

**MEMBANDINGKAN KADAR PROTEIN C TERAKTIVASI
PADA PENDERITA DIABETES MELITUS TIPE 2
DENGAN NORMOALBUMINURIA DAN MIKROALBUMINURIA**

TESIS

Oleh:
ELWITRIA DAILY
BP 05226001



**PROGRAM PENDIDIKAN PROFESI
DOKTER SPESIALIS I BAGIAN PATOLOGI KLINIK
FK UNAND/RS. Dr. M. DJAMIL
PADANG
2009**

COMPARE ACTIVATED PROTEIN C IN TYPE 2 DIABETES MELLITUS WITH NORMOALBUMINURIA AND MICROALBUMINURIA

ABSTRACT

Prevalence of type 2 diabetes mellitus (DM) in Indonesian increased quickly. Type 2 DM could cause endothelial dysfunction and disturbance of coagulation which had role in development of thrombosis. Thrombosis could occur as result from disturbance of balance of procoagulant and anticoagulant factors. This imbalance could be caused by natural anticoagulant defect. Microalbuminuria was a marker of endothelial dysfunction and suggested as an independent risk factor for cardiovascular disease in type 2 DM.

This was an analytic observational cross sectional study. Samples were taken on consecutive sampling from 50 type 2 DM patient who were out patient to metabolic-endocrin policlinic Dr. M. Djamil hospital Padang from May to July 2009. All of type 2 DM patients were measured for urine albumin and urine creatinine, then ratio of them was microalbuminuria. Patients divided into 25 type 2 DM patients with normoalbuminuria (group A) and 25 type 2 DM patients with microalbuminuria (group B). Both of groups were measured for activated protein C (APC). Result were reported as the mean and standart deviation (SD). Data were analyzed by SPSS 15 with t test unpaired. Statistical significance was determined at $p < 0,05$.

The mean value of APC of type 2 DM patients with normoalbuminuria ($118,45 \pm 14,76\%$) was higher than value of APC of type 2 DM patients with microalbuminuria ($112,50 \pm 17,66\%$) but the differences were not statistically significant.

Conclusion: There were not statistically significant differences between value of APC of type 2 DM with normoalbuminuria and microalbuminuria.

Keyword: APC, type 2 DM, Microalbuminuria

MEMBANDINGKAN KADAR PROTEIN C TERAKTIVASI PADA PENDERITA DIABETES MELITUS TIPE 2 DENGAN NORMOALBUMINURIA DAN MIKROALBUMINURIA

ABSTRAK

Prevalensi DM tipe 2 di Indonesia meningkat dengan cepat. Diabetes melitus tipe 2 dapat menyebabkan disfungsi endotel dan sistem koagulasi abnormal yang akan berperan dalam perkembangan trombosis. Trombosis dapat terjadi akibat terganggunya keseimbangan antara faktor prokoagulan dan antikoagulan salah satunya karena defek antikoagulan alamiah. Mikroalbuminuria merupakan penanda disfungsi endotel dan dianggap sebagai faktor risiko independen untuk penyakit kardiovaskular pada penderita DM tipe 2.

Penelitian ini merupakan suatu penelitian observational analitik dengan rancangan potong lintang. Sampel diambil secara *consecutive sampling* pada 50 penderita DM tipe 2 yang melakukan kontrol rutin ke Poliklinik Metabolik-Endokrin RSUP. Dr. M. Djamil Padang dari Bulan Mei sampai Juli 2009. Seluruh subyek penelitian diperiksa albumin urin dan kreatinin urin, kemudian rasio keduanya disebut mikroalbuminuria. Subyek penelitian dibagi atas 25 penderita DM tipe 2 dengan normoalbuminuria (kelompok A) dan 25 penderita DM tipe 2 dengan mikroalbuminuria (kelompok B). Kedua kelompok ini diperiksa kadar protein C teraktivasi (APC). Hasil dilaporkan dalam rerata dan simpangan baku (SD). Data dianalisis menggunakan SPSS 15 dengan uji t tidak berpasangan. Kemaknaan secara statistik ditentukan jika nilai $p < 0,05$.

Rerata kadar APC penderita DM tipe 2 dengan normoalbuminuria ($118,45 \pm 14,76\%$) lebih tinggi dari kadar APC penderita DM tipe 2 dengan mikroalbuminuria ($112,50 \pm 17,66\%$) tetapi tidak ditemukan perbedaan yang bermakna.

Kesimpulan: Tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara kadar APC penderita DM tipe 2 dengan normoalbuminuria dan mikroalbuminuria.

Kata Kunci: APC, Penderita DM tipe 2, Mikroalbuminuria

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim

Alhamdulillah, puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT, atas segala rahmat dan karuniaNya, sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini yang merupakan salah satu syarat guna memperoleh gelar Dokter Spesialis Patologi Klinik Program Pendidikan Profesi Dokter Spesialis I di Fakultas Kedokteran Universitas Andalas (FKUA)/RSUP. Dr. M. Djamil Padang.

Tesis ini dapat terwujud berkat bantuan berbagai pihak, oleh karena itu penulis menyampaikan terima kasih yang tak terhingga kepada semua pihak yang telah membantu.

Kepada yang terhormat Prof. Dr. Ir. H. Musliar Kasim, MS selaku Rektor Universitas Andalas dan dr. H. Suchyar Iskandar, MKes sebagai Direktur Utama RSUP. Dr. M. Djamil Padang; Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Andalas Prof. dr. H. Fadil Oenzil, PhD, SpGK dan penggantinya Dr. dr. Masrul, MSc, SpGK yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk menjadi peserta PPDS-I di Bagian Patologi Klinik FKUA/RS. Dr. M. Djamil Padang.

Kepada Ketua Tim Koordinasi PPDS-I FKUA Prof. Dr. dr. H. Asman Manaf, SpPD-KEMD beserta staf, penulis mengucapkan terima kasih atas diberikannya kesempatan untuk menjadi peserta PPDS-I Bagian Patologi Klinik di FKUA/ RSUP. Dr. M. Djamil Padang.

Kepada yang terhormat Prof. dr. H. Rismawati Yaswir, SpPK(K) selaku Ketua Bagian Patologi Klinik, penulis menyampaikan terima kasih atas kesempatan yang diberikan untuk mengikuti pendidikan di Bagian Patologi Klinik; serta penghargaan setinggi-tingginya atas bimbingan dan dorongan

semangat yang beliau berikan kepada penulis. Kepada yang terhormat Prof. Dr. dr. H. Ellyza Nasrul, SpPK(K) selaku Ketua Program Studi PPDS-I Patologi Klinik dan pembimbing II, penulis menyampaikan terima kasih atas segala bimbingan, nasehat, dan dorongan moral yang diterima oleh penulis.

Kepada yang terhormat Prof. dr. H. Hanifah Maani, SpPK(K) selaku Guru Besar Patologi Klinik dan pembimbing I, penulis menyampaikan terima kasih atas segala keikhlasan meluangkan waktu memberikan bimbingan dan dorongan moril baik selama persiapan, pelaksanaan hingga penyusunan tugas akhir ini, serta selalu menanamkan rasa tanggung jawab selama menjalani pendidikan.

Kepada staf pengajar di Bagian Patologi Klinik yang sudah menjalani masa pensiun yaitu dr. Azwar Nurdin, SpPK(K), kepada para staf pengajar yang masih aktif di Bagian Patologi Klinik yaitu dr. Lillah, SpPK(K); dr. Yoesri, SpPK(K); penulis mengucapkan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya atas segala keikhlasan dalam memberi petunjuk, ilmu dan membimbing dalam mempelajari ilmu Patologi Klinik *

Penulis menyampaikan terima kasih kepada Drs. Almurdi, DMM, MKes, Dra. Dian Pertiwi, MSi, dr. Eugeny Alia, SpPK, dr. Tuty Prihandani, SpPK, dr. Rikarni, SpPK, dr. Desywar, SpPK, dr. Efrida, SpPK, MKes, dan dr. Zelly Dia Rofinda, SpPK yang telah memberi ilmu dan sumbangan pemikiran dalam penulisan tesis ini.

Penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

- Dr. Widyarman, dr. Erlis Beby Julianto beserta staf UTDC-PMI Padang yang telah membimbing penulis selama stase di PMI Padang.

- Prof. Dr. dr. H. Nasrul Zubir, SpPD-KGEH, Prof. Dr. dr. H. Asman Manaf, SpPD-KEMD beserta staf yang telah membimbing penulis selama stase di Bagian Ilmu Penyakit Dalam FKUA/ RS. Dr. M. Djamil Padang.
- Dr. dr. Hj. Rizanda Machmud, MKes dan Liza yang telah membantu penulis dalam konsultasi statistik yang menunjang penulisan karya ilmiah ini.
- Seluruh analis kesehatan Subbagian Kimia Klinik dan Laboratorium 24 jam, Bagian Patologi Klinik FKUA/ RS. Dr. M. Djamil Padang khususnya Mbak Tin, Ni Ai, Ni Yen yang telah membantu dan bekerja sama selama penulis melakukan penelitian.
- Para perawat Poliklinik Khusus Metabolik Endokrin Bagian Penyakit Dalam RS. Dr. M. Djamil Padang yang telah membantu penulis pada saat mengumpulkan subyek penelitian.
- Para analis kesehatan dan karyawan/karyawati lainnya di Bagian Patologi Klinik FKUA/ RS. Dr. M. Djamil Padang atas bantuan dan kerjasamanya selama penulis mengikuti pendidikan.

Kepada rekan-rekan peserta PPDS-I Bagian Patologi Klinik, baik yang telah menyelesaikan pendidikan maupun yang sedang mengikuti pendidikan, penulis mengucapkan terima kasih atas bantuan dan kerjasama yang telah kita bina selama ini.

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada Drs. Muslim Kasim, Ak, MM, sebagai Bupati Padang Pariaman dan dr. H. Charles Darwin, DC, M.Pd mantan Kepala Dinas Kesehatan Padang Pariaman yang telah membuka kesempatan sehingga penulis dapat mengikuti pendidikan spesialis ini. Ucapan

terima kasih juga penulis sampaikan kepada HWS yang telah membiayai pendidikan spesialis Patologi Klinik.

Ucapan terima kasih serta doa penulis sampaikan kepada orang tua tercinta, ibunda Dra. Ratna Wilis M, ayahanda Dahsyaruddin Ajus (alm), bapak dan ibu mertua Dainuri St Mudo (alm) dan Syahniar Samad, adik-adik serta saudara ipar yang selalu membantu, memberikan semangat, dan doa kepada penulis.

Khususnya pada suamiku tercinta Dr. Montesqrit, SPt, MSi dan anak-anakku tersayang Hubbul Khaira Monteswi dan M. Nabil Ghifari Monteswi, atas doa, pengertian, pengorbanan, dan dorongan moril yang telah diberikan selama mengikuti pendidikan ini.

Tak lupa juga kepada semua subyek penelitian, terima kasih atas kesediaannya untuk turut serta dalam penelitian ini. Semoga pengorbanan tersebut mendapat pahala dari Allah SWT dan menjadi sumbangan berharga bagi ilmu pengetahuan.

Penulis menyadari bahwa semua yang telah dicapai dan diwujudkan dalam tulisan ini masih jauh dari sempurna. Apabila ada manfaat dari tulisan ini semata karena kebesaran dan ilmuNya dan apabila ada kesalahan itu semata karena keterbatasan dan kekurangan penulis. Akhirnya semoga tulisan ini dapat bermanfaat dan menjadi amal ibadah yang diridhoiNya. Amin.

Padang, November 2009

Penulis

DAFTAR ISI

ABSTRACT	Hal i
ABSTRAK	ii
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR SINGKATAN	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.3.1 Tujuan Umum	5
1.3.2 Tujuan Khusus	5
1.4 Manfaat Penelitian	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Diabetes Melitus	7
2.1.1 Definisi.....	7
2.1.2 Klasifikasi.....	7
2.1.3 Patogenesis DM Tipe 2.....	8
2.1.4 Diagnosis.....	10
2.1.5 Komplikasi.....	11
2.2 Endotel	12

2.2.1 Struktur dan Fungsi Endotel	12
2.2.2 Mediator yang Dilepaskan Sel Endotel.....	13
2.2.2.1 Zat Vasodilator.....	13
2.2.2.2 Zat Vasokonstriksi	13
2.2.2.3 Mediator Inflamasi.....	14
2.2.2.4 Mediator Hemostasis	14
2.3 Disfungsi Endotel.....	15
2.3.1 Definisi Disfungsi Endotel.....	15
2.3.2 Patofisiologi Disfungsi Endotel.....	15
2.3.3 Faktor Penyebab Disfungsi Endotel pada DM Tipe 2	17
2.3.3.1 Hiperglikemia Kronis.....	17
2.3.3.2 Resistensi Insulin	18
2.3.3.3 Proses Inflamasi.....	18
2.3.3.4 Dislipidemia.....	19
2.4 Mikroalbuminuria.....	19
2.4.1 Definisi Mikroalbuminuria	19
2.4.2 Patofisiologi Mikroalbuminuria.....	20
2.4.3 Mikroalbuminuria pada DM Tipe 2.....	21
2.5 Mekanisme Hemostasis	22
2.5.1 Sistem Koagulasi Darah.....	23
2.5.2 Protein C	24
2.5.2.1 Struktur Protein C	24
2.5.2.2 Peran Protein C	25
2.5.2.3 Pemeriksaan Laboratorium APC.....	26

2.5.3 Sistem Hemostasis pada DM Tipe 2.....	28
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN....	29
3.1 Kerangka Konseptual.....	30
3.2 Hipotesis Penelitian	30
BAB 4 METODE PENELITIAN.....	31
4.1 Disain Penelitian.....	31
4.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	31
4.3 Populasi dan Sampel.....	31
4.3.1 Besar Sampel	31
4.3.2 Variabel Penelitian.....	32
4.3.2.1 Klasifikasi Variabel.....	32
4.3.2.2 Definisi Operasional Variabel.....	32
4.3.3 Kriteria Inklusi.....	33
4.3.4 Kriteria Eksklusi.....	33
4.4 Alur Penelitian	34
4.5 Bahan Penelitian	34
4.6 Cara Kerja.....	35
4.6.1 Pemeriksaan Pendahuluan	35
4.6.2 Pemeriksaan Mikroalbuminuria.....	35
4.6.3 Protein C Teraktivasi	36
4.7 Analisis Data.....	38
BAB 5 HASIL PENELITIAN.....	39
5.1 Uji Ketelitian.....	39
5.2 Karakteristik Subyek Penelitian.....	40

5.3 Kadar APC pada DM Tipe 2 dengan Normoalbuminuria	41
5.4 Kadar APC pada DM Tipe 2 dengan Mikroalbuminuria.....	42
5.5 Perbandingan Kadar APC antara Penderita DM Tipe 2 dengan Normoalbuminuria dan Mikroalbuminuria.....	42

BAB 6 PEMBAHASAN.....43

6.1 Uji Ketelitian.....	43
6.2 Karakteristik Subyek Penelitian.....	43
6.3 Kadar APC pada DM tipe 2 dengan Normoalbuminuria.....	45
6.4 Kadar APC pada DM Tipe 2 dengan Mikroalbuminuria.....	45
6.5 Perbandingan Kadar APC antara Penderita DM Tipe 2 dengan Normolbuminuria dan Mikroalbuminuria.....	45

BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN.....48

7.1 Kesimpulan	48
7.2 Saran	48

DAFTAR PUSTAKA.....49

DAFTAR RIWAYAT HIDUP.....54

LAMPIRAN.....55

DAFTAR TABEL

Tabel	hal
2. 1 Kriteria Diagnosis DM.....	11
2. 2 Definisi MAU dan Diabetik Nefropati.....	20
5. 1 Hasil Uji Ketelitian <i>Within Run</i> Pemeriksaan Albumin Urin, Kreatinin Urin, dan APC.....	39
5. 2 Hasil Uji Ketelitian <i>Between Day</i> Pemeriksaan Albumin Urin, Kreatinin Urin, dan APC.....	40
5. 3 Karakteristik Subyek Penelitian.....	41
5. 4 Kadar Rerata APC pada DM Tipe 2 Kelompok A, Kelompok B, dan pada Orang Sehat.....	41

DAFTAR GAMBAR

Gambar		hal
2.1	Jalur Transduksi Sinyal insulin	10
2.2	Sifat Tromboresisten Endotel.....	15
2.3	Interaksi Jalur <i>Hyperglycaemia-Induced Metabolic</i> Terlibat dalam Terjadinya Disfungsi Endotel.....	17
2.4	Sistem Koagulasi.....	23
2.5	Struktur Domain protein C Manusia.....	24
2.6	Jalur Antikoagulan Alamiah.....	25
3.1	Kerangka Konsep Penelitian	30
4.1	Alur Penelitian.....	34
5.1	Kadar Rerata APC pada Kelompok A dan Kelompok B...	42

DAFTAR SINGKATAN

ADA	= <i>American Diabetes Association</i>
ADMA	= <i>Asymmetric Dimethylarginine</i>
AGEs	= <i>Advanced glycation end products</i>
APC	= <i>Activated Protein C</i>
BH4	= <i>Tetrahydrobiopterin</i>
cGMP	= <i>Cyclic guanosine monophosphate</i>
CRP	= <i>C reactive protein</i>
CV	= <i>Coefficient of variation</i>
DDAH	= <i>Dimethylarginine dimethyl-aminohydrolase</i>
DM	= <i>Diabetes melitus</i>
ECE-1	= <i>ET converting enzyme-1</i>
EDHF	= <i>Endothelium-derived hyperpolarizing factor</i>
eNOS	= <i>Endothelial nitric oxide synthase</i>
ET-1	= <i>Endotelin-1</i>
GPPT	= <i>Glukosa plasma puasa terganggu</i>
GTP	= <i>Guanosine triphosphate</i>
HDL	= <i>High density lipoprotein</i>
HMWK	= <i>High molecular weight kininogen</i>
ICAM-1	= <i>Intercellular adhesion molecule-1</i>
IMT	= <i>Indeks masa tubuh</i>
LDL	= <i>Low density lipoprotein</i>
LOX-1	= <i>Lectin-like oxidized LDL receptor-1</i>
MCP-1	= <i>Macrophage chemoattractant peptide-1</i>
MAPK	= <i>Mitogen activated protein kinase</i>
MAU	= <i>Mikroalbuminuria</i>
NF- κ B	= <i>Nuclear factor-kappa beta</i>
NO	= <i>Nitric oxide</i>
NOS	= <i>Nitric oxide synthase</i>
PAI-1	= <i>Plasminogen activator inhibitor-1</i>
PAI-3	= <i>Plasminogen activator inhibitor-3</i>
PC	= <i>Protein C</i>
PF3	= <i>Platelet factor 3</i>
PI3K	= <i>Phosphatidylinositol-3 kinase</i>
PS	= <i>Protein S</i>
ROS	= <i>Reactive oxygen spesies</i>
TGT	= <i>Toleransi glukosa terganggu</i>
TM	= <i>Trombomodulin</i>
TNF- α	= <i>Tumor necrosis factor-α</i>
tPA	= <i>Tissue plasminogen activator</i>
TTGO	= <i>Tes Toleransi Glukosa Oral</i>
uPA	= <i>Urokinase plasminogen activator</i>
VCAM-1	= <i>Vascular cell adhesion molecule-1</i>
VSMC	= <i>Vascular smooth muscle cell</i>
WHO	= <i>World Health Organization</i>

DAFTAR LAMPIRAN

Lamp		hal
1	Formulir Penelitian.....	55
2	Alokasi dan Rincian Dana Penelitian.....	56
3	Jadwal Kegiatan Penelitian.....	57
4	Penjelasan dan Informasi (<i>inform consent</i>) dan Pernyataan Persetujuan.....	58
5	Tabel Kadar APC pada Orang Sehat.....	59
6	Tabel Kelompok A (Normoalbuminuria).....	60
7	Tabel Kelompok B (Mikroalbuminuria).....	61
8	Hasil Pengolahan Data dengan SPSS.....	62

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

American Diabetes Association (ADA) tahun 2005 menyatakan diabetes melitus (DM) adalah suatu kelompok penyakit metabolik dengan karakteristik hiperglikemia, yang terjadi karena kelainan sekresi insulin, kerja insulin, atau keduanya (Soegondo, 2007). Klasifikasi DM berdasarkan etiologi menurut *Perkeni* (2006) dibedakan atas: (1) DM tipe 1, (2) DM tipe 2, (3) DM tipe lain, dan (4) DM gestasional.

Diabetes melitus tipe 2 merupakan sekelompok kelainan yang ditandai dengan resistensi insulin, sekresi insulin terganggu, dan peningkatan produksi glukosa (Powers, 2001). Kasus DM yang terbanyak yaitu DM tipe 2 sebesar 80–90% dari semua kasus DM (Maitra dan Abbas, 2005). Diabetes melitus tipe 2 muncul lebih sering setelah usia 40 tahun, namun insidensinya meningkat dengan cepat pada usia remaja dan dewasa muda (Votey, 2009), dan pada dekade ketujuh kehidupannya mencapai 3–4 kali lebih tinggi (Suyono, 2007).

Prevalensi DM tipe 2 di berbagai penjuru dunia cenderung meningkat, pada tahun 1995 sebesar 4,0%, diperkirakan pada tahun 2025 meningkat menjadi 5,4% (King *et al*, 1998). *World Health Organization (WHO)* memprediksi jumlah penderita DM tipe 2 di Indonesia yaitu sekitar 8,4 juta orang pada tahun 2000 menjadi sekitar 21,3 juta orang pada tahun 2030 (Perkeni, 2006). Prevalensi DM di Indonesia meningkat dengan cepat. Penelitian yang dilakukan di Jakarta menunjukkan adanya peningkatan prevalensi DM dari 1,7% pada tahun 1982 menjadi 5,7% tahun 1993 dan 12,8% pada tahun 2001 (Semiardji, 2003).

Penelitian terakhir antara tahun 2001-2005 di daerah Depok didapatkan prevalensi DM tipe 2 sebesar 14,7%. Prevalensi DM tipe 2 tahun 2005 di Makasar mencapai 12,5% (Suyono, 2006), sedangkan di Sumatera Barat 5,1 % (Persi, 2008).

Diabetes melitus dapat menyebabkan disfungsi endotel (Ross, 1999). Dalam keadaan normal sel endotel berperan aktif dengan mengeluarkan berbagai mediator untuk menjaga keseimbangan faktor relaksasi dan kontraksi, ~~prokoagulan~~ dan antikoagulan, penghambat dan pemacu pertumbuhan (*growth-inhibitor*) (Soeatmadji, 2000; Endemann dan Schiffrin, 2004; Stehouwer, 2004). Gangguan keseimbangan faktor tersebut dapat menimbulkan disfungsi endotel. Disfungsi endotel menyebabkan gangguan koagulasi, berperan pada kejadian awal ~~dan perkembangan~~ lesi aterosklerosis, serta perkembangan trombosis dan iskemia ~~pada aterosklerosis~~ stadium lanjut. Manifestasi disfungsi endotel dapat berupa vasospasme, pembentukan trombus, hipertensi, dan aterosklerosis (Soeatmadji, 2000; Escandon dan Cipolla, 2001).

Mikroalbuminuria (MAU) telah dikaitkan dengan penanda biokimia disfungsi endotel dan terjadinya aterosklerosis. Mikroalbuminuria dianggap sebagai faktor risiko independen untuk morbiditas dan mortalitas penyakit kardiovaskular pada penderita DM tipe 2 serta telah digunakan sebagai penanda dini nefropati diabetes (Immanuel, 2006). Risiko kematian penderita DM tipe 2 dengan MAU meningkat 2-4 kali lipat dibandingkan dengan normoalbuminuria (Stehouwer dan Smulders, 2006).

Mikroalbuminuria adalah ekskresi albumin dalam urin yang melebihi normal tetapi tidak dapat dideteksi dengan dipstik urin biasa. Adanya MAU menunjukkan kerusakan endotel yang luas di pembuluh darah termasuk di

glomerulus (Bhowmick *et al*, 2007). Mikroalbuminuria adalah keadaan yang ditandai dengan (1) ekskresi albumin urin antara 30-300 mg/hari, (2) 20-200µg/menit, (3) rasio albumin/kreatinin urin antara 30-300 mg/g (Ritz, 1999; Immanuel, 2006), atau antara 3-30 mg/mmol (Aakre *et al*, 2008) atau antara 2,0-20 mg/mmol untuk wanita, 2,8-28 mg/mmol untuk pria (Tobe *et al*, 2002).

Penderita DM tipe 2 menunjukkan aktivitas sistem koagulasi darah yang tinggi, yang berperan penting dalam patogenesis penyakit vaskular aterotrombotik di pembuluh darah besar maupun kecil. Beberapa penelitian pada penderita DM tipe 2 menunjukkan tingginya konsentrasi protein prokoagulan dan rendahnya konsentrasi faktor antikoagulan. Peningkatan aktivitas prokoagulan berperan dalam meningkatkan insidensi aterosklerosis dini, morbiditas, dan mortalitas penderita DM. Perkembangan trombosis dalam pembuluh darah merupakan akibat terganggunya keseimbangan antara faktor prokoagulan dan antikoagulan. Ketidakseimbangan ini dapat muncul karena stimulus trombogenesis, defek antikoagulan alamiah, atau defek sistem fibrinolisis (Veglio, 1995; Gabazza *et al*, 1996; Hori, 2002; Aslan *et al*, 2005). Menurut Aslan (2005), penyakit vaskular dan antikoagulan alamiah protein C (PC) yang rendah secara bersama menyebabkan trombogenesis pada DM.

Sistem antikoagulan alamiah sangat penting untuk mengontrol koagulasi (Gabazza *et al*, 1996). Protein C adalah antikoagulan alamiah, tergantung vitamin K yang dihasilkan di hati, setelah dipecah secara proteolitik oleh kompleks trombin dan trombomodulin (TM) di permukaan endotel, akan dikonversi menjadi PC teraktivasi (*activated protein C/APC*). Protein C teraktivasi merupakan enzim efektor sistem antikoagulan PC karena menginaktifkan FVa dan VIIIa di

permukaan trombosit dan sel endotel sehingga koagulasi tidak terjadi. Protein C teraktivasi juga menstimulasi fibrinolisis dengan menghambat *plasminogen activator inhibitor-1* (PAI-1), meningkatkan aktivitas antiinflamasi dengan menghambat sekresi sitokin proinflamasi (Gabazza *et al*, 1996; Hoffbrand 2005; Setiabudy dan Widjajahakim, 2007; Zaki, 2008).

Aktivitas biologis jalur antikoagulan PC dan peran APC pada penderita DM tipe 2 masih kontroversial. Veglio *et al* pada tahun 1995 mendapatkan kadar APC pada penderita DM tipe 2 dengan MAU dan normoalbuminuria serta kontrol sehat hampir sama, sedangkan Aslan *et al* pada tahun 2005 mendapatkan kadar APC pada penderita DM tipe 2 dengan normoalbuminuria lebih tinggi dibandingkan penderita DM tipe 2 dengan MAU dan kontrol, namun kadar APC penderita DM tipe 2 dengan MAU lebih rendah dari kontrol. Penelitian di Indonesia tentang bagaimana hubungan antara APC pada penderita DM tipe 2 dengan MAU dan normoalbuminuria sejauh ini belum banyak dilaporkan. Berdasarkan keadaan tersebut perlu dilakukan penelitian bagaimana perbandingan kadar APC pada penderita DM tipe 2 dengan normoalbuminuria dan MAU. Kadar APC yang didapatkan dari hasil penelitian ini dapat diketahui perannya dalam patogenesis trombogenesis sebagai salah satu penyebab komplikasi DM tipe 2 sehingga akan ada usaha preventif dan kuratif untuk mengurangi terjadinya komplikasi tersebut.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian pada latar belakang, dapat dirumuskan masalah penelitian sebagai berikut:

1. Bagaimanakah kadar APC pada penderita DM tipe 2 dengan normoalbuminuria?
2. Bagaimanakah kadar APC pada penderita DM tipe 2 dengan mikroalbuminuria?
3. Bagaimanakah perbandingan kadar APC antara penderita DM tipe 2 dengan normoalbuminuria dan penderita DM tipe 2 dengan mikroalbuminuria?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Membandingkan kadar APC pada penderita DM tipe 2 dengan dan tanpa mikroalbuminuria.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengetahui kadar APC pada penderita DM tipe 2 dengan normoalbuminuria
2. Mengetahui kadar APC pada penderita DM tipe 2 dengan mikroalbuminuria
3. Mengetahui perbandingan kadar APC antara penderita DM tipe 2 dengan normoalbuminuria dan penderita DM tipe 2 dengan mikroalbuminuria.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat Ilmiah

Hasil penelitian dapat dijadikan dasar untuk penelitian selanjutnya yang berhubungan dengan trombogenesis pada penderita DM tipe 2.

Manfaat Praktis

Hasil penelitian dapat digunakan dalam upaya preventif dan kuratif di bidang kesehatan sebagai upaya menemukan berbagai faktor risiko penyakit yang berhubungan dengan trombogenesis.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Diabetes Melitus

2.1.1 Definisi

American Diabetes Association tahun 2005, diabetes melitus adalah suatu kelompok penyakit metabolik dengan karakteristik hiperglikemia, yang terjadi karena kelainan sekresi insulin, kerja insulin, atau keduanya (dikutip dari Soegondo, 2007). Diabetes melitus tipe 2 merupakan sekelompok kelainan yang ditandai dengan resistensi insulin, sekresi insulin terganggu, dan peningkatan produksi glukosa (Powers, 2001).

2.1.2 Klasifikasi

Klasifikasi DM berdasarkan etiologi (Perkeni, 2006) yaitu:

- a. Tipe 1: Destruksi sel beta, umumnya menjurus ke defisiensi insulin absolut
 - Autoimun
 - Idiopatik
- b. Tipe 2: Bervariasi mulai yang dominan resistensi insulin disertai defisiensi insulin relatif sampai yang dominan defek sekresi insulin disertai resistensi insulin
- c. Tipe lain: dapat terjadi diakibatkan oleh:
 - Defek genetik fungsi sel beta
 - Defek genetik kerja insulin
 - Penyakit eksokrin pankreas
 - Endokrinopati
 - Karena obat atau zat kimia

- Infeksi
- Sebab imunologi yang jarang
- Sindrom genetik lain yang berkaitan dengan DM

4. Diabetes melitus gestasional

2.1.3 Patogenesis DM Tipe 2

Patogenesis DM tipe 2 multifaktorial dan belum diketahui proses mana yang lebih dahulu terjadi. Faktor genetik dan lingkungan sangat berperan dalam proses timbulnya DM tipe 2 (Sanusi, 2005). Faktor genetik yaitu kegagalan sekresi insulin oleh sel beta pankreas (disfungsi sel beta) dan resistensi insulin yakni menurunnya sensitivitas jaringan terhadap insulin. Kedua faktor ini sangat erat kaitannya satu sama lain dan cenderung berdampak untuk terjadinya hiperglikemia. Hiperglikemia juga dipicu oleh faktor lingkungan seperti kebiasaan makan berlebihan, kurang olahraga, gaya hidup ataupun kegemukan (Manaf, 2001).

Tiga organ tubuh berperan dalam mengatur konsentrasi glukosa darah yaitu: (1) sel beta pankreas yang mengeluarkan insulin untuk menurunkan glukosa darah, (2) hati melepaskan glukosa, dan (3) otot meningkatkan asupan glukosa. Dalam keadaan normal insulin senantiasa bekerja mempertahankan konsentrasi glukosa plasma agar selalu dalam batas normal pada saat puasa maupun sesudah puasa. Pada keadaan puasa tidak terjadi hipoglikemia karena hati memproduksi glukosa untuk mempertahankan konsentrasi glukosa normal dengan meningkatkan proses glikogenolisis dan glukoneogenesis. Sebaliknya pada keadaan setelah makan, konsentrasi glukosa plasma tidak terlalu meningkat

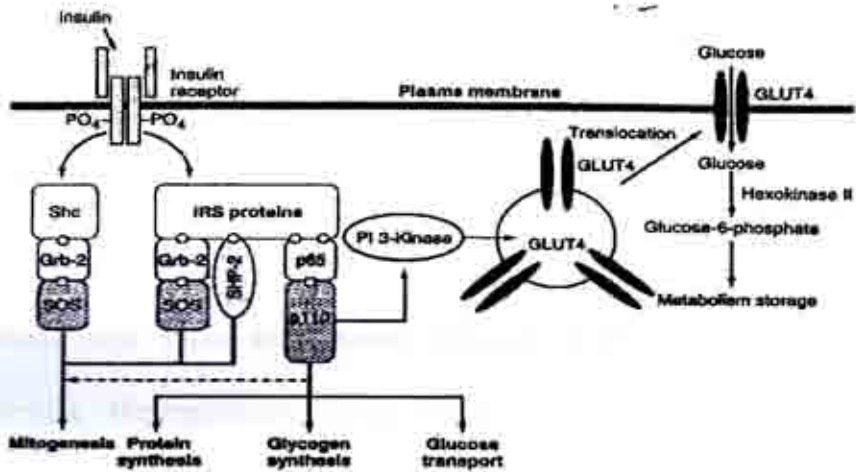
karena sel beta pankreas menghasilkan insulin yang lebih banyak untuk meningkatkan asupan glukosa di otot (Sanusi, 2005).

Perjalanan DM tipe 2 dimulai dengan toleransi glukosa normal, pada tahap lanjut terjadi kenaikan konsentrasi glukosa darah puasa atau 2 jam setelah beban glukosa pada tes toleransi glukosa oral (TTGO), lambat laun konsentrasi insulin plasma meningkat sampai pada maksimal. Pada keadaan tersebut sel beta kelelahan atau tidak mampu menormalkan konsentrasi glukosa darah sehingga konsentrasi glukosa darah meningkat. Pada saat tersebut konsentrasi glukosa plasma puasa berkisar 100-125 mg/dL disebut glukosa plasma puasa terganggu (GPPT) dan konsentrasi glukosa plasma setelah beban 75 gr menunjukkan angka antara 140-199 mg/dL disebut toleransi glukosa terganggu (TGT). Adanya GPPT dan atau TGT disebut sebagai disglukemia. Apabila resistensi insulin berlanjut terus, maka sel beta tidak mampu menghasilkan insulin karena kelelahan dalam mempertahankan konsentrasi glukosa yang normal, sehingga timbullah DM tipe 2 (Maitra dan Abbas, 2005; Sanusi, 2005).

Dua defek metabolik yang menjadi ciri DM tipe 2 adalah penurunan kemampuan insulin untuk bekerja terhadap jaringan perifer yang disebut dengan resistensi insulin dan disfungsi sel β akibat ketidakmampuan pankreas untuk menghasilkan insulin yang cukup dalam mengkompensasi resistensi insulin. Pada banyak kasus, resistensi insulin adalah kejadian utama yang mendasari patofisiologi DM tipe 2 (Maitra and Abbas, 2005; Sacks *et al*, 2006).

Resistensi insulin menyebabkan penurunan ambilan glukosa di jaringan otot dan adiposa serta ketidakmampuan hormon untuk menekan glukoneogenesis di hati. Beberapa penelitian pada individu dengan resistensi insulin menunjukkan

sinyal insulin tidak normal seperti terganggunya *down regulation* reseptor insulin, penurunan fosforilasi reseptor insulin, dan defek aktivitas tirosin kinase jalur *phosphatidylinositol-3 kinase* (PI3K) yang mengakibatkan penurunan translokasi GLUT4 di membran plasma. Penurunan translokasi GLUT4 akan menurunkan *uptake* glukosa ke dalam sel sehingga terjadi hiperglikemia (Gambar 2.1)(Powers, 2001; Maitra dan Abbas, 2005).



Gambar 2.1 Jalur Transduksi Sinyal Insulin (Powers, 2001).

2.1.4 Diagnosis

Diagnosis DM ditegakkan atas dasar pemeriksaan kadar glukosa darah.

Kecurigaan adanya DM dipikirkan apabila terdapat keluhan sebagai berikut:

- a. Keluhan klasik: poliuria, polidipsia, polifagia, dan penurunan berat badan yang tidak dapat dijelaskan sebabnya.
- b. Keluhan lain: lemah badan, kesemutan, gatal, mata kabur, disfungsi ereksi pada pria serta pruritus vulva pada wanita.

Kriteria diagnosis DM dapat dilihat pada Tabel 2.1. Apabila hasil pemeriksaan tidak memenuhi kriteria normal atau DM, maka dapat digolongkan dalam kelompok TGT atau GPPT (Perkeni, 2006).

Tabel 2.1 Kriteria Diagnosis DM

1. Gejala klasik DM + glukosa plasma sewaktu ≥ 200 mg/dL (11,1 mmol/L)
Atau
2. Gejala klasik DM + Kadar glukosa plasma puasa ≥ 126 mg/dL (7,0 mmol/L)
Atau
3. Kadar glukosa plasma 2 jam pada TTGO ≥ 200 mg/dL (11,1 mmol/L)
(Perkeni, 2006)

2.1.5 Komplikasi

Perjalanan penyakit DM dapat terjadi komplikasi akut dan kronik. Komplikasi akut yaitu ketoasidosis diabetik, hiperosmolar nonketotik, dan hipoglikemia. Hiperglikemia kronik dihubungkan dengan komplikasi kronis, disfungsi, atau kegagalan beberapa organ. Komplikasi kronik pada DM tipe 2 pada dasarnya terjadi pada semua pembuluh darah di seluruh tubuh (angiopati diabetik) berupa makrovaskular (melibatkan pembuluh darah tepi, pembuluh darah jantung, dan pembuluh darah otak), mikrovaskular (retinopati diabetik, nefropati diabetik, dan neuropati). Penyakit makrovaskular pada DM ditunjukkan oleh percepatan aterosklerosis yang dapat menyebabkan infark miokard, stroke, dan gangren ekstremitas bawah. Faktor risiko penyakit mikrovaskular adalah kontrol gula darah yang jelek, lama DM, hipertensi, dan MAU (Dixon dan Salamonson, 2006; Gustaviani, 2006; Perkeni, 2006; Soegondo, 2007; Waspadji, 2007).

Etiologi terbanyak penyebab mortalitas dan morbiditas pada penderita DM tipe 2 adalah komplikasi penyakit vaskular akibat aterotrombotik. Komplikasi

penyakit vaskular muncul lebih awal dan lebih sering pada penderita DM tipe 2 dibandingkan dengan penderita bukan diabetes (Aslan *et al*, 2005).

2.2 Endotel

2.2.1 Struktur dan Fungsi Endotel

Lapisan pembuluh darah (luar ke dalam) terdiri dari lapisan adventitia (lapisan jaringan ikat), media (lapisan otot polos), dan intima yang memiliki lapisan subendotel dan endotel (Ganong, 2003). Endotel merupakan organ terluas di tubuh yang melapisi bagian dalam lumen pembuluh darah, berfungsi sebagai barier antara otot polos pembuluh darah dan komponen darah (Verma *et al*, 2003; Endemann dan Schiffrin, 2004). Karena letaknya antara dinding pembuluh darah dan aliran darah maka sel endotel menerima berbagai stimulus seperti tekanan, *shear stress*, dan hormonal (Endemann dan Schiffrin, 2004).

Dahulu sel endotel dianggap sebagai barier sederhana yang berfungsi untuk memelihara permeabilitas pembuluh darah. Belakangan ini ditemukan bahwa endotel berperan aktif dalam homeostasis dengan mengeluarkan berbagai mediator yang menjaga keseimbangan koagulasi dan fibrinolisis, mengatur tonus otot polos dan permeabilitas pembuluh darah, mengatur proses inflamasi, mencegah perdarahan, serta mensintesis faktor pertumbuhan (Escandon dan Cipolla, 2001; Chong *et al*, 2003).

Dalam keadaan normal sel endotel berfungsi untuk: (1) menurunkan tonus vaskular, (2) mengatur permeabilitas vaskular dan keseimbangan cairan, (3) menghambat adesi leukosit, (4) membatasi aktivitas jalur koagulasi, (5) mengatur fibrinolisis, dan (6) mitogenesis dan angiogenesis (Endemann dan Schiffrin, 2004; Stehouwer, 2004).

2.2.2 Mediator yang Dilepaskan Sel Endotel

2.2.2.1 Zat Vasodilator

Zat vasodilator yang dihasilkan endotel mengakibatkan pelebaran lumen pembuluh darah, antara lain: *nitric oxide* (NO), prostasiklin, *endothelium-derived hyperpolarizing factor* (EDHF), dan *C-type natriuretic peptide* (Endemann dan Schiffrin, 2004). *Nitric oxide* merupakan *endothelium-derived relaxing* yang paling berperan dalam mempertahankan tonus dan reaktivitas vaskular (Verma, 2003). *Nitric oxide* disintesis dari *L-arginine* dengan bantuan enzim *NO synthase* (NOS). *Nitric oxide synthase* memerlukan kofaktor yaitu *tetrahydrobiopterin* (BH₄) untuk memfasilitasi produksi NO. Selanjutnya NO mengaktifkan *soluble guanylyl cyclase* yang akan merubah *guanosine triphosphate* (GTP) menjadi *cyclic guanosine monophosphate* (cGMP). *Cyclic guanosine monophosphate* akhirnya menyebabkan relaksasi otot polos vaskular (Ganong, 2003). *Nitric oxide* juga meniadakan aksi *endothelium-derived contracting factor* (Angiotensin II dan endotelin-1 (ET-1)), menghambat aktivasi trombosit dan leukosit, serta antiproliferatif (Verma *et al*, 2003).

2.2.2.2 Zat Vasokonstriktor

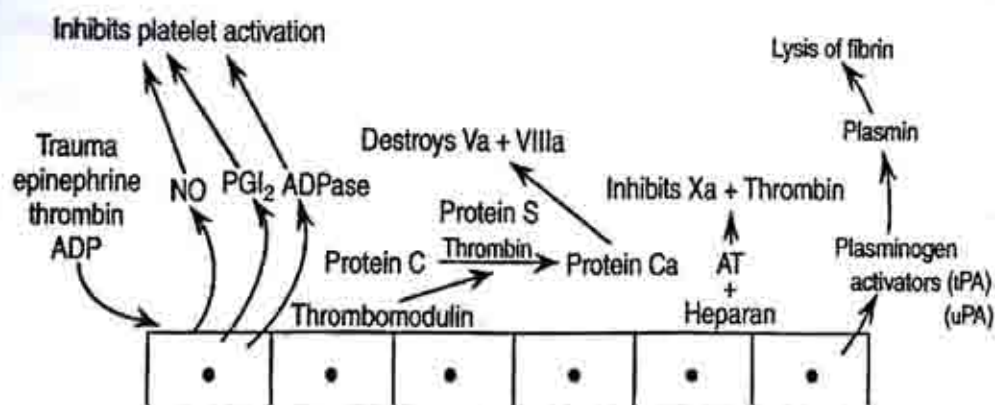
Zat vasokonstriktor yang dihasilkan endotel akan menyebabkan penyempitan lumen pembuluh darah yaitu ET-1, Angiotensin II, tromboksan A₂, dan *reactive oxygen spesies* (ROS) (Endemann dan Schiffrin, 2004). Endotelin-1 adalah 21 *amino acid peptide* yang dipecah dari prekursor inaktif big ET-1 dengan adanya enzim *ET converting enzyme-1* (ECE-1), *chymase*, dan *non ECE metalloprotease*. Endotelin-1 adalah *endothelium-contracting factor* yang terkuat efek vasokonstriksinya (Goraca, 2002; Galie *et al*, 2004).

2.2.2.3 Mediator Inflamasi

Ikatan leukosit di sirkulasi terhadap endotel dan migrasinya lebih lanjut ke dalam subendotel merupakan proses utama perkembangan aterosklerosis. Kejadian tersebut dimediasi oleh beragam molekul adesi yang diekspresikan ke permukaan sel endotel, sebagai respon terhadap stimulus inflamasi. Molekul adesi yang sudah diidentifikasi adalah *intercellular adhesion molecule-1* (ICAM-1), *Vascular cell adhesion molecule-1* (VCAM-1), *E-selectin*, *P-selectin*, dan *nuclear factor-kappa beta* (NF- κ B) (Socotmadji, 2000).

2.2.2.4 Mediator Hemostasis

Dalam keadaan normal endotel mengatur tonus dan permeabilitas vaskular dan mempertahankan fluiditas darah dengan memproduksi inhibitor koagulasi dan inhibitor agregasi trombosit. Endotel dapat memisahkan komponen hemostasis darah dari struktur subendotel yang reaktif. Subendotel mengandung protein adesif, kolagen, TM, dan *von Willebrand Faktor*. Endotel mengatur tonus dinding pembuluh darah dengan mensintesis ET yang menyebabkan vasokonstriksi, serta PGI₂ dan NO untuk vasodilatasi. Endotel menghambat agregasi trombosit dengan melepaskan PGI₂ dan NO. Endotel membatasi koagulasi darah dengan mensintesis dan mensekresi TM dan heparan sulfat ke permukaan, mengatur proses fibrinolisis dengan sintesis dan sekresi tPA, *urokinase plasminogen activator* (uPA), dan PAI (Gambar 2.2)(Stehouwer, 2004; Colman *et al*, 2006).



Gambar 2.2 Sifat Tromboresisten Endotel (Colman *et al*, 2006)

2.3 Disfungsi Endotel

2.3.1 Definisi Disfungsi Endotel

Disfungsi endotel adalah ketidakseimbangan faktor-faktor yang memfasilitasi homeostasis vaskular yang akan menimbulkan vasokonstriksi, adesi leukosit, aktivasi trombosit, mitogenesis, prooksidasi, trombotik, koagulasi terganggu, inflamasi vaskular, dan aterosklerosis (Verma *et al*, 2003). Disfungsi endotel merupakan kejadian awal aterosklerosis dan menghubungkan diabetes dengan risiko kejadian kardiovaskular (Endemann dan Schiffrin, 2004).

2.3.2 Patofisiologi Disfungsi Endotel

Patofisiologi disfungsi endotel sangat kompleks dan melibatkan mekanisme yang multipel antara lain (Endemann dan Schiffrin, 2004):

1. Nitric Oxide

Salah satu mediator vasodilator yang dilepaskan endotel adalah NO. Disfungsi endotel ditunjukkan dengan menurunnya NO akibat dari menurunnya aktivitas *endothelial NOS* (eNOS). *Reactive oksigen spesies* dapat menghambat NO dengan pembentukan peroksinitrit yang merupakan

oksidan sitotoksik dan melalui nitrasi protein akan mempengaruhi fungsi protein dan endotel. Peroksinitrit menyebabkan degradasi kofaktor eNOS yaitu BH_4 sehingga terjadi *uncoupling* eNOS.

2. *Asymmetric Dimethylarginine*

Mekanisme baru yang menyebabkan penurunan NO adalah *Asymmetric Dimethylarginine* (ADMA) yang merupakan inhibitor kompetitif eNOS endogen dan telah dihubungkan dengan disfungsi endotel. *Asymmetric Dimethylarginine* merupakan produk dari *turnover* protein dan diekskresi melalui ginjal atau dimetabolisme menjadi *citrulline* oleh enzim *dimethylarginine dimethyl-aminohydrolase* (DDAH).

3. *Oxidative Excess*

Oxidative excess menyebabkan disfungsi endotel yang dibuktikan oleh *endothelium-dependent relaxing* yang terganggu mengalami perbaikan setelah menggunakan antioksidan. Peningkatan *oxidative excess* pada percobaan yang dilakukan pada hewan diabetes dapat menyebabkan disfungsi endotel.

4. Hiperhomosisteinemia

Faktor risiko kardiovaskular nontradisional yang menyebabkan disfungsi endotel adalah hiperhomosisteinemia. Penelitian pada manusia menunjukkan homosistein menurunkan ketersediaan NO oleh adanya *oxidative excess*. Belakangan ini terbukti bahwa homosistein dapat menyebabkan akumulasi ADMA dengan penghambatan DDAH.

5. Diabetes

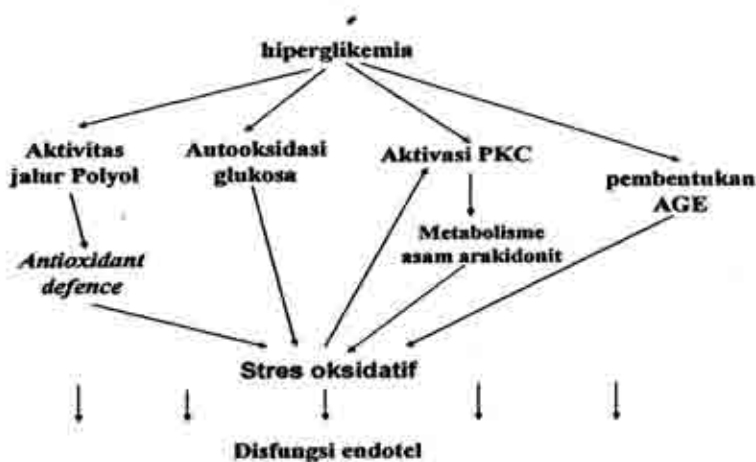
Pada DM tipe 2, sinyal insulin melalui reseptor insulin melalui 2 jalur yaitu jalur yang melalui *PI3K*, *phosphoinositide-dependent kinase-1*, dan *Akt/protein kinase-B* untuk memfosforilasi dan mengaktifkan eNOS dan jalur

yang melalui *mitogen activated protein kinase* (MAPK) untuk efek mitogenik dan pertumbuhan. Sinyal insulin melalui PI3K mengalami perubahan sehingga fosforilasi dan aktivasi NO terganggu yang menyebabkan disfungsi endotel.

2.3.3 Faktor Penyebab Disfungsi Endotel pada DM Tipe 2

2.3.3.1 Hiperglikemia Kronis

Hiperglikemia kronis (glukotoksisitas) dapat merubah metabolisme intrasel seperti pengaktifan jalur polyol dan *diacylglycerol-protein kinase C*, mengubah struktur dan fungsi makromolekul melalui pembentukan *advanced glycation end products* (AGEs). Hal tersebut memicu stres oksidatif (Gambar 2.3). Stres oksidatif suatu keadaan dimana terjadi produksi radikal bebas yang berlebihan yang akan menghambat fungsi NO dan mengakibatkan disfungsi endotel (De Vriese *et al*, 2000; Aronson dan Rayfield, 2002).



Gambar 2.3 Interaksi Jalur *hyperglycaemia-induced metabolic* Terlibat dalam Terjadinya Disfungsi Endotel (De Vriese *et al*, 2000)

2.3.3.2 Resistensi Insulin

Pada kondisi normal insulin menstimulasi produksi NO melalui jalur PI3K dan ET-1 dari dinding vaskular. Pada resistensi insulin dan hiperinsulinemia, insulin tidak dapat menstimulasi NO tetapi masih dapat meningkatkan pelepasan ET-1 sehingga terjadi vasokonstriksi (Sarafadis dan Bakris, 2007). Beberapa penelitian menunjukkan resistensi insulin menyebabkan disfungsi endotel, karena terjadi peningkatan ET-1, peningkatan PAI-1, dan peningkatan asam lemak bebas (Escandon dan Cipolla, 2001).

Resistensi insulin ditandai dengan tingginya asam lemak bebas di sirkulasi. Resistensi insulin pada adiposit menyebabkan peningkatan aktivitas *hormon-sensitive lipase* yang memecah trigliserida dan melepaskan asam lemak bebas. Tingginya asam lemak bebas menyebabkan terganggunya sinyal insulin, terjadinya stres oksidatif, dan perubahan *Vascular smooth muscle cell* (VSMC) (Muniyappa *et al*, 2007).

2.3.3.3 Proses Inflamasi

Disfungsi endotel merupakan kejadian awal aterosklerosis dan penghubung yang penting antara DM dengan tingginya risiko kejadian kardiovaskular. Rendahnya ketersediaan NO dapat *upregulate* VCAM-1 di sel endotel melalui induksi NF- κ B. *Reactive oxygen spesies*, *C reaktif protein* (CRP), dan *lectin-like oxidized LDL receptor-1* (LOX-1) juga *upregulate* ekspresi molekul adesi endotel. Ekspresi VCAM-1, ICAM-1, dan *E selectin* berperan dalam mengawali proses inflamasi. *Vascular cell adhesion molecule-1* berikatan dengan monosit dan limfosit T merupakan langkah awal invasi dinding vaskular. *Nitric oxide* yang menurun, tidak dapat menghambat adesi leukosit. Penurunan

NO menghasilkan ekspresi *macrophage chemoattractant peptide-1* (MCP-1) yang merekrut fagosit mononuklear. Monosit ditransformasi ke dalam lipid membentuk sel busa. Faktor pertumbuhan yang disekresi makrofag menyebabkan migrasi otot polos ke lapisan intima dan berproliferasi. Keadaan ini dapat menyebabkan aterosklerosis (Soeatmadji, 2000; Smitko *et al*, 2003; Endemann dan Schiffrin, 2004).

2.3.3.4 Dislipidemia

Diabetes melitus sering disertai dengan dislipidemia berupa hiperkolesterolemia, kadar LDL kolesterol tinggi, kadar *high density lipoprotein* (HDL)-kolesterol rendah, dan hipertrigliseridemia. *Low density lipoprotein* terutama partikel *small dense LDL* lebih bersifat aterogenik karena lebih rentan terhadap oksidasi dan dapat merusak endotel pembuluh darah dan mengakibatkan disfungsi endotel. Sebagian LDL akan mengalami modifikasi membentuk LDL teroksidasi yang akan mengalami internalisasi oleh makrofag melalui reseptor *scavenger* yang ada dipermukaannya. Internalisasi menghasilkan pembentukan sel busa. Faktor pertumbuhan yang disekresi makrofag menyebabkan migrasi otot polos ke lapisan intima dan berproliferasi. Keadaan ini dapat menyebabkan aterosklerosis (Ross, 1999; Endemann dan Schiffrin, 2004).

2.4 Mikroalbuminuria

2.4.1 Definisi Mikroalbuminuria

Pada keadaan normal albumin urin tidak melebihi 30 mg/hari. Bila albumin dalam urin antara 30-300 mg/hari dan tidak terdeteksi dengan dipstik urin biasa disebut MAU (Bawazier, 2006). Ada beberapa cara pemeriksaan MAU (Ritz, 1999; Immanuel, 2006) yaitu:

1. Pengukuran albumin urin 24 jam: MAU antara 30-300 mg/hari
2. Pengukuran albumin pada pemeriksaan urin sewaktu: MAU 20-200µg/menit
3. Pengukuran rasio albumin/kreatinin urin pada pengumpulan urin sewaktu: ada beberapa pendapat tentang MAU yaitu antara 30-300 mg/g kreatinin (Ritz, 1999; Immanuel, 2006) atau 3- 30 mg/mmol (Belchetz dan Hammond, 2003; Aakre *et al*, 2008).

Menurut Tobe *et al* (2002), definisi MAU dan diabetik nefropati menurut dipstik urin, albumin urin/hari, dan rasio albumin/kreatinin urin dapat dilihat pada Tabel 2.2. *Canadian Diabetes Association* merekomendasikan pengukuran rasio albumin/ kreatinin urin menggunakan urin sewaktu. Walaupun pemeriksaan MAU dalam urin 24 jam masih merupakan *gold standard* namun pengukuran rasio albumin/kreatinin urin sewaktu lebih disukai dan ternyata mempunyai korelasi yang baik dengan pemeriksaan ekskresi urin 24 jam (Tobe *et al*, 2002).

Tabel 2.2 Definisi MAU dan Diabetik Nefropati Menurut Dipstik Urin, Albumin Urin/hari, dan Rasio Albumin/kreatinin Urin

	Dipstik Protein urin	Albumin urin/hari (mg/hr)	Rasio albumin:kreatinin (mg/mmol)
Normal	Negatif	< 30	Wanita: < 2,0 Pria : <2,8
MAU	Negatif	30-300	Wanita: 2,0-20 Pria : 2,8-28
Nefropati diabetik	positif	> 300	Wanita: > 20 Pria : > 28

(Tobe *et al*, 2002).

2.4.2 Patofisiologi Mikroalbuminuria

Albumin merupakan protein bermuatan negatif dengan berat molekul 67 000 Dalton, hampir seluruhnya dihambat oleh dinding sel glomerulus. Albumin

mengalami filtrasi di membran glomerulus melalui seleksi perbedaan berat molekul dan muatan listrik. Mikroalbuminuria terjadi karena molekul albumin dapat melewati membran glomerulus akibat peningkatan permeabilitas dinding kapiler glomerulus, peningkatan tekanan intraglomerulus, atau keduanya. Hiperglikemia dan hiperinsulinemia yang terjadi pada DM tipe 2 serta peningkatan tekanan darah merupakan faktor risiko utama terjadinya MAU karena ketiganya dapat meningkatkan tekanan intraglomerulus. Hiperglikemia dapat merubah selektivitas perbedaan muatan listrik pada dinding kapiler glomerulus dan menyebabkan peningkatan permeabilitas. Jika filtrasi albumin meningkat pada glomerulus melebihi kemampuan reabsorpsi tubulus maka akan terjadi peningkatan ekskresi albumin dalam urin (Lane, 2004; Immanuel, 2006).

2.4.3 Mikroalbuminuria pada DM Tipe 2

Pada awal tahun 1980 MAU dapat memprediksi perkembangan nefropati pada penderita DM tipe 2 yang berakhir dengan gagal ginjal (Stehouwer *et al*, 1998). Beberapa penelitian menunjukkan penderita DM tipe 2 yang baru dikenal umumnya telah menderita diabetes selama kurang lebih 4-7 tahun sebelum diagnosis ditegakkan. Pada saat didiagnosis diantara penderita DM tipe 2 tersebut 25% mengalami retinopati, 9% neuropati, dan 8% nefropati (Votey, 2009).

Mikroalbuminuria merupakan prediktor risiko penyakit vaskular pada DM tipe 2. Insidensi komplikasi vaskular meningkat 2-5 kali lipat pada penderita dengan MAU (Belchetz dan Hammond, 2003). Mikroalbuminuria adalah penanda permeabilitas vaskular yang abnormal dan kejadian aterosklerosis. Mekanisme patofisiologi antara hubungan MAU dan penyakit kardiovaskular masih belum jelas akan tetapi ada beberapa hipotesis diantaranya peningkatan permeabilitas di

glomerulus akan menyebabkan albumin masuk ke dalam urin. Mikroalbuminuria merupakan manifestasi proses di glomerulus yang mencerminkan adanya disfungsi endotel yang luas di pembuluh darah dan peningkatan permeabilitasnya yang terjadi secara umum di seluruh tubuh tetapi belum terdeteksi secara klinis (Immanuel, 2006; Bhowmick *et al*, 2007).

2. 5 Mekanisme Hemostasis

Sistem yang memelihara hemostasis meliputi: (1) lumen pembuluh darah efek vasokonstriksi, (2) trombosit, (3) faktor koagulasi, dan (4) proses fibrinolisis (Escandon dan Cipolla, 2001). Bila terjadi luka pada pembuluh darah, segera terjadi vasokonstriksi sehingga aliran darah ke pembuluh darah yang terluka berkurang. Kemudian trombosit akan berkumpul dan melekat ke tempat luka membentuk sumbat trombosit. Faktor koagulasi darah yang diaktifkan akan membentuk benang fibrin yang akan membuat sumbat trombosit menjadi nonpermeabel sehingga perdarahan dapat dihentikan (Aulia, 2007).

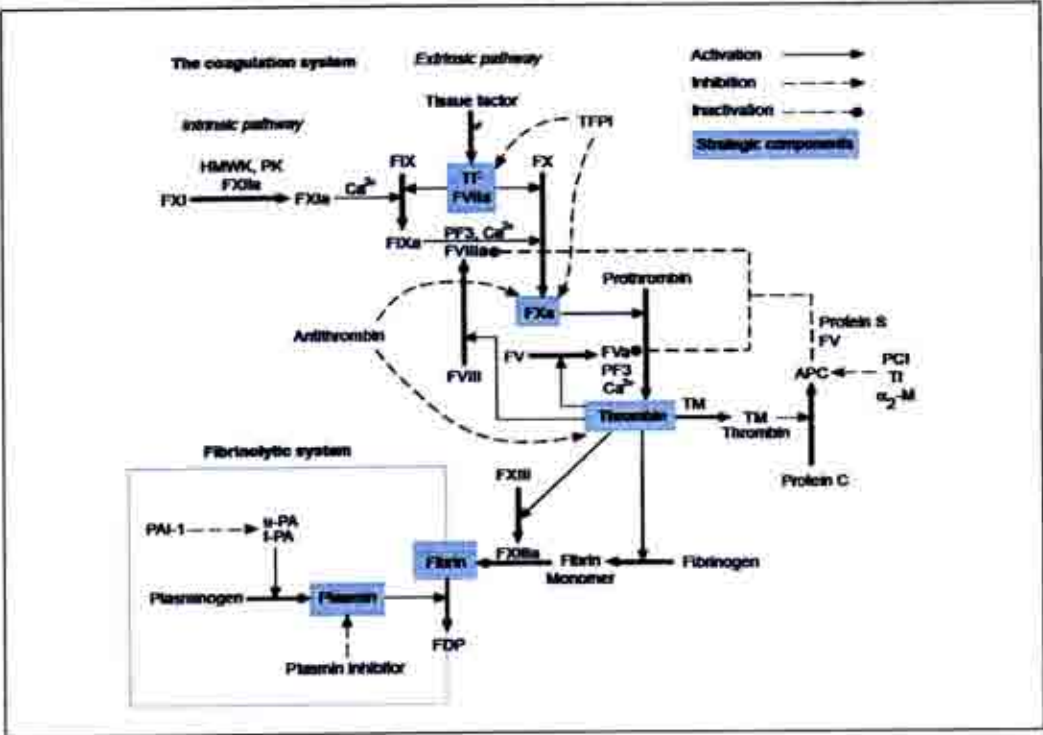
Pembentukan koagulasi dijaga oleh berbagai mekanisme agar tidak menimbulkan trombosis seperti antikoagulan, inhibitor, dan enzim fibrinolitik. Endotel vaskular yang terganggu adalah stimulus yang kuat untuk pembentukan koagulasi (Hillman *et al*, 2005; Hofbrand *et al*, 2005).

2.5.1 Sistem Koagulasi Darah

Tiap faktor koagulasi darah diubah menjadi bentuk aktif oleh faktor sebelumnya dalam rangkaian enzimatik. Jalur koagulasi ada 2 yaitu jalur intrinsik yang dicetuskan oleh aktivasi kontak dan melibatkan FXII, FXI, FIX, FVIII, *high molecular weight kininogen* (HMWK), prekalkrein, *platelet factor 3* (PF3), dan ion kalsium serta jalur ekstrinsik yang dicetuskan oleh tromboplastin jaringan dan

melibatkan FVII dan ion kalsium (Gambar 2.4). Kedua jalur ini akan bergabung menjadi jalur bersama yang melibatkan FX, FV, PF3, protrombin, dan fibrinogen. FXa bersama FV, PF3, dan ion kalsium membentuk *prothrombin converting complex* yang akan mengubah protrombin menjadi trombin. Fungsi trombin antara lain mengubah fibrinogen menjadi fibrin, mengubah FXIII menjadi XIIIa, serta meningkatkan aktivitas FV dan FVIII (Monograph, 1995; Turgeon, 2005; Oesman dan Setiabudy, 2007).

Untuk mencegah aktivasi dan pemakaian faktor koagulasi secara berlebihan perlu ada mekanisme kontrol yaitu melalui aliran darah (mengencerkan faktor koagulasi dari tempat luka), kliren (sel retikuloendotelial di hati), dan inhibitor alamiah (antitrombin III, *alfa 2 makroglobulin*, *alfa 1 antitripsin*, dan PC) (Setiabudi dan Widjajahakim, 2007).

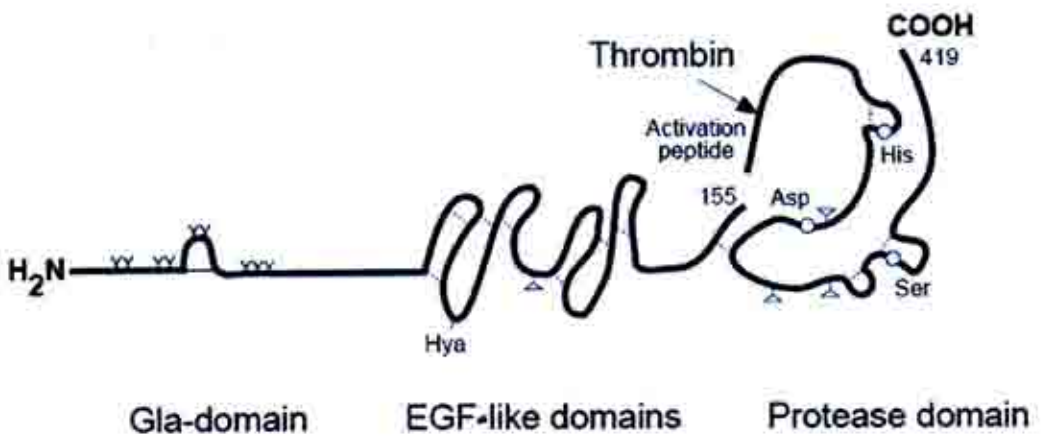


Gambar 2.4 Sistem Koagulasi (Monograph, 1995).

2.5.2 Protein C

2.5.2.1 Struktur Protein C

Jalur PC terdiri dari PC, TM, dan protein S (PS) (Setiabudi dan Widjajahakim, 2007). Protein C berperan sebagai antikoagulan dalam mengatur koagulasi darah (Camire dan Pollak, 2006). Protein C adalah suatu prekursor (zimogen) dari protease serin dengan berat molekul 62 000 kD, disintesis dihati dan termasuk dalam *vitamin K dependent protein* karena memerlukan vitamin K untuk proses karboksilasi (Saito, 1996; Ehsan dan Plumbley, 2002).



Gambar 2.5 Struktur Domain Protein C Manusia (Monograph, 1995)

Y = Gla-residues, Hya = erythro-b-hydroxyaspartic acid,

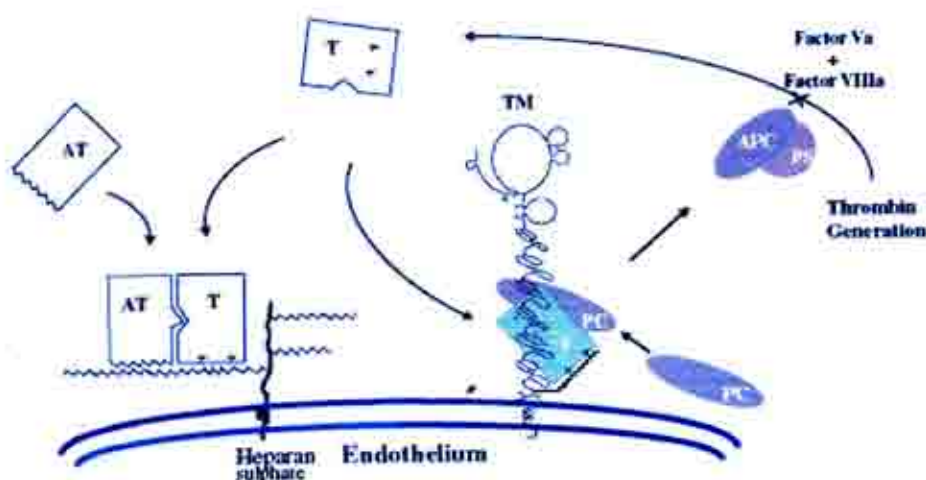
O = catalytic residues, Δ = N-linked glycosylation sites

Protein C manusia dikode oleh gen pada kromosom 2q13-q14 sebesar 11 kb dan memiliki 9 ekson (Camire dan Pollak, 2006). Struktur PC terdiri dari rantai berat dan rantai ringan yang dihubungkan dengan ikatan disulfida (Gambar, 2.5) (Saito, 1996; Ehsan dan Plumbley, 2002). Pada rantai ringan terdapat gugus karboksi glutamat (Gla) yang berfungsi untuk melekat pada permukaan fosfolipid dengan perantaraan ion kalsium. Selain Gla ada 2 *EGF-like domain* yang berinteraksi dengan PS dan bersama dengan gugus Gla, penting untuk mengikat

PC pada kompleks trombin-TM. Pada rantai berat terdapat asam amino serin, histidin, dan asam aspartik yang merupakan bagian yang aktif (Monograph, 1995; Setiabudy dan Widjajahakim, 2007).

2.5.2.2 Peran Protein C

Di dalam darah PC beredar dalam bentuk belum aktif dan kadarnya berkisar 3-5 $\mu\text{g/mL}$ dengan waktu paruh 6-8 jam. Protein C akan diaktifkan menjadi APC oleh trombin (produk jalur koagulasi) dengan bantuan glikoprotein transmembran yakni TM yang ada di sel endotel (Gambar 2.6).



Gambar 2.6 Jalur Antikoagulan Alamiah (Shlebak, 2007).

AT: antitrombin, T: trombin, TM: trombomodulin, PC: protein C, PS: protein S.

Protein C teraktivasi merupakan *protease serin* yang berfungsi memecah FVa dan FVIIIa sehingga mencegah pembentukan trombin lebih lanjut serta mengganggu aktivitas proinflamasi yang diinduksi trombin (seperti aktivasi trombosit, kemotaksis yang diinduksi sitokin, dan *upregulation* molekul adesi leukosit). Untuk memecah FVa dan FVIIIa, Protein C teraktivasi memerlukan kofaktor PS. Selain menginaktivkan kedua faktor ini, Protein C teraktivasi juga meningkatkan

aktivitas fibrinolisis dengan cara menetralkan PAI-1, serta mengurangi inflamasi dengan menghambat ekspresi monosit/makrofag dari *tissue factor*; menghambat sekresi sitokin proinflamasi (*tumor necrosis factor* (TNF- α)), dan faktor pertumbuhan (*platelet derived growth factor*) (Stevens, 1997; Wouwer *et al*; 2004; Hoffbrand 2005; Setiabudy dan Widjajahakim, 2007; Zaki, 2008).

2.5.2.3 Pemeriksaan Laboratorium APC

Protein C diukur menggunakan tes fungsional (menilai aktivitas biologis PC) atau tes imunologis (memeriksa jumlah PC plasma total). Untuk skrining rutin pada defisiensi PC hereditas, sebaiknya dipakai tes aktivitas karena dapat mendeteksi kadar aktivitas yang rendah pada penurunan PC (tipe I) dan juga PC yang mengalami disfungsi (tipe II). Tes aktivitas menggunakan metode aktivator dan metode deteksi. Metode yang dianjurkan dibagi atas 3 langkah: (1) pemisahan PC dari plasma, (2) aktivasi PC, dan (3) pengukuran APC menggunakan substrat sintetis atau *clotting-based assay* (Monograph, 1995).

Pemisahan Protein C

Pada generasi pertama tes PC fungsional, aktivasi PC dapat dicapai dengan trombin saja atau dengan kompleks trombin-TM. Reagen ini memerlukan langkah adsorpsi sebelum aktivasi PC untuk pemisahan PC dari inhibitor dan zat lain yang mempengaruhinya. Ikatan permukaan PC diperoleh dengan menggunakan teknik imunoadsorpsi atau *insoluble salt* (Barium sitrat atau aluminium hidroksida). Trombin yang berlebih dihilangkan dengan inhibitor trombin spesifik sebelum aktivitas PC dihitung. Metode ini spesifik untuk PC tetapi tidak cocok untuk penggunaan klinis (Monograph, 1995).

Aktivator Bisa Ular

Pemeriksaan PC dipermudah dengan menggunakan aktivator PC spesifik dengan nama dagang Protac® (*American Diagnostica*). Aktivator adalah protease serin yang dipisahkan dan dimurnikan dari bisa ular *southern copperhead*. Aktivator ini mengaktifkan PC manusia melalui mekanisme yang sama dengan trombin tanpa dipengaruhi oleh faktor koagulasi lain. Reaksi aktivasi ini dapat efektif tanpa ion kalsium dan kondisi kekuatan ion yang rendah. Aktivator bisa ular tidak menghidrolisis substrat kromogenik PC. Aktivator yang cepat ini dapat mengurangi penggunaan inhibitor PC dan kebutuhan pemisahan PC pada langkah adsorpsi (Monograph, 1995).

Pengukuran APC

Protein C teraktivasi dapat diukur menggunakan teknik substrat kromogenik dan *clotting*. Substrat kromogenik adalah peptida sintesis berukuran kecil yang menyerupai substrat alamiah. Peptida mengandung urutan 2-4 asam amino dengan kromogen dan *4-nitroaniline* (pNA) yang terikat di ujungnya. Ketika substrat kromogenik diinkubasi dengan enzim proteolitik seperti APC, substrat akan terpotong dan pNA (warna kuning) dilepas. Pelepasan ini diukur pada λ 405 nm. Metode yang dipakai adalah metode kinetik atau metode *end point* (reaksi yang dihentikan dengan asam sitrit atau asam asetat). Hasil sinyal fotometer sama dengan aktivitas enzim. Substrat yang digunakan dalam tes PC kromogenik harus spesifik untuk enzim ini dan tidak boleh ada aktivator atau kontaminan yang memecah substrat. Salah satu substrat kromogenik yang sesuai untuk tes aktivasi PC adalah Protac®. Substrat memiliki sensitivitas yang rendah dibandingkan dengan aktivator bisa ular (Monograph, 1995; Laffan dan Manning,

2001). Tes *clotting* untuk pemeriksaan PC menggunakan kemampuan APC untuk memperpanjang waktu pembekuan. Metode yang banyak digunakan adalah *activated partial thromboplastin time (APTT)*. Tes APTT untuk pemeriksaan PC mempunyai presisi yang kurang dan variabilitas yang lebih besar daripada tes PC kromogenik (Monograph, 1995).

2.5.3 Sistem Hemostasis pada DM Tipe 2

Aktivitas sistem koagulasi berperan penting dalam patogenesis penyakit vaskular aterotrombotik di pembuluh darah besar maupun kecil. Perkembangan trombus dalam pembuluh darah merupakan akibat dari terganggunya keseimbangan antara faktor prokoagulan dan antikoagulan. Ketidakseimbangan ini dapat muncul akibat stimulus trombogenesis, defek antikoagulan alamiah, atau defek sistem fibrinolisis. Beberapa penelitian pada penderita DM menunjukkan tingginya konsentrasi protein prokoagulan dan rendahnya konsentrasi faktor antikoagulan. Peningkatan aktivitas prokoagulan berperan dalam meningkatkan insidensi aterosklerosis dini, morbiditas, dan mortalitas pasien DM (Veglio *et al*, 1995; Gabazza *et al*, 1996; Hori *et al*, 2002; Aslan *et al*, 2005). Aslan *et al*, ((2005) menyatakan penyakit vaskular dan rendahnya antikoagulan alamiah PC secara bersama menyebabkan trombogenesis pada penderita DM tipe 2.

BAB 3

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

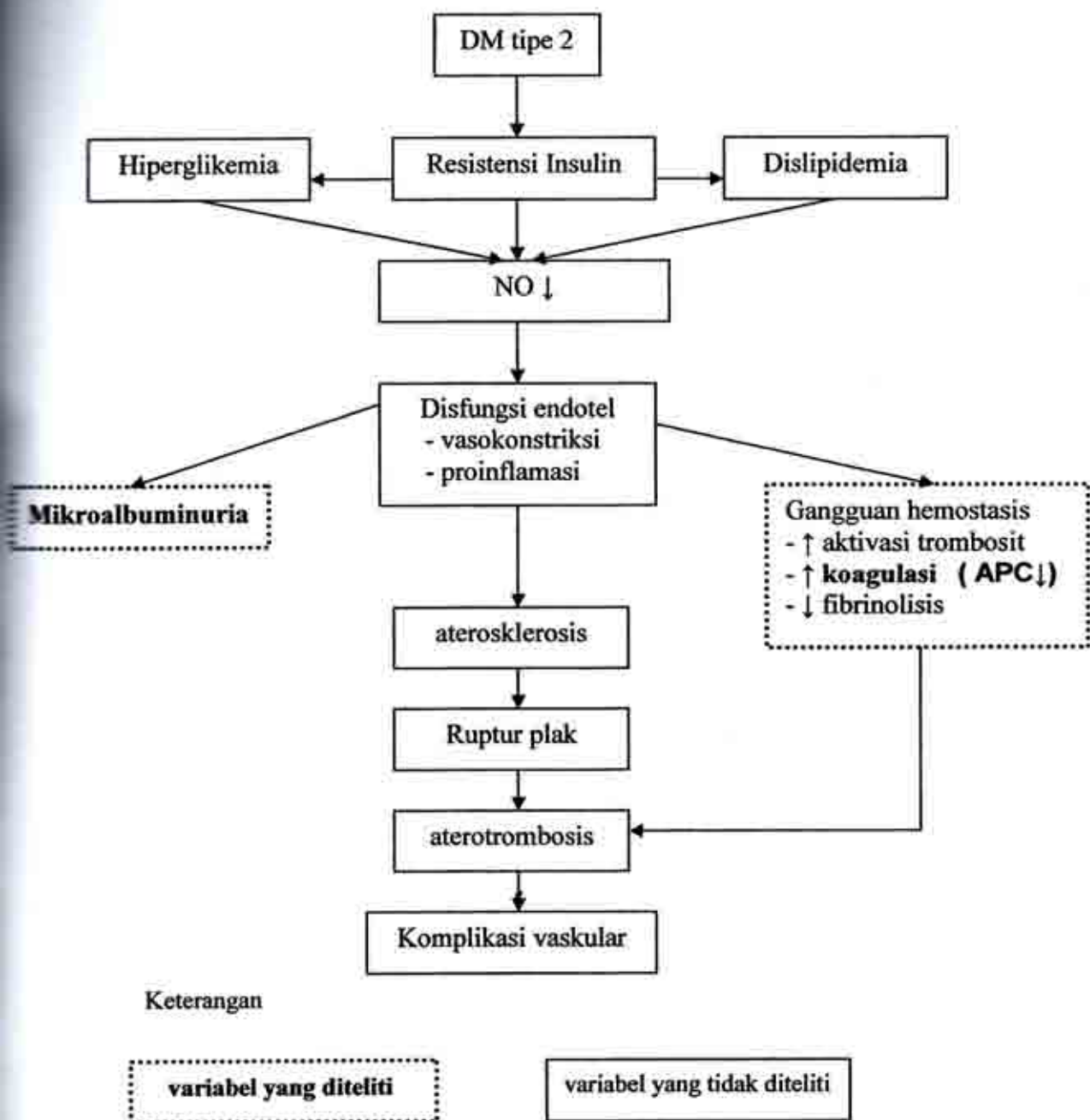
3.1 Kerangka Konseptual

Diabetes melitus tipe 2 merupakan sekelompok kelainan yang ditandai dengan resistensi insulin, sekresi insulin terganggu, dan peningkatan produksi glukosa yang menyebabkan hiperglikemia. Resistensi insulin dapat menimbulkan hiperglikemia dan dislipidemia. Hiperglikemia yang terjadi secara kronis dan berulang akan memicu stres oksidatif sehingga menurunkan NO.

Penurunan NO akan menimbulkan disfungsi endotel. Pada disfungsi endotel terjadi vasokonstriksi, proinflamasi, dan gangguan hemostasis berupa peningkatan aktivasi trombosit, peningkatan koagulasi, dan penurunan fibrinolisis. Salah satu penyebab koagulasi adalah defek antikoagulan alamiah APC. Pada DM tipe 2 dengan disfungsi endotel diperkirakan terjadi penurunan APC.

Disfungsi endotel merupakan kejadian awal aterosklerosis. Salah satu penanda dini disfungsi endotel adalah MAU. Mikroalbuminuria merupakan prediktor risiko penyakit vaskular pada DM tipe 2 kemungkinan karena menggambarkan disfungsi endotel yang luas. Insidensi komplikasi vaskular meningkat 2-5 kali lipat pada penderita DM tipe 2 dengan MAU.

Kejadian aterosklerosis disertai hemostasis yang terganggu (APC menurun) akan mempermudah terjadinya trombosis yang dapat menimbulkan komplikasi vaskular pada penderita DM tipe 2.



Gambar 3.1 Kerangka Konsep Penelitian

3.2 Hipotesis Penelitian

Ho: Tidak terdapat perbedaan kadar APC pada penderita DM tipe 2 dengan normoalbuminuria dan mikroalbuminuria.

Ha: Terdapat perbedaan kadar APC pada penderita DM tipe 2 dengan normoalbuminuria dan mikroalbuminuria.

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Disain Penelitian

Disain penelitian adalah observational analitik dengan rancangan potong lintang.

4.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Patologi Klinik RS. Dr. M. Djamil dan Poliklinik Khusus Metabolik-Endokrin Bagian Penyakit Dalam RS. Dr. M. Djamil Padang, terhitung mulai Desember 2008 sampai November 2009.

4.3 Populasi dan Sampel

Populasi adalah seluruh penderita DM tipe 2 yang berobat ke Poliklinik Khusus Metabolik-Endokrin. Sampel penelitian adalah penderita DM tipe 2 yang menjalani kontrol rutin, memenuhi kriteria inklusi yang diperoleh dari anamnesis dan rekam medik, serta bersedia ikut penelitian yang dinyatakan secara tertulis dalam *inform consent*. Sampel diambil secara *consecutive sampling* sampai jumlah terpenuhi.

4.3.1 Besar Sampel

Besar sampel dari 2 kelompok independen dengan uji hipotesis ditentukan dengan menggunakan rumus rerata dua populasi (Sastroasmoro dkk, 1995):

$$n1 = n2 = 2[(Z\alpha + Z\beta) S : X_1 - X_2]^2$$

keterangan:

$n1, n2$: Besar sampel

$Z\alpha$: tingkat kemaknaan = 1,96

$Z\beta$: power = 0,84

S : Simpangan baku menggunakan hasil penelitian Aslan *et al*
pada kelompok normoalbuminuria (44)

$X_1 - X_2$: Perbedaan klinis yang diinginkan = 40

Dengan rumus tersebut didapat besar sampel:

$$n1 = n2 = 2[(1,96 + 0,84) 44 : 40]^2 = 18,9$$

digenapkan menjadi 25 sampel untuk masing-masing kelompok.

4.3.2 Variabel Penelitian

4.3.2.1 Klasifikasi Variabel

- Variabel independen: - penderita DM tipe 2 dengan normoalbuminuria
- penderita DM tipe 2 dengan mikroalbuminuria
- Variabel dependen: kadar APC, mikroalbuminuria

4.3.2.2 Definisi Operasional Variabel

1. Protein C teraktivasi (APC) adalah protein C aktif yang terbentuk setelah terlepas dari kompleks trombin-TM. Normal: 70-140% (Dade Behring, 1999)
2. Penderita DM tipe 2 adalah penderita yang sudah terdiagnosis DM tipe 2 oleh dokter Poliklinik Penyakit Dalam RS. Dr. M. Djamil Padang tanpa memandang kadar glukosa darahnya.
3. Mikroalbuminuria adalah rasio albumin/kreatinin urin sewaktu yang kadarnya: wanita: 2,0-20 mg/mmol dan pria: 2,8-28 mg/mmol (Tobe *et al*, 2002)
4. Normoalbuminuria adalah rasio albumin/kreatinin urin $< 2,0$ mg/mmol (wanita) dan $< 2,8$ mg/mmol (pria) (Tobe *et al*, 2002)

4.3.3 Kriteria Inklusi

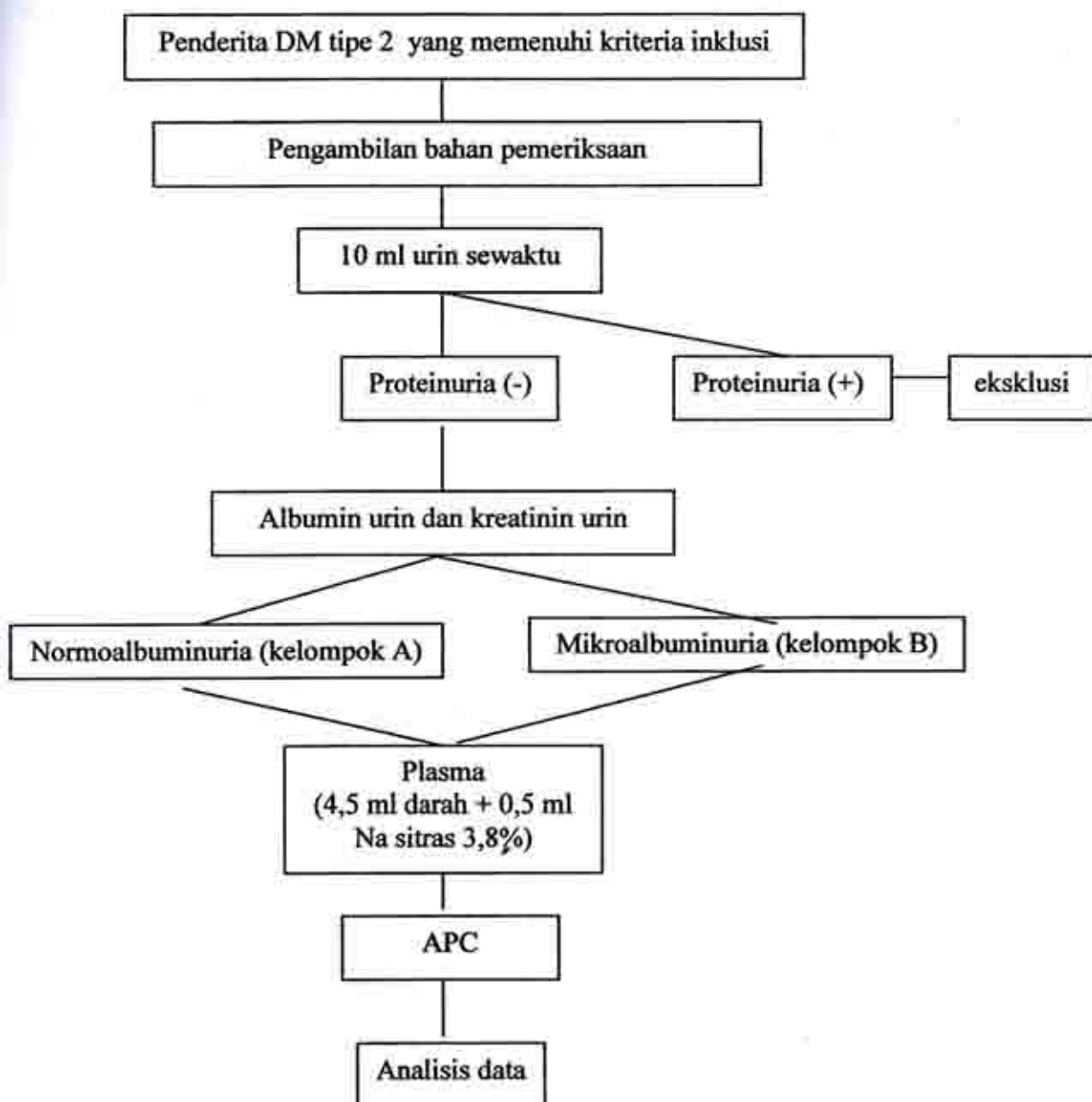
1. Penderita DM tipe 2 berusia 35-55 tahun

4.3.4 Kriteria Eksklusi

Penderita DM tipe 2 dengan:

- Penyakit hati kronis, sirosis dan hepatoma
- Proteinuria (+)
- Infeksi saluran kemih
- Gagal ginjal
- Gagal jantung
- Pengguna alat kontrasepsi oral
- Pemakai antikoagulan oral
- Hamil
- Demam
- Ada riwayat perdarahan yang memanjang
- Keganasan
- Riwayat infark miokard, strok

4.4 Alur Penelitian



Gambar 4.1 Alur Penelitian

4.5 Bahan Penelitian

- Darah vena sebanyak 4,5 ml dengan antikoagulan natrium sitras 3,8% untuk mendapatkan plasma
- Urin sewaktu 10 ml

4.6 Cara Kerja

4.6.1 Pemeriksaan Pendahuluan

Kontrol kualitas dilakukan terhadap albumin urin, kreatinin urin, dan APC sebelum melakukan pemeriksaan sampel. Kontrol albumin urin dan kreatinin urin dengan bahan kontrol Precinorm PUC serta APC dengan bahan kontrol plasma normal.

4.6.2 Pemeriksaan Mikroalbuminuria

- Prinsip Pemeriksaan Albumin Urin: Imunoturbidimetri (Roche, 2003a).

Albumin manusia akan membentuk presipitat dengan antiserum spesifik yang diperiksa secara turbidimetrik pada λ 340 nm.

- Prinsip Pemeriksaan Kreatinin Urin: Kolorimetrik enzimatik (Roche, 2003b).

Metode enzimatik berdasarkan penentuan hidrogen peroksid setelah kreatinin mengalami konversi dengan bantuan enzim *kreatininase*, *kreatinase*, dan *sarcosine oxidase*. Hidrogen peroksid yang bebas bereaksi dengan *4-aminophenazone* dan *2,4,6-triiodo-3-hydroxybenzoic acid* membentuk *quinone imine chromogen* + H_2O + HI. Intensitas warna dari *quinone imine chromogen* yang terbentuk sama dengan konsentrasi kreatinin dan ditentukan dengan absorbansi pada λ 552 nm.

A. Praanalitik

Persiapan penderita:

Tidak ada persiapan khusus

Persiapan spesimen:

- Spesimen berupa urin sewaktu yang segar

- Urin disentrifus pada 1500 rpm selama 5 menit, diambil supernatannya dan disimpan pada suhu 4 °C dan diperiksa paling lambat dalam 6 hari
- Sebelum dianalisis urin harus dibiarkan mencair pada suhu kamar.

Reagen:

- Albumin Turbidimetrik (ALB-T) terdiri dari:

R1: anti-albumin T antiserum (kelinci) spesifik

R2: Reagen untuk antigen *excess check*.

- Creatinine plus ver.2 (CREP2) terdiri dari:

R1: Buffer, enzim, dan HTBI

R2: SR buffer, enzim, dan 4-aminophenazone

Alat: alat analisis kimia otomatis Integra 400 dari Roche.

B. Analitik

Cara kerja:

1. Urin sebanyak 0,5 ml dimasukkan ke dalam kuvet
2. Kuvet diletakkan dalam alat analisis kimia otomatis
3. Kadar albumin urin dan kreatinin urin diperiksa
4. Rasio albumin/kreatinin urin dihitung.

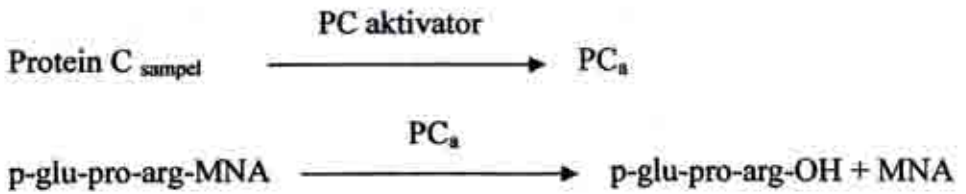
Kadar rujukan rasio albumin/kreatinin urin (Tobe *et al*, 2002):

Normal: Wanita < 2,0 mg/mmol; pria < 2,8 mg/mmol

Mikroalbuminuria: wanita 2,0-20 mg/mmol; pria 2,8-28 mg/mmol

4.6.3 Protein C Teraktivasi (Dade Behring, 1999)

Prinsip: Protein C dari sampel penderita diaktifkan oleh aktivator racun ular spesifik. Protein C_a diperiksa secara kinetik dengan mengukur peningkatan absorbansi pada λ 405 nm. Pemeriksaan berdasarkan reaksi berikut:



A. Praanalitik

Persiapan Penderita:

Tidak ada persiapan khusus

Persiapan Spesimen:

- Spesimen berupa darah vena menggunakan antikoagulan Na sitras 3,8% dengan perbandingan 9:1. Darah disentrifus segera pada 3.000 rpm selama 10 menit dan diambil supernatannya berupa plasma dipindahkan kedalam tabung plastik.
- Sampel plasma disimpan pada suhu -20°C maksimal 1 bulan

Reagen:

- *Protein C activator*
- *Control plasma N*
- *Reagen substrat*
- *Hepes buffer solution*

Alat: Koagulometer otomatis CA 500 dari Sysmex

B. Analitik

Cara kerja:

1. Plasma yang dibekukan pada suhu -20°C dibiarkan mencair selama 10 menit pada suhu 37°C dan dikerjakan dalam 8 jam
2. Plasma dimasukkan ke dalam kuvet yang tersedia
3. Kuvet diletakkan dalam alat otomatis

4. Kadar APC diperiksa

Nilai rujukan APC: 70-140%

4.7 Analisis Data

Analisis Univariat

Bertujuan menggambarkan distribusi karakteristik subyek penelitian.

Analisis Bivariat

Bertujuan melihat perbandingan kadar APC pada penderita DM tipe 2 dengan dan tanpa mikroalbuminuria.

Data diolah menggunakan program komputer SPSS 15. Data penelitian ditampilkan dalam bentuk tabel dan diagram. Dilakukan pengujian data dengan metode statistik uji parametrik uji t tidak berpasangan. Hasil uji dianggap bermakna bila $p < 0,05$.

BAB 5

HASIL PENELITIAN

5.1 Uji Ketelitian

Uji ketelitian menggunakan bahan kontrol Precinorm PUC untuk pemeriksaan albumin urin dan kreatinin urin didapatkan *coefficient of variation* (CV) *within run* nya berturut-turut adalah 1,59 % dan 1,06 %. Uji ketelitian menggunakan bahan kontrol plasma normal untuk pemeriksaan APC didapatkan CV *within run* adalah 2,76% (Tabel 5.1).

Tabel 5.1 Hasil Uji Ketelitian *Within Run* Pemeriksaan Albumin Urin, Kreatinin Urin, dan APC

No	Albumin Urin (mg/l)	Kreatinin (mmol/l)	APC (%)
1	28.84	7.6	84.0
2	27.48	7.6	86.6
3	28.47	7.5	86.8
4	28.10	7.5	83.1
5	28.26	7.6	81.6
6	28.22	7.4	81.6
Mean	28.23	7.53	83.95
SD	0.45	0.08	2.32
CV (%)	1.59	1.06	2.76

Uji ketelitian terhadap pemeriksaan albumin urin dan kreatinin urin menggunakan bahan kontrol Precinorm PUC didapatkan CV *beetwen day* berturut-turut adalah 2,26% dan 0,59%. Uji ketelitian terhadap pemeriksaan APC menggunakan bahan kontrol plasma normal didapatkan CV *between day* nya adalah 2,71% (Tabel 5.2).

Tabel 5.2 Hasil Uji Ketelitian dan Ketepatan *Between Day* Pemeriksaan Albumin Urin, Kreatinin Urin, dan APC

No	Albumin Urin (mg/l)	Kreatinin (mmol/l)	APC (%)
1	28,38	7,6	101,2
2	27,49	7,5	99,2
3	28,78	7,6	95,9
4	27,72	7,6	
5	28,59	7,6	
Mean	28,15	7,58	98,77
SD	0,64	0,04	2,68
CV (%)	2,26	0,59	2,71

5.2 Karakteristik Subyek Penelitian

Telah dilakukan penelitian perbandingan kadar APC pada penderita DM tipe 2 dengan normoalbuminuria dan mikroalbuminuria. Subyek penelitian berjumlah 50 orang penderita DM tipe 2 yang memenuhi kriteria dan dibagi atas 2 kelompok yakni kelompok A (normoalbuminuria) dan kelompok B (MAU) masing-masing 25 orang.

Karakteristik subyek penelitian* dapat dilihat pada Tabel 5.3. Usia rerata pada kelompok A adalah $49,32 \pm 5,96$ tahun sedangkan pada kelompok B adalah $47,64 \pm 5,24$ tahun. Rerata usia pada kedua kelompok tersebut secara statistik tidak terdapat perbedaan yang bermakna ($p>0,05$). Pada kelompok A didapatkan pasien pria sebanyak 8 orang dan pasien wanita sebanyak 17 orang sedangkan pada kelompok B didapatkan pasien pria sebanyak 6 orang dan pasien wanita sebanyak 19 orang.

Tabel 5.3 Karakteristik Subyek Penelitian

Variabel	Total subyek	Kelompok A	Kelompok B	p
Usia (tahun)	48,48 ± 5,24*	49,32 ± 5,96*	47,64 ± 5,24*	>0,05
Jenis kelamin				
- Pria (orang)	14	8	6	
- Wanita (orang)	36	17	19	
Indeks masa tubuh (m ² /kg)	24,63 ± 3,43*	25,55 ± 3,49*	23,71 ± 3,19*	>0,05
Lama menderita DM (tahun)	4,86 ± 4,44*	4,13 ± 4,06*	5,59 ± 4,75*	>0,05
* Rerata ± SD				

Rerata IMT pada kelompok A sebesar 25,55 ± 3,49 m²/kg dan kelompok B sebesar 23,71 ± 3,19 m²/kg. Rerata IMT pada kedua kelompok tersebut secara statistik tidak terdapat perbedaan yang bermakna (p>0,05).

Lama menderita DM pada kelompok A adalah 4,13 ± 4,06 tahun sedangkan pada kelompok B adalah 5,59 ± 4,75 tahun. Lama menderita DM pada kedua kelompok tersebut secara statistik tidak terdapat perbedaan yang bermakna (p>0,05).

5.3 Kadar APC pada DM Tipe 2 dengan Normoalbuminuria

Rerata kadar APC kelompok A adalah 118,45±14,76% (Tabel 5.4).

Tabel 5.4 Kadar Rerata APC pada DM Tipe 2 Kelompok A, Kelompok B, dan pada Orang Sehat

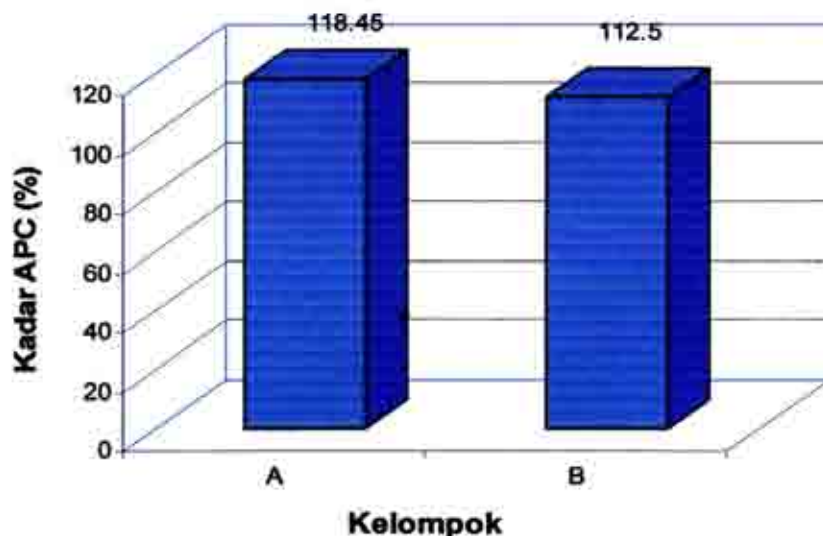
	Kelompok A Rerata ± SD	Kelompok B Rerata ± SD	p
Kadar APC pada DM tipe 2 (%)	118,45±14,76	112,50 ±17,66	>0,05
Kadar APC pada orang sehat (%)	98,42 ±18,19		<0,05

5.4 Kadar APC pada DM Tipe 2 dengan Mikroalbuminuria

Rerata kadar APC kelompok B adalah $112,50 \pm 17,66\%$ (Tabel 5.4).

5.5 Perbandingan Kadar APC antara Penderita DM Tipe 2 dengan Normoalbuminuria dan Mikroalbuminuria

Hasil pemeriksaan rerata kadar APC pada kelompok A lebih tinggi daripada kelompok B tetapi tidak ditemukan perbedaan yang bermakna secara statistik ($p > 0,05$). Grafik kadar rerata APC pada kedua kelompok tersebut dapat dilihat pada Gambar 5.1. Hasil pemeriksaan rerata kadar APC pada kontrol sehat ($98,42 \pm 18,19\%$) lebih rendah dari kelompok A dan kelompok B dan ditemukan perbedaan yang bermakna secara statistik ($p < 0,05$).



Gambar 5.1 Kadar rerata APC pada kelompok A dan kelompok B

BAB 6

PEMBAHASAN

6.1 Uji Ketelitian

Pada uji ketelitian *within run* untuk pemeriksaan albumin urin, kreatinin urin, dan APC diperoleh hasil CV *within run* berturut-turut adalah 1,59, 1,06%, dan 2,76%. Hal ini menunjukkan untuk pemeriksaan albumin urin, kreatinin urin, dan APC mempunyai ketelitian yang baik dan masih dalam batas rentang nilai yang diizinkan berturut-turut 1,8 %, 1,8% (Roche, 2003a; Roche, 2003b), dan 10% (Gabazza *et al*, 1996).

Uji ketelitian *between day* untuk pemeriksaan albumin urin, kreatinin urin, dan APC diperoleh hasil CV *between day* berturut-turut adalah 2,26, 0,59%, dan 2,71%. Hal ini menunjukkan pemeriksaan albumin urin, kreatinin urin, dan APC mempunyai ketelitian yang baik dan masih dalam batas rentang nilai yang diizinkan masing-masing 4,3%, 2,0 % (Roche, 2003a; Roche, 2003b), dan 10% (Gabazza *et al*, 1996).

6.2 Karakteristik Subyek Penelitian

Subyek penelitian berjumlah 50 orang penderita DM tipe 2 yang memenuhi kriteria penelitian dengan rentang usia termuda 35 tahun dan usia tertua 55 tahun dan dibagi atas 2 kelompok yaitu kelompok A (normoalbuminuria) dan kelompok B (MAU) masing-masing 25 orang.

Rerata usia pada kelompok A ($49,32 \pm 5,96$ tahun) lebih tinggi dari kelompok B ($47,64 \pm 5,24$ tahun). Rerata usia pada kedua kelompok secara statistik tidak terdapat perbedaan yang bermakna ($p > 0,05$). Rerata usia kedua kelompok pada hasil penelitian ini lebih rendah dari yang diperoleh Gabazza *et al*

(1996) yaitu $58,2 \pm 2,1$ dan $59,1 \pm 2,1$ tahun untuk masing-masing kelompok. Rerata usia sampel berbeda karena rentang usia subyek penelitian ini (35-55 tahun) lebih rendah dari penelitian Gabazza *et al* (35-77 tahun).

Rerata IMT subyek penelitian ini adalah $24,63 \pm 3,43 \text{ m}^2/\text{kg}$, sedangkan untuk kelompok A sebesar $25,55 \pm 3,49 \text{ m}^2/\text{kg}$ dan $23,71 \pm 3,19 \text{ m}^2/\text{kg}$ untuk kelompok B. Rerata IMT pada kedua kelompok tersebut secara statistik tidak terdapat perbedaan yang bermakna ($p>0,05$). Hasil rerata IMT tiap kelompok hampir sama dengan yang diperoleh Gabazza *et al* yaitu $23,7 \pm 0,6$ dan $22,4 \pm 0,9 \text{ m}^2/\text{kg}$. Rerata IMT pada masing-masing juga hampir sama dengan yang dilaporkan Rikarni (2005) yaitu $24,4 \pm 3,7$ dan $23,4 \pm 3,3 \text{ m}^2/\text{kg}$.

Rerata lama menderita DM pada penelitian ini adalah $4,86 \pm 4,44$ tahun. Lama menderita DM kelompok A ($4,13 \pm 4,06$ tahun) lebih pendek dari kelompok B ($5,59 \pm 4,75$ tahun). Rerata lama DM tiap kelompok ini berbeda dengan yang didapatkan Gabazza *et al* yakni $8,2 \pm 1,4$ tahun dan $12,2 \pm 1,4$ tahun namun pada kelompok B sama-sama lebih lama menderita DM. Perbedaan ini disebabkan rentang usia subyek penelitian ini lebih muda dibanding dengan penelitian Gabazza *et al*, sehingga mempengaruhi rerata lama menderita DM.

Pasien DM tipe 2 dapat asimtomatis dan tidak terdiagnosis selama beberapa tahun. Beberapa penelitian menunjukkan penderita DM tipe 2 yang baru dikenal umumnya telah menderita diabetes selama kurang lebih 4-7 tahun sebelum diagnosis ditegakkan. Pada saat didiagnosis diantara penderita DM tipe 2 tersebut 25% mengalami retinopati, 9% neuropati, dan 8% nefropati (Votey, 2009). Pada kelompok B yang lama DMnya $5,59 \pm 4,75$ tahun sudah terjadi nefropati diabetik karena diperkirakan sudah menderita DM selama 9-12 tahun.

6.3 Kadar APC pada DM tipe 2 dengan Normoalbuminuria

Rerata kadar APC pada kelompok A adalah $118,45 \pm 14,76\%$. Hasil ini lebih tinggi dari kontrol sehat ($98,42 \pm 18,19\%$) dan keduanya terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$).

Rerata APC pada kelompok A hampir sama dengan yang didapatkan Veglio *et al* ($109,3 \pm 27,6\%$) namun lebih rendah dibanding dengan yang didapatkan Gabazza *et al* ($134,2 \pm 6,3\%$) dan Aslan *et al* ($141,4 \pm 44,24\%$). Hasil yang didapat penelitian ini dan ketiga peneliti tersebut hampir sama karena jumlah sampel yang diteliti sedikit.

6.4 Kadar APC pada DM Tipe 2 dengan Mikroalbuminuria

Pada kelompok B rerata kadar APC adalah $112,50 \pm 17,66\%$. Hasil ini lebih tinggi dari kontrol sehat ($98,42 \pm 18,19\%$) dan keduanya terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$).

Rerata APC pada kelompok B hampir sama dengan yang didapatkan Veglio *et al* ($106,9 \pm 25,2\%$) namun lebih rendah dibanding dengan yang didapatkan Gabazza *et al* ($126,9 \pm 7,2\%$) dan Aslan *et al* ($131,5 \pm 57,22\%$). Hasil yang didapat penelitian ini dan ketiga peneliti tersebut hampir sama karena jumlah sampel yang diteliti sedikit.

6.5 Perbandingan Kadar APC antara Penderita DM Tipe 2 dengan Normoalbuminuria dan Mikroalbuminuria

Pada penelitian ini terdapat perbedaan yang bermakna rerata kadar APC pada penderita DM tipe 2 dengan kontrol sehat, dimana rerata kadar APC pada penderita DM tipe 2 lebih tinggi dibanding kontrol sehat ($p < 0,05$). Hasil penelitian ini hampir sama dengan Gabazza *et al* yang mendapatkan kadar APC

penderita DM tipe 2 ($131,6 \pm 4,7\%$) lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol sehat ($111,6 \pm 4,1\%$) dan keduanya terdapat perbedaan yang bermakna. Pada penelitian ini, usia rerata pada kontrol sehat adalah 34,5 tahun dan usia penderita DM tipe 2 adalah $48,48 \pm 5,24$ tahun. Perbedaan ini sesuai dengan penelitian Dolan dan Tait yang menunjukkan adanya korelasi positif antara usia dengan kadar PCAg dan APC. Dolan menunjukkan kadar APC usia 40-45 tahun lebih tinggi daripada usia 20-25 tahun dan perbedaan ini bermakna (Aslan, 2005).

Hasil penelitian ini berbeda dengan yang didapatkan Aslan *et al* yang menemukan kadar APC penderita DM tipe 2 lebih rendah dari kontrol sehat tetapi perbedaan ini tidak bermakna. Hal ini mungkin disebabkan karena usia penderita dan kontrol sehat pada penelitian Aslan *et al* hampir sama yaitu $60,43 \pm 12,02$ dan $59,44 \pm 9,32$ tahun. Pada beberapa penelitian ditemukan kadar APC lebih rendah atau lebih tinggi dari kontrol sehat mungkin karena usia subyek penelitian dan kontrol sehat berbeda.

Keseimbangan antara faktor prokoagulan dan antikoagulan sistem koagulasi berperan penting dalam patogenesis penyakit vaskular aterotrombotik di pembuluh darah besar maupun kecil. Terbentuknya trombus dalam pembuluh darah merupakan akibat dari terganggunya keseimbangan faktor ini. Ketidakseimbangan ini dapat muncul akibat stimulus trombogenesis, defek antikoagulan alamiah, atau defek sistem fibrinolisis. Beberapa penelitian pada penderita DM menunjukkan tingginya konsentrasi protein prokoagulan dan rendahnya konsentrasi faktor antikoagulan (Veglio *et al*, 1995; Gabazza *et al*, 1996; Hori *et al*, 2002; Aslan *et al*, 2005).

Pada penelitian ini didapatkan rerata kadar APC pada kelompok B lebih rendah daripada kelompok A tetapi tidak ditemukan perbedaan yang bermakna secara statistik ($p>0,05$). Kadar APC kelompok B yang lebih rendah dari kelompok A juga didapatkan oleh Gabazza, Aslan, dan Veglio namun tidak ada perbedaan yang bermakna.

Perbandingan kadar APC pada masing-masing kelompok pada penelitian ini berbeda dengan yang didapatkan Veglio yaitu antara kelompok A, kelompok B, dan kontrol sehat tidak terdapat perbedaan yang bermakna. Aslan mendapatkan kadar APC kelompok A lebih tinggi dari kelompok B dan kontrol, dan kelompok B lebih rendah dari kontrol namun tidak terdapat perbedaan yang bermakna. Hasil-hasil penelitian ini tidak berbeda secara bermakna mungkin disebabkan karena jumlah subyek penelitian sedikit.

Kadar APC pada penderita DM tipe 2 dengan MAU secara angka lebih rendah dibandingkan dengan kadar APC pada penderita DM tipe 2 dengan normoalbuminuria dan lebih tinggi dari kontrol sehat, namun rentang nilai ketiga kelompok masih dalam batas nilai rujukan. Hal ini menunjukkan kadar APC plasma pada pasien DM tipe 2 dengan disfungsi endotel (MAU) dibanding yang belum mengalami disfungsi endotel (normoalbuminuria) tidak berbeda secara bermakna dan masih dalam rentang nilai rujukan sehingga dapat disimpulkan APC tidak terlibat dalam patogenesis trombogenesis pada DM tipe 2. Terbentuknya APC melibatkan faktor hemostasis lain seperti PC, TM, trombin, PS, dan antitrombin III sehingga faktor tersebut sebaiknya diteliti apakah berperan dalam patogenesis trombogenesis pada DM tipe 2.

BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

1. Kadar APC pada penderita DM tipe 2 dengan normoalbuminuria adalah dalam batas normal
2. Kadar APC pada penderita DM tipe 2 dengan mikroalbuminuria adalah dalam batas normal.
3. Tidak terdapat perbedaan yang bermakna kadar APC penderita DM tipe 2 dengan normoalbuminuria dibandingkan dengan penderita DM tipe 2 dengan mikroalbuminuria.

7.2 Saran

1. Perlu penelitian lebih lanjut dengan jumlah sampel yang lebih banyak sehingga didapatkan hasil yang lebih akurat.
2. Perlu penelitian lebih lanjut terhadap faktor yang terlibat dalam pembentukan APC seperti PC, TM, trombin, PS, dan antitrombin III untuk mencari faktor penyebab trombogenesis pada DM tipe 2.

DAFTAR PUSTAKA

- Aakre KM, Thue G, Haavik SS, Bukve T, Morris H, Muller M, *et al*, 2008. Postanalytic external quality assessment of urine albumin in Primary Health Care: An International Survey. *Clin Chem* 54:10: 1630-1636.
- Aronson D, Rayfield, 2002. How hyperglycemia promotes atherosclerosis: molecular mechanism. *Cardiovascular Diabetology* 1: 1-10.
- Aslan B, Eren N, Cigerli P, Muldur F, Yocel N, 2004. Evaluation of plasma protein C Antigen, protein C Activity and Thrombomodulin Levels in Type 2 Diabetic Patients. *Turk J Med Sci* 35: 305-10.
- Aulia D, 2007. Pemeriksaan penyaring pada kelainan hemostasis. Dalam (Setiabudy RD). *Hemostasis dan trombosis*, Edisi ketiga. FKUI. Jakarta, hal 23-33.
- Bawazier LA, 2006. Proteinuria. Dalam (Sudoyo AW, Setiyohadi B, Alwi I, Simadibrata M, Setiati S, eds). *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*, Edisi keempat. Jilid I, Jakarta: Pusat Penerbitan Ilmu Penyakit Dalam FK UI, hal 521-525.
- Belchetz P, Hammond PJ, 2003. Diabetic nephropathy. In: *Mosby's color atlas and text of diabetes and endocrinology*, Philadelphia: Mosby, pp 101-07.
- Bhowmick K, Kutty A.V.M, Shetty H.V, 2007. Glycemic control modifies the association between microalbuminuria and c-reactive protein in type 2 diabetes mellitus. *Indian Journal of Clinical Biochemistry* 22 (2): 53-59
- Camire RM, Pollak ES, 2006. Genetics of coagulation. In (Colman RW, Marder VJ, Clowes AW, George JN, Goldhaber SZ). *Hemostasis and thrombosis basic principles and clinical practise*, 5th. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins, pp 59-89.
- Chong AY, Blann AD, Lip GYH, 2003. Assesment of endothelial damage and dysfunction: observations in relation to heart failure. *QJ Med* 96: 253-267.
- Colman RW, Clowes AW, George JN, Goldhaber SZ, Marder VJ, 2006. Overview of hemostasis. In (Colman RW, Marder VJ, Clowes AW, George JN, Goldhaber SZ). *Hemostasis and thrombosis basic principles and clinical practise*, 5th. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins, pp 3-16
- Dade Behring, 1999. Berichrom Protein C. Germany.
- De Vriese AS, Verbeuren TJ, de Voorde JV, Lameire NH, Vanhoutte PM, 2000. Endothelial dysfunction in diabetes. *Br J Pharmacol* 130: 963 – 974
- Dixon K, Salamonson Y, 2006. Disorders of endocrine system. In (Chang E, Daly J, Elliot D). *Pathophysiology applied to nursing practice*, Australia: Mosby Elsevier, pp79-104.

- Ehsan A, Plumbley JA, 2002. Introduction to thrombosis and antikoagulant therapy. In (Harmening DM). *Clinical hematology and fundamentals of hemostasis*, 4th ed. Philadelphia: FA Davis Company, pp 534-62.
- Endeman DH, Schiffrin EL, 2004. Endothelial dysfunction. *J Am Soc Nephrol* 15: 1983-1992.
- Escandon JC, Cipolla M, 2001. Diabetes and endothelial dysfunction: a clinical perspective. *Endocr Rev* 22(1): 36-52.
- Gabazza EC, Takeya H, Deguchi H, Sumida Y, Taguchi O, K. Murata K, *et al*, 1996. Protein C activation in NIDDM patients. *Diabetologia* 39: 1455-1461
- Galie N, Manes A, Branzi A, 2004. The endothelin system in pulmonary arterial hypertension. *Cardiovasc Res* 61: 227-237
- Ganong WF, 2003. Cardiovascular disorder: Vascular disease. In (Phee SJ, Lingappa VR, Ganong WF). *Pathophysiology of disease*, 4th ed. New York: Mc Graw-Hill, pp 301-20.
- Goraca A, 2002. New views on the role of endothelin. *Endocr Regul* 36:161-67
- Gustaviani R, 2006. Diagnosis dan klasifikasi diabetes melitus. Dalam (Sudoyo AW, Setiyohadi B, Alwi I, Simadibrata M, Setiati S, eds). *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*, Edisi keempat. Jilid III. Jakarta: Pusat Penerbitan Ilmu Penyakit Dalam FK UI, hal 1857-59.
- Hillman RS, Ault KA, Rinder HM, 2005. Disorders of hemostasis. In: *Hematology in Clinical Practice*, 4th. New York: McGraw Hill, pp 319-33.
- Hoffbrand AV, Pettit JE, Moss PAH, 2005. Trombosit, pembekuan darah dan hemostasis. Dalam: *Kapita selekta hematologi*, Edisi keempat. Jakarta: EGC, hal 221-44.
- Hori Y, Gabazza EC, Yano Y, Katsuki A, Suzuki K, Adachi Y, Sumida Y, 2002. Insulin resistance is associated with increased circulating level of thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor in type 2 diabetic patients. *J Clin Endocrinol Metab* 87: 660-665
- Immanuel S, 2006. Pemeriksaan laboratorium penyulit diabetes melitus. Pendidikan Berkesinambungan Patologi Klinik. Bagian Patologi Klinik FKUI. Jakarta, hal 18-36.
- King H, Aubert RE, Herman WH, 1998. Global burden of diabetes, 1995-2025: prevalence, numerical estimates, and projections. *Diabetes Care* 21: 1414-1431.
- Laffan MA, Manning RA, 2001. Investigation of a thrombotic tendency. In (Lewis SM, Bain BJ, Bates I). *Dacie and Lewis Practical hematology*, 9th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, pp391-413

- Lane JT, 2004. Microalbuminuria as a marker of cardiovascular and renal risk in type 2 diabetes mellitus: a temporal perspective. *Am J Physiol Renal Physiol* 286: F442-F450.
- Maitra A, Abbas AK, 2005. The Endocrine System. In (Kumar V, Abbas AK, Fausto N). *Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease*, 7th ed Philadelphia: Elsevier Saunders, pp 1155-1226
- Manaf A, 2001. Peran fase sekresi dini insulin dalam perjalanan penyakit DM tipe 2. Dalam (Manaf A, Wahid I, Fauzar, Irianto (editor). *Naskah Lengkap Pertemuan Ilmiah Berkala II Ilmu Penyakit Dalam*. FK Unand, Padang, hal 91-105
- Monograph, 1995. Protein C product Monograph, Sweden.
- Muniyappa R, Montagnani M, Koh KK, Quon MJ, 2007. Cardiovascular action of insulin. *Endocr Rev* 28: 463-491
- Oesman F, Setiabudy RD, 2007. Fisiologi hemostasis dan fibrinolisis. Dalam (Setiabudy RD). *Hemostasis dan trombosis*, Edisi ketiga.FKUI: Jakarta, hal 1-15.
- Perhimpunan RS Seluruh Indonesia (Persi), 2008. Faktor lingkungan dan gaya hidup berperan besar memicu diabetes (diunduh 20 Agustus 2009). Tersedia dari <http://www.pdpersi.co.id/?show=detailnews&kode=914&tbl=kesling>
- Perkeni (Perkumpulan Endokrinologi Indonesia), 2006. Konsensus Pengelolaan dan Pencegahan Diabetes Melitus Tipe 2 di Indonesia. Jakarta, hal 1-49.
- Powers AC, 2001. Diabetes melitus. In (Braunwald E, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL). *Harrison's Principles of internal medicine*, 15th ed. Vol 2. New York: McGraw-Hill, pp 2109 - 37.
- Rikarni, 2005. Peningkatan kadar fibrinogen sebagai prediktor untuk mikroalbuminuria pada penderita diabetes melitus tipe 2. Tesis Program Pendidikan Dokter Spesialis I Patologi klinik FK Unand Padang.
- Ritz E, 1999. Nephropathy in type 2 diabetes. *J Intern Med* 245: 111-126.
- Roche, 2003a. Albumin (turbidimetric) urine and CSF application. Roche.
- Roche, 2003b. Creatinine plus ver. 2. Roche.
- Ross, R, 1999. Atherosclerosis an inflammation disease. *N. Engl J Med* 340(2); 115-126.
- Sacks DB, Path FRC, 2006. Carbohydrates. In (Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE). *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*, 4th. Philadelphia: Elsevier Saunders, pp 837-902.
- Saito. H, 1996. Normal hemostatic mechanisms. In (Ratnoff OD, Forbes CD). *Disorders of hemostasis*, 3rd ed. Philadelphia: WB. Saunders Company, pp 23-52.

- Sanusi H, 2005. Pradiabetes dan risiko kardiovaskuler. Dalam (Adam J, Sanusi H, Sambo AP, Aman AM, Wattimena M, Adam FMS, *et al*). *Naskah lengkap the 4th National Obesity Symposium and the 2nd National Symposium on Metabolic Syndrome*. Makasar, hal 28-41
- Sarafadis PA, Bakris GL, 2007. Review: Insulin and Endothelin: An Interplay Contributin to Hypertension Development?. *J Clin Endocrinol Metab* 92: 379-385.
- Sastroasmoro, Ismael S, 1995. Perkiraan besar Sampel. Dalam: *Dasar-Dasar Metodologi Penelitian Klinis*, Jakarta: Bina Rupa Aksara, hal 194-6
- Semiardji G, 2003. Penatalaksanaan Diabetes Melitus tipe 2. Pendidikan Berkesinambungan Patologi Klinik. Bagian Patologi Klinik FKUI. Jakarta, hal 37-46.
- Setiabudy RD, Widjajahakim M, 2007. Activated protein C resistance. Dalam (Setiabudy RD). *Hemostasis dan trombosis*, Edisi ketiga. FKUI: Jakarta, hal 189-201.
- Shlebak A, 2007. Pathophysiological aspects of coagulation. In (Hakim NS, Canelo R, eds). *Haemostasis in Surgery*: pp 1-90 (diunduh 3 Januari 2009). Tersedia dari: www.worldcibooks.com/medsci/etextbook/p466/p466-chap01
- Soeatmadji DW, 2000. Pemeriksaan-pemeriksaan untuk deteksi disfungsi endotelial, *Forum Diagnosticum Prodia Jakarta* No 4: 1-11.
- Soegondo S, 2007. Diagnosis dan klasifikasi diabetes melitus terkini. Dalam (Soegondo S, Soewondo P, Subekti I (editor)). *Penatalaksanaan diabetes melitus terpadu*. FKUI: Jakarta, hal 17-27.
- Stehouwer CDA, 2004. Endothelial dysfunction in diabetic nephropathy: state of the art and potential significance for non-diabetic renal disease. *Nephrol Dial Transplant* 19: 778-781.
- Stehouwer CDA, Smulders YM, 2006. Microalbuminuria and risk for cardiovascular disease: analysis of potential mechanisms. *J Am Soc Nephrol* 17: 2106-2111
- Stehouwer CDA, Yudkin JH, Fioretti P, Nosadini R, 1998. How heterogeneous is microalbuminuria in diabetes mellitus? The case for 'benign' and 'malignant' microalbuminuria. *Nephrol Dial Transplant* 13: 2751-2754.
- Stevens ML, 1997. Blood coagulation and fibrinolysis. In: *Fundamentals of clinical hematology*, Philadelphia: WB. Saunders Company, pp 245-57.
- Suyono S, 2006. Diabetes melitus di Indonesia. Dalam (Sudoyo AW, Setiyohadi B, Alwi I, Simadibrata M, Setiati S, eds). *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*, Edisi keempat. Jilid III. Jakarta: Pusat Penerbitan Ilmu Penyakit Dalam FK UI, hal 1852-56.

- Suyono S, 2007. Diagnosis dan klasifikasi diabetes melitus terkini. Dalam (Soegondo S, Soewondo P, Subekti I (editor)). *Penatalaksanaan diabetes melitus terpadu*. FKUI: Jakarta, hal 7-16.
- Szmitko PE, Wang CH, Weisel RD, Almeida JR, Anderson TJ, Verma S, 2003. New markers of inflammation and endothelial cell activation. *Circulation* 108:1917-23.
- Tobe SW, Farlane PAM, Naimark DM, 2002. Microalbuminuria in diabetes mellitus. *CMAJ* 167(5): 499-503.
- Turgeon ML, 2005. Principles of hemostasis and thrombosis. In: *Clinical hematology theory and procedures*, Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins, pp 339-68.
- Veglio, M, Gruden G, Mormile A, Girotto M, Rossetto P, Este PD, et al, 1995. Anticoagulant protein C activity in non insulin dependent diabetic patients with normoalbuminuria and microalbuminuria. *Acta Diabetol* 32: 106-109.
- Verma S, Buchanan MR, Anderson TJ, 2003. Endothelial function testing as a biomarker of vascular disease. *Circulation* 108: 2054-2059.
- Votey SR, 2009. Diabetes mellitus, type 2 - a review (diunduh 3 Januari 2009) Tersedia dari: <http://emedicine.medscape.com/article/766143-overview>
- Waspadji S, 2007. Diabetes melitus, penyulit kronik dan pencegahannya. Dalam (Soegondo S, Soewondo P, Subekti I (editor)). *Penatalaksanaan diabetes melitus terpadu*, FKUI: Jakarta, hal 163-73.
- Wouwer MVD, Collen D, Conway EM, 2004. Thrombomodulin-protein C-EPCR system Integrated to regulate coagulation and inflammation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 24: 1374-1383.
- Zaki NM, 2008. Resistance to activated protein-C and its relation to atherosclerosis in type 2 diabetic patients. Thesis Submitted for partial Fulfillment of Master Degree in Internal Medicine. Faculty of Medicine Ain Shams University.

DAFTAR RIWAYAT HIDUP

1. Nama Lengkap : dr. Elwitria Daily
2. Tempat Tanggal Lahir : Medan, 6 Oktober 1973
3. Alamat : Jl. Teknik Mesin B8 Komp. ITP
Gunung. Pangilun, Padang
4. Status Perkawinan : Menikah
5. Nama Suami : Dr. Montesqrit, SPt, MSi
6. Tempat, Tanggal Lahir Suami : Bukit Tinggi, 25 November 1970
7. Nama Anak dan Tanggal Lahir : 1. Hubbul Khaira Monteswi
Bukit Tinggi, 28 Juli 2002
2. M. Nabil Ghifari Monteswi
Pariaman, 23 Agustus 2003
8. Pendidikan
 - a. SD Muhammadiyah 10 Medan : Lulus tahun 1986
 - b. SMP Negeri 7 Medan : Lulus tahun 1989
 - c. SMA Negeri 5 Medan : Lulus tahun 1992
 - d. Fakultas Kedokteran USU Medan : Lulus tahun 1999
9. Riwayat Kepangkatan:
 - a. Calon Pegawai Negeri Sipil : 1 Desember 2002
 - b. Pegawai Negeri Sipil : 1 Maret 2004
(Penata Muda Tk I Gol III/b)
1 April 2006
(Penata Muda Tk I Gol III/c)
10. Riwayat Pekerjaan
 - a. Kepala Puskesmas Sitiung II Kab. Sawahlunto/Sijunjung
(Oktober 2000-2002)
 - b. Kepala Puskesmas Kampung Guci Kab. Padang Pariaman
(Juni 2003- Juni 2005)

FORMULIR PENELITIAN

Data Dasar

No :
Nama :
Usia : thn
Jenis kelamin : pr/lk
Alamat :
Riwayat MCI : ya/tidak
Riwayat stroke : ya/tidak
R. penyakit hati kronis : ya/tidak
R. gangren : ya/tidak
Lama menderita DM : tahun

Riwayat Penyakit Sekarang:

Demam (), infeksi saluran kemih (), hamil (), pemakai kontrasepsi oral (),
pemakai antikoagulan (), keganasan (), gagal ginjal (), gagal jantung (),
perdarahan memanjang ()

Pemeriksaan Laboratorium yang Diteliti:

Protein urin :
Albumin urin :
Kreatinin urin :
Protein C teraktivasi :

Lampiran 2

ALOKASI DAN RINCIAN DANA PENELITIAN

1. Bahan dan alat penelitian

a. Reagen protein C	: Rp. 7.000.000,-
b. Reagen mikroalbuminuria	: Rp. 5.000.000,-
c. Sduit 10 cc	: Rp. 100.000,-
d. Bahan habis pakai	: Rp. 200.000,-
e. dipstik urin	: Rp 300.000,-

2. Laporan penelitian

a. Penyusunan	: Rp. 300.000,-
b. Penggandaan	: Rp. 500.000,-

3. Seminar : Rp 700.000,-

4. Biaya tak terduga : Rp 1.000.000,-

Jumlah : Rp 15.100.000,-

Lampiran 3

JADWAL KEGIATAN PENELITIAN

	2008	Tahun 2009										
	12	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Pembuatan proposal	**	**	**									
Seminar proposal			**									
Pengumpulan sampel						**	**	**	**			
Pengolahan data									**	**	**	**
Perbanyak makalah												**
Seminar tesis												**

PENJELASAN DAN INFORMASI (*inform consent*)

DAN PERNYATAAN PERSETUJUAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama :

Usia :

Alamat:

Telp/Hp:.....

Telah mendapat penjelasan dan informasi tentang kepentingan penelitian

**MEMBANDINGKAN KADAR PROTEIN C TERAKTIVASI
PADA PENDERITA DIABETES MELITUS TIPE 2 DENGAN
DAN TANPA MIKROALBUMINURIA**

bagi ilmu pengetahuan:

SETUJU/TIDAK SETUJU

ikut dalam penelitian.

Karena prosedur yang dilakukan merupakan prosedur sederhana dan dilakukan sesuai dengan ketentuan yang berlaku oleh petugas yang sudah terlatih, maka saya tidak akan mengajukan tuntutan hukum kalau terjadi risiko yang tidak dikehendaki.

Demikianlah pernyataan ini dibuat dengan sesungguhnya untuk dapat digunakan seperlunya.

Peneliti

Padang,

(dr. Elwitria Daily)

(.....)

Tanda tangan dan nama terang

Tabel Kadar APC (%) pada Orang Sehat

No	Pasien	Sex	Usia (tahun)	APC (%)
1	E	P	39	94.0
2	F	L	32	103.1
3	U	P	38	131.8
4	DE	P	33	77.1
5	N	P	34	96.6
6	R	P	30	86.8
7	H	P	39	110.3
8	V	P	31	81.6
9	Z	L	34	81.6
10	W	L	35	121.3
Mean			34.50	98.42

Lampiran 6. Kelompok A (Normoalbuminuria)

No	Nama	Umur (thn)	Kelamin	Lama DM (thn)	Albu min	kreatinin urin	albumin/ kreatinin	APC (%)	BB (kg)	TB (cm)	IMT	TDS (mmHg)	TDD (mmHg)
1	AM	43	L	0.5	8.83	6	1.47	88.1	63	159	24.92	110	70
2	AN	45	P	2	2.92	4.1	0.71	138.9	52	156	21.37	110	70
3	AS	54	P	1	6.68	3.4	1.96	133.1	53	150	23.56	110	70
4	D	48	P	4	4.19	4.2	1.00	140.9	70	155	29.14	100	60
5	DA	54	P	4	13.59	10.5	1.29	105.7	54	150	24.00	110	60
6	DES	55	P	2	6.77	15.6	0.43	112.9	60	150	26.67	144	74
7	DM	49	P	0.42	15.49	11	1.41	128.5	57	150	25.33	130	95
8	DS	55	P	2	11.88	19.6	0.61	122.6	58	156	23.83	110	70
9	EA	36	P	3	10.55	11.9	0.89	116.8	49	155	20.40	110	70
10	EG	49	P	3	4.41	3	1.47	122.6	63	149	28.38	150	90
11	EMI	54	P	9	6.07	13.9	0.44	107	57	157	23.12	120	80
12	FAY	51	L	2	3.78	13.4	0.28	109.6	86	166	31.21	125	90
13	HR	53	L	13	7.06	6.5	1.09	107.7	72	167	25.82	130	80
14	JA	53	L	10	3.93	4	0.98	127.8	57	155	23.73	120	80
15	JAS	52	L	2	25.08	11.1	2.26	133.1	57	156	23.42	120	80
16	MAH	35	P	3	10.76	6.3	1.71	112.2	75	155	31.22	120	80
17	MAR	48	P	1	42.27	28.1	1.50	130.5	94	168	33.30	140	80
18	MARK	46	L	8	4.88	8.1	0.60	84.2	77	167	27.61	120	80
19	NUR	38	P	15	16.81	12.8	1.31	110.3	41.5	150	18.44	130	80
20	SYAM	50	P	0.25	10.94	6.7	1.63	139.6	55	140	28.06	160	100
21	US	54	L	0.08	10.4	16.4	0.63	113.5	56	152	24.24	110	70
22	Y	58	P	7	7.03	6.6	1.07	124.6	58	160	22.66	130	80
23	YU	53	P	1	19.27	14.6	1.32	128.5	60	150	26.67	130	80
24	ZT	58	L	4	15.91	13.4	1.19	105.1	80	171	27.36	100	60
25	ZUL	48	P	6	4.99	7.7	0.65	117.4	53	148	24.20	120	80

Lampiran 7. Kelompok B (Mikroalbuminuria)

No	Nama	Umur (thn)	Kelamin	Lama DM (thn)	Album in	kreatinin urin	albumin/ kreatinin	APC (%)	BB (kg)	TB (cm)	IMT	TDS (mmHg)	TDD (mmHg)
1	A	51	L	7	112.49	13.5	8.33	122	61	167	21.87	120	80
2	AS	45	P	5	72.74	5.6	12.99	104.4	49	152	21.21	110	70
3	BUS	51	P	20	55.2	6.2	8.90	133.7	50	155	20.81	120	80
4	D	48	P	10	31.47	9.4	3.35	118.7	63	152	27.27	120	80
5	DAH	48	P	5	122.01	22.2	5.50	88.1	52	160	20.31	110	80
6	ER	39	P	2	97.49	11.9	8.19	105.7	57	160	22.27	140	70
7	HOS	51	P	3	54.5	10.6	5.14	101.8	60	160	23.44	90	60
8	JUS	40	P	0.83	19.97	3.3	6.05	124.6	49.5	161	19.10	120	80
9	MAL	46	L	10	87.2	10.7	8.15	129.1	60	163	22.58	120	80
10	ME	50	P	3	23.81	9.9	2.41	109.6	60	150	26.67	120	80
11	Nur	48	P	0.42	59.58	5.1	11.68	125.2	40	145	19.02	90	60
12	R	45	P	9	9.46	4.2	2.25	87.5	60	156	24.65	110	70
13	RAT	49	P	5	39.49	14.2	2.78	134.4	54	152	23.37	160	100
14	SA	53	L	7	183.5	26.9	6.82	71.9	57	156	23.42	90	80
15	SH	47	L	4	44.6	7.6	5.87	113.5	63	160	24.61	115	70
16	SS	46	P	4	29.93	10	2.99	90.7	44	140	22.45	110	70
17	SY	51	P	15	116.5	10.5	11.10	135	72	150	32.00	90	60
18	SYAH	52	P	5	93.1	9.4	9.90	104.4	65	156	26.71	170	80
19	T	52	P	10	61.3	6.8	9.01	101.8	52	155	21.64	140	80
20	UWAK	53	P	1	5.04	1.7	2.96	139.6	54	155	22.48	140	90
21	YEN	54	L	7	21.54	6.7	3.21	125.9	62	161	23.92	130	70
22	YI	46	P	2	196.92	47.1	4.18	104.4	68	162	25.91	120	70
23	YUL	37	P	0.67	95.27	15.3	6.23	132.4	65	145	30.92	120	70
24	ZAL	54	P	0.83	30.61	8.1	3.78	109.6	50	145	23.78	160	100
25	ZUL	35	L	3	34.28	9.1	3.77	98.6	50	150	22.22	120	80

Lampiran 8. Hasil Pengolahan Data dengan SPSS

Group Statistics

	Perlakuan	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Umur	normoalbuminuria	25	49.5600	6.25220	1.25044
	mikroalbuminuria	25	47.6400	5.23514	1.04703
Lama DM	normoalbuminuria	25	4.1300	4.06239	.81248
	mikroalbuminuria	25	5.5900	4.75132	.95026
Albuminuria	normoalbuminuria	25	1.1160	.50375	.10075
	mikroalbuminuria	25	6.2216	3.15441	.63088
APC	normoalbuminuria	25	118.4480	14.76234	2.95247
	mikroalbuminuria	25	112.5040	17.65912	3.53182
IMT	normoalbuminuria	25	25.5464	3.48511	.69702
	mikroalbuminuria	25	23.7052	3.18727	.63745

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
UMUR	Equal variances assumed	.599	.443	-1.177	48	.245	1.9200	1.83091	-1.35916	5.19916
	Equal variances not assumed			1.177	46.563	.245	1.9200	1.83091	-1.36178	5.20178
Lama DM	Equal variances assumed	.322	.573	-1.168	48	.249	-1.4600	1.25025	-3.97379	1.05379
	Equal variances not assumed			-1.168	46.868	.249	-1.4600	1.25025	-3.97536	1.05536
Albuminuria	Equal variances assumed	43.501	.000	-7.992	48	.000	-5.1056	.83888	-6.39015	-3.82105
	Equal variances not assumed			-7.992	25.223	.000	-5.1056	.83888	-6.42080	-3.79040
APC	Equal variances assumed	1.243	.271	1.291	48	.203	5.9440	4.60335	-3.31166	15.19966
	Equal variances not assumed			1.291	46.537	.203	5.9440	4.60335	-3.31918	15.20718
IMT	Equal variances assumed	.470	.496	1.949	48	.057	1.8412	.94456	-.05796	3.74036
	Equal variances not assumed			1.949	47.622	.057	1.8412	.94456	-.05835	3.74075