

**EFEK ESCALATING DOSE ANTIGEN SPECIFIC IMMUNOTHERAPY
MENGUNAKAN *SELF ANTIGEN dsDNA* TERHADAP JUMLAH SEL
DENDRITIK MATUR PADA MENCIT LUPUS ERITEMATOSUS
SISTEMIK**

TUGAS AKHIR

Untuk Memenuhi Persyaratan

Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran



Oleh :

Priscilla Christina Natan

145070107121010

**PROGRAM STUDI S1 PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2017**

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Priscilla Christina Natan

NIM : 145070107121010

Program Studi : Kedokteran

Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

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

Malang, 16 Januari 2018

Yang membuat pernyataan,

(Priscilla Christina Natan)

NIM. 145070107121010

KATA PENGANTAR

Segala puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan bimbingan dan anugerah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir dengan judul “Efek Escalating Dose Antigen Specific Immunotherapy Menggunakan *Self Antigen dsDna* Terhadap Jumlah Sel Dendritik Matur Pada Mencit Lupus Eritematosus Sistemik”. Tugas akhir ini dibuat untuk memenuhi persyaratan memperoleh gelar Sarjana Kedokteran.

Dengan selesainya Tugas Akhir ini, penulis mengucapkan terima kasih yang tak terhingga kepada:

1. Dr. dr. Sri Andarini, M.Kes., yang telah memberikan penulis kesempatan menuntut ilmu di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya
2. dr. Triwahju Astuti, M.Kes., Sp.P(K), sebagai Ketua Program Studi Kedokteran yang telah membimbing penulis menuntut ilmu di Program Studi Kedokteran di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
3. Prof. Dr. dr. Kusworini, M.Kes, Sp. PK sebagai pembimbing pertama yang telah memberikan banyak bantuan untuk penelitian ini, yang dengan sabar dan sepenuh hati membimbing untuk bisa menulis dengan baik, dan senantiasa memberikan semangat serta doa, sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini.
4. dr. Isngadi, M.Kes, Sp. An (K) sebagai pembimbing kedua yang telah membimbing penulis, memberi semangat serta doa sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini.
5. dr. Etty Kurnia, Sp. F sebagai penguji satu yang telah menguji dan memimpin seminar hasil penelitian dengan sangat baik.

6. Segenap anggota Tim Pengelola Tugas Akhir FKUB, khususnya Dr. Dra. Sri Winarsih, Apt, M.Si yang telah membantu penulis dalam penyelesaian Proposal Tugas Akhir ini.
7. Kepala laboratorium dan jajaran staff di Laboratorium Farmakologi (Mas Memet), Biomedik (Mas Yudha), dan Parasitologi (Mbak Heni) Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
8. Yang tercinta papa, Tan Abraham Natan, mama, Linda Sundari Gondowardojo, dan cece, Debora Christonia Natan, serta seluruh keluarga besar atas seluruh kasih sayang dan dukungan selalu kepada penulis, yang selalu mendoakan penulis.
9. Teman-temanku yang tercinta, A'ifatin Venysya, Nafisa Naaz Nisha, dan Nur Farinah Samad, dan CG AOG 4 yang turut membantu saya dalam penelitian ini.
10. Teman-teman pendidikan dokter angkatan 2014 yang berjuang bersama-sama dalam pendidikan yang tiada henti ini. Terutama PD KBI 2014.
11. Semua pihak yang telah membantu dan menyelesaikan Tugas Akhir ini yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa penulis ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis membuka diri untuk segala saran dan kritik yang membangun.

Akhirnya, semoga Tugas Akhir ini dapat bermanfaat bagi yang membutuhkan.

Malang, 29 November 2017

Penulis

ABSTRAK

Natan, Priscilla, Christina. 2017. ***Efek Escalating Dose Antigen Specific Immunotherapy Menggunakan Self Antigen dsDNA Terhadap Jumlah Sel Dendritik Matur Pada Mencit Lupus Eritematosus Sistemik***. Tugas Akhir, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Prof. Dr. dr. Kusworini, M. Kes., Sp. PK (2) dr. Isngadi, M. Kes., Sp.An (K). Dosen penguji: dr. Ety Kurnia, Sp. F.

Lupus Eritematosus Sistemik (LES) adalah penyakit autoimun kronis yang menyebabkan berbagai macam tanda dan gejala. Selama ini terapi LES menggunakan obat-obat immunosupresan dan steroid yang merupakan pengobatan standar hingga sekarang ternyata masih belum menunjukkan hasil yang memuaskan, bahkan pemberian steroid jangka panjang dapat menimbulkan berbagai masalah pada pasien LES (Guiducci et al., 2010). Penelitian ini bertujuan untuk menemukan suatu metode baru pengobatan LES menggunakan prinsip Escalating Doses self antigen Immunotherapy, yakni dengan menguji potensi self dsDNA antigen dalam memperbaiki toleransi sistem imun dan kemampuannya dalam mengubah agregator cell menjadi ignore and protector cell. Proses ini disebut desensitisasi. Pada penderita LES, antigen dsDNA dari dalam tubuh akan merangsang respon imun untuk memproduksi APC yaitu sel dendritik yang berperan penting dalam regulasi respon imun adaptif. Sel dendritik mampu menangkap antigen, memprosesnya, dan mempresentasikannya ke permukaan sel dengan molekul kostimulator. Penelitian ini dilakukan untuk mendapatkan jumlah sel dendritik matur yang diisolasi dari limpa mencit. Pemberian berbagai dosis secara bertahap dilakukan sebanyak 3 kali dengan jangka waktu 1 minggu selama 3 minggu. Kelompok dosis yang digunakan ada 3 kelompok. Kelompok A (Pemberian dsDNA dengan konsentrasi 0.01 µg/ml (0.5 ml), 0.1 µg/ml (0.5 ml), 1 µg/ml (0.5 ml). Kelompok B (Pemberian dsDNA dengan konsentrasi 0.1 µg/ml (0.5 ml), 1 µg/ml (0.5 ml), 10 µg/ml (0.5 ml). Kelompok C (Pemberian ds-DNA dengan konsentrasi 1 µg/ml (0.5 ml), 10 µg/ml (0.5 ml), 50 µg/ml (0.5 ml). Analisis data yang digunakan adalah One-Way ANOVA untuk menunjukkan adanya perbedaan signifikan pada jumlah sel dendritik matur pada mencit LES yang telah di injeksi self antigen dsDNA secara bertahap ($p < 0.05$). Berdasarkan hasil penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa pemberian injeksi self antigen dsDNA secara bertahap memiliki efek desensitisasi terhadap jumlah sel dendritik matur secara in vivo.

Kata Kunci : LES, Sel Dendritik matur, efek desensitisasi.

ABSTRACT

Natan, Priscilla, Christina. 2017. *Effect of Escalating Dose Antigen Specific Immunotherapy Using Self Antigen dsDNA Towards The Amount Of Mature Dendritic Cells In Systemic Lupus Erythematosus Mice*. Final Assignment, Faculty of Medicine Brawijaya University. Advisor: (1) Prof. Dr. dr. Kusworini, M. Kes., Sp. PK (2) dr. Isngadi, M. Kes., Sp.An (K). Examiner: dr. Ety Kurnia, Sp. F.

Systemic Lupus Erythematosus (SLE) is a chronic autoimmune disease that causes various signs and symptoms. During this time, SLE therapy using immunosuppressant and steroid medications are the standard treatment until now, but it have not yet shown satisfactory results, even long-term steroids can cause problems in SLE patients (Guiducci et al., 2010). This study aims to find a new method of SLE treatment using Escalating Doses self antigen Immunotherapy principle, which is by testing self potency of dsDNA antigen in improving immune system tolerance and its ability in converting cell aggregator into ignore and protector cell. This process is called desensitization. In patients with SLE, dsDNA antigens from within the body will stimulate the immune response to produce APC, which is dendritic cells, that play an important role in the regulation of adaptive immune responses. Dendritic cells are capable of capturing antigens, processing them, and presenting them to the cell surface with the costimulator molecule. This study was conducted to obtain the number of mature dendritic cells isolated from the spleen of mice. Provision of various doses gradually performed as much as 3 times with a period of 1 week for 3 weeks. The dose group used there were 3 groups. Group A (DsDNA with concentration of 0.01 µg / ml (0.5 ml), 0.1 µg / ml (0.5 ml), 1 µg / ml (0.5 ml), Group B (DsDNA concentration 0.1 µg / ml (0.5 ml) 1 µg / ml (0.5 ml), 10 µg / ml (0.5 ml), Group C (Administration of 1 µg / ml (0.5 ml), 10 µg / ml (0.5 ml), 50 µg / ml (0.5 ml) 0.5 ml). The data analysis used was One-Way ANOVA to show significant difference in mature dendritic cell number in LES mice that had been injected self self-antigen dsDNA gradually ($p < 0.05$). Based on the results of this study, it can be concluded that dsDNA self-antigen injection has gradually desensitized the amount of mature dendritic cells in vivo.

Key words : SLE, mature dendritic cell, desensitization effect.

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
ABSTRAK.....	vi
ABSTRACT	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR SINGKATAN.....	xiii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Lupus Eritematosus Sistemik.....	5
2.1.1 Definisi LES	5
2.1.2 Patofisiologi LES.....	5
2.1.3 Manifestasi Klinis	7
2.1.4 Diagnosis Lupus Eritematosus Sistemik.....	8
2.2 Sel Dendritik	9
2.2.1 Sel Dendritik Imatur (iDC) dan Sel Dendritik Matur (mDC)	9
2.2.2 Peranan Sel Dendritik Matur dalam Regulasi Respon Imun	10
2.3 Peran Sel Dendritik pada Patogenesis Pasien LES	12
2.4 Marker CD11b	15
2.5 Self-antigen dsDNA	15

2.6 Toleransi Sistem Imun	16
2.7 Pengembangan Metode Escalating Dose (Antigen-Specific)	17
BAB 3. KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN	19
3.1 Kerangka Konsep Penelitian	19
3.2 Penjelasan Kerangka Konsep	20
3.3 Hipotesis	21
BAB 4. METODE PENELITIAN	22
4.1 Rancangan Penelitian	22
4.2 Populasi dan Sampel Penelitian	22
4.3 Tempat dan waktu penelitian	23
4.3.1 Tempat Penelitian	23
4.3.2 Waktu Penelitian	24
4.4 Variabel Penelitian	24
4.4.1 Variabel Bebas	24
4.4.2 Variabel Terikat	24
4.5 Definisi Operasional	25
4.6 Alat dan Bahan Penelitian	26
4.7 Prosedur Penelitian	27
4.7.1 Persiapan Hewan Coba	27
4.7.2 Pemberian Perlakuan	27
4.7.3 Persiapan <i>Self Antigen dsDNA</i>	28
4.7.4 Preparasi dan Injeksi <i>dsDNA</i>	30
4.7.5 Pengukuran Jumlah Sel Dendritik dengan Marker CD11b	31
4.8 Analisis Data	31
4.9 Alur Penelitian	32
BAB 5. HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA	33
5.1 Hasil Penelitian	33
5.1.1 Identifikasi Karakteristik Hewan Model LES	33
5.1.1.1 Pengukuran Berat Badan pada Kelompok Kontrol dan Perlakuan	33

5.1.1.2	Pengukuran Kadar Anti Nuklear Antibodi pada Mencit Model LES.....	34
5.1.2	Pengukuran Jumlah Sel Dendritik Matur	35
5.2	Analisis Data.....	39
5.2.1	Hasil Pengujian Normalitas Data dan Homogenitas Varian pada Jumlah Sel Dendritik Matur	39
5.2.2	Hasil Uji One-Way ANOVA Jumlah Sel Dendritik Matur pada Mencit LES.....	40
5.2.3	Hasil Uji Post Hoc LSD.....	41
BAB 6. PEMBAHASAN	43	
6.1	Karakteristik Mencit LES.....	43
6.2	Peran Sel Dendritik Matur pada LES	44
6.3	Pengukuran Jumlah Sel Dendritik Matur	44
6.4	Desensitisasi self-antigen dsDNA menginduksi Treg	46
BAB 7. KESIMPULAN DAN SARAN	48	
7.1	Kesimpulan.....	48
7.2	Saran.....	49
DAFTAR PUSTAKA.....	50	
LAMPIRAN.....	53	

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1	Definisi Operasional dan Hasil Ukur	25
Tabel 5.1	Rerata Berat Badan Mencit yang Diinduksi Pristane dan Diinjeksi Self Antigen dsDNA Secara Bertahap	34
Tabel 5.2	Rerata Kadar ANA pada Mencit yang Diinduksi Pristane dan Diinjeksi Self Antigen dsDNA Secara Bertahap.....	35
Tabel 5.3	Rerata Jumlah Sel Dendritik Matur pada Pengukuran <i>flowcytometry</i> 37	
Tabel 5.4	Hasil Uji Normalitas Shapiro-Wilk Jumlah Sel Dendritik Matur pada Mencit LES	39
Tabel 5.5	Hasil Uji Homogenitas Levene Jumlah Sel Dendritik Matur pada Mencit LES	40
Tabel 5.6	Uji One-Way ANOVA antara Kelompok Dosis Desensitisasi self dsDNA terhadap Jumlah Sel Dendritik Matur pada Mencit LES	41
Tabel 5.7	Hasil Uji Post Hoc LSD	42

DAFTAR GAMBAR

Gambar 3.1 Kerangka Konsep Penelitian	19
Gambar 4.9 Alur Penelitian.....	32
Gambar 5.1 Tampilan Representatif Dot Plot yang Menunjukkan Ekspresi CD11b dan CD45 pada Sel Dendritik	35
Gambar 5.2 Grafik Rerata Jumlah Sel Dendritik Matur pada Pengukuran <i>Flowcytometry</i>	38

DAFTAR SINGKATAN

LES	: Lupus Eritematosus Sistemik
<i>dsDNA</i>	: <i>double stranded Deoxyribonucleic acid</i>
APC	: <i>Antigen Presenting Cells</i>
Th	: <i>T helper</i>
CD	: <i>Cluster of Differentiation</i>
TNF	: <i>Tumor Necrosis Factor</i>
ANA	: <i>Central for Disease Control</i>
MHC	: <i>Verocytotoxigenic Escherichia coli</i>
PRR	: Kadar Hambat Minimum
TCR	: T-cell Receptor
DC	: Dendritic Cell
EDI	: Escalating Dose Immunotherapy
MAC	: Macrophage-1 Antigen
Treg	: T regulator
IFN	: Interferon
IL	: Interleukin
PBMCs	: Peripheral Blood Mononuclear Cells

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

**EFEK ESCALATING DOSE ANTIGEN SPECIFIC IMMUNOTHERAPY
MENGUNAKAN SELF ANTIGEN dsDNA TERHADAP JUMLAH SEL
DENDRITIK MATUR PADA MENCIT LUPUS ERITEMATOSUS SISTEMIK**

Oleh:

Priscilla Christina Natan

NIM 145070107121010

Telah diuji pada

Hari: Senin

Tanggal: 18 Desember 2017

dan dinyatakan lulus oleh:

Penguji-I

Dr. Etty Kurnia, Sp. F

NIP. 195604031984032001

Pembimbing-I/Penguji-II

Pembimbing-II/Penguji-III

Prof. Dr. dr. Kusworini, M.Kes, Sp.PK

NIP. 197308171999032001

dr. Isngadi, M.Kes., Sp.An., KAO

NIP. 196506111196011001

Mengetahui,

Ketua Program Studi Kedokteran

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

NIP. 196319221996012001

ABSTRAK

Natan, Priscilla, Christina. 2017. *Efek Escalating Dose Antigen Specific Immunotherapy Menggunakan Self Antigen dsDNA Terhadap Jumlah Sel Dendritik Matur Pada Mencit Lupus Eritematosus Sistemik*. Tugas Akhir, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Prof. Dr. dr. Kusworini, M. Kes., Sp. PK (2) dr. Isngadi, M. Kes., Sp.An (K). Dosen penguji: dr. Etty Kurnia, Sp.F.

Lupus Eritematosus Sistemik (LES) adalah penyakit autoimun kronis yang menyebabkan berbagai macam tanda dan gejala. Selama ini terapi LES menggunakan obat-obat immunosupresan dan steroid yang merupakan pengobatan standar hingga sekarang ternyata masih belum menunjukkan hasil yang memuaskan, bahkan pemberian steroid jangka panjang dapat menimbulkan berbagai masalah pada pasien LES (Guiducci et al., 2010). Penelitian ini bertujuan untuk menemukan suatu metode baru pengobatan LES menggunakan prinsip Escalating Doses self antigen Immunotherapy, yakni dengan menguji potensi self dsDNA antigen dalam memperbaiki toleransi sistem imun dan kemampuannya dalam mengubah agregator cell menjadi ignore and protector cell. Proses ini disebut desensitisasi. Pada penderita LES, antigen dsDNA dari dalam tubuh akan merangsang respon imun untuk memproduksi APC yaitu sel dendritik yang berperan penting dalam regulasi respon imun adaptif. Sel dendritik mampu menangkap antigen, memprosesnya, dan mempresentasikannya ke permukaan sel dengan molekul kostimulator. Penelitian ini dilakukan untuk mendapatkan jumlah sel dendritik matur yang diisolasi dari limpa mencit. Pemberian berbagai dosis secara bertahap dilakukan sebanyak 3 kali dengan jangka waktu 1 minggu selama 3 minggu. Kelompok dosis yang digunakan ada 3 kelompok. Kelompok A (Pemberian dsDNA dengan konsentrasi 0.01 µg/ml (0.5 ml), 0.1 µg/ml (0.5 ml), 1 µg/ml (0.5 ml). Kelompok B (Pemberian dsDNA dengan konsentrasi 0.1 µg/ml (0.5 ml), 1 µg/ml (0.5 ml), 10 µg/ml (0.5 ml). Kelompok C (Pemberian ds-DNA dengan konsentrasi 1 µg/ml (0.5 ml), 10 µg/ml (0.5 ml), 50 µg/ml (0.5 ml). Analisis data yang digunakan adalah One-Way ANOVA untuk menunjukkan adanya perbedaan signifikan pada jumlah sel dendritik matur pada mencit LES yang telah di injeksi self antigen dsDNA secara bertahap ($p < 0.05$). Berdasarkan hasil penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa pemberian injeksi self antigen dsDNA secara bertahap memiliki efek desensitisasi terhadap jumlah sel dendritik matur secara in vivo.

Kata Kunci : LES, Sel Dendritik matur, efek desensitisasi.

ABSTRACT

Natan, Priscilla, Christina. 2017. *Effect of Escalating Dose Antigen Specific Immunotherapy Using Self Antigen dsDNA Towards The Amount Of Mature Dendritic Cells In Systemic Lupus Erythematosus Mice*. Final Assignment, Faculty of Medicine Brawijaya University. Advisor: (1) Prof. Dr. dr. Kusworini, M. Kes., Sp. PK (2) dr. Isngadi, M. Kes., Sp.An (K). Examiner: dr. Etty Kurnia, Sp.F.

Systemic Lupus Erythematosus (SLE) is a chronic autoimmune disease that causes various signs and symptoms. During this time, SLE therapy using immunosuppressant and steroid medications are the standard treatment until now, but it have not yet shown satisfactory results, even long-term steroids can cause problems in SLE patients (Guiducci et al., 2010). This study aims to find a new method of SLE treatment using Escalating Doses self antigen Immunotherapy principle, which is by testing self potency of dsDNA antigen in improving immune system tolerance and its ability in converting cell aggregator into ignore and protector cell. This process is called desensitization. In patients with SLE, dsDNA antigens from within the body will stimulate the immune response to produce APC, which is dendritic cells, that play an important role in the regulation of adaptive immune responses. Dendritic cells are capable of capturing antigens, processing them, and presenting them to the cell surface with the costimulator molecule. This study was conducted to obtain the number of mature dendritic cells isolated from the spleen of mice. Provision of various doses gradually performed as much as 3 times with a period of 1 week for 3 weeks. The dose group used there were 3 groups. Group A (DsDNA with concentration of 0.01 µg / ml (0.5 ml), 0.1 µg / ml (0.5 ml), 1 µg / ml (0.5 ml), Group B (DsDNA concentration 0.1 µg / ml (0.5 ml) 1 µg / ml (0.5 ml), 10 µg / ml (0.5 ml), Group C (Administration of 1 µg / ml (0.5 ml), 10 µg / ml (0.5 ml), 50 µg / ml (0.5 ml) 0.5 ml). The data analysis used was One-Way ANOVA to show significant difference in mature dendritic cell number in LES mice that had been injected self self-antigen dsDNA gradually ($p < 0.05$). Based on the results of this study, it can be concluded that dsDNA self-antigen injection has gradually desensitized the amount of mature dendritic cells in vivo.

Key words : SLE, mature dendritic cell, desensitization effect.