

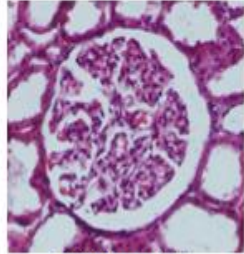
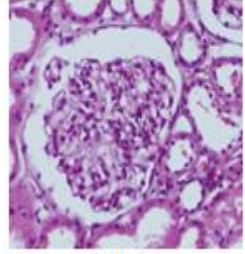
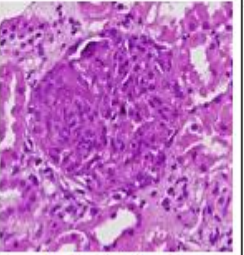
BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil Penghitungan kadar Antibodi Anti HMGB-1

Pengumpulan urin pasien Lupus Eritematosus Sistemik bertujuan untuk isolasi protein HMGB-1 dalam urin pasien. Dilakukan uji elektroforesis dengan metode SDS PAGE dan didapatkan pita HMGB-1 dengan berat molekul 30 kDa.

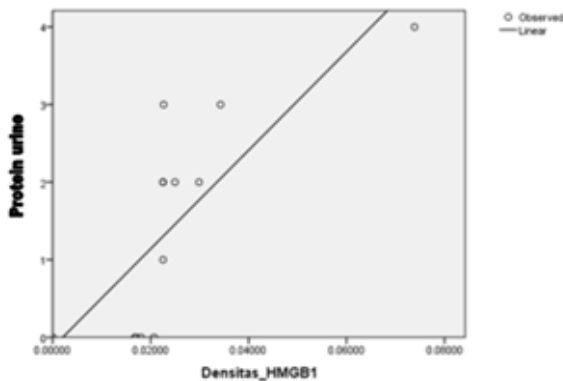
5.2 Hasil olah data pasien (data protein urin, indeks aktivitas, indeks kronisitas, hasil biopsy pasien beserta gambaran Patologi Anatomi)

	SLE tanpa Nephritis	Silent Lupus Nephritis	Lupus Nephritis
Protein urine	0 ± 0	1 ± 0,447	2,8 ± 0,374
Indeks Aktivitas	0 ± 0	2 ± 0,707	5,4 ± 0,6
Indeks Kronisitas	0 ± 0	0 ± 0	3,8 ± 0,2
Klasifikasi Biopsy	 I (Normal)	 III A	 IV A/C dan V

Hasil ini merupakan rerata dari data pasien yang didapatkan dari penelitian tim Lunar DX-Kit pada PIMNAS 26 tahun 2013. Terlihat lupus nefritis yang merupakan komplikasi tersering dari lupus eritematosus sistemik pada kondisi silent lupus nefritis yang tidak terdeteksi pasien mempresentasikan abnormalitas tanpa gejala seperti proteinuria, hematuria, hipertensi yang mana dideteksi melalui skrining berkala namun sudah jatuh pada kondisi stadium lanjut .

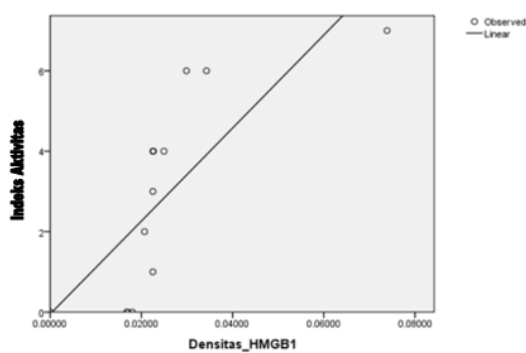
5.3 Hasil korelasi regresi densitas HMGB-1 dengan protein urine, indeks aktivitas, indeks kronisitas

Densitas HMGB-1 dengan Proteinurine



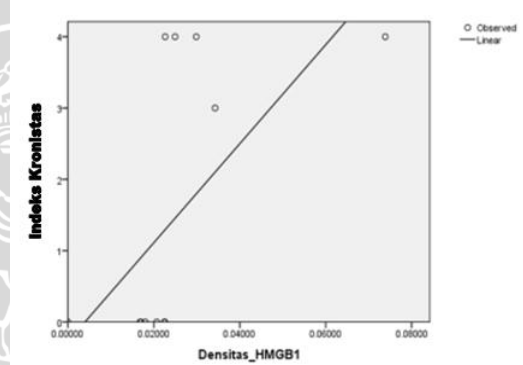
Uji pearson didapatkan $R=0,762$ dan $p=0,002$ yang menunjukkan bahwa terjadi korelasi yang signifikan, semakin tebal densitas HMBG-1 maka semakin tinggi pula kadar proteinurine pada sample urine pasien

Densitas HMGB-1 dengan Indeks Aktivitas



Uji pearson didapatkan $R=0,759$ dan $p=0,003$ yang menunjukkan bahwa terjadi korelasi yang signifikan, semakin tebal densitas HMBG-1 maka semakin tinggi pula indeks aktivitas pada hasil gambaran PA

Densitas HMGB-1 dengan Indeks Aktivitas

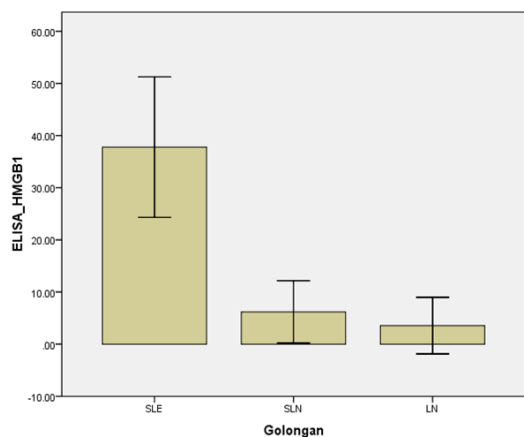


Uji spearman didapatkan $R=0,818$ dan $p=0,001$ yang menunjukkan bahwa terjadi korelasi yang signifikan, semakin tebal densitas HMBG-1 maka semakin tinggi pula indeks Kronisitas pada hasil gambaran PA pada biopsy ginjal pasien.

Dari data diatas dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi kadar HMGB-1 pada urine pasien (yang ditunjukkan dengan ketebalan densitas HMGB-1) maka semakin tinggi pula kadar protein urine, indeks aktivitas dan indeks kronisitas pasien LES. Ini membuktikan bahwa HMBG-1 mampu menjadi biomolekular marker untuk deteksi dini kondisi LN dan SLN pada pasien LES.

5.4 Hasil ELISA (korelasi regresi hasil ELISA dengan protein urine, indeks aktivitas, indeks kronisitas)

Hasil ELISA dibandingkan Golongan Pasien dengan menggunakan One-Way ANOVA



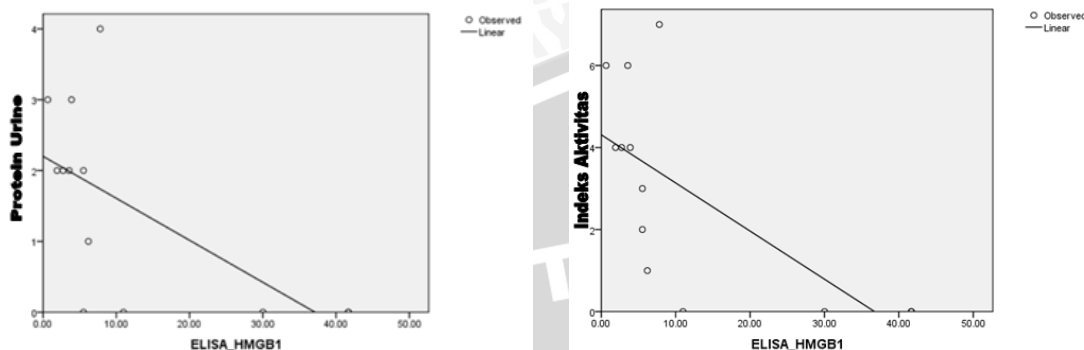
Dari hasil ELISA didapatkan kadar HMGB-1 pada golongan SLE ternyata lebih tinggi dibandingkan dengan golongan SLN dan LN (berbanding terbalik dengan hasil profiling (SDS-PAGES) dan pengukuran densitas HMGB-1).

Setelah melakukan konsultasi dengan dosen pembimbing dan juga dr. Johanna Wenstra (Rheumatologist dari UMCG, Belanda) didapatkan kesimpulan bahwa ELISA bukanlah metode yang tepat untuk pengukuran protein pada kondisi penyakit SLE/auto immune.

Pada kondisi pasien SLE (autoimmune disease) segala protein inti sel yang dikeluarkan ke ekstraseluler akan direspon tubuh dengan pembentukan anti body anti yang akan langsung berikatan dengan protein tersebut, begitu pula dengan HMGB-1 yang notabene protein intra seluler. Anti body anti HMGB-1 akan berikatan dengan protein HMGB-1 dan termanifestasikan didalam urine pasien. Pada metode ELISA tidak didapatkan proses pemanasan 98°C selama 5 menit seperti halnya SDS-PAGE maupun Western Blot. Pemanasan ini bertujuan untuk melepaskan ikatan antibody anti HMGB-1 dengan HMGB-1 dan membuat protein dalam bentuk linier sehingga bisa terproses didalam gel SDS-PAGE.

Pada kondisi LN dan SLN, HMGB-1 yang dikeluarkan ke ekstra seluler akan langsung berikatan dengan antibody anti HMGB-1 sehingga ketika proses ELISA

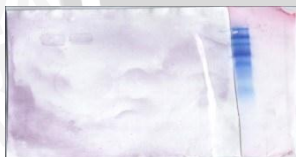
Antibody primer HMGB-1 di ELISA kit tidak dapat beikatan dengan HMGB-1 pada urine. Sehingga hasil yang didapatkan berbanding terbalik. Begitu pula dengan hasil korelasi regresi.



Hasil korelasi regresi antara HMGB-1 metode ELISA dengan kadar protein urine pasien menunjukkan hasil : uji pearson didapatkan $R=0,636$ dan $p=0,019$

Begitu pula korelasi regresi antara HMGB-1 metode ELISA dengan Indeks Aktivitas pasien menunjukkan hasil : uji pearson didapatkan $R=0,688$ dan $p=0,009$

5.5 Hasil Western Blot



Beberapa kali kami melakukan western Blot namun hasilnya belum sesuai dengan yang diharapkan. Ada beberapa factor yang mungkin menyebabkan hal ini, mulai dari sample urine, antibody sekunder, antibody primer, dan lain lain.