

**UJI EFIKASI IMUNOTERAPI MENGGUNAKAN ESCALATING DOSE**

**ANTIGEN SPECIFIC SELF-ANTIGEN dsDNA TERHADAP KADAR**

**PROTEINURIA PADA MENCIT MODEL LUPUS INDUKSI PRISTANE**

**TUGAS AKHIR**

**UNTUK MEMENUHI PERSYARATAN**

**MEMPEROLEH SARJANA KEDOKTERAN**



Oleh:

**Vigyan Dananjaya**

**NIM. 165070107111047**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER**

**FAKULTAS KEDOKTERAN**

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**MALANG**

**2019**





**HALAMAN PENGESAHAN**

**TUGAS AKHIR**

**UJI EFikasi IMUNOTERAPI MENGGUNAKAN ESCALATING DOSE ANTIGEN  
SPECIFIC SELF-ANTIGEN dsDNA TERHADAP KADAR  
PROTEINURIA PADA MENCIT MODEL LUPUS INDUKSI PRISTANE**

Oleh :

**VIGYAN DANANJAYA**  
**NIM: 165070107111047**

Telah diikutsertakan dalam *Research Paper Competition International  
Scientific Competition of Medical Fiesta 2018*  
Malang, 26 Oktober 2018

Pembimbing I/Penguji II,

Pembimbing II/Penguji III,

Prof. Dr. dr. Kusworini, M.Kes, SpPK  
NIP. 195603311988022001

dr. Reyhan Andika Firdausi, Sp. F  
NIP. 2013098812201001

Mengetahui,  
Ketua Program Studi Pendidikan Dokter

dr. Triwahju Astuti, M.Kes, Sp.P(K)  
NIP. 196310221996012001



KEPUTUSAN  
DEKAN FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
NOMOR 345 TAHUN 2019

TENTANG  
PEMBERIAN PENGHARGAAN KEPADA MAHASISWA BERPRESTASI  
PESERTA PIMNAS XXXII DAN ATAU KOMPETISI NASIONAL  
TINGKAT KEMENTERIAN / DIKTI / LIPI SERTA KOMPETISI INTERNASIONAL TAHUN  
AKADEMIK 2019/2020

DEKAN FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA,

- Menimbang :
- a. bahwa untuk peningkatan atmosfer akademik di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya perlu di tingkatkan kegiatan-kegiatan kemahasiswaan yang bernuansa akademis;
  - b. bahwa dalam meningkatkan motivasi dan mendorong partisipasi para mahasiswa dalam kegiatan yang bernuansa tersebut perlu adanya penghargaan;
  - c. bahwa berdasarkan pertimbangan sebagaimana dimaksud dalam huruf a dan b, perlu diterbitkan Keputusan Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya tentang Pemberian Penghargaan Kepada Mahasiswa Berprestasi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Peserta Pimnas XXXII dan atau Kompetisi Nasional Tingkat Kementerian/ DIKTI/ LIPI serta Kompetisi Internasional Tahun Akademik 2019/2020;
- Mengingat :
- 1. Undang-undang Nomor 20 Tahun 2003 Tentang Sistem Pendidikan Nasional Nasional (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2003 Nomor 78, Tambahan Lembar Negara Republik Indonesia Nomor 4301 );
  - 2. Undang-undang Nomor 12 Tahun 2012 tentang Pendidikan Tinggi (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2012 Nomor 158, Tambahan Lembara Negara Republik Indonesia Nomor 5336);
  - 3. Peraturan Pemerintah Nomor 17 Tahun 2010 tentang Pengelolaan dan Penyelenggaraan Pendidikan (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2010 Nomor 23, Tambahan Lembaran Negara Republik Indonesia Nomor 5105) sebagaimana telah diubah dengan Peraturan Pemerintah Nomor 66 Tahun 2010 tentang Pengelolaan dan Penyelenggaraan Pendidikan (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2010 Nomor 112, Tambahan Lembaran Negara Republik Indonesia Nomor 5157);
  - 4. Keputusan Mendiknas Republik Indonesia Nomor 232/U/2000 tentang Pedoman Penyusunan Kurikulum Pendidikan Tinggi dan Penilaian Hasil Belajar Mahasiswa;
  - 5. Keputusan Mendiknas Republik Indonesia Nomor 080/O/2002 tentang Statuta Universitas Brawijaya;

MEMUTUSKAN

- Menetapkan :** KEPUTUSAN DEKAN FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA TENTANG PEMBERIAN PENGHARGAAN KEPADA MAHASISWA BERPRESTASI FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA PESERTA PIMNAS XXXII DAN ATAU KOMPETISI NASIONAL TINGKAT KEMENTERIAN / DIKTI / LIPI SERTA KOMPETISI INTERNASIONAL TAHUN AKADEMIK 2019/2020.
- KESATU :** Memberikan Penghargaan kepada Mahasiswa anggota Tim PIMNAS XXXII dan atau Kompetisi-kompetisi Nasional Tingkat Kementerian / DIKTI / LIPI serta Kompetisi Internasional Tahun Akademik 2019/2020 yang susunan anggotanya seperti tercantum dalam lampiran Surat Keputusan ini.
- KEDUA :** Bentuk penghargaan berupa pembebasan para anggota Tim Mahasiswa dari kewajiban akademis pembuatan Karya Ilmiah Tugas Akhir regular, dengan tetap berkewajiban menyerahkan naskah karya ilmiah yang diikutinya oleh masing-masing mahasiswa.
- KETIGA :** Memberikan nilai prestasi Akademis A pada Karya Ilmiah Tugas Akhir bagi setiap mahasiswa anggota TIM oleh karena capaian prestasi berskala nasional yang diperoleh pada PIMNAS XXXII dan atau Kompetisi-kompetisi Nasional Tingkat Kementerian / DIKTI / LIPI serta Kompetisi Internasional pada Tahun Akademik 2019/2020.
- KEEMPAT :** Memberikan dana pembinaan kepada setiap kelompok dari Tim Mahasiswa sesuai dengan capaian prestasi pada PIMNAS XXXII dan Kompetisi Nasional serta Kompetisi Internasional.
- KELIMA :** Menugaskan kepada lembaga-lembaga di lingkungan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang terkait dengan ini untuk menindaklanjuti keputusan ini.
- KEENAM :** Keputusan Dekan ini mulai berlaku pada tanggal ditetapkan.

Ditetapkan di Malang  
pada tanggal 01 November 2019

DEKAN,  
  
 WISNU BARLIANTO  
 NIP 197307262005011008

Tembusan :

1. Rektor Universitas Brawijaya
2. Segenap Wakil Dekan di Lingkungan FKUB
3. Segenap Ka. Jur. dan KPS di Lingkungan FKUB
4. Segenap Ka. Dep di Lingkungan FKUB
5. Presiden BEM FKUB

Lampiran Keputusan Dekan FKUB  
Nomor 345 Tahun 2019  
Tanggal 01 November 2019

PEMBERIAN PENGHARGAAN KEPADA MAHASISWA BERPRESTASI  
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
PESERTA PIMNAS XXXII DAN ATAU KOMPETISI NASIONAL  
TINGKAT KEMENTERIAN / DIKTI / LIPI SERTA KOMPETISI INTERNASIONALTAHUN  
AKADEMIK 2019/2020

NO	NAMA	NIM	KEGIATAN	TINGKAT	CAPAIAN PRESTASI
1	Nadya Vira Saputri	165070101111020	Hasanuddin Scientific Fair 2019	Nasional	Juara 1 Research Paper Congress
2	Rivaldo Brahmantio Hardani	165070101111067	Hasanuddin Scientific Fair 2019	Nasional	Juara 1 Research Paper Congress
3	Joshua Tande Jayapratama	165070107111036	Medical Fiesta 2018	Internasional	2 <sup>nd</sup> Winner of Research Paper Competition
4	Ade Siska	165070100111068	Medical Fiesta 2018	Internasional	2 <sup>nd</sup> Winner of Research Paper Competition
5	Vigyan Dananjaya	165070107111047	Medical Fiesta 2018	Internasional	2 <sup>nd</sup> Runner Ip of Research Paper Competition
6	Aviola Anggita Gunardi	165070100111069	Medical Fiesta 2018	Internasional	3 <sup>rd</sup> Tunner Up of Research Paper Competition
7	Bigy Nuuron Dana	165070100111003	International Invention & Innovative Competition (InIIC Series 1/2019)	Internasional	Gold Award
8	Aminah Rahmayani Hsb	175070101111066	The 2nd World Invention Technology Expo	Internasional	Silver Award

9	Ihsanul Fikri	175070201111009	The 2nd World Invention Technology Expo	Internasional	Silver Award
10	Gerry Rinaldi	175070207111012	The 2nd World Invention Technology Expo	Internasional	Silver Award
11	Afiyfh Kiysa Waafi	165070100111025	International Invention & Innovative Competition (InIIC Series 2/2019)	Internasional	Bronze Award
12	Muhammad Syarif Utama	155070100111009	International Invention & Innovative Competition (InIIC Series 2/2019)	Internasional	Silver Award


  
 DEKAN,
   
 WISNU BARLIANTO
   
 NIP.197307262005011008



## Kata Pengantar

Segala puji hanya bagi Ida Sang Hyang Widhi Wasa yang telah memberi petunjuk dan Waranugraha-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir dengan judul

“ Uji Efikasi Imunoterapi Menggunakan Self-Antigen dsDNA terhadap Kadar Proteinuria pada Mencit Lupus Induksi Pristane”

Dengan selesainya Tugas Akhir ini penulis mengucapkan terimakasih yang tak terhingga kepada :

1. **dr. Wisnu Barlianto, Sp.A(K), M.Kes**, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang telah memberikan saya kesempatan menuntut ilmu di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
2. **dr. Triwahju Astuti, M.Kes, SpP(K)**, selaku Ketua Program Studi Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya
3. **Prof. Dr. dr. Kusworini, M.Kes, SpPK** sebagai pembimbing pertama yang telah banyak meluangkan waktunya untuk membimbing saya dengan sabar dan senantiasa memberi semangat sehingga saya dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini.
4. **dr. Reyhan Andika Firdausi, Sp. F** sebagai pembimbing kedua yang telah banyak meluangkan waktunya untuk membimbing saya dengan sabar dan senantiasa memberi semangat sehingga saya dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini.
6. Kedua orang tua saya, yaitu **I Wayan Agung Indrawan** dan **Dwi Septiana Erminingroem** beserta kakak penulis **Alfryan Janardhana** dan adik saya



**Srestha Indra Cahya** tercinta yang selalu memberikan doa, motivasi, dan semangat tanpa henti.

7. **Bu Tarina, Pak Didin, Pak Memet, Pak Slamet dan Pak Budi** selaku analis

laboratorium Parasitologi FKUB, laboratorium Mikrobiologi, dan Laboratorium sentral biomedik yang dengan sabar membantu serta membimbing saya dalam menyelesaikan penelitian ini.

8. Kepada sahabat terdekat saya **Nafilah Fauziah M** dan sahabat-sahabat penelitian saya **Rivaldo, Nadya Vira Saputri, Ade Siska, Joshua Tande**

**Jayapratama, Aviola Anggita** terima kasih atas semangat, doanya, dan segala hal yang kita lalui bersama.

9. Semua teman-teman Program Studi Kedokteran Angkatan 2016, kelas

**PD-B**, serta kakak tingkat mentor penelitian, **Kak Syaiful Arifin, Kak Thoha M. Albaar, Kak Khoirunisah D Hartanti, Kak Retna Gumilang, Kak Naya A**

**Dharmesta** dan adik tingkat yang memberikan doa, bimbingan dan semangatnya.

10. Semua pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan Proposal Tugas

Akhir ini.

Penulis menyadari bahwa penulisan ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis membuka diri untuk segala saran dan kritik yang membangun. Akhirnya, semoga Proposal Tugas Akhir ini dapat bermanfaat bagi yang membutuhkan.

Malang, 20 Januari 2019

Penulis

**ABSTRAK**

Dananjaya, Vighan. 2019. **Uji Efikasi Imunoterapi menggunakan Escalating Dose Antigen Specific Self-Antigen dsDNA terhadap Kadar Proteinuria pada Mencit Model Lupus Induksi Pristane.** Tugas Akhir. Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya. Pembimbing : (1) Prof. Dr.dr. Kusworini, M.Kes, Sp.PK , (2) dr. Reyhan Andika Firdausi, Sp.F

Lupus Eritematosus Sistemik adalah kelainan fungsi dari sistem imun yang ditandai dengan inflamasi secara sistemik dan menimbulkan berbagai manifestasi klinik dikarenakan kehilangan toleransi terhadap antigen sel. Masalah saat ini pada LES dikarenakan belum adanya terapi definitif. Metode terapi yang sedang dikembangkan adalah peningkatan dosis imunoterapi (EDI) menggunakan *self-antigen*.

Mencit Balb /C betina sehat diberikan suntikan secara intraperitoneal 0,5 ml pristane. Setelah diinjeksikan, Mencit ditunggu 8-12 minggu untuk dievaluasi manifestasi klinik dan serologis. Mencit dengan tanda lupus (tikus PIL) dibagi menjadi dua kelompok; kelompok kontrol positif dan PIL (0,5 µg / ml, 5 µg / ml, 50 µg / ml) kelompok perlakuan. EDI dsDNA diberikan satu kali setiap minggu secara berurutan. Diberikan dengan dosis akan meningkat setiap minggu. dsDNA dikomplekskan dengan polyethylenimine kationik (PEI) sebelum injeksi. Uji Efikasi terapi EDI dsDNA dilakukan dengan mengukur kadar Proteinuria menggunakan *dipstick urinalysis*.

Hasil penelitian menunjukkan pada Mencit Balb/c betina kelompok kontrol positif memiliki perbedaan rerata kadar proteinuria yang signifikan 0,009(p<0,05) dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif dan kelompok perlakuan 0,028 (<0,05). Desensitisasi dengan menggunakan Escalating Dose Antigen Specific self-antigen dsDNA pada kelompok EDI dsDNA menunjukkan perbedaan rerata yang signifikan 0,047 (p<0,05) dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Dari hasil penelitian ini, terapi menggunakan EDI dsDNA memiliki efikasi yang baik berdasarkan tingkat kadar proteinuria pada kelompok perlakuan lebih rendah secara signifikan p= 0,009 (p<0,05) dibandingkan dengan kelompok kontrol positif.

Desensitisasi menggunakan self-antigen dsDNA digabungkan ke PEI memiliki efikasi yang baik terhadap kadar Proteinuria dan potensial untuk dikembangkan lebih lanjut sebagai imunoterapi baru, aman dan efektif terhadap SLE BALB / c tikus yang diinduksi oleh pristane .

**Kata Kunci** : Lupus Eritematosus Sistemik, dsDNA, escalating dose, proteinuria, efikasi

**ABSTRAK**

Dananjaya, Vigan. 2019. **Immunotherapy Efficacy Test using Escalating Dose Antigen Specific Self-Antigen dsDNA on the Proteinuria Levels of the Lupus Mice Model.** Final Assignment Medical Program, Faculty of Medicine, Brawijaya University. Supervisors: (1) Prof. Dr.dr. Kusworini, M.Kes, Sp.PK, (2) dr. Reyhan Andika Firdausi, Sp.F

Systemic Lupus Erythematosus is a function disorder of the immune system that is characterized by systemic inflammation and results in various clinical manifestations due to loss of tolerance to cell antigens. Current therapies of LES are due to the absence of definitive therapy. The therapeutic method being developed is Escalating dose immunotherapy (EDI) using self-antigens.

Healthy female Balb / C mice were given intraperitoneal injections of 0.5 ml pristane. After injection, the mice were waited for 8-12 weeks to be evaluated for clinical and serological manifestations. Mice with signs of lupus (PIL mice) are divided into two groups; positive control group and PIL (0.5  $\mu\text{g}$  / ml, 5  $\mu\text{g}$  / ml, 50  $\mu\text{g}$  / ml) treatment group. EDI dsDNA were administered once every week consecutively. Given with a dose that would increase every week. dsDNA is complexed with polyethylenimine cationic (PEI) before injection. Efficacy test of EDI dsDNA therapy was carried out by measuring Proteinuria levels using dipstick urinalysis.

The results showed that in female mice Balb / c positive control group had a significant difference in proteinuria levels which was significant 0.009 ( $p < 0.05$ ) compared to the negative control group and the treatment group 0.028 ( $< 0.05$ ). Desensitization using Escalating Dose Antigen Specific self-antigen dsDNA in the EDI dsDNA group showed a significant mean difference of 0.047 ( $p < 0.05$ ) compared with the negative control group. From the results of this study, EDI dsDNA therapy had a good efficacy based on the level of proteinuria in the treatment group significantly lower  $p = 0.009$  ( $p < 0.05$ ) compared to the positive control group.

Desensitization using self-antigen dsDNA coupled to PEI has good efficacy on Proteinuria levels and has the potential to be further developed as new, safe and effective immunotherapy against SLE BALB / c rats induced by pristane.

**Keywords** : Systemic Lupus Erythematosus, dsDNA, escalating dose, proteinuria, efficacy

**DAFTAR ISI**

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
SK DEKAN.....	iii
SERTIFIKAT LOMBA.....	vii
KATA PENGANTAR.....	viii
ABSTRAK.....	x
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xv
DAFTAR GAMBAR.....	xvi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvii
DAFTAR SINGKATAN.....	xviii
<b>BAB 1. PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	5
1.3 Tujuan Penelitian.....	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
1.4.1 Manfaat Akademik.....	5
1.4.2 Manfaat Praktis.....	5
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>7</b>
2.1 Lupus Eritematosus Sistemik.....	7
2.1.1 Definisi.....	7
2.1.2 Patofisiologi dan Aktifasi Respon Imun pada Pasien LES.....	8
2.1.3 Manifestasi Klinis.....	9
2.1.4 Diagnosis LES.....	10
2.1.5 Tatalaksana.....	11

2.1.6 Prognosis.....	12
2.2 Peran Sel Dendritik pada Patogenesis LES.....	13
2.3 Peran Sel T pada Patogenesis LES.....	14
2.4 Peran Sel B pada LES.....	15
2.5 Ketidakseimbangan Sel T reg dan sel T helper 17 Pada LES.....	16
2.6 Ketidakseimbangan pembersihan autoantigen dengan pembentukan self-antigen dsDNA.....	19
2.7 Toleransi sistem imun.....	20
2.8 Pengembangan Metode Escalating dose Antigen Specific Immunotherapy dalam Menurunkan Progresivitas Penyakit Autoimun.....	21
2.9 Efek samping Pemberian Terapi pada Ginjal.....	23
2.10 Proteinuria pada Fungsi Ginjal LES	
2.11 Definisi Efikasi.....	24
2.11.1 Efikasi Terapi saat ini pada LES.....	24
2.11.2 Efikasi Pengobatan Bahan Biologi pada LES.....	25
2.11.3 Efikasi terapi LES saat ini pada ginjal.....	26
<b>BAB 3 KERANGKA KONSEP dan HIPOTESIS PENELITIAN .....</b>	<b>28</b>
3.1 Kerangka Konsep Penelitian .....	28
3.2 Hipotesis .....	30
<b>BAB 4 METODE PENELITIAN .....</b>	<b>31</b>
4.1 Rancangan Penelitian .....	31
4.2 Populasi dan Sampel Penelitian.....	31
4.3 Variabel Penelitian .....	33
4.3.1 Variabel Bebas.....	33
4.3.2 Variabel Terikat.....	33
4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian.....	33
4.5 Alat dan Bahan.....	33
4.5.1 Alat dan Bahan Pemeliharaan Mencit.....	33



4.5.2 Injeksi Pristane.....	33
4.5.3 Alat dan Bahan Isolasi dsDNA.....	33
4.5.4 Alat dan Bahan Preparasi dan Injeksi dsDNA.....	33
4.5.5 Alat dan Bahan Label Indikator Proteinuria.....	34
4.6 Definisi Operasional.....	34
4.7 Prosedur Penelitian.....	34
4.7.1 Persiapan Hewan Coba.....	35
4.7.2 Injeksi Pristane.....	35
4.7.3 Isolasi dsDNA.....	35
4.7.4 Preparasi dan injeksi dsDNA.....	36
4.7.5 Pengukuran kadar proteinuria dalam sampel urin.....	36
4.8 Prosedur Penelitian.....	38
4.9 Analisis Data.....	39
BAB 5 HASIL PENELITIAN.....	41
5.1 Data Kasar Kadar Proteinuria.....	41
5.2 Hasil Pengujian Normalitas dan Homogenitas.....	42
5.3 Hasil Uji Kruskal Wilis.....	42
5.4 Hasil Uji Mann Whitney.....	42
5.5 Hasil Rata-rata Perbandingan Kadar Proteinuria pada hewan coba.....	44
BAB 6 PEMBAHASAN.....	45
6.1 Kadar Proteinuria.....	45
6.2 Keterbatasan Penelitian.....	53
BAB 7 KESIMPULAN dan SARAN.....	54
7.1 Kesimpulan.....	54
7.2 Saran.....	54
Daftar pustaka.....	55





DAFTAR TABEL

Tabel 2.1

Kriteria Diagnosis LES berdasar SLICC 2012 .....11

Tabel 5.1

Hasil Pengukuran Kadar Proteinuria .....41





DAFTAR GAMBAR

**Gambar 2.1**

Perjalanan Penyakit dari Lupus Eritematosus Sistemik .....8

**Gambar 3.1**

Kerangka Konsep Penelitian .....128

**Gambar 4.1**

Skema Prosedur Penelitian .....38





**DAFTAR LAMPIRAN**

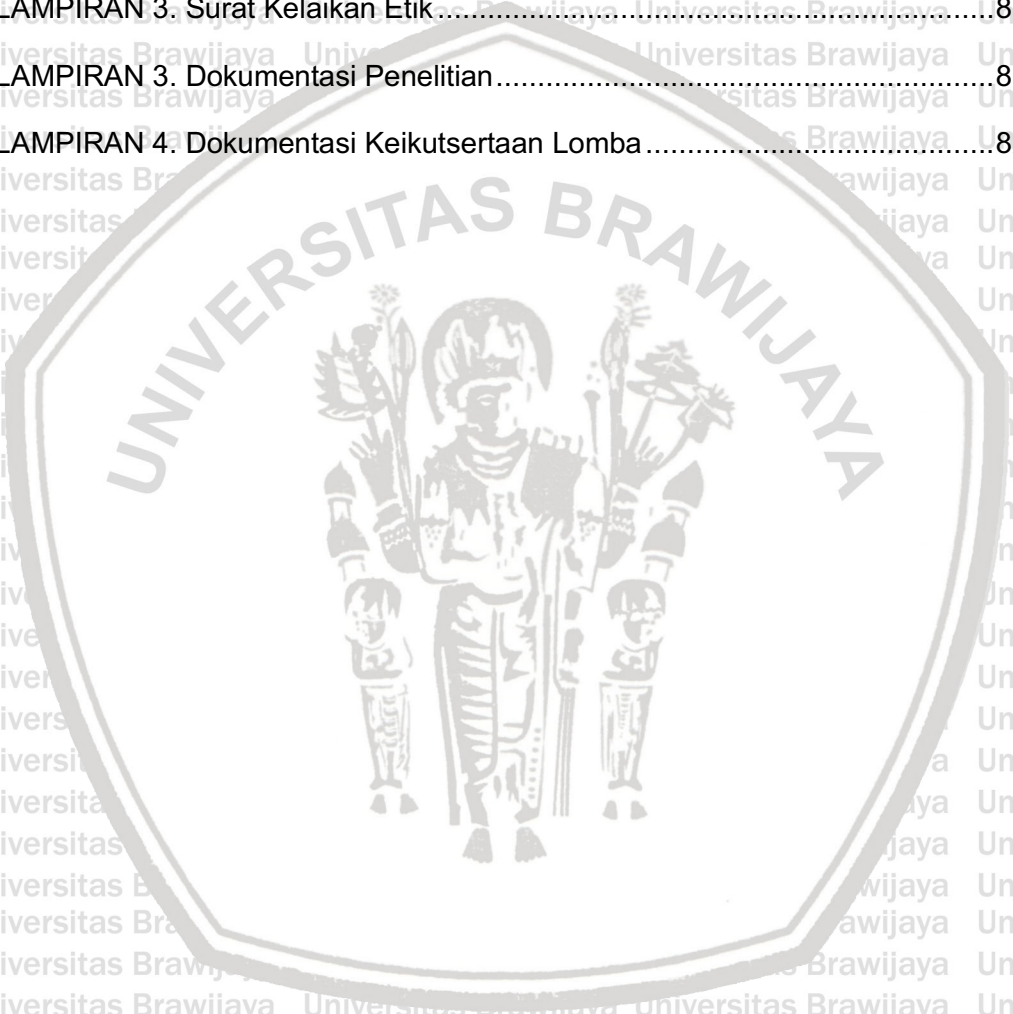
LAMPIRAN 1. Pernyataan Keaslian Tulisan.....77

LAMPIRAN 2. Analisis Data .....78

LAMPIRAN 3. Surat Kelaikan Etik .....80

LAMPIRAN 3. Dokumentasi Penelitian.....81

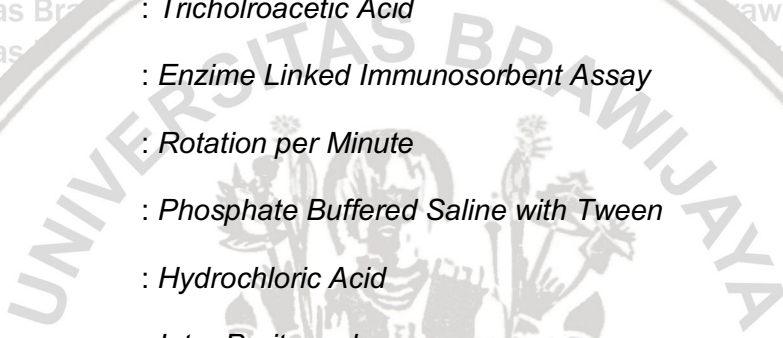
LAMPIRAN 4. Dokumentasi Keikutsertaan Lomba.....82



**DAFTAR SINGKATAN**

- LES : *Lupus Eritematosus Sistemik*
- ANA : *Anti Nuclear Antibody*
- dsDNA : *Double Stranded Deoxyribonucleic Acid*
- Th : *T Helper*
- T Reg : *T Regulator*
- TGF- $\beta$  : *Transforming Growth Factor  $\beta$*
- TLR : *Toll Like Receptor*
- SLICC : *Systemic Lupus International Collaborating Clinics*
- ACR : *American College of Rheumatology*
- IL : *Interleukin*
- CD : *Cluster of Differentiation*
- APC : *Antigen Presenting Cell*
- BAFF : *B-cell Activating Factor*
- HMGB : *High Mobility Group Box*
- ITAM : *Immunoreceptor Tyrosine-based Activation Motif*
- ITIM : *Immunoreceptor Tyrosine-based Inhibition Motif*
- SYK : *Spleen Tyrosine Kinase*
- FC : *Fragment Crystabillizable*
- NF-ATC : *Nuclear Factor of Activated T Cells*
- FOXP : *Forkhead Box*
- STAT : *Signal Transducer and Activator of Transcription*
- ROR $\gamma$  : *Related Orphan Receptor Gamma*

BUN	: <i>Blood Urea Nitrogen</i>
UV	: <i>Ultra Violet</i>
IFN	: <i>Interferon</i>
RNase	: <i>Ribonuclease</i>
PEI	: <i>Polyethylenimine</i>
EDTA	: <i>Ethylene Diamine Tetraacetic Acid</i>
TCA	: <i>Trichloroacetic Acid</i>
ELISA	: <i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i>
RPM	: <i>Rotation per Minute</i>
PBS-T	: <i>Phosphate Buffered Saline with Tween</i>
HCl	: <i>Hydrochloric Acid</i>
I.P.	: <i>Intra Peritoneal</i>
GLDH	: <i>Glutamate Dehydrogenase</i>
NADH	: <i>Nicotinamide Adenine Dinucleotide Hydrogen</i>



## BAB 1

### PENDAHULUAN

#### 1.1 LATAR BELAKANG

Lupus Eritematosus Sistemik adalah kelainan fungsi dari sistem imun yang ditandai dengan inflamasi secara sistemik dan menimbulkan berbagai manifestasi klinik. Lupus Eritematosus Sistemik memiliki karakteristik kehilangan toleransi terhadap antigen sel sehingga terjadi pembentukan autoantibodi dan kompleks imun yang bersifat patogenik (Xiong and Lahita, 2014). Kehilangan toleransi terhadap antigen sel pada LES disebabkan oleh faktor risiko yang berbeda-beda pada setiap individu. Beberapa faktor risiko yang dapat meningkatkan seorang individu terkena LES adalah riwayat seorang individu mengalami reaksi alergi akibat pemakaian obat, genetik, dan akibat paparan dari sinar UV (Choi *et al.*, 2016). Keterpaparan individu terhadap faktor risiko yang berkepanjangan menyebabkan kerusakan jaringan hingga terjadi pembentukan autoantibodi dan kompleks imun yang menimbulkan kerusakan pada berbagai sistem organ seperti kulit, darah, ginjal, hati, dan sistem saraf. Kerusakan pada berbagai sistem organ dapat menyebabkan kematian (Wang *et al.*, 2015). Hal ini menyebabkan angka kematian akibat Lupus cukup tinggi. Berdasarkan data di negara Inggris, kematian akibat Lupus sebesar 227 kasus meninggal dari 2740 kasus insiden. Rata-rata kematian sekitar 15,84 dari setiap 1000 kelompok orang per tahunnya (Rees *et al.*, 2016). Prevalensi dan insiden penyakit LES rata-rata dari angka empat hingga 250 per 100.000 pada populasi dewasa. Lupus Eritematosus Sistemik (LES) terjadi terutama pada ras orang kulit hitam daripada ras kulit putih. Studi ini ditemukan pada sejumlah peneliti di USA (Lim *et al.*, 2014). Berdasarkan studi

epidemiologi, penyakit LES lebih banyak terjadi pada wanita jika dibandingkan dengan laki-laki (Sokumbi et al., 2016),

Lupus Eritematosus Sistemik berasal dari sel dendritik yang mengaktifasi dan memperluas ekspansi sel autoreaktif T dan B (Teichmann et al., 2014). Peran gen dalam penyakit Lupus melalui terganggunya regulasi pembersihan antigen sel yang dapat menyebabkan terjadinya pembentukan autoantibodi dan kompleks imun patogenik, mengaktifasi respon sel untuk melepaskan sitokin interferon tipe 1, dan terbentuknya autoantibodi dengan kehilangan toleransi yang dapat mengenai beberapa sistem organ (Mohan and Putterman, 2015). Kehilangan toleransi terhadap antigen sel akibat peran dari sel B dan sel T autoreaktif yang dapat berkontribusi pada manifestasi klinis LES. Gangguan pada toleransi sel B dan pembentukan autoantibodi pada LES mendorong terjadinya kerusakan toleransi terhadap antigen sel (Liu, Zou, dan Davidson, 2011). Peran sel T dalam LES, terjadi karena aktivasi beberapa jenis sel T oleh sitokin yang dikeluarkan oleh sel dendritik dan sel APC (*Antigen Presenting Cell*) lainnya. Sel T yang teraktifasi memediasi respon inflamasi, dan memberikan bantuan kepada sel B untuk memproduksi autoantibodi.. Akibat aktivasi sel T, CD4+ naif dapat berdiferensiasi menjadi sel berbagai macam sel *Thelper*. Salah satunya adalah sel Th17 yang mensekresikan sitokin Interleukin 17. Sel ini mengalami peningkatan produksi interleukin-17 yang dapat menyebabkan inflamasi dan kerusakan jaringan pada LES (Moulton and Tsokos, 2015) Produksi interleukin-17 yang berlebihan dapat mengganggu proses pembentukan maupun fungsi dari sel Treg. Terjadinya penyakit autoimun dikarenakan kemampuan sel Treg yang fungsinya terganggu atau jumlahnya berkurang (Dolff et al., 2011).

Lupus Eritematosus Sistemik dapat mengenai beberapa organ dan sistem organ serta ginjal merupakan target organ tersering dalam LES (Feldman, C.H. et al,

2013). Terjadinya nephritis pada penderita Lupus terjadi akibat deposisi pada kompleks imun yang terdiri dari autoantibodi dan autoantigen pada glomerulus ginjal.

Studi lain juga menyebutkan bahwa peran sitokin IL-17 merupakan pathogenesis dari lupus nefritis, Peningkatan jumlah sel Th17 dalam serum pasien lupus dan IL-17 terdeteksi pada glomerulus dan interstitial terinfiltrasi sel T (Vincent et al., 2013).

Menentukan pengaruh LES terhadap ginjal pada pasien lupus dapat dilakukan cek urinanalysis. Proteinuria merupakan salah satu tanda yang diukur dalam urinanalysis.

Salah satu indikator dalam manajemen pengobatan pada pasien LES dengan nephritis yaitu kadar proteinuria dan kadar hematuria (Hahn, et al., 2012).

Masalah saat ini pada LES dikarenakan belum adanya terapi definitif. Terapi yang digunakan saat ini hanya untuk menekan kerja dari sistem imun (Moroni et al., 2006). Obat penekan sistem imun jika digunakan dalam jangka waktu panjang dapat menimbulkan komplikasi seperti infeksi, keganasan, dan atherosclerosis (Urowitz et al., 2008). Berdasarkan panduan terbaru yang dikeluarkan oleh The British Society for

Rheumatology terapi yang diberikan pada penyakit Lupus dibagi berdasarkan tingkat aktifitas penyakit lupus itu sendiri mulai dari ringan, sedang, hingga berat (Gordon et al., 2018). Pengobatan yang diberikan pada penyakit Lupus tingkat ringan digunakan

untuk meringankan tanda dan gejala yang muncul yaitu dengan diberikan obat-obat dengan golongan seperti kortikosteroid, obat anti malaria, NSAID, dan krim kulit.

Penggunaan kortikostroid berkontribusi dalam menyebabkan kerusakan kronis dan beresiko tinggi dapat terkena infeksi, osteoporosis, atherosclerosis (Sutton, Davidson and Bruce, 2013). Penggunaan obat antimalaria dapat mengurangi aktifitas penyakit

lupus dan perkembangan penyakit lupus, namun obat antimalaria seperti chloroquine dapat menyebabkan efek samping terjadinya retinopathy (Ruiz-Irastorza et al., 2010).

Terapi lain juga terus dikembangkan dalam pengobatan penyakit LES, penggunaan

agen biologi juga mulai dikembangkan. Penggunaan obat Rituximab salah satu contohnya. Rituximab menunjukkan efikasi yang baik, ditunjukkan dengan kemampuannya dalam mengurangi aktifitas penyakit LES secara menyeluruh, yaitu salah satunya dengan berkurangnya kadar anti-dsDNA dan komplemen (Muñoz-Fernández et al., 2014). Di sisi lain, obat ini juga dapat menghasilkan efek samping yaitu terjadinya kekambuhan (Furie et al., 2011). Masalah lain dari penggunaan obat bahan biologi pada penyakit LES adalah harganya yang mahal. Harganya yang mahal membuat individu yang terkena LES tidak bisa mendapatkan akses dan menggunakan obat tersebut (Lamore et al, 2012).

Perkembangan terapi dengan menggunakan antigen-specific immunotherapy (SIT) mulai meningkat dengan pesat. Salah satunya contohnya adalah dengan digunakannya *self antigen* pada penyakit multiple sclerosis. Pada penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian *self antigen* dari *Myelin-Based Protein (MBP)* secara berkala dapat ditoleransi dengan baik oleh tubuh. Terjadi pula penurunan dari sel T dan terjadinya peningkatan sitokin Interleukin-10 yang dapat mengembalikan toleransi (Lutterotti et al., 2013).

LES merupakan penyakit autoimun yang hampir sama dengan Multiple Sclerosis. Dari terapi yang sudah digunakan pada penyakit Multiple Sclerosis, terapi pada LES bertujuan untuk menekan aktivitas penyakit, mencegah kerusakan organ, menurunkan morbiditas, dan meningkatkan kesehatan pasien serta kualitas hidup pasien (Dema and Charles, 2014). Penggunaan dosis yang rendah pada terapi antigen specific immunotherapy dapat meningkatkan sekresi interleukin-10 (IL-10) dan meregulasi respon imun lebih efektif kembali (Gabryšová and Wraith, 2010). Maka dari itu kami melakukan penelitian yang membuktikan bahwa pemberian (injeksi) self dsDNA dengan dosis ( $5 \times 10^{-2} \mu\text{g}$ ,  $5 \times 10^{-1} \mu\text{g}$ ,  $5 \mu\text{g}$ ) dapat menginduksi fungsi toleransi

imun dan regulasi imun. Penelitian ini juga untuk mengetahui potensi/efektifitas penggunaan self antigen dsDNA dengan dosis (0,5 µg, 5 µg, 50 µg) terhadap kadar proteinuria.

## 1.2 Rumusan Masalah

Apakah pemberian imunoterapi dengan menggunakan *Escalating Dose Antigen Specific Self-Antigen dsDNA* tidak meningkatkan kadar Proteinuria pada model mencit induksi Lupus ?

## 1.3 Tujuan Penelitian

### 1.3.1 Tujuan Khusus

1. Mengetahui efek terapi dengan menggunakan *Escalating Dose Antigen Specific Self-Antigen dsDNA* terhadap kadar proteinuria pada model mencit induksi Lupus

## 1.4. MANFAAT

### Manfaat Keilmuan:

1. Dapat dijadikan sebagai dasar untuk pengembangan penelitian selanjutnya dalam bidang kesehatan
2. Peluang publikasi dalam jurnal-jurnal ilmiah dan mendapatkan paten





**Manfaat Aplikatif:**

1. Pengembangan metode pengobatan imunoterapi pada penyakit autoimun.
2. Dapat dijadikan obat untuk menciptakan suatu alternatif baru dalam terapi pada penyakit autoimun terutama pada Lupus



## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Lupus Eritematosus Sistemik

##### 2.1.1 Definisi

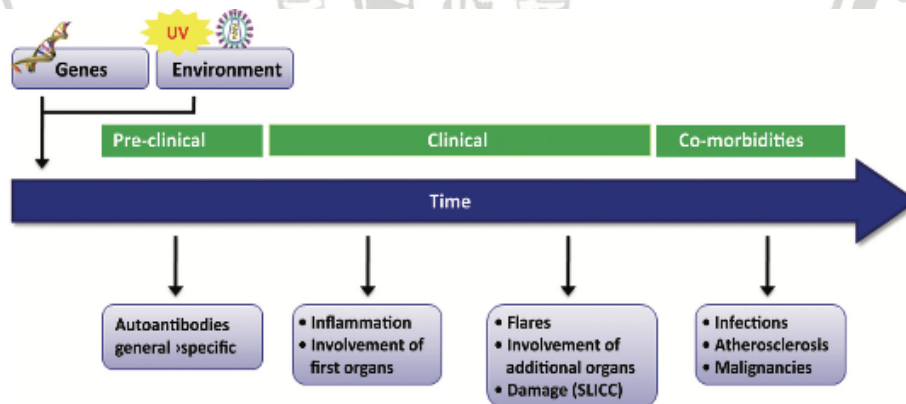
Lupus Eritematosus Sistemik (LES) atau yang lebih dikenal dengan Systemic Lupus Erythematosus (SLE) merupakan penyakit autoimun kronik dan kompleks diikuti dengan manifestasi klinis, serta keterlibatan banyak organ (Touma and Gladman, 2017). Etiopatogenesis dari LES melibatkan mulai dari faktor lingkungan terhadap sinar matahari, obat, infeksi virus dan bakteri, serta ada peran dari genetik dan genome dari setiap individu (Nath, Kilpatrick and Harley, 2004). Angka Prevalensi dan Insiden dari LES telah banyak dilaporkan dalam berbagai bentuk laporan dari berbagai negara. Penyakit ini terutama menyerang wanita dibandingkan dengan pria 9:1 (Lim et al, 2014). Berdasarkan penelitian yang dilakukan secara dari seluruh dunia menunjukkan prevalensi dan insiden bervariasi. Angka insiden tertinggi di dunia terletak pada daerah Amerika Utara mencapai 23,2 per 100.000 orang per tahun sedangkan angka insiden terendah pada daerah Afrika yaitu dengan angka 0,3 per 100.000 orang per tahun. Secara keseluruhan, daerah negara Eropa memiliki angka insiden yang lebih rendah pada dibandingkan dengan daerah negara Asia, Australasia, dan Amerika (Rees et al, 2017). Pada negara Indonesia belum ada data yang lengkap tentang Lupus namun berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Kalim, dkk mencapai angka 0,5% dari sekitar 1.250.000 orang Indonesia. Berdasarkan data rumah sakit pada tahun 2016 lalu diketahui terdapat 2.166 pasien rawat inap yang terdiagnosis penyakit Lupus, dengan angka 550 pasien diantaranya

meninggal dunia (Kementerian Kesehatan RI, 2017). Hal ini menunjukkan penyakit Lupus harus menjadi perhatian utama di Indonesia.

### 2.1.2 Patofisiologi dan Aktivasi Respon imun pada Pasien LES

Menurut penelitian yang dilakukan oleh (Pathak and Mohan, 2011) dengan menggunakan model tikus sebagai bahan percobaan menunjukkan salah satu ciri khas dalam dimulainya terjadinya patogenesis pada LES dikarenakan adanya kadar autoantibodi yang tinggi terhadap antigen nuklear diri. Penyimpangan pada antigen nuklear diri yang berasal dari sel apoptosis dapat mendorong terjadinya patogenesis LES. Penelitian yang dilakukan oleh Kruse et al pada tahun 2010 menunjukkan bahwa jika terjadi defek pada proses pembersihan sel apoptosis dari tubuh akan meningkatkan terjadinya patofisiologi LES.

Menurut Klinik Kolaborasi LES internasional dan Perkumpulan Reumatologi Amerika pada tahun 2010. Bahwa ada beberapa tahapan yang dapat berujung pada peningkatan morbiditas hingga kefatalan jika penderita LES tidak diterapi dengan baik, dapat dilihat pada gambar 2.1.



Gambar 2.1. Perjalanan Penyakit dari Lupus Eritematosus Sistemik (Ann Rheum Dis 2010; 69:1603-11)

Dari gambar di atas, disebutkan bahwa penyakit LES dimulai dari tahap preklinikal ditandai dengan terbentuknya autoantibodi spesifik terhadap terjadinya

penyakit autoimun hingga berlanjut ke fase klinikal yang ditandai dengan penyakit lebih spesifik dari fase autoimun tersebut. (George, Cervera, Boumpas, 2010).

Patogenesis penyakit ini masih belum jelas. Namun salah satu ciri khas pada terjadinya patogenesis LES adalah terbentuk berbagai macam nuklear antigen dalam tubuh. Auto-antigen ini dihasilkan dari sel apoptosis dan dipresentasikan kepada sel dendritik hingga sel T yang berujung sampai pengaktifannya serta juga melibatkan peran dari sel B, monosit, serta sel T regulator. Akibat dari penyimpangan tersebut terjadi aktivasi sel B, meningkatnya jumlah sel yang menghasilkan autoantibodi dan terbentuknya kompleks imun yang bersifat patogenik terhadap self antigen (Choi et al, 2015)

### 2.1.3 Manifestasi Klinis

Lupus Eritematosus Sistemik merupakan penyakit autoimun yang memiliki karakteristik pembentukan autoantibodi pada *self-antigen*. Sistem imun yang terganggu ini membuat pasien penderita LES mengalami berbagai macam manifestasi klinis yang terjadi pada hampir seluruh sistem organ. Manifestasi pada kulit paling sering terjadi pada pasien LES. Manifestasi tersebut dapat berupa lesi *acute cutaneous lupus erythematosus* yang biasanya berbentuk *butterfly rash* atau *maculopapular exanthema generalized*, Chronic Cutaneous Lupus Erythematosus atau Discoid Lupus Erythematosus, dan Subacute Cutaneous Lupus Erythematosus yang dapat berupa lesi berbatas tegas, kering, dan kemerahan. Pada manifestasi muskuloskeletal, gejala yang sering terjadi adalah nyeri pada sendi. Pada manifestasi ginjal pasien LES bisa timbul gejala proteinuria dan hematuria dikarenakan rusaknya glomerulus oleh penumpukan immunoglobulin. Pada sistem gastrointestinal juga biasanya timbul gejala ulkus pada mulut yang merupakan paling khas pada LES dan nyeri perut (GEORGE, CERVERA and BOUMPAS, 2012).

### 2.1.4 Diagnosis LES

Penyakit LES merupakan salah satu perjalanan penyakitnya yang tidak dapat diprediksi. Maka dari itu diagnosis LES dapat ditegakkan berdasarkan gambaran klinik dan laboratorium yang diajukan oleh kriteria klasifikasi *Systemic Lupus International Collaborating Clinics* (SLICC) pada tahun 2012. Diagnosis dengan menggunakan kriteria SLICC minimal didapatkan 4 macam kriteria yang didalamnya terdapat satu kriteria klinis dan satu kriteria imunologi atau harus memiliki *lupus nephritis* yang terbukti dengan pemeriksaan biopsy dengan bersamaan adanya antibodi antinuklear atau antibodi *anti-dsDNA* (Gordon *et al.*, 2018).

Kriteria	Definisi
<b>Kriteria Klinis</b>	
<i>Acute</i> atau <i>Subacute Cutaneous Lupus</i>	Termasuk <i>malar rash</i> , SLE varian <i>toxic epidermal necrolysis</i> , <i>maculopapular lupus rash</i> , dan <i>photosensitive lupus rash</i>
<i>Chronic cutaneous lupus</i>	Termasuk ruam diskoid klasik baik lokal maupun generalisata, <i>hypertrophic lupus</i> , <i>lupus panniculitis</i> , <i>mucosal lupus</i> , <i>lupus erythematosus tumidus</i> , <i>chilblains lupus</i> , <i>discoid lupus/lichen planus overlap</i>
Ulkus oral	Luka pada mulut
Alopecia tipe <i>nonscarring</i>	Kerapuhan atau penipisan rambut yang difus
Sinovitis	Pembengkakan atau efusi atau nyeri tekan pada 2 atau lebih sendi dan <i>morning stiffness</i> minimal 30 menit
Serositis	Inflamasi pada sepanjang tepi luar paru (pleuritis), efusi pleura, <i>pericardial rub</i> , gambaran EKG
Kelainan ginjal	Proteinuria >0.5g/hari atau RBC <i>cellular cast</i> yang menetap pada urin
Neurologis	Adanya bangkitan, psikosis, myelitis, neuropati kranial maupun perifer, mononeuritis multiplex, dan <i>acute</i>



	<i>confusional state</i> yang tidak dapat dijelaskan oleh penyebab lain
Kelainan eritrosit	Anemia hemolitik tanpa penyebab lainnya yang diketahui
Kelainan leukosit	Leukopenia ( $<4000/\text{mm}^3$ ) atau limfopenia ( $<1000/\text{mm}^3$ ) tanpa penyebab lainnya yang diketahui
Kelainan trombosit	Trombositopenia ( $<100.000/\text{mm}^3$ ) tanpa penyebab lainnya yang diketahui
<b>Kriteria imunologis</b>	
<i>Anti Nuclear Antibody</i>	diatas nilai referensi laboratoris
Anti-dsDNA	diatas nilai referensi laboratoris, kecuali ELISA: dua kali diatas nilai referensi laboratoris
Anti-Sm	Positif
Antibodi antifosfolipid	Terdapat <i>lupus anticoagulant</i> , <i>false positive RPR</i> , <i>anticardiolipin</i> titer sedang atau tinggi, atau <i>anti-<math>\beta_2</math> glycoprotein I</i>
Nilai komplemen	C3, C4, atau CH50 rendah
<i>Direct Coombs test</i>	Positif tanpa adanya anemia hemolitik

Tabel 2.1 Tabel kriteria klinis dan imunologis menggunakan kriteria klasifikasi SLE oleh SLICC

### 2.1.5 Tatalaksana

Lupus Eritematosus Sistemik adalah penyakit autoimun yang dapat menghasilkan berbagai manifestasi klinis pada berbagai organ dalam tubuh manusia.

Penatalaksanaan untuk LES masih bergantung pada aktivitas penyakitnya dan hanya bertujuan untuk mengatasi inflamasi, mencegah kekambuhan, serta mengurangi gejala klinis (Davis dan Reimold, 2017). Berdasarkan buku panduan untuk penatalaksanaan gejala konstitusional, LES tingkat ringan, dan sedang direkomendasikan diberikan obat antimalaria, kortikostreoid, non-steroidal anti-



inflammatory dan immunosupresan dalam memajemen aktivitas penyakit. Untuk LES tingkat berat dapat digunakan terapi immunosupresan dan glukokortikosteroid dalam waktu bersamaan (Tunnicliffe et al., 2015). Namun pada penggunaan terapi saat ini yang digunakan pada penyakit LES memiliki efek samping. Pada obat immunospresan memiliki efek untuk menekan dari fungsi maupun jumlah dari sistem imun akan menyebabkan berkurangnya tubuh dalam melawan infeksi. Obat jenis *Mycophenolate mofetil* (MMF) merupakan salah satu obat immunosupresan yang memiliki mekanisme menghambat sistesis purin dalam DNA. Obat ini dapat mencetuskan terjadinya beberapa efek samping. Efek samping paling sering adalah kejadian gastrointestinal seperti merasa mual dan muntah, diare, terjadinya infeksi minor, dan paling parah dapat menyebabkan leukopenia Selain itu ada Azathioprine juga merupakan obat immunosupresan yang menyebabkan gejala pada sistem organ gastrointestinal (Contreas dan Gabriel et al., 2004).

### 2.1.6 Prognosis

Prognosis pada penyakit LES berhubungan erat dengan rata-rata bertahan hidupnya penderita. Prognosis pada pasien LES akan baik jika diagnosis ditegakkan terlebih dahulu dan pemberian manajemen terapi yang baik. Kedua hal ini akan meningkatkan rata-rata bertahan hidup penderita. Untuk prognosisnya yang paling buruk adalah terjadinya kematian pada pasien LES karena infeksi karena terapi dengan menggunakan NSAID, kortikosteroid, immunosupresan yang berkepanjangan. Prognosis buruk juga dapat terjadi pada penderita LES yang tidak berespon pada pemberian terapi kortikosteroid maupun immunosupresan sehingga makin memperberat manifestasi klinis dari LES, salah satunya adalah keterlibatan ginjal karena LES (Doria et al., 2006)

## 2.2 Peran Sel Dendritik pada Patogenesis LES

Sel dendritik adalah antigen presenting (APC) yang berperan penting dalam regulasi respon imun adaptif dalam mengaktifasi sel B maupun sel T. Sel dendritik mampu menangkap antigen, memprosesnya, dan mempresentasikannya ke permukaan sel dengan molekul kostimulator. Sel dendritik mengekspresikan CD80, CD86 (B7.1 dan B7.2) dan CD40 yang merupakan molekul kostimulator (Pathak and Mohan, 2011). Beberapa studi juga menunjukkan bahwa sel dendritik juga berperan dalam patogenesis LES dengan mengeluarkan interferon tipe 1 (interferon alfa), dimana interferon alfa mendorong sel B untuk memproduksi autoantibodi subklas IgG, meregulasi terbentuknya BAFF pada monosit dan membantu pembentukan sel dendritik matang (Kalinke et al., 2014).

Menurut Mildner dan Jung (2014) dua macam *subset* sel dendritik di perifer yang diidentifikasi pada mencit yaitu sel dendritik *klasikal* dan *plasmacytoid* sel dendritik. Kelainan genetik pada penderita LES dapat mengakibatkan penyimpangan dari fungsi sel dendritik, meliputi proses pengambilan antigen, maturasi, dan kemampuan presentasi (Monrad dan Kaplan *et al.*, 2007). Diperkirakan presentasi antigen sendiri dalam waktu yang lama disertai dengan pembentukan sitokin inflamasi oleh sel dendritik adalah hal yang penting dalam berkembangnya penyakit autoimun dan defek pada fungsi toleransi sel dendritik dalam memegang peran krusial merusak fungsi toleransi imun (Kim dan Diamond, 2015). Kerusakan pada reseptor sel dendritik yang digunakan dalam membersihkan sel-sel apoptosis seperti MFG-EB, Tim4, Scarf1, juga meningkatkan penyakit seperti lupus (Miyaniishi et al., 2007).

Dalam keadaan normal, sel dendritik memiliki fungsi dalam menangkap dan melakukan pembersihan debris apoptosis sel. Penangkapan debris sel apoptosis oleh sel dendritik, dapat menginduksi aktivasi sel T karena autoantigen yang



dipresentasikan, sehingga terjadinya gangguan dalam pembersihan debris dari sel apoptosis. Sel nekrotik juga memiliki peran dalam mengganggu fungsi fisiologis sel dendritik melalui nukleosom sel nekrotik yang mengandung high mobility group box protein 1 (HMGB1). Protein ini dapat menginduksi sel dendritik menjadi matur. Faktor komplemen juga memiliki peranan penting pada sel dendritik. Faktor komplemen berguna mengaktifasi toleransi pada sel dendritik. Faktor komplemen yang memiliki peranan penting ini adalah C1q. Pada penyakit LES komplemen C1q mengalami defek, sehingga mengganggu populasi sel dendritik yang berada pada tahap imatur. Penurunan jumlah faktor komplemen C1q dapat membuat sel dendritik menjadi matur dan menstimulasi sel T, sehingga dapat menjadinyakan peningkatan aktivitas LES. Faktor komplemen C1q juga memiliki peranan penting dalam pembersihan debris apoptosis sel (Tsokos et al., 2016).

### 2.3 Peran Sel T pada Patogenesis LES

Kemampuan sel T dalam mengenali antigen diperankan oleh *Major Histocompatibility Complex* oleh sel APC (*Antigen Presenting Cells*) melalui reseptor sel T. Stimulasi pada reseptor sel T oleh antigen ini dapat mengaktifasi sel T melalui beberapa jalur. Pada sel T reseptor memiliki CD3. CD3 merupakan suatu polipeptida yang memiliki hubungan dengan sel T reseptor dan berfungsi dalam menyalurkan sinyal pengenalan antigen oleh sel T reseptor karena memiliki suatu rantai yang memiliki motif aktivasi berbasis reseptor tirosin (ITAM). Kegunaan reseptor ini adalah untuk transduksi sinyal berbagai protein kinase yang spesifik. Reseptor tirosin yang terfosforilasi akan mengaktifkan protein asosiasi 70 (ZAP 70) untuk mengaktifasi sel T. Selain melalui jalur protein asosiasi 70 (ZAP70), aktivasi sel T dapat diaktifasi

oleh reseptor Fc pada antibodi menggunakan jalur tirosin kinase limfa (Syk) (Mak and Kow, 2014).

Pada penyakit LES, terjadi suatu gangguan stabilitas dan peningkatan degradasi dari salah satu bagian rantai sitoplasma CD3 diikuti dengan peningkatan reseptor Fc pada sel T. Peningkatan reseptor Fc yang mengaktifasi jalur tirosin kinase limfa (Syk) akan terjadi peningkatan kalsium intrasel yang dapat menyebabkan defosfolirasi calcineurin dan terjadi aktivasi faktor nuklear sel T (NF-ATc2). Aktvasi dari faktor nuklear ini akan mengaktifasi kostimulator CD40L yang dapat berinteraksi dengan CD40 pada sel B. Interaksi antara kedua molekul ini dapat meningkatkan produksi antibodi. Sel T pada LES mengalami kerusakan dalam memproduksi interleukin-2 merupakan suatu sitokin yang berguna dalam mengatur keseimbangan pro- dan anti-inflamasi sel T (Ross and Cantrell, 2018).

#### **2.4 Peran sel B pada LES**

LES merupakan terbentuknya respon autoimun yang diperankan oleh sel T dan sel B dalam melawan komponen intraseluler maupun self-antigen nuklear (Ferraccioli and Toluoso, 2007). Sel B memiliki peran dalam terjadinya LES melalui respon terhadap antigen, regulasi dari sel lain yang dapat menginduksi sel B, dan pembentukan autoantibodi. Penderita LES aktif terjadi peningkatan berbagai macam populasi sel B mulai dari sel B transisional, memori sel B, dan plasma sel B (Crispín *et al.*, 2010). Sama seperti pada sel T, terjadinya aktivitas yang berlebihan pada sel B hingga terbentuknya antibodi yang melawan antigen di dalam nukleus diakibatkan karena adanya gangguan toleransi pada sel B dalam menghilangkan pengaruh reaktifasi sendiri pada sel B yang belum matang melalui mekanisme reseptor sel B, toll like reseptor, peningkatan sitokin BAAF, dan sel T helper CD4. (Jenks and Sanz,

2009). Peningkatan sitokin BAAF dapat diikat oleh reseptor B. Interaksi antara dua molekul ini menimbulkan peningkatan ketahanan sel B dengan menghambat kerja dari protein Bim dan sel B reseptor untuk kematian sel B (Lesley *et al.*, 2004).

Pengaktifan sel B pada patogenesis LES dapat melalui berbagai mekanisme. Pengaktifan sel B pada sirkulasi pada pasien SLE distimulasi oleh reseptor sel B, diikuti dengan peningkatan influx kalsium ke dalam sitoplasma dan peningkatan fosforilasi tirosin (Kammer *et al.*, 2008). Terjadinya kelainan dan kekurangan keluarga src protein tirosin kinase Lyn. Lyn protein kinase memiliki peran dalam memfosforilasi ITIM (*Immunoreceptor Tyrosine Based Inhibition Motif*) yang berguna dalam menurunkan regulasi dan aktivasi sel B melalui reseptor FcγRIIB dan regulator tirosin oleh Syk (Xu *et al.*, 2005). Dalam FcγRIIB mengandung ITIM yang dapat memberikan hambatan pembentukan autoantibodi IgG dan terjadinya autoimunitas spontan (Bolland and Ravetch, 2000). Kehilangan toleransi pada sel B dapat mengaktifasi diferensiasi sel B. Dalam keadaan normal, sel plasmatoid dendritik (pDC) menstimulasi Toll like receptor untuk mengedukasi sel Treg dalam melawan sel B autoreaktif. Stimulasi terhadap TLR 9 oleh gabungan DNA dari sel dengan antigen lain dalam tubuh sendiri dapat mengaktifasi sel B melalui jalur independen maupun jalur dependen TLR9 melalui sel dendritik, sehingga dapat terjadi terbentuknya sel B transitional menjadi sel B yang aktif mengsekresikan autoantibodi (Guerrier *et al.*, 2012) maupun terbentuknya anti-DNA antibodi (Gilbert *et al.*, 2014).

## 2.5 Ketidakseimbangan Sel T Regulator dan Sel T Helper 17 pada Penyakit LES

Sel Treg merupakan salah satu subpopulasi dari sel limfosit T yang berperan dalam menjaga fungsi dari sistem toleransi imun dengan cara menekan jumlah limfosit yang autoreaktif. Salah satu penelitian membuktikan bahwa fungsi dari Treg dapat menghambat progresifitas penyakit LES dan mengurangi tingkat kemungkinan

kematian pada penderita LES, jika terjadi gangguan pada fungsi Treg ataupun pada sel Treg itu sendiri maka akan meingkatkan terjadinya patogenesis LES (Ohl dan Tenbrock, 2015).

Kemampuan sel Treg dalam menekan aktivasi dan perkembangan dari sel CD4+ Th, dengan menghambat sel tersebut dan juga menekan diferensiasi dari sel CD8+ T sitotoksik (Lim et al, 2005). Sel Treg dapat diidentifikasi pada darah perifer melalui berbagai macam marker, yaitu CD4+ CD25+ dan marker intraseluler *forkhead box P3* (FoxP3) (Tran, Ramsey, dan Shevach., 2007). Sel Treg memiliki fungsi supresif terhadap respon inflamasi. Hal ini dibuktikan dengan bahwa ketika terjadi hilangnya marker protein FoxP3 dan jumlah yang sedikit dari Treg dapat menghasilkan respon inflamasi. Sel *Treg* sendiri berasal dari produksi gen FOXP3 (Bennet et al, 2001).

Berdasarkan jenisnya sel Treg dapat dibedakan menjadi dua jenis kategori yaitu ada sel *tTreg* yang berasal dari tymus dan *iTreg* yang terinduksi. Sel *tTreg* berasal dari tymus sedangkan *iTreg* berasal dari sel T naif pada sirkulasi perifer setelah terjadi stimulasi sel T. Stimulasi sel T naif menjadi sel *Treg* dikarenakan adanya sitokin  $TGF-\beta$  (Bluestone dan Abbas et al, 2003). Aktivasi dari sel *Treg* ini dimediasi oleh sitokin  $TGF-\beta$ .  $TGF-\beta$  yang berikatan dengan reseptor  $TGF-\beta$  pada sel T naif sehingga mengaktivasi faktor transkripsi STAT5. Fosforilasi dari STAT5 ini akan mengakibatkan aktivasi dari faktor transkripsi FoxP3 yang merupakan penanda dari diferensiasi sel Treg. Sel Treg yang telah aktif akan mengekspresikan marker CD4+ CD25+ FoxP3+ dan menghasilkan sitokin  $TGF-\beta$  dan IL-10 (Shevach et al., 2008).

Pada mekanisme lainnya, *tTreg* agar menjadi sebuah sel Treg di organ Thymus membutuhkan IL-2 dan fosforilasi dari STAT 5 sebagai mediasinya dengan gen FoxP3 yang memproduksi sel Treg. Sel Treg juga memproduksi sitokin Treg IL-10 di mana

sitokin ini dibuktikan dapat menurunkan aktivitas dari sel imun lainnya (Brandenburg et al., 2008). Penelitian sebelumnya yang telah dilakukan juga membuktikan bahwa sel Treg ini berperan secara langsung dalam menghambat aktivitas sel Th1, Th2, Th17, dan aktivitas dari sel B (Khattri et al., 2017).

Pada kondisi inflamasi yang kronis seperti LES, jumlah sel Treg secara fungsional tidak mengalami penurunan namun sebenarnya yang terjadi adalah terjadinya penekanan kapasitas fungsi dari sel Treg pada penyakit LES aktif (Likuni et al., 2009). Sehingga terjadinya penyimpangan keseimbangan antara sel T efektor dan sel Treg yang berujung pada terjadinya aktivasi sel T dan sel B pada LES.

Peningkatan kadar sitokin IL-6 dan Interferon Gamma yang dihasilkan oleh sel dendritik. Sitokin ini dapat menghambat fungsi dari sel Treg dan juga membuat sel T effector menjadi resistensi terhadap sel Treg. Interleukin 10 yang dihasilkan oleh makrofag, monosit, dan juga sel Treg sendiri berfungsi dalam mengaktivasi dari FoxP3 sehingga proses diferensiasi sel Treg juga dapat tetap berlanjut dan menghambat aktivasi sel APC dan sel T efektor, namun sitokin ini dapat memfasilitasi proliferasi dari sel B. Semakin maraknya produksi dari interleukin-21 oleh sel T dan interleukin-6 oleh sel T, sel dendritik, dan monosit dapat menekan sel Treg. Di sisi lain interleukin-6 dan interleukin-21 dapat meningkatkan jumlah dari sel Th17. Th17 merupakan salah satu sel pro-inflamasi. Sel Th17 berasal dari sel T CD4+ naif dengan memiliki karakteristik dari faktor transkripsi Orphan Receptor Gamma; ROR $\gamma$  (Kleczynska et al., 2011). Sel ini juga menghasilkan sitokin proinflamasi seperti interleukin-17, interleukin-21, interleukin-22. Keberadaan sel Th17 diindikasikan dengan terjadinya inflamasi pada jaringan dan progresifitas penyakit LES (Dolff et al., 2011).

Pada penyakit LES, sitokin TGF-Beta yang diproduksi oleh sel limfosit mengalami kekurangan. Peran TGF-Beta yang sangat penting dalam menginduksi

dan menstabilisasi ekspresi FoxP3 pada sel Treg. Selain itu TGF-Beta memiliki peranan penting dalam menekan proliferasi sel limfosit.

## **2.6 Ketidak seimbangan pembersihan autoantigen dengan pembentukan self antigen dsDNA**

SLE merupakan penyakit autoimun yang memiliki khas yaitu terbentuknya autoantibodi spesifik terhadap dsDNA (Diamond et al., 2014). Pada penelitian yang dilakukan oleh S. Yung dan T.M. Chan pada tahun 2015 menunjukkan bahwa pasien SLE memiliki kadar anti-dsDNA antibodi yang dapat menyebabkan peningkatan peningkatan flare penyakit lupus dan terjadinya nephritis pada organ ginjal.

Pembentukan self antigen dsDNA berasal dari sel tubuh terutama dari debris-debris apoptosis dan beberapa antigen asing yang melekat pada permukaan sel apoptosis. Selain itu pada keadaan fisiologis maupun dalam keadaan patologis di dalam tubuh terdapat cell-free DNA yang berasal dari sel myeloid, lymphoid, dan sel non-hematopoetik. Beredarnya Cf-DNA juga berhubungan erat dengan terbentuk kompleks imun pada respons anti-DNA pada LES (Chan dan Shlomchik, 2014). Self dsDNA akan menjadi antigen ketika sudah dilepaskan dari nukleus dan terekspos di ekstraseluler. Ketika terjadi sel apoptosis, neutrofil akan melakukan tugasnya untuk mendegradasikan sel beserta dengan komponen sel tersebut termasuk di dalamnya ada self antigen dsDNA. Namun pada penderita LES terdapat defek pada sel neutrofil yaitu dinamakan NETosis. NETosis adalah suatu mekanisme kematian sel oleh berbagai macam stimulus seperti organisme infeksius dan *oxidative stress*. Neutrophil yang mengalami NETosis akan mengeluarkan berbagai sitokin proinflamasi, peptide antimikroba (LL37), enzim ROS, dan juga ada dsDNA yang nantinya menjadi Neutrophil Extracellular Traps (NET) untuk didegradasikan dari tubuh, namun pada penderita LES terjadi peningkatan produksi NET dan penurunan degradasi NET.

Terakumulasinya jumlah DNA dari sel apoptosis menghasilkan antigen dsDNA nantinya akan bergabung dengan LL37 dan mengaktifasi TLR9 (Tsokos et al., 2016).

Terjadinya pelepasan NET merupakan salah satu stimulus inflamasi kuat dengan menginduksi produksi interferon tipe 1 oleh plasmacytoid sel dendritic. Selain itu NET juga dapat menginduksi aktivasi dari poliklonal autoreaktif memori sel B (Di Domizio et al., 2018). Dalam keadaan normal sel apoptosis dan NETosis dapat didegradasi secara cepat tanpa inflamasi dan iniasiasi respon imun, namun kadar yang tinggi pada self antigen dsDNA dapat disebabkan dari keadaan abnormal dimana terjadi defek pada proses pendegradasian tersebut (Kruse et al, 2010). Pada penyakit LES terjadi defek fungsi fagositosis pada makrofag dalam, sehingga banyak material sel apoptosis dibersihkan oleh sel dendritic follicular yang dapat meningkatkan ketahanan sel B yang autoreaktif. Kerusakan fungsi protein opsonisasi seperti C1q, C-reactive protein, mannose binding lectin, Immunoglobulin M dalam mengenali sel apoptosis dapat menimbulkan terjadinya respon imun terhadap antigen diri sendiri. Gangguan dalam melakukan pembersihan material NETosis oleh DNase 1 juga dapat menimbulkan terjadinya LES (Pieterse and van der Vlag, 2014).

## 2.7 Toleransi Sistem Imun

Toleransi adalah kemampuan sistem imun dalam mengenali dan menoleransi protein dan organ tubuh sendiri untuk menghindari terjadinya penyerangan terhadap protein sendiri tersebut (Moulton et al., 2017). Mekanisme toleransi sistem imun dibagi menjadi dua macam yaitu sentral dan perifer. Toleransi sistem imun sentral diperankan oleh timus dan sumsum tulang. Sel imun yang berhasil melewati seleksi negatif pada organ toleransi imun sentral akan diproses kembali oleh toleransi sistem imun perifer. Dalam keadaan normal terjadinya toleransi ketika sel limfosit yang reaktif sendiri berikatan dengan antigen sendiri. Toleransi tidak dibutuhkan pada sel limfosit

yang merespon pada antigen asing. Presentasi antigen asing yang diperankan oleh sel dendritik matang kepada sel limfosit T dapat membantu sel T untuk mengaktifasi sel APC lainnya. Pada penyakit autoimun seperti LES, sel APC dapat terus mengaktifasi sel limfosit T maupun sel limfosit T yang reaktif sendiri.

Pada kondisi patologis seperti LES terjadi kerusakan pada sistem toleransi sistem imun. Kerusakan pada toleransi sistem imun disebabkan oleh sel yang mengalami apoptosis. Sel-sel apoptosis dapat berasal dari jaringan biasa atau sel neutrofil yang mengalami kematian sel (NETosis) menghasilkan berbagai pecahan nuklear sel dan NETs dalam mengikat berbagai macam antigen bakteri, virus, dan jamur yang dapat mengaktifasi sitokin-sitokin pendukung inflamasi hingga terjadinya LES pada seorang individu (Pieterse and van der Vlag, 2014).

### **2.8 Pengembangan Metode *Escalating Dose (Antigen-Spesific) Immunotherapy* dalam Menurunkan Progresivitas Penyakit Autoimun**

Penyakit autoimun merupakan salah satu kondisi inflamasi kronis yang disebabkan oleh respon imun berlebihan dalam melawan jaringan tubuh sendiri. Dalam beberapa perkembangannya terus ditemukan terapi dalam mengobati penyakit autoimun, namun hasil yang didapatkan belum memenuhi ekspektasi seperti obat NSAID, kortikostereoid, antibodi monoclonal, dan inhibitor sel T dan sel B (Rosato, Pisarri, dan Salsano, 2010). Gangguan imun secara fisiologis disebabkan oleh respon tubuh terhadap autoantigen. Dalam penelitian yang dilakukan oleh Bosco et al pada tahun 2013 menunjukkan bahwa dengan pemberian vaksin sel beta autoantigen dapat memberikan efek induksi toleransi sistem imun pada penderita diabetes tipe 1. Hal ini membuktikan bahwa pemberian administrasi autoantigen dapat memberikan proteksi terhadap terjadinya penyakit autoimun. Pada kasus klinis, *Escalating Dose Antigen Immunotherapy* digunakan dalam terapi allergen-spesifik immunoterapi. Metode



terapi dengan memberikan dosis antigen yang meningkat dalam fase awal pengobatan lalu dilanjutkan dengan dosis pemeliharaan yang tinggi tercapai. Pemberian dengan metode ini bertujuan untuk mensupresi respon imun melalui mekanisme toleransi dengan cara menginjeksikan autoantigen (*self-antigen*) dengan dosis yang bertahap hingga memunculkan efek toleransi. Pemberian dosis yang bertahap dan meningkat ini untuk menghindari efek-efek yang merugikan dari yang paling ringan seperti gatal-gatal sampai yang paling berat, syok anafilaksis. (Larche dan Wraith, 2005).

Dalam masalah ini, kemajuan terus dibuat dalam mengembangkan pengobatan autoimunitas salah satunya diperlukan terapi yang berhasil mengembalikan toleransi imunologi dalam jangka panjang dan sel T CD4+ patogenik sebagai target, tanpa terjadinya gangguan sistem kekebalan dan meninggalkan respon immunosurveilsi anti-mikroba dan tumor secara utuh. Imunoterapi dengan menggunakan antigen spesifik dapat memenuhi kriteria tersebut (Satpute et al., 2009).

Metode *Escalating Dose Antigen-Specific Immunotherapy* merupakan suatu metode yang berpeluang besar sebagai terapi penyembuhan penyakit autoimun meskipun penelitian tentang ini baru sedikit. EDI *Antigen-Specific Immunotherapy* yang telah dikembangkan adalah terhadap autoimun Multiple Sclerosis. Injeksi subkutan *Myelin Basic Protein* mampu menginduksi aktivasi dan fungsi pada Treg untuk sekresi sitokin IL-10 dan TGF- $\beta$  yang bekerja menekan sel imun autoreaktif (Lutterotti et al., 2013).

## 2.9 Efek Samping Pemberian Terapi pada Ginjal

Efek yang dihasilkan oleh obat tergantung pada konsentrasinya. Obat diproses dalam organisme melalui empat tahap mulai dari penyerapan, distribusi, metabolisme,

dan ekskresi. Organ ginjal berperan penting dalam ekskresi dan peran *xenobiotics*.

Maka dari itu suatu kelainan pada ginjal dapat berefek pada kemampuan tubuh dalam mengeluarkan obat dari tubuh.

Efek samping obat pada ginjal bervariasi. Cedera ginjal akut merupakan efek toksisitas dari penggunaan terapi obat. Cedera ginjal kronik dapat terjadi karena penggunaan obat analgesik, *calcineurin inhibitors* (Schwab, M., Billing, H., dan Mörke, K., 2016). Nephrotoxicity juga bisa terjadi pada penggunaan obat jangka panjang seperti obat antibiotik (khususnya aminoglikosida), *angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitor*, *NSAID*, dan obat anti jamur (Zaffanello et al., 2010).

## 2.10 Proteinuria pada Fungsi Ginjal LES

Terjadinya *Lupus Nephritis* merupakan salah satu komplikasi terberat pada pasien LES. Keterlibatan ginjal pada penyakit LES dapat dilakukan pengecekan dengan melakukan urinalisis dan penggunaan biopsi ginjal dalam menemukan kelainan patologi. Pada saat ini dalam memonitoring pasien LES terkena komplikasi *Lupus Nephritis* dengan melakukan beberapa tes rutin seperti protein dalam urin, komposisi sel dalam urin, dan fluktuasi dari antibodi anti-dsDNA (Enghard dan Riemekasten, 2009). Sedangkan secara biopsi ginjal pada *Lupus Nephritis* dapat dibagi menjadi lima tingkatan berdasarkan aktivitas organ, kekronikan organ, dan adanya komplikasi-komplikasi lesi seperti nephritis interstitial dan microangiopati thrombosis (Ioannidis et al., 2012)

Pada urin manusia normal didapatkan terdiri dari albumin kadar normal, enzim proteolitik tertentu, hormone, dan bahan metabolit lain. Proteinuria merupakan kelainan yang terjadi dengan meningkatnya berbagai komponen sel dalam urin.

Terjadinya meningkatnya kadar protein dalam urin dikarenakan adanya lesi pada Podosit glomerulus ginjal. Antibodi, komplemen, sel T limfosit dapat menyebabkan

lesi pada podosit glomerulus ginjal. Podosit adalah sel terdiferensiasi yang melapisi bagian luar kapiler glomerulus yang memiliki peran penting dalam memisahkan protein dari darah dalam proses pembentukan urin. Podosit terletak pada membran basal glomerulus (Trivedi, Zeier dan Reiser, 2009)

### **2.11 Definisi Efikasi**

Efikasi secara definisi merupakan bukti bahwa suatu agen atau produk tersebut dapat menghasilkan efek terapi. Pengujian efikasi biasanya digunakan dalam penelitian yang memiliki pemilihan populasi pasien yang ketat dan diberikan dengan cara paling standar sesuai dengan jurnal prosedur yang ada. Namun uji efikasi tidak dapat memberikan informasi yang dibutuhkan dalam menilai dampak suatu produk atau agen ketika digunakan dalam keadaan dunia nyata (Sargent, 2010). Suatu studi efikasi mengamati efek intervensi oleh suatu obat atau produk. Untuk memaksimalkan efek intervensi, studi desain randomized controlled trial (RCT) sering digunakan dalam studi efikasi. Penggunaan studi desain tersebut untuk mengetahui manfaat dan bahaya dari suatu intervensi di bawah kondisi yang sangat terkendali (Singal, Higgins and Waljee, 2014)

#### **2.11.1 Efikasi terapi saat ini pada LES**

Standar dasar dalam perawatan dan manajemen pada penyakit lupus yaitu dengan menggunakan obat-obat NSAID (non-steroidal anti inflammatory drug), obat antimalaria, kortikosteroid, obat penekan imun (methotrexate, azathioprine, cyclophosphamide, mycophenolate mofetil (MMF) dan cyclosporine. Penggunaan obat antimalaria sangat efektif dalam menangani LES gejala ringan, sedangkan kortikostroid memiliki efek anti inflamasi yang kuat yang masih sering digunakan untuk mencegah penyebaran LES pada tahap awal (Cagri Yildirim-Toruner, 2011). Namun penggunaan dari pengobatan sebelumnya dapat menyebabkan beberapa efek



samping serius seperti peningkatan resiko terjadinya infeksi, penekanan fungsi sumsum tulang, terjadinya keracunan hepar, dan efek samping lainnya (Touma, Urowitz and Gladman, 2013).

Pada terapi yang digunakan dalam lupus nephritis masih sama. Penggunaan obat penekan sistem imun sesuai dengan panduan klinisi yang ada yaitu digunakan dalam dalam fase induksi dan mempertahankan. Penggunaan terapi penekan imun pada fase induksi diberikan tanpa menunda dan mencegah remisi penyakit ginjal seperti proteinuria. Sedangkan tujuan dari terapi mempertahankan adalah untuk mencegah terjadinya kambuh dan efek penyebaran. Penggunaan obat mycophenolate mofetil (MMF) dan cyclophosphamide (CYC) merupakan pilihan untuk digunakan dalam fase induksi maupun mempertahankan. Namun kedua obat ini memiliki efek samping teratogenik terutama pada ibu hamil (Jordan, Natasha; Cruz, 2016).

### **2.11.2 Efikasi Pengobatan Bahan Biologi pada LES**

Seperti disebutkan sebelumnya efikasi pengobatan LES saat ini memiliki beberapa efek samping seperti pada penggunaan dan ketidakmampuan pengobatan LES dalam menekan terjadinya remisi serta memberhentikan proses penyakit LES membuat pengembangan obat baru terus dikembangkan, salah satunya yang memiliki mekanisme dalam menghambat atau memutus terjadinya pembentukan auto sel B terhadap diri sendiri sekaligus hubungan interaksi sel T dan sel B dalam LES (Kamal, 2014).

Pengembangan obat yang mempengaruhi aktivitas sel B memiliki beberapa mekanisme diantaranya obat yang dalam menghambat permukaan reseptor sel B dan menghambat mediator kimia yang digunakan sel B untuk tumbuh dan menjadi fungsional. Beberapa obat yang menghambat reseptor permukaan sel B yaitu Rituximab (anti-CD20), Ocrelizumab (anti-CD20), Epratuzumab (Anti-CD22).

Penggunaan obat rituximab dan ocrelizumab memiliki mekanisme dengan menghambat kerja reseptor CD20. Reseptor ini merupakan antigen permukaan yang berguna dalam mematangkan sel B dan dapat mengaktifasi sel B melalui kalsium influx.

Rituximab dan Ocrelizumab adalah antibodi monoclonal terhadap reseptor CD20 yang dapat menyebabkan kematian sel B matang secara selektif. Studi mengenai penggunaan rituximab telah banyak dilakukan. Dari hasil studi yang dikembangkan dalam beberapa tahun terakhir menunjukkan efikasi rituximab baik ketika digunakan pada pasien LES dengan tingkat yang parah. Rituximab dapat menurunkan kadar anti-dsDNA antibody dan terjadinya perbaikan pada beberapa sistem organ seperti sistem saraf pusat, ginjal, hematologi, dan pembuluh darah (Leandro et al., 2005).

Penggunaan rituximab juga dilakukan pada pasien LES yang memiliki keterlibatan organ ginjal, obat ini dapat mengurangi progress kerusakan ginjal (Looney et al., 2004). Namun pada penelitian sebelumnya juga menyebutkan bahwa sebenarnya penggunaan terapi standar LES memiliki hasil yang hampir sama dalam menurunkan manifestasi klinis penyakit LES dan juga tidak terlalu berpengaruh dalam respon pada organ ginjal (Merrill et al., 2010). Maka dari itu penggunaan rituximab dalam LES masih menjadi kontroversi dan perlu dikaji ulang lebih dalam. Rituximab juga dapat menghasilkan beberapa efek samping yang sering terjadi seperti neutropenia, reaksi infus ringan, dan leukoencephalopathy (Murdaca, Colombo and Puppo, 2011).

### **2.11.3 Efikasi terapi LES saat ini pada ginjal**

Berdasarkan panduan European League Against Rheumatism (EULAR) pemberian terapi kortikosteroid, obat anti malaria, dan obat penekan sistem imun digunakan pada penderita LES yang telah terdiagnosis memiliki keterlibatan ginjal akibat LES atau yang biasanya disebut dengan lupus nephritis (Ruiz-Irastorza et al., 2012).

Prednison merupakan salah satu obat kortikosteroid yang masih digunakan dalam

penanganan lupus nephritis. Pemberian prednisone dengan dikombinasikan dengan obat penekan sistem imun lebih memberkan hasil yang efektif. Walaupun prednisone merupakan dasar terapi dalam pengobatan lupus nephritis, pemakaian obat ini masih terbatas dan harus berhati-hati dalam penentuan dosis yang diberikan. Pemberian prednisone dengan dosis kurang dari 1000mg/per hari sangat efektif dalam menurunkan risiko terjadinya sebaran dari penyakit LES dan infeksi. Di satu sisi, penggunaan obat kortikosteroid akan menghasilkan beberapa efek samping seperti peningkatan terjadinya infeksi dan timbulnya penyakit jantung dan pembuluh darah menurut beberapa bukti yang ada (Ruiz-Irastorza et al., 2010).

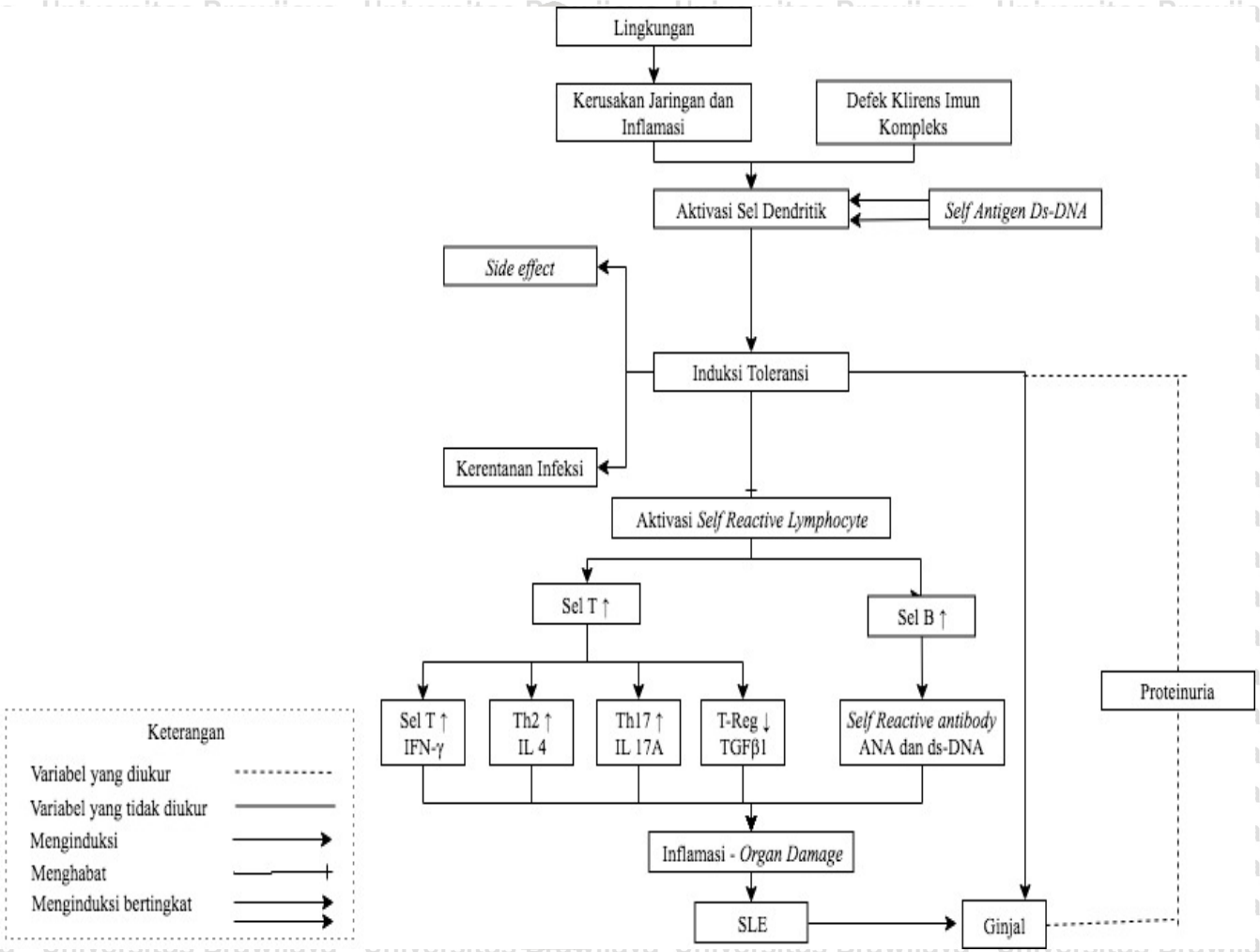
Terapi dengan menggunakan obat anti-malaria, salah satunya adalah hydroxychloroquine juga dapat diberikan pada penderita LES. Berdasarkan studi sebelumnya, hydroxychloroquine dapat mengurangi progresifitas dari lupus nephritis untuk meningkat ke tahap tingkatan 5 hingga kematian. Namun pemberian hydroxychloroquine pada penelitian yang lain menyebutkan bahwa dapat meningkatkan kemungkinan terjadinya remisi (Ruiz-Irastorza et al., 2010)



BAB 3

KERANGKA KONSEP dan HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep Penelitian



Gambar 3.1 Kerangka Konsep Penelitian

Lupus Eritematosus Sistemik terjadi karena peran dari faktor lingkungan terhadap sinar matahari, obat, atau pun infeksi virus dan bakteri, serta ada peran dari genetik dan genome dari setiap individu (Nath, Kilpatrick and Harley, 2004).



Keterpaparan seorang individu pada lingkungan yang terus menerus dapat menyebabkan kerusakan jaringan dan terjadinya inflamasi secara terus menerus. Jika kerusakan pada jaringan terus berlanjut, maka akan terjadi apoptosis sel. Apoptosis sel menghasilkan berbagai macam debris yang salah satunya adalah nuklear self-antigen. Dalam keadaan normal tubuh dapat melakukan pembersihan debris-debris ini. Namun terjadinya berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Manderson et al pada tahun 2004 menunjukkan bahwa terjadi defek pada proses pembersihan sel apoptosis dari tubuh akan meningkatkan terjadinya patofisiologi LES. Debris nuklear self-antigen ini nanti akan ditangkap dan mengaktifasi sel dendritik. Kelainan genetik pada penderita LES dapat mengakibatkan penyimpangan dari fungsi sel dendritik, meliputi proses pengambilan antigen, maturasi, dan kemampuan presentasi (Monrad dan Kaplan et al., 2007). Diperkirakan presentasi antigen sendiri dalam waktu yang lama disertai dengan pembentukan sitokin inflamasi oleh sel dendritik adalah hal yang penting dapat membuat defek pada fungsi toleransi sel dendritik dalam memegang peran krusial sebagai toleransi imun (Kim dan Diamond, 2015). Kemampuan sel dendritik yaitu juga mempresentasikan ke sel T dan sel B. Pelekatan sel dendritik dengan menggunakan kostimulatornya dan berikatan dengan kostimulator sel T disertai dengan sitokin interferon- $\gamma$  (interferon-alfa) akan menyebabkan peningkatan proliferasi dan berdiferensiasi menjadi sel T aktif. Sel Th1 memproduksi IL-2, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , dan IL-12 dan diduga berperan pada kerusakan jaringan dari beberapa penyakit inflamasi kronis autoimun seperti rheumatoid arthritis. Sel Th2 mengeluarkan IL-4, IL-5, IL-13 yang memediasi aktivasi sel B dan produksi antibodi, dan berperan pada penyakit autoimun lain seperti lupus. Hal ini diketahui juga bahwa kedua jalur ini saling menghambat satu sama lain (Doria et al., 2010). Produksi dari interleukin-21 oleh sel T dan interleukin-6 oleh sel T, sel dendritik, dan monosit dapat menekan sel



Treg. Di sisi lain interleukin-6 dan interleukin-21 dapat meningkatkan jumlah dari sel Th17. Sel T aktif juga memproduksi sitokin IL-17A. Sitokin ini memiliki peranan penting dalam aktifitas penyakit LES, yaitu memiliki peran dalam memanggil sel-sel efektor, pembentukan germinal center, dan meningkatkan proliferasi dan diferensiasi sel B menjadi sel yang mengsekresikan antibodi (Durieu, et al, 2009). Sel dendritik yang dapat memproduksi sitokin interferon gamma dapat secara langsung mempengaruhi sel B untuk memproduksi autoantibodi subklas IgG yang spesifik melawan autoantigen (Kalinke et al, 2014). Pengaktifan berbagai sel imun akan membuat kerusakan pada seluruh organ di seluruh tubuh termasuk ginjal dan menjadi LES. Self-antigen dsDNA diberikan untuk memperbaiki sistem toleransi imun melalui sel dendritik. Sel dendritik memegang peranan penting dalam toleransi imun seperti yang telah disebutkan. Terapi dengan menggunakan self-antigen dsDNA dapat menginduksi sistem toleransi imun menjadi normal kembali.

Pada penelitian ini, untuk memperkirakan efikasi dengan menggunakan terapi *Escalating Dose Antigen Specific Self-Antigen dsDNA* dengan melakukan pengukuran kadar proteinuria pada mencit lupus terinduksi pristane.

### 3.2 Hipotesis Penelitian

#### 3.2.1 Hipotesis

1. Pemberian *Escalating Dose Antigen Specific Immunotherapy* menggunakan *self antigen dsDNA* menurunkan kadar Proteinuria pada mencit lupus induksi pristane.

## BAB 4

### METODE PENELITIAN

#### 4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni (*true experimental*) laboratorik dengan menggunakan desain *post test only controlled group design*.

Penelitian ini dilakukan secara *in vivo* dengan menggunakan mencit Balb/C sebagai subjek penelitian yang sebelumnya diinjeksikan *pristane* untuk induksi LES dan kemudian diinjeksikan *self-antigen* dsDNA dalam dosis tertentu secara berurutan dan bertahap.

Pengelompokan dan perlakuan hewan coba dilakukan secara acak dengan metode *simple random sampling* dan pembagian kelompok didasarkan atas pembagian pemberian perlakuan *self antigen* dsDNA. Berikut ini merupakan pembagian kelompok perlakuan :

- A. Kelompok 1: kelompok kontrol negatif (mencit yang tanpa injeksi *pristane*, ds DNA).
- B. Kelompok 2: Kelompok kontrol positif (mencit yang diinjeksi *pristane*, tanpa ds DNA).
- C. Kelompok 3: mencit yang diinjeksi *pristane* dan ds DNA konsentrasi ( $5 \times 10^{-2} \mu\text{g}$ ,  $5 \times 10^{-1} \mu\text{g}$ ,  $5 \mu\text{g}$ ) secara berurutan

#### 4.2 Populasi dan Sampel Penelitian

Sampel penelitian ini adalah mencit strain Balb/c yang diperoleh dari Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah bersertifikasi.

Mencit dibuat model lupus dengan injeksi pristine dan diinjeksikan *self antigen dsDNA* dengan dosis tertentu secara bertahap, lalu dibedah pada akhir perlakuan Mencit yang tidak dibedah dirawat dalam kandang metabolik selama 1 minggu di laboratorium Biosains Universitas Brawijaya untuk pengumpulan sampel urin. Penelitian dilakukan setelah mendapatkan persetujuan dari Komisi Etik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

Berikut ini merupakan kriteria inklusi mencit subjek penelitian ini :

1. Mencit strain Balb/C betina
2. Mencit bewarna bulu putih mengkilat, sehat, bergerak aktif, dan tingkah laku normal
3. Umur 6-8 minggu
4. Berat badan rata-rata 25-30 gram

Berikut ini adalah kriteria eksklusi subjek penelitian

1. Mencit yang selama penelitian tidak mau makan
2. Mencit yang kondisinya menurun atau mati selama penelitian berlangsung

Jumlah sampel mencit yang digunakan dalam penelitian ini dihitung menggunakan rumus sebagai berikut :

$$n (p - 1) \geq 15; n : \text{jumlah ulangan } p : \text{jumlah perlakuan}$$

Penelitian ini terdapat tiga perlakuan sebagaimana yang telah disebutkan sebelumnya. Oleh karena itu didapatkan jumlah sampel sebagai berikut:

$$n (3 - 1) \geq 15; n \geq 7.5 \text{ dibulatkan menjadi } 8 \text{ ekor}$$

Untuk tiga kelompok perlakuan, diperlukan pengulangan paling sedikit sebanyak 8



ekor untuk tiap perlakuan sehingga sampel mencit total yang diperlukan dalam penelitian ini adalah minimal 24 ekor mencit Balb/C betina.

### 4.3 Variabel Penelitian

#### Varibel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pemberian *self antigen* dsDNA dengan dosis  $5 \times 10^{-2} \mu\text{g}$ ,  $5 \times 10^{-1} \mu\text{g}$ ,  $5 \mu\text{g}$  secara intraperitoneal bertahap kepada mencit Balb/c model Lupus.

#### Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini antara lain sebagai berikut:

1. Efikasi pemberian terapi escalating dose antigen specific self antigen dsDNA terhadap kadar proteinuria pada mencit lupus terinduksi pristane

### 4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian akan dilaksanakan di Laboratorium Parasitologi, Laboratorium Sentral Biomedik, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Penelitian dilaksanakan pada bulan Januari—Oktober 2018.

### 4.5 Alat dan Bahan

#### 4.5.1 Alat dan Bahan Pemeliharaan Mencit

Alat: Kandang mencit, botol air minum mencit. Bahan: Pakan mencit, air PDAM, sekam, handscoen

#### 4.5.2 Injeksi Pristane

#### 4.5.3 Alat dan Bahan Isolasi dsDNA

Alat: Pipet, sentrifus, kit Invitrogen, vortex, water bath, nanodrop. Bahan: vacutainer

EDTA, falcon, proteinase K, RNase A, genomic lysis/binding buffer, alcohol absolut, spin column, Eppendorf

#### 4.5.4 Alat dan Bahan Preparasi dan Injeksi dsDNA

Alat: Laminar Air Flow, pipet, vortex. Bahan: glukosa 5%, reagen invivo-jetPEI, larutan dsDNA, spuit 1cc

#### 4.5.5 Alat dan Bahan Label Indikator Protenuria

Alat : dipstick urinalysis (1 kotak) dan kamera *handphone*. Bahan: sampel urin mencit sebanyak 5cc

#### 4.6 Definisi Operasional

1. Hewan coba model Lupus adalah mencit galur Balb/C betina, yang telah menunjukkan tanda lupus karena induksi *pristane* meliputi tanda klinis seperti artritis, bulu rontok, glomerulonephritis, lebih terlihat sedikit beraktifitas, lemas, pembesaran organ spleen dan ginjal, serta disertai peningkatan adanya antibody anti-dsDNA dan ANA
2. *Pristane (tetramethylpentadecane)* merupakan alkana isoprenoid yang digunakan untuk menginduksi lupus pada mencit dan diinjeksikan secara intraperitoneal 0,5mL (Reeves et al., 2010). Pristane didapatkan dari V Gamma Scientific Biolab Malang
3. *Self antigen dsDNA* merupakan antigen yang digunakan dengan metode *Escalating Dose Immunotherapy* dengan optimasi/penentuan dosis antigen ini diisolasi dari darah mencit. Konsentrasi dsDNA yang diinjeksikan,  $5 \times 10^{-2} \mu\text{g}$ ,  $5 \times 10^{-1} \mu\text{g}$ , dan  $5 \mu\text{g}$ , diadaptasi berdasarkan konsentrasi *Myelin Basic Protein* yang digunakan pada penelitian Burton et al pada tahun 2014 yaitu  $8 \times 10^{-2} \mu\text{g}$ ,  $8 \times 10^{-1} \mu\text{g}$ , dan  $8 \mu\text{g}$  (Burton, et al, 2014).

4. Proteinuria adalah suatu penanda biologis aktifitas penyakit dan kerusakan ginjal, serta termasuk dalam aktifitas penyakit lupus (Touma, 2018).

5. *Dipstick Urinalysis* adalah sebuah alat yang memiliki suatu reagen untuk digunakan dalam mengecek sampel urin dan secara visual membandingkan warna dari setiap reagen dengan bagan warna dipstick (Ginardi *et al.*, 2016)

#### **4.7 Prosedur Penelitian**

##### **4.7.1 Persiapan Hewan Coba**

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit strain Balb/C yang dipilih berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi. Mencit Balb/C diperoleh dari Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang karena telah memiliki sertifikasi mengenai keaslian strain. Mencit Balb/C dipilih karena penelitian terdahulu yang menunjukkan bahwa mencit Balb/C dapat memberikan gambaran imunologis seperti yang terjadi pada manusia (Rottman dan Willis, 2010). Mencit diberikan makanan standar dan ditempatkan di dalam kandang.

##### **4.7.2. Injeksi pristane**

Pristane 0,5 mL diinjeksikan secara intraperitoneal pada mencit sehat untuk menginduksi LES, lalu ditunggu selama 8-12 minggu untuk diikuti gejala dan manifestasi klinisnya dalam menentukan mencit sudah lupus.

##### **4.7.3 Pembuatan Mencit model Lupus**

Pada mencit sehat diinjeksikan pristane 0,5 mL secara intraperitoneal, lalu ditunggu 8-12 minggu untuk menunjukkan manifestasi klinis dan gejala lupus. Mencit dikatakan lupus jika memiliki gejala dan manifestasi klinis seperti artritis, bulu rontok, glomerulonephritis, lebih terlihat sedikit beraktifitas, lemas, pembesaran organ spleen dan ginjal, serta disertai peningkatan adanya antibody anti-dsDNA dan ANA (Freitas,

de Oliveira and Monticielo, 2017). Pada minggu ke - 8 mencit dibedah untuk dilakukan pengecekan kadar anti-dsDNA.

#### 4.7.4 Isolasi dsDNA

ds-DNA diisolasi dari serum darah mencit yang sehat menggunakan kit Invitrogen. Darah yang diambil dimasukkan ke dalam falcon 15cc. masing-masing falcon ditambahkan proteinase K sebanyak 20 $\mu$ L dan 20 $\mu$ L RNase A. Falcon kemudian divortex lalu inkubasi dalam suhu ruang selama 2 menit. Genomic lysis/binding buffer dimasukkan ke tiap falcon dan divortex hingga homogen. Lakukan inkubasi selama lima menit dalam water bath 55 $^{\circ}$ C, vortex, dan lanjutkan inkubasi kembali selama lima menit. Tambahkan alcohol absolut 200 $\mu$ L dalam falcon kemudian vortex lima detik.

Sebanyak 640 $\mu$ L lysate dari masing-masing falcon dimasukkan ke dalam spin column untuk kemudian mendapatkan DNA setelah proses binding dan washing tiap-tiap spin column. Spin column yang telah melalui proses binding dan washing ditambahkan elution buffer kemudian diinkubasi suhu ruang selama satu menit dan sentrifus kecepatan maksimal selama tiga menit. Lakukan proses nanodrop setelah DNA yang didapat dicampurkan pada Eppendorf.

#### 4.7.5 Preparasi dan injeksi dsDNA

Reagen invivo-jetPEI dilarutkan dalam setengah volume injeksi pada glukosa 5% dengan pelarut sterile water kemudian divortex cepat. Diambahkan larutan tersebut seluruhnya ke dalam larutan dsDNA (setengah volume injeksi) dan divortex kembali. Dilakukan inkubasi selama 15 menit pada suhu ruang hingga larutan menjadi stabil. Larutan dsDNA diinjeksikan secara intraperitoneal sebanyak 3 kali dengan selang waktu satu minggu sesuai dosis masing-masing tahapan injeksi. Perbandingan

campuran yang digunakan adalah 100 µg dsDNA : 16 µl reagen invivo-jetPEI : 1 mL glukosa 5% sesuai dengan protokol Nucleic Acid Delivery Protocol dari produsen reagen invivo-jetPEI (Polyplus-transfection Inc.).

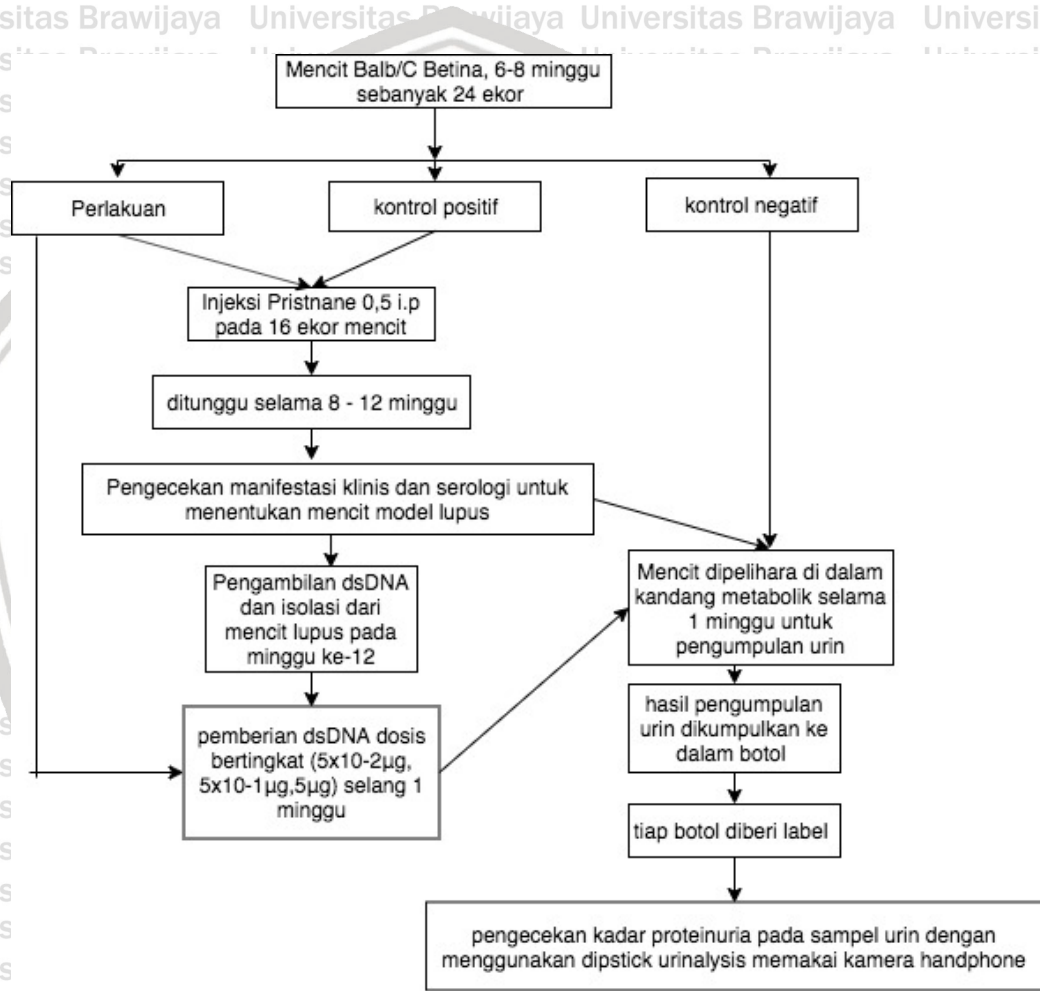
#### 4.7.6 Pengukuran kadar proteinuria dalam sampel urin

Sampel urin dikumpulkan dengan menggunakan kandang metabolik yang dimiliki oleh lab Biosains Universitas Brawijaya, Malang, Jawa Timur. Penggunaan kandang metabolik digunakan untuk mengumpulkan sampel urin dalam 24 jam. Pengumpulan sampel urin selama 24 jam merupakan komponen yang penting dalam suatu pengambilan sampel urin dari hewan coba (Cohen et al., 2007). Dalam pengumpulan sampel urin, mencit dibedakan menjadi lima kandang yaitu satu kandang untuk kelompok kontrol negatif, satu kandang untuk kelompok kontrol positif, dan tiga kandang lainnya untuk kelompok yang diberi perlakuan. Mencit yang akan dikumpulkan urinnya diberi makan dan minum setiap harinya agar urin dapat terkumpul untuk dianalisis kadar proteinnya. Kemudian sampel urin dimasukkan ke dalam beberapa botol kecil plastik untuk kemudian di uji dengan menggunakan *dipstick urinalysis*. Kemudian *dipstick* yang telah dilengkapi dengan fitur *White Patch Retinex* akan difoto dengan menggunakan *kamera smartphone*. *Dipstick* yang telah dicampurkan dengan sampel urin maka akan terjadi perubahan warna yang ada pada *dipstick*. Masing-masing dari hasil warna pada foto akan dipotong dan satu per satu warna akan diubah dengan menjadi lingkup warna RGB atau warna CIELAB. Kemudian dilanjutkan metode assesmen kuantifikasi. Metode ini dilakukan untuk menemukan kesamaan antara warna *dipstick* yang diuji dengan serangkaian warna pada bagan warna. Untuk meningkatkan akurasi dalam menginterpretasikan warna *dipstick* yang diuji, melakukan penghitungan berdasarkan kurva perlu dilakukan untuk memperkirakan warna yang diuji terletak di antara dua bagan warna. Cara yang



dilakukan untuk menentukan hasil warna di dalam antara dua warna adalah dengan menggunakan Euclidean distance dan selanjutnya hasil yang didapatkan akan diperkirakan dengan stepwise linear interpolation. Hasilnya akan menunjukkan skor warna reagen (Ginardi *et al.*, 2016)

#### 4.8 Skema Prosedur Penelitian



**Gambar 4.8 Skema Prosedur Eksperimen Penelitian**

Pada penelitian ini, mencit Balb/c betina usia 6-8 minggu sebanyak 24 ekor dibagi ke dalam tiga kelompok yakni kelompok kontrol negatif, kontrol positif, dan perlakuan.

Kelompok kontrol positif dan perlakuan kemudian diinjeksi pristane secara intraperitoneal. Delapan hingga dua belas minggu setelah injeksi, telah menunjukkan



manifestasi klinis lupus. Kelompok positif dan negatif dilakukan pengumpulan sampel urin menggunakan kandang metabolik di Laboratorium Biosains. Setelah satu minggu dipelihara di dalam kandang metabolik, kelompok positif dan negatif dilakukan pembedahan dan pengambilan darah untuk pengecekan kimia darah dan pembuatan isolasi dsDNA. Hasil pengisolasian dsDNA yang didapat diinjeksikan sebanyak tiga kali dengan dosis berbeda dan bertahap pada tiap kali injeksi berselang satu minggu kepada kelompok perlakuan. Setelah diinjeksikan *self-antigen dsDNA* kelompok perlakuan dipelihara ke dalam kandang metabolik selama satu minggu. Selanjutnya sampel urin dari ketiga kelompok akan dilakukan pengecekan kadar proteinuria menggunakan metode *Dipstick Urinalysis* dengan kamera handphone (Ginardi et al., 2016)

#### 4.9 Analisis Data

Hasil pengukuran parameter tikus kontrol dan perlakuan dianalisa secara statistik dengan menggunakan program *IBM SPSS Statistics 23* dengan tingkat signifikansi 0,05 ( $p = 0,05$ ) dan taraf kepercayaan 95% ( $\alpha = 0,05$ ). Data hasil terapi dengan *self-antigen dsDNA* terhadap kadar proteinuria dengan memakai uji statistik sebagai berikut :

1. Uji Normalitas *Kolmogorov-Smirnov* (Uji K-S) untuk mendeteksi normalitas suatu data
2. Uji Homogenitas *Levene* untuk mengetahui kesamaan atau homogenitas varian dari beberapa populasi

Apabila hasil menunjukkan data berdistribusi normal dan homogen, maka data digolongkan sebagai data parametrik. Selanjutnya dilakukan uji komparasi (*One-way ANOVA*), *Post hoc test*, dan uji korelasi *Pearson*.

1. Uji analisis varian satu arah (ANOVA), untuk melihat perbedaan efek terapi menggunakan *self-antigen dsDNA* terhadap kadar proteinuria pada mencit lupus induksi pristane.

2. Uji *Post Hoc Tukey HSD Test*, untuk membandingkan perbedaan antara kelompok mencit yang tidak lupus dengan kelompok mencit lupus induksi pristane yang diberikan terapi menggunakan *self-antigen dsDNA* dan kelompok mencit induksi pristane yang tidak diberikan terapi *self antigen dsDNA*.

Apabila hasil menunjukkan data berdistribusi tidak normal dan atau tidak homogen, maka dilakukan transformasi data terlebih dahulu. Apabila hasil transformasi masih menghasilkan data yang tidak tersebar normal dan atau tidak homogeny, maka data tersebut diuji sebagai data non-parametrik. Uji yang dilakukan untuk data non-parametrik meliputi uji komparasi, uji post-hoc dan uji korelasi:

1. Uji Komparasi Kruskal-Wallis kemudian dilanjutkan uji Post Hoc Mann Whitney untuk melihat perbedaan efek imunoterapi dengan menggunakan Escalating Dose Antigen Specific Self-Antigen dsDNA terhadap kadar proteinuria pada mencit lupus terinduksi pristane.

**BAB 5**  
**HASIL PENELITIAN**

**5.1. Hasil penelitian data kasar kadar proteinuria**

Dari penelitian yang dilakukan selama kurang lebih 6 bulan yang dimulai pada bulan Mei 2018-Desember 2018. Dari dua puluh empat mencit yang dibagi menjadi tiga kelompok yaitu kelompok perlakuan, kelompok positif, dan kelompok negatif.

Kelompok perlakuan diinjeksikan escalating dose antigen specific self-antigen dsDNA dengan tiga macam dosis  $5 \times 10^{-2} \mu\text{g}$ ,  $5 \times 10^{-1} \mu\text{g}$ , dan  $5 \mu\text{g}$  dalam selang satu minggu.

Pemberian terapi ini digunakan untuk melihat efikasi terhadap kadar proteinuria pada mencit model lupus terinduksi pristane. Sampel urin yang telah dikumpulkan, diuji dengan menggunakan dipstick urinalysis. Dipstick ini kemudian akan difoto dengan menggunakan kamera *handphone*. Setelah difoto, hasil foto yang telah ada dilakukan uji quantifikasi untuk menentukan kadar proteinuria melalui warna yang telah ditentukan sesuai indikator pada label produk *dipstick urinalysis*. Berikut data kasar

hasil quantifikasi.

Kel	
K+	216.94
K+	81.42
K+	113.05
K+	209.00
K+	157.53
K-	7.83
K-	21.87
K-	10.11
K-	12.67
K-	23.76
Ds	16.98
Ds	111.61
Ds	44.61
Ds	97.20
Ds	22.38

**Tabel 5.1 Hasil Pengukuran Kadar Proteinuria (ket: K+ = kelompok perlakuan positif, K- = Kelompok perlakuan negatif, Ds = Kelompok pemberian injeksi dsDNA**

## 5.2. Hasil Pengujian Normalitas dan Homogenitas kadar proteinuria

Data Hasil penelitian diuji dengan uji normalitas sebagai syarat untuk melakukan uji parametrik. Untuk menguji apakah sampel penelitian merupakan jenis sampel dengan distribusi normal maka digunakan pengujian *Shapiro-Wilk*. Tabel 5.1 menunjukkan bahwa nilai kadar proteinuria pada kelompok positif, negatif, dan kelompok perlakuan masing masing memiliki nilai signifikansi adalah 0,318, 0,532, dan 0,263 ( $p>0,05$ ), sehingga dapat disimpulkan bahwa data rerata kadar proteinuria pada mencit terinduksi lupus berdistribusi normal. Setelah dilakukan uji *Shapiro-Wilk*, dilakukan uji homogenitas varians data untuk mendeteksi sampel dalam penelitian merupakan sampel yang homogen. Tabel 5.2 menunjukkan bahwa nilai signifikansi adalah 0,10, sehingga dapat disimpulkan bahwa ragam data rerata kadar proteinuria pada mencit lupus terinduksi pristane merupakan sampel yang tidak homogen.

## 5.3. Hasil Uji *Kruskal Wilis*

Sebelum dilakukan uji *Mann-Whitney*, analisis data dengan menggunakan uji *Kruskal Wilis* untuk membandingkan tiga sampel (kelompok kontrol positif, negatif, dan perlakuan). Setelah diuji didapatkan nilai signifikansi 0,006 ( $<0,05$ ) hal ini menunjukkan bahwa distribusi nilai antar kelompok perlakuan yang diberi terapi (kelompok dsDNA) dengan kelompok kontrol positif (kelompok K+) dan kelompok kontrol negatif (Kelompok K-) memiliki perbedaan yang signifikan. Berdasarkan hasil ini, distribusi nilai variabel kadar proteinuria pada ketiga kelompok sampel adalah berbeda atau tidak sama.

## 5.4. Hasil Uji *Mann Whitney*

Uji *Mann-Whitney* digunakan untuk menguji signifikansi perbedaan rerata

antara satu kelompok data dengan kelompok lainnya. Pada uji *Mann-Whitney* didapatkan:

- Kelompok Kontrol Positif dibandingkan dengan Kelompok Kontrol Negatif

Data hasil penelitian berupa kadar proteinuria dianalisis dengan menggunakan uji *Mann-Whitney*. Pada kelompok kontrol positif dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif menunjukkan bahwa nilai signifikansi/asimpto (*2-tailed*) adalah  $0.009(p < 0.05)$ , sehingga dapat disimpulkan bahwa ada perbedaan yang signifikan antara rerata kelompok kontrol kontrol positif dan kelompok kontrol negatif.

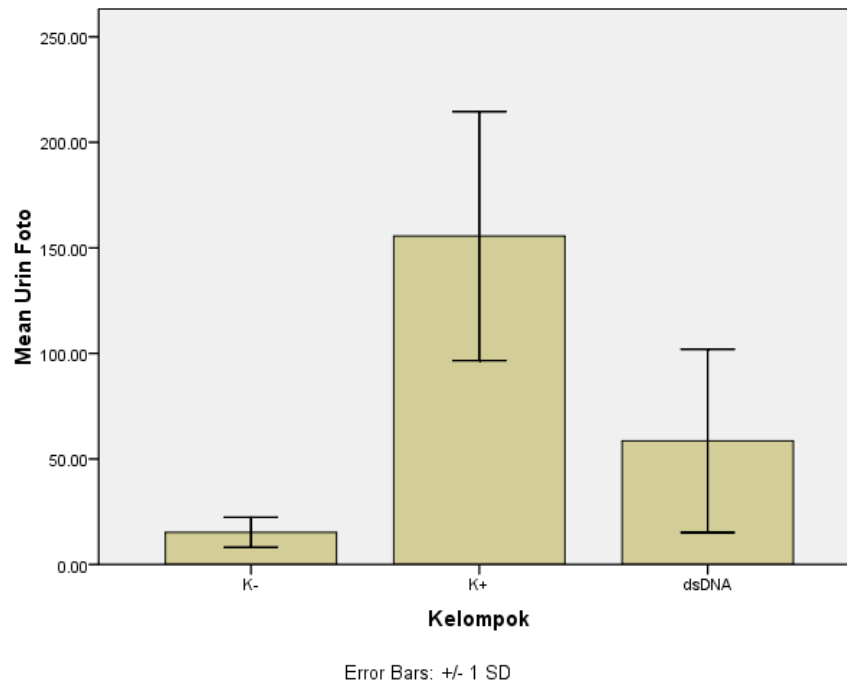
- Kelompok Kontrol Negatif dibandingkan dengan Kelompok Perlakuan

Data hasil penelitian berupa kadar proteinuria dianalisis dengan menggunakan uji *Mann-Whitney*. Pada kelompok kontrol negatif dibandingkan dengan kelompok perlakuan menunjukkan bahwa nilai signifikansi/asimpto (*2-tailed*) adalah  $0.047(p < 0.05)$ , sehingga dapat disimpulkan bahwa ada perbedaan yang signifikan antara rerata kelompok kontrol negatif dan kelompok perlakuan.

- Kelompok Kontrol Positif dibandingkan dengan kelompok perlakuan

Data hasil penelitian berupa kadar proteinuria dianalisis dengan menggunakan uji *Mann-Whitney*. Pada kelompok kontrol pemberian injeksi dsDNA dibandingkan dengan kelompok kontrol positif menunjukkan bahwa nilai signifikansi/asimpto (*2-tailed*) adalah  $0.028(p < 0.05)$ , sehingga dapat disimpulkan bahwa ada perbedaan yang signifikan antara rerata kelompok kontrol pemberian injeksi dsDNA dan kelompok positif.

### 5.5. Hasil Rata-Rata Perbandingan Kadar Proteinuria pada hewan coba



**Gambar 5.5 Hasil Pengukuran Rata-Rata Kadar Proteinuria pada tiap kelompok perlakuan (ket: K+ = kelompok perlakuan positif, K- = Kelompok perlakuan negatif, Ds = Kelompok pemberian injeksi dsDNA)**

Terapi menggunakan EDI dsDNA menurunkan kadar proteinuria pada tikus Pristine Induksi Lupus. Tingkat proteinuria sedikit lebih tinggi pada kelompok kontrol positif ( $155,5 \pm 26,39$ ) dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif ( $15,24 \pm 3,19$ ,  $p = 0,001$ ). Tingkat proteinuria pada kelompok perlakuan ( $58,55 \pm 19,41$ ,  $p = 0,009$ ) lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol positif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terapi EDI dsDNA tidak memperburuk fungsi ginjal pada tikus

PIE.

**BAB 6****PEMBAHASAN****6.1 Kadar Proteinuria**

Lupus Eritematosus Sistemik adalah kelainan fungsi dari sistem imun yang ditandai dengan inflamasi secara sistemik dan menimbulkan berbagai manifestasi klinis. Lupus Eritematosus Sistemik dapat mengenai beberapa organ dan sistem organ serta ginjal merupakan target organ tersering dalam LES (Feldman, C.H. et al, 2013). Keterlibatan organ ginjal karena pengaruh dari LES disebut Lupus Nephritis. Lupus Eritematosus Sistemik memiliki karakteristik kehilangan toleransi terhadap antigen sel sehingga terjadi pembentukan autoantibodi dan kompleks imun yang bersifat patogenik (Xiong and Lahita, 2014). Hal ini dibuktikan pada penelitian mencit yang diinjeksikan Pristane untuk menginduksi Lupus. Pristane merupakan senyawa aktif yang dapat berinteraksi dengan membran permukaan sel. Pristane memiliki efek sitotoksik dan kematian sel (apoptosis) terhadap sel sehingga menyebabkan tingginya produksi autoantigen yang dapat mendorong pembentukan berbagai variasi autoantibodi yang berhubungan dengan LES (Freitas, de Oliveira and Monticielo, 2017). Pembentukan autoantibodi dan kompleks imun ini dapat mencederai organ ginjal. Cedera pada ginjal dapat ditandai dengan timbulnya manifestasi klinis seperti proteinuria dan gagal ginjal akut (Yung dan Chan, 2015).

Proteinuria merupakan kelainan yang terjadi dengan meningkatnya kadar protein dalam urin. Proteinuria merupakan salah satu tanda yang diukur dalam urinalisis dan merupakan manifestasi paling umum dari Lupus Nephritis. Proteinuria adalah salah satu biomarker terbaik yang tersedia untuk menilai keterlibatan ginjal



dalam LES dan untuk memantau respons terhadap terapi dan perkembangan penyakit (Bertsias et al., 2008). Patogenesisnya terjadinya proteinuria pada penderita LES masih belum jelas. Salah satu alasan terjadinya proteinuria diakibatkan dari terbentuknya autoantibodi dan kompleks imun terhadap antigen sel. Autoantibodi dan kompleks imun ini dapat bereaksi silang dengan antigen sel di ginjal. Hal ini dibuktikan dengan penelitian yang dilakukan oleh Quaglini dkk. (2015) ditemukannya kadar anti-C1q dan anti-dsDNA antibodi yang tinggi pada penderita LES yang memiliki keterlibatan pada organ ginjal (*Lupus Nephritis*). Pada penelitian ini juga ditemukan kadar anti-C1q dan anti-dsDNA yang menurun disertai dengan perbaikan dari kadar proteinuria setelah tiga bulan pemberian terapi induksi pada penderita LES (Quaglini et al., 2015). Maka dari itu dalam menurunkan kadar proteinuria diperlukan pengobatan yang aman dan terjangkau untuk menekan aktifitas pembentukan autoantibodi dan kompleks imun pada ginjal. Penggunaan dosis yang rendah pada terapi antigen specific immunotherapy dapat meningkatkan sekresi interleukin-10 (IL-10) dan meregulasi respon imun lebih efektif kembali (Gabryšová and Wraith, 2010).

Manifestasi yang dapat dijumpai pada LES di ginjal adalah proteinuria. Terjadinya proteinuria menunjukkan terjadinya kerusakan fungsi organ ginjal yang dapat berisiko tinggi menjadi penyakit ginjal kronik (chronic kidney disease) (Markowitz and D'Agati, 2009). Kerusakan pada ginjal disebabkan oleh pembentukan deposisi kompleks imun yang berikatan dengan autoantigen di mesangium, ruang subendotel, atau di luar lapisan basement membrane glomerular dan mengaktifasi faktor komplemen yang berperan lebih lanjut dalam merusak sel-sel pada organ ginjal (Anders and Fogo, 2014). Dekomposisi kompleks imun yang terbentuk dan komponen asam nukleatnya dapat mengaktifasi makrofag, sel endotel glomerular, dan sel mesangial untuk memproduksi lebih banyak sitokin proinflamasi yang meningkatkan

inflamasi dan kerusakan pada jaringan ginjal. Selain peran dari kompleks imun, terdapat peran autoantibodi. Salah satunya adalah anti-DNA antibodi yang dapat berikatan dengan sel mesangial dan sel endotel glomerular. Peran ligasi dari Toll-like receptor, complement receptor, dan Fc reseptor juga dapat mengaktifasi sel ginjal untuk melepaskan berbagai macam sitokin dan kemokin proinflamasi yang mendorong datangnya makrofag, hiperaktif sel B, dan sel T yang dapat menyebabkan kerusakan pada ginjal (Kulkarni and Anders, 2012).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efikasi pemberian imunoterapi menggunakan self-antigen dsDNA terhadap kadar proteinuria pada mencit Lupus terinduksi Pristane secara *in vivo*. Metode yang digunakan adalah asesmen kuantifikasi urinalisis dengan menggunakan *dipstick*. Metode ini dilakukan karena imunoterapi menggunakan self-antigen dsDNA merupakan sebuah specimen darah sehat yang diisolasi dari mencit sehat dan diinjeksikan secara intraperitoneal kepada mencit betina. Hasil penelitian ini diperoleh dengan cara mengukur kadar proteinuria pada setiap sampel urin dengan menggunakan *dipstick* khusus urinalisis yang dicelupkan ke dalam sampel urin dan difoto dengan menggunakan aplikasi kamera *smartphone* (Ginardi *et al.*, 2016). Pada setiap *dipstick* terdapat warna standar.

Perubahan warna yang terjadi pada *dipstick* dapat diukur dengan membandingkan pada bagan warna untuk menentukan kadar proteinuria pada setiap sampel urin dari tiga kelompok perlakuan. Penggunaan *dipstick* sebagai alat yang sering digunakan oleh praktisi klinisi untuk mendeteksi awal kadar proteinuria pada sampel urin karena alat ini merupakan yang mudah diaplikasikan (Siedner *et al.*, 2007).

Pemberian imunoterapi menggunakan self-antigen dsDNA terhadap kadar proteinuria pada mencit Lupus terinduksi Pristane didapatkan tingkat proteinuria sedikit lebih tinggi pada kelompok kontrol positif ( $155,5 \pm 26,39$ ) dibandingkan dengan

kelompok kontrol negatif ( $15,24 \pm 3,19$ ,  $p = 0,001$ ). Tingkat proteinuria pada kelompok perlakuan ( $58,55 \pm 19,41$ ,  $p = 0,009$ ) lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol positif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terapi EDI dsDNA tidak memperburuk fungsi ginjal pada tikus PIL. Kadar proteinuria pada mencit Lupus terinduksi Pristane memiliki tingkat kadar sedikit lebih tinggi. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Satoh pada tahun 1994 tentang kadar proteinuria pada tikus Balb/c mice yang diinduksi Pristane mengalami peningkatan secara signifikan dibandingkan dengan mencit normal sebelum diinduksi Pristane dikarenakan pada penyakit LES sistem imun kehilangan toleransi terhadap antigen sel. Antigen sel ini berasal dari sel-sel yang mengalami apoptosis dan debris-debris. Ketidak seimbangan kemampuan tubuh dalam membersihkan produk dari debris-debris dan sel-sel yang mengalami apoptosis menyebabkan terinduksinya sel dendritik, sel B, dan sel T dan sel imun lainnya serta sitokin untuk membentuk suatu sel T dan sel B autoreaktif terhadap self-antigen. Peningkatan Tumor Necrosis Factor (TNF) dapat meningkatkan kadar Interferon-1 (IFN) yang dapat mengaktifasi sel B untuk membentuk autoantibodi (Tsokos et al., 2016). Apabila hal ini terjadi di organ ginjal, autoantibodi yang terbentuk dapat menyebabkan kerusakan pada subendotel, subepitel, dan kapiler peritubular pada ginjal, sehingga menyebabkan penyerapan protein kembali menjadi terganggu dan urin terkandung kadar protein (Yu et al., 2010). LES juga dapat menyebabkan kerusakan fungsi dari sel T untuk memproduksi lebih banyak kadar interleukin-17. Peningkatan jumlah sel Th17 dalam serum pasien lupus dan IL-17 terdeteksi pada glomerulus dan interstitial terinfiltrasi sel T (Vincent et al., 2013). Pada kelompok perlakuan memiliki kadar proteinuria yang lebih rendah dibandingkan dengan kelompok positif, hal ini dikarenakan imunoterapi dengan menggunakan escalating dose specific self-antigen dsDNA dapat memberikan proteksi terhadap terjadinya

penyakit autoimun dengan cara menginduksi aktivasi dan fungsi pada Treg untuk sekresi sitokin IL-10 dan TGF- $\beta$  yang bekerja menekan sel imun autoreaktif (Lutterotti et al., 2013). Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Hahn et al. (2001) dengan menggunakan sebuah peptida asam amino yang diambil dari immunoglobulin anti-DNA. Pada penelitian ini didapatkan bahwa injeksi peptida (pCons) dengan dosis tinggi secara intravena pada mencit yang terinduksi lupus dapat mengurangi progresifitas penyakit, menunda terjadinya lupus nephritis, menghambat produksi autoantibodi, dan menghilangkan produksi sitokin pro-inflamasi dengan menginduksi sel T-reg yang dapat menghasilkan sitokin TGF- $\beta$  untuk menekan produksi dari pembentukan autoantibodi (Hahn et al., 2001)

Uji normalitas dan uji homogenitas digunakan sebagai syarat untuk melakukan uji One-Way ANOVA yaitu untuk mengetahui apakah sampel data yang digunakan berdistribusi normal dan homogen. Hasil kedua uji tersebut menunjukkan bahwa sampel berdistribusi normal, namun data tidak homogen sehingga dapat dilakukan uji statistik non-parametrik. Dalam uji non-parametrik digunakan uji *Kruskal-Willis* untuk menguji perbedaan distribusi nilai variabel antar kelompok dan uji *Mann-Whitney* untuk menguji perbedaan rerata antara satu kelompok dengan kelompok lainnya. Berdasarkan hasil uji statistik *Kruskal-Willis* didapatkan nilai signifikansi sebesar 0,006 (<0,05). Hal ini disimpulkan bahwa distribusi nilai variabel antar kelompok tidak sama.

Hasil ini didukung dengan uji *Mann-Whitney*. Hasil uji tersebut menunjukkan bahwa pemberian imunoterapi dengan menggunakan *self-antigen dsDNA* menghasilkan perbedaan signifikan rerata antara kadar proteinuria pada kelompok perlakuan positif (0,028) maupun kelompok perlakuan negatif (0,047) pada mencit lupus terinduksi. Pristane secara *in-vivo* dengan metode asesmen kuantifikasi urinalisis *dipstick*. Hal ini menunjukkan ada pengaruh pemberian Escalating Dose Antigen Specific *self-antigen*

dsDNA terhadap kadar proteinuria. Pengaruh pemberian dengan Escalating Dose

Antigen Specific self-antigen dsDNA terhadap kadar proteinuria sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Monneaux et al. (2003) dengan menggunakan peptida dari ribonucleoproteinuklear (snRNP) yang merupakan autoantigen utama dalam SLE, namun hanya analog peptida yang mengandung fosfoserin pada posisi 140 (P140) yang mampu menghasilkan efek perbaikan pada tikus terinduksi lupus. Pada penelitian ini analog peptida tersebut dapat mengurangi produksi autoantibodi anti-DNA, menghambat terjadinya proteinuria, dan memperpanjang survival rate dari tikus tersebut. Namun mekanisme kerja dari analog peptida ini masih belum jelas prosesnya dalam menekan autoreaktif sel B dan T pada LES (Monneaux et al., 2007).

Pada uji *Mann-Whitney* didapatkan rerata yang tinggi pada kadar proteinuria kelompok kontrol positif yang signifikan jika dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif dan kelompok kontrol perlakuan. Hal ini dikarenakan pada penyakit LES sistem imun kehilangan toleransi terhadap antigen sel. Terjadinya mekanisme ini akibat dari faktor gen, maupun ketidakseimbangan sistem imun dalam membersihkan debris-debris sel mati (Kulkarni and Anders, 2012). Debris-debris sel yang terlalu banyak di dalam tubuh dapat menginduksi *toll-like receptor* (TLR) pada sel dendritik dan sel B yang dapat membuat sel-sel untuk mengeluarkan sitokin interferon tipe 1. Interferon ini memiliki fungsi yang dapat mengaktifasi sel B untuk menghasilkan autoantibodi.

Debris-debris sel dipresentasikan sel dendritik kepada sel T, sehingga sel T lebih banyak menghasilkan sel Th17 yang bersifat patologis (Tsokos et al., 2016).

Terbentuknya sel B yang menghasilkan autoantibodi dan sel Th17 dapat menginfiltrasi ginjal, jika hal ini terjadinya maka akan menyebabkan kerusakan ginjal (Kulkarni and Anders, 2012). Kerusakan pada organ ginjal ditandai dengan adanya proteinuria (Hemmelgarn et al., 2010). Selain dikarenakan faktor gen dan berkurangnya

kemampuan dalam membersihkan debris-debris, terjadinya LES pada mencit akibat induksi oleh pristane. Sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Satoh dan Reeves, (1994) yang menggunakan injeksi pristane secara intraperitoneal untuk menginduksi mencit menjadi lupus. Pristane merupakan komponen dari minyak mineral yang dapat menyebabkan iritasi pada peritoneal. Iritasi ini dapat menyebabkan inflamasi kronik granulomatous yang memiliki karakteristik kadar interleukin-6 tinggi. Tingginya kadar interleukin ini diproduksi oleh makrofag dan sel-sel inflamasi granuloma. Selain memiliki efek yang membuat tubuh membentuk autoantibodi terhadap antigen sel, pristane memiliki efek reaktifasi autoantibodi untuk melawan berbagai macam retrovirus. Pada mencit biasanya baru menunjukkan terbentuknya autoantibodi khusus LES pada satu-dua bulan setelah injeksi satu dosis pristane. Salah satu pemeriksaan urinalysis yang dilakukan pada penelitian itu, mencit yang terinduksi lupus oleh Pristane memiliki kadar proteinuria secara signifikan (Satoh dan Reeves, 1994).

Pada data di atas rerata kadar proteinuria pada kelompok perlakuan lebih rendah secara signifikan dari kadar proteinuria kelompok positif dikarenakan kemampuan pemberian terapi dengan metode Escalating Dose Antigen Specific Self-Antigen dsDNA dapat meregulasi fungsi dari sel Treg untuk menekan progresifitas penyakit autoimun dan tidak memperburuk fungsi dari organ ginjal (Khattri et al., 2017).

Imunoterapi dengan menggunakan metode self-antigen dapat mengembalikan fungsi regulator dari sistem imun. Penggunaan metode ini telah digunakan pada beberapa penyakit autoimun seperti diabetes tipe 1 dan multiple sclerosis. Pemberian self-antigen dengan menggunakan nanopartikel yang mengandung kompleks MHC diabetes tipe 1 dapat menginduksi sel T untuk memproduksi lebih banyak sel Treg

melalui sekresi sitokin interleukin-10 dan TGF-Beta. Penggunaan nanopartikel ini dapat menurunkan kadar gula menjadi normal dan memproduksi lebih banyak sel Treg yang berguna dalam menekan progresifitas penyakit diabetes tipe 1. Pemberian nanopartikel yang mengandung myelin glikoprotein oligodendrisit diberikan pada tikus yang menderita multiple sclerosis. Setelah dilakukan pemberian imunisasi pada hari ke 13 dan hari ke-21 didapatkan hasil penurunan progresifitas penyakit dan fungsi motorik pada tikus kembali bekerja (Clemente-Casares et al., 2016).

Penggunaan Escalating Dose Antigen Immunotherapy merupakan metode terapi dengan memberikan dosis antigen secara bertahap hingga dosis pemeliharaan yang tertinggi tercapai. Pemberian dengan metode ini bertujuan untuk mensupresi respon imun melalui mekanisme toleransi dengan cara menginjeksikan autoantigen (self-antigen) dengan dosis yang bertahap hingga memunculkan efek toleransi.

Metode ini pertama kali digunakan dengan pemberian self-antigen multiple sclerosis melalui dosis secara oral. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian dosis rendah dapat menginduksi terjadinya supresi autoimunitas (Benson et al., 2000).

Metode Escalating Dose Antigen-Specific Immunotherapy merupakan suatu metode yang berpeluang besar sebagai terapi penyembuhan penyakit autoimun meskipun penelitian tentang ini baru sedikit. EDI Antigen-Specific Immunotherapy yang telah dikembangkan adalah terhadap autoimun Multiple Sclerosis. Penggunaan metode ini dapat menurunkan terjadinya kekambuhan dan progresifitas lesi multiple sclerosis serta tidak menghasilkan efek samping yang berarti pada pasien. Injeksi subkutan dengan Myelin Basic Protein mampu menginduksi aktivasi dan fungsi pada Treg untuk sekresi sitokin IL-10 dan TGF- $\beta$  yang bekerja menekan sel imun autoreaktif (Lutterotti et al., 2013).

## 6.2 Keterbatasan Penelitian

Berdasarkan penelitian ini rerata kadar proteinuria pada kelompok kontrol perlakuan memiliki perbedaan rerata yang lebih rendah secara signifikan daripada kelompok kontrol positif maupun kelompok kontrol negatif. Hal ini akibat efek pemberian imunoterapi menggunakan EDI Antigen-Specific Self Antigen dsDNA.

Pemberian imunoterapi dengan metode ini dapat menginduksi aktivasi dan fungsi sel Treg dalam menekan sel-sel imun yang mengalami hiperaktif. Namun penelitian ini memiliki beberapa limitasi. Perlu dilakukan pengkajian lebih lanjut tentang efek pemberian imunoterapi EDI Antigen-Specific Self Antigen dsDNA terhadap fungsi ekskresi ginjal dengan melakukan pengukuran Laju Filtrasi Glomerulus (LFG). Selain itu, pengkajian lebih lanjut diperlukan untuk mengetahui efek pemberian imunoterapi EDI Antigen-Specific Self Antigen dsDNA dalam jangka panjang untuk mengukur kemampuan terapi ini dalam mencegah kerusakan ginjal yang semakin luas akibat penyakit LES dipadukan dengan melakukan tes biopsi ginjal (European Medical League, 2015).



**BAB 7**

**KESIMPULAN DAN SARAN**

**7.1. Kesimpulan**

1. Pemberian Escalating Dose Antigen Specific Self-antigen dsDNA dapat menurunkan kadar proteinuria mencit betina model lupus induksi pristane

**7.2. Saran**

1. Penelitian lebih lanjut untuk mengetahui efek pemberian imunoterapi Escalating Dose Antigen-Specific Self Antigen dsDNA terhadap fungsi ekskresi ginjal dengan melakukan pengukuran Laju Filtrasi Glomerulus (LFG).
2. Penelitian lebih lanjut untuk mengetahui efek pemberian imunoterapi Escalating Dose Antigen-Specific Self Antigen dsDNA dalam jangka panjang untuk mengukur kemampuan terapi ini dalam mencegah kerusakan ginjal yang semakin luas akibat penyakit LES dipadukan dengan melakukan tes biopsi ginjal.
3. Penelitian lebih lanjut untuk melakukan uji toksisitas pemberian imunoterapi Escalating Dose Antigen-Specific Self Antigen dsDNA



## DAFTAR RUJUKAN

- Akadegawa, K., Ezaki, T., Hontsu, S., Ito, T., Kimura, H., Matsushima, K. *et al.* (2014) 'Defective B1 Cell Homing to the Peritoneal Cavity and Preferential Recruitment of B1 Cells in the Target Organs in a Murine Model for Systemic Lupus Erythematosus', *The Journal of Immunology*, 172(6), pp. 3628–3634. doi: 10.4049/jimmunol.172.6.3628.
- Anders, H. J. and Fogo, A. B. (2014) 'Immunopathology of lupus nephritis', *Seminars in Immunopathology*, 36(4), pp. 443–459. doi: 10.1007/s00281-013-0413-5.
- Bennett, C. L., Christie, J., Ramsdell, F., Brunkow, M. E., Ferguson, P. J., Whitesell, L. *et al.* (2001) 'The IPEX is caused by mutations of FOXP3', *Nature Genetics*, 27(january), pp. 20–21.
- Benson, J. M. Campbell, K. A., Guan, Z., Gienapp, I. E., Stuckman, S. S., Forsthuber, T. *et al.* (2000) 'T-cell activation and receptor down modulation precede deletion induced by mucosally administered antigen', *Journal of Clinical Investigation*, 106(8), pp. 1031–1038. doi: 10.1172/JCI10738.
- Bertsias, G. *et al.* (2008) 'EULAR recommendations for the management of systemic lupus erythematosus. Report of a Task Force of the EULAR Standing Committee for International Clinical Studies Including Therapeutics', *Annals of the Rheumatic Diseases*, 67(2), pp. 195–205. doi: 10.1136/ard.2007.070367.
- Bertsias, G. K., Salmon, J. E. and Boumpas, D. T. (2010) 'Therapeutic opportunities in systemic lupus erythematosus: State of the art and prospects for the new decade', *Annals of the Rheumatic Diseases*, 69(9), pp. 1603–1611. doi: 10.1136/ard.2010.135186.

Bluestone, J. A. and Abbas, A. K. (2003) 'Natural versus adaptive regulatory T cells', *Nature Reviews Immunology*, 3(3), pp. 253–257. doi: 10.1038/nri1032.

Bosco, J. J., Harrison, L. C., Wentworth, J. M., Zhang, Y., Sanchez, E. B., Bohmer, R. M. *et al.* (2013) 'Antigen-Based Vaccination and Prevention of Type 1 Diabetes', *Current Diabetes Reports*, 13(5), pp. 616–623. doi: 10.1007/s11892-013-0415-7.

Brandenburg, S., Takahashi, T., Janke, M., De la Rosa, M., Karsten, G., Muzzulini, *et al.* (2008) 'IL-2 induces in vivo suppression by CD4+CD25+Foxp3+ regulatory T cells', *European Journal of Immunology*, 38(6), pp. 1643–1653. doi: 10.1002/eji.200737791.

Burton, B. R., Britton, G. J., Fang, H., Verhagen, J., Smithers, B., Catherine, A. *et al.* (2014) 'Sequential transcriptional changes dictate safe and effective antigen-specific immunotherapy', *Nature Communications*. Nature Publishing Group, 5, pp. 1–13. doi: 10.1038/ncomms5741.

Cagri Yildirim-Toruner, B. D. (2011) 'Current and Novel Therapeutics in Treatment of SLE', *J Allergy Clin Immunol.*, 127(2), pp. 303–314. doi: 10.1016/j.jaci.2010.12.1087.

Carmona-Fernandes, D., Santos, M. J., Canhao, J., Fonseca, J. E. (2013) 'Anti-ribosomal P protein IgG autoantibodies in patients with systemic lupus erythematosus: Diagnostic performance and clinical profile', *BMC Medicine*, 11(1). doi: 10.1186/1741-7015-11-98.

Castrejon, I., Nika, A., Sequira, W., Jolly, M. (2017) 'Systemic lupus erythematosus', *Comorbidity in Rheumatic Diseases*, 6, pp. 145–163. doi: 10.1007/978-3-319-59963-2\_6.

Chan, O. T. M. and Shlomchik, M. J. (2014) 'Cutting Edge: B Cells Promote CD8+ T

Cell Activation in MRL-Faslpr Mice Independently of MHC Class I Antigen

Presentation', *The Journal of Immunology*, 164(4), pp. 1658–1662. doi: 10.4049/jimmunol.164.4.1658.

Chen, J. E. and Glover, G. H. (2016) 'HHS Public Access', 25(3), pp. 289–313. doi: 10.1007/s11065-015-9294-9.Functional.

Chen, Y., Bi, G., Luo, J., Du, Z., Kong, J., Chen, Y. *et al.* (2017) 'Generation of Methicillin-Resistant *Staphylococcus Aureus* Biofilm Infection in an Immunosuppressed Rat Model', *Medical Science Monitor*, 23, pp. 5803–5811. doi: 10.12659/msm.907479.

Choi, J. Y., Ho, J. H., Pasoto, S. G., Bunin, V., Kim, S. T., Carrasco, S., Borba, E.F. *et al.* (2015) 'Circulating follicular helper-like T cells in systemic lupus erythematosus: Association with disease activity', *Arthritis and Rheumatology*, 67(4), pp. 988–999. doi: 10.1002/art.39020.

Choi, M. Y., Barber, M. R. W., Barber, C. E. H., Clarke, A. E., Fritzler, M. J. (2016) 'Preventing the development of SLE: Identifying risk factors and proposing pathways for clinical care', *Lupus*, 25(8), pp. 838–849. doi: 10.1177/0961203316640367.

Cigni, A., Pileri, P. V., Faedda, R., Gallo, P., Sini, A., Satta, A. E., Marras, R. *et al.* (2014) 'Interleukin 1, interleukin 6, interleukin 10, and tumor necrosis factor (alpha) in active and quiescent systemic lupus erythematosus', *Journal of Investigative Medicine*, 62(5), pp. 825–829. doi: 10.2311/JIM.0000000000000085.

Clemente-Casares, X., Blanco, J., Ambalavanan, P., Yamanouchi, J., Singha, S., Fandos, C. *et al.* (2016) 'Expanding antigen-specific regulatory networks to treat autoimmunity', *Nature*. Nature Publishing Group, 530(7591), pp. 434–440. doi:

10.1038/nature16962.

Cohen, S. M., Ohnishi, T., Clark, N. M., He, J., dan Arnold, L. L. *et al.* (2007)

'Investigations of Rodent Urinary Bladder Carcinogens: Collection, Processing, and Evaluation of Urine and Bladders', *Toxicologic Pathology*, 35(3), pp. 337–347. doi: 10.1080/01926230701197115.

Contreas, Gabriel, M.D., M. P. H., Victoriano, P., Baudouin, L., Oliver, L., Elaine, T.,

Patricia, O'Nan. *et al.* (2004) 'New England Journal', *N Engl J Med*, 350(10), pp. 971–980. doi: 10.1056/NEJMoa0707943.

Craft, J. E. (2012) 'Follicular helper T cells in immunity and systemic autoimmunity',

*Nature Reviews Rheumatology*. Nature Publishing Group, 8(6), pp. 337–347. doi: 10.1038/nrrheum.2012.58.

Davis, L. S. and Reimold, A. M. (2017) 'Research and therapeutics—traditional and

emerging therapies in systemic lupus erythematosus', *Rheumatology*, 56(suppl\_1), pp. i100–i113. doi: 10.1093/rheumatology/kew417.

Diamond, A. (2014) 'NIH Public Access', *annual review of Psychology*, 64(1), pp. 135–

168. doi: 10.1146/annurev-psych-113011-143750.Executive.

Dolff, S., Bijl M., Huitema, M.G., Limburg, P.S., Kallenberg, C.G.M., Abdulahad, W.H.

(2011) 'Disturbed Th1, Th2, Th17 and T reg balance in patients with systemic lupus erythematosus', *Clinical Immunology*. Elsevier Inc., 141(2), pp. 197–204. doi: 10.1016/j.clim.2011.08.005.

Di Domizio, J., Gestermann, N., Lande, R., Demaria, O., Frasca, L., Feldmeyer, L. *et*

*al.* (2018) 'Netting Neutrophils Activate Autoreactive B Cells in Lupus', *The Journal of Immunology*, p. j1700778. doi: 10.4049/jimmunol.1700778.

Doria, A., Bassi, N., Bettio, S., Canova, M., Nalotto, L., dan Zen, M. (2010) 'SLE

diagnosis and treatment: When early is early', *Autoimmunity Reviews*. Elsevier

B.V., 10(1), pp. 55–60. doi: 10.1016/j.autrev.2010.08.014.

Dörner, T., Jacobi, A. M., Lee, J., dan Lipsky, P. E. (2011) 'Abnormalities of B cell subsets in patients with systemic lupus erythematosus', *Journal of Immunological Methods*. Elsevier B.V., 363(2), pp. 187–197. doi: 10.1016/j.jim.2010.06.009.

Durieu, I., Doreau, A., Belot, A., Riche, B., Trescol-Biemont, M. C., Ranchin, B. *et al.* (2009) 'Interleukin 17 acts in synergy with B cell-activating factor to influence B cell biology and the pathophysiology of systemic lupus erythematosus', *Nature Immunology*, 10(7), pp. 778–785. doi: 10.1038/ni.1741.

Eichelbaum, M., Giacomini, K. M., Hayden, M.R., Krauss, R.M., Nakamura, Y., dan Roden, D. M. *et al.* (2007) 'When good drugs go bad', *Nature*, 446(7139), pp. 975–977. doi: 10.1038/446975a.

Enghard, P. and Riemekasten, G. (2009) 'Immunology and the diagnosis of lupus nephritis', *Lupus*, 18(4), pp. 287–290. doi: 10.1177/0961203308099632.

European Medical League (2015) 'Guideline on clinical investigation of medicinal products for the treatment of systemic lupus erythematosus and lupus nephritis', 44(February 2015), pp. 1–16. Available at: [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Scientific\\_guideline/2015/03/WC500184889.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2015/03/WC500184889.pdf) Accessed March 8, 2016.

Feldman, C. H., Alarcon, G. S., Costenbader, K. H., Fischer, M. A., Hiraki, L. T., Liu, J. *et al.* (2013) 'Epidemiology and sociodemographics of systemic lupus erythematosus and lupus nephritis among US adults with Medicaid coverage, 2000–2004', *Arthritis and Rheumatism*, 65(3), pp. 753–763. doi: 10.1002/art.37795.

Freitas, E. C., de Oliveira, M. S. and Monticelo, O. A. (2017) 'Pristane-induced lupus:



- considerations on this experimental model', *Clinical Rheumatology*. *Clinical Rheumatology*, 36(11), pp. 2403–2414. doi: 10.1007/s10067-017-3811-6.
- Fu, S. M., Deshmukh, U. S., Bagavant, H., Ly, T., dan Wang, H. (2014) 'Role for Nephritogenic T Cells in Lupus Glomerulonephritis: Progression to Renal Failure Is Accompanied by T Cell Activation and Expansion in Regional Lymph Nodes', *The Journal of Immunology*, 177(11), pp. 8258–8265. doi: 10.4049/jimmunol.177.11.8258.
- Furie, R., Buyon, J., Gordon, C., Hsieh, H.J., Brunetta, P., dan Latinis, K. *et al.* (2011) 'Assessment of flares in lupus patients enrolled in a phase II/III study of rituximab (EXPLORER)', *Lupus*, 20(7), pp. 709–716. doi: 10.1177/0961203310395802.
- Gabryšová, L. and Wraith, D. C. (2010) 'Antigenic strength controls the generation of antigen-specific IL-10-secreting T regulatory cells', *European Journal of Immunology*, 40(5), pp. 1386–1395. doi: 10.1002/eji.200940151.
- Geary, D. F. and Schaefer, F. (2017) 'Preface', *Pediatric Kidney Disease: Second Edition*, pp. v–vi. doi: 10.1007/978-3-662-52972-0.
- Ginardi, H. R., Saikhu, A., Sarno, R., Sunaryono, D., Kholimi, A., dan Shanty, R. (2016) 'Intelligent Method for Dipstick Urinalysis Using Smartphone Camera', *HAL ARCHIVES-OUVERTES*, 1(2), pp. 66–77. doi: 10.1007/978-3-642-55032-4\_7.
- Gordon, C., Amisshah-Arthur, M. B., Brown, S., Bruce, I. N., D'Cruz, D., Empson, B. *et al.* (2018) 'Comment on: The British Society for Rheumatology guideline for the management of systemic lupus erythematosus in adults: reply', *Rheumatology (Oxford, England)*, 57(8), pp. 1502–1503. doi: 10.1093/rheumatology/key170.
- Hahn, B. H. *et al.* (2001) 'Treatment with a consensus peptide based on amino acid sequences in autoantibodies prevents T cell activation by autoantigens and

delays disease onset in murine lupus', *Arthritis and Rheumatism*, 44(2), pp. 432–

441. doi: 10.1002/1529-0131(200102)44:2<432::AID-ANR62>3.0.CO;2-S.

Hahn, B. H., McMahon, M., Wilkinson, A., Wallace, W.D., Daikh, D. L., FitzGerald, J.

*et al.* (2013) 'American College of Rheumatology Guidelines for Screening, Case

Definition, Treatment and Management of Lupus Nephritis', 64(April 2011), pp.

797–808. doi: 10.1002/acr.21664.American.

Harris, D. P., Haynes, L., Sayles, P. C., Duso, D. K., Eaton, S. M., Lepak, N. M. *et al.*

(2000) 'Reciprocal regulation of polarized cytokine production by effector B and

T cells', *Nature Immunology*, 1(6), pp. 475–482. doi: 10.1038/82717.

Hemmelgarn, B. R., Manns, B. J., Lloyd, A., James, M. T., Klarenbach, S., Quinn, R.

R. *et al.* (2010) 'Relation between kidney function, proteinuria, and adverse

outcomes', *JAMA - Journal of the American Medical Association*, 303(5), pp.

423–429. doi: 10.1001/jama.2010.39.

Her, M., Jung, E., Kim, D., Lee, Y., dan Kim, T. (2011) 'Liver enzyme abnormalities in

systemic lupus erythematosus: A focus on toxic hepatitis', *Rheumatology*

*International*, 31(1), pp. 79–84. doi: 10.1007/s00296-009-1237-4.

Hodi, F. S., O'Day, S. J., McDermott, D. F., Weber, R. W., Sosman, J. A., Haanen, J.

B. *et al.* (2010) 'NIH Public Access', *N Engl J Med*, 363(8), pp. 711–723. doi:

10.1056/NEJMoa1003466.Improved.

Ikuni, N., Lourenco, E. V., Hahn, B. H., dan La Cava, A. (2009) 'Cutting Edge:

Regulatory T Cells Directly Suppress B Cells in Systemic Lupus Erythematosus',

*The Journal of Immunology*, 183(3), pp. 1518–1522. doi:

10.4049/jimmunol.0901163.

Ioannidis, J. P. A., Bertsias, G. K., Tektonidou, M., Amoura, Z., Aringer, M., Bajema,

I. *et al.* (2012) 'Joint European League Against Rheumatism and European



Renal Association–European Dialysis and Transplant Association

(EULAR/ERA-EDTA) recommendations for the management of adult and paediatric lupus nephritis', *Annals of the Rheumatic Diseases*, 71(11), pp. 1771–1782. doi: 10.1136/annrheumdis-2012-201940.

Ippolito, A. and Petri, M. (2008) 'An update on mortality in systemic lupus erythematosus', *Clinical and Experimental Rheumatology*, 26(5 SUPPL. 51).

Isenberg, D., Wallace, D. J., Nived, O., Ramsey-Goldman, R., dan Bae, S. *et al.* (2013) 'NIH Public Access', *Arthritis and Rheumatism*, 64(8), pp. 2677–2686. doi: 10.1002/art.34473.Derivation.

Jiang, P., Chan, R. W. Y, Peng, X., Tam, L., Liao, G. J. W., Li, E. K. M., Wong, P. C. H. *et al.* (2014) 'Plasma DNA aberrations in systemic lupus erythematosus revealed by genomic and methylomic sequencing', *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(49), pp. E5302–E5311. doi: 10.1073/pnas.1421126111.

Jordan, Natasha; Cruz, D. . (2016) 'Current and emerging treatment options in the management of Friedreich ataxia.', *ImmunoTargets and Therapy*, 5, pp. 9–20. doi: 10.1517/14656566.2016.1159295.

Kalinke, U., Tough, D. F., Rossman, C., Le Bon, A., Thompson, C., Durand, V. *et al.* (2014) 'Cutting Edge: Enhancement of Antibody Responses Through Direct Stimulation of B and T Cells by Type I IFN', *The Journal of Immunology*, 176(4), pp. 2074–2078. doi: 10.4049/jimmunol.176.4.2074.

Kamal, A. (2014) 'The efficacy of novel B cell biologics as the future of SLE treatment: A review', *Autoimmunity Reviews*. Elsevier B.V., 13(11), pp. 1094–1101. doi: 10.1016/j.autrev.2014.08.020.

Khattri, R., Cox, T., Yasayko, S., dan Ramsdell, F. *et al.* (2017) 'An essential role for

Scurfin in CD4+CD25+T regulatory cells', *Journal of Immunology*, 198(3), pp.

993–998. doi: 10.1038/ni909.

Kim, S. J. and Diamond, B. (2015) 'Modulation of tolerogenic dendritic cells and autoimmunity', *Seminars in Cell and Developmental Biology*. Elsevier Ltd, 41, pp. 49–58. doi: 10.1016/j.semcdb.2014.04.020.

Kleczynska, W., Jakiela, B., Plutecka, H., Milewski, M., Sanak, M., dan Musial, J. *et al.* (2011) 'Imbalance between Th17 and regulatory T-cells in systemic lupus erythematosus', *Folia Histochemica et Cytobiologica*, 49(4), pp. 646–653. doi: 10.5603/FHC.2011.0088.

Kruse, K., Janko, C., Urbonaviciute, V., Mierke, C. T., Winkler, T. H., Voll, R. E. *et al.* (2010) 'Inefficient clearance of dying cells in patients with SLE: Anti-dsDNA autoantibodies, MFG-E8, HMGB-1 and other players', *Apoptosis*, 15(9), pp. 1098–1113. doi: 10.1007/s10495-010-0478-8.

Kulkarni, O. P. and Anders, H. J. (2012) 'Lupus nephritis. How latest insights into its pathogenesis promote novel therapies', *Current Opinion in Rheumatology*, 24(5), pp. 457–465. doi: 10.1097/BOR.0b013e328354c877.

Lahita, R. G. (2017) *Systemic Lupus Erythematosus, Uveitis. A Practical Guide to the Diagnosis and Treatment of Intraocular Inflammation*. Elsevier Inc. doi: 10.1016/B978-0-12-384929-8.00032-0.

Lamore, R., S. P., Patel, K., and Hilas, O. (2012) 'Belimumab (benlysta): a breakthrough therapy for systemic lupus erythematosus.', *P & T: a peer-reviewed journal for formulary management*, 37(4), pp. 212–26. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3351861&tool=pmc-entrez&rendertype=abstract>.

Larché, M. and Wraith, D. C. (2005) 'Peptide-based therapeutic vaccines for allergic



and autoimmune diseases', *Nature Medicine*, 11(4S), p. S69. doi: 10.1038/nm1226.

Leandro, M. J., Cambridge, G., Edwards, J. C., Ehrenstein, M. R., and Isenberg, D. A. (2005) 'B-cell depletion in the treatment of patients with systemic lupus erythematosus: A longitudinal analysis of 24 patients', *Rheumatology*, 44(12), pp. 1542–1545. doi: 10.1093/rheumatology/kei080.

Leng, R.-X., Pan, H. F., Ye, D. Q., and Xu, Y. (2012) 'Potential roles of IL-9 in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus.', *American journal of clinical and experimental immunology*, 1(1), pp. 28–32. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23885312><http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC3714186>.

Lim, H. W., Hillsamer, P., Banham, A. H., and Kim, C. H. (2005) 'Cutting Edge: Direct Suppression of B Cells by CD4 + CD25 + Regulatory T Cells ', *The Journal of Immunology*, 175(7), pp. 4180–4183. doi: 10.4049/jimmunol.175.7.4180.

Lim, S. S., Bayakly, A. R., Helmick, C. G., Gordon, C., Easley, K. A., and Drenkard, C., (2014) 'The incidence and prevalence of systemic lupus erythematosus, 2002-2004: The Georgia lupus registry', *Arthritis and Rheumatology*, 66(2), pp. 357–368. doi: 10.1002/art.38239.

Liu, Z., Zou, Y. R. and Davidson, A. (2011) 'Plasma cells in systemic lupus erythematosus: The long and short of it all', *European Journal of Immunology*, 41(3), pp. 588–591. doi: 10.1002/eji.201041354.

Llorente, L., Richaud-Patin, Y., Garcia-Padilla, C. Claret, E., Jakez-Ocampo, J., Cardiel, M. H., Alcocer-Varela, J., et al. (2000) 'Clinical and biologic effects of anti-interleukin-10 monoclonal antibody administration in systemic Lupus erythematosus', *Arthritis and Rheumatism*, 43(8), pp. 1790–1800. doi:

10.1002/1529-0131(200008)43:8<1790::AID-ANR15>3.0.CO;2-2.

Looney, R. J., Anolik, J. H., Camphell, D., Felgar, R. E., Young, F., Arend, L. J., *et al.*

(2004) 'B cell depletion as a novel treatment for systemic lupus erythematosus:

A phase I/II dose-escalation trial of rituximab', *Arthritis and Rheumatism*, 50(8),

pp. 2580–2589. doi: 10.1002/art.20430.

Lutterotti, A., Yousef, S., Sputtek, A., Sturner, K. H., Stellmann, J. P., Breiden, P., *et*

*al.* (2013) 'Antigen-Specific tolerance by autologous myelin peptide-coupled

cells: a phase 1 in multiple sclerosis', NIH Public Access, *Science Translational*

*Medicine*, 5(188), pp. 1–21. doi: 10.1126/scitranslmed.3006168.Antigen-

Specific.

Macleod, M. K. and Anderton, S. M. (2015) 'Antigen-based immunotherapy (AIT) for

autoimmune and allergic disease', *Current Opinion in Pharmacology*. Elsevier

Ltd, 23, pp. 11–16. doi: 10.1016/j.coph.2015.05.003.

Manson, J. J. and Isenberg, D. A. (2003) 'The Pathogenesis of Systemic Lupus

Erythematosus', 61(11), pp. 343–346.

Marion, T. N. and Postlethwaite, A. E. (2014) 'Chance, genetics, and the heterogeneity

of disease and pathogenesis in systemic lupus erythematosus', *Seminars in*

*Immunopathology*, 36(5), pp. 495–517. doi: 10.1007/s00281-014-0440-x.

Markowitz, G. S. and D'Agati, V. D. (2009) 'Classification of lupus nephritis', *Current*

*Opinion in Nephrology and Hypertension*, 18(3), pp. 220–225. doi:

10.1097/MNH.0b013e328327b379.

Merrill, J. T., Neuwelt, C. M., Wallace, D. J., Shanahan, J. C., Latinis, K. M., Oates, J.

C., *et al.* (2010) 'Efficacy and safety of rituximab in moderately-to-severely active

systemic lupus erythematosus: The randomized, double-blind, phase II/III

systemic lupus erythematosus evaluation of rituximab trial', *Arthritis and*

*Rheumatism*, 62(1), pp. 222–233. doi: 10.1002/art.27233.

Mildner, A. and Jung, S. (2014) 'Development and function of dendritic cell subsets', *Immunity*. Elsevier Inc., 40(5), pp. 642–656. doi: 10.1016/j.immuni.2014.04.016.

Miyanishi, M., Tada, K., Koike, M., Uchiyama, Y., Kitamura, T., and Nagata, S., (2007) 'Identification of Tim4 as a phosphatidylserine receptor', *Nature*, 450(7168), pp. 435–439. doi: 10.1038/nature06307.

Mohan, C. and Putterman, C. (2015) 'Genetics and pathogenesis of systemic lupus erythematosus and lupus nephritis', *Nature Reviews Nephrology*. Nature Publishing Group, a division of Macmillan Publishers Limited. All Rights Reserved., 11, p. 329. Available at: <http://dx.doi.org/10.1038/nrneph.2015.33>.

Monneaux, F. *et al.* (2007) 'Importance of spliceosomal RNP1 motif for intermolecular T-B cell spreading and tolerance restoration in lupus', *Arthritis Research and Therapy*, 9(5), pp. 1–10. doi: 10.1186/ar2317.

Monrad, S. and Kaplan, M. J. (2007) 'Dendritic cells and the immunopathogenesis of systemic lupus erythematosus', *Immunologic Research*, 37(2), pp. 135–145. doi: 10.1007/BF02685895

Moroni, G., Doria, A., Mosca, M., Alberighi, O. D. C., Ferraccioli, G., Todesco, S., *et al.* (2006) 'A randomized pilot trial comparing cyclosporine and azathioprine for maintenance therapy in diffuse lupus nephritis over four years.', *Clinical Journal of the American Society of Nephrology: CJASN*, 1(5), pp. 925–932. doi: 10.2215/CJN.02271205.

Moulton, V. R. and Tsokos, G. C. (2015) 'T cell signaling abnormalities contribute to aberrant immune cell function and autoimmunity', *Journal of Clinical Investigation*, 125(6), pp. 2220–2227. doi: 10.1172/JCI78087.

Muñoz-Fernández, S., Cobo-Ibanez, T., Loza-Santamaria, E., Pego-Reigosa, J. M.,

Marques, A. O., Rua-Figueroa, I., *et al.* (2014) 'Efficacy and safety of rituximab in the treatment of non-renal systemic lupus erythematosus: A systematic review', *Seminars in Arthritis and Rheumatism*, 44(2), pp. 175–185. doi: 10.1016/j.semarthrit.2014.04.002.

Murdaca, G., Colombo, B. M. and Puppo, F. (2011) 'Emerging biological drugs: A new therapeutic approach for Systemic Lupus Erythematosus. An update upon efficacy and adverse events', *Autoimmunity Reviews*. Elsevier B.V., 11(1), pp. 56–60. doi: 10.1016/j.autrev.2011.07.006.

Murphy, G. and Isenberg, D. (2013) 'Effect of gender on clinical presentation in systemic lupus erythematosus', *Rheumatology (United Kingdom)*, 52(12), pp. 2108–2115. doi: 10.1093/rheumatology/ket160.

Nasonov, E., Soloviev, J. E., Davidson, A., Lila, R., Ivanova, G., Togizbayev, Z., *et al.* (2014) 'The prevalence and incidence of Systemic Lupus Erythematosus (SLE) in selected cities from three Commonwealth of Independent States countries (the Russian Federation, Ukraine and Kazakhstan)', *Lupus*, 23(2), pp. 213–219. doi: 10.1177/0961203313512881.

Nath, S. K., Kilpatrick, J. and Harley, J. B. (2004) 'Genetics of human systemic lupus erythematosus: The emerging picture', *Current Opinion in Immunology*, 16(6), pp. 794–800. doi: 10.1016/j.coi.2004.09.007.

Niewold, T. B., Kelly, J. A., Kariuki, S. N., Franek, B. S., Kumar, A. A., Kaufman, K. M., *et al.* (2013) 'IRF5 Haplotypes demonstrate diverse serological associations which predicts serum interferon alpha activity and explain the majority of the genetic association with systemic lupus erythematosus', NIH Public Access, 71(3), pp. 463–468. doi: 10.1136/annrheumdis-2011-200463.IRF5.

Ohl, K. and Tenbrock, K. (2015) 'Regulatory T cells in systemic lupus erythematosus',

- European Journal of Immunology, 45(2), pp. 344–355. doi: 10.1002/eji.201344280
- Parikh, S. V., Alvarado, A., Malvar, A., and Rovin, B. H., (2015) 'The Kidney Biopsy in Lupus Nephritis: Past, Present, and Future', *Seminars in Nephrology*. Elsevier, 35(5), pp. 465–477. doi: 10.1016/j.semnephrol.2015.08.008.
- Piga, M., Vacca, A., Porru., G., Cauli, A., and Mathieu, A., (2010) 'Liver involvement in systemic lupus erythematosus: incidence, clinical course and outcome of lupus hepatitis', *Clinical and Experimental Rheumatology*, 28(4), pp. 504–510.
- Quaglioni, S., Moroni, G., Radice, A., Trezzi, B., Raffiotta, F., Messa, P., et al. (2015) 'The Value of a Panel of Autoantibodies for Predicting the Activity of Lupus Nephritis at Time of Renal Biopsy', *Journal of Immunology Research*. Hindawi Publishing Corporation, 2015, pp. 1–8. doi: 10.1155/2015/106904.
- Rees, F., Doherty, M., Grainge, M., Davenport, G., Lanyon, P., and Zhang, W., (2016) 'The incidence and prevalence of systemic lupus erythematosus in the UK, 1999-2012', *Annals of the Rheumatic Diseases*, 75(1), pp. 136–141. doi: 10.1136/annrheumdis-2014-206334.
- Reeves, W. H., Lee, P. Y., Weinstein, J. S., Satoh, M., and Lu, L., (2010) 'Induction of autoimmunity by pristane and other naturally occurring hydrocarbons', 30(9), pp. 455–464. doi: 10.1016/j.it.2009.06.003.Induction.
- Rosato, E., Pisarri, S. and Salsano, F. (2010) 'Current strategies for the treatment of autoimmune diseases', *Journal of biological regulators and homeostatic agents*, 24, pp. 251–259.
- Rottman, J. B. and Willis, C. R. (2010) 'Mouse models of systemic lupus erythematosus reveal a complex pathogenesis', *Veterinary Pathology*, 47(4), pp. 664–676. doi: 10.1177/0300985810370005.

Ruger, B. M., Erb, K. J., He, Y., Lane, J. M., Davis, P. F., and Hasan, Q., (2000)

'Interleukin-4 transgenic mice develop glomerulosclerosis independent of immunoglobulin deposition', *European Journal of Immunology*, 30(9), pp. 2698–

2703. doi: 10.1002/1521-4141(200009)30:9<2698::AID-IMMU2698>3.0.CO;2-

1

Ruggiero, P., Bossu, P., Neumann, D., Del Giudice, E., Ciaramella, A., Gloaguen, I.,

*et al.* (2003) 'IL-18 cDNA vaccination protects mice from spontaneous lupus-like autoimmune disease', *Proceedings of the National Academy of Sciences*,

100(24), pp. 14181–14186. doi: 10.1073/pnas.2336094100.

Ruiz-Irastorza, G., Ramos-Casals, M., Brito-Zeron, P., and Khamashta, M. A., (2010)

'Clinical efficacy and side effects of antimalarials in systemic lupus erythematosus: A systematic review', *Annals of the Rheumatic Diseases*, 69(1),

pp. 20–28. doi: 10.1136/ard.2008.101766.

Ruiz-Irastorza, G., Epinosa, G., Frutos, M. A., Jimenez Alonso, J., Praga, M., Pallares,

L., *et al.* (2012) 'Diagnosis and treatment of Lupus nephritis: Consensus document from the systemic auto-immune disease group (GEAS) of the Spanish society of internal medicine (SEMI) and the Spanish society of nephrology

(S.E.N.)', *Nefrologia*, 32(SUPPL. 1), pp. 1–45. doi:

10.3265/Nefrologia.pre2011.Dec.11298.

Satoh, M. (1994) 'Induction of lupus-associated autoantibodies in BALB/c mice by

intraperitoneal injection of pristane', *Journal of Experimental Medicine*, 180(6),

pp. 2341–2346. doi: 10.1084/jem.180.6.2341.

Satpute, S. R., Rajaiah, R., Polumuri, S. K., and Moudgil, K. D., (2009)

'Tolerization with heat-shock protein 65 induces protection against



adjuvant arthritis by modulating the antigen-directed IFN- $\gamma$ , IL-17 and antibody responses', 60(1), pp. 103–113. doi: 10.1002/art.24139.Tolerization.

Selby, J. V and Go, A. S. (2017) 'New England Journal', pp. 2155–2165. doi: 10.1056/NEJMoa0707943.

Seligman, V. A. *et al.* (no date) 'in the Development of Lupus Nephritis: A Retrospective Analysis', 9343(02), pp. 0–3.

Shevach, E. M. *et al.* (2008) 'Retinoic acid inhibits Th17 polarization and enhances FoxP3 expression through a Stat-3/Stat-5 independent signaling pathway', *Blood*, 111(3), pp. 1013–1020. doi: 10.1182/blood-2007-06-096438.

Siedner, M. J. *et al.* (2007) 'Screening for proteinuria in patients with lupus: a survey of practice preferences among American rheumatologists.', *The Journal of Rheumatology*, 34(5), pp. 973 LP

Singal, A. G., Higgins, P. D. R. and Waljee, A. K. (2014) 'A primer on effectiveness and efficacy trials', *Clinical and Translational Gastroenterology*. Nature Publishing Group, 5(2), pp. e45–4. doi: 10.1038/ctg.2013.13.

Singh, R. R. (2003) 'IL-4 and many roads to lupuslike autoimmunity', *Clinical Immunology*, 108(2), pp. 73–79. doi: 10.1016/S1521-6616(03)00145-1.

Sokumbi, O. *et al.* (2016) 'HHS Public Access', 67(6), pp. 817–828. doi: 10.1002/acr.22502.Epidemiology.

Sutton, E. J., Davidson, J. E. and Bruce, I. N. (2013) 'The Systemic Lupus International Collaborating Clinics (SLICC) damage index: A systematic literature review', *Seminars in Arthritis and Rheumatism*. Elsevier, 43(3), pp. 352–361. doi: 10.1016/j.semarthrit.2013.05.003.

Teichmann LL, Ols ML, Kashgarian M, Reizis B, Kaplan DH, S. M. (2014) 'NIH Public Access', *Immunology* 2010, 71(11), pp. 3831–3840. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-10-4002.BONE.

Touma, Z. (2018) 'Proteinuria: Assessment and Utility in Lupus Nephritis', *Orthopedic Research and Physiotherapy*, 2(2), pp. 1–8. doi: 10.24966/avs-7397/100028.

Touma, Z. and Gladman, D. D. (2017) 'Current and future therapies for SLE: Obstacles and recommendations for the development of novel treatments', *Lupus Science and Medicine*, 4(1), pp. 1–11. doi: 10.1136/lupus-2017-000239.

Touma, Z., Urowitz, M. B. and Gladman, D. D. (2013) 'Systemic lupus erythematosus: an update on current pharmacotherapy and future directions', *Expert Opinion on Biological Therapy*, 13(5), pp. 723–737. doi: 10.1517/14712598.2013.764411.

Tran, D. Q., Ramsey, H. and Shevach, E. M. (2007) 'Induction of FOXP3 expression in naive human CD4<sup>+</sup>FOXP3<sup>+</sup> T cells by T-cell receptor stimulation is transforming growth factor', *Blood*, 110(8), p. 2983. doi: 10.1182/blood-2007-06-094656.The.

Trivedi, S., Zeier, M. and Reiser, J. (2009) 'Role of podocytes in lupus nephritis', *Nephrology Dialysis Transplantation*, 24(12), pp. 3607–3612. doi: 10.1093/ndt/gfp427.

Tsokos, G. C. *et al.* (2016) 'New insights into the immunopathogenesis of systemic lupus erythematosus', *Nature Reviews Rheumatology*. Nature Publishing Group, 12(12), pp. 716–730. doi: 10.1038/nrrheum.2016.186.

Tung, K. *et al.* (2014) 'Phosphorylated ERM Is Responsible for Increased T Cell Polarization, Adhesion, and Migration in Patients with Systemic Lupus Erythematosus', *The Journal of Immunology*, 178(3), pp. 1938–1947. doi: 10.4049/jimmunol.178.3.1938.

Tunncliffe, D. J. *et al.* (2015) 'Diagnosis, Monitoring, and Treatment of Systemic Lupus Erythematosus: A Systematic Review of Clinical Practice Guidelines', *Arthritis Care and Research*, 67(10), pp. 1440–1452. doi: 10.1002/acr.22591.

Urowitz, M. B. *et al.* (2008) 'Changing patterns in mortality and disease outcomes for patients with systemic lupus erythematosus', *Journal of Rheumatology*, 35(11), pp. 2152–2158. doi: 10.3899/jrheum.080214.

Viallard, J. F. *et al.* (1999) 'peripheral blood mononuclear cells ( PBMC ) from patients with systemic lupus erythematosus ( SLE )', *Clinical and Experimental Immunology*, 1, pp. 189–195.

Vincent, F. B., Northcott, M., Hoi, Alberta., Mackay, F., Morand, E.F. (2013) 'Clinical associations of serum interleukin-17 in systemic lupus erythematosus', *Arthritis Research and Therapy*. BioMed Central Ltd, 15(4), p. R97. doi: 10.1186/ar4277.

Wang, H. *et al.* (2009) 'Immunotherapy of autoimmune diabetes by nasal administration of tandem glutamic acid decarboxylase 65 peptides', *Immunological Investigations*, 38(8), pp. 690–703. doi: 10.3109/08820130903124770.

Wang, Y. *et al.* (2014) 'Podocyte involvement in lupus nephritis based on the 2003 ISN/RPS system: A large cohort study from a single centre', *Rheumatology (United Kingdom)*, 53(7), pp. 1235–1244. doi: 10.1093/rheumatology/ket491.

Wideman, T. H., Zautra, A. J. and Edwards, R. R. (2014) 'NIH Public Access', 154(11), pp. 2262–2265. doi: 10.1016/j.pain.2013.06.005.Re-Thinking.

Xiong, W. and Lahita, R. G. (2014) 'Pragmatic approaches to therapy for systemic lupus erythematosus', *Nature Reviews Rheumatology*. Nature Publishing Group, 10(2), pp. 97–107. doi: 10.1038/nrrheum.2013.157.

Yu, F. *et al.* (2010) 'Tubulointerstitial lesions of patients with lupus nephritis classified

by the 2003 International Society of Nephrology and Renal Pathology Society system', *Kidney International*. Elsevier Masson SAS, 77(9), pp. 820–829. doi: 10.1038/ki.2010.13.

Yung, S. *et al.* (2010) 'Anti-dsDNA Antibodies Bind to Mesangial Annexin II in Lupus Nephritis', *Journal of the American Society of Nephrology*, 21(11), pp. 1912–1927. doi: 10.1681/asn.2009080805.

Yung, S. and Chan, T. M. (2015) 'Mechanisms of kidney injury in lupus nephritis - the role of anti-dsDNA antibodies', *Frontiers in Immunology*, 6(SEP), pp. 1–11. doi: 10.3389/fimmu.2015.00475.

Zaffanello, M. *et al.* (2010) 'Long-term effects of neonatal drugs on the kidney', *Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine*, 23(SUPPL. 3), pp. 87–89. doi: 10.3109/14767058.2010.501156.

Zhao, J. *et al.* (2013) 'Bay11-7082 attenuates murine lupus nephritis via inhibiting NLRP3 inflammasome and NF- $\kappa$ B activation', *International Immunopharmacology*. Elsevier B.V., 17(1), pp. 116–122. doi: 10.1016/j.intimp.2013.05.027.

Dema, B. and Charles, N. (2014). Advances in mechanisms of systemic lupus erythematosus. - PubMed - NCBI. [online] Ncbi.nlm.nih.gov. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24882716> [Accessed 9 Mar. 2019].

Bolland, S. and Ravetch, J. V. (2000) 'Spontaneous autoimmune disease in Fc $\gamma$ RIIB-deficient mice results from strain-specific epistasis', *Immunity*, 13(2), pp. 277–285. doi: 10.1016/S1074-7613(00)00027-3.

Crispín, J. C. *et al.* (2010) 'Pathogenesis of human systemic lupus erythematosus: recent advances', *Trends in Molecular Medicine*, 16(2), pp. 47–57. doi: 10.1016/j.molmed.2009.12.005.

Doria, A. *et al.* (2006) 'Long-Term Prognosis and Causes of Death in Systemic Lupus Erythematosus', *American Journal of Medicine*, 119(8), pp. 700–706. doi: 10.1016/j.amjmed.2005.11.034.

Ferraccioli, G. and Tolusso, B. (2007) 'Infections, B cell receptor activation and autoimmunity: Different check-point impairments lead to autoimmunity, clonal B cell expansion and fibrosis in different immunological settings', *Autoimmunity Reviews*, 7(2), pp. 109–113. doi: 10.1016/j.autrev.2007.02.013.

GEORGE, B., CERVERA, R. and BOUMPAS, D. (2012) 'Systemic Lupus Erythematosus: Pathogenesis and Clinical Features', *Eular On-line Course on Rheumatic Diseases*, (1909), pp. 476–505. doi: 10.1111/j.1365-2966.2012.21483.x.

Gilbert, D. *et al.* (2014) 'Role of TLR9 in Anti-Nucleosome and Anti-DNA Antibody Production in Ipr Mutation-Induced Murine Lupus', *The Journal of Immunology*, 177(2), pp. 1349–1354. doi: 10.4049/jimmunol.177.2.1349.

Gordon, C. *et al.* (2018) 'Comment on: The British Society for Rheumatology guideline for the management of systemic lupus erythematosus in adults: reply', *Rheumatology (Oxford, England)*, 57(8), pp. 1502–1503. doi: 10.1093/rheumatology/key170.

Guerrier, T. *et al.* (2012) 'TLR9 drives the development of transitional B cells towards the marginal zone pathway and promotes autoimmunity', *Journal of Autoimmunity*. Elsevier Ltd, 39(3), pp. 173–179. doi: 10.1016/j.jaut.2012.05.012.

Jenks, S. A. and Sanz, I. (2009) 'Altered B cell receptor signaling in human systemic lupus erythematosus', *Autoimmunity Reviews*. Elsevier B.V., 8(3), pp. 209–213. doi: 10.1016/j.autrev.2008.07.047.

Kammer, G. M. *et al.* (2008) 'B cells from patients with systemic lupus erythematosus

display abnormal antigen receptor-mediated early signal transduction events.',

*Journal of Clinical Investigation*, 98(11), pp. 2549–2557. doi: 10.1172/jci119073.

Kementrian Kesehatan RI (2017) 'Situasi Lupus di Indonesia', pp. 1–7. Available at:

[www.depkes.go.id/resources/download/pusdatin/infodatin/Infodatin-Lupus-2017.pdf](http://www.depkes.go.id/resources/download/pusdatin/infodatin/Infodatin-Lupus-2017.pdf).

Lesley, R. *et al.* (2004) 'Reduced competitiveness of autoantigen-engaged B cells due to increased dependence on BAFF', *Immunity*, 20(4), pp. 441–453. doi: 10.1016/S1074-7613(04)00079-2.

Mak, A. and Kow, N. Y. (2014) 'The Pathology of T Cells in Systemic Lupus Erythematosus', *Journal of Immunology Research*, 2014, pp. 1–8. doi: 10.1155/2014/419029.

Moulton, V. R. *et al.* (2017) 'Pathogenesis of Human Systemic Lupus Erythematosus: A Cellular Perspective', *Trends in Molecular Medicine*. Elsevier Ltd, 23(7), pp. 615–635. doi: 10.1016/j.molmed.2017.05.006.

Pathak, S. and Mohan, C. (2011) 'Cellular and molecular pathogenesis of systemic lupus erythematosus: Lessons from animal models', *Arthritis Research and Therapy*, 13(5), pp. 1–9. doi: 10.1186/ar3465.

Pieterse, E. and van der Vlag, J. (2014) 'Breaking immunological tolerance in systemic lupus erythematosus', *Frontiers in Immunology*, 5(APR), pp. 1–8. doi: 10.3389/fimmu.2014.00164.

Ross, S. H. and Cantrell, D. A. (2018) 'Signaling and Function of Interleukin-2 in T Lymphocytes', *Annual Review of Immunology*, 36(1), pp. 411–433. doi: 10.1146/annurev-immunol-042617-053352.

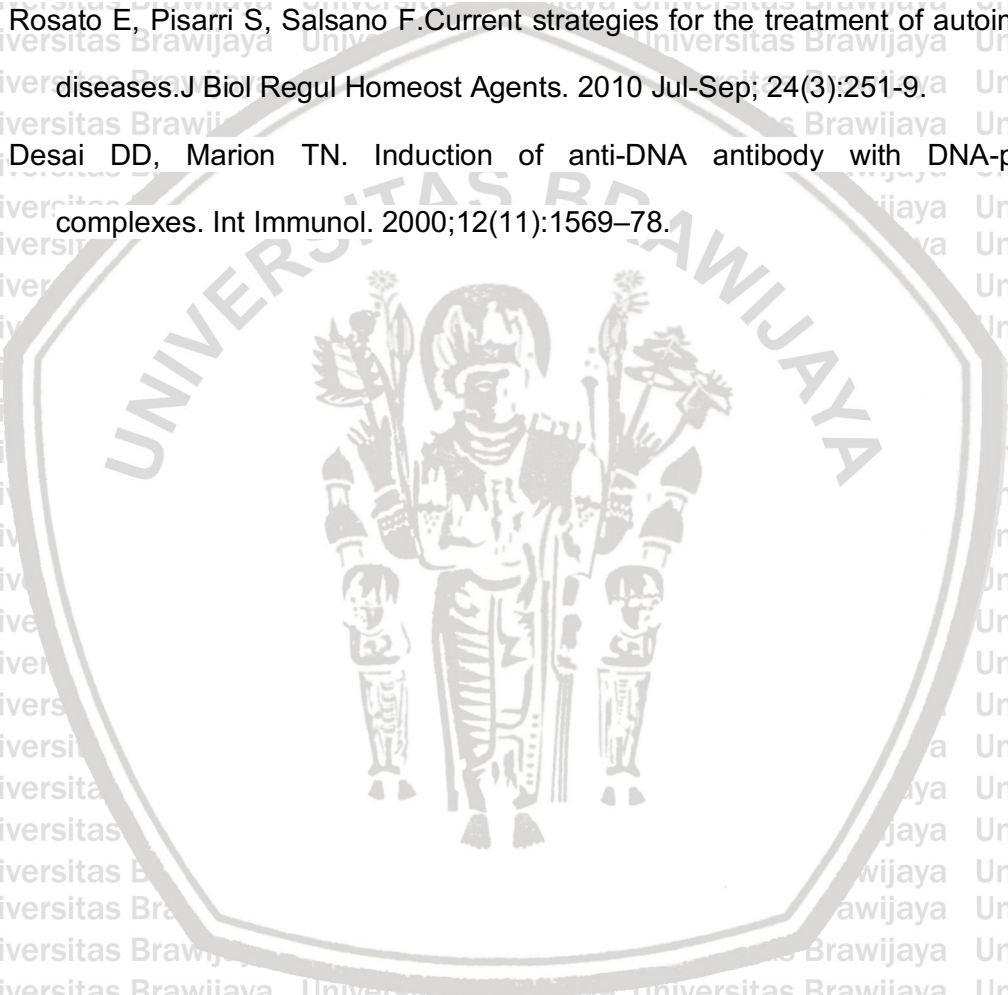
Xu, Y. *et al.* (2005) 'Lyn tyrosine kinase: Accentuating the positive and the negative', *Immunity*, 22(1), pp. 9–18. doi: 10.1016/j.immuni.2004.12.004.

Manderson AP, Botto M, Walport MJ: The role of complement in the development of systemic lupus erythematosus. *Annu Rev Immunol* 2004, 22:431-456.

Zheng RH, Wang JH, Wang SB, Chen J, Guan WM, et al. (2013) 'Clinical and immunopathological features of patients with lupus hepatitis', *Chin Med J (Engl)* 126(2), pp. 260-266. doi: 10.3760/cma.j.issn.0366-6999.20121153

Rosato E, Pisarri S, Salsano F. Current strategies for the treatment of autoimmune diseases. *J Biol Regul Homeost Agents*. 2010 Jul-Sep; 24(3):251-9.

Desai DD, Marion TN. Induction of anti-DNA antibody with DNA-peptide complexes. *Int Immunol*. 2000;12(11):1569-78.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Pernyataan Keaslian Tulisan

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Vigyan Dananjaya

NIM : 165070107111047

Program Stud : Program Studi Kedokteran

Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

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

Malang, 20 Desember 2019

Yang membuat pernyataan,

Vigyan Dananjaya

NIM. 165070107111047



LAMPIRAN 2 Analisis Data

		Shapiro-Wilk		
	Kelompok	Statistic	df	Sig.
Proteinuria	K-	.882	5	.318
	K+	.920	5	.532
	dsDNA	.869	5	.263

Tabel 5.1 Hasil Uji Normalitas *Shapiro-Wilk* pada Kadar Proteinuria

		Levene			
	Based on Mean	Statistic	df1	df2	Sig.
Proteinuria	Based on Mean	6.949	2	12	.010

Tabel 5.2 Hasil Uji Homogenitas *Levene* pada Kadar Proteinuria

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
a	K+	5	7.60	38.00
	dsDNA	5	3.40	17.00
	Total	10		

a

		Proteinuria	
Mann-Whitney U			2.000



Wilcoxon W	17.000
Z	-2.193
Asymp. Sig. (2-tailed)	.028
Exact Sig. [2*(1-tailed)]	.032 <sup>b</sup>

**Tabel 5.3 Hasil Uji Mann-Whitney antara Kadar Proteinuria pada Kelompok Perlakuan terhadap Kadar Proteinuria pada kelompok positif**

	Kelompok	N	Mean Rank
Proteinuria	K-	5	3.60
	K+	5	12.60
	dsDNA	5	7.80
	Total	15	

	Proteinuria
Chi-Square	10.140
df	2
Asymp. Sig.	.006

**Tabel 5.4 Hasil Uji Kruskal Wilis**



LAMPIRAN 3 Surat Kelaikan Etik



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI  
 UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
 FAKULTAS KEDOKTERAN  
 KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN

Jalan Veteran Malang - 65145, Jawa Timur - Indonesia  
 Telp. (62) (0341) 551611 Ext. 168; 569117; 567192 - Fax. (62) (0341) 564755  
 http://www.fk.ub.ac.id e-mail : kep.fk@ub.ac.id

KETERANGAN KELAIKAN ETIK  
 ("ETHICAL CLEARANCE")

No. 22 / EC / KEPK / 02 / 2018

KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA, SETELAH MEMPELAJARI DENGAN SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG DIUSULKAN, DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA PENELITIAN DENGAN

**JUDUL** : Pengembangan Metode *Elicit Dose Antigen Specific Immunotherapy* menggunakan *Self Antigen* dsDNA sebagai Terapi Baru Perbaikan Regulasi Sistem Imun pada Lupus Erimatosus Sistemik.

**PENELITI UTAMA** : Prof. Dr. dr. Kusworini, M.Kes, Sp.PK

**ANGGOTA** :

- |   |                             |
|---|-----------------------------|
| 1. Dr. dr. Sri Poeranto, M.Kes, Sp.ParK | 7. Nadya Vira Saputri       |
| 2. Dr. dr. Nurdiana, M.Kes              | 8. Joshua Tande Jayapratama |
| 3. Syaiful Arifin                       | 9. Aviola Anggita Gunardi   |
| 4. Thoha Muhajir Albaar                 | 10. Ade Siska Sinaga        |
| 5. Naya Adi Dharmesta                   | 11. Vignyan Dananjaya       |
| 6. Rivaldo Brahmantio Hardani           |                             |

**UNIT / LEMBAGA** : Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

**TEMPAT PENELITIAN** : Laboratorium Sentral Biomedik, Farmakologi dan Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

DINYATAKAN LAIK ETIK.

Malang,  
Ketua,



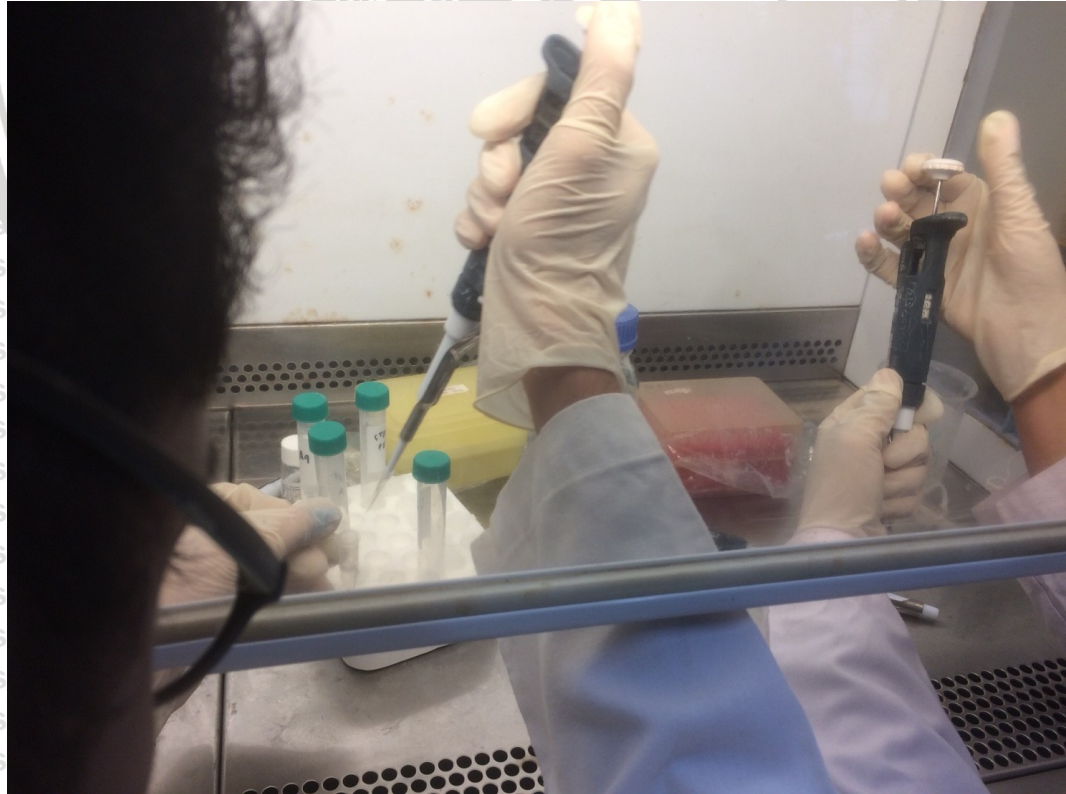
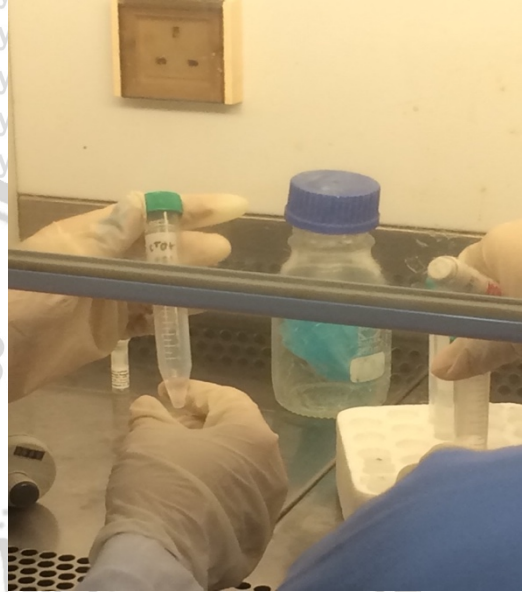
Prof. Dr. dr. Moch Istiaqul H., SpS, SpBS(K), SH, M.Hum, Dr.H.  
 NIK. 160746683

**Catatan :**

Keterangan Laik Etik Ini Berlaku 1 (Satu) Tahun Sejak Tanggal Dikeluarkan Pada Akhir Penelitian, Laporan Pelaksanaan Penelitian Harus Diserahkan Kepada KEPK-FKUB Dalam Bentuk Soft Copy. Jika Ada Perubahan Protokol Dan / Atau Perpanjangan Penelitian, Harus Mengajukan Kembali Permohonan Kajian Etik Penelitian (Amandemen Protokol)



LAMPIRAN 4 Dokumentasi Penelitian



LAMPIRAN 5 Dokumentasi Lomba



