PENGARUH PEMBERIAN *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* TERHADAP KADAR KREATININ SERUM PADA MENCIT MODEL GAGAL GINJAL KRONIS

Givary Dymar Lazuardi[1], Dewi Mustika[2], Besut Daryanto[3]

ABSTRAK

Gagal ginjal kronis merupakan suatu keadaan patologis dengan penyebab yang beragam, mengakibatkan penurunan fungsi ginjal secara progresif dan kemudian berakhir pada gagal ginjal tahap akhir. Gagal ginjal kronis menjadi masalah kesehatan global dengan peningkatan jumlah pasien, tingginya resiko progresifitas, dan rendahnya prognosis. *Saccharomyces cerevisae* yang banyak mengandung *beta-glucan* dapat meningkatkan kadar *Granulocyte-colony stimulating factor* (G-CSF) dalam tubuh. Peningkatan kadar GCSF dalam tubuh akan meningkatkan pelepasan *hematopoietic stem cell* (HSC) ke sirkulasi tubuh. HSC yang dilepaskan dapat meregenerasi sel tubulus yang rusak. Penelitian ini menggunakan kadar kreatinin serum sebagai pertanda perbaikan fungsi ginjal. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak *S. cerevisae* terhadap kadar kreatinin serum mencit model gagal ginjal kronis dan untuk mengetahui korelasi antara dosis ekstrak *Saccharomyces cerevisae* dengan kadar kreatinin serum pada mencit model gagal ginjal kronis. Penelitian eksperimental ini dilakukan secara *in vivo* menggunakan rancangan *randomized post test only controlled group design*. Sampel dibagi menjadi lima kelompok yang masing-masing terdiri dari 5 mencit, yaitu kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif, Kelompok Perlakuan 1 (*Aristolochic Acid* + ekstrak *S. cerevisae* 50 mg/kgBB), Kelompok Perlakuan 2 (*Aristolochic Acid* + ekstrak *S. cerevisae* 100 mg/kgBB), Kelompok Perlakuan 3 (*Aristolochic Acid* + ekstrak *S. cerevisae* 200 mg/kgBB). Induksi gagal ginjal kronis menggunakan *Aristolochic Acid* 2,5 mg/kgBB 5 kali seminggu selama 2 minggu secara intraperitoneal. Variabel yang diukur pada penelitian ini adalah kadar kreatinin serum. Pemberian ekstrak *S. cerevisae* setiap hari selama 2 minggu setelah 1 minggu progersifitas. Dari data statistik didapatkan hasil rerata kadar kreatinin serum pada kelompok kontrol negatif sebesar 0,3788 mg/dl; kontrol positif sebesar 0,6425 mg/dl; perlakuan 1 sebesar 0,4575 mg/dl; perlakuan 2 sebesar 0,3850 mg/dl; perlakuan 3 sebesar 0,3263 mg/dl. Hasil uji Anova menunjukkan adanya perbedaan antar kelompok yang signifikan ($p<0,05$). Kesimpulan dari penelitian ini adalah pemberian *S. cerevisae* mampu menurunkan kadar kreatinin serum pada mencit model gagal ginjal kronis dan ada hubungan antara peningkatan dosis ekstrak *Saccharomyces cerevisae* dengan penurunan kadar kreatinin serum pada mencit model gagal ginjal kronis.

Kata kunci: *Beta glucan*, *Saccharomyces cerevisae*, kadar kreatinin serum, gagal ginjal kronis

[1] Program Studi Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya
[2] Laboratorium Ilmu Faal Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya
[3] Laboratorium Urologi Rumah Sakit Saiful Anwar Malang

THE EFFECT OF *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* ON THE SERUM CREATININE LEVELS OF CHRONIC KIDNEY DISEASE MICE MODEL.

Givary Dymar Lazuardi[1], Dewi Mustika[2], Besut Daryanto[3]

ABSTRACT

Chronic kidney disease is pathological condition with various causes, resulting in a progressive loss in kidney function and then ended in end-stage kidney disease. Chronic Kidney Disease becomes a health problem in the world with their increase in patients, high progresivity, and low prognosis. *Saccharomyces cerevisiae* which has high beta glucan can increase the level of *granulocyte-colony stimulating factor* (G-CSF) in the body. The increase of G-CSF level will elevate the excess of hematopoietic stem cell (HSC) in the circulation. The excess of HSC can regenerate damaged tubular cells. The study used serum creatinine levels as a marker of improved kidney function. The objective of this research is determining the effect of S. cerevisae to the serum creatinine levels of mice model of chronic kidney disease and determining the correlation between dose of *S. cerevisae* extract and serum creatinin levels of mice model of chronic kidney disease. This in vivo experimental study used a randomized post test only controlled group design. The samples were divided into five groups, each group consists of 5 rats, that is negative control group, positive control group, Treatment Group 1 (Aristolochic Acid + *S. cerevisae* extract 50 mg/kgBB), Treatment Group 2 (Aristolochic Acid + *S. cerevisae* extract 100 mg/kgBB), Treatment Group 3 (Aristolochic Acid + *S. cerevisae* extract 200 mg/kgBB). The induction of chronic kidney disease is using aristolochic acid 2,5 mg/KgBB 5 times a week for 2 weeks. The variables measured in this research is the serum creatinine levels. Statistical data obtained shows that the average number of serum creatinine levels at negative control group was 0,3788 mg/dl in the positive control was 0,6425 mg/dl; in the treatment 1 was 0,4575 mg/dl; in the treatment 2 was 0,3850 mg/dl; in the treatment 3 was 0,3263 mg/dl. ANOVA test results showed a difference between groups was significant ($p < 0.05$). The conclusion of this research was the S. cerevisae able to decrease the serum creatinine levels of mice model of chronic kidney disease and there is correlation between increased dose of *S. cerevisae* and decreased serum creatinine levels.

Keywords: Beta Glucan, *Saccharomyces cerevisae*, serum creatinine levels, Chronic Kidney Disease

PENDAHULUAN

Penyakit ginjal kronis (Chronic Kidney Disease / CKD) merupakan masalah kesehatan baik di negara maju maupun negara berkembang (Prodjosudjadi & Suhardjono, 2009). Progresifitas penyakit ini untuk berkembang menjadi penyakit ginjal terminal (End Stage Renal Disease / ESRD) sulit dihindarkan. Tingkat mortalitas bertahan di atas 20 persen per tahun walaupun telah tersedia terapi dialisis, dengan setengah di antaranya berkaitan dengan penyakit kardiovaskular (Go et al., 2004). Faktor lain yang turut memperberat pasien adalah biaya yang cukup besar untuk perawatan penyakit ginjal terminal sehingga sangat membebani dari aspek ekonomi (Prodjosudjadi & Suhardjono, 2009). Di negara-negara berkembang, baik dianalisis dan transplantasi ginjal telah tersedia, namun dengan biaya yang sangat mahal (Floege et al., 2010).

Patogenesis gagal ginjal kronis tergantung kepada etiologi yang mendasarinya seperti diabetes mellitus, hipertensi, glomerulonefritis, dan urinary tract obstruction akan menyebabkan kerusakan ginjal secara progresif. Kerusakan ginjal progesif ini menimbulkan respon inflamasi lokal, sehingga terjadi peningkatan sitokin-sitokin pro-inflamasi. Respon inflamasi juga meningkatkan produksi Reactive Oxygen Species (ROS) akibat proses stres oksidatif di tingkat sel. Sitokin-sitokin dan ROS ini menyebabkan kerusakan nephron yang irreversible, sehingga menginduksi terjadinya hiperfiltrasi adaptasi di glomerulus yang diikuti oleh peningkatan permeabilitas glomerulus dan aktifasi dari renin angiotensin aldosterone system (RAAS). Hal ini mengakibatkan terjadinya inflamasi nephrotoxic di ginjal dan kemudian akan menyebabkan tubulointerstitial fibrosis. Tubulointerstitial fibrosis adalah jalur akhir tersering dari terjadinya gagal ginjal kronis. Gagal ginjal kronis akan menyebabkan terjadinya penurunan fungsi fisiologis ginjal yang ditandai dengan penurunan GFR (glomerular filtration rate) (Suwitra, 2009; Hsu, 2003).

Fungsi fisiologis ginjal salah satunya adalah mengekresikan sebagian terbesar produk akhir metabolisme tubuh (sisa metabolisme dan obat obatan). Kreatinin adalah hasil buangan metabolism protein dalam otot yang harus dikeluarkan oleh tubuh (Luklukaningsih, 2011). Kreatinin penting dalam pemeriksaan klinis karena merupakan produk akhir metabolisme yang terakhir dan tidak dapat diubah menjadi senyawa lain lagi. Konsentrasi kreatinin serum dan nitrogen urea darah (BUN) dapat digunakan sebagai petunjuk laju filtrasi glomerulus. Kreatinin serum merupakan indikator kuat dan spesifik bagi fungsi ginjal, karena peningkatan dua kali lipat kadar kreatinin serum dapat mengindikasikan penurunan fungsi ginjal sebesar 50%. Kadar kreatinin serum besarnya sekitar 0,7-1,5 mg/dl. Beberapa faktor dapat mempengaruhi ketepatan penggunaan kreatinin untuk uji fungsi ginjal, seperti ketelitian dalam mengukur jumlah urine 24 jam, pengaruh massa otot terhadap produksi kreatinin endogen, asupan daging, aktivitas fisik, adanya sekresi kreatinin di tubulus ginjal, pengaruh obat-obatan (Yaswir, 2012).

Selama ini, penanganan medis gagal ginjal kronis adalah hemodialysis, continuous ambulatory peritoneal dialysis (CAPD), dan transplantasi ginjal. Biaya untuk hemodialisis tidak murah, pasien rata-rata harus mengeluarkan biaya Rp 500.000,00 hingga Rp 700.000,00 setiap satu kali hemodialisis dan dalam setahun bisa menghabiskan biaya sekitar 50 juta rupiah. Untuk transplantasi ginjal, selain mahal, terdapat resiko penolakan tubuh terhadap ginjal donor. Sehingga dapat

diambil kesimpulan bahwa pengobatan sekarang sangatlah tidak efisien dan efektif.

Karena kurangnya efektifitas dan efisiensi dalam pengobatan gagal ginjal kronis, maka dibutuhkan suatu alternatif metode pengobatan lain yang tidak hanya memperpanjang harapan hidup dan memperbaiki kondisi sesaat pasien, namun juga dapat menyembuhkan dari gagal ginjal kronis. Saat ini terapi pengobatan regeneratif berbasis stem cell semakin berkembang dan dinilai memiliki potensi pengobatan yang baik terutama bagi penyakit degeneratif. Stem sel adalah sel yang belum terspesialisasi yang memiliki potensi untuk berkembang menjadi berbagai jenis sel yang spesifik untuk kemudian membentuk jaringan embrio atau jaringan dewasa. Salah satu jenis stem cell yaitu hematopoietic stem cell (HSC) yang berasal dari bone marrow atau sumsum tulang (Sell, 2004). HSC atau hematopoietic stem cell memiliki sifat multypotent sehingga telah terbukti dalam penelitian dapat menjadi berbagai macam sel pada tubuh (Seita, 2009). HSC dapat di mobilisasi dari sumsum tulang menuju ke dalam ginjal yang mengalami kerusakan sehingga dapat meregenerasi ginjal yang rusak. Metode ini memiliki kelebihan yaitu selain dapat memperbaiki kerusakan pada ginjal, metode ini juga aman sehingga dapat meminimalkan risiko cidera pasien selama proses terapi dilakukan (Ito et al., 2009). Dengan termobilisasinya HSC ke jaringan yang rusak maka akan menginduksi terjadinya mekanisme perbaikan pada sel epitel ginjal yang mengalami kerusakan akibat gagal ginjal kronis (Lin et al., 2009). Salah satu fakor pelepasan HSC dari bone marrow ke aliran darah adalah G-CSF (granulocyte colony stimulating factor). G-CSF merupakan faktor yang dapat meningkatkan proses mobilisasi HSC ke sirkulasi dengan cara melepaskan ikatan CXCL-12 dengan CXCR-4 sehingga HSC akan terlepas ke sirkulasi dan mengikutin gradien dari kemoatraktan CXCL-12 dalam jaringan yang rusak, dengan termobilisasinya HSC ke jaringan yang rusak maka akan menginduksi terjadinya mekanisme perbaikan jaringan, khususnya sel ginjal yang mengalami kerusakan pada penyakit ginjal kronis (Lin et al., 2009).

Penelitian Lin et al., pada hewan coba model hematotoxicity (2009) membuktikan bahwa salah satu cara meningkatkan G-CSF (granulocyte colony stimulating factor) adalah dengan pemberian beta glucan. Beta glucan merupakan suatu senyawa polisakarida yang terkandung dalam ragi Saccharomyces cerevisiae. Selama ini masyarakat di Indonesia telah banyak mengenal ragi atau yeast Saccharomyces cerevisiae yang biasa digunakan untuk pembuatan roti. Saccharomyces cerevisiae memiliki kandungan beta glucan terbanyak dibanding dengan ragi, jamur dan gandum lainnya dengan jumlah kandungan murni sebanyak 60% (Mason, 2004).

Berdasarkan uraian diatas, diduga bahwa pemberian Saccharomyces cerevisiae dapat meningkatkan sekresi G-SCF sehingga dapat memperbaiki kerusakan ginjal dengan cara memobilisasi HSC (hematopoietic stem cell) ke dalam ginjal. Indikator perbaikan ginjal yang digunakan adalah melihat fungsi ginjal, yang dapat dinilai dengan pengukuran kadar kreatinin serum. Oleh karena itu diperlukan suatu penelitian yang bertujuan mengetahui efek pemberian Saccharomyces cerevisae terhadap kadar kreatinin serum pada mencit model penyakit gagal ginjal kronis.

METODE PENELITIAN

Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain eksperimen murni (*true experimental*

design) di laboratorium menggunakan rancangan *Randomized Post Test Only Controlled Group Design.* Rancangan penelitian yang dipakai adalah rancangan acak kelompok (RAK). Induksi *aristolochic acid* (AA) secara intraperitoneal (i.p) bertujuan untuk menginduksi terjadinya *aristolochic acid nephropathy* (AAN) untuk menjadi model penyakit ginjal kronis AA diberikan dalam dosis 2,5 mg/kg BB selama lima hari seminggu dalam 2 minggu (Sato et al, 2004). Dosis pemberian ekstrak *Saccharomyces cerevisiae* mengacu pada penelitian metabolisme lipid pada mencit model atherogenic diet yang dilakukan oleh Robak *et al*. (2009). Mencit dibagi dalam lima kelompok dengan pembagian Kelompok kontrol negatif: mencit tanpa diinduksi Aristolichic Acid dan tanpa pemberian ekstrak *S. cerevisae*; Kelompok kontrol positif: mencit diinduksi Aristolichic Acid; Kelompok perlakuan 1: mencit diinduksi Aristolichic Acid dan diberi ekstrak *S. cerevisae* dengan dosis 50 mg/kgBB; Kelompok perlakuan 2: mencit diinduksi Aristolichic Acid dan diberi ekstrak *S. cerevisae* dengan dosis 100 mg/kgBB; Kelompok perlakuan 3: mencit diinduksi Aristolichic Acid dan diberi ekstrak *S. cerevisae* dengan dosis 200 mg/kgBB

Persiapan Hewan coba

Dilakukan persiapan pemeliharaan hewan coba mulai dari kandang pemeliharaan hewan coba, anyaman kawat, sekam, botol minum, alat semprot, tempat makan, pakan, alkohol 70%, hewan uji galur Babl/C , dan seleksi mencit (usia 6-8 minggu, dengan berat badan 20-25 g, jenis kelamin jantan). Mencit diadaptasikan di dalam laboratorium parasitologi selama tujuh hari dan dibagi lima kelompok.

Induksi kerusakan model penyakit ginjal kronis

Induksi mencit model penyakit ginjal kronis dengan AA sebanyak 2,5 mg/kg BB yang dilarutkan kedalam minyak jagung. Mekanisme AA yakni menginduksi fibrosis interstitial ginjal dengan kerusakan pada pembuluh darah sehingga akan menyebabkan iskemia dan fibrosis interstitial (Broe, 2014). Induksi dalam waktu yang lama menyebabkan kronik nekrosis. Pertama-tama, mencit dibuat menjadi penyakit ginjal kronis dengan diinduksi AA sekali setiap hari, lima hari dalam seminggu selama 2 minggu secara intraperitoneal (i.p) (Sato *et al*, 2004).

Pembuatan dan Pemberian Ekstrak *Saccharomyces cerevisiae* pada mencit

Ragi *Sachharmonyces cerevisiae* merk mauripan, dihaluskan menggunakan mortar dan ditimbang 100 gr . Kemudian dimasukkan kedalam *beaker glass* dan ditambah dengan pelarut etanol 95 % sebanyak 900ml. Diirendam (maserasi) selama 3 hari. Dipasang evaporator pada tiang permanen agar dapat digantung dengan kemiringan 30°-40° terhadap meja. Hasil maserasi dimasukkan dalam labu ekstraksi. Satu set alas evaporasi diletakkan sedemikian rupa sehingga sebagian labu ekstraksi terendam aquades pada *water bath. Water bath* dihubungkan dengan sumber listrik dan dinaikkan suhunya sampai 70° C (sesuai dengan titik didih etanol). Kemudian ditunggu proses berjalan (pengembunan dan pemisahan di pendingin) sampai hasil evaporasi tersisa dalam labu ekstraksi. Hasil evaporasi berupa cairan kental sebanyak 60 gram. Ekstrak dihomogenisasi terlebih dahulu dengan menggunakan aquades yang telah disesuai dengan kebutuhan minimum kelompok mencit yang menghasilkan perbandingan (1ml aquades : 12,5 mg ekstrak)(lampiran) kemudian diberikan disondekan pada mencit sesuai perhitungan (lampiran). Pemberian ekstrak S.cerevisiae dilakukan selama 2 minggu dengan cara disondekan pada mencit siang hari.

Pengambilan Sampel Darah

Pembedahan dilakukan terlebih dahulu dengan memberikan anestesi. Anestesi diberikan per inhalasi dengan kloroform dalam suatu wadah tertutup. Mencit yang sudah diberi anestesi diletakkan di atas steroform, difiksasi, lalu

dibedah mulai dari perut. Kemudian diambil darahnya terlebih dahulu dengan spuit 1 ml melalui jantung. Setelah itu, diambil organ ginjalnya dan dimasukan ke tabung berisi cairan PBS (Phosphate Buffer Saline)

Pembuatan Preparat Histopatologi Ginjal

Ginjal diambil melalui pembedahan mencit. Pembuatan preparat histopatologi dilakukan dengan metode paraffin. Fiksasi dilakukan dengan formalin 10% selama 24 jam kemudian dicuci menggunakan air minimal 1,5 jam. Jaringan dimasukkan dalam alkohol 70% selama 1 jam, alkohol 80% selama 1 jam, alkohol 99 % selama 1 jam dan alkohol absolut selama 2x1 jam lalu dalam campuran xylol : alkohol absolut = 1:1 selama 0,5 jam, dan xylol PA selama 2x30 menit. Jaringan dipotong setipis mungkin dan dimasukkan ke dalam *melted* paraffin : xylen = 1:1 selama 1 jam, paraffin (54-58) selama 2x1 jam. *Melted* parrafin dimasukkan ke dalam cetakan kemudian blok paraffin dibiarkan dingin. Jaringan pada blok paraffin dipotong menggunakan mikrotom kemudian diletakkan pada gelas objek yang telah dilapisi dengan lapisan putih telur : gliserol = 1:1 sebagai lapisan tipis dan biarkan kering. Jaringan yang berada di gelas objek dimasukkan ke dalam xylol selama 3x5 menit lalu dikeringkan.

Pengamatan Hasil Histopatologi Pembedahan

Pengamatan pada bagian korteks ginjal dengan perbesaran 400x pada setiap slide.

Pengukuran Kadar Kreatinin Serum dengan Spektrofotometri

Darah didiamkan selama 15 menit lalu disentrifus selama 15 menit pada kecepatan 3000 rpm. Bagian yang jernih (serum) dipisahkan dan diambil untuk diperiksa kadar kreatininnya. Serum dipipet sebanyak 50 ul dimasukkan ke dalam tabung reaksi, dicampur dengan larutan 1 ml larutan working reagen yang terdiri dari 4 bagian reagen 1 dan 1 bagian reagen 2 lalu diaduk dengan alat vorteks. Kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometri.

Pengolahan dan Analisis Data Data

Hasil pengukuran penurunan kadar kreatinin serum, kontrol serta perlakuan dianalisa secara statistik dengan menggunakan program SPSS 16.0 dengan tingkat signifikansi 0,05 (p = 0,05).

METODE PENELITIAN

Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain eksperimen murni (*true experimental design*) di laboratorium menggunakan rancangan *Randomized Post Test Only Controlled Group Design.* Rancangan penelitian yang dipakai adalah rancangan acak kelompok (RAK). Induksi *aristolochic acid* (AA) secara intraperitoneal (i.p) bertujuan untuk menginduksi terjadinya *aristolochic acid nephropathy* (AAN) untuk menjadi model penyakit ginjal kronis AA diberikan dalam dosis 2,5 mg/kg BB selama lima hari seminggu dalam 2 minggu (Sato et al, 2004). Dosis pemberian ekstrak *beta glucan* dari *Saccharomyces cerevisiae* mengacu pada penelitian metabolisme lipid pada mencit model atherogenic diet yang dilakukan oleh Robak *et al*. (2009). Mencit dibagi dalam lima kelompok dengan pembagian Kelompok kontrol negatif: mencit sehat (tanpa diinduksi Aristolichic Acid dan tanpa pemberian ekstrak *S. cerevisae*); Kelompok kontrol positif: mencit diinduksi Aristolichic Acid; Kelompok perlakuan 1 (A): mencit diinduksi Aristolichic Acid dan diberi ekstrak *S. cerevisae* dengan dosis 50 mg/kgBB; Kelompok perlakuan 2 (B): mencit diinduksi Aristolichic Acid dan diberi ekstrak *S. cerevisae* dengan dosis 100 mg/kgBB; Kelompok perlakuan 3 (C): mencit diinduksi Aristolichic Acid dan diberi ekstrak *S. cerevisae* dengan dosis 200 mg/kgBB

Persiapan Hewan coba

Dilakukan persiapan pemeliharaan hewan coba mulai dari kandang pemeliharaan hewan coba, anyaman kawat, sekam, botol minum, alat semprot, tempat makan, pakan, alkohol 70%, hewan uji galur Babl/C , dan seleksi mencit (usia 6-8 minggu, dengan berat badan 20-25 g, jenis kelamin jantan). Mencit diadaptasikan di dalam laboratorium parasitologi selama tujuh hari dan dibagi lima kelompok.

Induksi kerusakan model penyakit ginjal kronis

Induksi mencit model penyakit ginjal kronis dengan AA sebanyak 2,5 mg/kg BB yang dilarutkan kedalam minyak jagung. Mekanisme AA yakni menginduksi fibrosis interstitial ginjal dengan kerusakan pada pembuluh darah sehingga akan menyebabkan iskemia dan fibrosis interstitial (Broe, 2014). Induksi dalam waktu yang lama menyebabkan kronik nekrosis. Pertama-tama, mencit dibuat menjadi penyakit ginjal kronis dengan diinduksi AA sekali setiap hari, lima hari dalam seminggu selama 2 minggu secara intraperitoneal (i.p) (Sato *et al*, 2004).

Pembuatan dan Pemberian Ekstrak *Saccharomyces cerevisiae* pada mencit

Ragi *Sachharmonyces cerevisiae* merk mauripan, dihaluskan menggunakan mortar dan ditimbang 100 gr . Kemudian dimasukkan kedalam *beaker glass* dan ditambah dengan pelarut etanol 95 % sebanyak 900ml. Diirendam (maserasi) selama 3 hari. Dipasang evaporator pada tiang permanen agar dapat digantung dengan kemiringan 30°-40° terhadap meja. Hasil maserasi dimasukkan dalam labu ekstraksi. Satu set alas evaporasi diletakkan sedemikian rupa sehingga sebagian labu ekstraksi terendam aquades pada *water bath. Water bath* dihubungkan dengan sumber listrik dan dinaikkan suhunya sampai 70° C (sesuai dengan titik didih etanol). Kemudian ditunggu proses berjalan (pengembunan dan pemisahan di pendingin) sampai hasil evaporasi tersisa dalam labu ekstraksi. Hasil evaporasi berupa cairan kental sebanyak 60 gram. Ekstrak dihomogenisasi terlebih dahulu dengan menggunakan aquades yang telah disesuai dengan kebutuhan minimum kelompok mencit yang menghasilkan perbandingan (1ml aquades : 12,5 mg ekstrak)(lampiran) kemudian diberikan disondekan pada mencit sesuai perhitungan (lampiran). Pemberian ekstrak S.cerevisiae dilakukan selama 2 minggu dengan cara disondekan pada mencit siang hari.

Pengambilan Sampel Darah

Pembedahan dilakukan terlebih dahulu dengan memberikan anestesi. Anestesi diberikan per inhalasi dengan kloroform dalam suatu wadah tertutup. Mencit yang sudah diberi anestesi diletakkan di atas steroform, difiksasi, lalu dibedah mulai dari perut. Kemudian diambil darahnya terlebih dahulu dengan spuit 1 ml melalui jantung. Setelah itu, diambil organ ginjalnya dan dimasukan ke tabung berisi cairan PBS (Phosphate Buffer Saline)

Pembuatan Preparat Histopatologi Ginjal

Ginjal diambil melalui pembedahan mencit. Pembuatan preparat histopatologi dilakukan dengan metode paraffin. Fiksasi dilakukan dengan formalin 10% selama 24 jam kemudian dicuci menggunakan air minimal 1,5 jam. Jaringan dimasukkan dalam alkohol 70% selama 1 jam, alkohol 80% selama 1 jam, alkohol 99 % selama 1 jam dan alkohol absolut selama 2x1 jam lalu dalam campuran xylol : alkohol absolut = 1:1 selama 0,5 jam, dan xylol PA selama 2x30 menit. Jaringan dipotong setipis mungkin dan dimasukkan ke dalam *melted* paraffin : xylen = 1:1 selama 1 jam, paraffin (54-58) selama 2x1 jam. *Melted* parrafin dimasukkan ke dalam cetakan kemudian blok paraffin dibiarkan dingin. Jaringan pada blok paraffin dipotong menggunakan mikrotom kemudian diletakkan pada gelas objek yang telah dilapisi dengan lapisan putih telur : gliserol = 1:1 sebagai lapisan tipis dan biarkan kering. Jaringan yang

berada di gelas objek dimasukkan ke dalam xylol selama 3x5 menit lalu dikeringkan.

Pengamatan Hasil Histopatologi Pembedahan

Pengamatan pada bagian korteks ginjal dengan perbesaran 400x pada setiap slide.

Pengukuran Kadar Kreatinin Serum dengan Spektrofotometri

Darah didiamkan selama 15 menit lalu disentrifus selama 15 menit pada kecepatan 3000 rpm. Bagian yang jernih (serum) dipisahkan dan diambil untuk diperiksa kadar kreatininnya. Serum dipipet sebanyak 50 ul dimasukkan ke dalam tabung reaksi, dicampur dengan larutan 1 ml larutan working reagen yang terdiri dari 4 bagian reagen 1 dan 1 bagian reagen 2 lalu diaduk dengan alat vorteks. Kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometri.

Pengolahan dan Analisis Data Data

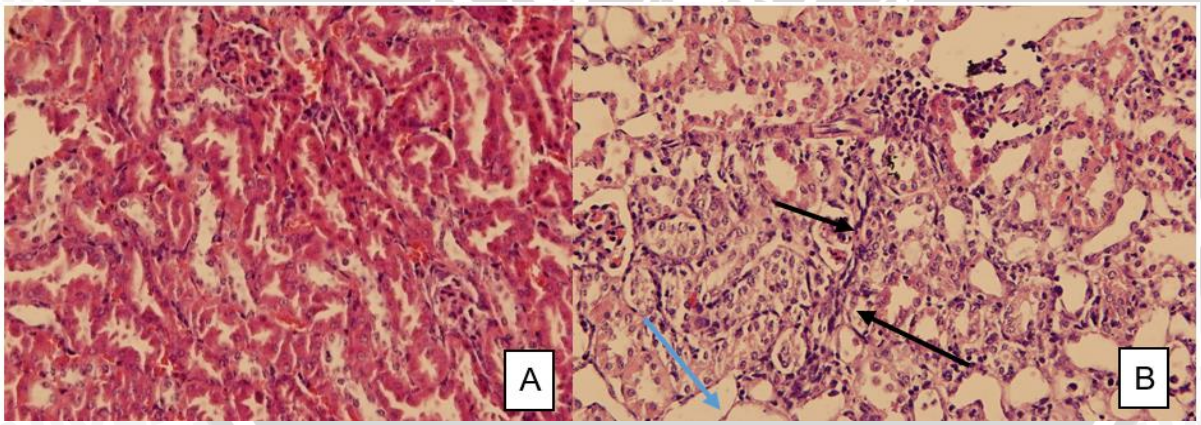
Hasil pengukuran penurunan kadar kreatinin serum, kontrol serta perlakuan dianalisa secara statistik dengan menggunakan program SPSS 16.0 dengan tingkat signifikansi 0,05 (p = 0,05).

HASIL PENELITIAN

Pembuatan Mencit Model Penyakit Ginjal Kronis

Mencit balb/c diinduksi dengan AA sebanyak 2,5mg/kgBB sebanyak 5 hari/minggu selama 2 minggu, dengan fase progresif penyakit selama 1 minggu sebelum diberikan ekstrak *S. cerevisiae*.

Hasil histologi mencit balb/c pada kontrol positif menunjukan terjadinya fibrosis ringan dalam interstitial yang ditunjukan oleh tanda panah hitam dan nekrosis dari tubulus tanda panah biru. Pada kontrol negatif yang tidak diberikan induksi AA nampak gambaran ginjal normal.



Gambar 1. Hasil Pewarnaan Hematoksilin Eosin dari Irisan Ginjal Mencit BALB/C Model Penyakit Ginjal Kronis. Mencit dipapar dengan Aristolochic Acid dosis 2,5mg/KgBB sekali setiap hari selama 5 hari/minggu selama 2 minggu dengan 1 minggu progresifitas penyakit. Panah hitam menunjukan fibrosis ringan dan panah biru menunjukan kerusakan tubulus. (A) kontrol negatif menunjukan gambaran ginjal normal, (B) kontrol positif terjadi fibrosis interstitial dan kerusakan tubulus pada ginjal mencit BALB/C

Hasil Pemeriksaan Kadar Kreatinin Serum

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka disajikan hasil

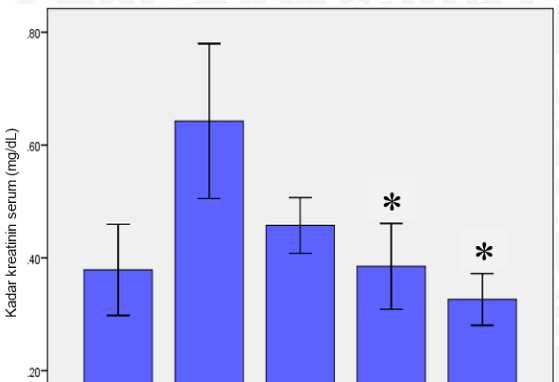
penelitian kadar kreatinin serum sebagai berikut :

Tabel 1. Rata-rata Kadar Kreatinin Serum

Kelompok	Rata-rata kadar kreatinin serum
Kontrol negatif	0,3788 ± 0,0983
Kontrol positf	0,6425 ± 0,1668
Kelompok P1	0,4575 ± 0,0602
Kelompok P2	0,3850 ± 0,0925
Kelompok P3	0,3263 ± 0,0558

Ket : kontrol negatif = tidak diinduksi AA dan tidak diberikan ekstrak *S.cerevisiae*; kontrol positif = diinduksi AA saja; P1: Perlakuan 1 = ekstrak S.cerevisiae 50 mg/KgBB ; P2: perlakuan 2 = ekstrak S.cerevisiae 100 mg/KgBB); P3: Perlakuan 3 = ekstrak S.cerevisiae 200 mg/KgBB.

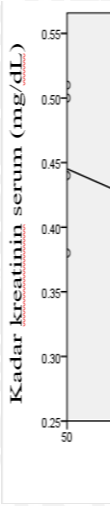
Berdasarkan Tabel 1. dapat diketahui bahwa rata-rata kadar kreatinin serum untuk kontrol negatif sebesar 0,3788, kontrol positif sebesar 0,6425, kelompok P1 sebesar 0,4575 kelompok P2 sebesar 0,3850, dan kelompok P3 sebesar 0,3263. Dari data ini terlihat bahwa rata-rata kadar kreatinin yang paling besar yaitu pada kontrol positif sebesar 0,6425. Berdasarkan data ini, berikut ini disajikan diagram perbandingan rerata kelompok kontrol negatif, kontrol positif dan perlakuan.



Gambar 2. Pengaruh pemberian *Saccharomyces cerevisae* terhadap kadar kreatinin serum mencit model gagal ginjal kronis. Grafik hasil rerata kadar kreatinin serum yang menunjukkan adanya peningkatan kadar kreatinin serum yang signifikan pada kontrol positif jika dibandingkan kontrol negatif. Pada perlakuan 1 (pemberian ekstrak *S. Cerevisae* 50 mg/kgBB), 2 (pemberian ekstrak *S. Cerevisae* 50 mg/kgBB) dan 3 (pemberian ekstrak *S. Cerevisae* 50 mg/kgBB)kadar kreatinin serum mengalami penurunan jika dibandingkan dengan kontrol positif. Selain itu, didapatkan penurunan yang signifikan pada kadar kreatinin serum pada kelompok perlakuan 2 dan perlakuan 3 dibandingkan dengan kontrol positif. *) = hasil signifikan dengan p<0,05

Analisis data dilakukan terhadap hasil pengukuran kadar kreatinin serum pada mencit model gagal ginjal kronis. Teknik pengolahan dan analisis data dilakukan dengan program *SPSS for Windows 18.0* dengan nilai signifikansi 0,05 (p = 0,05) dan taraf kepercayaan 95% (α = 0,05). Langkah-langkah uji hipotesis komparatif dan korelatif dimulai dengan uji normalitas data (Kolmogorov-Smirnov) dan uji homogenitas (Levene). Jika sebaran data normal dan homogen, dilakukan uji *One-Way ANOVA* dan Uji *Post-Hoc* untuk mengetahui nilai perbedaan antar kelompok.

Hasil uji normalitas data dengan menggunakan Kolmogorov-Smirnov menunjukkan persebaran data yang normal dengan nilai p = 0,958 (p > 0,05). Sedangkan uji homogenitas data dengan menggunakan Levene menghasilkan data yang homogen dengan p = 0,257 (p > 0,05). Kemudian pada tahap berikutnya dilakukan uji *One-Way ANOVA* karena persebaran data normal dan homogen. Dari hasil uji *One-Way ANOVA* didapatkan nilai signifikansi sebesar p = 0,005 (p < 0,05). Hal ini menunjukkan terdapat setidaknya dua kelompok yang berbeda secara signifikan. Hasil uji Post-Hoc



diperlukan untuk mengetahui nilai perbedaan tiap kelompok, yang dapat dilihat pada tabel di bawah ini

Tabel 2. Hasil Uji Post-Hoc

Perbandingan antar kelompok		*p-value*	Keterangan
K (-)	K (+)	0,018	Bermakna
	P1	0,812	Tidak Bermakna
	P2	1,000	Tidak Bermakna
	P3	0,948	Tidak Bermakna
K (+)	P1	0,132	Tidak Bermakna
	P2	0,021	Bermakna
	P3	0,004	Bermakna
P1	P2	0,852	Tidak Bermakna
	P3	0,406	Tidak Bermakna
P2	P3	0,924	Tidak Bermakna

Hasil uji *Post-Hoc* menunjukkan perbedaan nilai kadar kreatinin serum yang signifikan antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok kontrol positif (p = 0,018). Hal tersebut menandakan bahwa induksi gagal ginjal kronis hewan coba dapat meningkatkan secara signifikan kadar kreatinin serum pada mencit model gagal ginjal kronis dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif yang tidak diinduksi Aristolochic Acid. Pemberian *Saccharomyces cerevisae* pada perlakuan 2 dan 3 (100mg/kgBB, 200mg/kgBB) menyebabkan perbedaan yang signifikan pada kadar kreatinin serum jika dibandingkan dengan kelompok kontrol positif (*p* = 0,021; 0,004).

Kemudian dilakukan uji korelasi *Pearson* untuk membuktikan korelasi antara peningkatan dosis *Saccharomyces cerevisae* terhadap jumlah kadar kreatinin serum dan didapatkan hasil bahwa arah korelasi adalah negatif, sehingga semakin besar dosis *Saccharomyces cerevisae*, maka semakin kecil jumlah kadar kreatinin serum pada mencit model gagal ginjal kronis.

Gambar 3. uji regresi antara peningkatan dosis *Saccharomyces cerevisae* terhadap kadar kreatinin serum. Dari uji regresi antara peningkatan dosis dengan penurunan kadar kreatinin didapatkan nilai p < 0,05 artinya terdapat hubungan antara peningkatan dosis dengan penurunan kadar kreatinin dimana kekuatan hubungannya adalah kuat (R = -0,635), hal ini membuktikan bahwa peningkatan dosis *Saccharomyces cerevisae* dapat menurunkan kadar kreatinin serum.

PEMBAHASAN

Studi ini dilaksanakan untuk mengetahui efek pemberian Saccharomyces cerevisiae terhadap kadar kreatinin serum pada mencit model gagal ginjal kronis. Induksi aristolochic acid (AA) secara intraperitoneal bertujuan untuk menginduksi terjadinya aristolochic acid nephropathy (AAN) untuk menjadi mencit model gagal ginjal kronis (Sato et al, 2004). Studi ini merupakan studi true experiment yang terdiri dari 5 kelompok, yaitu 2 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan. Kelompok kontrol terdiri dari Kelompok negatif (mencit tanpa diinduksi AA) dan kelompok positif (mencit yang diinduksi AA 2,5 mg/kgBB, tanpa pemberian ekstrak S. cerevisiae). Kelompok perlakuan terdiri dari kelompok perlakuan 1 (mencit yang diinduksi AA 2,5 mg/kgBB dan diberikan personde 50mg/kgBB ekstrak S. cerevisiae), kelompok perlakuan 2 (mencit yang diinduksi AA 2,5 mg/kgBB dan diberikan personde 100/kgBB ekstrak S. cerevisiae), dan kelompok perlakuan 3 (mencit yang diinduksi AA 2,5 mg/kgBB dan diberikan personde 200mg/kgBB ekstrak S. cerevisiae). Ekstrak S. cerevisiae dibuat

melalui proses ekstraksi dengan etanol 96%.

Pada penyakit ginjal kronis, sel-sel ginjal akan mengalami atrofi berupa berkurang jumlah sel-sel. Secara histologi penyakit ginjal kronis dapat ditandai dengan adanya proses fibrosis pada tubulointertitial (Nakagawa, 2015). Pada Penyakit ginjal kronik yang diinduksi oleh aristolohic acid dapat menyebabkan Aristolochic acid nephropathy (AAN), sebuah nephritis intertitial dengan progesivitas cepat yang dapat menjadi gagal ginjal kronis. Akibatnya terjadi kerusakan pada epitel tubular proksimal sehingga terjadi apoptosis yang dapat mengakibatkan atropi pada tubular yang berujung pada penyakit ginjal kronik (Pozdzik, et all, 2008). Patofisiologi dari AAN yang memiliki lesi utama berlokasi di kortek ditunjukan adanya fibrosis intertitial luas dengan atrofi dari tubulus. Infiltrasi seluler pada interstitial jarang ditemukan. Penebalan pada dinding interlobular dan arteriol afferent menyebabkan pembekakan pada sel endothelial. Glomerulus tidak mengalami pembengkakan dan deposit dari sel imun tidak terlihat. Hal ini menunjukan bahwa pusat dari lesi primer terjadi pada dinding pembuluh darah yang akan menyebabkan iskemia dan fibrosis interstitial (Broe, 2014). Pada percobaan in vitro dan in vivo, induksi dari Aristolochic acid dapat mengakibatkan proses apoptosis dari tubular proksimal yang didahului oleh proses atrofi tubular proksimal (Debelle, et all, 2008). Penggunaan aristolohic acid ini telah terbukti mampu menginduksi gagal ginjal kronis pada eksperimen terdahulu. Pengaruh pemberian aristolohic acid terhadap mencit jantan akan memberikan dampak lebih besar dibandingkan dengan mencit betina, karena kandungan zat hidroxiprolin pada mencit jantan lebih banyak 4,7 kali. Hidroxiprolin merupakan suatu zat kolagen dalam ginjal, semakin tinggi kandungannya maka akan memperparah terjadinya fibrosis interstitial (Huang et all, 2013).

Pada penelitian ini, pemberian Saccharomyces cerevisiae dengan dosis 100 mg/KgBB dan 200 mg/KgBB menunjukkan hasil berupa penurunan kadar kreatinin serum pada mencit model gagal ginjal kronis dengan nilai signifikansi 0,05 ($p = 0,05$) dan taraf kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$). Penurunan kadar kreatinin serum ini terjadi karena adanya perbaikan jaringan ginjal yang dipengaruhi oleh beta glucan pada Saccharomyces cerevisiae, terutama jenis beta 1,3d-glucan (Akramienė et al.,2007). Beta glucan dapat mempengaruhi peningkatan granulosit dan mobilisasi granulosit serta progenitornya dengan menstimulasi produksi G-CSF oleh sel makrofag, sel endotel, dan limfosit (Ito et al.,2009) (Root, 1999). Peningkatan GCSF dalam bone marrow akan menyebabkan neutrofil protease (serine protease) terakumulasi didalam bone marrow. Serine protease menyebabkan regulasi ekspresi kemokin stromal cell-derived factor-1 (SDF-1 disebut juga CXCL-12) oleh FOXC-1 didalam CXCL-12 abundant reticular (CAR) menurun sehingga mengakibatkan ikatan CXCR-4 dengan CXCL-12 berpisah (Levesque et al., 2003; Nagasawa, 2015). Terpisahnya ikatan reseptor ligand ini mengakibatkan HSC dapat termobilisasi di darah perifer. Gradien CXCL12 didalam sumsum akan menginduksi ikatan yang kuat antara HSC yang bersikulasi dengan sel endotel melalui CXCR4, diikuti oleh perpindahan dan homing menuju sel stromal. Daerah hipoksia didalam marrow microenvironment menunjukan kadar konsentrasi CXCL12 yang tinggi sehingga akan mempertahankan HSC. Kadar konsentrasi CXCL12 berbanding terbalik dengan tekanan parsial oksigen (pO2), semakin rendah tekanan parsial oksigen maka akan semakin tinggi kadar CXCL12,

begitu dengan sebaliknya jika tekanan parsial oksigen tinggi maka akan menunjukan konsentrasi CXCL12 yang rendah. Homing dari HSC dan non-HSC memerlukan CXCR4. Hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1) akan menginduksi ekspresi CXCL12 secara langsung berdasarkan tekanan parsial oksigen pada daerah tersebut. CXCL12 akan merekrut sel yang mengekspresikan CXCR4 didalam sirkulasi menuju "conditional" stem cell niches sehingga berguna untuk memperbaiki jaringan yang rusak (Jan et all,. 2006). Penyakit ginjal kronik yang diakibatkan oleh AA akan menyebabkan lesi yang berpusat pada pembuluh darah sehingga akan menyababkan iskemia (Broe, 2014). Adanya iskemia ini maka akan membuat HIF-1 menginduksi ekspresi dari CXCL12 sehingga akan menyebabkan gradient yang lebih tinggi. HSC dari sirkulasi akan mengikuti gradien konsentrasi CXCL-12 dari gradien rendah (sumsum tulang) ke gradien tinggi (ginjal) (Togel et al,. 2005). Dengan terjadinya mobilisasi HSC ke dalam ginjal maka akan dapat menginduksi terjadinya mekanisme perbaikan jaringan yang rusak, khususnya sel ginjal yang mengalami kerusakan pada penyakit ginjal kronis (Lin et al.,2009). Hematopoietic stem cell dapat berubah menjadi berbagai sel dewasa (Sell,2004). Pada Penyakit ginjal kronik yang diinduksi oleh aristolohic acid, terjadi kerusakan pada epitel tubular proksimal sehingga terjadi apoptosis yang dapat mengakibatkan atropi pada tubular yang berujung pada penyakit ginjal kronik (Pozdzik, et all, 2008). Kemampuan HSC untuk berubah menjadi sel dewasa salah satunya epithelial dari tubular ginjal inilah maka diperlukan mobilisasi HSC ke dalam ginjal untuk penyembuhan gagal ginjal kronis (Duffield and Bonventre, 2005). Hal ini juga didukung pada penelitian lainnya yang membuktikan bahwa HSC mampu meperbaiki ginjal pada penelitian-penelitian dengan hewan coba model ischemic/reperfusion (I/R) injury, glomerulonephritis, dan alport syndrome (Li et al., 2010, Rookmaaker et al., 2003, Prodromidi et al., 2006). Pada penelitian-peneltian tersebut didapatkan hasil bahwa hematopoietic stem cell memiliki peran dalam perbaikan sel endotel glomerulus dan sel mesangial.

Kejadian perbaikan fungsi fisiologis ginjal yang ditandai dengan penurunan kadar kreatinin serum tersebut disebabkan karena adanya perbaikan maupun regenerasi sel-sel epitel ginjal oleh HSC. Sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak Saccharomyces cerevisiae yang mengandung beta glucan dapat menurunkan kadar kreatinin serum pada mencit model gagal ginjal kronis.

Pada penelitian ini masih terdapat beberapa keterbatasan diantaranya, penelitian ini hanya bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak *Saccharomyces cerevisae* terhadap penurunan kadar kreatinin serum mencit model gagal ginjal kronis, sedangkan dosis ekstrak *Saccharomyces cerevisae* yang efektif terhadap penurunan kadar kreatinin serum belum diketahui. Selain itu, belum diketahui juga efek samping ekstrak Saccharomyces cerevisae apabila dikonsumsi secara terus-menerus.

KESIMPULAN

Pemberian *Saccharomyces cerevisae* dapat menurunkan kadar kreatinin serum secara signifikan pada mencit model gagal ginjal kronis dan ada hubungan antara peningkatan dosis ekstrak *Saccharomyces cerevisae* dengan penurunan kadar kreatinin serum pada mencit model gagal ginjal kronis.

SARAN

Diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mencari dosis optimal *Saccharomyces cerevisiae* pada manusia dan perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk

mengetahui efek samping dari ekstrak *Saccharomyces cerevisiae.*

DAFTAR PUSTAKA

1. Ahmad, Riza, Z. *2005*. Pemanfaatan Khamir *Saccharomyces Cerevisiae* untuk Ternak. Balai Penelitian Veteriner, PC Box 151, Bogor. *Wartazoa* 15(1): 51-55.

2. Akramien, D. *et al*., 2007. Effects of b -glucans on the immune system. *Medicina (Kaunas)*, 43(8), pp.597–606.

3. Barclay, L. 2008. Diabetes Diagnosis & Screening Criteria Reviewed*. Meta Analysis of Observational Studies*. Vol 87: hal 627-3.7

4. Broe, Marc E De. 2014. Nephropathy induced by aristolochic acid (AA) containing herbs. Tersedia di: http://www.uptodate.com/contents/nephropathy-induced-by-aristolochic-acid-aa-containing-herbs. Diakses pada 19 januari 2017.

5. Debelle, et all. 2008. *Aristolochic Acid Nephropathy: A worldwide problem*. Tersedia di http://www.nature.com/ki/journal/v74/n2/fig_tab/ki2008129t4.html#figure-title. Diakses pada 19 Januari 2017.

6. Dirjen POM. 1995. Farmakope Indonesia, Edisi IV. Depkes RI: Jakarta.

7. Duffield, J. S., & Bonventre, J. V. (2005). Kidney tubular epithelium is restored without replacement with bone marrow–derived cells during repair after ischemic injury. *Kidney International*, 68(5), 1956–1961..

8. Erslev, A.J. & Besarab, A. 1997. Erythropoietin in the Pathogenesis and Treatment of the Anemia of Chronic renal Failure. *Kidney Int*. 51: 622-630.

9. Fardiaz, S., 1992. *Mikrobiologi Pangan I.* Gramedia Pustaka Utama, Jakarta. Hal 208-209

10. Floege, J., Johnson, R.J., Feehally, J. 2010. *Comprehensive Clinical Nephrology.* Elsevier Saunders, St. Louis, MO.

11. Franzke A.. 2006. The Role of G-CSF in Adaptive Immunity. *Cytokine Growth Factor Rev*. 17:235–44.

12. First MR. 2001. *Renal Function.* Clinical Chemistry. Edisi KE 3. New York. Mosby.

13. Girindra A, 1989, *Biokimia Patologi; Penuntun Praktikum,* Bogor: PAU IPB.

14. Go AS, Glenn M, Chertow, Fan, Charles E, 2004. *Chronic Kidney Disease and The Risks of Death, Cardiovascular Events, and Hospitalization*. N Engl J Med 351: 1296-1305.

15. Hennemann, B., Ickenstein, G., Sauerbruch, S., Luecke, K., Haas, S., Horn, M., Andreesen, R., Bogdahn, U., Winkler, J., 2008. Mobilization of CD34+hematopoietic cells, Colonyforming Cells and Long-term Culture-Initiating Cells into the Peripheral Blood of Patients with an Acute Cerebral Ischemic Insult*. Cytotherapy*. 10(3):303-11.

16. Hsu CY, Kramer HJ, Nguyen QD, Curhan G., 2003. Renal insufficiency in the absence of albuminuria and retinopathy among adults with type 2 diabetes mellitus. JAMA: The Journal of the American Medical Association. 289(24):3273–3277.

17. Ito, Koichi, Masuda, Yuki, Yamasaki, Yoshihiko, *et al.* 2009.

Maitake Beta- glucan Enhances Granulopoiesis and Mobilozation of Granulocytes by Increasing G-CSF Production and Modulating CXCR4/SDF-1 Expression. International Immunopharmacology 9: 1189-1196.

18. Jan A, Burger, Kipps, Thomas J. 2006. CXCR4: a key receptor in the crosstalk between tumor cells and their microenvironment. Tersedia di: http://www.bloodjournal.org/content/107/5/1761?sso-checked=true. Diakses pada 3 september 2015.

19. Jeyaratnam, J. Boey KW, Foo SC, 1997. Effects of Occupational Exposure to Toluene: Aneuropsychological study on Workers in Singapore. *Ann Acad Med Singapore.* 26(2):84-7.

20. Kim HK., De La Luz Sierra M., Williams C.K., Gulino A.V., Tosato G., 2000. G-CSF Downregulation of CXCR4 expression identified as a mechanism for mobilization of myeloid cells*. Blood.* 108:812–20.

21. Kim, J., Jung, K.J., Park, K.M. 2010. Reactive oxygen species differently regulaterenal tubular epithelial and interstitial cell proliferation after ischemia and reperfusion injury. *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* 298(5) : F1118-F1129.

22. Kidney International Supplements. 2013. *KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease.* USA. Hal 19-21

23. Kusmiati, Ahmad Thontowi, dan Sukma Nuswantara, 2007, Produksi β-Glukan *Saccharomyces cerevisiae* dalam Media dengan Sumber Nitrogen Berbeda pada *Air-Lift Fermentor, Biodiversitas,* Vol. 8, No. 4, 254, hal. 253-256, Pusat Penelitian Bioteknologi, Lembaga Ilmu Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Cibinong-Bogor.

24. Lévesque, J.-P., Hendy, J., Takamatsu, Y., Simmons, P. J., & Bendall, L. J. (2003). Disruption of the CXCR4/CXCL12 chemotactic interaction during hematopoietic stem cell mobilization induced by GCSF or cyclophosphamide. *Journal of Clinical Investigation*, *111*(2), 187–196.

25. Li B., Cohen A., Hudson T. E., Motlagh D, Amrani D. L., Duffield J. S., 2010. *Mobilized human hematopoietic stem/progenitor cells promote kidney repair after ischemia/reperfusion injury.* Circulation 121:2211–2220

26. Lin, T., Helle, S. S., & Duff, S. J. 2007. Optimization of Spent Sulfite Liquor Fermentation. *Enzyme and Microbial Technology, 42*, 259-264.

27. Lin, Hong, Elisa de Stanchina, Xi Kathy Zhou, Feng Hong, Andrew Seidman, Monica Fornier, Wei-Lie Xiao,Edward J. Kennelly, Kathleen Wesa and Barrie R. Cassileth, 2009. *Maitake beta-glucan promotes recovery of leukocytes and myeloid cell function in peripheral blood from paclitaxel hematotoxicity*. Cancer immunology, immunotherapy Volume 59, Number 6, 885-897.

28. Luklukaningsih, Zuyina. 2011. *Anatomi dan Fisiologi Manusia.* Yogyakarta: Nuha Medika. Hal 77

29. Marks D. B., Marks A. D., Smith C. M., 2000. *Biokimia Kedokteran Dasar*. Edisi Ke-1. Jakarta: EGC.

30. Mason, Roger. 2004. *What is Beta Glucan A Concise Guide to the Benefits and Uses of the Most Powerful Natural Immune Enhancer Known to Science.* USA : 561 Shunpike.

31. Mas'ud, Faisol, 2013. Efektifitas *Candida, sp* sebagai Imunostimulan pada Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepenus*) terhadap Infeksi *Aeromonas hidrophylla. Jurnal Ilmu Eksakta*,Vol 1 No.2.
32. Nagasawa. 2015. CXCL12/SDF-1 and CXCR4. Front Immunol. 2015 Jun 12;6:301. doi: 10.3389/fimmu.2015.00301. eCollection 2015.
33. Perhimpunan Dokter Spesialis Penyakit Dalam Indonesia, 2006. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid 1 Edisi 4*. Balai Penerbit FK UI, Jakarta. Hal 44-46
34. Perhimpunan Nefrologi Indonesia (PERNEFRI). 2003. *Konsensus Dialisis Perhimpunan Nefrologi Indonesia*. Jakarta.
35. Prodromidi E. I., Poulsom R., Jeffery R., Roufosse C. A., Pollard P. J., Pusey C. D., Cook H. T., 2006. *Bone marrow-derived cells contribute to podocyte regeneration and amelioration of renal disease in a mouse model of Alport syndrome.* Stem Cells 24:2448–2455
36. Pozdzik, et all. 2008. *Aristolochic Acid Induces Proximal Tubule Apoptosis and Epithelial to Mesenchymal Transformation*. Tersedia di http://www.nature.com/ki/journal/v73/n5/full/5002714a.html. Diakses pada 30 Agustus 2015.
37. Prodjosudjadi Wiguno, Suharjono, 2009, *Detection and Prevention of Chronic Kidney Disease in Indonesia: Initial Community Screening*. Asian Pasific Society of Nephrology; 14(7): 669-674.
38. Rahardjo, Pudji dkk. 2009. Hemodialisis; *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*. Edisi 5. InternaPublishing. Jakarta. Hal. 1050-10520.
39. Rahmawati,Devie.2009.dalam http://www.ui.ac.id/download/siaranpers/Penelitian
40. Biologi_ver2-1.pdf. Diakses pada 5 oktober 2011 pukul 20.30
41. Reed G, Nagodawithana TW. 1991. *Yeast Technology*. Ed ke-2. New York: Van Nostrand Reinhold.
42. Rookmaaker M. B., Smits A. M., Tolboom H., Van't Wout K., Martens A. C., Goldschmeding R., Joles J. A., Van Zonneveld A. J., Grone H. J., Rabelink T. J., Verhaar M. C., 2003. *Bone-marrow-derived cells contribute to glomerular endothelial repair in experimental glomerulonephritis*. Am J Pathol 163:553–562.
43. Root, Richard K and Dale, David C.1999. Granulocyte Colony-Stimulating Factor and Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor: Comparisons and Potential for Use in the Treatment of Infections in Nonneutropenic Patients. The Journal of Infectious Diseases. Vol 179
44. Sanger. 2004. *Peptidase of Saccharomyces cerevisae* . http://merops. Sanger.ac.uk/speccards/peptidase/spOO0895.html. Diakses pada 5 April 2016.
45. Sell, S. 2004. *Stem Cell Handbook ed* (2004): 1-18.
46. Sugiyono, 2010, *Metode Penelitian Bisnis*. Cetakan Ke-11, Bandung: CV. Alfabeta. Hal. 23
47. Suwitra, Ketut. 2009. Penyakit Ginjal Kronik; *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*. Edisi 5.

InternaPublishing. Jakarta. Hal. 1035-1040.

48. Togel, F., et al. 2005. Renal SDF-1 signals mobilization and homing of CXCR4-positive cells to the kidney after ischemic injury. Kidney Int. 2005 May;67(5):1772-84.

49. Parsudi, Imam dkk. 2009. Dialisis Peritoneal; *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*. Edisi 5. InternaPublishing. Jakarta. Hal. 1053-1055.

50. Wahlefeld, 1990, *Triglycerides. Determinations after Enzymatic Hyfdrolysis.* In H.U. Brigmeyer (Ed). Methode of Enzymatic Analysis. 2nd English Ed,Verlag Chemic Weinhelm and Academic Press Inc, New York.

51. Wilson, Lorraine M .2006.patofisiologi. EGC. Jakarta. Hal 68

52. Yaswir, R., Ferawati, I. 2012. *Fisiologi dan Gangguan Keseimbangan Natrium, Kalium dan Klorida serta Pemeriksaan Laboratorium, Jurnal Kesehatan Andalas.*

dr. Dewi Mustika, M.Biomed

NIK. 140387636

Menyetujui,

Pembimbing I