

BAB V

HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA

Penelitian ini dilakukan selama 10 bulan dengan melibatkan 35 ekor mencit BALB/c yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh induksi pristane dalam menimbulkan manifestasi klinis Lupus Eritematosus Sistemik. Variabel yang diukur adalah proteinuria dan lupus nefritis menggunakan pemeriksaan histopatologi.

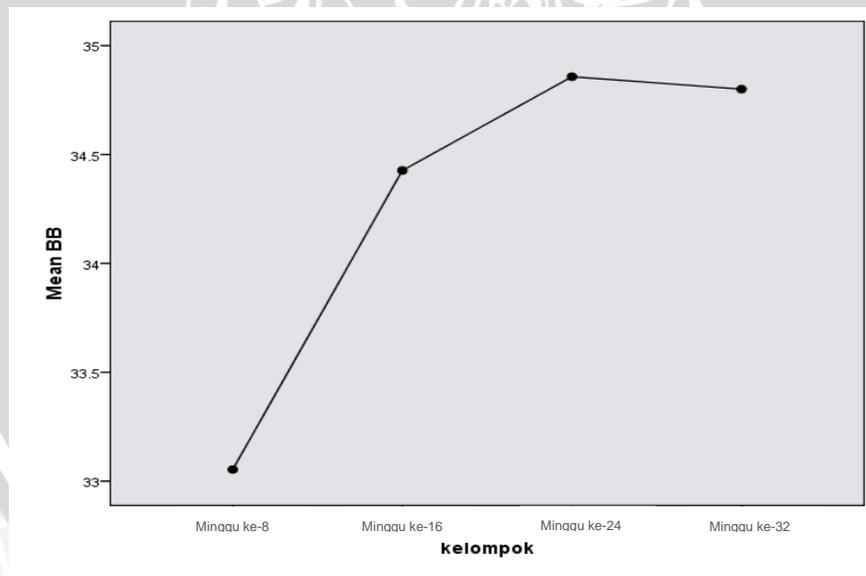
5.1 Karakteristik Sampel Penelitian

5.1.1 Pengukuran Berat Badan pada Mencit yang Diinduksi Pristane

Rerata berat badan mencit diperoleh dari mencit yang diinduksi pristane pada minggu ke-8, 16, 24, dan 32. Hal ini dilakukan untuk mengetahui rata-rata berat badan mencit ditiap kelompok bulannya. Mencit ditimbang satu persatu dengan menggunakan timbangan satuan gram. Hasil pengukuran menunjukkan tidak adanya perubahan yang signifikan pada berat badan. Hanya didapatkan sedikit kenaikan ditiap bulannya. Berikut merupakan tabel yang menunjukkan rerata berat badan mencit :

Tabel 5.1 Rerata berat badan mencit yang diinduksi *pristane*. Hasil menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan

Kelompok	Rerata (gr) ± STD
Minggu ke-8	33.05±5.61
Minggu ke-16	34.43±4.81
Minggu ke-24	34.86±5.75
Minggu ke-32	34.80±7.25



Gambar 5.1 Grafik rerata berat badan mencit yang diinduksi *pristane*

Sebelum dilakukan uji ANOVA, data yang diperoleh untuk setiap perlakuan dengan homogenitasnya dengan menggunakan uji *homogeneity of variance* (uji levene) dan dianalisa distribusi normal atau tidak dengan menggunakan uji *kolmogorof smirnof test*. Data berat badan mencit memiliki distribusi normal dan ragam yang homogen. Selanjutnya dilakukan uji ANOVA, hasilnya adalah terdapat perbedaan pengaruh yang tidak signifikan antara perlakuan.

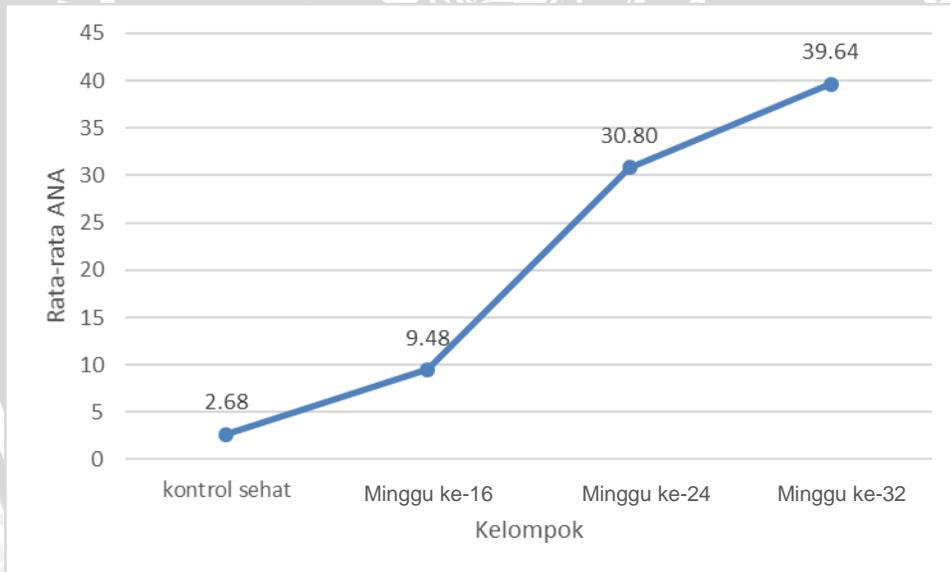
Untuk mengetahui perbedaan antara perlakuan, maka dilakukan uji lanjut dengan menggunakan *Post Hoc tukey*. Hasilnya adalah kelompok perlakuan minggu ke-8 memiliki perbedaan yang tidak signifikan dengan kelompok minggu ke-16, 24 dan 32.

5.2 Pengukuran Kadar Anti Nuclear Antibody

Pengukuran kadar ANA dilakukan untuk menentukan apakah mencit yang sudah diinduksi oleh pristane memiliki penanda sudah terjadinya LES. Tes ANA dilakukan dengan menggunakan metode ELISA dengan hasil dirangkum dalam tabel 5.2 berikut :

Tabel 5.2 Rerata Kadar Anti Nuclear Antibody

Kelompok	Rata-rata ± STD (µg/ml)
kontrol sehat	2.68 ± 1.54
Minggu ke-16	9.48 ±0.50
Minggu ke-24	30.80 ±4.88
Minggu ke-32	39.64 ±6.37



Grafik 5.2 Rerata Kadar Anti Nuclear Antibody

5.3 Analisa Hasil Pengujian *Anti Nuclear Antibody*

Pada penelitian ini terjadi kesalahan pada pengambilan sampel, dimana sampel darah pada minggu ke-8 tidak mencukupi dan terjadi lisis, Sebelum dilakukan pengujian dengan menggunakan ANOVA, data yang diperoleh untuk setiap perlakuan dianalisa kehomogenan ragamnya dengan menggunakan uji *homogeneity of variance* dengan tujuan untuk mengetahui apakah data yang digunakan mempunyai ragam yang sama. Pada hasil pengujian menunjukkan nilai dari *levene test* untuk ANA sebesar 2,800 dengan nilai signifikansi sebesar 0,068 dimana parameter memiliki nilai signifikan yang lebih besar dari alpha 0,05. Oleh karena nilai $p > 0,05$, maka H_0 diterima dan dapat disimpulkan bahwa data yang digunakan mempunyai ragam yang homogen.

Selain uji kehomogenitas ragam juga dilakukan pengujian normalitas data untuk mengetahui apakah data yang diuji mempunyai distribusi yang normal atau tidak dengan menggunakan uji *kolmogorof smirnof test*. Dari hasil pengujian normalitas menunjukkan nilai dari *kolmogorof smirnof test* dengan nilai signifikansi (p) untuk ANA sebesar 0,418. Oleh karena nilai $p > 0,05$, maka H_0 diterima dan dapat disimpulkan bahwa data yang digunakan mempunyai distribusi yang tersebar dengan normal. Dengan demikian pengujian dengan menggunakan ANOVA dapat dilanjutkan karena kedua asumsi sudah terpenuhi. Hasil anova dapat dilihat pada Tabel 5.3

Tabel 5.3 Hasil Uji ANOVA terhadap Kadar ANA

ANOVA					
ANA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4783.961	3	1594.654	98.163	.000
Within Groups	292.408	18	16.245		
Total	5076.370	21			

Berdasarkan pada hasil analisis ANOVA pada Tabel 5.3 didapatkan bahwa nilai sig. F untuk ANA sebesar 0.000. Karena untuk parameter ANA mempunyai nilai $p < 0,05$, maka tolak H_0 , yang berarti bahwa terdapat perbedaan pengaruh yang signifikan. Selanjutnya, untuk mengetahui perbedaan antara perlakuan, maka dilakukan uji lanjut dengan menggunakan *Post Hoc Test* dengan hasil pengujian pada tabel 5.4 berikut:

Tabel 5.4 Hasil Uji *Post Hoc Test* terhadap Kadar ANA

ANOVA				
Tukey HSD ^{a,b}				
Kelompok	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
kontrol sehat	5	2.680		
bulan ke-4	6	9.483		
bulan ke-6	6		30.800	
bulan ke-8	5			39.640
Sig.		.054	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

- a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.455.
- b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

Dari hasil tes *Tukey HSD* diketahui jika kelompok kontrol sehat memiliki perbedaan yang signifikan dengan kelompok minggu ke-24 dan minggu ke-32. Untuk mengetahui lebih lanjut mengenai perbedaan nilai rata – rata kelompok perlakuan tersebut ditunjukkan jika perlakuan memiliki rata-rata yang terletak pada kolom berbeda. Analisa post Hoc Test dapat dilihat pada tabel 5.5 berikut:

Tabel 5.5 Analisa Hasil *Post Hoc Test* terhadap ANA

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Sig.	Keterangan
kontrol sehat	minggu ke-16	-6.803	0.054	Berbeda Tidak Nyata
	minggu ke-24	-28.120	0.000	Berbeda Nyata
	minggu ke-32	-36.960	0.000	Berbeda Nyata
minggu ke-16	kontrol sehat	6.803	0.054	Berbeda Tidak Nyata
	minggu ke-24	-21.317	0.000	Berbeda Nyata
	minggu ke-32	-30.157	0.000	Berbeda Nyata
minggu ke-24	kontrol sehat	28.120	0.000	Berbeda Nyata
	minggu ke-16	21.317	0.000	Berbeda Nyata
	minggu ke-32	-8.840	0.010	Berbeda Nyata
minggu ke-32	kontrol sehat	36.960	0.000	Berbeda Nyata
	minggu ke-16	30.157	0.000	Berbeda Nyata
	minggu ke-24	8.840	0.010	Berbeda Nyata

Dari tabel 5.5 diketahui jika kelompok kontrol sehat memiliki perbedaan yang signifikan dengan kelompok minggu ke 24 dan minggu ke 32. Namun untuk kelompok kontrol sehat memiliki perbedaan yang tidak signifikan dengan kelompok minggu ke 16 karena terletak pada kolom yang sama. Hal ini mengindikasikan bahwa terjadi autoimunitas pada mencit pada minggu ke-24 dan minggu ke-32.

5.4 Pengaruh Induksi Pristane terhadap Terjadinya Proteinuria

Penelitian ini untuk mengetahui pengaruh pristane terhadap terjadinya proteinuria. Pemeriksaan proteinuria dilakukan dengan menggunakan metode *Boiling and Acetic acid Test*. Untuk data hasil dari pemeriksaan dapat dilihat pada Tabel 5.6

Tabel 5.6 Data pengukuran proteinuria

Kelompok	Derajat Proteinuria				
	0	+1	+2	+3	+4
Kontrol	4	2			
Minggu ke-8	2	3			
Minggu ke-16	1	1	4		
Minggu ke-24			3	2	1
Minggu ke-32				3	2

Keterangan Tabel :

0 : jernih

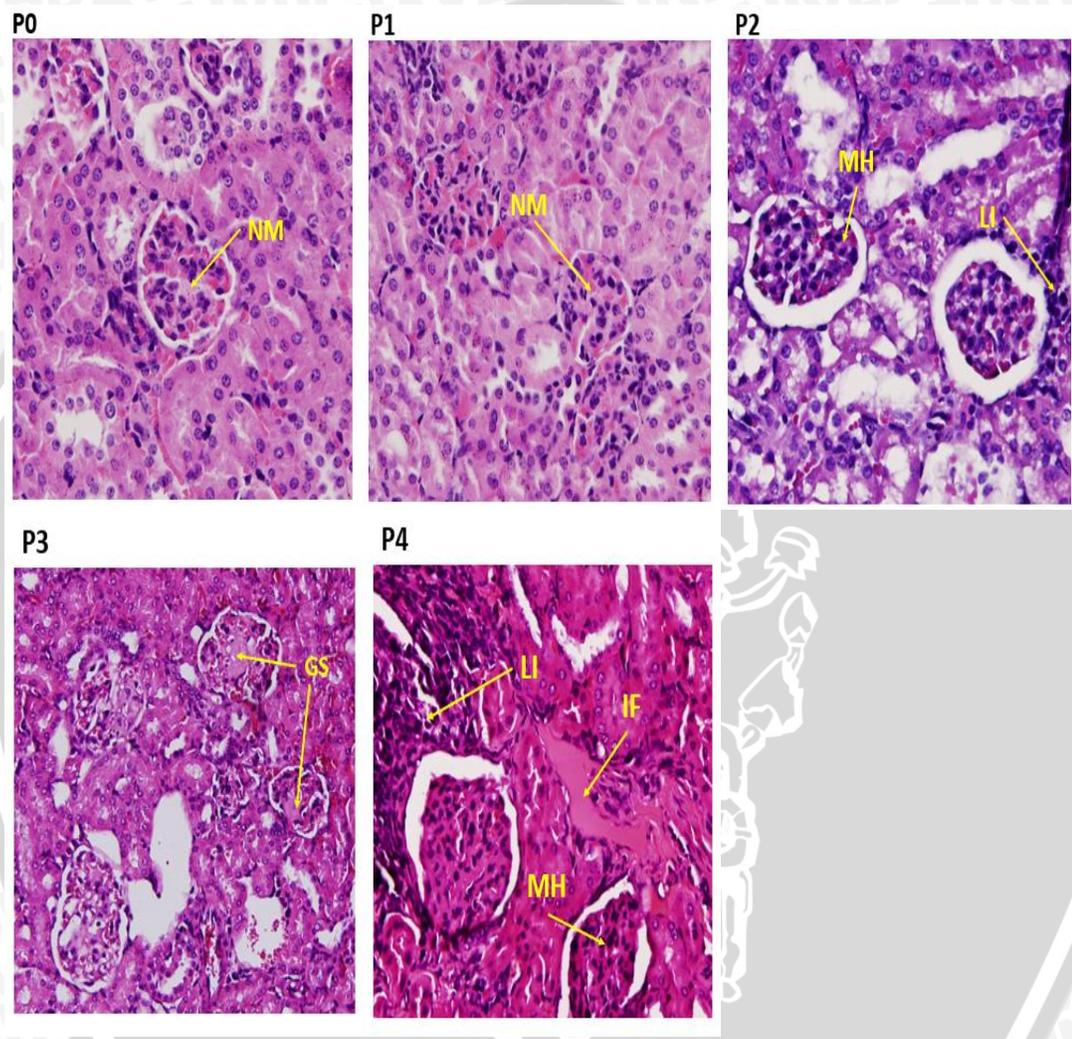
+1 : sedikit keruh (10-50 mg/dl)

- +2 : keruh dan terdapat sedikit gelembung udara (50-200 mg/dl)
- +3 : keruh dan terdapat kepingan endapan (200-500 mg/dl)
- +4 : sangat keruh dan endapat terlihat jelas (>500 mg/dl)

Dari tabel berikut dapat dilihat bahwa terdapat peningkatan derajat proteinuria pada tiap 8 minggu. Derajat 0, +1, dan +2 yang nilainya tidak bermakna pada penyakit lupus, tetapi mulai minggu ke-24 derajat proteinuria telah mencapai +3 dan +4, dimana hasil ini termasuk dalam kriteria penyakit lupus menurut *America College of Rheumatology*, dan jika didapat proteinuria dengan minimal derajat +3 dapat dicurigai sebagai lupus nefritis.

5.5 Pengaruh Induksi Pristane terhadap Terjadinya Kerusakan Ginjal secara Histopatologi

Penelitian ini untuk melihat pengaruh pristane terhadap timbulnya kerusakan ginjal secara histopatologi anatomi. Pengujian dilakukan dengan cara mengukur derajat nefritis lupus dengan menggunakan klasifikasi histologi *Class* berdasarkan *International Society of Nephrology (ISN)* dan *Renal Pathology Society (RPS)*. Gambar 5.1 menunjukkan representasi histopatologi dari nefritis lupus berdasarkan dari kelompok pemberian pristane pada pemeriksaan dengan mikroskop cahaya.



Gambar 5.1 Representasi histopatologi nefritis lupus pada pemberian pristane (HE, 400x). P0: Kelompok kontrol, P1: 8 minggu paska induksi pristane, P2: 16 minggu paska induksi pristane, P3 : 24 minggu paska induksi pristane, P4: 32 minggu paska induksi pristane. Keterangan gambar, NM: Normal Mesangial; MH: Mesangial Hypercellularity; LI: Leukosit Infiltration; GS: Glomerular Sclerosis; IF: Interstitial Fibrosis

Bedasarkan gambar tersebut maka dilakukan pengklasifikasian derajat lupus nefritis dalam Tabel 5.7 berikut:

Tabel 5.7 Tabel Klasifikasi Histopatologi Anatomi

Variabel	Kontrol (n=6)	Minggu ke-8 (n=5)	Minggu ke-16 (n=6)	Minggu ke-24 (n=6)	Minggu ke-32 (n=5)
Kelas I	6/6 (100%)	5/5 (100%)	0/6 (0%)	0/6 (0%)	0/5 (0%)
Kelas II	0/6 (0%)	0/5 (0%)	5/6 (83.3%)	0/6 (0%)	0/5 (0%)
Kelas III	0/6 (0%)	0/5 (0%)	1/6 (16.7%)	3/6 (50%)	1/5 (20%)
Kelas IV	0/6 (0%)	0/5 (0%)	0/6 (0%)	3/6 (50%)	4/5 (80%)
Kelas V	0/6 (0%)	0/5 (0%)	0/6 (0%)	0/6 (0%)	0/5 (0%)
Kelas VI	0/6 (0%)	0/5 (0%)	0/6 (0%)	0/6 (0%)	0/5 (0%)

Pada Tabel 5.7 dapat dilihat bahwa pada kelompok kontrol dan minggu ke-8 masih terdapat gambaran nefritis lupus kelas I dengan adanya gambaran sel mesangial normal pada semua mencit (6 dari 6 dan 5 dari 5 mencit) dan kenaikan dari kelas/grade mulai terlihat pada minggu ke-16 hingga pada minggu ke-32 dimulai dengan nefritis lupus kelas II yang tampak dengan adanya proliferasi sel mesangial (*mesangial hypercellularity*), kelas III yang tampak dengan adanya *focal* nefritis lupus dengan gambaran lesi aktif maupun lesi kronis serta kelas IV yang tampak dengan adanya *diffuse* nefritis lupus dengan gambaran lesi aktif maupun kronis. Dalam nefritis lupus derajat III dan IV didapatkan adanya peningkatan jumlah sel mesangial serta sel radang pada interstitial sebagai salah satu penanda dari indeks aktivitas dan/atau *glomerular sklerosis*, *interstitial fibrosis* yang menandakan indeks kronisitas pada nefritis lupus.

5.6 Pengaruh Induksi Pristane terhadap Indeks aktivitas

Penelitian ini ingin membuktikan adanya perbedaan yang signifikan mengenai gambaran histopatologi yang dilihat dari indeks aktivitas yang terjadi pada nefritis lupus. Pengujian dilakukan dengan cara mengukur indeks aktivitas dengan menggunakan parameter dari *National Institute of Health*. Untuk hasil pengukuran dapat dilihat dari Tabel 5.8

Tabel 5.8 Rerata Indeks Aktivitas Nefritis Lupus

Variabel	Kontrol (n=6)	Minggu ke-8 (n=5)	Minggu ke-16 (n=6)	Minggu ke-24 (n=6)	Minggu ke-32 (n=5)
Indeks aktivitas	0	0	3.33±1.63	6.33±1.50	8.20±1.64

Sebelum dilakukan pengujian dengan menggunakan ANOVA, data yang diperoleh untuk setiap perlakuan dianalisa homogenitas ragamnya dengan menggunakan uji *homogeneity of variance* dengan tujuan untuk mengetahui apakah data yang digunakan mempunyai ragam yang sama. Pada hasil pengujian menunjukkan nilai dari levene test dengan nilai signifikansi lebih kecil dari alpha 0,05. Oleh karena nilai $p < 0,05$, maka H_0 ditolak dan dapat disimpulkan bahwa data yang digunakan mempunyai ragam yang tidak homogen.

Selain uji kehomogenitas ragam juga dilakukan pengujian normalitas data untuk mengetahui apakah data yang diuji mempunyai distribusi yang normal atau tidak dengan menggunakan uji *kolmogorof smirnof test*. Dari hasil pengujian

normalitas menunjukkan nilai signifikansi (p) lebih kecil 0,05. Oleh karena nilai $p < 0,05$, maka H_0 ditolak dan dapat disimpulkan bahwa data yang digunakan mempunyai distribusi yang tidak tersebar dengan normal. Karena data tidak memenuhi uji homogenitas dan uji normalitas, maka pengujian dilanjutkan menggunakan uji statistik non-parametrik *Kruskal Wallis*. Hasil uji *Kruskal Wallis* dapat pada Tabel 5.9

Tabel 5.9 Hasil Uji *Kruskal Wallis* Skor Aktivitas Nefritis Lupus

Test Statistics^{a,b}

	Ginjal_activity
Chi-Square	25.084
df	4
Asymp. Sig.	.000

- a. Kruskal Wallis Test
b. Grouping Variable: kelompok

Dari uji *Kruskal Wallis* jika didapatkan nilai signifikansi $< 0,05$, hal ini berarti bahwa kelompok perlakuan memberikan perbedaan yang signifikan atau minimal salah satu dari kelima kelompok yang digunakan berbeda dengan kelompok yang lain. Selanjutnya, untuk mengetahui perbedaan antara kelompok perlakuan maka digunakan uji *Mann Whitney*. Hasil uji *Mann Whitney* dapat pada Tabel 5.10

Tabel 5.10 Hasil Uji Mann Whitney Skor Aktivitas Nefritis Lupus
Mann Whitney Ginjal Activity

Sig.	Control	8th WeekPIL	16 th WeekPIL	24th WeekPIL	32th WeekPIL
Control	-	P = 1.000	P = 0.002	P = 0.002	P = 0.003
8th WeekPIL	-	-	P = 0.004	P = 0.004	P = 0.005
16 th WeekPIL	-	-	-	P = 0.014	P = 0.005
24th WeekPIL	-	-	-	-	P = 0.064
32th WeekPIL	-	-	-	-	-

Berdasarkan Tabel 5.10 didapatkan uji Mann Whitney untuk parameter skor aktivitas nefritis lupus didapatkan bahwa aktivitas nefritis lupus pada kelompok kontrol dan minggu ke-8 tidak menunjukkan hasil yang signifikan ($p > 0,05$), namun mulai menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) dan peningkatan rata-rata indeks aktivitas pada minggu ke-16, minggu ke-24 dan minggu ke-32.

5.7 Pengaruh Induksi Pristane terhadap Indeks kronisitas

Penelitian ini ingin membuktikan adanya perbedaan yang signifikan mengenai gambaran histopatologi yang dilihat dari indeks kronisitas yang terjadi pada nefritis lupus. Pengujian dilakukan dengan cara mengukur indeks kronisitas

dengan menggunakan parameter dari *National Institute of Health*. Untuk hasil pengukuran dapat dilihat dari Tabel 5.11

Tabel 5.11 Rerata Indeks Kronisitas Nefritis Lupus

Variabel	Kontrol (n=6)	Minggu ke-8 (n=5)	Minggu ke-16 (n=6)	Minggu ke-24 (n=6)	Minggu ke-32 (n=5)
Indeks kronisitas	0	0	0	1.17±1.17	1.20±2.16

Pada Tabel 5.11 didapatkan bahwa kronisitas nefritis lupus pada kelompok kontrol, minggu ke-8 dan minggu ke-16 tidak menunjukkan perbedaan, namun kronisitas nefritis lupus baru muncul pada minggu ke-24 dan minggu ke-32.