA PENELITIAN KEDOKTERAN/KESEHATAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG SEMARANG**

Sekretariat : Gedung C Lantai I Fakultas Kedokteran Unissula
Jl. Raya Kaligawe Km 4 Semarang, Telp. 024-6583584, Fax 024-6594366

Ethical Clearance

No. 374/XI/2020/Komisi Bioetik

Komisi Bioetika Penelitian Kedokteran/Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang, setelah melakukan pengkajian atas usulan penelitian yang berjudul :

**PENGARUH MSC CONDITIONED MEDIUM DOSIS TINGGI TERHADAP KADAR
UREUM PADA GAGAL GINJAL AKUT
(Studi Eksperimental In Vivo Umbilical Cord Mesencymal Stem Cell
Conditioned Medium pada Kultur Hipoksia Terhadap Tikus Jantan Galur Wistar)**

Peneliti Utama : Tika Gesti Rahmawati
Pembimbing : Dr. dr. H. Agung Putra, M. Si, Med.
dr. Azizah Retno Kustiayah, Sp.A
Tempat Penelitian : Laboratorium Stem Cell and Cancer (SCCR) Fakultas Kedokteran
UNISSULA Semarang.

dengan ini menyatakan bahwa usulan penelitian diatas telah memenuhi prasyarat etik penelitian. Oleh karena itu Komisi Bioetika merekomendasikan agar penelitian ini dapat dilaksanakan dengan mempertimbangkan prinsip-prinsip yang dinyatakan dalam Deklarasi Helsinki dan panduan yang tertuang dalam Pedoman Nasional Etik Penelitian Kesehatan (PNEPK) Departemen Kesehatan RI tahun 2004.

Semarang, 30 November 2020

Komisi Bioetika Penelitian Kedokteran/Kesehatan

Fakultas Kedokteran Unissula

Ketua,



(dr. Sofwan Dahlan, Sp.F(K))

Lampiran 7. Surat Keterangan Penelitian



YAYASAN BADAN WAKAF SULTAN AGUNG
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG (UNISSULA)
 Jl. Raya Kaligawe Km.4 Semarang 50112 Telp. (024) 6583584 (8 Sal) Fax.(024) 6582455
 email : informasi@unissula.ac.id web : www.unissula.ac.id

FAKULTAS KEDOKTERAN

Bismillah Membangun Generasi Khaira Ummah

No : 029/ SKRIPSI/SA-K/I/2021

Lampiran : -

Perihal : Surat Ijin Penelitian

FORM-SA-K-PSPK-078

Kepada : Yth. Kepala Laboratorium SCCR FK Unissula

di Tempat

Assalamu'alaikum wr. wb.

Dengan ini kami hadapkan mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung (Unissula) Semarang,

Nama : TIKA GESTI RAHMAWATI

NIM : 30101407339

Semester : XIII

Mohon diijinkan untuk melakukan Penelitian / Pengambilan Data di Bagian Laboratorium SCCR FK Unissula sebagai bahan penulisan Skripsi dengan judul:

PENGARUH MSC CONDITIONED MEDIUM DOSIS TINGGI TERHADAP KADAR UREUM PADA GAGAL GINJAL AKUT

Pembimbing I : Dr.dr.Agung Putra,Msi.Med

Pembimbing II : dr. Azizah Retno Kustiyah Sp.A

Demikian atas bantuan serta kerjasamanya diucapkan terima kasih.

Wassalamu'alaikum wr. wb.

Semarang, 20 Januari 2021

Dehan FK Unissula,




Dr.dr. H. Setyo Trienadi, S.H., Sp.KF.
 NIK 210199049



Stem Cell and Cancer Research

Kaligawe raya Km 4, BL Building, Unissula, Semarang 5012
Telp. (024) 6583864 Extension Laboratorium 400 Extension SCCR 125
www.sccr.id | info@sccr.id



SURAT KETERANGAN

No.035/SCCR /I/2021

Yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Assoc Prof. Dr. dr. Agung Putra, M.Si. Med.
NIK : 210199050
Jabatan : Kepala Bagian Patologi Anatomi & SCCR FK UNISSULA Semarang

Menerangkan bahwa mahasiswa yang bernama :

Nama : Tika Gesti Rahmawati
NIM : 30101407339
Fakultas : Kedokteran Umum
Universitas : UNISSULA Semarang
Judul Skripsi : Pengaruh MSC Conditioned Medium Dosis Tinggi Terhadap kadar Ureum pada Gagal Ginjal Akut (Studi Eksperimental *In Vivo* Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cell Conditioned Medium pada Kultur Hipoksia Terhadap Tikus jantan galur Wistar)

Benar-benar telah selesai melakukan penelitian di Laboratorium SCCR Fakultas Kedokteran UNISSULA Semarang pada Oktober 2019 dengan hasil terlampir.

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dipergunakan seperlunya.

Semarang, 29 Januari 2021

Mengetahui,

Kepala Bag. PA dan SCCR
Fakultas Kedokteran UNISSULA


Assoc Prof. Dr. dr. Agung Putra, M.Si. Med.
NIK. 210199050



Stem Cell and Cancer Research

Kalligawe raya Km 4, IBL Building, Unissula, Semarang 50132
Telp. (024) 6583584 Extension Laboratorium 400 Extension SCCR T25
www.sccr.id | info@sccr.id



Lampiran :

HASIL PEMBACAAN KADAR UREUM

Nama : Tika Gesti Rahmawati

NIM : 30101407339

Judul Skripsi : Pengaruh MSC *Conditioned Medium* Dosis Tinggi Terhadap kadar Ureum pada Gagal Ginjal Akut (Studi Eksperimental *In Vivo* Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cell *Conditioned Medium* pada Kultur Hipoksia Terhadap Tikus jantan galur Wistar)

No	Treatment	Kadar Ureum
1	Kontrol	18.812
2	Kontrol	19.586
3	Kontrol	20.075
4	Kontrol	19.861
5	Kontrol	18.947
6	Perlakuan	12.015
7	Perlakuan	12.861
8	Perlakuan	13.511
9	Perlakuan	12.756
10	Perlakuan	12.183

Semarang, 29 Januari 2021

Mengetahui,

Kepala Bag. PA dan SCCR

Fakultas Kedokteran UNISSULA


Assoc. Prof. Dr. dr. Agung Putra, M.Si. Med.
NIK. 210199050

	FAKULTAS KEDOKTERAN		No. Dokumen	FORM-SA-K-PPSK-019
	UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG		Tgl Berlaku	01 Oktober 2013
	Jl. Raya Kaligawe Km. 4, Semarang 50112, Jawa Tengah		No. Revisi	01
	Surat Keterangan Pelaksanaan Ujian Hasil		Halaman	1 dari 1
			Penelitian Skripsi	

No. HP Mahasiswa : 081329931250

Yang bertanda tangan di bawah ini, adalah Tim Penguji Skripsi untuk mahasiswa :

Nama	: TIKA GESTI RAHMAWATI
NIM	: 30101407339
Judul Skripsi	: PENGARUH MSC CONDITIONED MEDIUM DOSIS TINGGI TERHADAP KADAR UREUM PADA GAGAL GINJAL AKUT

Menyatakan persetujuan untuk menguji mahasiswa tersebut, pada :

Hari / Tgl	: Senin, 15 Februari 2021
Pukul	: 13.00 - 14.40
	Shift I (06.30 - 08.30) Shift II (08.30 - 09.50) Shift III (09.50 - 11.30) Shift IV (13.00 - 14.40) Shift V (14.40 - 16.40)
Tempat	

TIM PENGUJI

1	DR.dr. Imam Djama'uddin Mashoei M.Kes(Epid)
2	dr. Mohamad Anif, SpPD
3	Dr.dr. Agung Putra M.S. Med
4	dr. Azizah Retno Kusiyah Sp.A.

Catatan :

1 lembar surat keterangan ini (yang sudah dilandatangani seluruh penguji) diserahkan ke sekretariat pada saat melaporkan waktu ujian yang sudah disepakati (paling lambat 2 hari sebelum ujian). Tanpa itu, ujian bagi mahasiswa ybs tidak akan diterapkan.