

**KORELASI ANTARA KORTISOL SALIVA DAN TNF- α
SALIVA PASIEN ERITEMA NODOSUM LEPROSUM**

KARYA AKHIR

Untuk Memenuhi Persyaratan

Memperoleh Gelar Dokter Spesialis Kulit dan Kelamin



Oleh :

Alfonsus Rendy Laksditalia Nugroho

158071400011002

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS
DERMATOLOGI DAN VENEREOLOGI
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA
RUMAH SAKIT UMUM DAERAH dr. SAIFUL ANWAR
MALANG
2019**

HALAMAN PERSETUJUAN

KARYA AKHIR

**KORELASI ANTARA KORTISOL SALIVA DAN TNF- α
SALIVA PASIEN ERITEMA NODOSUM LEPROSUM**

Untuk Memenuhi Persyaratan

Memperoleh Gelar Dokter Spesialis Kulit dan Kelamin

Oleh :

Alfonsus Rendy Laksditalia Nugroho

NIM. 158071400011002

Menyetujui untuk diuji pada tanggal:

16 Mei 2019

Pembimbing I

Pembimbing II

dr. Aunur Rofiq, Sp.KK(K)
NIP. 19590501198510 1 001

dr. Herwinda Brahmanti Msc., Sp.KK
NIP. 201101 801007 2 001

HALAMAN PENGESAHAN

KARYA AKHIR

KORELASI ANTARA KORTISOL SALIVA DAN TNF- α SALIVA PASIEN ERITEMA NODOSUM LEPROSUM

Oleh :

Alfonsus Rendy Laksditalia Nugroho

NIM. 158071400011002

Telah diuji pada :

16 Mei 2019

dan dinyatakan lulus oleh :

Pembimbing I / Penguji I

dr. Aunur Rofiq, Sp.KK(K)
NIP. 19590501 198510 1 001

Penguji II

Penguji III

dr.Santosa Basuki, Sp.KK
NIP. 19540829 198302 1 002

dr. Sinta Murlistyarini, Sp.KK
NIP. 198112102012122001

Mengetahui
Ketua Program Studi
Pendidikan Dokter Spesialis
Dermatologi dan Venereologi
FK Brawijaya RSUD dr. Saiful Anwar Malang

dr. Herwinda Brahmanti, MSc., Sp.KK
NIP. 201101 801007 2 001

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa sepanjang pengetahuan saya, di dalam naskah Karya Akhir ini tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan oleh orang lain untuk memperoleh gelar akademik di suatu Perguruan Tinggi, dan tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka.

Apabila ternyata di kemudian hari dapat dibuktikan bahwa di dalam Tugas Akhir ini terdapat unsur-unsur plagiasi maka saya bersedia menerima sanksi dan diproses sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku.

Malang, 16 Mei 2019

Nama : Alfonsus Rendy Laksditalia Nugroho

NIM : 158071400011002

PS : Dermatologi dan Venereologi

Prog. : Pendidikan Dokter Spesialis

Fak : Kedokteran UB



KATA PENGANTAR

Puji Syukur pada Tuhan Yang Maha Kuasa sehingga langkah demi langkah mampu terlaksana, hingga terselesaikannya karya akhir saya. Penulis menyadari bahwa tugas akhir ini tidak akan dapat terlaksana tanpa bantuan dan dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar besarnya kepada:

- dr. Aunur Rofiq Sp.KK (K) dan dr. Herwinda Brahmanti Msc., Sp.KK selaku pembimbing I dan pembimbing II pada karya akhir ini. Atas bimbingan, masukan dan segala pertolongannya dari awal hingga akhir penelitian dan penyusunan karya akhir.
- dr. Santosa Basuki Sp.KK, dr. Sinta Murlistyarini Sp.KK, serta dr. Harun Al Rasyid, MPH sebagai tim penguji yang telah memberi banyak masukan yang bermanfaat untuk perbaikan karya akhir.
- Ketua Program Studi Pendidikan Dokter Spesialis Dermatologi dan Venereologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya dr. Herwinda Brahmanti, MSc., Sp.KK. Terima kasih atas kesempatan yang telah diberikan pada saya dan dukungan selama masa studi saya.
- Kepala Laboratorium Dermatologi dan Venereologi RSUD dr. Saiful Anwar Malang, dr. Tantari SHW, Sp.KK(K) atas kesempatan dan bantuan yang diberikan kepada saya selama menjalani program pendidikan dokter spesialis.
- Terima kasih kepada Ayah saya terkasih, Ir. Fransiskus Xaverius Asnarto, dan Ibu terkasih, dra. Dominika Handini Herminatie, adikku terkasih Katarina Kriszia Lakscitra S.T. atas pertolongan, pengorbanan, doa, dukungan moral, dan terutama finansial yang menolong perjalanan saya menjadi seorang spesialis

dan perjalanan penelitian saya ke kediri. Tanpa mereka, saya tidak akan pernah mampu menyelesaikan masa studi saya. Terimakasih pula kepada adikku Isabela Laksmi Ayu Dinarsari S.Kom dan Eyang dr. Taufiequrrochman Sp.KK dan seluruh keluarga untuk dukungan moral dan doanya.

- Almarhum Kakakku tersayang, Vincentius Irwan Satrio Laksono yang karenanya saya menjadi seorang dokter, selalu teringat pesanmu untuk menjadi pelindung keluarga dan pasien.
- Pemberi beasiswa saya LPDP (Lembaga Pengelola Dana Pendidikan) yang tak henti-henti selalu lancar dan tepat waktu dalam mendukung finansial dan kebutuhan pendidikan spesialis saya, saya berterimakasih dan bangga kepada Negara Republik Indonesia karena anak bangsa yang mau berjuang dan belajar diberi kesempatan selebar-lebarnya untuk menempuh pendidikan tinggi.
- Seluruh staf pengajar Program Studi Pendidikan Dokter Spesialis Dermatologi dan Venereologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, dr.Taufiq Hidayat, Sp.KK(K), dr. Tantari SHW, Sp.KK(K), dr. Aunur Rofiq, Sp.KK (K), dr.Arif Widiatmoko, Sp.KK, dr. Santosa Basuki, Sp.KK, dr. Herwinda Brahmanti, MSc.,Sp.KK, Dr.dr. Dhelya Widasmara, Sp.KK, dr. Sinta Murlistyarini, Sp.KK, dr. Lita Setyowati, Sp.KK, dr. Anggun Putri Yuniaswan, Sp.KK, dr. Dhany Prafitra, Sp.KK dan dr. Suci Prawitasari,Sp.KK yang telah memberikan ilmu, bantuan dan motivasi selama masa studi. Semoga ilmu yang diberikan kepada saya akan selalu bermanfaat bagi semua pihak.
- Seluruh teman-teman sejawat Sp.KK dan peserta PPDS Dermatologi dan Venereologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya dr. Firmina K. Sp.KK, dr.Inneke Y.,Sp.KK, dr. Nurul, dr. Boco, dr. Silfi, dr.Nesa, dr.Aninda, dr.Yustian, dr.Tantia, dr.Emy, dr.Lia, dr.Vina, dr.Diani, dr.Putri, dr.Vidya, dr.

Kiko, dr.Dayah, dr.Sasha, dr. Flo, dr. Cacha, dr. Wuri, dr.Bayu, dr. Galuh, dr. Adinda, dr. Fitri, dr.Mazaya. Terimakasih atas kebersamaan, bantuan dan kerja tim yang baik.

- Terimakasih kepada dr.Dyah Novi Wulansari M.Kes, dr. Niluh W. , Pak Hadi Santoso S.Kep dan Pak Basuki S.Kep dari RS Kusta (Daha Husada) Kediri yang banyak menolong saya selama berjalannya proses penelitian di Kediri; Terimakasih pula kepada seluruh tenaga paramedis dan non medis di Instalasi Rawat Jalan dan Rawat Inap di Laboratorium Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin RSUD dr.Saiful Anwar.
- Sahabat-sahabatku yang sudah seperti saudara; dr.Giovanni K.B.Sp.OG , dr.Vendy T., MMRS , dr Lenny K. Sp.JP, dr Anton Sp.P, A. Adelsa D., M.Farm. Klin., Apt., dr.Lucky Sp.THT, Ce Frida Kumalasari Gracia EO dan Orbit Band (Ko Reky, Mas Irfan, Dhany, Ratih) atas dukungan moral, material dan finansial sehingga saya bisa menempuh pendidikan spesialis di kota Malang ini, sembari terus mencari dukungan nafkah melalui keahlian bermusik dan menyanyi.
- Semua pihak yang telah memberikan bantuan selama masa pendidikan, yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Masih banyak kekurangan dan keterbatasan yang dimiliki oleh penulis sehingga karya akhir ini jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, saya sebagai penulis mohon maaf apabila masih didapatkan kesalahan dalam penulisan serta menghargai saran dan masukan agar karya ilmiah ini dapat memberikan manfaat bagi banyak pihak.

Malang, Mei 2019

Alfonsus Rendy Laksditalia Nugroho

RINGKASAN

Alfonsus Rendy Laksditalia Nugroho. Program Studi Pendidikan Dokter Spesialis Dermatologi dan Venereologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. 2019. Korelasi Kadar Kortisol Saliva dan TNF- α Saliva Pasien Eritema Nodosum Leprosom. Pembimbing: Aunur Rofiq, Herwinda Brahmanti.

Eritema nodosum leprosum merupakan suatu komplikasi penyakit kusta yang dimediasi imun, suatu sindroma kompleks imun yang terdiri atas IgG, IgM, Komplemen (C3) dan antigen *Mycobacterium leprae*. Merupakan suatu bentuk reaksi hipersensitivitas tipe 3 (Menurut Klasifikasi Coombs dan Gell). Sedangkan berdasarkan Ridley Jopling dari penyakit kusta diklasifikasikan sebagai reaksi kusta tipe 2. Penggunaan istilah ENL dikarenakan mayoritas lesi klinis yang umumnya ditemukan adalah tipe eritema nodosum. Penegakan diagnosis ditegakkan dengan didapatkannya kriteria mayor atau paling tidak kriteria minor dari Naafs, 2003 dan Lockwood, 2017. Menurut *Global Leprosy Strategy* 2016 - 2020 dari WHO, satu diantara tiga pilar inti yang disebutkan adalah koordinasi dan pembagian kerjasama dalam menghentikan kusta dan komplikasinya. Berkaitan dengan hal tersebut, komplikasi kusta, yaitu reaksi ENL masih menjadi permasalahan yang patut ditanggulangi terutama karena dapat pula menyebabkan kecacatan, seringkali membuat pasien merasa penyakitnya menjadi lebih parah, sehingga mempengaruhi kepatuhan berobat. Indonesia menempati penyumbang angka penderita kusta terbesar kedua di dunia. Jawa Timur, tempat dimana peneliti melakukan penelitian, merupakan wilayah endemis dengan NCDR masih tinggi yaitu 8,58% pada tahun 2017.

Kortisol eksogen selama ini diberikan untuk mengatasi reaksi ENL, sehingga mulai dihipotesiskan keterlibatan kortisol dalam suatu reaksi ENL. Studi terpublikasi mendapatkan kadar kortisol menurun dan ada pula yang normal pada ENL. Diduga, *cortisone-cortisol shuttle*, paparan kronis sitokin, derajat inflamasi sitokin dan reseptor kortisol mempengaruhi peran kortisol dalam ENL. TNF- α terbukti diproduksi oleh makrofag dan neutrofil dalam reaksi ENL dalam beberapa penelitian, dan diketahui diantara sitokin lainnya, memegang peranan penting dalam patogenesis ENL. Penelitian *in vitro* sebelumnya menyatakan TNF- α diketahui memiliki kemampuan menurunkan kortisol dengan menghambat kemampuan stimulasi ACTH pada sel adrenal. Sepengetahuan penulis, belum ada penelitian sebelumnya yang meneliti hubungan antara kadar kortisol saliva dan TNF- α saliva pada pasien ENL. Hubungan antara kortisol dan TNF- α membuat studi mengenai dua variabel ini menarik diketahui dalam mengungkap pemahaman ENL yang patogenesisnya secara rinci belum jelas.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hubungan antara kadar kortisol saliva dan kadar TNF- α saliva pada pasien ENL. Penelitian dilakukan di Poliklinik dan Rawat Inap Kulit dan Kelamin RSUD dr. Saiful Anwar Malang dan RS Kusta (Daha Husada) Kediri dengan menggunakan desain penelitian potong lintang. Subyek penelitian dipilih secara *consecutive sampling* dan didapatkan total 30 subyek yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi dan telah disetujui komisi etik kedua rumah sakit, sesuai Deklarasi Helsinki. Dari 30 subyek penelitian didapatkan kadar kortisol terendah 0.020 $\mu\text{g/dL}$ dan kadar kortisol tertinggi 0.476 $\mu\text{g/dL}$ dengan rerata kadar kortisol saliva $0.21 \pm 0.120 \mu\text{g/dL}$. Dari 30 subyek penelitian didapatkan kadar TNF- α saliva terendah 18.670 ng/L dan kadar TNF- α tertinggi 302.713 ng/L dengan rerata kadar TNF- α $171.060 \pm 86.550 \text{ ng/L}$. Uji Normalitas Kolmogorov-smirnov menghasilkan asumsi normalitas terpenuhi. Berdasarkan uji korelasi Spearman didapatkan korelasi negatif ($r = -0.441$) signifikan secara statistik ($P = 0.015$) antara kadar kortisol saliva dan kadar TNF- α saliva dengan keeratan kuat. Korelasi bersifat negatif, yaitu semakin tinggi kadar TNF- α saliva, semakin rendah kadar kortisol saliva. Sebaliknya, semakin rendah kadar TNF- α saliva, semakin tinggi kadar kortisol saliva.

Kata kunci : kortisol saliva, TNF- α saliva, eritema nodosum leprosum, kusta

SUMMARY

Alfonsus Rendy Laksditalia Nugroho. Dermatology and Venereology Specialist Program, Medical Faculty of Universitas Brawijaya Malang. 2019. Correlation between Cortisol Saliva and TNF- α Saliva of Patients with Erythema Nodosum Leprosum. Counselor: Aunur Rofiq, Herwinda Brahmanti.

Erythema nodosum leprosum is complication of leprosy that being mediated by immune, an immune complex syndrome that consist of IgG, IgM, complement (C3) and *Mycobacterium leprae* antigen. It was known as hypersensitivity reaction type 3 (Coombs and Gell Classification), meanwhile it was classified as type 2 of leprosy reaction according to Ridley and Jopling. The term of erythema nodosum leprosum was being used because majority of lesion being found was erythema nodosum. One major criteria and at least three minor criteria of Naafs, 2003 and Lockwood, 2017 are diagnosis finding for ENL. According to Global Leprosy Strategy 2016-2020 from WHO, one of the main pillars being mention was coordination and strengthening cooperation to stop leprosy and its complication. In accordance to it, leprosy complication, ENL, still become problem that need to be solved mainly because it may lead to disability, make patient feels the illness get worse, and lead to bad compliance of therapy. Indonesia is still the second highest rank of leprosy incidence in the world. East Java, location where the research were being done, is an endemic area with high NCDR 8,58% on 2017.

Exogenous cortisol recently being used to overcome ENL, therefore being hypothesized of cortisol involvement in erythema nodosum leprosum. Some research report lower cortisol level while other report normal cortisol level in ENL. Several studies suspect cortisone-cortisol shuttle, chronic cytokine exposure, cytokine inflammatory degree and cortisol receptor were involved within the role of cortisol in ENL. It was known that TNF- α was produced by macrophage and neutrophiles during ENL in several studies. It was known among other cytokines, TNF- α holds important role in ENL pathogenesis. Previous in vitro research found that TNF- α has ability in lowering cortisol level by inhibit stimulation ability of ACTH on adrenal cell. Within author's knowledge, there have not been any research before that studying corelation between cortisol saliva and TNF- α saliva of patients with ENL. Relationship between cortisol and TNF- α were the centre of interest in this study in order to reveal ENL which its pathogenesis was not fully elucidated.

This study aimed to determine the correlation between cortisol saliva and TNF- α saliva of patients with ENL. The reasearch was held in dr. Saiful Anwar Regional General Hospital Malang and Leprosy General Hospital (Daha Husada) Kediri Outpatient and Inpatient department using a cross-sectional design. The subjects were selected by consecutive sampling method and involved 30 subjects who fulfilling the inclusion and exclusion criteria and had been approved by the research ethics committee of both hospital, according to the Helsinki Declaration. Based on 30 subjects, the lowest cortisol level was 0.020 $\mu\text{g/dL}$ and the highest cortisol level was 0.476 $\mu\text{g/dL}$ with average level of cortisol saliva was $0.21 \pm 0.120 \mu\text{g/dL}$. Based on 30 subjects, the lowest TNF- α saliva level was 18.670 ng/L and the highest TNF- α saliva level was 302.713 ng/L with average level of TNF α was $171.060 \pm 86.550 \text{ ng/L}$. Normal data distribution was obtained by Kolmogorov-smirnov test. Spearman corelation test showed statistically significant ($P = 0.015$) with negative correlation between cortisol saliva and TNF- α saliva and both have strong correlation ($r = -0.441$). The correlation is negative which means the higher TNF- α saliva level, the less cortisol level ; in reverse, the less TNF- α saliva level, the higher cortisol level.

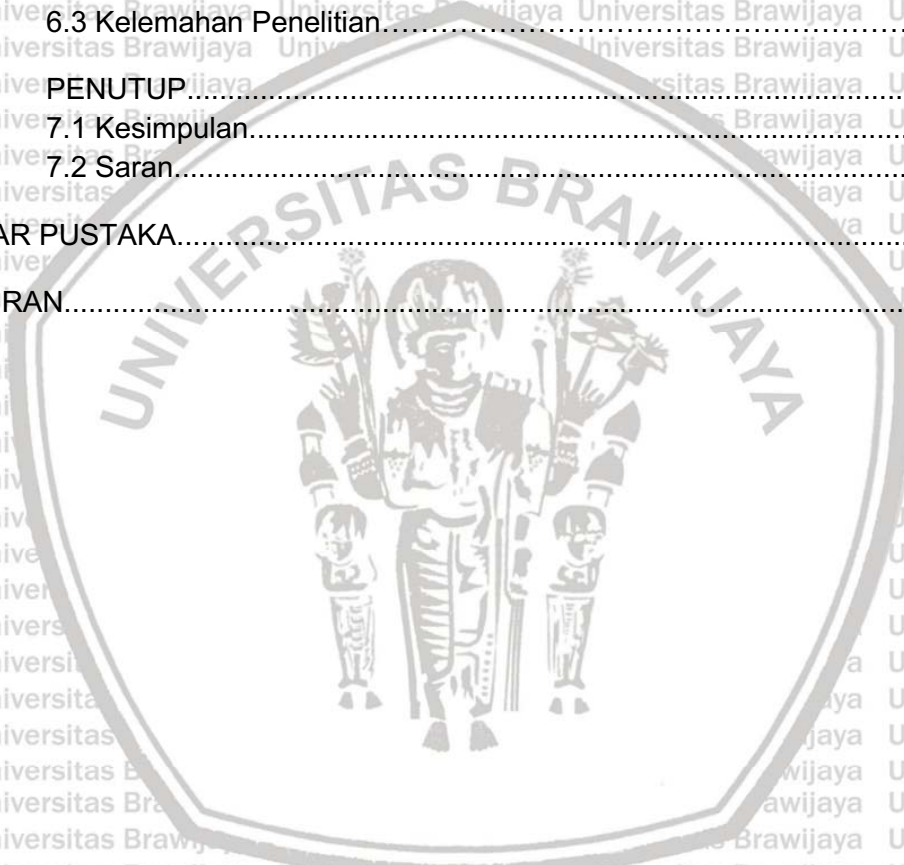
Keywords: cortisol saliva, TNF- α saliva, erythema nodosum leprosum, leprosy

DAFTAR ISI

Halaman Sampul Luar	
Halaman Sampul Dalam	
Halaman Persetujuan	ii
Halaman Pengesahan	iii
Pernyataan Keaslian Tulisan	iv
Kata Pengantar	v
Ringkasan	viii
Summary	ix
Daftar Isi	x
Daftar Tabel	xiii
Daftar Gambar	xiv
Daftar Lampiran	xv
Daftar Singkatan	xvi
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	7
1.3 Tujuan Penelitian	7
1.3.1 Tujuan Umum	7
1.3.2 Tujuan Khusus	7
1.4 Manfaat Penelitian	8
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	9
2.1 Eritema Nodosum Leprosum	9
2.1.1 Definisi	9
2.1.2 Epidemiologi	10
2.1.3 Gambaran Klinis ENL	12
2.1.4 Kriteria Diagnosis	16
2.1.5 Etiopatogenesis Reaksi ENL	17
2.2 Immunopatogenesis reaksi ENL	20
2.2.1 Interaksi <i>Mycobacterium leprae</i> dan <i>Innate Immunity</i> dalam suatu Reaksi Lepre	20
2.2.2 Interaksi <i>Mycobacterium leprae</i> dan <i>Adaptive Immunity</i> dalam Suatu Reaksi Lepre	25
2.3 Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α)	28
2.3.1 Peran TNF- α dalam reaksi ENL	29

2.4 Kortisol.....	31
2.4.1 Interaksi Kortisol dan TNF- α dalam reaksi ENL	36
2.4.2 Kondisi Resistensi Kortisol dalam ENL Akibat Glukokortikoid Jangka Panjang.....	37
2.5 Kadar Kortisol dan TNF- α pada Saliva.....	41
BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS.....	46
3.1 Kerangka Konseptual Penelitian.....	46
3.2 Hipotesis Penelitian.....	48
BAB 4 METODE PENELITIAN.....	49
4.1 Rancangan Penelitian.....	49
4.2 Populasi dan Sampel Penelitian.....	49
4.2.1 Populasi Penelitian.....	49
4.2.2 Sampel Penelitian.....	49
4.2.2.1 Kriteria Inklusi	49
4.2.2.2 Kriteria Eksklusi.....	50
4.2.2.3 Besar Sampel.....	51
4.2.2.4 Teknik Pengambilan Sampel.....	52
4.2.3 Variabel Penelitian.....	53
4.2.4 Definisi Operasional.....	53
4.3 Tempat dan Waktu Penelitian.....	54
4.3.1 Tempat Penelitian.....	54
4.3.2 Waktu Penelitian.....	54
4.4 Alat-alat dan Bahan yang Digunakan dalam Penelitian.....	55
4.5 Teknik Pengukuran Kadar Kortisol dan TNF- α dengan Salimetric ELISA.....	57
4.5.1 Persiapan Sebelum Pengumpulan Sampel Saliva.....	57
4.5.2 Prosedur Pengumpulan Saliva.....	58
4.5.3 Prosedur Pengukuran Kadar Kortisol Saliva.....	59
4.5.4 Prinsip Pengukuran Kadar Kortisol Saliva	61
4.5.5 Prosedur Pengukuran Kadar TNF- α Saliva.....	62
4.5.6 Prinsip Pengukuran Kadar TNF- α Saliva	63
4.6 Alur Penelitian.....	64
4.7 Analisis Data.....	67
BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA.....	68
5.1 Karakteristik Data Dasar.....	68
5.2 Hasil Pemeriksaan Kadar Kortisol dan TNF- α Saliva Pada Pasien Eritema Nodosum Leprosum	70
5.2.1 Kadar Kortisol dan TNF- α Saliva	70
5.3 Kadar Kortisol dan TNF- α Saliva pada Kelompok Data Dasar	71
5.4 Uji Hipotesis.....	73
5.4.1 Uji Normalitas Data	73
5.4.2 Korelasi Kadar Kortisol dan TNF- α Saliva	74

BAB 6	PEMBAHASAN.....	76
6.1	Pembahasan Data Umum Penelitian.....	76
6.1.1	Usia	76
6.1.2	Jenis Kelamin	77
6.1.3	Pekerjaan.....	78
6.1.4	Indeks Bakteri (IB) dan Indeks Morfologi (IM).....	78
6.1.5	Narakontak.....	79
6.1.6	Gejala ENL yang didapatkan pada Subyek Penelitian.....	81
6.1.7	Riwayat Menderita ENL Sebelumnya.....	82
6.1.8	Suku.....	82
6.1.9	Status Pengobatan Kusta.....	83
6.1.10	Riwayat Penggunaan Kortikosteroid.....	86
6.2	Pembahasan Korelasi TNF- α Saliva dan Kadar Kortisol Saliva.....	86
6.3	Kelemahan Penelitian.....	96
BAB 7	PENUTUP.....	97
7.1	Kesimpulan.....	97
7.2	Saran.....	97
DAFTAR PUSTAKA.....		99
LAMPIRAN.....		117



DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Kriteria Diagnosa Reaksi Tipe 2 atau ENL.....	16
Tabel 5.1	Data Kadar Kortisol dan TNF- α Saliva	71
Tabel 5.2	Rerata Kadar Kortisol dan TNF- α Saliva pada kelompok data dasar.....	72
Tabel 5.3	Hasil Uji Normalitas Kadar Kortisol dan TNF- α Saliva.....	73
Tabel 5.4	Korelasi Kadar Kortisol dan TNF- α Saliva.....	74
Tabel 6.1	Interpretasi Keeratan Korelasi (Sujarweni,2015).....	87



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Grafik jumlah dan tren kasus baru MH tahun 2013-2017.....	12
Gambar 2.2	Eritema nodosum leprosum	14
Gambar 2.3	Perbaikan lesi eritema nodosum leprosum	15
Gambar 2.4	Imunopatomekanisme dalam suatu ENL	18
Gambar 2.5	Interaksi TLR1 dan TLR 2 dengan pathogen <i>M.leprae</i>	22
Gambar 2.6	Studi <i>in vitro</i> makrofag dan TNF- α	23
Gambar 2.7	Respon Imun <i>innate</i> dan adaptif terhadap <i>M.leprae</i>	24
Gambar 2.8	Imunopatogenesis reaksi lepra tipe1 dan 2.....	26
Gambar 2.9	Jalur Metabolisme steroid.....	32
Gambar 2.10	Aksis hipotalamik pituitari adrenokortikal.....	34
Gambar 2.11	Kortison-kortisol <i>shuttle</i>	39
Gambar 2.12	Interaksi Kortison-kortisol <i>shuttle</i> dan sitokin.....	40
Gambar 2.13	Difusi pasif blood vessel menuju <i>gingival crevicular fluid</i>	42
Gambar 2.14	Difusi Pasif Kortisol dari Kapiler ke Kelenjar Saliva.....	43
Gambar 2.15	Mediator inflamasi serum lepra dan penyakit periodontal.....	44
Gambar 3.1	Kerangka Konseptual.....	46
Gambar 4.1	Alur penelitian.....	66
Gambar 5.1	Grafik Linearitas Uji Korelasi Kadar Kortisol Saliva dan TNF- α Saliva.....	75

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Lembar Pemilihan Pasien.....	117
Lampiran 2.	Lembar Pengumpulan Data.....	119
Lampiran 3.	<i>Inform Consent</i> Penjelasan Penelitian dan Publikasi Ilmiah.....	123
Lampiran 4.	Pernyataan Persetujuan untuk Berpartisipasi dalam Penelitian.....	125
Lampiran 5.	Pernyataan Persetujuan Tindakan Medik.....	126
Lampiran 6.	Keterangan Kelaikan Etik RSUD dr. Saiful Anwar Malang.....	127
Lampiran 7.	Keterangan Kelaikan Etik RS Kusta Kediri (RS Daha Husada Kediri).....	128
Lampiran 8.	Tabel Data Subyek Penelitian.....	129
Lampiran 9.	Analisis Statistik Data Hasil Penelitian.....	131
Lampiran 10.	Lembar Bebas Plagiasi.....	157



DAFTAR SINGKATAN

ABC	:	<i>Avidin Biotin Indirect Complex</i>
ACTH	:	<i>Adrenocorticotropine Hormone</i>
AFB	:	<i>Acid Fast Bacillus</i>
ApoB	:	<i>Apolipoprotein B</i>
BB	:	<i>Mid Borderline</i>
BI	:	<i>Bacterial Index</i>
BL	:	<i>Borderline Lepromatous</i>
BT	:	<i>Borderline Tuberculoid</i>
C3	:	<i>Komplemen 3</i>
CBG	:	<i>Cortisol Binding Globulin</i>
CD 14	:	<i>Cluster of Differentiations 14</i>
CD 163	:	<i>Cluster of Differentiations 163</i>
CD 36	:	<i>Cluster of Differentiations 36</i>
CD209	:	<i>Cluster of Differentiations 209</i>
CD4 ⁺	:	<i>Cluster of Differentiations 4</i>
CD8 ⁺	:	<i>Cluster of Differentiations 8</i>
CRH	:	<i>Corticotropin-releasing Hormone</i>
CSA	:	<i>Cross Sectional Area</i>
DNA	:	<i>Deoxyribonucleic Acid</i>
ENL	:	<i>Eritema Nodosum Leprosum</i>
FCR	:	<i>FC reseptor</i>
FC γ	:	<i>FC gamma</i>
G2D	:	<i>Grade 2 Deformity</i>
GM-CSF	:	<i>Granulocyte Macrophage Colony Stimulating Factor</i>
HD-ACTH	:	<i>High Dose Adrenocorticotropine Hormone</i>
HLA-DR2	:	<i>Human Leukocyte Antigen DR2</i>
HPA aksis	:	<i>Hypothalamic Pituitary Adrenal Axis</i>
IAL	:	<i>Indian Association of Leprologist Associations</i>
IB	:	<i>Indeks Bakteri</i>
IFN γ	:	<i>Interferon Gamma</i>
IgG	:	<i>Imunoglobulin G</i>
IGM	:	<i>Imunoglobulin M</i>

II β -HSD1	:	<i>11β-Hydroxysteroid dehydrogenase type 1</i>
II β -HSD2	:	<i>11β-Hydroxysteroid dehydrogenase type 2</i>
IL-1	:	<i>Interleukin-1</i>
IL-10	:	<i>Interleukin-10</i>
IL-12	:	<i>Interleukin-12</i>
IL-15	:	<i>Interleukin-15</i>
IL-1 β	:	<i>Interleukin-1β</i>
IL-4	:	<i>Interleukin-4</i>
IL-6	:	<i>Interleukin-6</i>
IL-8	:	<i>Interleukin-8</i>
ILEP	:	<i>International Federation of Anti Leprosy</i>
IM	:	<i>Indeks Morfologi</i>
IP	:	<i>Interphalangeal</i>
Komplek Ag Ab	:	<i>Komplek Antigen Antibody</i>
LAM	:	<i>Lipoarabinomannan</i>
LD	:	<i>Lipid Droplet</i>
LILRA2	:	<i>Leukocyte Immunoglobuline-like Receptor subfamily A member 2</i>
LL	:	<i>Lepromatous Leprosy</i>
LPS	:	<i>Lipopolisakarida</i>
MAPK Kinase	:	<i>Mitogen-activated Protein Kinase</i>
MARCO	:	<i>Macrophage Receptor with Collagenous Structure</i>
MB	:	<i>Multi Basilar</i>
MDT	:	<i>Multi Drug Therapy</i>
MH	:	<i>Morbus Hansen</i>
MLPA	:	<i>Mycobacterium leprae Particle Agglutination</i>
mRNA	:	<i>Messenger RNA</i>
NCDR	:	<i>New Case Detection Rate</i>
NF- κ B	:	<i>Nuclear Factor Kappa Beta</i>
NSB	:	<i>Non Specific Binding</i>
NFI	:	<i>Nerve Function Impairment</i>
P2P	:	<i>Pencegahan dan Penanggulangan Penyakit</i>
PAMP	:	<i>Patogen-Associated Mollecular Pattern</i>
PB	:	<i>Pausi Basilar</i>
PCR	:	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
PGL-1	:	<i>Phenolic Glycolipid-1</i>

PRRs	:	<i>Pattern Recognition Receptors</i>
RFT	:	<i>Release From Treatment</i>
RSUP	:	Rumah Sakit Umum Pusat
RSUD	:	Rumah Sakit Umum Daerah
SCN	:	<i>Subcutaneous Nodule</i>
T1R	:	<i>Type 1 Reaction</i>
T2R	:	<i>Type 2 Reaction</i>
TGF- β	:	Transforming Growth Factor Beta
Th1	:	<i>T helper 1</i>
Th2	:	<i>T helper 2</i>
TLR	:	<i>Toll-like-receptors</i>
TLR1	:	<i>Toll-like-receptors 1</i>
TLR2	:	<i>Toll-like-receptors 2</i>
TMB	:	<i>Tetramethylbenzidine</i>
TNF- α	:	<i>Tumor Necrosis Factor Alpha</i>
Treg	:	<i>T regulator</i>
TST	:	<i>Touch Sensibility Test</i>
TT	:	<i>Tuberculoid</i>
VDR	:	<i>Vitamin D Receptor</i>
VMT	:	<i>Voluntary Movement Test</i>
WHO	:	<i>World Health Organization</i>
$\mu\text{g/dL}$	:	Mikrogram per Desiliter
ng/L	:	Nanogram per Liter

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Eritema nodosum leprosum (ENL) merupakan suatu reaksi yang dikenal sebagai reaksi tipe 2 Ridley-Jopling dari Morbus Hansen (MH), reaksi ini dimediasi imun menyebabkan terjadinya inflamasi dari kulit, saraf beserta organ lain. Eritema nodosum leprosum terjadi karena adanya deposit kompleks imun *Mycobacterium leprae* pada jaringan (Delphine *et al.*, 2012, Perez *et al.*, 2013; Hemanta dan Sharma, 2015). Mekanisme kompleks yang terjadi belum sepenuhnya diketahui, sehingga manajemen terapi dan tatalaksananya menjadi sulit (Polycarpou *et al.*, 2017). Kerusakan yang diakibatkan ENL ini, dapat multisistemik, sehingga dapat melibatkan mata, pembuluh darah, testis dan saraf, dan menyebabkan iritis, arteritis, limfadenitis, orkitis dan neuritis. Eritema nodosum leprosum hanya muncul pada pasien *lepromatous leprosy* (LL) dan *borderline lepromatous* (BL). Pasien-pasien ini memiliki *bacterial load* yang tinggi sehingga meningkatkan resiko ENL (Veen *et al.*, 2009). Eritema nodosum leprosum (reaksi tipe 2) didominasi pasien multibasilar, yaitu terjadi pada 50% dari pasien LL dan 5-10% dari pasien BL, terutama pada pasien dengan indeks bakterial (*Bacterial Index* /BI) diatas 4 (Veen *et al.*, 2009).

Menurut penelitian Chandler tentang hubungan antara ENL dengan peningkatan biaya rumah tangga di India, dan Walker dalam studinya tentang peningkatan mortalitas pasien MH pada ENL di Etiopia, kondisi ENL menghasilkan suatu masalah perekonomian, morbiditas dan mortalitas bagi pasien (Walker, S.L. *et al.*, 2014; Chandler *et al.*, 2015). Di dalam *Global Leprosy*

Strategy 2016-2020: Accelerating towards a leprosy-free world, WHO (World

Health Organization) mencanangkan tiga pilar inti yaitu penguatan peran pemerintah, koordinasi dan pembagian kerjasama dalam menghentikan kusta serta komplikasinya, menghentikan diskriminasi dan mempromosikan inklusi (Ahmed US *et al.*, 2016). Sesuai pilar kedua dari tiga pilar inti yang dicanangkan WHO ini, komplikasi kusta yaitu reaksi sampai saat ini masih menjadi permasalahan yang perlu ditanggulangi. Karena bagi pasien, kehadiran reaksi tidak hanya dianggap penyakit yang tampak lebih parah namun dapat pula menimbulkan keraguan akan kemungkinan penyakitnya sembuh dan berpengaruh pada kepatuhan minum obat (Veen *et al.*, 2007).

Dalam data rekam medis unit rawat jalan poliklinik kulit dan kelamin RSUD dr. Saiful Anwar Malang didapatkan kasus ENL pada tahun 2015 sebesar 17,3 % dari 75 pasien MH MB, pada tahun 2016 sebesar 37,9 % dari 66 pasien MH MB dan pada tahun 2017 sebesar 20,9 % dari 62 pasien MH MB (tidak dipublikasikan). Data rekam medis unit rawat jalan poliklinik kulit dan kelamin RS kusta Kediri didapatkan kasus ENL pada tahun 2015 sebesar 31,4 % dari 86 pasien MH MB, pada tahun 2016 sebesar 38,1 % dari 84 pasien MH MB dan pada tahun 2017 sebesar 67,2 % dari 64 pasien MH MB (tidak dipublikasikan).

Kondisi stress dari berbagai sumber termasuk ENL, akan menstimulasi aksis HPA melalui respon dari stimulasi ACTH (*Adrenocorticotropine Hormone*), dan meningkatkan sekresi kortisol (Clark *et al.*, 1998). Kortisol ini dapat diukur pada saliva, darah dan juga urine, yang kadarnya menunjukkan suatu fluktuasi yaitu lebih tinggi di pagi hari dibandingkan sore hari ($P < 0,01$) (Ljubijankić *et al.*, 2008). Pada pasien ENL, terutama karena kondisi kronis dan berulang, terjadi pelepasan sitokin-sitokin secara kronis, yang salah satunya adalah TNF- α (Hemanta *et al.*, 2015). *Tumor necrosis factor alpha* (TNF- α) mampu menekan

sintesis kortisol adrenal dengan menghambat ACTH dan angiotensin II pada sel-sel adrenal, kondisi ini akan menyebabkan terjadinya penurunan dari kadar kortisol (Marik dan Zaloga 2002).

Terjadinya ENL akan menyebabkan terjadinya peningkatan TNF- α (Makino *et al.*, 2011). Gaillard *et al.*, (1990) dan Sarno *et al.*, (1991) dalam studi terpublikasinya juga menemukan peningkatan konsentrasi dari TNF- α pada pasien ENL. Ekspresi dari TNF- α ini ternyata juga didapatkan meningkat pada jaringan kulit pada pasien dengan lesi ENL berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Darmashanti PA dkk. di tahun 2010. Berdasar pada pemahaman suatu reaksi ENL merupakan reaksi antigen dan antibodi yang sistemik, Citrashanty, dkk. di tahun 2013 dalam suatu studi potong lintang deskriptif mendapatkan peningkatan kadar TNF- α dengan derajat keparahan ENL yang diterapi dengan kortikosteroid. Pada tahun berikutnya Citrashanty dkk., di tahun 2014 juga melakukan penelitian observasional deskriptif dan didapatkan kesimpulan kemungkinan terjadinya insufisiensi adrenal sekunder pada ENL, dan didapatkan penurunan kortisol serum dan kenaikan TNF- α serum pada pasien dengan reaksi ENL. Pada tahun yang sama Ayudianti dkk., 2014 mendapatkan penurunan kadar kortisol serum pada pasien ENL baru.

Regulasi dari aksis HPA dipengaruhi oleh sitokin (Turnbull, 1999). Pada kondisi fisiologis aktivasi HPA oleh sitokin-sitokin spesifik akan meningkatkan pelepasan kortisol sehingga akan mensupresi dan mengurangi reaksi inflamasi imun yang berlebihan (Zaloga GP *et al.*, 2001). Namun diantara sitokin lainnya, dalam suatu studi *in vitro* diketahui bahwa *Tumor Necrosis Factor alpha* merupakan suatu inhibitor poten pada produksi kortisol yang diinduksi oleh adrenocorticotropin dan ekspresi gen steroidogenik enzim p450 dalam kultur sel

adrenal manusia (Jattela et al., 1991). Selain mempengaruhi HPA aksis, TNF- α juga mensupresi fungsi dari GR (Glucocorticoid Reseptor). Peningkatan TNF- α terutama dalam kondisi kronis dan berulang akan mengganggu pelepasan ACTH yang distimulasi CRH (Bateman et al., 1989; Gaillard et al., 1990). Dalam reaksi ENL TNF- α diantara sitokin lainnya berperan penting dalam patogenesis ENL (Sari dkk., 2013). Kadar TNF- α meningkat secara spontan pada ENL karena pelepasan secara spontan oleh sel-sel mononuklear darah perifer dan neutrofil akibat paparan lipopolisakarida *Mycobacterium leprae* (Oliveira et al., 1999; Faber et al., 2006). TNF- α juga berperan dalam pembentukan granuloma yang merupakan gambaran patologis dasar dari *M. leprae* di kulit dan saraf (Manandhar et al., 2002). Kadar TNF- α dalam serum meningkat sesuai keparahan penyakit pada eritema nodosum leprosum (Gupta et al., 1999).

Sitokin pro inflamasi TNF- α mempengaruhi kortison-kortisol *shuttle*. Pada kondisi fisiologis, sitokin pro inflamasi TNF- α dan IL-1 β akan mengupregulasi level ekspresi dari II β -HSD1 dan melakukan down regulasi II β -HSD2 sehingga akan meningkatkan level kortisol (Escher et al., 1997; Heiniger et al., 2001) sehingga kondisi inflamasi yang terjadi dapat disupresi dan tubuh tetap berada dalam homeostasis. Selama proses inflamasi, sitokin-sitokin akan menginduksi aksis HPA lalu glukokortikoid akan melakukan hambatan dan mengatur laju inflamasi melalui kemampuan anti-inflamasi dan imunosupresinya. Tidak hanya itu, tingginya sitokin-sitokin proinflamasi secara langsung juga akan menghambat sintesis adrenal. Jika proses ini terjadi berulang dan kronis, akan terjadi titik jenuh dari korteks adrenal dan korteks adrenal akan menjadi resisten terhadap rangsangan sehingga kadar kortisol akan turun (Rook dan Baker, 1999; Cooper dan Stewart, 2003). Dengan pemahaman ini, dapat lebih dimengerti bahwa bila

kadar kortisol serum turun dibawah normal maka diperlukan suatu terapi kortikosteroid eksogen. Peningkatan kortisol melalui pemberian kortikosteroid eksogen di negara berkembang telah menjadi alasan yang rutin dalam pemberian kortikosteroid apabila seorang pasien mengalami ENL, namun yang belum banyak diketahui adalah bahwa sel T dapat menjadi resisten terhadap kortisol. Kondisi ini disebut sebagai lapisan regulasi lain dari mekanisme kompleks kortison-kortisol *shuttle*, sehingga ternyata sebenarnya tidak hanya kadar serum yang diregulasi namun juga bagaimana mengatasi afinitas reseptor yang telah resisten terhadap kortisol. Apalagi selain mempengaruhi HPA aksis, TNF- α juga mensupresi fungsi dari GR (*Glucocorticoid Reseptor*) (Bateman *et al.*, 1989; Gaillard *et al.*, 1990). Bila telah terjadi kondisi kortisol resisten, paparan simultan yang berulang dan kronis akan menyebabkan sel T tidak berespon terhadap kortisol, sehingga kortisol eksogen pun tidak banyak memperbaiki kondisi ENL (Kam *et al.*, 1993; Nimmagadda *et al.*, 1997; Rook dan Baker, 1999).

Dalam tatalaksana eritema nodosum leprosum selama ini, belum ada *guideline* yang tegas mengenai kapan kortikosteroid eksogen masih bisa diberikan dan bagaimana seorang klinisi mengetahui atau mengevaluasi pemberian kortikosteroid eksogen masih mampu memberikan manfaat bagi pasien ENL, atau sudah waktunya untuk memilih terapi lainnya seperti thalidomide dan inhibitor TNF- α . Padahal kondisi ENL seringkali berulang, dan pemberian kortikosteroid jangka panjang dapat menimbulkan permasalahan baru. Pemeriksaan kortisol melalui kadarnya di dalam serum secara umum dapat dilakukan dan membuat klinisi dapat mengevaluasi pemberian kortikosteroid eksogen. Pemeriksaan saliva semakin sering digunakan sebagai diagnosis untuk penyakit sistemik karena dapat dengan mudah dikumpulkan, tidak invasif dan menimbulkan rasa sakit bagi pasien

dan mengandung sebagian besar kandungan dari serum, berdasarkan pengetahuan ini mulai dieksplorasi pemeriksaan-pemeriksaan untuk penyakit sistemik menggunakan saliva (Malathi et al., 2014).

Keuntungan pemeriksaan saliva dibandingkan pemeriksaan serum yang pertama adalah konsentrasi kortisol saliva merefleksikan kortisol yang secara biologis aktif dari level kortisol yang tidak terikat, dimana level kortisol di saliva ini tidak dipengaruhi oleh peningkatan *Cortisol Binding Globulin* (CBG) yang akan dapat mempengaruhi interpretasi dari level kortisol bila diukur pada serum. Saliva juga mudah dalam prosedur pengumpulannya, bisa dilakukan secara berulang dengan metode pengambilan non invasif dengan stress yang lebih minimal bagi pasien, bahkan pemeriksaan kortisol saliva dapat memfasilitasi pemeriksaan kortisol yang memiliki sekresi episodik pada jam-jam tertentu yang sudah diketahui standarnya pada beberapa studi terpublikasi, pemeriksaan kortisol saliva juga memfasilitasi prosedur pemeriksaan pada wanita hamil maupun anak-anak (Vining, R.F et al., 1983; Ljubijankic et al., 2008). Studi terpublikasi dari Indonesia, oleh Adisty NI dkk. (2015) yang melakukan uji korelasi pada kadar kortisol serum dan saliva pada pasien dermatitis atopik mendapatkan bahwa uji korelasi pearson menghasilkan kadar kortisol saliva terhadap kadar kortisol serum adalah $p=0,002$ ($P<0,005$). Karena memiliki berat molekul yang rendah dan karena sifat lipofiliknya, kortisol bebas akan masuk secara difusi pasif melalui *Gingival Crevicular Fluid* (GCF) sehingga kadar kortisol bebas dapat diukur di saliva. (Groschl, 2008; Salimetrics, 2012; Adisty 2015; Aguiar 2017). Penelitian tentang kadar kortisol telah banyak didapatkan pada penyakit lain selain kusta, namun penelitian mengenai TNF- α saliva dan keterkaitannya dengan penyakit infeksi sistemik lebih sedikit lagi didapatkan. Kosaka et al. (2014) pernah meneliti kadar

TNF- α saliva pada pasien dengan aterosklerosis dan didapatkan suatu peningkatan signifikan. TNF- α saliva juga diketahui meningkat secara statistik ($p < 0,005$) pada pasien *End Stage Renal Disease* (ESRD) yang diketahui didapatkan peningkatan TNF- α dalam proses patogenesis deteriorasi fungsi renal (Khozeymeh, 2016). Hubungan antara TNF- α serum dan TNF- α saliva hingga saat ini masih belum jelas diketahui (Salimetrics 2018), sehingga penelitian ini dapat memperluas pemahaman mengenai hal tersebut. Hingga saat ini, sepengetahuan penulis, belum ada penelitian yang meneliti kadar kortisol dan TNF- α saliva pada pasien ENL.

1.2 Rumusan Masalah

Dengan memperhatikan latar belakang tersebut, dirumuskan masalah penelitian sebagai berikut:

Apakah terdapat hubungan antara kadar kortisol saliva dengan kadar TNF- α saliva pada pasien ENL?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui hubungan antara kadar kortisol saliva dan kadar TNF- α saliva pada pasien ENL.

1.3.1 Tujuan Khusus

1. Mengetahui rata-rata kadar kortisol saliva pada pasien ENL.
2. Mengetahui rata-rata kadar TNF- α saliva pada pasien ENL.

3. Untuk mengetahui hubungan antara kadar kortisol saliva dan TNF- α saliva pada pasien ENL.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Data penelitian dapat digunakan sebagai dasar penelitian lebih lanjut tentang patofisiologi kortisol saliva dan TNF- α saliva dalam reaksi ENL.
2. Kadar kortisol saliva dan TNF- α saliva dapat dijadikan salah satu dasar evaluasi terapi kortikosteroid pada ENL.
3. Pemeriksaan kortisol saliva yang relatif mudah dilakukan dan tidak invasif dapat menjadi dasar untuk penelitian selanjutnya untuk mengetahui kadar kortisol dan TNF- α melalui pemeriksaan saliva.



BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Eritema Nodosum Leprosum

2.1.1 Definisi

Eritema Nodosum Leprosum (ENL) pertama kali dideskripsikan pada tahun 1912 oleh leprologis Jepang, Murata pada *German Journal of Pathology* yang menggunakan pilihan nama tersebut karena presentasi klinisnya (Ray *et al.*, 2014; Murata, 1912).

Eritema nodosum leprosum adalah suatu komplikasi dari penyakit kusta yang dimediasi imun, memiliki presentasi benjolan dan pembengkakan kulit yang timbul baru, berwarna merah, nyeri, biasanya di lengan atau tangan dan kadang-kadang di area batang tubuh disertai demam. Bila reaksinya berat, pembengkakan dan benjolan tersebut dapat multipel dan membentuk ulkus, demam yang terjadi dapat sangat tinggi dan disertai inflamasi organ lain, diantaranya saraf, mata, sendi, testis dan kelenjar getah bening (World Health Organization, 1988; ILEP, 2002; Kawahita dan Lockwood, 2008; Veen *et al.*, 2009). Eritema nodosum leprosum (ENL) hanya bisa terjadi pada pasien kusta dengan spektrum Ridley Jopling BL (*borderline lepromatous*) atau LL (*lepromatous leprosy*) karena *bacterial load* yang tinggi akan memperbesar resiko reaksi pembentukan antigen antibodi kompleks dari antigen mikobakterium yang diklasifikasikan dalam klasifikasi WHO sebagai MH MB (World Health Organization, 1988; Veen *et al.*, 2009).

Definisi dari morbus hansen (MH) sesuai *7th WHO expert Committee on leprosy* (World Health Organization, 1988), yang masih digunakan hingga saat ini,

adalah kelainan dengan adanya kemunculan dari paling tidak dua dari 3 tanda kardinal dibawah ini, atau tanda keempat saja (*World Health Organization*, 1988):

1. Lesi kulit yang karakteristik
2. Hilangnya sensasi sensoris
3. Penebalan saraf tepi
4. Adanya basil tahan asam pada *slit skin smears*.

Definisi morbus hansen multibasilis (MH MB) adalah kasus pasien dengan 6 atau lebih lesi kulit dengan anastesi, dan semua kasus dengan *acid fast bacillus* (AFB) *staining* positif (Lockwood, 2017).

2.1.2 Epidemiologi

Hingga saat ini, kasus MH yang didapatkan masih didominasi tipe Multi Basiler (MB) padahal pasien dengan MH tipe MB merupakan kondisi yang sangat infeksius. Proporsi MB merupakan suatu indikator yang baik untuk memperkirakan kebutuhan obat MH dalam suatu populasi tertentu. Kasus MH MB diketahui lebih jarang didapatkan pada perempuan dan anak-anak (Lockwood, 2017) hal ini didukung oleh penelitian yang menyatakan MH tipe MB di Asia diketahui lebih banyak diderita oleh laki-laki dibandingkan perempuan dengan perbandingan 1,5 :1 (James, 2006). Berdasarkan rentang umur, meski MH dapat dialami di seluruh rentang umur, sebagian besar kasus di daerah endemis umumnya muncul sebelum usia 35 tahun. Penelitian yang dilakukan di RS Sanglah Denpasar pada tahun 2014 yaitu MHMB sebesar 88,8 %, jauh lebih banyak dibandingkan tipe PB 11,2 %. (Nuari dan Darmada, 2014). Penelitian sebelumnya serupa di Manado juga mempublikasikan bahwa pasien MH tipe MB (89,3 %) mendominasi keseluruhan pasien RSUP Prof. dr. Kandou (Tiwow dkk., 2014). Penelitian serupa

di Brazil pada tahun 2016 juga menunjukkan MH MB lebih banyak dibandingkan tipe PB yaitu sebesar 74,1 % (Goiabeira *et al.*, 2018).

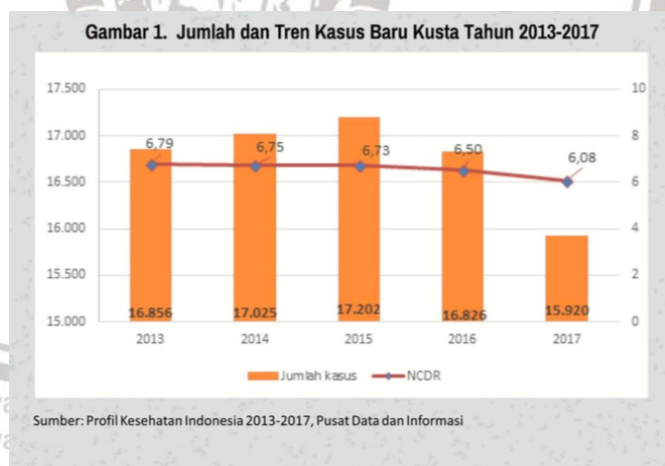
Di Indonesia, pada tahun 2013, Jawa Timur merupakan propinsi urutan pertama dengan prevalensi MH terbanyak di Indonesia yaitu sebanyak 3.952 kasus (Dinas Kesehatan Jawa Timur, 2013). Pada tahun 2014, prevalensi MH di Jawa Timur mengalami penurunan sebesar 1,02 per 10.000 penduduk (Zakiyah, 2017).

Secara global, pada tahun 2013 penyumbang terbesar dari angka MH didunia masih dari Asia, yaitu India sebesar 126,913 (80 % kasus dunia), Indonesia menempati peringkat kedua sebesar 16,856. Sementara itu di sisi lain, Korea telah berhasil meraih *zero incidence* pada tahun 2013 (Lockwood DN, 2017). Negara-negara di Asia dan Brazil menyumbangkan angka yang besar untuk ENL. Penelitian dari India melaporkan bahwa keseluruhan ENL memiliki prevalensi 24% (Pocatterra *et al.*, 2006) Sementara Brazil melaporkan ENL adalah sebesar 31% diantara pasien MB dalam terapi MDT (Nery *et al.*, 1998). Sebuah studi dari India melaporkan bahwa hampir 50% dari pasien dengan LL dan 9% pasien dengan BL mengalami episode ENL (Pocatterra *et al.*, 2006) dan penelitian dari Etiopia sebesar 12 % pada pasien dengan LL dan 4% dengan BL mengalami episode ENL (Saunderson, *et al.*, 2000).

Reaksi tipe 2 atau ENL muncul terutama pada pasien MH dengan indeks bakterial lebih dari 4 yaitu 50% pasien LL dan 5-10 % dari BL. Sementara itu, reaksi tipe 1 (T1R) mendominasi *Borderline tuberculoid leprosy* (BT) *midborderline* (BB) dan BL (Van Veen *et al.*, 2009).

Secara global penemuan kasus baru kecacatan derajat 2 (*grade 2 deformity / G2D*) dilaporkan pada tahun 2013 di dunia masih sebesar sebesar 13,289 kasus (Lockwood DN, 2017).

Berdasarkan pusat data dan informasi (Pusdatin) Indonesia pada saat ini Indonesia telah mencapai status eliminasi kusta yaitu prevalensi kusta < 1 per 10.000 penduduk, angka prevalensi MH di Indonesia pada tahun 2017 sebesar 0,70 kasus per 10.000 penduduk dan angka penemuan kasus baru sebesar 6,08 kasus per 100.000 penduduk berhasil mencapai penurunan setelah sebelumnya mencapai 10 per 10.000 penduduk pada tahun 2000. Meski demikian, angka prevalensi ini belum bisa dinyatakan bebas kusta dan masih terjadi di 10 provinsi di Indonesia salah satunya adalah Jawa Timur yang NCDR-nya (*New Case detection rate*) dari tahun 2015 mencapai 10,33 %, tahun 2016 sebesar 10,23% dan baru tahun 2017 ini mencapai 8,58% (Kementerian Kesehatan R.I., 2018).



Gambar 2.1 Grafik jumlah dan tren kasus baru kusta tahun 2013-2017 (Kementerian Kesehatan R.I., 2018).

2.1.3. Gambaran Klinis ENL

Reaksi tipe 2 atau ENL banyak muncul dalam periode terapi Multi Drug Therapy (MDT). Sebagian lainnya muncul pertama kali sebelum kusta terdiagnosa

dan terapi dimulai. Berdasarkan data yang dikumpulkan oleh *Indian Association of Leprologist (IAL) Textbook of Leprosy* pada tahun 2003, baik dari data lapangan maupun data rumah sakit menunjukkan bahwa 21 % dari seluruh kasus MH mengalami ENL pada awal terapi, 17,6% hadir 6 bulan setelah mulainya terapi MDT, 16,6% setelah lebih dari separuh waktu periode pemberian MDT dan 44,5 % muncul setelah lebih dari satu tahun dari pertama kali diterapi MDT (Lockwood, 2017). Studi terpublikasi oleh Kumar *et al.* (2004) menganalisis karakteristik epidemiologis reaksi ENL dalam rentang 15 tahun di India utara menyatakan bahwa didapatkan kasus ENL pada 19,4 % MH MB sebelum diterapi, 10,5% pada terapi MDT bulan 0-6 , 17,2% pada bulan 7-12, 32,8 % pada pasien post terapi MDT hingga 2 tahun setelah menyelesaikan MDT, dan 20 % pada pasien RFT (*Release From Treatment*) 3-8 tahun setelah menyelesaikan MDT. Onset sebelum terjadinya ENL, dapat terjadi *cutaneous onset* yaitu munculnya sekumpulan lesi kulit dalam bentuk *maculopapular evanescent* yang nyeri, papular, nodular atau lesi tipe plak sebelum munculnya gejala dan tanda konstitusi. Pada sepertiga kasus didapatkan *rheumatic onset*, yaitu adanya nyeri dan bengkak pada sendi yang mengawali atau bersamaan dengan komponen gejala konstitusi lainnya. Dapat pula terjadi *mixed onset* yaitu demam, nyeri sendi dan gejala dan tanda konstitusi lainnya beserta lesi kulit muncul bersamaan.

Lesi kulit pada reaksi tipe 2 biasanya tidak menimbulkan perubahan klinis dari lesi kulit yang sudah ada sebelumnya pada pasien MH, berbeda dengan reaksi tipe 1, dimana lesi akan menjadi lebih prominen, eritematosa, edematosa dan kadang nyeri.

Lesi ENL dapat berupa papul, nodul atau plak *evanescent* berwarna *pink* rose yang nyeri dengan ukuran bervariasi yang nyeri terutama bila disentuh (Gambar 2.2).



Gambar 2.2. Eritema Nodosum Leprosum (ENL). Papul eritematosa yang berkilau dan nodul (yang biasanya nyeri tekan) pada wajah dan paha. Lesi *evanescent* dan biasanya berasosiasi dengan fitur sistemik seperti demam, malaise dan nyeri sendi (Lockwood DN, 2017).

Lesi ini dapat terjadi pada dermis sehingga dapat dilihat secara jelas atau dapat pula cukup dalam hingga mencapai jaringan subkutis membentuk *subcutaneous nodule* (SCN) dimana secara klinis lebih mudah dipalpasi daripada dilihat. Nodul berbentuk *dome-shaped* dan berbatas tidak tegas. Dapat multipel atau mungkin hanya sedikit, bila multipel seringkali terdistribusi secara bilateral dan simetris. Lesi ini nyeri saat disentuh, terasa hangat dan *blanch* dengan tekanan ringan dengan jari. Lesi ENL yang baru timbul biasanya muncul pada sore hari saat dimana produksi kortisol endogen paling rendah.

Lesi ENL yang baru dapat muncul setelah lesi ENL lama menghilang. Lesi ENL tunggal dapat muncul setelah 24-48 jam dan menunjukkan perubahan warna dari pink/merah menjadi kebiruan, kecokelatan dan hingga akhirnya menjadi gelap

dalam hitungan minggu atau sepuluh hari. Lesi ENL dapat, walaupun jarang, menjadi bentuk vesikular, pustular, bulosa dan nekrotikans serta menimbulkan ulserasi yang disebut *eritema nodosum necroticans*, dapat pula hemoragik dan menyerupai suatu fenomena Lucio. Lesi ENL akan menghilang dengan meninggalkan deskuamasi atau didapatkan adanya pengelupasan dari kulit superficial.



Gambar 2.3. Perubahan lesi kulit dari ENL menjadi lesi difus dengan indurasi minimal dan plak berwarna merah kebiruan, batas tidak tegas dan nyeri pada tungkai yang kemudian bereksfoliasi setelah periode 1 minggu tanpa adanya lepuh (Lockwood DN, 2017).

Area predileksi ENL adalah pada bagian luar paha, kaki dan wajah.

Namun, dapat timbul di area mana saja pada kulit kecuali pada skalp, ketiak, selangkangan dan perineum, area tubuh yang suhunya lebih hangat. Dapat pula didapatkan edema dari tangan, kaki atau wajah. Saat edema karena proses inflamasi ini terjadi pada dorsal manus dapat disertai *Sub Cutaneous Nodule* (SCN) dan artritis dari sendi *interphalangeal* (IP) kondisi ini *reaction hand*.

Lesi kulit terkadang dapat muncul kembali pada area yang sama bila tidak membaik sepenuhnya, kondisi panikulitis kronik yang nyeri dapat bertahan dalam hitungan bulan hingga tahun. Area inflamasi kulit dan jaringan subkutan yang luas dapat menyebabkan terjadinya tarikan pada fascia, otot, tulang di bawahnya

dan dapat menyebabkan terjadinya imobilisasi tangan, kaki bahkan wajah.

Jaringan fibrosa dapat terbentuk, dan seringkali disertai vaskularisasi yang kurang baik sehingga mudah terjadi ulserasi pada trauma ringan sekalipun dan sulit sembuh. Bentuk ENL yang aneh dan jarang didapatkan disebutkan oleh para ahli sebagai *Lazarine leprosy*, suatu kondisi yang belum sepenuhnya disepakati oleh para ahli. Cochrane menggambarkannya sebagai suatu kondisi kronik progresif dari ENL dimana *Subcutaneous nodule* (SCN) yang terbentuk cenderung pecah dan berulserasi dan kondisi pasien tampak sakit berat (Lockwood DN, 2017).

2.1.4 Kriteria Diagnosis

Kriteria diagnosis dari ENL ini ditegaskan oleh B Naafs *et al.*, (2003) baik pada kondisi ENL klasik dan tipe ENL lainnya yang lebih jarang dengan pola morfologis yang berbeda dengan atau tanpa gejala konstitusi dan manifestasi lainnya yang terkait yang bersifat diagnostik. Diagnosis ditegakkan dengan didaptkannya kriteria mayor atau paling tidak didapatkan tiga dari kriteria minor, yaitu :

Tabel 2.1. Kriteria diagnosis reaksi tipe 2 (T2R) Erythema Nodosum Leprosum diambil dari (Naafs, 2003; Lockwood, 2017).

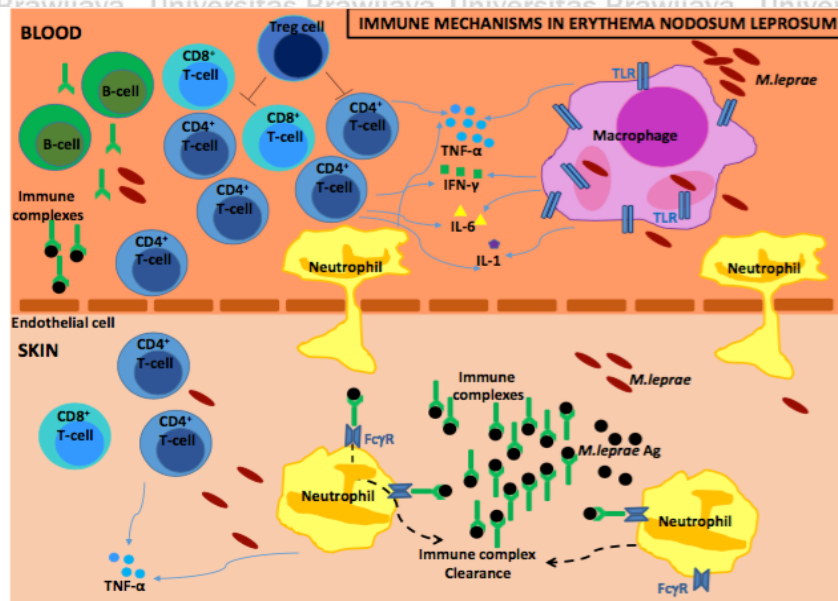
Kriteria diagnosis dari reaksi tipe 2 (Eritema Nodosum Leprosum/ENL)

Mayor	Erupsi mendadak berupa papul, nodul atau plak eritematosa yang nyeri, yang dapat pula berulserasi
Minor	Febris atau subfebris, pasien merasa tidak enak badan Nyeri dan atau pembesaran pada saraf Peningkatan hilangnya sensasi sensoris atau kekuatan otot Artritis Limfadenitis Epididimoorkitis Iridosiklitis/episkleritis Edema pada ekstremitas atau wajah Tes Ryrrie atau Ellis positif

2.1.5 Etiopatogenesis Reaksi ENL

Pemahaman etiopatogenesis ENL diawali pada tahun 1969, dimana Wemambu *et al.*, (1969) menemukan dan menyatakan suatu pengetahuan baru bahwa ENL adalah hasil dari reaksi kompleks imun. Melalui pemeriksaan mikroskopik immunofluoresensi, ditemukan endapan komplemen, imunoglobulin, dan antigen yang larut dari lesi pasien penderita MH dengan reaksi tipe 2a tau ENL (Murata, 1912 ; Aliprantis *et al.*, 1999).

Reaksi Tipe 2 atau ENL adalah suatu sindroma kompleks imun, suatu reaksi antigen antibodi yang melibatkan komplemen dimana pada lesi ENL didapatkan ketiga substansi tersebut yaitu IgG, IGM, komplemen (C3) dan antigen mikobakterium (Bryceson, 1990; Aliprantis *et al.*, 1999). Antigen bereaksi dengan antibodi membentuk kompleks Ag Ab yang kemudian akan mengaktivasi komplemen dan menjadi suatu ENL (Bryceson, 1990). Eritema nodosum leprosum merupakan suatu bentuk dari reaksi hipersensitivitas tipe 3 (menurut klasifikasi Coombs dan Gell). Reaksi ini seringkali terjadi pada bentuk LL, kadang-kadang pada bentuk BL dan biasanya disertai gejala sistemik. Reaksi tipe 2 ini tidak lazim terjadi dalam 6 bulan pertama pengobatan, tetapi justru pada akhir pengobatan saat basil telah menjadi granular (Bryceson, 1990). Penggunaan istilah ENL sebagai alternatif dari reaksi tipe 2 dikarenakan mayoritas lesi klinis yang ditemukan adalah tipe eritema nodosum (Bryceson, 1990; Modlin, 2010).



Gambar 2.4. Imunopatomekanisme dalam suatu Eritema Nodosum leprosum (Polycarpou, 2017).

Patogenesis dari suatu reaksi ENL dijelaskan secara skematis pada gambar 2.4. Pada ilustrasi tersebut digambarkan perbedaan mekanisme imun yang telah dijelaskan dalam beberapa literatur tentang ENL. Tingginya volume dari kompleks imun disebabkan karena adanya peningkatan pembentukan antibodi oleh sel B dan adanya peningkatan antigen mikobakterium akibat proses fragmentasi yang dilakukan oleh *M. leprae*. Kompleks imun kemudian terdeposit di kulit. Neutrofil akan tertarik ke arah kulit dan di kulit neutrofil akan membantu proses *clearance* menggunakan reseptor yang ada di permukaan sel neutrofil yaitu reseptor FC γ , peningkatan dari subset sel T CD4 $^{+}$ dan CD8 $^{+}$ baik pada pembuluh darah perifer dan kulit yang sesuai dengan karakteristik ENL. Makrofag akan membentuk *niche* intraselular dan dalam proses yang bersamaan dengan neutrofil dan sel T, akan mensekresikan suatu *Tumor Necrosis Factor Alpha* (TNF- α) dan sitokin pro inflamasi lainnya yang akan membuat proses peradangan dari ENL menjadi lebih kompleks (Polycarpou, 2017).

Peningkatan TNF- α dan sitokin pro inflamasi lainnya selama kondisi ENL telah dibuktikan dalam beberapa publikasi ilmiah, sementara supresi dari TNF- α menunjukkan terjadinya suatu perbaikan klinis (Polycarpou, 2017). Morbus Hansen adalah suatu penyakit kronis yang seringkali disertai lebih dari satu kali periode reaksi, salah satunya reaksi ENL, sehingga dapat menimbulkan gangguan multi organ. Salah satu organ yang dapat terkena dampak reaksi ENL ini adalah kelenjar adrenal. Pada keadaan akut sekresi *Corticotropine Releasing Hormone* (CRH) dan *Adrenocorticotropine Releasing Hormone* (ACTH) meningkat dan menstimulasi naiknya adrenal glukokortikoid (Ayudianti dkk., 2014). Penyulit lain yang terjadi, lebih jauh lagi rangsangan pencetus seperti infeksi, kelelahan fisik, stress atau kehamilan dapat menyebabkan serangan reaksi dapat berulang dan paparan TNF- α dan sitokin pro inflamasi lainnya berlangsung lama sehingga menyebabkan *adrenal exhaustion*. Kondisi ini menyebabkan korteks adrenal menjadi lebih resisten terhadap stimulasi, sehingga produksi serum kortisol menurun (Rook dan Baker, 1999; Cooper dan Stewart, 2003).

Erythema nodosum leprosum dapat digolongkan menjadi *mild* atau *severe*.

Tipe *mild* adalah reaksi ENL tanpa disertai keterlibatan organ lain. Pasien dengan satu atau lebih gejala berikut diklasifikasikan sebagai *severe*, yaitu : (1) Demam Tinggi, rasa linu pada badan, mialgia dan gejala konstitusi lainnya. (2) ENL ekstensif dengan atau tanpa lesi pustular atau nekrotik. (3) Linu atau nyeri sentuh (neuritis) pada satu atau lebih saraf, dengan atau tanpa hilangnya fungsi saraf (Lockwood DN, 2017).

2.2. Immunopatogenesis Reaksi ENL.

2.2.1 Interaksi *Mycobacterium leprae* dan Innate Immunity dalam Suatu

Reaksi Kusta.

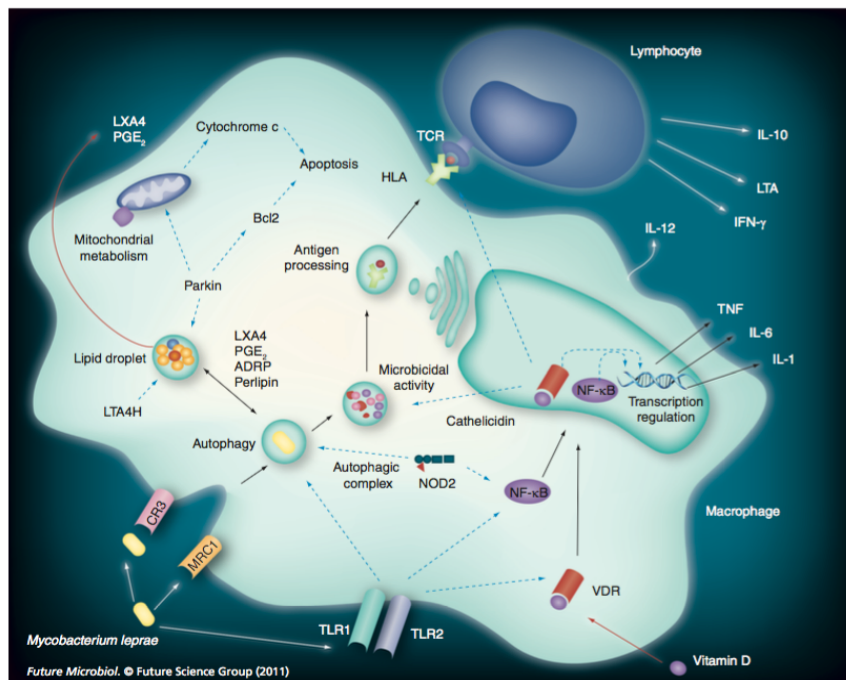
Pada tahun 1884, Metchnikoff mendeskripsikan fitur kunci dari sistem imun *innate*. Ia menyebutnya '*phagocytes*' yang secara cepat dapat mengenali dan menghancurkan suatu invasi patogen asing (Metchnikoff, 1884). Seratus tahun kemudian, literatur saat ini telah memiliki titik pandang baru bahwa didapatkan suatu mekanisme bagaimana sistem imun *innate* dilengkapi dengan *germ line encoded Pattern Recognition Receptors* (PRRs), dimana ia dapat mengenali Patogen-Associated Molecular Pattern (PAMP) yang didapatkan dalam kelompok patogen tertentu. *Patogen-Associated Molecular Pattern* ini akan menjadi suatu 'jembatan' antara imunitas *innate* dengan imunitas adaptif terutama *Cell mediated Immunity* karena akan merangsang stimulasi produksi dari T regulator (Arora *et al.*, 2008; Madan *et al.*, 2011).

Selain PAMP dari *M.leprae*, sistem imun *innate* host akan diaktifkan juga via *Toll-like-receptors* (TLR). Peran TLR adalah memediasi respon imun *innate* berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Brightbill *et al.*, (1999); Aliprantis *et al.* (1999); Duncan dan Pearson (1984); Saunderson *et al.*, (2000) ; diketahui bahwa lipoprotein dari *M.leprae* akan memicu respon host melalui TLR2, yang membutuhkan fungsi *acyl* untuk aktivitasnya. Secara simultan, *tryacylated lipoproteins* didapatkan mengaktifasi TLR2/1 heterodimer dimana *diacylated lipoprotein* akan mengaktifasi TLR2/6 heterodimer. *Toll-like-receptors 2* (TLR2) juga memediasi respon *lipoarabinomannan* dari *M.leprae* yang cepat bertumbuh, dengan kombinasi MARCO dan CD 14 dari substansi mikobakterial *trehalose*

dimycolate, TLR2 diduga memiliki pengaruh terhadap resistensi (Arora et al., 2008).

Toll-like-receptors yang terlibat dalam imunopatogenesis kusta terutama adalah TLR1 dan TLR2, dan melalui serangkaian proses dalam interaksi *Mycobacterium leprae* pada paparan pertamanya dengan *Antigen Presenting Cell* (pada ilustrasi ini diwakili oleh makrofag), salah satu proses yang terlibat adalah NF- κ B menghasilkan produksi TNF, IL-6 dan IL-1 (Gambar 2.5) (Modlin et al., 1994; Cardoso et al., 2011).

Respon imun *innate* sangat penting dalam menentukan perjalanan penyakit infeksi MH dan juga manifestasi klinisnya. *Mycobacterium leprae* secara inisial akan dikenali oleh beberapa reseptor imunitas *innate* termasuk TLR. *Mycobacterium leprae* secara dominan akan mengaktivasi heterodimer TLR 2 dan TLR1 yang diekspresikan oleh makrofag di kulit, dan akan memediasi aktivasi sel untuk memediasi proses “pembunuhan” dari *Mycobacterium leprae*. TLR 2 dan TLR 1 lebih kuat diekspresikan pada bentuk TT yang terlokalisasi dibandingkan dengan bentuk LL dari penyakit ini. Sel Schwann juga mengekspresikan TLR 2 dan aktivasi dari TLR 2 pada sel ini berkontribusi pada kerusakan saraf pada MH (Khadge et al., 2015).



Gambar 2.5. Proses Interaksi TLR 1 dan TLR 2 dengan patogen *Mycobacterium leprae*, makrofag pada ilustrasi ini sebagai APC (*Antigen Presenting Cell*), setelah berinteraksi terjadi serangkaian proses didalam makrofag, yang salah satunya adalah NFκB menghasilkan sitokin-sitokin yang berkaitan dengan perjalanan penyakit kusta. Kemudian HLA akan merepresentasikan kepada limfosit T dan berinteraksi dengan TCR (*T Cell Receptor*) lalu menghasilkan produksi IL-10, LTA dan IFNγ (Cardoso *et al.*, 2011).

Pada pasien dengan *Tuberculoid leprosy* (TT) , respon imun *innate* diaktivasi oleh *Mycobacterium leprae* melalui *toll-like receptors* (TLR2/TLR1).

Interleukin 15 (IL-15) akan menstimulasi program antimikroba *vitamin D-dependent* pada makrofag dan menghambat fagositosis dari mikobakterium.

Kejadian ini akan merangsang respon Th1 dari sitokin sel T (IFN-γ, IL-2, TNF α, and IL-15) yang akan menahan infeksi dalam suatu granuloma yang terbentuk

utuh (*well-formed granuloma*) (Khadge *et al.*, 2015). Pada pasien kusta

Lepromatous leprosy (LL), IL-4, IL-10, *leukocyte immunoglobulin-like receptor subfamily A member 2* (LILRA2), dan fosfolipid teroksidasi menghambat sitokin

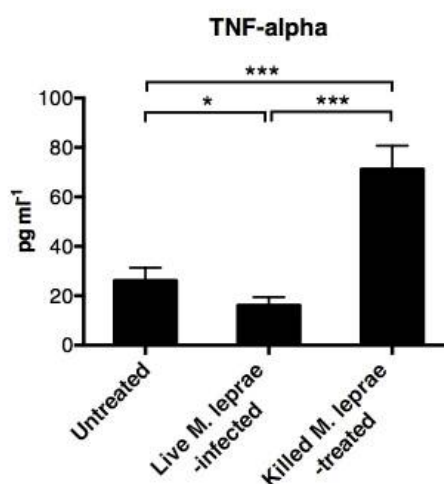
penginduksi TLR2/1, namun mempertahankan pelepasan dari IL 10. Sebagai

tambahan, kompleks imun akan mencetuskan produksi IL-10 dan meningkatkan

fagositosis dari *Mycobacterium leprae*, ApoB, kompleks haptoglobin-hemoglobin

dan fosfolipid teroksidasi oleh makrofag melalui reseptor CD209 dan CD 163 tanpa mengaktifasi Jalur antimikroba VDR (*Vitamin D Receptor*). Bentuk “foamy” dari makrofag ini terjadi karena akumulasi dari droplet lipid (LD) di dalamnya. Ada mekanisme upregulasi dari perilipin dan protein terkait diferensiasi adiposa di retikulum endoplasma-badan golgi dengan pembentukan vesikel yang mengandung lipid, fosfolipid, ester kolesterol dan kolesterol.

Kortisol mampu menghambat pertumbuhan makrofag dan fungsinya dengan menghambat proliferasi sel pada fase G1. Hal ini mendukung teori bagaimana glukokortikoid mengintervensi fungsi imun. Kortisol akan menghambat produksi mRNA IL-1 β dan menghambat maturasi monosit (Cardoso *et al.*, 2011).

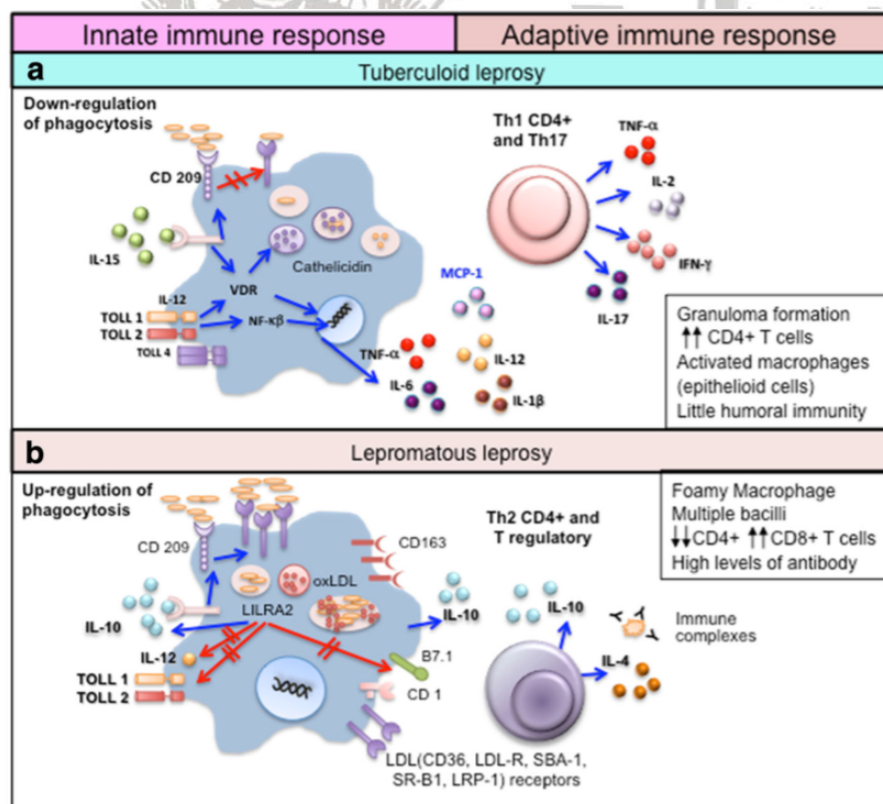


Gambar 2.6. Dalam suatu studi *in vitro*, monosit diambil dari pembuluh darah perifer dan berdiferensiasi menjadi makrofag yang merupakan respon immune *innate* pertama yang berinteraksi dengan *M. leprae*. Saat dipaparkan dengan *M. leprae* hidup dan *M. leprae* mati makrofag menunjukkan pelepasan TNF- α terutama pada *Mycobacterium leprae* yang sudah mati ($p < 0.05$).

Dalam suatu studi *in vitro* yang dilakukan oleh Yang *et al.*, (2016) mempelajari interaksi makrofag dengan *Mycobacterium leprae* mendapatkan bahwa makrofag yang terpapar dengan *Mycobacterium leprae* yang mati lebih banyak akan menstimulasi makrofag untuk melepaskan TNF α . Kemungkinan

karena adanya antigen kuman yang tinggi, sehingga dapat dikaitkan dengan reaksi yang seringkali terjadi justru setelah terapi MDT dan terjadi peningkatan sitokin TNF α akibat melimpahnya antigen *M.leprae*, meski diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai pemahaman ini.

Lebih jauh lagi, terjadi peningkatan baik sintesis reseptor LDL, yaitu (CD36, LDL-R, SBA-1, SR-B1), and LRP-1 dan *uptake* dari kolesterol endogen yang terakumulasi intraseluler. Hal ini akan menginduksi profil imun Th2 dan Treg, dengan produksi IL-4 dan IL-10, produksi antibodi, ketidakhadiran granuloma dan kegagalan untuk merestriksi pertumbuhan *Mycobacterium leprae*. Aktivasi dari imunitas *innate* akan mengarah pada produksi sitokin dan ekspresi dari molekul ko-stimulasi yang akan menghasilkan aktivasi dari sistem imun adaptif (Khadge et al., 2015).



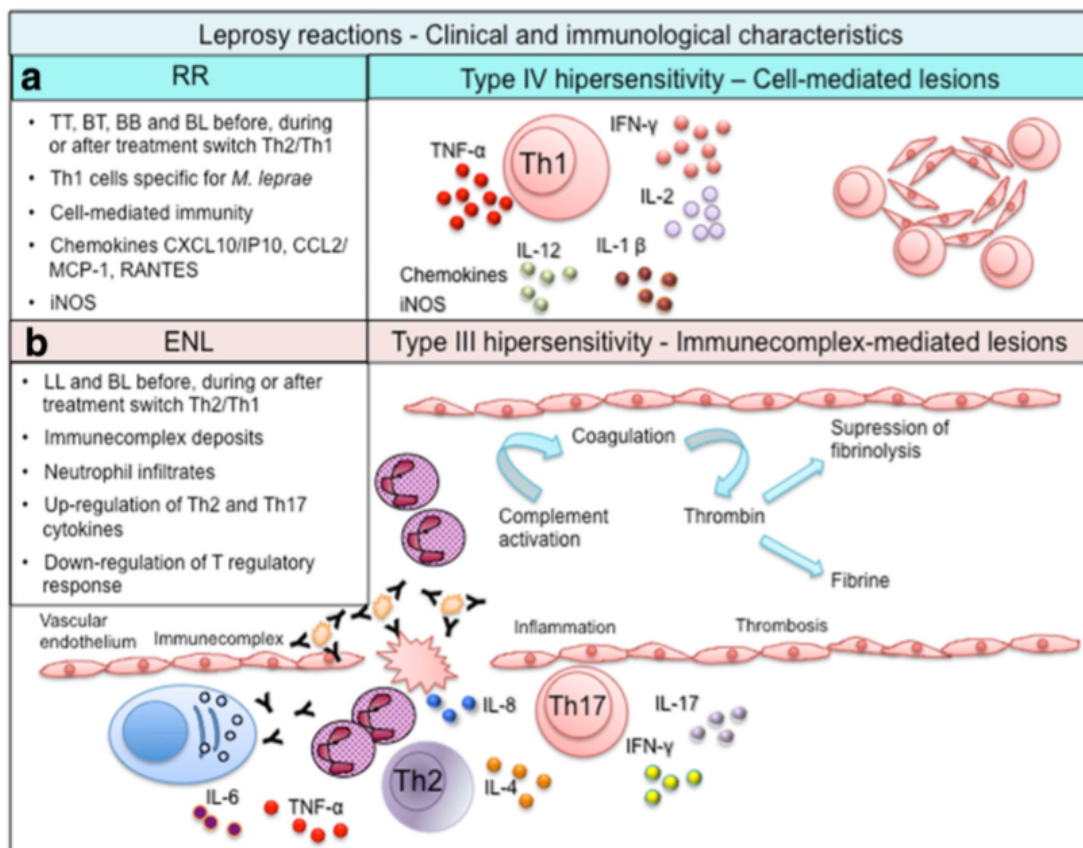
Gambar 2.7. Respon Imun *Innate* dan Imunitas *Adaptif* terhadap *Mycobacterium leprae* (Khadge et al., 2015).

2.2.2 Interaksi *Mycobacterium leprae* dan Imun Adaptif

Sekelompok besar organisme seperti virus, protozoa, helminths, jamur dan bakteri terutama mikobakteria, memerlukan suatu proses imunologis yang dimediasi oleh sel yang sebenarnya bertujuan untuk eliminasi patogen tersebut. Morbus hansen sendiri dalam spektrum klinisnya, bergantung pada derajat dari respon imun dimediasi sel dari host melawan *Mycobacterium leprae*. Pada MH Tuberculoid (TT) respon *cell mediated immunity* lebih tinggi daripada lepra lepromatosa (LL) (Motta *et al.*, 2012).

Seperti yang disebutkan sebelumnya, reaksi Tipe 1 terjadi karena adanya peningkatan *cell-mediated-response* kepada antigen *M.leprae*. Disinilah respon imun adaptif berperan dalam imunopatogenesis reaksi MH. Karena reaksi tipe 1 dihasilkan dari *cell-mediated-response* pada *M.leprae*, determinasi antigen yang dihasilkan memiliki karakteristik dominasi dari aktivitas limfosit Th-1 yang mengekspresikan IL-2 dan IFN γ . Selain itu kontras dengan reaksi tipe 2, IL-12 secara konsisten diekspresikan dan IL-4 tidak didapatkan (Gambar 2.8) (Khadge *et al.*, 2015; Saini *et al.*, 2016).

Sel T CD4⁺ yang memproduksi IFN γ dan TNF α dan sel T sitotoksik secara selektif akan meningkat dengan proses *clearance* dari *M.leprae* dan kerusakan jaringan yang menyertai. Berbeda dengan reaksi tipe 1, predominasi dari Th2 telah ditemukan pada reaksi kusta tipe 2, dengan adanya peningkatan ekspresi dari IL-6, IL-8 dan IL-10 begitu pula dengan pemanjangan produksi dari sitokin Th2, IL-4 dan IL-5. Reaksi tipe 2 ini adalah suatu respon inflamasi sistemik yang diikuti dengan proses infiltrasi neutrofil, aktivasi komplemen, kompleks imun ekstra vaskuler dan tingginya level dari TNF α pada lesi jaringan dan juga sirkulasi (Saini *et al.*, 2016) (Gambar 2.8).



Gambar 2.8. Immunopatogenesis reaksi kusta (Baik reaksi reversal maupun ENL) (Khadge *et al.*, 2015).

Inti dari jalur imunopatogenesis MH adalah (i) FCR atau induksi TLR2 yang menyebabkan pelepasan dari IL-1b (ii) aktivasi endotelial termasuk upregulasi dari *E selectin* dan rangkaian pengikatan neutrofil (iii) upregulasi dari mediator inflamasi yang terkait dengan neutrofil maupun monosit/makrofag. Sel Th17 yang memproduksi IL-17 F telah diidentifikasi menjadi suatu subset dari sel T helper dan sebagai suatu mediator potensial dari inflamasi yang berkaitan dengan berbagai penyakit mikobakterial dan autoimun. Studi terakhir mengungkapkan bahwa besar kemungkinan sel Th17 terlibat dalam imunopatogenesis reaksi Kusta type 2, dan ekspresi gen IL17F terupregulasi sebelum terapi untuk reaksi.

Mycobacterium leprae dan komponen dinding selnya seperti LAM

(*Lipoarabinomannan*), telah dilaporkan menginduksi translokasi NF κ B dan aktivasi MAPK kinase, yang keduanya penting untuk produksi sitokin dan aktivasi sel. Agen terapi pada reaksi kusta seperti talidomide juga diketahui menghambat transkripsi NF κ B, aktivitas pengikatan DNA dan induksi-aktivasi oleh antigen *M. Leprae* pada sel manusia yang menghasilkan penurunan dari produksi dan resolusi klinis reaksi tipe 2 (Sakaguchi *et al.*, 2008; Saini *et al.*, 2016).

Dari proses-proses ini dapat kita ketahui bahwa sebenarnya respon immune *innate* dan adaptif saling terkait secara simultan dalam imunopatogenesis reaksi kusta, lebih jauh lagi sebagai tambahan, menyambung dengan kalimat : "Pathogen Associated Molecular Pattern (PAMP) ini akan menjadi suatu 'jembatan' antara imunitas *innate* dengan imunitas adaptif terutama *cell mediated Immunity* karena akan merangsang stimulasi produksi dari T regulator". Mengacu pada Belkaid Y dalam penelitiannya di tahun 2007, dalam suatu infeksi kronis, sel Treg akan membatasi kerusakan jaringan, sementara ia akan membantu proses pemeliharaan jangka panjang pada sistem imun. Aktivasi kronis Treg ini dalam suatu infeksi yang persisten dapat mengarah pada reaktivasi penyakit. Kehadiran simbiotik atau patogenik mikroorganisme baik pada jaringan perifer maupun pada usus dapat mempertahankan kondisi penumpukan sel-sel Treg teraktivasi (baik iTreg maupun nTreg) yang akan mempertahankan kondisi homeostasis imun host dan memperbesar nilai ambang yang dibutuhkan untuk aktivasi imun dan induksi dari suatu respon imun (Belkaid *et al.*, 2007; Pandhi *et al.*, 2013).

Tumor necrosis factor alpha telah diketahui memegang peranan penting dalam reaksi ENL, suatu studi *in vivo* dan *in vitro* yang dilakukan oleh Sampaio *et al.*, (1998) menyatakan bahwa mRNA TNF α meningkat pada saat terjadi reaksi ENL dibandingkan saat tidak terjadi reaksi dan akan menurun seiring dengan

pemberian terapi seperti pentoxifylline, sehingga dapat memperbaiki kondisi klinis pasien dengan ENL (Sampaio *et al.*, 1998). Pada pasien MH yang seringkali mengalami ENL berulang, terjadi pelepasan dan paparan sitokin pro inflamasi yang berlangsung secara kronis yang ditandai dengan melimpahnya sitokin pro inflamasi yaitu TNF α , IL-1, IL-6, IL-8-IL-10 (Kahawita *et al.*, 2008; Saonere, 2011; Makino *et al.*, 2011).

Akibat paparan sitokin proinflamasi ini, sekresi ACTH akan terstimulasi dan meningkatkan produksi glukokortikoid adrenal (Leal *et al.*, 2003). Namun jika rangsangan sitokin-sitokin ini berlangsung lama, maka akan timbul *cortex adrenal fatigue* yang akan membuatnya resisten terhadap stimulasi, sehingga kadar kortisol akan menurun (Oelkers W, 1996; Rook Adan Baker, 1999; Marik dan Zaloga, 2002). Mudahnya pasien ENL untuk mengkonsumsi dan membeli kortikosteroid eksogen (prednisolon, deksametason) seringkali menyebabkan *steroid abuse* jangka panjang yang juga akan menurunkan kadar kortisol serum (Cooper dan Stewart, 2003).

2.3. Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α)

Tumor Necrosis Factor Alpha adalah suatu sitokin polipeptida yang secara genetis dikodekan dalam suatu lengan pendek di kromosom 6. Merupakan suatu polipeptida 17 KD yang memiliki kemiripan asam amino homolog dengan TNF- β , suatu produk dari gen lainnya yang juga sama-sama memiliki reseptor dengan afinitas tinggi (Beutler dan Cerami, 1988). *Tumor Necrosis Factor Alpha* secara primer disekresikan oleh makrofag yang terstimulasi, sel-sel lain yang berkontribusi dalam level serum TNF α adalah sel-sel B, sel T, sel keratinosit, sel mast, basofil, dan sel granulosit (Wakefield *et al.*, 1991). *Tumor Necrosis Factor*

Alpha adalah sitokin kunci yang terlibat dalam respons pro inflamasi, aktivasi makrofag dalam rangka usaha host melawan agen patogen yang berusaha menginvasi, termasuk salah satunya adalah mikobakteria (Lima *et al.*, 2000; Fortes *et al.*, 2005). Formasi makrofag dalam bentuk granuloma yang merupakan usaha untuk mencegah perluasan infeksi mikobakteria juga melibatkan TNF- α . *Tumor necrosis factor alpha* berperan penting dalam pembentukan granuloma, suatu gambaran patologis yang sangat mendasar pada MH di lesi kulit dan saraf dan proses pergerakan leukosit dalam suatu proses inflamasi (Manandhar *et al.*, 2002). Naiknya kadar TNF- α ini diketahui bersifat antagonis dengan IL-2, produksi TNF- α yang melimpah pada MH tipe TT dan BT membuktikan bahwa TNF- α dapat mencegah terjadinya klinis yang lebih berat dalam suatu penyakit MH. *Tumor Necrosis Factor Alpha* juga diketahui diproduksi secara aktif oleh sel-sel polimorfonuklear (PMN) dalam suatu studi *in vitro*. Proses migrasi dari sel PMN ke lokasi area inflamasi dicetuskan oleh kemoatraktan lokal dan pelepasan ekspresi dari molekul adhesi *in situ*. *Mycobacterium leprae* memiliki kandungan lipopolisakarida (LPS) yang menginduksi monosit, yang dapat pula merangsang neutrofil untuk memproduksi TNF- α . Secara parsial, sel T juga terlibat dalam proses perekrutan neutrofil dan mempengaruhi fungsi efektor PMN pada lokasi terjadinya infeksi (Oliveira *et al.*, 1999). Namun, meski diketahui fungsi utama TNF- α adalah suatu sitokin biologis yang bersifat protektif, TNF- α dapat pula bersifat patologis tergantung dari konsentrasi, durasi pajanan dan eksistensi dari mediator lain (Citrashanty dkk., 2014).

2.3.1 Peran TNF- α dalam Reaksi ENL

Berbagai substansi diketahui menginduksi sekresi TNF- α yaitu endotoksin, fungal, parasit, virus dan mikobakterium, begitu pula dengan sitokin-sitokin seperti

IL-1, IL-6, interferon dan GM-CSF. Dalam penyakit MH, level TNF dilaporkan lebih tinggi pada ujung spektrum PB atau tuberkuloid (Silva dan Foss, 1989), dan hal ini dikuatkan oleh penelitian Virendra N *et al.*, (1993) yang mendapatkan level TNF α lebih rendah pada pasien MB. Level ini bahkan lebih rendah dari kontrol atau orang normal yang tidak menderita MH (Sehgal *et al.*, 1993).

Kadar TNF- α dalam serum pasien MH berbanding lurus dengan penurunan jumlah bakteri setelah terapi MDT. Dimana kadar sitokin ini akan menurun pada kusta tipe TT setelah MDT dan tetap tinggi pada kusta tipe TT yang tidak diobati (Lima *et al.*, 2000; Moraes *et al.*, 2004).

Pada reaksi, TNF α akan meningkat karena induksi oleh IFN γ dan mekanisme autokrin (autoregulasi) (Manandhar *et al.*, 2002). *Tumor Necrosis Factor Alpha* juga berperan dalam proses inflamasi yang terjadi selama ENL serta kerusakan dari jaringan dan saraf (menginduksi terjadinya apoptosis) (Misra *et al.*, 1995). *Tumor necrosis factor alpha* memiliki peran penting dalam patogenesis ENL. *Tumor necrosis factor alpha* akan meningkat karena pelepasan secara spontan oleh sel-sel mononuklear dari darah perifer dan akibat rangsangan komponen dari LAM, dinding sel *M. leprae* (Faber *et al.*, 2006). *Tumor necrosis factor alpha* berperan langsung dalam reaksi kusta, namun juga secara sinergik bersama sitokin-sitokin lain (Sarno *et al.*, 1991). Rekurensi episode reaksi diketahui juga dapat terjadi akibat infeksi lain misalnya abses periodontal atau infeksi gigi, yang menyebabkan terjadi peningkatan sitokin-sitokin di antaranya TNF- α (Kaimal dan Thappa, 2009).

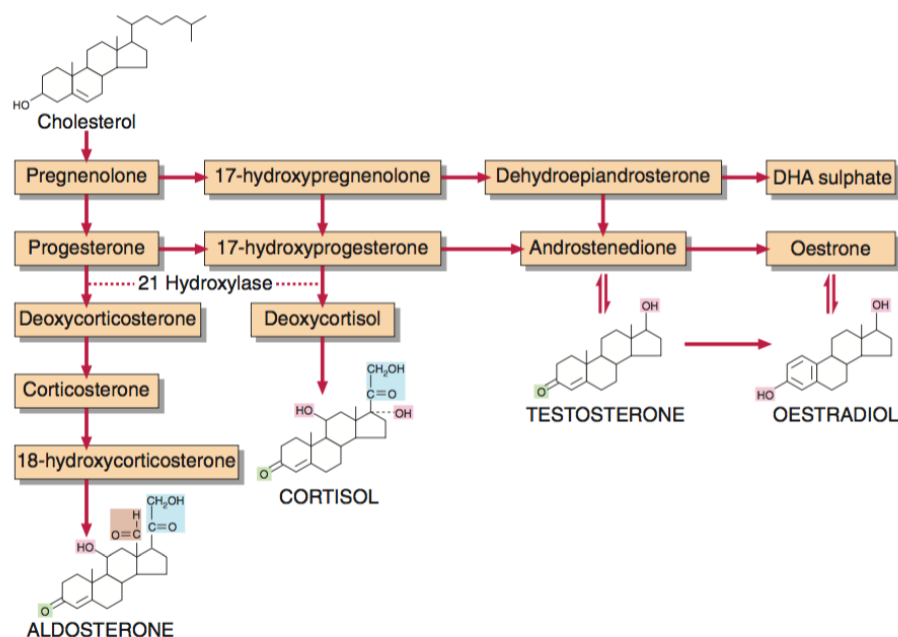
Penelitian terpublikasi lain didapatkan bahwa didapatkan peningkatan level TNF- α terjadi pada reaksi tipe 2 (ENL) maupun tipe 1. Studi tersebut juga menyimpulkan bahwa level dari TNF- α memiliki korelasi positif dengan dengan

derajat keparahan dari reaksi tipe 2 atau ENL (Sarno *et al.*, 1991). Hal ini didukung oleh penelitian yang dilakukan di Surabaya, Indonesia oleh Darmashanti dkk. (1990) yang menyatakan bahwa terdapat hubungan bermakna antara kadar TNF- α dan tingkat keparahan klinis ENL sebesar 38,6%. Peningkatan TNF- α bergantung pada beratnya reaksi yang terjadi (Sari dkk., 2013).

2.4 Kortisol

Kortisol adalah hormon glukokortikoid utama yang disekresikan oleh kelenjar korteks adrenal. Berdasarkan struktur kimianya, kortisol adalah suatu hormon steroid. Kortisol mempengaruhi metabolisme karbohidrat, lemak dan protein. Kortisol terlibat dalam respon tubuh terhadap stres dan sangat diperlukan agar suatu organisme dapat tetap berfungsi dalam suatu sistem yang baik.

Kelenjar korteks adrenal mensekresikan sekelompok hormon-hormon yang disebut kortikosteroid. Berdasarkan pengaruh fisiologisnya, kortikosteroid dapat dibedakan menjadi tiga kelompok: glukokortikoid (kortisol dan kortikosteron), mineralokortikoid (aldosteron) dan hormon androgen (dehidroepiandrosteron dan androstenedion). Kortisol, seperti semua hormon kelenjar korteks adrenal lainnya, berasal dari kolesterol (Ljubijankić *et al.*, 2008).



Gambar 2.9 Jalur metabolisme Steroid (Gaw *et al.*, 2013).

Kortisol dapat diukur pada darah dan urin. Baru-baru ini diketahui bahwa, terutama pada situasi dimana sampel darah sulit untuk diambil, kortisol juga dapat diperiksa melalui saliva untuk menggambarkan konsentrasi kortisol di dalam serum atau plasma. Dengan mengetahui konsentrasi kortisol pada serum atau plasma, intensitas dari sekresi dan efek kortisol pada jaringan dapat diketahui.

Saliva digunakan sebagai sampel untuk pengukuran kortisol sejak satu dekade terakhir. Perlu diperhatikan bahwa konsentrasi kortisol bergantung pada jam saat sampel diambil. Nilai referensi dalam cairan tubuh berdasarkan *Laboratorium Clinical Biochemistry and Chemistry of Clinical centre at University of Sarajevo* adalah:

Pada serum:

Pagi hari (pukul 8.00-9.00) sebesar 4,458 – 22,692 µg/dL

Sore hari (pukul 16.00-17.00) sebesar 1,6748 – 14,1012 µg/dL

Pada saliva:

Pagi hari (pukul 8.00-9.00) sebesar 0,1269 - 0,9788 µg/dL

Sore hari (pukul 16.00-17.00) sebesar 0,0471 – 0,2175 µg/dL

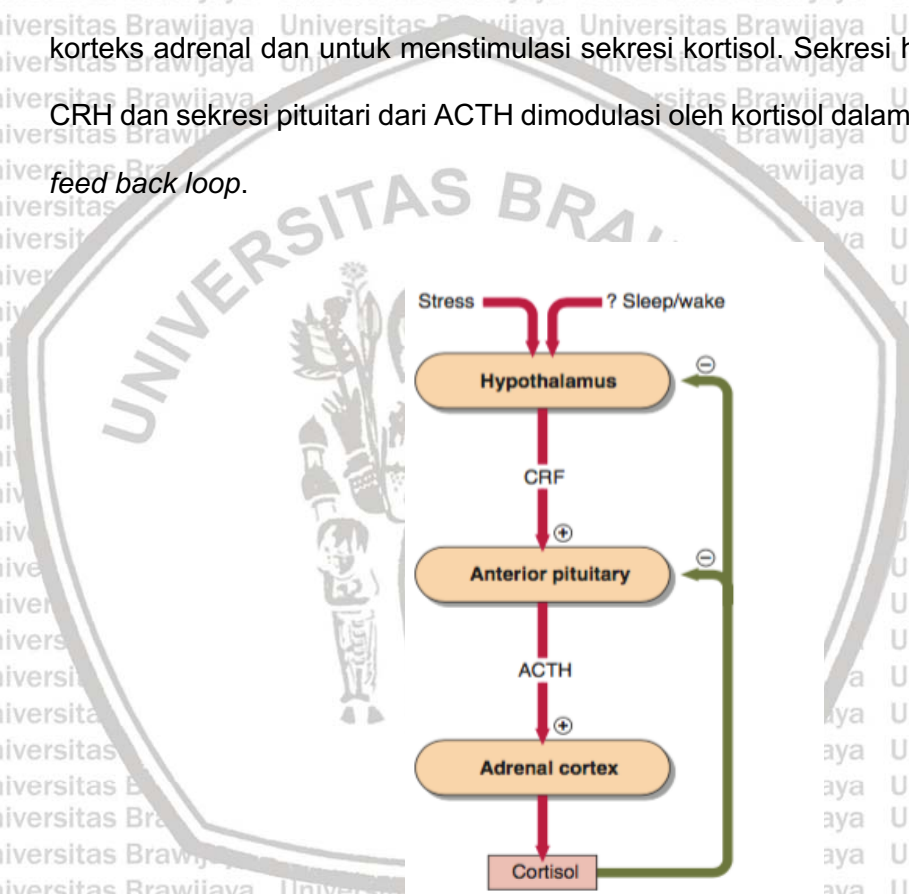
Penelitian yang dilakukan oleh Ljubijankic *et al.*, (2008) menunjukkan bahwa kadar kortisol serum pada sore hari lebih rendah dibandingkan pagi hari $p < 0,001$, dengan perbedaan kortisol saliva antar gender tidak berbeda secara signifikan dan pemeriksaan kortisol pada pagi hari pukul 08.00 sampai 09.00 dapat menggantikan pemeriksaan kortisol serum dan plasma (Ljubijankic *et al.*, 2008).

Pengambilan sampel dari saliva memiliki berbagai manfaat praktis karena kortisol di saliva dapat diukur dalam berbagai kondisi klinis. Kortisol memasuki saliva dengan cara difusi pasif tanpa melalui suatu mekanisme transport aktif sehingga konsentrasi kortisol di saliva tetap tidak berubah berapapun jumlah saliva yang dikumpulkan. Berdasarkan konsep dari hormon bebas hanya kortisol bebas (tidak terikat) yang akan mendatangi jaringan target dan menyebabkan terjadinya efek glukokortikoid (Robbins and Rall 1957; Mendel 1989). Beberapa penelitian

terpublikasi menyatakan bahwa ada korelasi yang kuat antara konsentrasi kortisol di saliva dan serum pada berbagai usia. Hal ini dibuktikan dari penelitian oleh Gunnar *et al.*, di tahun (1989) yang menyatakan adanya korelasi kuat antara kadar kortisol neonatus pada saliva dan serum. Penelitian lain telah menunjukkan korelasi yang signifikan antara kadar kortisol plasma dan serum pada anak-anak, remaja dan orang tua, (Reid *et al.*, 2003) dan juga pasien psikiatri (Harris B. *et al.*, 1990).

Pengukuran kortisol pada darah dan saliva pada pasien yang diberikan kortisol dan deksametason eksogen pada penelitian Woodside *et al.*, (1991), serta Harris B. (1990) dan McCracken dan Poland, (1989) juga menunjukkan korelasi yang signifikan.

Kortisol diproduksi secara khusus di zona fasikulata dan dalam jumlah kecil di zona retikularis pada korteks adrenal, produk akhir dari kaskade hormon membentuk suatu aksis hipotalamik-pituitari dan adrenokortikal (Aksis HPA). *Corticotropine Releasing Hormone* (CRH) disekresi oleh hipotalamus dalam pengaruh faktor serebral. *Adrenocorticotrophic hormone* (ACTH) disekresikan oleh pituitari anterior dalam kontrol CRH untuk menjaga zona fasikular dan retikular dari korteks adrenal dan untuk menstimulasi sekresi kortisol. Sekresi hipotalamik dari CRH dan sekresi pituitari dari ACTH dimodulasi oleh kortisol dalam suatu *negative feed back loop*.



Gambar 2.10. Aksis Hipotalamik-pituitari adrenokortikal (Gaw et al., 2013).

Korteks adrenal memiliki banyak reseptor *low density lipoprotein* pada permukaannya. Hal ini memungkinkan korteks adrenal untuk dapat mengambil kolesterol secara cepat, sebagai bahan sintesis steroid hormon adrenal (Gaw et al., 2013). Sekresi kortisol oleh korteks adrenal berada dalam kendali aksis HPA. Sinyal dari tubuh, diantaranya adalah pelepasan sitokin, cedera jaringan, rasa

nyeri, hipotensi, hipoglikemia, dan hipoksemia, akan diterima sinyalnya oleh system saraf pusat dan ditransmisikan menuju hipotalamus. Hipotalamus akan mengintegrasikan sinyal-sinyal ini dan meningkatkan atau menurunkan pelepasan dari *corticotropin releasing hormone* (CRH). *Corticotropin releasing hormone* akan bersirkulasi ke kelenjar pituitari anterior dan menstimulasikan pelepasan ACTH, yang secara simultan akan bersirkulasi ke korteks adrenal dan menginduksi pelepasan kortisol, androgen, dan aldosteron. Penting untuk diketahui bahwa pelepasan androgen dan aldosteron tidak bergantung pada ACTH. Androgen secara primer dikendalikan oleh gonadotropin dari kelenjar pituitari dan aldosteron secara primer berespon terhadap sistem renin-angiotensin dan level kalium. Kortisol yang dilepas oleh kelenjar adrenal dari sumber eksogen akan melakukan proses *feedback* pada aksis HPA untuk menghambat sekresinya (*negative feedback*). Melalui sinyal yang telah dijelaskan diatas, tubuh manusia dapat mengendalikan sekresi kortisol dengan batas yang relatif sempit dan dapat berespon terhadap peningkatan sekresi kortisol terhadap bervariasi stres dan sinyal-sinyal lain dari tubuh, diantaranya adalah pelepasan sitokin, cedera jaringan, rasa nyeri, hipotensi, hipoglikemia, dan hipoksemia (Beishuizen *et al.*, 2001; Marik dan Zaloga, 2002).

Produksi kortisol endogen dilakukan di korteks adrenal. Kortisol disekresikan dari kelenjar adrenal pada zona fasikulata dalam kendali CRH. Ada dua tipe dari insufisiensi adrenal yaitu insufisiensi adrenal primer dan insufisiensi adrenal sekunder. Insufisiensi adrenal primer sebagian besar disebabkan oleh suatu kondisi autoimun, sementara insufisiensi kongenital atau neonatal hanya didapatkan sebesar 1 % dari kasus-kasus insufisiensi adrenal primer. Insufisiensi adrenal sekunder dapat disebabkan oleh tumor di regio hipotalamik atau pituitari,

yang biasanya terjadi setelah terapi intervensi dengan operasi atau radiasi. Pada ENL terjadi suatu insufisiensi adrenal sekunder. Citrashanty dkk. (2013, 2014)

menyatakan bahwa terjadinya insufisiensi adrenal sekunder pada pasien eritema nodosum leprosum terjadi terutama karena paparan sitokin proinflamasi yang kronis, selain itu seringkali juga terjadi pada pasien yang mengkonsumsi kortikosteroid jangka panjang.

2.4.1 Interaksi Kortisol dan TNF- α pada Reaksi ENL

Infeksi sistemik akan menginduksi peningkatan plasma kortisol yang akan berkorelasi dengan derajat keparahan dari penyakit (Torpy dan Ho, 2007). Aksis HPA dan respon imun terhubung dalam suatu *negative feedback loop* dimana sel imun yang teraktivasi memproduksi sitokin yang memberi sinyal pada otak. Aktivasi dari aksis HPA oleh sitokin-sitokin spesifik akan meningkatkan pelepasan kortisol yang pada gilirannya akan melakukan proses feed back dan mensupresi reaksi imun (dan pelepasan sitokin lebih jauh) (Zaloga GP *et al.*, 2001). Interleukin-1 α , IL-1 β dan IL-6 akan meningkatkan aktivitas HPA, dan akan meningkatkan CRH (*Corticotropine Releasing Hormone*), ACTH dan glukokortikoid (Besedovsky dan Ray, 1996; Turnbull dan Rivier 1999).

Sitokin juga mempengaruhi kelenjar pituitari dan korteks adrenal secara langsung. *Tumor Necrosis Factor Alpha*, IL-1 α , IL-1 β dan IL-6 juga dapat yang diberikan pada suatu preparat kultur jaringan pituitari menstimulasi sekresi ACTH. Interleukin-1 α , IL-1 β dan IL-6 menstimulasi produksi glukokortikoid pada kultur jaringan kelenjar adrenal (Besedovsky dan Ray, 1996; Turnbull dan Rivier 1999).

Di sisi lain, sitokin-sitokin juga mensupresi aksis HPA dan fungsi GR (*Glucocorticoid receptor*). Peningkatan IL-6 secara kronis dapat menyebabkan

menurunnya pelepasan ACTH (Mastorakos *et al.*, 1993). Begitu pula dengan peningkatan TNF- α secara kronis akan mengganggu pelepasan ACTH yang distimulasi CRH (Bateman *et al.*, 1989; Gaillard *et al.*, 1990). *Tumor Necrosis Factor Alpha* dan corticostatin telah terbukti menghambat fungsi kelenjar adrenal (Gaillard *et al.*, 1990; Jaattela *et al.*, 1991; Zhu and Solomon, 1992). Kortikostatin atau defensin adalah suatu peptida yang diproduksi oleh sel-sel imun (Masera *et al.*, 1996). Konsentrasi kortikostatin akan meningkat dua puluh kali lipat pada hewan yang terinfeksi dibandingkan bila terpapar stress (Tominaga *et al.*, 1992).

Tumor Necrosis Factor Alpha menurunkan sintesis kortisol adrenal dengan menghambat kemampuan stimulasi dari ACTH dan angiotensin II pada sel adrenal (Natarajan *et al.*, 1989; Jaattela *et al.*, 1990; Jaattela *et al.*, 1991).

Sitokin proinflamasi akan mempengaruhi jumlah, ekspresi dan fungsi dari GR. Interleukin-1 α diketahui dapat meningkatkan translokasi GR dan transkripsi (Pariante *et al.*, 1999).

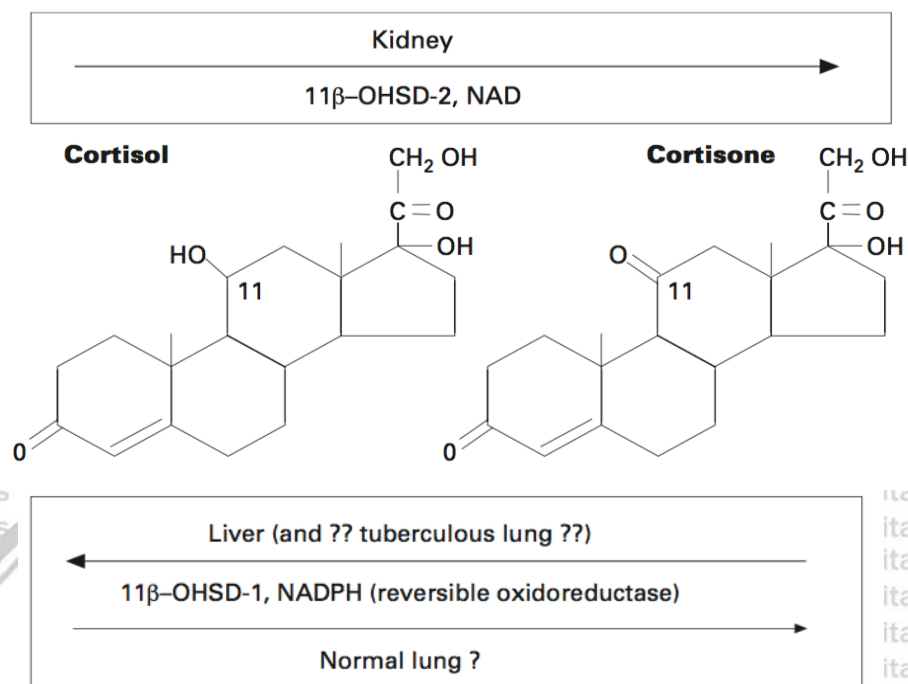
2.4.2 Kondisi Resistensi Kortisol pada ENL akibat Glukokortikoid Jangka

Panjang

Glukokortikoid sintetik secara umum digunakan secara luas. Penggunaan obat ini dihubungkan dengan supresi dari aksis HPA. Derajat dari supresi ini bergantung pada banyak faktor, termasuk potensi glukokortikoid, dosis glukokortikoid, *dosing schedule*, dan durasi penggunaan. Derajat supresi seringkali tidak dapat diprediksi secara individu pada pasien yang menggunakan glukokortikoid (Schlaghecke *et al.*, 1992). Glukokortikoid sistemik tidak menyebabkan supresi HPA yang signifikan bila digunakan kurang dari 3 minggu (Werth 2008; Stewart *et al.*, 2016). Menurut studi yang dilakukan oleh Joseph *et*

al., 2018 yang mengukur kadar kortisol saliva pagi hari, didapatkan penurunan kadar kortisol basal yang menunjukkan adanya gangguan HPA aksis yaitu sebesar 5 nmol/L pada pemberian prednisolone ekuivalen dosis >10 mg per hari, untuk durasi lebih dari 4 minggu memiliki resiko signifikan untuk terjadinya supresi adrenal pada HPA aksis. Sementara untuk pasien yang telah mengkonsumsi glukokortikoid oral, bila telah digunakan lebih dari 30 hari, aksis HPA akan pulih 14 hari setelah penghentian glukokortikoid. Namun bila digunakan >30 hari, maka diperlukan waktu satu tahun untuk pemulihan dari aksis HPA (Henzen *et al.*, 2000).

Reaksi ENL umumnya diterapi dengan analog hormon glukokortikoid seperti deksametason atau metilprednisolon, sehingga masuk akal untuk mempertimbangkan kemungkinan bahwa reaksi ENL dapat dipresipitasi oleh adanya *breakdown* dari mekanisme yang secara normal meregulasi konsentrasi efektif dari glukokortikoid endogen (kortisol) tubuh (Rook dan Baker, 1999). Konsentrasi kortisol di dalam sel perlu regulasi untuk menyesuaikan dengan kebutuhan dan proses yang berjalan didalam sel. Regulasi tersebut didapatkan dari proses interkonversi kortisol dari kortison yang diketahui didapatkan dari dua tempat yaitu ginjal dan liver. Mekanisme utama yang terjadi adalah interkonversi dari kortisol aktif (11-*hydroxy*) dan kortison yang inaktif (11-*keto*). Enzim-enzim dan proses yang terlibat dalam proses ini dikenal sebagai kortison-kortisol *shuttle* (Gambar 2.11).

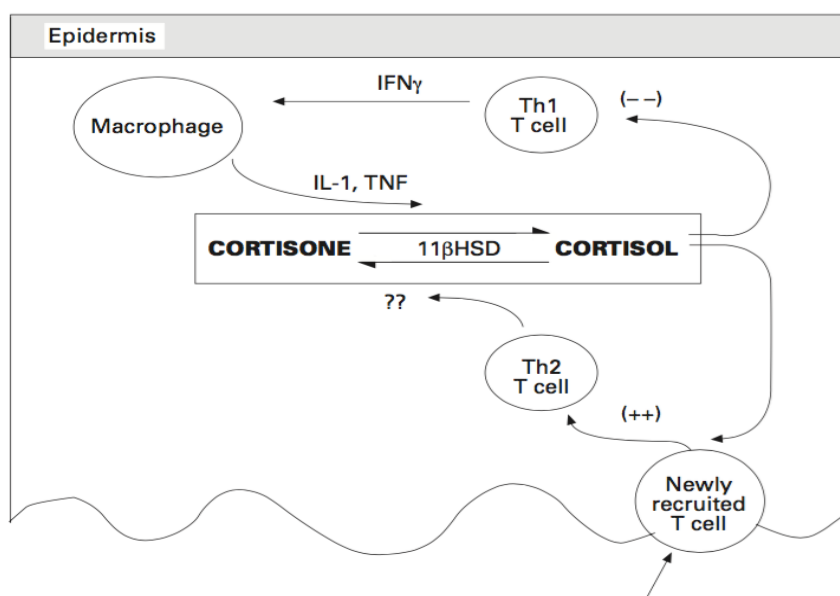


Gambar 2.11 Enzim-enzim utama yang terlibat dalam deaktivasi reversibel dan reaktivasi dari kortisol. Enzim-enzim ini didistribusikan secara luas, dan level ekspresinya, dan pada 11 β HSD-1, arah *shift* dari aksi kortison-kortisol *shuttle* ini diregulasi secara lokal oleh sitokin dan mediator lainnya yang saat ini diduga berasal dari liver dan fokus infeksi mikobakterium. Pada model ini adalah tuberkulosis paru (Karena penelitian yang ada hingga saat ini masih pada *mycobacterium tuberculosis*), yang dapat dianalogikan

Meski dalam perkembangan penelitian saat ini, penyakit tuberkulosis adalah satu-satunya penyakit mikobakterial dimana fungsi dari kortison-kortisol *shuttle* telah dipelajari, penemuan dari penelitian ini dapat menolong pemahaman konsep mengenai kortison dan kortisol *shuttle* dalam Morbus Hansen (Rook *et al.*, 1996). Kortison kortisol *shuttle* ini juga ternyata diekspresikan pada kulit (Kenouch *et al.*, 1994) dan pembuluh darah (Muto *et al.*, 1998) yang secara langsung memvaskularisasi kulit. Bahkan menurut penelitian, sel endotel mampu mengekspresikan 11 β HSD-2 and 11 β HSD-1 (Brem *et al.*, 1998). Hal yang masih menjadi pertanyaan adalah dalam kondisi apa keseimbangan kortison-kortisol *shuttle* ini pada pasien MH mulai berubah? Apakah sitokin tertentu seperti TNF- α

menginduksi *local shift* pada keseimbangan kortison-kortisol *shuttle* pada kulit sehingga menjadi pencetus terjadinya reaksi?

Dengan adanya paparan sel terhadap TNF- α dan IL-1 , didapatkan peningkatan mRNA yang mengkodekan 11 β HSD-1 dan jumlah enzim yang diproduksi. Didapatkan pula peningkatan aktivitas enzim namun secara eksklusif hanya aktivitas reduktase (Escher *et al.*, 1997). Dapat disimpulkan bila proses yang terjadi pada lesi MH (kulit dan saraf) serupa dengan tuberkulosis paru, organ ini akan berkontribusi pada terjadinya perubahan *pool* sistemik dari kortisol sirkulasi akibat penggunaan kortisone eksogen, dan kemungkinan menyebabkan perubahan dari respon imun lokal (Rook *et al.*, 1996).



Gambar 2.12 Hipotesis mengenai bagaimana inflamasi lokal pada MH dapat meregulasi level kortisol pada area infeksi, sehingga mampu memodulasi kecenderungan untuk terjadinya reaksi. Perubahan minor pada keseimbangan sitokin dapat memberi dampak besar yaitu merubah keseimbangan (ekuilibrium) antara kortisol dan kortison pada jaringan. Bukti bahwa respon Th2 mengendalikan kortison-kortisol *shuttle* kearah kortison *shift* masih bersifat sirkumstansial. Peningkatan kortison lokal akan mengendalikan Sel T- sel T yang baru direkrut menjadi kearah Th-2 (Rook dan Baker, 1999).

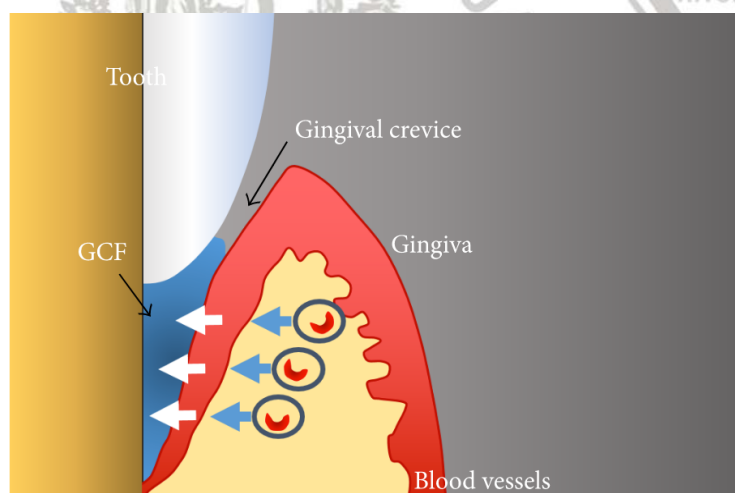
Andersson *et al.*, (2007) menyatakan bahwa peningkatan TNF α dan IL-1 dalam lesi MH menghambat ekspresi dan aktivitas mRNA 11 β HSD2. Pada saat terjadi reaksi produksi sitokin lokal akan meningkatkan produksi kortisol pada kortison kortisol *shuttle* (*shift* to kortisol), namun kortisol lokal tersebut masih belum adekuat untuk mengontrol proses patologis reaksi yang terjadi secara sistemik sehingga kortisol eksogen diperlukan (Andersson *et al.*, 2007).

Kerusakan saraf justru seringkali terjadi diperberat oleh terjadinya reaksi. Kerusakan saraf yang terjadi dikarenakan kerusakan mekanis, karena adanya influks dari sel-sel dan cairan (edema) dan juga karena kerusakan imunologis. Kerusakan ini terjadi karena mekanisme imunopatogenik dari sel Schwann yang terinfeksi *M.leprae* dan kehadiran antigen *M.leprae* yang bersifat antigen spesifik terhadap sel Schwann. Sel Schwann kemudian akan memproses dan mempresentasikan antigen dari *M.leprae* ini ke antigen spesifik sel T. Sel T ini secara simultan akan merusak dan melisis sel Schwann yang terinfeksi. Menurunnya neuropeptida dan perubahan profil sitokin ini juga akan mempengaruhi kortisol-kortison *shuttle* sehingga areainflamasi akan menjadi resisten terhadap level fisiologis kortisol. Hal ini juga menjadi dasar betapa pentingnya kortikosteroid endogen untuk mencegah kerusakan saraf, asalkan fungsi kortisol kortison lokal dan keseimbangan kortisol sistemik belum refrakter terhadap pemberian kortikosteroid eksogen (Spierings *et al.*, 2000; Rook *et al.*, 2002).

2.5 Kadar Kortisol dan TNF- α pada Saliva

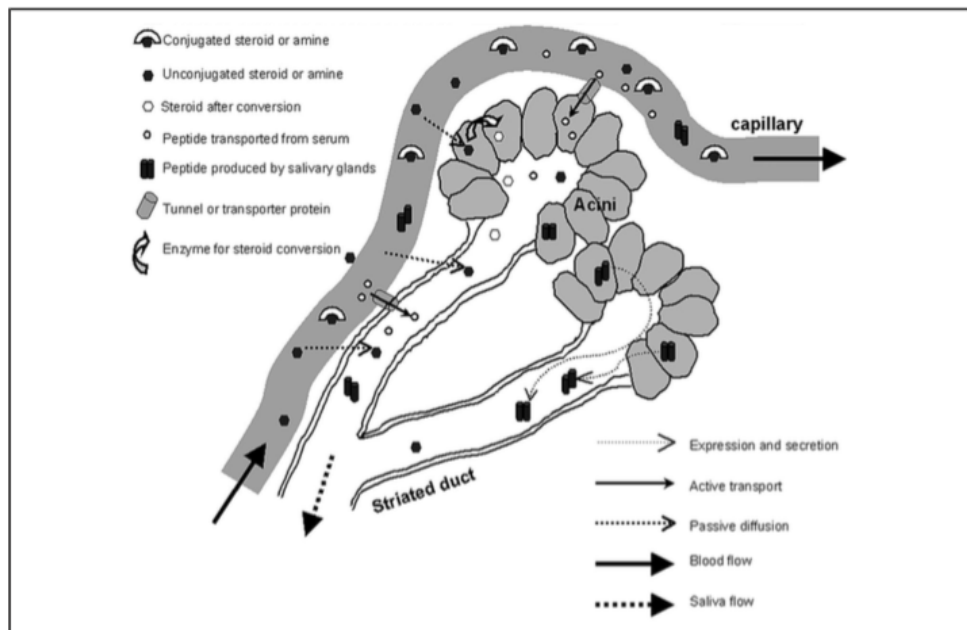
Saliva, semakin sering digunakan sebagai diagnosis untuk penyakit sistemik karena dapat dengan mudah dikumpulkan dan mengandung sebagian besar

kandungan dari serum (Malathi et al., 2014.). Sekitar 95% kortisol yang dikeluarkan oleh kelenjar korteks adrenal akan mengalami pengikatan dengan *corticosteroid binding globulin* (CBG) dan albumin dan ditransportasikan keseluruh tubuh dalam darah. Sementara itu kortisol bebas adalah yang aktif secara biologis. Karena memiliki berat molekul yang rendah dan karena sifat lipofiliknya, kortisol bebas akan masuk secara difusi pasif melalui *Gingival Crevicular Fluid* (GCF) sehingga kadar kortisol bebas dapat diukur di saliva. (Groschl 2008, Salimetrics, 2012; Adisty 2015; Aguiar 2017) yang memungkinkan level dari kortisol bebas untuk sama kadarnya pada semua cairan tubuh (Gafni et al.,2000).



Gambar 2.13 Difusi pasif dari *blood vessels* pada gingiva menuju *gingival crevicular fluid* (GCF) (Aguiar, 2017).

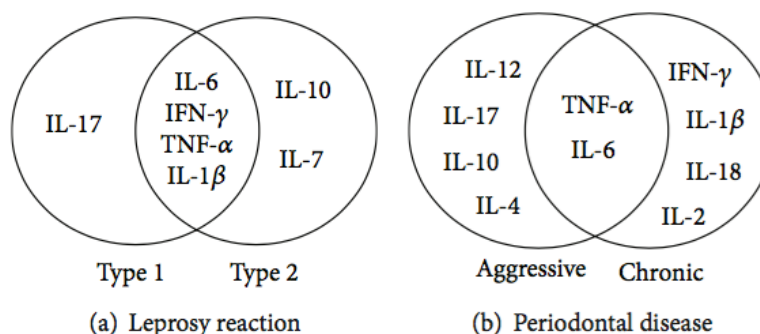
Kortisol di kelenjar saliva tidak dimetabolisme menjadi wujud yang lebih polar atau metabolit yang lebih larut air, berbeda dengan kortisol pada urine. Sehingga saliva lebih dipilih dibandingkan urine untuk emnggambarkan kadar steroid tubuh melalui prosedur non invasif selain serum (Groschl, 2008).



Gambar 2.14 Difusi pasif kortisol dari pembuluh darah kapiler menuju kelenjar saliva secara difusi pasif (Groschl, 2008).

Didapatkan korelasi yang tinggi antara level kortisol saliva dan *unbound free cortisol* pada plasma dan serum (Hellhamer *et al.*, 2009) lebih jauh lagi didapatkan korelasi yang tinggi antara level kortisol saliva dan kortisol bebas dalam wujud tidak terikat pada plasma dan serum yang akan tetap tinggi selama siklus sirkadian, dengan level yang sesuai dengan supresi oleh deksametason dan stimulasi ACTH (Umeda *et al.*, 1981; Vining *et al.*, 1983; Wedekind *et al.*, 2000; Levine *et al.*, 2007). Studi yang dilakukan oleh Miller *et al.*, menyatakan bahwa didapatkan konsentrasi saliva TNF- α , CRP dan MMP-9 secara signifikan lebih tinggi pada pasien dengan infark miocard acute yang berkorelasi positif kenaikannya dengan konsentrasi serum (Miller *et al.*, 2010).

Penyakit periodontal pada pasien Morbus Hansen, terutama pada pola lepromatosa, relatif umum dan memiliki karakteristik gejala klinis mudahnya gusi berdarah, *papillary hypertrophy* dari gusi, hilangnya gigi dan area hipoestesia pada tepi mukosa alveolus. Lebih jauh lagi, dapat diobservasi hubungan antara periode inisial terjadinya reaksi ENL dengan perkembangan penyakit inflamasi periodontal (Gambar 2.14) (Abdalla *et al.*, 2010; Cortella *et al.*, 2015).



Gambar 2.15 Mediator inflamasi Serum yang dapat diidentifikasi pada reaksi kusta dan penyakit periodontal, berdasarkan tipe pada artikel yang dipublikasi diantara Januari 1996 sampai 31 desember 2013, yang dikumpulkan dalam suatu systematic review (Cortella *et al.*, 2015).

Studi terpublikasi dalam 5 tahun belakangan telah menunjukkan hubungan erat antara kemunculan episode reaksi pada kusta dan infeksi dental. Pasien MH memiliki kondisi peradangan periodontal subklinis, kondisi kesehatan oral pada pasien dengan MH sangat buruk, dan memiliki rerata yang tinggi untuk karies dan penyakit periodontal (Mart *et al.*, 2004; Monti,2007; Souza, 2009). Reaksi kusta dan infeksi dental memiliki karakteristik yang serupa . Keduanya sama-sama berevolusi sebagai suatu infeksi kronis secara lambat, dan dimodulasi oleh keadaan inflamasi dan imunopatologis yang menjadi interaksi dengan bakteri, produknya dan respon imun host. Kedua komplikasi dari kusta dan perluasan dan derajat keparahan periodontal disease akan bermanifestasi sebagai kerusakan sekunder yang timbul karena kegagalan mekanisme pertahanan dari host.

Mediator yang serupa dan diekspresikan pada kedua kondisi ini adalah IL-1, IL-1 beta, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α dan IFN γ . (Belgumkar *et al.*, 2007; Mendonca *et al.*, 2008; Ohlrich *et al.*, 2009, Lockwood *et al.*, 2011; Cortella *et al.*, 2015). Mota *et al.*, dalam tiga studi terpublikasinya menyelidiki peran dari infeksi dental dalam mencetuskan, mempertahankan dan eksaserbasi episode reaktif dan membuktikan peran sitokin dalam kondisi ini. Namun perlu studi lebih lanjut untuk memahami interaksi ini. Kesamaan sitokin ini juga yang diduga menjadi penyebab mengapa infeksi oral menjadi pencetus terjadinya reaksi pada kusta (Motta *et al.*,

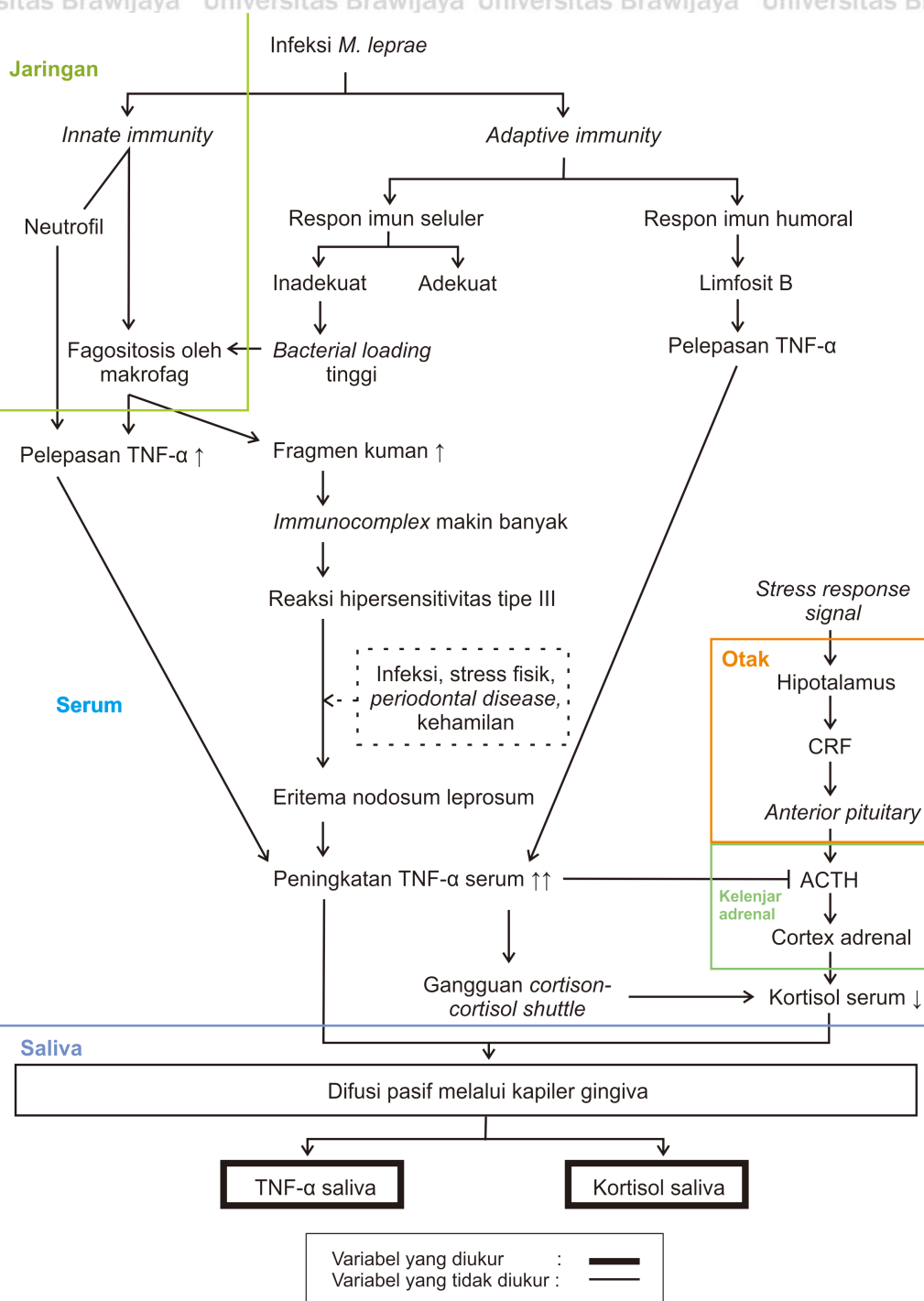
2010a, 2011b, 2013c). Beberapa kondisi yang dapat menjadi faktor pencetus terjadinya suatu reaksi ENL diketahui tidak hanya dari periodontal diseases tapi juga kehamilan, menyusui, pubertas, *intercurrent infections*, vaksinasi dan stress psikologis (Pfaltzgraff dan Ramu, 1994; Kahawita, 2007).

Hingga saat ini, sepengetahuan penulis, belum ada penelitian yang meneliti kadar kortisol dan TNF- α saliva pada pasien eritema nodosum leprosum. Penelitian tentang kadar kortisol saliva telah banyak didapatkan pada penyakit lain selain kusta, namun penelitian mengenai TNF α saliva dan keterkaitannya dengan penyakit infeksi sistemik lebih sedikit lagi didapatkan. Kosaka di tahun 2014 pernah meneliti kadar TNF α saliva pada pasien dengan aterosklerosis dan didapatkan peningkatan signifikan (Kosaka *et al.*, 2014). TNF- α saliva juga diketahui meningkat secara statistik ($p < 0,005$) pada pasien *End Stage Renal Disease* (ESRD) yang diketahui didapatkan peningkatan TNF- α dalam proses patogenesis deteriorasi fungsi renal. (Khozeymeh, 2016) Namun hal ini berkebalikan dengan studi Rathnayake di tahun 2013 dimana dalam studi terpublikasinya mendapatkan tidak didapatkan peningkatan TNF- α pada analisa kemampuan diagnostik saliva pada penyakit sistemik (Rathnayake, 2013). Hubungan antara TNF- α serum dan TNF- α saliva hingga saat ini masih belum jelas diketahui (Salimetrics, 2018).

BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Konseptual Penelitian



Saat *Mycobacterium leprae* masuk jaringan tubuh pejamu (manusia), *Mycobacterium leprae* akan menghadapi *innate immunity* dan imunitas adaptif pejamu. *Innate immunity*, yaitu makrofag akan melakukan proses fagositosis sehingga fragmen kuman sebagai suatu antigen yang terbentuk makin banyak. Anggota *innate immunity* yang lain, neutrofil akan melepaskan TNF- α sebagai respon terhadap paparan lipopolisakarida dari *Mycobacterium leprae*.

Adaptive immunity pejamu melalui respon imun humoral sebagai respon terhadap patogen *Mycobacterium leprae* yaitu limfosit B akan melepaskan TNF- α dalam serum. Imunitas seluler pejamu bergantung pada status pejamu, apabila pasien dalam kondisi inadekuat akan menghasilkan manifestasi klinis multibasiler (MB) yang memiliki *bacterial loading* tinggi, sehingga makin banyak proses fagositosis yang dilakukan oleh makrofag dan menghasilkan fragmen kuman semakin tinggi. Fragmen ini akan menjadi suatu antigen bagi pejamu. Antigen ini akan bereaksi dengan antibodi, membentuk suatu imunokompleks dalam suatu reaksi hipersensitivitas tipe III yang dicetuskan pula oleh faktor eksogen pejamu yaitu infeksi, stress fisik, *periodontal disease* dan kehamilan sehingga terjadi eritema nodosum leprosum. Eritema nodosum leprosum ini akan melepaskan TNF- α dalam serum secara sistemik bersamaan dengan imunokompleks yang terbentuk, beredar secara sistemik dan dapat mencapai berbagai organ tubuh.

Sementara itu sebagai suatu *stress response signal* dari infeksi patogen *Mycobacterium leprae*, hipotalamus akan melepaskan CRF yang selanjutnya akan merangsang pituitari anterior melepaskan ACTH dan merangsang korteks adrenal melepaskan kortisol secara fisiologis. Namun dalam kondisi patologis, akibat paparan sitokin inflamasi TNF- α yang terus menerus, terjadi hambatan pelepasan

kortisol secara langsung pada korteks adrenal melalui TNF- α . Peningkatan TNF- α ini juga mengganggu proses kortison-kortisol *shuttle* yang terjadi di jaringan dan kelenjar adrenal sehingga kortisol serum akan menurun, dimana stress respon dari kortisol yang seharusnya mampu menekan inflamasi ini, akan gagal mensupresi reaksi inflamasi dari ENL sehingga terjadi manifestasi klinis ENL pada pasien MH.

Kadar kortisol bebas, terutama yang tidak berikatan dengan CBG, dan TNF- α akan berdifusi pasif dari pembuluh darah kapiler melalui difusi pasif menuju *gingival crevicular fluid* dan kelenjar saliva sehingga akan terukur kadarnya pada saliva pasien.

3.2 Hipotesis Penelitian

Terdapat hubungan antara peningkatan kadar TNF- α saliva dengan penurunan kadar kortisol saliva pada pasien ENL.

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah analitik observasional potong lintang dengan tujuan mengetahui hubungan antara kadar TNF- α saliva dengan kadar kortisol saliva pada pasien ENL (Eritema Nodosum Leprosum).

4.2 Populasi dan Sampel Penelitian

4.2.1 Populasi Penelitian

Populasi penelitian adalah pasien ENL yang berkunjung ke Poliklinik dan Rawat Inap Kulit dan Kelamin RSUD dr Saiful Anwar Malang dan RS Kusta Kediri (Daha Husada Kediri).

4.2.2 Sampel Penelitian

Sampel penelitian di dalam penelitian ini adalah semua populasi penelitian yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi dan bersedia dengan menandatangani *informed consent* untuk menjadi subyek penelitian dan memenuhi kriteria pemilihan sampel dengan kriteria inklusi dan eksklusi, yaitu :

4.2.2.1 Kriteria Inklusi

1. Semua pasien dengan reaksi ENL (Termasuk Eritema Nodosum nekrotikans dan Eritema Nodosum Leprosum pada Fenomena Lucio dan pasien *Release From Treatment* sampai 8 tahun dengan reaksi ENL)

berdasarkan kriteria diagnosis eritema nodosum leprosum berdasar Naafs, 2003 dan Lockwood, 2017 pada Morbus Hansen tipe MB (Multi Basilar) yang ditegakkan oleh dokter spesialis kulit dan kelamin atau yang berkompeten sesuai kriteria WHO (*World Health Organization*, 1988; ILEP 2002; *World Health Organization*, 2012; Ridley, 2013; Lockwood, 2017);

2. Semua pasien Morbus Hansen tipe MB (Multi Basilar) dengan reaksi ENL yang sudah mendapat pengobatan MDT atau regimen MH lainnya maupun pasien yang belum mendapatkan MDT;
3. Bersedia menjadi subyek penelitian dan menandatangani *inform consent*.

4.2.2.2 Kriteria Eksklusi

1. MH MB (Multi Basilar) dengan reaksi tipe 1 (*reversal reaction*);
2. Wanita penderita MH MB dengan penggunaan kontrasepsi hormonal; atau 16 jam sebelum *withdrawal* kontrasepsi oral dan 5 hari sebelum *withdrawal* pada jenis kontrasepsi lainnya (Pincus *et al.*, 1966 ; Lucis *et al.*, 1972; Roche *et al.*, 2013);
3. Pasien yang mengkonsumsi atau dalam penggunaan terapi kortikosteroid lebih dari 3 minggu (Werth, 2008, Ayudianti, 2014);
4. Pasien dalam kondisi syok septik (Elbuen, 2016);
5. Pasien ketergantungan alkohol (Bernardi 1995, Lovallo 2006, Petrescu 2010);
6. Pasien Obesitas (*Body Mass Index*>26,4) (Katsuki, 1998).
7. Pasien merokok lebih dari 22 batang sehari dalam jangka waktu dua tahun berturut-turut (Seyler 1984; Seyler 1986; Bernardi, 1995);

8. Subyek mengkonsumsi atau dalam penggunaan terapi agen TNF α inhibitor : *Thalidomide, Pentoxifylline, Lenamolide, Pomalidomide, Infiximab, Etanercept, Adalimumab* (Haslett PA *et.al*, 2005; Ramien *et al.*, 2010; Lockwood, 2017);
9. Subyek mengkonsumsi atau dalam penggunaan terapi agen antidepresan (Manthey *et.al*, 2011) dan atau antipsikotik (Handley *et.al*, 2016);
10. Menderita penyakit keganasan (Wajant, 2009), AIDS (Kumar, 2013), Melakukan proses transplantasi organ (Korngold, 2003), sklerosis multipel (Rentzos, 1996), rematoid arthritis (Saxne, 1988; Tetta, 1990), psoriasis (Kyriakou, 2014) , malaria (Singh, 2000), dermatitis atopik (Wamboldt 2003, Mizawa 2013, Adisty 2015), akne vulgaris derajat berat (Ozkanli *et al.*, 2016; Ekasari DP dkk., 2018) yang telah disingkirkan kemungkinannya melalui anamnesis.

4.2.2.3. Besar Sampel

Sampel adalah sebagian atau wakil populasi yang diteliti (Arikunto, 2014). Besar sampel ini harus diestimasi agar simpulan dari penelitian yang diperoleh memiliki tingkat kepercayaan yang dikehendaki dan agar kemaknaan statistik yang akan dipakai pada uji hipotesis memberi arti kemaknaan klinis (Sastroasmoro dan Ismael, 2014). Besar sampel pada penelitian ini dihitung berdasarkan rumus besar sampel untuk penelitian analitik dengan uji korelatif numerik tidak berpasangan dengan satu kali pengukuran (Sastroasmoro dan Ismael, 2014; Dahlan , 2016).

$$n = \left(\frac{Z\alpha + Z\beta}{0,5 \cdot \ln. (1+r)/(1-r)} \right)^2 + 3$$

Keterangan :

n = besar sampel minimum

$Z\alpha$ = nilai distribusi normal baku (tabel Z) pada α 5% = 1.960

$Z\beta$ = nilai distribusi normal baku (tabel Z) pada β 10% = 0.842

r = 0,6 ; nilai korelasi yang menunjukkan korelasi kuat. (Dahlan , 2016)

Dengan demikian penghitungan jumlah sampel minimalnya adalah sebagai berikut :

$$n = \left(\frac{Z\alpha + Z\beta}{0,5 \cdot \ln. (1+r)/(1-r)} \right)^2 + 3$$

$$n = \left(\frac{1,960 + 0,842}{0,5 \cdot \ln. (1 + 0,6)/(1 - 0,6)} \right)^2 + 3$$

$$n = \left(\frac{2,802}{0,5 \cdot \ln. 3,2} \right)^2 + 3$$

$$n = \left(\frac{2,802}{0,58} \right)^2 + 3$$

$$n = (4,83)^2 + 3$$

$$n = 26,33 \text{ atau dibulatkan menjadi 26 orang}$$

4.2.2.4. Teknik Pengambilan Sampel

Teknik pengambilan sampel dilakukan dengan cara *consecutive sampling* yaitu memilih subyek penelitian sebagai sampel dengan cara berurutan, semua subyek yang memenuhi kriteria inklusi sebagai sampel

sampai besar sampel yang diinginkan terpenuhi (Sastroasmoro dan Ismael, 2014).

4.2.3 Variabel Penelitian

Oleh karena penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hubungan kadar kortisol saliva dan TNF- α saliva pasien ENL maka variabelnya adalah sebagai berikut:

- a. Variabel bebas : kadar TNF- α saliva.
- b. Variabel terikat : kadar kortisol saliva.

4.2.4. Definisi Operasional

a. ENL

Pasien dengan reaksi ENL (Termasuk Eritema Nodosum nekrotikans dan Eritema Nodosum Leprosum pada Fenomena Lucio dan pasien Release From Treatment sampai 8 tahun dengan reaksi ENL) berdasarkan kriteria diagnosis eritema nodosum leprosum berdasarkan Naafs, 2003 dan Lockwood, 2017 yang ditegakkan oleh dokter spesialis kulit dan kelamin atau yang berkompeten (*World Health Organization*, 1988; ILEP 2002; *World Health Organization*, 2012; Ridley, 2013; Lockwood, 2017); Diagnosis ditegakkan dengan didapatkannya kriteria mayor atau paling tidak didapatkan tiga dari kriteria minor, dengan kriteria diagnosis mayor : papul eritematosa nyeri, nodul eritematosa nyeri, plak eritematosa nyeri, ulkus nyeri (eritema nodosum nekrotikans/eritema nodosum leprosum dengan fenomena Lucio) ; dan kriteria minor : febris/subfebris, nyeri dan atau pembesaran pada saraf, peningkatan hilangnya sensasi sensoris atau kekuatan otot, artritis, limfadenitis,

epididimoorkitis, iridosiklitis/episkleritis, edema pada ekstremitas atas atau wajah, tes Ryle atau Ellis positif. (Naafs, 2003; Lockwood, 2017)

b. Kadar Kortisol Saliva

Kadar kortisol saliva adalah nilai kadar kortisol di saliva pada pukul 08.00 - 09.00 yang diukur dengan metode *immunoturbidimetry* dan dinyatakan dalam satuan $\mu\text{g/dL}$ (Ljubijankic *et al.*, 2008).

c. Kadar TNF- α saliva

Kadar TNF- α saliva adalah nilai kadar TNF- α di saliva yang diukur pada pukul 08.00 - 09.00 dengan metode *immunoturbidimetry* dan dinyatakan dalam satuan ng/L (Ljubijankic *et al.*, 2008).

4.3 Tempat dan Waktu Penelitian

4.3.1 Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Poliklinik dan Rawat Inap Kulit dan Kelamin RSUD dr Saiful Anwar Malang dan RS Kusta Kediri (Daha Husada Kediri). Pemeriksaan kadar kortisol saliva dan TNF- α saliva dengan metode ELISA dilaksanakan di Laboratorium Parasit Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

4.3.2 Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Poliklinik Rawat Jalan, Rawat Inap Kulit dan Kelamin RSUD dr Saiful Anwar Malang dan RS Kusta Kediri (Daha

Husada Kediri) yang dimulai setelah mendapatkan persetujuan komisi etik hingga jumlah sampel terpenuhi.

4.4. Alat-alat dan Bahan yang Digunakan dalam Penelitian

a. Instrumen pemeriksaan klinis eritema nodosum leprosum :

- Lembar pengumpul data.
- Lembar *inform consent*.
- Kaca pembesar.
- Kamera untuk dokumentasi.
- Lampu periksa.
- Termometer.

b. Instrumen pemeriksaan kadar kortisol saliva dan TNF- α saliva :

- Peralatan pengumpul saliva: *disposable polypropylene vial* merek *Salivabio Salimetrics®*.
- *Cryovial* merk *biologix®* yang dapat menampung sampai 1,25 ml dan label.
- Rak *cryovial* merk *simport®* sebanyak 2 buah, satu untuk berada di dalam *ice box*, satu untuk penyimpanan dalam *freezer*.
- Kotak pendingin (*Cooler box*) 4⁰ C untuk penyimpanan sampel sementara sebelum ke *freezer*.
- *Freezer* -20°C yang digunakan untuk penyimpanan sampel saliva sebelum dilakukan pemeriksaan. Sampel saliva dapat disimpan dalam rentang waktu 6 bulan sebelum dilakukan pengerjaan dengan Kit ELISA.
- Kit kortisol Saliva merek *Salimetrics®* yaitu :
 - *Microtitre plate* (yang telah dilapisi dengan antibodi anti kortisol).

- Larutan kortisol standar.
- Larutan kortisol kontrol .
- Larutan enzim konjugat (*Cortisol conjugated to Horseradish Peroxidase*).
- Assay diluent.
- Wash buffer concentrate.
- Tetramethylbenzidine (TMB) Substrate solution.
- Larutan stop.
- Sumur *microtitre plate* NSB (Non Specific Binding/ Sumur yang tidak mengandung antibodi).
- Kit TNF- α saliva merek *Bioassay Technology Laboratory®* yaitu :
 - Pre coated ELISA *plate*.
 - Larutan TNF- α standar.
 - Diluent standar.
 - Streptavidin HRP.
 - Wash buffer concentrate.
 - Larutan stop.
 - Substrate solusio A.
 - Substrate solusio B.
 - Biotynilated human TNF- α antibody.
 - Plate sealer kedap cahaya.
- Ujung pipet.
- Mikro Pipet dan *multichannel* pipet.
- Tabung *Falcon*.
- Vorteks.

- Rotator plate 500 rpm.
- Rotator plate 2000-3000 rpm.
- Reader plate dengan kemampuan penyerapan sebesar 450 nm dan 620-630 nm
- Destilled water (Air terdestilasi/terdeionisasi)
- Safety Google
- Handschoen steril.
- Microplate Washer.
- Incubator (Dengan kemampuan menyimpan suhu 37°C).
- Mesin centrifuge
- Wrap / Pembungkus kedap cahaya.
- Paper towels dengan daya absorpsi sesuai kebutuhan standard laboratorium
- Water moistened, lint-free cloth

4.5 Teknik Pengukuran kadar kortisol dan TNF- α dengan **Salimetrics® ELISA** kit.

4.5.1 Persiapan Pasien Sebelum Pengumpulan Sampel Saliva

1. Pasien subyek penelitian diinstruksikan untuk menghindari makan besar dan gosok gigi minimal 60 menit sebelum prosedur pengumpulan saliva.
2. Pasien diinstruksikan untuk menghindari makanan dengan kandungan gula, asam atau kafein minimum 30 menit sebelum pengumpulan sampel.

3. Pasien diinstruksikan untuk menghindari konsumsi alkohol 12 jam sebelum pengambilan sampel.

4. Pasien diminta kumur terlebih dahulu dengan air (3-4 kali), proses kumur ini bertujuan untuk mengatasi dan menghilangkan residu makanan terutama yang mengandung asam dan tinggi kandungan gula (karena dapat menurunkan PH sampel dan mempengaruhi pertumbuhan bakteri) dan kemudian diminta menunggu paling tidak 10 menit sebelum proses pengumpulan saliva melalui *polypropylene vial*, lalu ditampung didalam *cryovial* hingga 1,25 ml (Salimetrics, 2011; Salimetrics 2018).

4.5.2 Prosedur Pengumpulan Saliva

1. Pengumpulan saliva dilakukan di Poli Rawat Jalan Kulit dan Kelamin RSUD dr Saiful Anwar dan RS Kusta Kediri dalam satu ruang tertutup dengan fasilitas wastafel dan kertas tissue.
2. Setelah kumur dengan air dan menunggu 10 menit, dengan cara metode pengaliran air liur pasif (*passive drooling*) yaitu saliva dikumpulkan pada dasar mulut selama sekitar 2 menit, lalu diekspektorasikan oleh pasien ke *polypropylene vial* yang telah disambung ke *cryovial* yang disediakan sampai dicapai kurang lebih 5 cc. Sampel yang diperoleh kemudian untuk sementara disimpan dalam kotak pendingin (*cooler box*) 4°C. Sampel harus segera dipindahkan ke freezer -20°C sebelum 6 jam.

3. Dilakukan evaluasi secara visual ada tidaknya kontaminasi saliva dengan darah setelah sampel didapatkan, bila didapatkan harus dilakukan pengambilan sampel ulang.

4. Sampel saliva yang diperiksa dikirimkan ke Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya dan ditransfer menggunakan *ice box* dan *ice pack* untuk meminimalisir pertumbuhan bakteri. Sebelum 6 jam sampel harus segera diletakkan di lemari pendingin (*freezer*) -20°C di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Sampel dapat disimpan dalam rentang waktu 6 bulan di suhu -20°C (Salimetrics, 2011; Salimetrics 2018; Bioassay Technology Laboratory, 2019).

4.5.3 Prosedur Pengukuran Kadar Kortisol Saliva

1. *Handschoen* dan *safety google* digunakan oleh pemeriksa, kit reagen kortisol saliva dipersiapkan, lalu diperiksa kembali dan dipastikan kelengkapannya.
2. Sampel dipastikan telah siap dan kebutuhan masing-masing sampel terpenuhi, sampel saliva yang dibutuhkan untuk kortisol saliva adalah sebesar 25 μl .
3. Setelah didapatkan sampel dan kit kadar kortisol saliva, ditentukan penentuan susunan *microtitre plate* sebagai standard, kontrol dan sampel dan dilakukan pencatatan.
4. Sejumlah 25 μl larutan standard, larutan kontrol dan sampel saliva dipipet ke sumur dari *microtitre plate* yang ditentukan, 25 μl assay

diluent dipipet pada dua sumur *microtitre plate* dan ditandai sebagai zero, 25 μ l *assay diluent* dipipet menuju sumur *microtitre plate* NSB.

5. Enzim konjugat 1: 1600 didilusi dengan menambahkan 15 μ l dari konjugat dengan 24 mL dari larutan *assay diluent* pada *tube* tersendiri, lalu dilakukan proses *centrifuge* dengan vorteks beberapa menit agar cairan bergerak sepenuhnya menuju dasar *tube*. Segera dicampurkan larutan konjugat yang telah terdilusi pada masing-masing sumur *microtitre plate* dengan pipet *multichannel*.

6. *Microtitre plate* dicampurkan pada *rotator plate* selama 5 menit pada kecepatan 500 rpm dan diinkubasikan pada suhu ruangan selama 1 jam.

7. *Plate* dicuci sebanyak 4 kali dengan *wash buffer*. Direkomendasikan menggunakan alat *plate washer* (alat tersedia di Laboratorium Parasitologi). Setiap selesai proses pencucian, *microtitre plate* harus sepenuhnya dikeringkan dengan *paper towels*.

8. *Microtitre plate* ditambahkan larutan substrat TMB dengan pipet *multichannel* sehingga akan tampak berubah menjadi warna biru.

9. *Microtitre plate* dicampur dengan *rotator plate* selama 5 menit dengan kecepatan 500 rpm dan diinkubasi pada kegelapan (ditutup dengan *wrap* kedap cahaya) pada suhu kamar selama 25 menit.

10. Larutan stop dengan pipet *multichannel* ditambahkan pada *microtitre plate*.

11. *Microtitre plate* dicampur dengan *rotator plate* selama 3 menit dengan kecepatan 500 rpm (Jangan melebihi kecepatan 600 rpm atau akan tumpah). Jika warna hijau bertahan (campuran biru dan kuning yang

belum merata), lanjutkan proses pencampuran hingga warna hijau berubah menjadi kuning, pastikan semua warna pada *microtitre plate* telah menjadi kuning.

12. Bagian bawah dari *microtitre plate* diseka dan dibersihkan dengan *water moistened, lint-free cloth* dan usap dengan *paper towel* hingga kering.

13. *Microtitre plate* dibaca pada *plate reader* 450 nm, proses pembacaan ini dilakukan 10 menit setelah pemberian larutan stop, hasil kemudian dicatat (Salimetrics, 2011; Salimetrics 2018; Bioassay Technology Laboratory, 2019).

4.5.4 Prinsip Pengukuran Kadar Kortisol Saliva

1. Proses *immunoassay* dari metode pengukuran ini adalah ELISA kompetitif.
2. Kortisol dalam larutan standard dan sampel yang dikumpulkan akan berkompetisi dengan kortisol terkonjugasi dengan *horseradish peroxidase* untuk berikatan dengan situs pengikatan antibodi pada *microtitre plate*.
3. Setelah proses inkubasi, komponen tidak terikat akan dicuci. Kortisol enzim yang terikat akan diukur dengan reaksi dari *horseradish peroxidase* terhadap larutan substrat *Tetramethylbenzidine* (TMB).
4. Warna biru akan dihasilkan dari reaksi ini. Warna kuning akan terbentuk setelah menghentikan reaksi (larutan stop) dengan *acidic solution*.

5. Densitas optik kemudian akan dibaca pada *standard plate reader* 450 nm. Jumlah dari konjugat enzim kortisol yang terdeteksi yang terdeteksi berbanding terbalik dengan jumlah kortisol pada sampel, sehingga makin kuning larutan tersebut maka makin sedikit kortisol dalam sampel dan makin sedikit warna kuning dari sampel yang didapat maka makin banyak kortisol dalam sampel, densitas optik dari warna ini yang dibaca pada *standard plate reader* 450 nm. (Salimetrics, 2011; Salimetrics 2018).

4.5.5 Prosedur Pengukuran Kadar TNF- α Saliva

1. *Handschoen* dan *safety google* digunakan oleh pemeriksa, kit reagen kortisol saliva dipersiapkan, lalu diperiksa kembali dan dipastikan kelengkapannya.
2. Sampel dipastikan telah siap dan kebutuhan sampel terpenuhi untuk TNF- α minimal 40 μ l.
3. Seluruh kelengkapan kit didiamkan terlebih dahulu di suhu ruang selama 30 menit.
4. Karena sampel saliva disimpan dalam suhu -20°C dan membeku maka dibiarkan cair dulu dengan suhu ruang lalu dilakukan *sentrifuge* pada sampel saliva pada 2000 - 3000 rpm selama 20 menit pada suhu $2-8^{\circ}\text{C}$, bagian supernatan kemudian digunakan dalam proses ELISA.
5. Sebanyak 50 μ l standar ditambahkan pada sumur standar.

6. Sebanyak 40 μ l sampel ditambahkan ke sumur sampel lalu ditambahkan 50 μ l Streptavidin HRP pada sumur sampel dan sumur standar.

7. Sumur sampel dan sumur standar ditutup dengan *plate sealer* kedap cahaya yang disediakan, lalu diinkubasi selama 60 menit pada suhu 37°C.

8. *Plate sealer* dilepas, lalu plate dicuci dengan alat *plate washer* (alat tersedia di Laboratorium Parasitologi) menggunakan *wash buffer concentrate* sebanyak 5 kali dengan prosedur soak 0,35 *wash buffer* selama 30 detik – 1 menit pada setiap pencucian.

Prosedur *aspirate* dilakukan pada semua sumur dan dicuci 5x dengan *wash buffer*, lalu diseka dengan paper towels.

9. Sebanyak 50 μ l *stop solution* ditambahkan pada tiap sumur, dengan segera akan tampak warna biru berubah menjadi kuning.

10. *Optical Density Value* pada tiap sumur ditentukan dengan *microplate reader* 450 nm dalam waktu 10 menit setelah diberikan larutan stop. (Bioassay Technology Laboratory, 2019).

4.5.6 Prinsip Pengukuran Kadar TNF- α Saliva

1. Proses *immunoassay* dari metode pengukuran ini adalah ELISA *sandwich*.

2. Pada kit ELISA TNF- α TNF alfa pada sampel akan terikat dengan *biotinylated human TNF- α antibody*.

3. *Biotinylated human TNF- α antibody* akan berikatan dengan antibodi TNF- α di dasar sumur.

4. Streptavidin HRP yang ditambahkan akan berikatan dengan *Biotinylated human TNF- α antibody*.

5. Setelah proses inkubasi, komponen tidak terikat dengan Streptavidin HRP akan dicuci. TNF- α yang terikat akan diukur dengan reaksi dari *substrate solution*, yang akan merubah warna sesuai dengan proporsi jumlah dari TNF- α yang terikat dengan Streptavidin HRP (ikatan Streptavidin HRP & TNF- α).

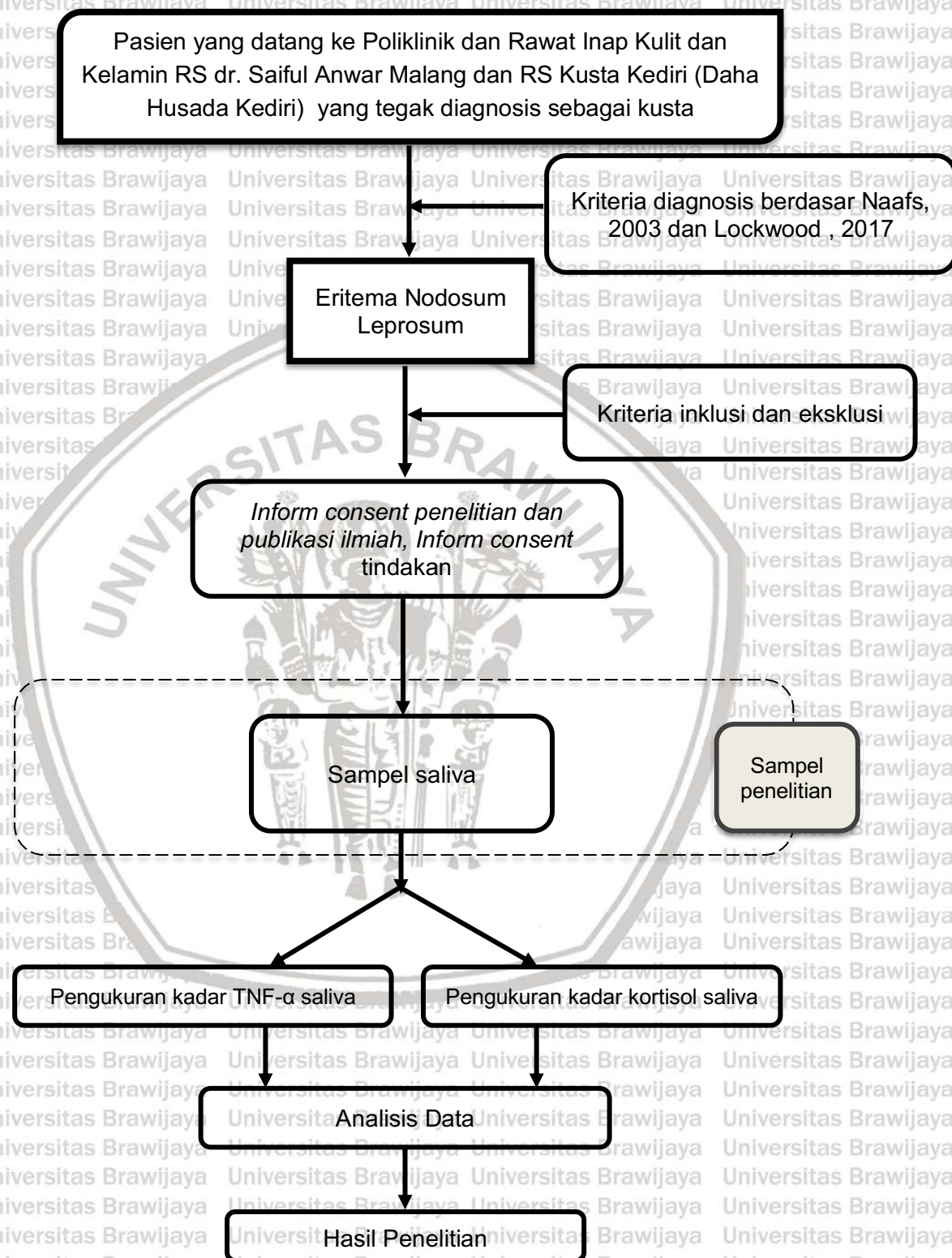
6. Reaksi ini akan menghasilkan warna biru. Warna kuning akan terbentuk setelah menghentikan reaksi (larutan stop) dengan *acidic stop solution*.

7. Densitas optik kemudian akan dibaca pada *standard plate reader* 450 nm. Jumlah dari konjugat TNF- α yang terdeteksi berbanding terbalik dengan jumlah TNF- α pada sampel, sehingga makin kuning larutan tersebut maka makin sedikit TNF- α dalam sampel dan makin sedikit warna kuning dari sampel yang didapat maka makin banyak TNF- α dalam sampel, densitas optik dari warna ini yang dibaca pada *standard plate reader* 450 nm. (Bioassay Technology Laboratory, 2019).

4.6 Alur Penelitian

Alur penelitian yang dilakukan pada penelitian ini sesuai yang digambarkan pada gambar 4.1. Proses ini didahului dengan pasien yang datang berobat ke Poliklinik dan Rawat Inap Kulit dan Kelamin RSUD dr. Saiful Anwar Malang dan

RS Kusta Kediri (Daha Husada Kediri). Pasien yang telah memenuhi kriteria inklusi, kemudian dilakukan penjelasan mengenai manfaat dan tujuan penelitian untuk perkembangan ilmu kedokteran kulit dan kelamin dan perkembangan pengobatan pasien terutama eritema nodosum leprosum dan morbus hansen. Penjelasan juga mencakup keuntungan dan kerugian mengikuti penelitian ini. Setelah mendapatkan persetujuan tertulis dari pasien berupa penandatanganan *inform consent*, pasien dilakukan anamnesis terlebih dahulu dilakukan pemeriksaan fisik dan pemeriksaan dermatologis pasien dibuatkan status dengan lembar pengumpul data. Diagnosis kemudian ditegakkan sesuai kriteria diagnosis eritema nodosum leprosum berdasar Naafs, 2003 dan Lockwood, 2017, dilakukan dokumentasi dan pengambilan sampel pada hari yang sama, atau bila tidak memungkinkan pasien dihubungi terlebih dahulu sebelumnya untuk dijadwalkan datang dan mengikuti instruksi sesuai kebutuhan persyaratan pengambilan sampel.



Gambar 4.1 Alur Penelitian

4.7 Analisis Data

Proses analisis statistik yang digunakan dalam penelitian ini adalah uji korelasi Pearson. Perbedaan hasil berbagai pengukuran diuji dengan tingkat kemaknaan $p < 0.05$ dan interval kepercayaan 95%. Data karakteristik subyek akan disajikan dalam bentuk tabel distribusi frekuensi.



BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

Pengambilan data subyek penelitian dilakukan di Poliklinik dan Rawat Inap Kulit dan Kelamin RSUD dr. Saiful Anwar Malang dan RS Kusta Kediri (RS Daha Husada Kediri) mulai bulan Januari 2019 hingga April 2019. Proses tersebut mendapatkan 30 subyek penelitian yang didiagnosis sebagai Eritema Nodosum Leprosum. Pasien ENL yang diambil sebagai sampel penelitian ditegakkan dengan kriteria Naafs, 2003 dan Lockwood, 2017, memenuhi kriteria inklusi dan tidak termasuk dalam kriteria eksklusi yang telah ditentukan, dan telah setuju dan menandatangani *inform consent* untuk turut serta dalam penelitian dan dijadikan sebagai subyek penelitian. Masing-masing subyek penelitian dilakukan anamnesis, pemeriksaan fisik, telah ditegakkan sebagai kusta oleh dokter spesialis kulit atau yang berkompeten, serta diperiksa kadar TNF- α dan kortisol saliva. Data-data yang diperoleh kemudian dilakukan proses pengolahan dengan analisa statistik.

5.1 Karakteristik Data Dasar

Pada penelitian diperoleh sampel sebanyak 30 subyek penelitian yang didiagnosis ENL, yaitu 26,67 % dari RSUD dr. Saiful Anwar Malang dan 73,3% dari RS Kusta Kediri (RS Daha Husada Kediri). Berdasarkan kategori usia dari Departemen Kesehatan (Kementerian Kesehatan RI, 2018), rentang usia subyek penelitian dapat digolongkan sebagai berikut; usia kurang dari 15 tahun sebesar 6.67% (2 orang), 15-64 tahun sebesar 90% (27 orang), di atas 65 tahun sebesar

3.33% (1 orang). Usia mayoritas pasien adalah 26.35 tahun sebesar 11 orang (36.67%) dan rerata usia pasien 36.73 ± 13.02 tahun.

Berdasarkan jenis kelamin, sebesar 83.33% (25 orang) berjenis kelamin laki-laki, dan perempuan sebesar 15.67% (5 orang).

Berdasarkan pekerjaan, sebagian besar sebagai pekerja kasar sebesar 66.67% (20 orang) dan diikuti pekerja tidak kasar sebesar 33.33% (10 orang).

Penggolongan ini mengacu pada studi Dave *et al.*, 2003 dengan pekerja kasar adalah pekerjaan yang melibatkan aktivitas fisik yang tinggi pada penelitian ini berprofesi sebagai buruh, kuli bangunan, petani, pedagang pasar, mekanik bengkel, peternak, penggiling padi, pemulung, supir truk dan serabutan; sedangkan pekerja tidak kasar yang didapatkan pada penelitian ini ibu rumah tangga, koki, mahasiswa, imam masjid, *guide* dan pelajar. Berdasarkan tingkat pendidikannya, diperoleh subyek lulusan SD sebesar 33.33% (10 orang), SMP sebesar 43.33% (13 orang), SMA sebesar 20.00% (6 orang), dan diploma sebesar 3.33% (1 orang). Berdasarkan wilayah tempat tinggalnya, 23.33% (7 orang) subyek tinggal di Malang dan 76.67% (23 orang) di luar Malang. Berdasarkan suku, yaitu suku Jawa sebesar 76.67% (23 orang) dan suku luar Jawa sebesar 23.33% (7 orang).

Berdasarkan diagnosis riwayat ENL 22 orang (73.33%) mengalami ENL kurang dari lima kali dan 8 orang (26.67%) mengalami ENL lebih dari lima kali.

Berdasarkan data yang diperoleh pula bahwa 43% (13 orang) tidak pernah meminum kortikosteroid dan sisanya 17 orang pernah meminum kortikosteroid (namun masih belum termasuk dalam kriteria eksklusi). Berdasarkan kebiasaan merokok didapatkan 23 orang (76.67%) tidak pernah merokok, dan 7 orang (23.33%) pernah merokok (namun masih belum termasuk dalam kriteria eksklusi).

Hasil data Indeks Bakteri (IB) dari penelitian ini didapatkan IB (+1) sebanyak 2 orang (6,67%), IB (+2) sebanyak 11 orang (36,67%), IB (+3) sebanyak 5 orang (16,67 %), IB (+4) sebanyak 5 orang (16,67%), Indeks bakteri (+5) sebanyak 2 orang (6,67%) dan Indeks bakteri (+6) sebanyak 5 orang (16,67%). Sementara itu hasil Indeks Morfologis (IM) pada pasien penelitian ini didapatkan indeks morfologis 0 sebanyak 26 orang (86,67%), Indeks morfologis 60 %, dan 20% masing-masing 1 orang (3,33%), sedangkan pada Indeks morfologis 75 % sebanyak 2 orang (6,67%).

Berdasarkan narakanak, 9 orang (30%) tinggal serumah dan 21 orang (70%) diketahui memiliki narakanak tidak serumah. Berdasarkan durasi dan status terapi, 6 orang (20%) memiliki durasi terapi MDT ≤ 6 bulan, 4 orang (13,33%) sedang dalam terapi MDT > 6 bulan, 18 orang (60%) dinyatakan telah selesai terapi (RFT / *Release From Treatment*) dan 2 orang (6,67%) merupakan pasien RFT *Relapse* dan sedang mendapatkan terapi MDT ulang untuk kedua kalinya.

5.2 HASIL PEMERIKSAAN KADAR KORTISOL DAN TNF- α SALIVA PADA PASIEN ERITEMA NODOSUM LEPROSUM

5.2.1. Kadar Kortisol Saliva dan TNF- α Saliva

Rerata kadar TNF- α adalah 171.06 ± 86.55 ng/L dengan kadar terendah 18,67 ng/L dan tertinggi 302,71 ng/L. Rerata kadar kortisol 0.21 ± 0.12 $\mu\text{g/dL}$ dengan kadar kortisol terendah 0,02 $\mu\text{g/dL}$ dan tertinggi 0,48 $\mu\text{g/dL}$ (tabel 5.1).

Tabel 5.1. Data Kadar TNF- α dan Kadar Kortisol Pasien Eritema Nodosum Leprosum

	Terendah	Tertinggi	Mean $\pm$ SD
TNF α (ng/L)	18.670	302.713	171.060 $\pm$ 86.550
Kadar Kortisol (μg/dL)	0.020	0.476	0.210 $\pm$ 0.120

5.3 Kadar TNF- α Saliva dan Kortisol Saliva pada Kelompok Data Dasar

Rerata kadar TNF- α saliva pada masing-masing kelompok usia, jenis kelamin, pekerjaan, tingkat pendidikan terakhir, asal daerah, suku, riwayat ENL, pemakaian obat kortikosteroid, kebiasaan merokok, IB dan IM dari hasil uji banding didapatkan tidak ada perbedaan signifikan ($p > 0,05$) namun pada narakontak berbeda signifikan ($p < 0,05$). Rerata kadar TNF- α pada pasien dengan narakontak serumah lebih tinggi dibandingkan yang tidak serumah (tabel 5.2).

Rerata kadar kortisol saliva pada masing-masing kelompok usia, jenis kelamin, pekerjaan, tingkat pendidikan terakhir, asal daerah, suku, riwayat ENL, kebiasaan merokok, IB dan IM dari hasil uji banding didapatkan tidak ada perbedaan signifikan ($p > 0,05$), namun pada pemakaian obat kortikosteroid berbeda signifikan ($p < 0,05$). Rerata kadar kortisol pada pasien yang pernah meminum obat kortikosteroid lebih rendah dibandingkan yang tidak pernah meminum obat kortikosteroid (tabel 5.2).

Tabel 5.2 Rerata Kadar TNF- α dan Kadar Kortisol Saliva pada Kelompok Data Dasar

Kategori	TNF α (ng/L)		Nilai P	Kadar Kortisol (μ g/dL)		Nilai P
	Rerata			Rerata		
Usia (Tahun)						
<15 tahun	184.734	± 166.847	0.896	0.196	± 0.142	0.773
15-64	168.741	± 84.956		0.212	± 0.123	
> 65 tahun	206.223	.		0.299	.	
Jenis kelamin						
Laki-laki	173.164	± 81.463	0.771	0.216	± 0.127	0.897
Perempuan	160.521	± 119.702		0.208	± 0.097	
Pekerjaan						
Pekerja tidak kasar	153.617	± 107.036	0.501	0.193	± 0.098	0.514
Pekerja kasar	179.776	± 75.943		0.225	± 0.132	
Pendidikan						
SD	210.106	± 77.953	0.18	0.214	± 0.148	0.772
SMP	158.654	± 92.350		0.236	± 0.118	
SMA	155.124	± 68.674		0.181	± 0.091	
Diploma	37.394	.		0.145	.	
Suku						
Jawa	180.622	± 80.850	0.28	0.215	± 0.126	0.924
Luar Jawa	139.628	± 103.621		0.21	± 0.113	
Domisili						
Malang	123.093	± 115.544	0.215	0.201	± 0.116	0.748
Luar Malang	185.655	± 72.658		0.218	± 0.125	
Riwayat ENL						
< 5 kali	175.585	± 90.315	0.643	0.219	± 0.128	0.719
≥ 5 kali	158.604	± 79.521		0.201	± 0.105	
Kortikosteroid						
Tidak Pernah	140.413	± 69.554	0.09	0.28	± 0.118	0.007
Pernah	194.49	± 92.755		0.164	± 0.100	
Merokok						
Tidak Pernah	174.558	± 87.223	0.695	0.199	± 0.117	0.202
Pernah	159.552	± 90.063		0.266	± 0.129	
IB						
0	198.202	± 91.317	0.381	0.242	± 0.112	0.582
1	73.138	± 50.551		0.266	± 0.171	
2	159.521	± 79.041		0.185	± 0.134	
3	189.798	± 81.245		0.198	± 0.150	
4	156.628	± 113.243		0.282	± 0.059	
5	253.777	± 18.957		0.127	± 0.048	
6	198.202	± 91.317		0.242	± 0.112	
IM						
0	170.323	± 84.837	0.221	0.213	± 0.123	0.455
20%	18.671	.		0.373	.	
60%	240.372	.		0.093	.	
75%	222.128	± 63.715		0.205	± 0.062	
Narakontak						
Serumah	149.729	± 85.446	0.037	0.227	± 0.134	0.278
Tidak serumah	220.821	± 70.169		0.184	± 0.078	
Status Pengobatan Kusta						
≤ 6 bulan	215.886	± 85.786	0.531	0.179	0.083	0.717
>6 bulan	144.441	± 99.366		0.205	0.177	
RFT	160.408	± 86.039		0.219	0.124	
RFT Relapse	185.638	± 87.335		0.295	0.113	

* $p < 0.05$: terdapat perbedaan signifikan berdasar One Way Anova

** $p < 0.05$: terdapat perbedaan signifikan berdasar Independent t-test

5.4 Uji Hipotesis

Perangkat lunak *Statistical Product and Service Solutions* (SPSS) versi 20 digunakan untuk menganalisis penelitian ini. Uji Korelasi dipakai untuk menguji hipotesis dalam penelitian ini. Sebelum menentukan uji korelasi yang digunakan pada penelitian ini perlu dilakukan uji normalitas.

5.4.1 Uji Normalitas Data

Sebelum menentukan uji korelasi yang digunakan pada penelitian ini perlu dilakukan uji normalitas data dengan menggunakan uji *Kolmogorov Smirnov*. Apabila nilai $p > 0.05$, maka asumsi normalitas terpenuhi, dan uji yang akan digunakan adalah uji korelasi *Pearson*. Namun bila nilai $p < 0.05$, maka asumsi normalitas tidak terpenuhi, dan uji yang akan digunakan adalah uji korelasi *Rank Spearman*. Jika nilai *sig* dari analisis korelasi lebih dari 0.05, maka hubungan antara kadar TNF- α saliva dan kadar kortisol saliva tidak signifikan, sementara nilai *p* dari analisis korelasi kurang dari 0.05, maka hubungan antara kadar TNF- α saliva dan kadar kortisol saliva signifikan. Hasil uji normalitas yang sudah diringkas disajikan pada Tabel 5.3.

Tabel 5.3. Hasil Uji Normalitas Kadar TNF- α Saliva dan Kadar Kortisol Saliva

Variabel	Nilai Kolmogorov Smirnov	Nilai p	Keterangan
Kadar TNF- α	0.156	0.061	Asumsi normalitas terpenuhi
Kadar Kortisol	0.085	0.200	Asumsi normalitas terpenuhi

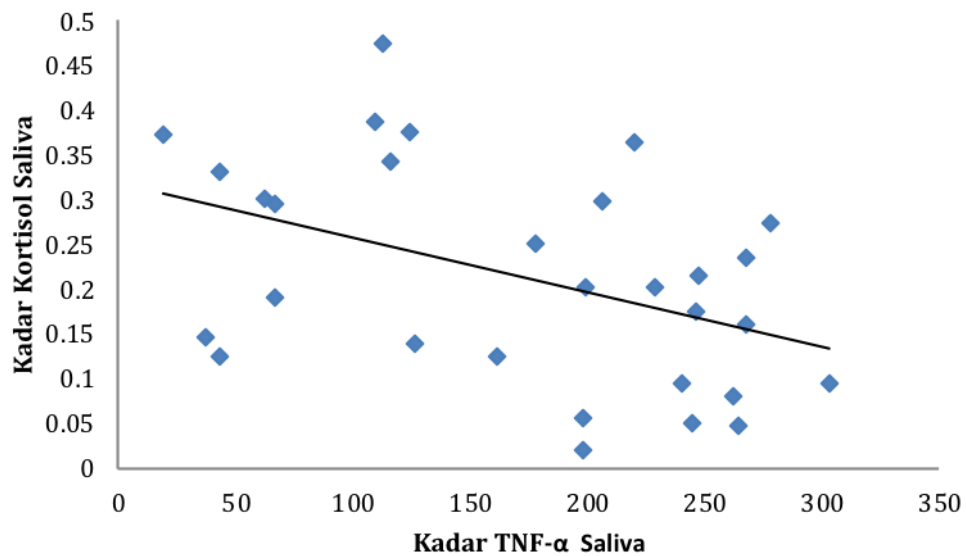
Hasil uji normalitas pada Kadar TNF- α saliva menunjukkan nilai sig (0.061) > α (0.05), sehingga asumsi normalitas terpenuhi dan pada kadar kortisol saliva menunjukkan nilai sig (0.200) > α (0.05), sehingga didapatkan asumsi normalitas terpenuhi.

5.4.2 Korelasi Kadar TNF- α dan Kortisol Saliva

Karena data memenuhi asumsi normalitas, uji korelasi *Pearson* digunakan pada penelitian ini. Hubungan antara Kadar TNF- α saliva dan kadar kortisol saliva mempunyai koefisien korelasi sebesar -0,441 ($r = -0,441$) dengan nilai signifikan 0,015 ($p < 0,05$), sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat korelasi negatif yang signifikan (Tabel 5.4), dengan kata lain, semakin tinggi kadar TNF- α saliva, semakin rendah kadar kortisol saliva. Dari hasil keeratan korelasi didapatkan nilai koefisien 0.41 sampai 0.70, sehingga termasuk memiliki keeratan kuat (Sujarweni, 2015) (gambar 5.1).

Tabel 5.4 Korelasi Kadar TNF- α Saliva dan Kortisol Saliva

Variabel	r	p-value	Keterangan
Kadar Kortisol Saliva dan kadar TNF α saliva	- 0,441	0,015	Signifikan



Gambar 5.1 Gambar Linearitas Uji Korelasi Kadar kortisol saliva dan TNF- α Saliva ($r = - 0.441$; $p = 0,015$)

Uji regresi linier antara kadar TNF- α saliva dan kortisol saliva diperoleh nilai p sebesar 0.015 ($p < 0.05$), sehingga dapat disimpulkan bahwa TNF- α saliva berpengaruh secara signifikan terhadap kadar kortisol saliva. Model yang diperoleh adalah:

$$Y = 0.320 - 0.001X$$

Pada saat TNF- α saliva tetap, nilai kortisol sebesar 0.320. Setiap penambahan TNF- α saliva sebesar 1 satuan maka akan menurunkan kadar kortisol sebesar 0.001. Hasil $R^2 = 0,441$, artinya kadar TNF- α saliva dan kortisol saliva mempunyai pengaruh sebesar 44,1% sedangkan sisanya sebesar 55,9% dipengaruhi atau dijelaskan oleh variabel lain yang tidak dimasukkan dalam model penelitian ini.

BAB 6

PEMBAHASAN

Eritema Nodosum Leprosum merupakan reaksi tipe 2 pada penyakit kusta yang merupakan interaksi kompleks antara komponen antigen dari agen *Mycobacterium leprae* baik *solid* maupun yang *fragmented*, antibodi pejamu, dan komplemen. Eritema nodosum leprosum masih menjadi masalah kesehatan masyarakat dalam penyakit kusta terutama pada negara-negara endemik dengan dampak yang signifikan pada aspek fisik, ekonomi dan sosial pada pasien dan sistem kesehatan karena seringkali masih gagal untuk secara efektif mengontrol reaksi, terutama karena seringkali muncul secara rekuren atau kronis. Sehingga, studi terkontrol lebih jauh diperlukan untuk menemukan strategi baru dalam tatalaksana ENL dan pemahaman patogenesisnya (Costa *et al.*, 2018).

6.1 Pembahasan Data Umum Penelitian

6.1.1 Usia

Rentang usia pasien ENL sebesar 11-71 tahun didapatkan pada penelitian ini, dengan rata-rata usia 36,73 tahun. Hasil ini mendekati hasil penelitian Listyrini dan Soebono dengan rerata sebesar 38,19. Sejalan dengan Scollard *et al.*, 1993 yang menyatakan frekuensi angka kejadian ENL mencapai puncaknya di usia 20-40 tahun, rentang terbanyak pada penelitian ini di usia 15-64 tahun sebesar 90 % (27 orang) (Chopra *et al.* 1990; Scollard *et al.* 1993 ; Listyrini dan Soebono, 2015). Usia lebih dari 40 tahun diasosiasikan dengan penurunan signifikan dari angka kejadian ENL (Manandhar *et al.*, 1999). Menurut Kemenkes RI tahun 2017, usia produktif Indonesia adalah 15-64 tahun, pada usia produktif kejadian ENL lebih

tinggi karena respon imun lebih aktif dan lebih sering terpapar faktor eksternal sehari-hari terutama pekerjaan (Ranque *et al.*, 1997; Kementerian Kesehatan RI, 2017). Rerata kadar Kortisol saliva dan TNF- α saliva dalam penelitian ini tidak berbeda pada masing-masing kelompok usia ($P>0.05$).

6.1.2 Jenis Kelamin

Mayoritas pasien adalah berjenis kelamin laki-laki pada penelitian ini yaitu 83,33 % sedangkan 15,67% sisanya adalah perempuan dengan perbandingan 5:1. Hal ini linear dalam suatu studi retrospektif kasus reaksi ENL di RSUP Sanglah Bali dalam 3 tahun berturut turut didapatkan 70 % jenis kelamin pada pasien penderita ENL adalah laki-laki (Priawati dkk., 2018). Berbeda dengan penelitian oleh Kumar di India yang melaporkan bahwa ENL lebih banyak pada perempuan (Kumar *et al.*, 2004). Penelitian lain di India, Arora *et al.*, 2008 dalam suatu studi epidemiologis di India mendapatkan mayoritas pasien ENL adalah laki-laki, dan menjelaskan bahwa predominasi laki-laki pada pasien ENL adalah karena adanya *health seeking behaviour* (perilaku mencari pemulihan kesehatan), pria biasanya cenderung segera berobat karena mengganggu pekerjaannya untuk mencukupi kebutuhan hidup (Arora *et al.*, 2008 ; Ayudianti, 2014).

Berdasarkan pusat data dan informasi (Pusdatin) ditjen P2P, Kemenkes RI 2018 di Indonesia pasien penderita kusta didapatkan mayoritas laki-laki yaitu 9.872 pasien laki-laki dan 6.048 pasien adalah perempuan (Pusdatin Kementerian Kesehatan Indonesia, 2018). Rerata kadar kortisol saliva dan TNF- α saliva tidak berbeda pada masing-masing kelompok jenis kelamin ($P>0.05$).

6.1.3 Pekerjaan

Pada penelitian ini didapatkan pasien yang berprofesi sebagai pekerja kasar sebanyak 66,67% (20 orang) dan sebanyak 33,33% (10 orang) pekerja tidak kasar. Belum ada penelitian yang melaporkan angka kejadian ENL terkait profesi tertentu, namun didapatkan studi terpublikasi oleh Dave *et al.*, 2003 yang menghubungkan kejadian ENL pada pekerja kasar dan pekerja tidak kasar. Pekerja kasar adalah pekerjaan yang melibatkan aktivitas fisik yang tinggi seperti petani, buruh, kuli bangunan, peternak, dan sebagainya. Angka kejadian reaksi dinyatakan lebih banyak terjadi pada pekerja kasar. Pekerja kasar seringkali mengeluarkan tenaga berlebihan untuk menyelesaikan tugasnya sehingga penderita kusta yang memiliki pekerjaan kasar cenderung mengalami stres fisik dan terjadi perubahan respon imun yang dapat memicu terjadinya ENL (Dave *et al.*, 2003; Prawoto, 2008). Rerata kadar kortisol saliva dan TNF- α saliva pada penelitian ini tidak berbeda pada masing-masing kelompok pekerja kasar dan tidak kasar ($P>0.05$).

6.1.4 Indeks Bakteri (IB) dan Indeks Morfologis (IM)

Dalam suatu penelitian di Jogjakarta, Listyrini dan Soebono H., mendapatkan bahwa IB (Indeks Bakteri) inisial pada pasien memiliki korelasi yang signifikan dengan awitan ENL ($p<0.05$) (Listyrini dan Soebono, 2015). Resiko ENL juga dinyatakan meningkat secara linear dengan peningkatan IB ($p<0,001$) (Manandhar *et al.*, 1998). Indeks bakteri (IB) dari penelitian ini didapatkan IB (0) sebanyak 5 orang (16,67%), IB (+1) sebanyak 2 orang (6,67%), IB (+2) sebanyak 11 orang (36,67%), IB (+3) sebanyak 5 orang (16,67 %), IB (+3) dan IB (+4) masing-masing sebanyak 5 orang (16,67%), Indeks bakteri (+5) sebanyak

sebanyak 0 orang (0%) dan Indeks bakteri (+6) sebanyak 2 orang (6,67%).

Penelitian yang dilakukan oleh Job di tahun 2008 dinyatakan bahwa pada 199 orang pasien pembesaran saraf tidak berkorelasi dengan Indeks Bakteri (Job *et al.*, 2008). Parameter indeks bakteri (IB) penelitian ini tidak memberikan perbedaan yang signifikan pada kadar kortisol saliva dan TNF- α saliva, sehingga dapat disimpulkan rerata kadar kortisol saliva dan TNF- α saliva tidak berbeda pada masing-masing kelompok IB ($P>0.05$).

Sementara hasil Indeks morfologi (IM) pada pasien penelitian ini didapatkan IM 0 sebanyak 26 orang (86,67%), IM 60 %, dan IM 20% masing-masing 1 orang (3,33%), sedangkan pada IM 75 % sebanyak 2 orang (6,67%).

Pettit menyatakan penurunan IM dalam kurun waktu 6 bulan terapi MDT menurunkan angka kejadian ENL (Pettit dan Waters, 1967). Manandhar menyatakan bahwa ENL lebih sering terjadi pada IM<5% dimana jumlah *Mycobacterium leprae* yang mati telah meningkat (Manandhar *et al.*, 1999).

Listyrini dan Soebono H. mendapatkan bahwa ada hubungan bermakna antara penurunan IM awal terhadap IM saat ENL dan terapi ($p<0,05$) (Listyrini dan Soebono, 2015). Rerata kadar kortisol saliva dan TNF- α saliva tidak berbeda pada masing-masing kelompok IM pada penelitian ini ($P>0.05$).

6.1.5 Narakontak

Berdasarkan narakontak, didapatkan 9 pasien (30%) ENL dengan narakontak yang tinggal serumah dan 21 orang (70%) dengan narakontak tidak serumah pada penelitian ini. Dalam suatu penelitian tentang penemuan kasus kusta baru pada anak oleh Wulan *dkk.*, 2014 di RSUD dr. Soetomo Surabaya didapatkan narakontak serumah sejumlah 68,7%. Narakontak memiliki resiko lebih

besar menderita kusta meskipun tidak secara langsung berkaitan dengan terjadinya angka kejadian ENL (Wulan dkk., 2014). Prakoeswa meneliti 122 narakontak pada dua daerah desa endemik kusta (Kombeng and Poteran) di Sumenep Madura dan mendapatkan 89,7% adalah narakontak serumah dan 10,3% adalah kontak dengan tetangga (Prakoeswa, 2007). Hal ini berbeda dengan hasil penelitian ini yang hanya didapat 30% kontak serumah dan 70 % sisanya adalah kontak tidak serumah.

Beberapa studi yang mendukung hasil penelitian ini adalah studi yang dipublikasikan oleh Job *et al.* yang hanya mendapatkan 17 % *Mycobacterium leprae* yang dapat terdeteksi dari PCR kulit dan 4% dari mukosa nasal narakontak serumah dengan pasien MB yang belum diterapi, sehingga ia menyimpulkan kontak serumah tidak selalu menjadi faktor transmisi *Mycobacterium leprae* (Job *et al.* 2008). Studi oleh Ikawati menyatakan faktor yang justru jauh lebih penting dari kontak serumah adalah lama kontak dengan pasien kusta (Ikawati dkk, 1996; Christiana dan Lenna, 2004), karena hasil uji MLPA pada deteksi infeksi kusta subklinis pada kelompok narakontak serumah pasien kusta multibasiler yang dilakukan olehnya menunjukkan perbedaan tidak bermakna pada narakontak penderita MB yang dideteksi dengan uji MLPA (Ikawati dkk., 1996).

Dari penelitian ini, rerata kadar kortisol saliva tidak berbeda pada masing-masing kelompok pasien ENL dengan narakontak serumah dan kelompok pasien ENL dengan narakontak tidak serumah ($P > 0.05$). Namun rerata kadar TNF- α saliva berbeda signifikan ($P < 0.05$) pada kelompok pasien ENL dengan narakontak serumah dan tidak serumah, dengan nilai yang lebih tinggi pada narakontak serumah.

6.1.6 Gejala ENL yang Didapatkan pada Subyek Penelitian

Gejala ENL yang terbanyak didapatkan pada penelitian ini adalah demam dan erupsi mendadak dari nodul eritematosa nyeri, yang didapatkan pada semua pasien. Mengikuti setelahnya, plak eritematosa nyeri (25 orang), papul (16 orang), artritis sebanyak 13 orang, tes Rhyrie/Ellis (+) sebanyak 8 orang, edema sebanyak 5 orang, peningkatan hilangnya sensoris sebanyak 4 orang, limfadenitis sebanyak 1 orang, dan mata berair sebanyak 1 orang.

Pembesaran saraf didapatkan pada semua pasien, namun pasien dengan neuritis hanya didapatkan sebanyak 2 orang. Pada pasien ENL dapat terjadi neuritis karena penumpukan reaksi antigen antibodi pada saraf (Scollard *et al.*, 2006). Chen *et al.*, 2018 membandingkan penebalan *Cross Sectional Area* (CSA) dengan ultrasonografi saraf pada pasien reaksi ENL dan non reaksi, pada saraf ulnaris, saraf radialis dan saraf peroneus. Didapatkan penebalan saraf yang bermakna pada pasien reaksi dibanding non reaksi (Chen *et al.*, 2018). Dalam suatu penelitian epidemiologis di Nepal, Brakel *et al.*, 1994 memeriksa NFI (*Nerve Function Impairment*) dan melaporkan bahwa pada 59% kasus ENL yang didapatkan dari penelitian tersebut ditemukan gangguan NFI yaitu deteriorasi >2 dari VMT (*Voluntary Movement Test*) dan TST (*Touch Sensibility Test*) pada saraf ulnaris, radialis, ulnaris dan peroneus (Brakel *et al.*, 1994). Didapatkan pembesaran saraf pada semua pasien ENL pada penelitian ini.

Saraf yang paling banyak ditemukan teraba dengan pemeriksaan fisik adalah pembesaran saraf ulnaris saja yaitu sebanyak 9 orang (30%), sementara pasien yang keempat saraf sekaligus membesar dari pemeriksaan saraf (saraf ulnaris, saraf aurikularis magnus, saraf peroneus komunis dan saraf tibialis posterior) didapatkan sebanyak 3 orang (10%).

6.1.7 Riwayat Menderita ENL Sebelumnya

Penelitian ini mendapatkan hanya 20 % pasien yang belum pernah menderita ENL sebelumnya, sementara 80 % lainnya beberapa kali telah mengalami reaksi ENL berulang yaitu kurang dari 5 kali sebanyak 22 orang, dan lebih dari 5 kali sebanyak 8 orang. Perjalanan alami ENL akan berlangsung selama 1-2 minggu namun dalam beberapa bulan seringkali mayoritas pasien mengalami rekurensi (Scollard *et al.* 2006). Hamzah di tahun 2018 mendapatkan perbedaan bermakna pada kadar kortisol antara pasien ENL berulang dibanding yang baru menderita ENL, dari penelitiannya didapatkan 45,4 % kasus ENL adalah kasus yang berulang dan 77,3 % adalah kasus baru ENL (Hamzah dkk.,2018). Rerata kadar kortisol saliva dan TNF- α saliva tidak berbeda pada masing-masing kelompok pasien ENL yang pernah menderita ENL sebelumnya dengan kelompok pasien ENL yang tidak pernah menderita ENL sebelumnya ($P>0.05$).

6.1.8 Suku

Telah diketahui bahwa ENL telah didapatkan muncul pada beberapa etnik dan kelompok populasi atau genotip tertentu. Malang dan Kediri memiliki keanekaragaman penduduk yang sebagian besar adalah suku jawa dan suku madura, selain itu bisa juga didapatkan suku-suku lain seperti banyuwangi, india, arab dan tionghoa. Pada penelitian ini suku jawa adalah suku terbanyak yaitu didapatkan sebesar 76,67% (23 orang) sementara suku lainnya sebanyak 23,33% (7 orang) yang terdiri atas suku madura yaitu 6 orang dan banyuwangi sebanyak 1 orang.

Pengelompokan suku atau grup populasi dilakukan untuk mengetahui angka kejadian eritema nodosum leprosum pada karakteristik suku pada

penelitian ini, namun hanya didapatkan 3 suku yang berbeda. Kita ketahui bahwa di Indonesia terdiri atas beragam suku yang berbeda sehingga 3 suku tidak cukup representatif untuk mewakili suku di dalam populasi, dalam penelitian ini karakteristik suku tidak menunjukkan perbedaan signifikan pada kadar kortisol saliva dan TNF- α saliva ($P>0.05$). Rerata kadar kortisol saliva dan TNF- α saliva tidak berbeda pada masing-masing kelompok suku dalam penelitian ini.

Dasar genetik dari kejadian ENL terus menerus dikaji oleh para ahli dalam berbagai studi terpublikasi, diketahui bahwa HLA-DR2 berasosiasi dengan tipe tuberkuloid dan lepromatosa dari pasien kusta, Individu dengan varian promotor region gen *Tumor Necrosis Factor* (TNF- α) pada posisi 308 memiliki resiko lebih tinggi untuk bermanifestasi sebagai *lepromatous leprosy*, dan polimorfisme dari gen ini juga berkaitan dengan peningkatan level dari *Tumor Necrosis Factor* (TNF- α) yang serumnya banyak ditemukan pada pasien ENL (Roy S *et al.*, 1997 ; Manandhar *et al.*, 1999).

6.1.9 Status Pengobatan Kusta

Sebuah studi klinis menyatakan bahwa meskipun ENL dapat timbul sebelum inisiasi terapi dengan MDT, insiden dari ENL didapatkan lebih tinggi dalam kurun pengobatan dengan MDT (Scollard 1994; Voorend 2013) sehingga status pengobatan kusta menjadi kelompok data dasar yang kami sajikan juga dalam penelitian ini. Dari hasil pengumpulan data 30 pasien dengan ENL yang didapatkan dari penelitian ini, pasien terbanyak diketahui menderita kusta selama 1 tahun hingga 1 tahun 6 bulan. Dengan pasien terbanyak adalah pasien yang masih dalam terapi MDT yaitu 17 orang, sementara 12 orang diketahui mengalami reaksi ENL setelah pasien RFT (*Release From Treatment*). Hal ini sesuai dengan

penelitian Antunes *et al.* yang menyatakan bahwa durasi terapi MDT yang didapatkan pada pasien berkaitan dengan lama terpapar MDT, dimana dalam penelitiannya didapatkan 70% pasien mengalami reaksi ENL setelah dimulainya terapi MDT (*Multi Drug Therapy*) hal ini diakibatkan adanya suatu proses pelepasan dari antigen *Mycobacterium leprae* yang meningkat karena kinerja antimikobakterial dari MDT (Naafs, 1994; Antunes *et al.*, 2013). Hal ini juga mendukung penelitian Rodriguez *et al.*, 2001 yang menyatakan 90% pasien mengalami reaksi ENL pertama kalinya pada 15 bulan setelah pemberian terapi MDT (Rodriguez *et al.*, 2001). Bahkan dinyatakan dalam suatu jurnal terpublikasi, ENL berhubungan dengan kesuksesan terapi dimana degradasi dari *Mycobacterium leprae* yang telah terbunuh akan menyebabkan pelepasan antigen dan menstimulasi produksi antibodi dan respon imun yang dimediasi sel (Naafs, 1994; Spencer *et al.*, 2012; Antunes *et al.*, 2013).

Eritema nodosum leprosum dapat muncul sebelum, selama atau sesudah pemberian terapi MDT (*Multi Drug Treatment*). Frekuensi tertinggi ENL pada terapi MDT terutama pada rentang waktu paska terapi (Bleumink dan Berhe, 1992; Manandhar *et al.*, 1999; Pocaterra *et al.*, 2006). Walaupun seperti beberapa sampel dalam penelitian ini, ENL didapatkan pula pada pasien kusta yang telah selesai terapi dan telah dalam status RFT (*Release From Treatment*) mulai 1 bulan hingga 7 tahun, dan juga satu pasien merupakan kasus baru (*new case detection*). Dalam suatu laporan kasus dilaporkan di RSUD dr. Saiful Anwar Malang reaksi ENL terjadi pada wanita hamil yang telah RFT selama 4 tahun (Widasmara D. dan Yulian I., 2018). Menurut Kumar dalam studi epidemiologi 15 tahun di India mendapatkan, reaksi ENL masih didapatkan bahkan pada pasien

yang RFT (*Release From Treatment*) setelah 8 tahun, meskipun sangat jarang (Kumar *et al.*, 2004).

Beberapa studi menyatakan mayoritas angka kejadian ENL mengalami peningkatan pada 12-24 bulan setelah dimulainya terapi, yaitu mendekati akhir dan setelah pasien selesai mendapatkan terapi MDT hingga rentang 24 bulan (Kumar *et al.*, 2004; Pocaterra *et al.*, 2006), kondisi tersebut linear dengan penelitian ini dimana 60 % (18 orang pasien) yaitu mayoritas pasien, mengalami ENL setelah pasien RFT. Suatu penelitian yang dilakukan di RSUD dr. Soetomo Surabaya mendapatkan 61,9% dari pasien ENL terjadi selama pemberian MDT, sementara 38,1% terjadi sesudah pemberian regimen MDT (Listiawan, 2011).

Pada penelitian ini, pasien yang telah selesai terapi (RFT/*Release From Treatment*) sebanyak 60 % (18 orang), pasien yang masih dalam terapi MDT ≤ 6 bulan sebanyak 20 % (6 orang) dan pasien yang masih mendapat MDT >6 bulan sebanyak 13,33% (4 orang), sementara 6,67% (2 orang) mendapat terapi MDT untuk kedua kalinya dikarenakan dalam status *relapse*. Menurut Brakel dan Balagon, kejadian ENL dilaporkan jarang pada saat pasien mencapai terapi MDT 6 bulan sampai 1 tahun (selesai satu regimen MDT) karena akumulasi klofazimin di jaringan setelah periode terapi tersebut memiliki efek imunosupresif yang bersifat proteksi terhadap ENL. Setelah MDT selesai pada periode satu tahun, dan pasien sudah tidak rutin mendapat klofazimin dan masuk dalam status RFT efek proteksi ini berangsur-angsur menghilang sehingga angka kejadian ENL akan meningkat seperti pada angka kejadian ENL pada penelitian ini, namun diperlukan studi lebih lanjut untuk memperkuat hipotesis ini (Brakel *et al.*, 2007; Balagon *et al.*, 2011; Ayudianti 2014). Rerata kadar kortisol saliva dan TNF- α saliva tidak berbeda pada masing-masing kelompok status pengobatan MDT ($P>0.05$).

6.1.10 Riwayat Penggunaan Kortikosteroid

Pada penelitian ini didapatkan pasien yang memiliki riwayat pernah memakai kortikosteroid. Pasien memakai kortikosteroid yang dieksklusikan dalam penelitian ini yaitu berturut-turut selama 3 minggu (Ayudianti, 2014) dan belum dihentikan lebih dari 14 hari pada pemakaian 30 hari berturut-turut, atau 1 tahun pada pemakaian ≥ 30 hari berturut-turut (Henzen *et al.*, 2000).

Citrashanty pernah melakukan studi untuk mengevaluasi kadar TNF- α dan kortisol serum pada pasien ENL yang diterapi kortikosteroid, dari hasil penelitian tersebut didapatkan hasil rerata kortisol serum menurun seiring dengan semakin lamanya pasien menderita ENL dan semakin lamanya pemakaian kortikosteroid. Hal ini terjadi karena paparan sitokin yang terus menerus dapat menyebabkan kondisi resistensi kortisol dan pemberian kortikosteroid eksogen dapat memberi pengaruh pada aksis HPA (Citrashanty, 2014).

6.2 Pembahasan Korelasi Kadar TNF- α Saliva dan Kadar Kortisol Saliva

Dari hasil analisa hubungan antara kadar TNF- α saliva dan kadar kortisol saliva didapatkan koefisien korelasi sebesar -0,441 ($r = -0,441$) dengan nilai signifikan 0,015 ($p < 0,05$). Sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat korelasi negatif yang signifikan, dengan kata lain, semakin tinggi kadar TNF- α , semakin rendah kadar kortisol. Hal ini berlaku pula sebaliknya bila semakin rendah kadar TNF- α , maka semakin tinggi kadar kortisol. Berdasarkan korelasinya dapat dikelompokkan sebagai berikut:

Pada penelitian ini didapatkan koefisien korelasi sebesar -0,441 sehingga termasuk korelasi yang memiliki keeratan kuat, tabel 6.1 (Sujarweni, 2015).

Tabel 6.1 Interpretasi keeratan korelasi (Sujarweni, 2015)

Nilai r	Tingkat Keeratan Korelasi
0,00 - 0,20	Korelasi keeratan sangat lemah
0,21 - 0,60	Korelasi keeratan lemah
0,41 - 0,70	Korelasi keeratan kuat
0,71 - 0,90	Korelasi keeratan sangat kuat
0,91 - 0,99	Korelasi keeratan kuat sekali
1	Korelasi sempurna

Sepengetahuan penulis, belum ada penelitian sebelumnya yang meneliti hubungan antara kadar kortisol saliva dan TNF- α saliva pada pasien ENL. Pada penelitian ini didapatkan 30% (9 Pasien) kadar kortisol dari semua sampel penelitian yang diperiksa pada pagi hari pukul 08.00-09.00 adalah kurang dari normal sesuai dengan standar kortisol saliva Ljubijankic *et al.*, 2008 yaitu kadar pagi hari (pukul 08.00-09.00) kurang dari 0,1269 $\mu\text{g/dL}$, beracuan pada kadar kortisol saliva normal sebesar 0,1269 $\mu\text{g/dL}$ – 0,9788 $\mu\text{g/dL}$ (Ljubijankic *et al.*, 2008). Pada pemeriksaan semua sampel pasien telah dilakukan pengumpulan sampel saliva pada pagi hari pukul 08.00-09.00 di Poliklinik dan Rawat Inap Kulit dan Kelamin RSUD dr. Saiful Anwar Malang dan RS Kusta Kediri (RS Daha Husada Kediri) untuk menghindari bias fluktuasi diurnal dari kortisol.

Penelitian mengenai kadar kortisol serum pada pasien ENL pernah dilakukan di Surabaya yang mendapatkan 89 % pasien ENL mengalami penurunan kortisol dibawah kadar normal (Wahyudi dkk., 2008). Sementara Christiantika, satu tahun setelahnya, meneliti kadar kortisol pada pasien kusta yang tidak mengalami reaksi dan diketahui bahwa kadar kortisol dalam batas normal (Christiantika, 2009). Berdasarkan penelitian-penelitian tersebut dapat kita tarik hipotesis bahwa apabila kadar kortisol sirkulasi berada dalam kadar yang normal, tubuh secara fisiologis akan mampu mengatasi proses inflamasi yang

timbul selama seseorang menderita kusta. Hal ini berlaku apabila kortisol endogen memadai. Terjadi suatu interaksi agen *Mycobacterium leprae* bersama pejamu (penderita kusta) berupa sitokin-sitokin inflamasi yang ditekan oleh kortisol endogen sebagai kompensasi untuk mengatasi hebatnya inflamasi. Namun apakah berarti pada saat terjadi reaksi, tubuh mengalami defisit kortisol relatif karena hebatnya proses inflamasi dan interaksi sitokin yang terjadi tidak mampu diatasi oleh kortisol endogen? Ataukah sedemikian hebatnya inflamasi, sehingga meskipun kortisol endogen dalam batas normal, namun tidak cukup untuk mengatasi hebatnya inflamasi? Apakah dengan demikian kortikosteroid eksogen menjadi diperlukan oleh tubuh, sehingga menjadi rasional suatu pemberian terapi kortikosteroid? Berkembang dari keingintahuan tersebut, bagaimana sebenarnya peran kortisol dalam suatu reaksi ENL dan dengan apa interaksinya sehingga proses patologi dari ENL berlangsung dalam tubuh pejamu?

Shuttle enzim kortisol (*cortisone-cortisol shuttle*) berada pada kulit, pembuluh darah dan jaringan saraf (gambar 2.12). Dalam kondisi fisiologis, inhibisi dari aktifitas *shuttle* enzim ini akan meningkatkan efek anti inflamasi dari kortisol, dan diikuti dengan peningkatan kortisol (Rook dan Baker 1999). Pada ENL, terjadi suatu *breakdown* dari mekanisme *shuttle enzim* yang meregulasi konsentrasi efektif dari kortisol endogen pejamu, sehingga kortisol menurun (Rook and Baker 1999). Padahal efek anti inflamasi dari kortisol diperlukan tubuh untuk mengatasi peradangan sistem hebat yang timbul dari perjalanan patologi ENL.

Berdasarkan pemahaman lebih dalam mengenai *shuttle* enzim kortisol, ENL diduga dicetuskan oleh adanya gangguan mekanisme yang meregulasi konsentrasi kortisol endogen terutama pada kulit, karena proses regulasi kortisol lokal diregulasi oleh produksi sitokin lokal. Kortisol mampu menghambat

pertumbuhan dan proliferasi makrofag pada fase G1 dengan menghambat produksi mRNA IL-1 β . Sementara itu, level kortisol secara sistemik dipengaruhi terutama oleh sitokin proinflamasi salah satunya adalah TNF- α (Joyce *et al.*, 1997, Zhang *et al.*, 1997).

Aktivitas dari *shuttle* kortisol ini, dan kearah mana *shuttle* kortisol ini beroperasi diregulasi oleh beberapa faktor termasuk sitokin (Rook dan Baker 1999). Hal ini akan menyebabkan adanya gerak keseimbangan atau *shift* konsentrasi efektif kortisol pada lokasi inflamasi tergantung besarnya derajat inflamasi. Pandhi dan Chhabra berpendapat *shuttle* kortisol ini dapat menjadi target potensial untuk pilihan terapi baru ENL di masa depan karena perubahan aktivitas dari *shuttle* kortisol pada suatu lesi lepra turut mengambil bagian dalam patogenesis ENL (Pandhi dan Chhabra, 2013).

Penelitian yang dilakukan oleh Anderson mendapatkan adanya *down* regulasi dari ekspresi gen dari 1 *beta hydroxysteroid dehydrogenase 2* (11 β -OHSD-2), suatu enzim yang terlibat dalam kortison kortisol *shuttle* (gambar 2.11).

Diketahui bahwa enzim tersebut mengkonversi kortisol menjadi kortison pada saat terjadi reaksi kusta dan setelah mendapat terapi kortikosteroid dengan prednisolone, enzim tersebut menunjukan arah sebaliknya dari ekspresi gen 1 *beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2* (11 β -OHSD-2). Hal ini menjadi salah satu dugaan bagaimana terapi kortisol eksogen dapat membantu perbaikan klinis ENL pada *shuttle* kortisol.

Berlanjut dari *shuttle* kortisol, lama paparan kortisol diduga mempengaruhi kinerja kortisol dalam ENL. Dalam suatu penelitian oleh Hamzah, didapatkan perbedaan bermakna kadar kortisol serum pada pasien ENL baru dan Pasien ENL berulang. Hal ini terjadi selain karena aktifnya kortisol dalam meregulasi inflamasi

yang hebat pada ENL, pada suatu titik bila rangsangan inflamasi sitokin terjadi terus menerus dalam waktu yang lama, maka akan terjadi kelelahan korteks adrenal sehingga kadar kortisol akan turun (Andersson *et al.*, 2007; Hamzah dkk., 2018).

Selain kortisol shuttle, paparan kronis sitokin dan derajat sitokin, ada faktor lain yang diduga berpengaruh pada kinerja kortisol dalam ENL yaitu afinitas kortisol pada reseptornya. Paparan simultan dari sitokin proinflamasi secara kronis diduga akan mampu melemahkan reseptor kortisol. Akibat penurunan afinitas kortisol terhadap reseptor maka semakin rendah potensi antiinflamasi dari kortisol sehingga reaksi ENL terjadi (Kam *et al.*, 1993 ; Nimmagadda *et al.*, 1997).

Penelitian Ayudianti di tahun 2014 memeriksa kadar serum kortisol pada pasien ENL baru (belum pernah menderita ENL sebelumnya) dan didapatkan semuanya lebih rendah dari normal, meskipun pada penelitian Ayudianti tidak dilakukan suatu uji statistik (Ayudianti dkk., 2014). Berbeda dengan hasil dari penelitian ini yang hanya didapatkan 30% pasien Eritema Nodosum Leprosum mengalami penurunan kortisol saliva dari kadar normal, namun dengan karakteristik subyek yang berbeda karena tidak menggunakan kriteria pasien ENL baru.

Salah satu penelitian yang mendukung bahwa logika penurunan kortisol pada pasien dengan ENL bukan menjadi satu-satunya variabel yang mempengaruhi patogenesis dari ENL dikemukakan oleh Citrashanty yang mendapatkan bahwa tidak semua pasien ENL mengalami penurunan kortisol.

Dalam penelitian Citrashanty hanya pasien yang menderita ENL >24-36 bulan yang memiliki kortisol serum lebih rendah dari normal dengan rerata 1,17 µg/dL (Kadar normal serum kortisol 4,458 µg/dL - 22,692 µg/dL), sementara pada pasien

yang menderita ENL pertama kalinya >12-24 bulan memiliki kadar kortisol serum sebesar 8,75 µg/dL dan ENL baru yaitu 1-12 bulan sebesar 15,23 µg/dL.

Citrashanty juga mendapatkan bahwa rerata kadar kortisol seluruh pasien ENL tidak menurun pada penelitiannya yaitu sebesar 7,82 µg/dL (Kadar normal serum kortisol 4,458 µg/dL - 22,692 µg/dL). Rerata kadar kortisol hanya menurun pada ENL ringan yaitu 3,35 µg/dL sementara pada ENL moderat dan ENL berat kadarnya normal yaitu masing-masing sebesar 11,75 µg/dL dan 9,11 µg/dL (Ljubijankic *et al.*, 2008; Citrashanty dkk., 2014).

Selain itu, pada penelitian studi potong lintang yang dilakukan oleh Citrashanty dicetuskan hipotesis bahwa kemungkinan ada hubungan antara kortisol serum dan TNF-α serum, karena penurunan kortisol serum diikuti kenaikan TNF-α serum pada pasien dengan reaksi ENL meskipun perlu studi lebih lanjut untuk mengetahui hubungan keduanya (Citrashanty dkk., 2014).

Berdasar pada penelitian tersebut, pemahaman logika bahwa penurunan kortisol saja mempengaruhi progresivitas, patogenesis dan perjalanan penyakit dari ENL sehingga pasien memerlukan kortikosteroid eksogen menjadi tidak sesederhana itu. Dalam penelitian lainnya, Citrashanty melakukan suatu studi potong lintang deskriptif yang mendapatkan peningkatan kadar TNF-α pada berbagai derajat keparahan ENL yang diterapi dengan kortikosteroid (Citrashanty dkk., 2013). Pemahaman mengenai hubungan antara TNF-α dan kortisol menjadi semakin penting untuk diketahui dalam patogenesis ENL.

Sepengetahuan penulis, belum ada penelitian sebelumnya yang meneliti hubungan antara kadar kortisol saliva dan TNF-α saliva pada pasien ENL. Mahardika dkk. di tahun 2016 melakukan penelitian deskriptif observasional potong lintang di tahun 2016 di RSUD dr. Saiful Anwar Malang dan RS Kusta

Kediri, tempat yang sama dimana peneliti dalam penelitian ini melakukan pengambilan sampel, dan menyimpulkan bahwa terdapat perbedaan kadar TNF- α pada jaringan kulit (secara biopsi dengan pengecatan imunohistokimiawi) pasien MB dan PB di RSUD dr. Saiful Anwar Malang dan RS Kusta Kediri (Mahardika dkk., 2016), namun hingga kini belum diketahui perbedaan tersebut pada pasien ENL. Berdasar dari penelitian observasional potong lintang deskriptif Ayudianti dan Citrashanty mengenai penurunan kortisol serum dan kenaikan TNF- α serum pada pasien dengan reaksi ENL, penelitian ini diharapkan memperluas cakrawala mengenai hubungan/korelasi diantara kedua unsur tersebut, yaitu kortisol dan TNF- α dalam patogenesis ENL yang belum jelas diketahui perannya.

Hubungan antara kedua variabel kortisol dan TNF- α ini membuat studi mengenai dua variabel ini semakin menarik untuk diketahui dalam mengungkap pemahaman ENL yang patogenesisnya secara rinci masih belum jelas. Dharmasanti di tahun 2010, mendapatkan peningkatan TNF- α yang bermakna ($p < 0,05$) pada jaringan kulit yang diambil melalui biopsi plang dan pewarnaan imunohistokimiawi dengan *Indirect ABC* (Kompleks Avidin Biotin Indirek) pada pasien ENL. Hubungan yang cukup kuat didapatkan dan disimpulkan bahwa semakin berat kondisi ENL maka kadar TNF- α di jaringan kulit akan semakin meningkat, TNF- α dinyatakan memiliki peran yang penting dalam patogenesis ENL.

Menelaah lebih dalam penelitian Dharmasanti yang menemukan ekspresi TNF- α yang tinggi pada jaringan kulit pada pasien ENL, hal tersebut membuat pertanyaan baru akan sel apa yang memproduksi. Silva di tahun 1989, pernah menyatakan bahwa peningkatan TNF- α pada pasien ENL diakibatkan produksi TNF- α oleh makrofag yang berlokasi pada jaringan atau sel-sel lain di jaringan

yang dipicu oleh komponen polisakarida dari *Mycobacterium leprae*, yang muncul akibat fragmen mikobakterium yang endapannya terakumulasi di jaringan.

Mycobacterium leprae dapat menginduksi baik respon imun humoral maupun seluler. Komponen imunogenik dari *Mycobacterium leprae* adalah polisakarida dan protein, polisakarida terutama akan menginduksi respon imun humoral, sementara protein menginduksi keduanya. Lebih jauh lagi, materi imunogen dari *Mycobacterium leprae* dibedakan menjadi dua kelompok utama yaitu antigen sitoplasma dan antigen yang secara aktif disekresikan oleh sel mikobakteri, suatu *species specific phenolic glycolipid* (PGL-1) telah diidentifikasi pada *Mycobacterium leprae* yang diketahui juga juga memiliki kapasitas imunogenik (Silva 1989; Lockwood, 2017). Produksi TNF- α ini akan melonjak secara lokal tergantung organ yang terlibat dalam perjalanan patologis dari ENL. Hal ini juga menjelaskan mengapa proses patologis ENL dapat bermanifestasi di mata, testis, kulit, sendi, atau organ lain hingga dapat ditegakkan diagnosis dari ENL berdasarkan kriteria Naafs, 2003 dan Lockwood, 2017 yang secara klinis melibatkan kulit dan beberapa jaringan tubuh lainnya (Silva,1989 ; Naafs, 2003 ; Lockwood, 2017) .

Ditarik dari keingintahuan akan sel mana di jaringan yang memproduksi TNF- α dan berperan dalam patogenesis ENL, Listiawan di tahun 2011 meneliti peningkatan ekspresi TLR 2/1 pada lesi kulit pasien ENL dan pasien MB tanpa ENL. Penelitian Listiawan mendapatkan bahwa pada pasien ENL didapatkan makrofag perivaskuler yang mengekspresikan TLR 2/1 pada permukaannya, sementara pada pasien MB non ENL ekspresi TLR2/1 tidak didapatkan, dengan perbedaan yang signifikan $p<0,005$. Hasil penelitian ini menguatkan hipotesis Silva di masa lalu bahwa peningkatan TNF- α di sirkulasi terjadi karena adanya fragmen

kuman terutama dinding sel *Mycobacterium leprae* dan materi polisakarida (Silva, 1989; Listiawan dkk., 2011).

Penelitian terbaru oleh Darmaputra di tahun 2018, yang melakukan biopsi plong (4 mm) pada pasien ENL dan melakukan pengecatan imunohistokimia yang bekerjasama dengan Departemen Biokimia Biomolekuler Universitas Brawijaya Malang untuk pemrosesan sampel dengan *rotary microtome*, pengecatan *Haematoxylin Eosin*, dan pemeriksaan imunohistokimia dengan anti TNF- α .

Darmaputra dkk. mendapatkan neutrofil yang mengekspresikan TNF- α yang meningkat secara signifikan ($p < 0,05$) pada pasien ENL dibandingkan dengan kontrol non ENL. Peningkatan TNF- α pada sel neutrofil pasien ENL dinyatakan memegang peranan dalam kerusakan saraf dermal (*dermal nerves damage*) karena neutrofil mampu memproduksi radikal bebas dan juga sitokin proinflamasi yaitu TNF- α (Darmaputra dkk., 2018).

Pasien dalam kondisi ENL akan memiliki kadar TNF- α yang meningkat (Makino *et al.*, 2011). Sejalan dengan hal tersebut, Gaillard *et al.*, (1990) dan Sarno *et al.*, (1991) menyatakan peningkatan konsentrasi dari TNF- α pada pasien ENL.

Andrade di tahun 2016, menemukan bahwa TNF- α meningkat baik pada darah maupun jaringan pada pasien ENL, dan lebih jauh lagi TNF- α terbukti menyebabkan kerusakan saraf, baik efeknya secara individu atau bersama-sama dengan mediator lain (Andrade *et al.*, 2016). Studi menyatakan bahwa TNF- α pada kultur spinal mencit dapat menyebabkan demyelinisasi dan nekrosis dari *oligodendrocyte* (Selmaj, 1988). Skoff dalam studinya juga menyatakan bahwa TNF- α bersama TGF- β memiliki efek toksik dan menyebabkan lisis sel schwann secara cepat (Skof, 1998). Sitokin TNF- α memegang peranan penting dalam patogenesis ENL, aktivasi sel T dan makrofag menginduksi produksi masif dari

TNF- α , sumber tambahan TNF- α adalah kondisi infiltrasi neutrofil yang intens pada ENL dan leukositosis yang dapat muncul (Selmaj, 1988; Skof, 1998; Darmaputera dkk., 2018).

Hubungan antara TNF- α dan kortisol dipaparkan oleh Jaattela dan Natarajan bahwa TNF- α menurunkan sintesis kortisol adrenal dengan menghambat kemampuan stimulasi dari ACTH dan angiotensin II pada sel-sel adrenal, meskipun pemahaman hubungan antara keduanya diperdalam setelah diketahui bahwa agen anti TNF- α mampu memperbaiki kondisi ENL. Sampaio mempublikasikan bahwa agen penekan TNF- α (dalam hal ini ia menggunakan pentoksifilin) secara *in vitro* dan *in vivo* akan menurunkan secara kadar TNF- α pada pasien ENL secara nyata pada hari ke 7 (Sampaio *et al* 1998, Natasha *et al.*, 2018). Dari penelitian ini didapatkan korelasi negatif yang signifikan ($p < 0.05$) antara kadar kortisol saliva dan TNF- α saliva yang berarti pada pasien ENL semakin tinggi kadar TNF- α saliva maka semakin rendah kadar kortisol saliva. Demikian sebaliknya, semakin tinggi kadar kortisol saliva, semakin rendah kadar TNF- α saliva, dengan keeratan korelasi kuat (Sujarweni, 2015).

Kadar kortisol endogen pasien dapat dievaluasi dengan pemeriksaan sederhana dengan sediaan saliva seperti yang dilakukan dalam penelitian ini yang meski belum rutin digunakan dalam praktek klinis sehari-hari dapat menjadi pilihan yang tidak invasif, relative mudah dan nyaman bagi pasien.

Tidak semua pasien ENL dalam penelitian mengalami penurunan kortisol saliva dengan standar kortisol saliva orang normal (Ljubijankic *et al.*, 2008). Fenomena ini terjadi kemungkinan karena bukan hanya kortisol saja yang berperan dalam patogenesis ENL, namun adanya interaksi kompleks antar sitokin yang terlibat dalam pathogenesis ENL. Pemberian terapi standar yaitu pemberian

kortikosteroid eksogen dapat dihipotesiskan tidak selalu menjadi jawaban untuk memperbaiki kondisi klinis pada pasien ENL. Sehingga menjadi rasional dan dapat dipertimbangkan untuk pemberian agen anti TNF- α dalam penatalaksanaan pasien ENL dan bukan hanya kortikosteroid eksogen saja, karena adanya hubungan antara kedua variabel ini dalam ENL. Pasien-pasien dengan kadar kortisol normal dengan TNF- α yang meningkat perlu dipertimbangkan untuk pemilihan terapi dengan agen lain, terutama yang bertarget pada TNF- α yang mulai diketahui cukup penting peranannya dalam patogenesis ENL. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk memperkuat pendapat ini.

6.3 Kelemahan Penelitian

Pada penelitian ini didapatkan beberapa kelemahan yang dapat menjadikan adanya bias antara lain yaitu adanya variasi kadar kortisol dan TNF- α yang disebabkan karena reaksi ENL yang dapat terjadi dalam beberapa derajat keparahan yaitu ringan, sedang maupun berat meskipun factor perancu lain sudah berusaha untuk dikurangi. Pasien tua, memiliki masalah pengumpulan saliva yang lebih lama dibandingkan pasien yang lebih muda dikarenakan pada usia tua produksi saliva semakin menurun secara signifikan sehingga meski sampel tetap dapat dikumpulkan pemeriksaan sampel ini bisa memerlukan waktu yang lebih lama dan edukasi yang khusus pada pasien yang lebih tua.

BAB 7

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Penelitian analitik observasional potong lintang yang telah dilakukan pada subyek 30 pasien ENL yang datang di Poliklinik dan Rawat Inap RSUD dr. Saiful Anwar Malang dan RS Kusta Kediri (Daha Husada Kediri) adalah:

1. Nilai rerata kortisol saliva pada subyek pasien ENL sebesar 0.210 $\mu\text{g/dL}$.
2. Nilai rerata TNF- α saliva pada subyek pasien ENL sebesar 171.060 ng/L.
3. Dari hasil tersebut diatas disimpulkan bahwa pada pasien ENL, semakin tinggi kadar TNF- α saliva, semakin rendah kadar kortisol saliva. Demikian sebaliknya, semakin tinggi kadar kortisol saliva, semakin rendah kadar TNF- α saliva, dengan keeratan korelasi kuat.

7.2 Saran

1. Perlu dilakukan suatu penelitian lebih lanjut tentang hubungan TNF- α dan kortisol saliva pada berbagai derajat keparahan pasien ENL.
2. Pemeriksaan saliva dapat dijadikan suatu pilihan pemeriksaan laboratoris yang tidak invasif, relatif mudah dan nyaman bagi pasien.
3. Imunopatogenesis ENL perlu dipahami secara menyeluruh, khususnya peran TNF- α dan kortisol pada terjadinya reaksi ENL, serta memahami peran TNF- α dalam penatalaksanaan ENL.

4. Penggunaan agen anti TNF- α yang saat ini belum menjadi pilihan dalam terapi ENL sehari-hari patut dipertimbangkan sebagai pilihan terapi eritema nodosum leprosum.



DAFTAR PUSTAKA

Adisty, N.I., Hutomo, M. dan Indramaya, D.M. 2015, Kadar Kortisol Saliva Menggambarkan Kadar Kortisol Serum Pasien Dermatitis Atopik, *Berkala Ilmu Kesehatan Kulit*, 27(3): 84-9.

Ahmed, U.S., Babu, G.R., Aerts, A., Aloudal, R., Aung, L., et al. 2016, *Global Leprosy Strategy 2016-2020: Accelerating towards a leprosy-free world*, WHO Regional Office for South-East Asia.

Aliprantis, A.O., Yang, R.B., Mark, M.R., Suggett, S., Devaux, B., Radolf, J.D., Klimpel, G.R., Godowski, P. and Zychlinsky, A. 1999, Cell activation and apoptosis by bacterial lipoproteins through toll-like receptor-2, *Science*, 285(5428):736-9.

Andersson, A.K., Atkinson, S.E., Khanolkar-Young, S., Chaduvula, M., Jain, S., Suneetha, L., Suneetha, S. and Lockwood, D.N. 2007, Alteration of the cortisol-cortisone shuttle in leprosy type 1 reactions in leprosy patients in Hyderabad, India, *Immunology letters*, 109(1):72-5.

Andrade PR, Jardim MR, Silca ACCD., et al. In ammatory Cytokines. Are Involved in Focal Demyelination in Leprosy Neuritis. *J Neuropathol Exp Neurol* Vol. 75, No. 3, March 2016, pp. 272–283.

Antunes, D.E., Araujo, S., Ferreira, G.P., Cunha, A.C.S.R.D., Costa, A.V.D., Gonçalves, M.A. and Goulart, I.M.B., 2013. Identification of clinical, epidemiological and laboratory risk factors for leprosy reactions during and after multidrug therapy. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 108(7), pp.901-908.

Arikunto, S. 2014, *Prosedur Penelitian*, Penerbit Rineka Cipta, Jakarta.

Arora, M., Katoch, K., Natrajan, M., Kamal, R., Yadav, V.S. 2008, 3 Changing Profile of Disease in Leprosy Patients Diagnosed in a Tertiary Care Centre during Years 1995-2000, *Indian journal of leprosy*, 80(3):257.

Ayudianti, P., Suyoso, S., Indramaya, D.M. 2014, Kadar Kortisol Serum Pasien Eritema Nodosum Leprosum (ENL) Baru, *Berkala Ilmu Kesehatan Kulit*, 26(2):90-6.

Balagon M, Saunderson PR, Gelber RH. Does clofazimine prevent Erythema Nodosum Leprosum (ENL) in leprosy? A retrospective study, comparing the experience of multibacillary patients receiving either 12 or 24 months WHO-MDT. *Lepr Rev* 2011; 82: 213-21.

Barnes, P.F., Chatterjee, D., Brennan, P.J., Rea, T.H. and Modlin, R.L. 1992, Tumor necrosis factor production in patients with leprosy, *Infection and immunity*, 60(4):1441-6.

Bateman, A., Singh, A., Kral, T., et al. 1989, The immune-hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Endocr Rev*, 10:92–112.

Becx-Bleumink, M., Berhe, D. 1992, Occurrence of reactions, their diagnosis and management in leprosy patients treated with multidrug therapy; experience in the leprosy control program of the All Africa Leprosy and Rehabilitation Training Center (ALERT) in Ethiopia. *Int. J. Lepr. Other Mycobact. Dis.* 60, 173–184.

Beishuizen, A., Thijs, L.G., and Vermes, I. 2001, Patterns of cortico-steroid-binding globulin and free cortisol index during septic shock and multitrauma. *Intensive Care Med*, 27:1584 –91.

Belgaumkar, V.A., Gokhale N.R., Mahajan P.M., Bharadwaj R., Pandit D.P., Deshpande S., 2007. Circulating Cytokine Profile in Leprosy Patients, *Leprosy Review*, (78)3: 223–230.

Belkaid, Y. 2007, Regulatory T cells and infection: a dangerous necessity. *Nature reviews. Immunology*. Nov 2007, 7(11):875.

Bernardy, N.C., King, A.C., Parsons, O.A. and Lovallo, W.R. 1996, Altered cortisol response in sober alcoholics: an examination of contributing factors. *Alcohol*, 13(5), pp.493-498.

Besedovsky, H.O., del Ray, A. 1996, Immuno-neuro-endocrine interactions: facts and hypotheses. *Endocr Rev*, 17:64–102.

Beutler, B. and Cerami, A. 1988, The common mediator of shock, cachexia, and tumor necrosis. *Adv Immunol*, 42: 213-31.

Bioassay Technology Laboratory, 2019. Human Tumor Necrosis Factor Alpha ELISA User Instruction.

Brakel W, Nicholls PG, Lockwood DN, Rao PS, Smith WC. 2007, A scale to assess the severity of leprosy reactions. *Lepr Rev*, 78:161-4

Brightbill, H.D., Libraty, D.H., Krutzik, S.R., Yang, R.B., Belisle, J.T., Bleharski, J.R., Maitland, M., Norgard, M.V., Plevy, S.E., Smale, S.T., et al. 1999, Host defense mechanisms triggered by microbial lipoproteins through toll-like receptors. *Science*, 285:732–6.

Bryceson, A. dan Pfaltzgraff R.E. 1990, *Leprosy Medicine in the Tropics, Leprosy*. Edisi ke-3, Longman Singapore Publishers, Singapore.

Cardoso, C.C., Pereira, A.C., de Sales. Marques, C. and. Moraes, M.O., 2011. Leprosy susceptibility: genetic variations regulate innate and adaptive immunity, and disease outcome. *Future Microbiology*, 6(5), pp.533-549.

Chandler, D.J., Hansen, K.S., Mahato, B., Darlong, J., John, A. and Lockwood, D.N. 2015, Household costs of leprosy reactions (ENL) in rural India, *PLoS neglected tropical diseases*, 9(1):e0003431.

Chen X, Zhang L, Huang M, Zhai X, Wen Y, Pan C. 2018, Coexistence of Nerve Enlargement and Neuratrophy Detected by Ultrasonography in Leprosy Patients. *Scientific reports*, 8(1):7812.

Chopra, N.K., Agrawal, J.S. and Pandya, P.G., 1990. Reactions in Leprosy: A Study of 250 Patients in a Multidrug Therapy Project, Baroda, District, Gujarat, India. *International journal of dermatology*, 29(7), pp. 490-493.

Christiana, Lenna. 2004. 'Kusta. Subklinis dengan Pemeriksaan MLPA dan Faktor - Faktor yang Mempengaruhi'. Disertasi, Dr, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro, Semarang.

Christiantika I, Suyoso S, Indramaya, 2009. DM. 'Kadar plasma kortisol pada pasien kusta baru tipe MB' Tesis, Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga, Surabaya.

Citrashanty, I., Suyoso, S., Rahmadewi, Rosita, C., Agusni, I. 2013, TNF- α and Cortisol Serum in Varying Severity Scale of Erythema Nodosum Leprosum Treated with Corticosteroid, paper presented to the Scientific Meeting of 18th International Leprosy Congress Hidden Challenges, Brussels.

Citrashanty, I., Suyoso, S., dan Rahmadewi. 2014, Insufisiensi Adrenal Sekunder pada Eritema Nodosum leprosum: Studi Profil TNF- α dan kortisol Serum, *Berkala Ilmu Kesehatan Kulit*, 26(2):84-9.

Clark, P.M., Neylon, I., Raggatt, P.R., Sheppard, M.C. and Stewart, P.M. 1998, Defining the normal cortisol response to the short Synacthen test: implications for the investigation of hypothalamic-pituitary disorders, *Clinical endocrinology*, 49(3):287-92.

Cooper, M.S. and Stewart, P.M. 2003, Corticosteroid insufficiency in acutely ill patients, *New England Journal of Medicine*, 348(8):727-34.

Cortela, D.C.B., de Souza Junior, A.L., Virmond, M.C.L. and Ignotti, E. 2015, Inflammatory mediators of leprosy reactional episodes and dental infections: a systematic review. *Mediators of inflammation*.

Costa, P.D.S.S., Fraga, L.R., Kowalski, T.W., Daxbacher, E.L.R., Schuler-Faccini, L. Vianna, F.S.L., 2018. Erythema Nodosum Leprosum: Update and challenges on the treatment of a neglected condition. *Acta tropica*, 183, pp.134-141.

Dahlan, S. 2016, *Besar Sampel dalam penelitian Kedokteran dan Kesehatan*, Penerbit Epidemiologi Indonesia, Jakarta. Indonesia.

Darmaputra, I.G.N., Herwanto, N., Rusyati, L.M., Riawan, W., Endaryanto, A. and Prakoeswa, C.R.S., 2018. Distribution of iNOS expressions and TNF neutrophil cells as well as PGE2 and S100 Schwann cell dermal nerves in the erythema nodosum leprosum patients. *Bali Medical Journal*, 7(1), pp.262-266.

Dave S, Thappa D.M, Nori A.V, Jayanthi S.2003, A Rare Variant of Erythema Nodosum Leprosum : A case report, 4-5.

De Aguiar, M.C.S., Perinetti, G. and Capelli, J. 2017, The gingival crevicular fluid as a source of biomarkers to enhance efficiency of orthodontic and functional treatment of growing patients, *BioMed Research International*.

Delphine, J., Lee, Thomas, H., Rea and Robert, L.M. 2012, Leprosy dalam Wolff Klaus, Goldsmith Lowell A, Katz Stephen I, Gilchrist Barbara A, Paller Amy S, Leffel David J, penyunting. *Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine*. Edisi ke 8. McGraw-Hill, New York, h. 2253-63.

Dharmasanti, P.A, Listiawan, M.Y, Agusni, I. 2010, Ekspresi TNF- α di Jaringan Kulit pada Eritema Nodosum Leprosum (TNF- α Expression of Skin Tissue in Erythema Nodosum Leprosum), *Berkala Ilmu Kesehatan Kulit*, 22(3):185-8.

Duncan, M.E., Pearson, J.M. 1984, The association of pregnancy and leprosy. III: Erythema nodosum leprosum in pregnancy and lactation, *Leprosy review*, 55(2):129-42.

Ekasari, D.P., Sugiman, T., Widiatmoko, A., 2018. Kadar Tumor Necrosis Factor- α Plasma pada Berbagai Derajat Keparahan Akne Vulgaris di RSUD dr. Saiful Anwar Malang. *Majalah Kesehatan FKUB*, 5(2), pp.84-93.

Elbuken, G., Karaca, Z., Tanriverdi, F., Unluhizarci, K., Sungur, M., Doganay, M. and Kelestimur, F., 2016. Comparison of total, salivary and calculated free cortisol levels in patients with severe sepsis. *Journal of intensive care*, 4(1), p.3.

Escher, G., Galli, I., Vishwanath, B.S., Frey, B.M. and Frey, F.J. 1997, Tumor necrosis factor α and interleukin 1β enhance the cortisone/cortisol shuttle, *Journal of Experimental Medicine*, 186(2):189-98.

Faber, W.R., Jensema, A.J. and Goldschmidt, W.F. 2006, Treatment of recurrent erythema nodosum leprosum with infliximab, *New England Journal of Medicine*, 355(7):739.

Fortes, A., Pereira, K., Antas, P.R.Z., Franken, C.L., Dalcolmo, M., et al. 2005, Detection of in vitro interferon- γ and serum tumour necrosis factor- α in multidrug-resistant tuberculosis patients, *Clin. Exp. Immunol.*, 141:541-8.

Gafni, R.I., Papanicolaou, D.A. and Nieman, L.K. 2000, Nighttime salivary cortisol measurement as a simple, noninvasive, outpatient screening test for Cushing's syndrome in children and adolescents, *The Journal of pediatrics*, 137(1):30-5.

Gaillard, R.C., Turnill, D., Sappino, P., et al. 1990, Tumor necrosis factor inhibits the hormonal response of the pituitary gland to hypothalamic releasing factors, *Endocrinology*, 127:101-6.

Goiabeira, A.Y.N.L., Rolim, I.L.T.P., de Aquino, D.M.C., da Silva Soeiro, V.M., Inácio, A.S. and de Sousa Queiroz, R.C. 2018, Epidemiological and clinical profile of leprosy in a hyperendemic capital, *Journal of Nursing UFPE on line*, 12(6):1507-13.

Gupta A, Sharma VK, Vohra H, Ganguly NK. 1999, Inhibition of apoptosis by ionomycin and zinc in peripheral mononuclear cells (PBMC) of leprosy patients. *Clin Exp Immunol*, 117: 56-62.

Gunnar, M.R., Conors, J. and Isensee, J. 1989, Lack of stability in neonatal adrenocortical reactivity because of rapid habituation of the ad-renocortical response, *Dev. Psychobiol*, 22(3):221-33.

Hamzah MS, Darwin E, Decroli E, Pamudji R. 2018, Peran Transforming Growth Factor - β pada reaksi Eritema Nodosum leprosum Berulang . *MDVI*, 45; 173-6.

Handley, R., Mondelli, V., Zelaya, F., Marques, T., Taylor, H., Reinders, A.A., Chaddock, C., McQueen, G., Hubbard, K., Papadopoulos, A. and Williams, S. 2016, Effects of antipsychotics on cortisol, interleukin-6 and hippocampal perfusion in healthy volunteers, *Schizophrenia research*, 174(1-3):99-105.

Harris, B., Watkins, S., Cook, N., Walker, R.F., Read, G.F., Riad-Fahmy, D. 1990, Comparisons of plasma and salivary cortisol determinations for the diagnostics efficacy of the dexamethasone suppression test, *Biol. Psychiatry*, 27:897-904.

Haslett, P.A., Roche, P., Butlin, C.R., Macdonald, M., Shrestha, N., Manandhar, R., LeMaster, J., Hawksworth, R., Shah, M., Lubinsky, A.S. and Albert, M. 2005, Effective treatment of erythema nodosum leprosum with thalidomide is associated with immune stimulation, *The Journal of infectious diseases*, 192(12):2045-53.

Heiniger, C.D., Rochat, M.K., Frey, F.J. and Frey, B.M. 2001, TNF- α enhances intracellular glucocorticoid availability, *FEBS letters*, 507(3):351-356.

Henzen, C., Suter, A., Lerch E, et al. 2000, Suppression and recovery of adrenal response after short-term high-dose glucocorticoid treatment, *Lancet*, 355:542-545.

Iftitah, Z. 2017, 'Pemodelan Kasus Kusta Pausi Basiler dan Kasus Kusta Multi Basiler di Provinsi Jawa Timur Menggunakan Regresi Binomial Negatif Bivariat', Tesis, Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga, Surabaya.

Ikawati M, Djuanda A, Hamzah M, Wisnu IM. 1996, Uji MLPA pada Deteksi Infeksi Subklinis Kelompok Narakontak Serumah Penderita Kusta Multibasilar. MDVI, 24; 96-102.

Ilstyrini, E., Soebono H., 2014. "Hubungan. Antara. Parameter Bakteriologi dengan Awitan dan Episode Eritema Nodosum Leprosum pada Penderita Kusta Multibasiler". Disertasi, Dr., Fakultas Kedokteran, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

Jaattela, M., Carpen, O., Stenman, U.H., et al. 1990, Regulation of ACTH-induced steroidogenesis in human fetal adrenals by rTNF- α , *Mol Cell Endocrinol*, 68:31-36.

Jaattela, M., Ilvesmaki, V., Voutilainen, R., et al. 1991, Tumor necrosis factor as a potent inhibitor of adrenocorticotropin-induced cortisol production and steroidogenic P450 enzyme gene expression in cultured human fetal adrenal cells, *Endocrinology*, 128:623-629.

James, W.D., Berger, T., Elston, D.M. 2006, *Andrew's Diseases of the Skin: Clinical Dermatology*, Edisi ke-10, Saunders Elsevier, Philadelphia.

Job, C.K., Jayakumar, J., Kearney, M. and Gillis, T.P., 2008. Transmission of leprosy: a study of skin and nasal secretions of household contacts of leprosy patients using PCR. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 78(3), pp.518-521.

Joseph, R.M., Ray, D.W., Keevil, B., van Staa, T.P. Dixon, W.G., 2018. Low salivary cortisol levels in patients with rheumatoid arthritis exposed to oral glucocorticoids: a cross-sectional study set within UK electronic health records. *RMD open*, 4(2), p.e000700.

Katsuki, A., Sumida, Y., Murashima, S., Murata, K., Takarada, Y., Ito, K., Fujii, M., Tsuchihashi, K., Goto, H., Nakatani, K. and Yano, Y., 1998. Serum levels of tumor necrosis factor- α are increased in obese patients with noninsulin-dependent diabetes mellitus. *The Journal of Clinical Endocrinology Metabolism*, 83(3), pp.859-862.

Kahawita, I.P. and Lockwood, D.N. 2008, Leprosy tipe 2 reactions and erythema nodosum leprosum, *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 83(1):75-82.

Kahawita, I.P. and Lockwood, D.N. 2008, Towards understanding the pathology of erythema nodosum leprosum, *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 102(4):329-337.

Kaimal, S., Thappa, D.M. 2009, Relapse in leprosy, *Indian J Dermatol Venereol Leprol*, 75:126-134.

Kam, J.C., Szeffler, S.J., Surs, W., Sher, E.R. and Leung, D.Y. 1993, Combination IL-2 and IL-4 reduces glucocorticoid receptor-binding affinity and T cell response to glucocorticoids, *Journal of Immunology*, 151:3460–66.

Kar, H.K. dan Sharma, P. 2015, Leprosy Reactions dalam Kar, H.K., Kumar, B., penyunting. *IAL Textbook of Leprosy*. Edisi ke-1. Jaypee Brothers Medical Publishers, h. 269-89.

Pusdatin Kementerian Kesehatan, R.I., 2018. Info Datin Kusta.

Kementerian Kesehatan, R.I., 2017. Profil Kesehatan Indonesia Tahun 2017.

Kesehatan, D., 2013. Profil Kesehatan Provinsi Jawa Timur Tahun 2008.

Khadge, S., Banu, S., Bobosha, K., van der. Ploeg J.J., Goulart, I.M., Thapa, P., Kunwar, C.B., van Meijgaarden, K.E., van den Eeden, S.J., Wilson, L., Kabir, S. 2015, Longitudinal immune profiles in type 1 leprosy reactions in Bangladesh, Brazil, Ethiopia and Nepal. *BMC infectious diseases*, 15(1):477.

Khozaymeh, F., Mortazavi, M., Khalighinejad, N., Akhavankhaleghi, M. and Alikhani, M. 2016, Salivary levels of interleukin-6 and tumor necrosis factor- α in patients undergoing hemodialysis, *Dental research journal*, 13(1):69.

Koračević, D., Bjelaković, G., Đorđević, V., Nikolić, J., Pavlović, D., Kocić, G. 2003, *Biochemistry of hormones : Saliva, Biochemistry Contemporary Administration*, Beograd, p. 1040-1044.

Kosaka, T., Kokubo, Y., Ono, T., et al. 2014, Salivary inflammatory cytokines may be novel markers of carotid atherosclerosis in a Japanese general population: the Suita study. *Atherosclerosis*, 237(1):123-128.

Korngold, R., Marini, J.C., de Baca, M.E., Murphy, G.F. and Giles-Komar, J. 2003, Role of tumor necrosis factor- α in graft-versus-host disease and graft-versus-leukemia responses. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, 9(5):292-303.

Kumar, A., Abbas, W. and Herbein, G. 2013, TNF and TNF receptor superfamily members in HIV infection: new cellular targets for therapy?. *Mediators of inflammation*.

Kumar, B., Dogra, S. and Kaur, I. 2004, Epidemiological Characteristics of Leprosy Reactions: 15 Years Experience from North India. *International Journal of Leprosy and Other Mycobacterial Diseases*, 72(2):125.

Kyriakou, A., Patsatsi, A., Vyzantiadis, T.A. and Sotiriadis, D., 2014. Serum levels of TNF- α , IL-12/23p40, and IL-17 in plaque psoriasis and their correlation with disease severity. *Journal of immunology research*, 2014.

Leal, A.M., Magalhaes, P.K., Souza, C.S. and Foss, N.T. 2003, Adrenocortical hormones and interleukin patterns in leprosy, *Parasite Immunol*, 25:457-61.

Leal, A.M. and Foss, N.T. 2009, Endocrine dysfunction in leprosy, *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 28:1-7.

Levine, A., Zagoory-Sharon, O., Feldman, R., Lewis, J.G., Weller, A. 2007, Measuring cortisol in human psychobiological studies, *Physiol. Behav.*, 90:43-53.

Lima, M.C., Pereira, G.M., Rumjanek, F.D., Gomes, H.M., Duppre, N., et al. 2000, Immunological cytokine correlates of protective immunity and pathogenesis in leprosy, *Scand. J. Immunol.*, 51:419-28.

Listiawan, M.Y. 2011, 'Perbandingan. Ekspresi TLR 2/1, nf- κ B p105/50, nf- κ B p65 dan TNF- α pada Makrofag Penderita Eritema Nodosum Leprosum dengan Kusta Multibasiler sebagai Tanda Aktivitas Kekebalan Alamiah', Disertasi, Dr., Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga, Surabaya.

Ljubijankić, N., Popović-Javorić, R., Šćeta, S., Šapčanin, A., Tahirović, I. and Sofić, E. 2008, Daily fluctuation of cortisol in the saliva and serum of healthy persons. *Bosnian journal of basic medical sciences*, 8(2):110.

Lockwood, D.N. 2017, *IAL Textbook of Leprosy, Case Definition and Clinical types of leprosy*. 81(3):236-53.

Lockwood, D.N. 2017, *IAL Textbook of Leprosy, Global Leprosy Situation: Historical perspective, Achievements, Challenges and Future Steps*. 81(3): 33-44.

Lockwood, D.N. 2017, *IAL Textbook of Leprosy, Leprosy Review*. 81(3):276-8.

Lockwood, D.N., Suneetha, L., De Sagili, K., et al. 2011, Cytokine and protein markers of leprosy reactions in skin and nerves: baseline results for the north indian INFIR cohort, *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 5(12).

Lovallo, W.R., 2006. Cortisol secretion patterns in addiction and addiction risk. *International Journal of Psychophysiology*, 59(3), pp.195-202.

Lucis, O.J. and Lucis, R., 1972. Oral contraceptives and endocrine changes. *Bulletin of the World Health Organization*, 46(4), p.443.

Madan, N.K., Agarwal, K., Chander, R. 2011, Serum cytokine profile in leprosy and its correlation with clinic-histopathological profile, *Lepr. Rev.*, 82:371-82.

Mahardika, G.M., Basuki, S, Widasmar D., 2016. 'Kadar. TNF- α pada. lesi kulit pasien kusta Multibasiler dan Pausibasiler. dengan Metode Imunohistokimia di RSUD dr.Saiful Anwar Malang' Karya Akhir, Dokter Spesialis, Program Studi. Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin, Lab/SMF. Dermatologi dan Venereologi RSUD. dr. Saiful Anwar, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya , Malang.

Makino,M.,Matsuoka,M.,Goto,M.,Hatano,K.2011,*Leprosy science working towards dignity*, 2011. Minamiyama: Tokai University Press, Japan.

Makino, M., Matsuoka, M., Goto, M., Hatano, K. 2011, *Leprosy science working towards dignity*.

Malathi, N., Mythili, S. and Vasanthi, H.R. 2014, Salivary diagnostics: a brief review. *ISRN dentistry*.

Manandhar, R., Shrestha, N., Butlin, C.R. and Roche, P.W. 2002, High levels of inflammatory cytokines are associated with poor clinical response to steroid treatment and recurrent episodes of type 1 reactions in leprosy, *Clin. Exp. Immunol.*, 128: 333-8.

Manandhar, R., LeMaster, J.W. and Roche, P.W., 1999. Risk factors for erythema nodosum leprosum. *International journal of leprosy and other mycobacterial diseases*, 67(3), pp.270-278.

Manthey, L., Leeds, C., Giltay, E.J., van Veen, T., Vreeburg, S.A., Penninx, B.W. and Zitman, F.G. 2011, Antidepressant use and salivary cortisol in depressive and anxiety disorders, *European Neuropsychopharmacology*, 21(9):691-9.

Marik, P.E. and Zaloga, G.P. 2002, Adrenal insufficiency in the critically ill, *Chest*, 122:1784-96.

Masera, R.G., Bateman, A., Muscettola, M., *et al.* 1996, Corticosteroids/ defensins inhibit in vitro NK activity and cytokine production by human peripheral blood mononuclear cells, *Regul Pept*, 62:13-21.

Mastorakos, G., Chrousos, G.P. and Weber, J.S. 1993, Recombinant inter-leukin-6 activates the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in humans. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 77:1690-4.

McCracken, J.T. and Poland, R.E. 1989, Saliva and serum cortisol dynamics following intravenous dexamethasone in normal volunteers, *Life Sci.*, 45: 1781-5.

Mendel, C.M. 1989, The free hormone hypothesis: A physiologically based mathematical model . *Endocr. Rev.*; 10:232-74.

Mendonca V.A., Costa R.D., Demelo G.E., Antunes C.M.,Teixeira A.L. 1992, Immunology of leprosy, *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 83(4): 343-50.

Metchnikoff, I. 1884, A disease of Daphnia caused by a yeast. A contribution to the theory of phagocytes as agents for attack on disease-causing organisms. *Milestones in microbiology* (ed. T. Brock), p.132-8.

Misra, N., Murtaza, A., Walker, B., Narayan, N.P.S., Misra, R.S., Ramesh, V. 1995, Cytokine profile of circulating T cells of leprosy patients reflects both indiscriminate and polarized T-helper subsets: T-helper phenotype is stable and uninfluenced by related antigens of Mycobacterium leprae. *Immunology*, 86:97-103.

Mizawa, M., Yamaguchi, M., Ueda, C., Makino, T., Shimizu, T., 2013. Stress evaluation in adult patients with atopic dermatitis using salivary cortisol. *BioMed research international*, 2013.

Modlin, R.L. 1994, Th1-Th2 paradigm: insights from leprosy, *Journal of Investigative Dermatology*, 102(6):828-32.

Modlin, R.L. 2010, The innate immune response in leprosy, *Current opinion in immunology*. 22(1):48-54.

Moraes, M.O., Pacheco, A.G., Schonkeren, J.J.M., Vanderborght, P.R., Nery, J.A.C., et al. 2004, Interleukin-10 promoter single-nucleotide polymorphisms as markers for disease susceptibility and disease severity in leprosy, *Genes Immun*, 5:592-5.

Motta, A.C., Pereira, K.J., Tarquinio, D.C., Vieira, M.B., Miyake, K., Foss, N.T. 2012, Leprosy reactions: coinfections as a possible risk factor, *Clinics*, (10):1145-8.

Motta, A.C.F., Furini, R. B., Simão, J. C. L., et al. 2011, Could leprosy reaction episodes be exacerbated by oral infections? *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 44(5):633-5.

Motta, A.C.F., Furini, R. B., Simão, J. C. L., Ferreira, M. A. N., Komesu, M.C. and Foss, N. T. 2010, The recurrence of leprosy reactional episodes could be associated with oral chronic infections and expression of serum IL-1, TNF- α , IL-6, IFN- γ and IL-10, *Brazilian Dental Journal*, 21(2):158-164.

Motta, A.C.F., Simão, J.C.L., Furinietal, R.B. 2013, Oralcoinfection can stress peripheral lymphocyte to in ammatory activity in leprosy, *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 46(1):73-78.

Murata, M. 1912, Uber erythema nodosum leprosum. *Japanische Zeittschrft fur Dermatologic V. Vrologie*, 12:1013.

Naafs B 1994. Leprosy reactions. *Trop Geogr Med* 4: 80-84.

Naafs, B. 2003, Treatment duration of reversal reaction: a re-appraisal. Back to the past. *Leprosy review*, 74(4):328-336.

Naafs, B. and van Hees, C.L. 2016, Leprosy type 1 reaction (formerly reversal reaction). *Clinics in dermatology*, 34(1):37-50.

Natarajan, R., Ploszay, S., Horton, R., et al. 1989, Tumor necrosis factor and interleukin-1 are potent inhibitors of angiotensin II induced aldosterone synthesis. *Endocrinology*, 125:3084-9.

Natasha J, Esti PK, Komarasari E, Rohmah B.2018, Penggunaan Pentoksifilin pada Eritema Nodosum Leprosum Berat dengan lesi Vaskulonekrotik. *MDVI*; 45: 81-87.

Navazesh, M., Mulligan, R.A., Kipnis, V., Denny, P.A., Denny, P.C., 1992. Comparison of whole saliva flow rates and mucin concentrations in healthy Caucasian young and aged adults. *Journal of Dental research*, 71(6), pp.1275-1278.

Nery, J.A., Vieira, L.M., de Matos, H.J., Gallo, M.E., Sarno, E.N. 1998, Reactional states in multibacillary Hansen disease patients during multidrug therapy. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 40(6):363-70.

Nimmagadda, S.R., Szefer, S.J., Spahn, J.D., Surs, W. and Leung, D.Y. 1997, Allergen exposure decreases glucocorticoid receptor binding affinity and steroid responsiveness in atopic asthmatics, *American Journal of Respiratory Critical Care Medicine*, 155:87-93.

Nuari, H. dan Darmada, I.G.K. 2014, Prevalensi dan Karakteristik Pasien Morbus Hansen Tipe Multibasiler yang Mendapat Terapi *Clofazimine*, *Ofloxacin*, dan *Minocycline* di Rumah Sakit Umum Pusat Sanglah Periode Januari-Desember. *Open Journal System*. Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana, Bali.

Oelkers, W. 1996, Adrenal insufficiency. *New Eng. J. Med.* 1206-12.

Ohlrich, E. J., Cullinan, M. P. and Seymour, G. J. 2009, The immunopathogenesis of periodontal disease, *Australian Dental Journal*, 54(1):2-10.

Oliveira, R.B., Moraes, M.O., Oliveira, E.B., Sarno, E.N., Nery, J.A.C., Sampaio, E.P. 1999, Neutrophils isolated from leprosy patients release TNF- α and exhibit accelerated apoptosis in vitro, *J. Leukoc Biol.*, 65:364-71.

Ozkanli, S., Karadag, A.S., Ozlu, E., Uzuncakmak, T.K., Takci, Z., Zemheri, E., Zindanci, I. and Akdeniz, N., 2016. A comparative study of MMP-1, MMP-2, and TNF- α expression in different acne vulgaris lesions. *International journal of dermatology*, 55(12), pp.1402-1407.

Pandhi, D. and Chhabra, N. 2013, New insights in the pathogenesis of type 1 and type 2 kusta reaction. *Indian Journal of Dermatology, Venereology, and Leprology*, 79(6):739.

Pariante, C.M., Pearce, B.D., Pisell, T.L., et al. 1999, The proinflammatory cytokine, interleukin-1, reduces glucocorticoid receptor trans- location and function, *Endocrinology*, 140:4359-66.

Percival, R.S., Challacombe, S.J. and Marsh, P.D., 1994. Flow rates of resting whole and stimulated parotid saliva in relation to age and gender. *Journal of dental research*, 73(8), pp.1416-1420.

Pettit, J.H. and Waters, M.F.R., 1967. The etiology of erythema nodosum leprosum. *Int J Lepr*, 35, pp.1-10.

Petrescu, F., Voican, S.C. and Silosi, I., 2010. Tumor necrosis factor- α serum levels in healthy smokers and nonsmokers. *International journal of chronic obstructive pulmonary disease*, 5, p.217.

Pfaltzgraff, R.E. dan Ramu, G. 1994, Clinical leprosy, dalam: Hastings, R.C. (ed). *Leprosy*. Churchill Livingstone, Edinburgh, h. 237-290.

Pincus, G., Nakao, T. & Tait, J.F. 1966. Steroid dynamics, New York, Academic Press

Pocaterra, L., Jain, S., Reddy, R., Muzaffarullah, S., Torres, O., Suneetha, S., et al. 2006, Clinical course of erythema nodosum leprosum: an 11-year cohort study in Hyderabad, India. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 74(5):868-79.

Polycarpou, A., Walker, S.L. and Lockwood, D.N., 2017. A Systematic Review of Immunological Studies of Erythema Nodosum Leprosum. *Frontiers in immunology*, 8:233

Prakoeswa, C.R.S., Agusni, I. and Izumi, S., 2007. Detection of Mycobacterium leprae DNA in Blood of the Subclinical Leprosy. *Folia Medica Indonesiana*, 43(2), pp.64-67.

Prawoto, P., 2008. Faktor-Faktor Risiko yang Berpengaruh Terhadap Terjadinya Reaksi Kusta (Studi di wilayah kerja Puskesmas Kabupaten Brebes). *Jurnal Epidemiologi*.

Priliawati N.N.T., Juliyantri, Sari I.A.D.P., Rusyati L.M.M. 2015. Studi Retrospektif Eritema Nodosum Leprosum di Poliklinik Kulit dan Kelamin RSUP Sanglah Denpasar periode 2013-2015. *Ejurnal Udayana Medika*.

Pulido-Pérez, A., Mendoza-Cembranos, M.D., Avilés-Izquierdo, J.A., Suárez-Fernández, R. 2013, Erythema nodosum leprosum and reversal reaction in 2 cases of imported leprosy. *Actas Dermo-Sifiliográficas (English Edition)*, 104(10):915-9.

Pusdatin Kementerian Kesehatan, R.I., 2018. Info Datin Kusta.

Ramien, M.L., Wong, A. and Keystone, J.S., 2011. Severe refractory erythema nodosum leprosum successfully treated with the tumor necrosis factor inhibitor etanercept. *Clinical Infectious Diseases*, 52(5), p.133-35.

Ranque, B., Van Thuc, N., Vu, H.T., Nguyen, T.H., Nguyen, N.B., Pham, X.K., Schurr, E., Abel, L. and Alcais, A., 2007. Age is an important risk factor for onset and sequelae of reversal reactions in Vietnamese patients with leprosy. *Clinical Infectious Diseases*, 44(1), pp.33-40.

Rao, P.N., 2017. Global leprosy strategy 2016–2020: Issues and concerns. *Indian Journal of Dermatology, Venereology, and Leprology*, 83(1), p.4.

Rathnayake, N., Åkerman, S., Klinge, B., Lundegren, N., Jansson, H., Tryselius, Y., Sorsa, T. and Gustafsson, A., 2013. Salivary biomarkers for detection of systemic diseases. *PloS one*, 8(4), p.e61356.

Ray, R., Mondal, R.K. and Pathak, S., 2014. Diagnosis of erythema nodosum leprosum (type 2 reaction) by cytology. *Acta cytologica*, 58(1), p.29-32.

Reid J.D., Intrieri R.C., Susman E.J., Beard J.L., 1992 The Relationship of serum and salivary cortisol in a sample of healthy elderly. *J. Gerontol*, 47: 176-179.

Rentzos, M., Nikolaou, C., Rombos, A., Voumvourakis, K., Segditsa, I. and Papageorgiou, C., 1996. Tumour necrosis factor alpha is elevated in serum and cerebrospinal fluid in multiple sclerosis and inflammatory neuropathies. *Journal of neurology*, 243(2) :165-70.

Robbins J., Rall J.E., 1957. The interaction of the thyroid hormones and protein in biological fluids. *Recent. Prog. Horm. Res*; 13: 161-208.

Roche, D.J., King, A.C., Cohoon, A.J. and Lovallo, W.R., 2013. Hormonal contraceptive use diminishes salivary cortisol response to psychosocial stress and naltrexone in healthy women. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 109: 84-90.

Rodrigues ALP, Almeida AP, Rodrigues BF, Pinheiro CA, Borges DS, Mendonça MLH. 2001, Occurrence of Late Kusta Reaction. in Leprosy Patients: Subsidies for Implementation of a Specific Care Program. *Hansen Int* 25: 17-25.

Rook GA, Lightman SL, Heijnen CJ. 2002, Can Nerve Damage Disrupt Neuroendocrine Immune Homeostasis? Leprosy as a Case in Point. *Trends Immunol*, 23(1):18-22.

Rook, G.A. and Baker, R. 1999, Cortisol metabolism, cortisol sensitivity and the pathogenesis of leprosy reactions. *Tropical Medicine & International Health*, 4(7): 493-8.

Roy, S., Gulw, W., Mascu, Taylor, C.G.N., Saiia, B., Hazra, S. K., Hut, A.V.S. Kwarrkowskt, D. Tumor Necrosis. Factor Promotor Polymorphism and Susceptibility to Lepromatous Leprosy. *J. infect. Dis.* 176 (1997) 530-532.

Saini C, Siddiqui A, Ramesh V, Nath I., 2016. Leprosy reactions show increased Th17 cell activity and reduced FOXP3+ tregs with concomitant decrease in TGF- β and increase in IL-6. *PLoS neglected tropical diseases*, 10(4): e0004592./42.

Sakaguchi S, Miyara M, Costantino CM, Hafler DA., 2010. FOXP3+ regulatory T cells in the human immune system. *Nature reviews. Immunology*, 10(7):490.

Sakaguchi, S., Yamaguchi, T., Nomura, T. & Ono, M., 2008. Regulatory T cells and immune tolerance. *Cell*, 133: 775–787.

Salimetrics, L.L.C. and SalivaBio, L.L.C., 2011. Saliva collection and handling advice. Available at www.salimetrics.com. Accessed, 1.

Salimetrics, L., 2011. High sensitivity salivary cortisol enzyme immunoassay kit.

Salimetrics, L., 2018. TNF alpha saliva collection.

Sampaio, E.P., Moraes, M.O., Nery, J.A.C., Santos, A.R., Matos, H.C. and Sarno, E.N., 1998. Pentoxifylline decreases in vivo and in vitro tumour necrosis factor-alpha (TNF- α) production in lepromatous leprosy patients with erythema nodosum leprosum (ENL). *Clinical and experimental immunology*, 111(2), p.300.

Saonere JA., 2011. Leprosy: An overview. *J Infect Dis Immunity*, 3(14): 233-43.

Saonere, J.A., 2011. Leprosy: an overview. *Journal of Infectious Diseases and Immunity*, 3(14), p.233-243.

Sari, N, Amiruddin MD, Amin S, Adam AM, Djamaluddin W, Vitayani S, 2013. Peran Interleukin-2 (IL-2), Interleukin-10 (IL-10) dan *Tumor Necrosis Factor- α* (TNF α) pada Penyakit Kusta. *MDVI*. 40 (1) h.35-40.

Sarno, E.N., Grau, G.E., Vieira, L.M. and Nery, J.A., 1991. Serum levels of tumour necrosis factor-alpha and interleukin-1 beta during leprosy reactional states. *Clinical and experimental immunology*, 84(1), p.103.

Sastroasmoro S, Ismael S. 2014. Dasar-dasar metodologi Penelitian Klinis. Penerbit Sagung Seto, Jakarta

Saunderson P, Gebre S, Byass P. 2000, ENL reactions in the multibacillary cases of the AMFES cohort in central Ethiopia: incidence and risk factors. *Leprosy Review*, 71(3):318–24.

Saunderson P, Gebre S, Byass P, 2000. Reversal reactions in the skin lesions of AMFES patients: incidence and risk factors. *Leprosy review*. Sep;71(3):309-17./21.

Saxne, T., Palladino Jr, M.A., Heinegard, D., Talal, N. and Wollheim, F.A., 1988. Detection of tumor necrosis factor α but not tumor necrosis factor β in rheumatoid arthritis synovial fluid and serum. *Arthritis & Rheumatism: Official Journal of the American College of Rheumatology*, 31(8) :1041-45.

Schlaghecke R, Kornely E, Santen RT, et al., 1992. The effect of long-term glucocorticoid therapy on pituitary-adrenal re- sponses to exogenous corticotropin-releasing hormone. *N Engl J Med*, 326:226 –230.

Scollard, D.M., Smith, T., Bhoopat, L., Theetranont, C., Rangdaeng, S. Morens, D.M., 1994. Epidemiologic characteristics of leprosy reactions. *International Journal of Leprosy and Other Mycobacterial Diseases*, 62, pp.559-559.

Scollard, D.M., Adams, L.B., Gillis, T.P., Krahenbuhl, J.L., Truman, R.W., Williams, D.L., 2006. The continuing challenges of leprosy. *Clin. Microbiol. Rev.* 19, 338– 381.

Sehgal, v.n., Bhattacharya, s.n., Chattopadhyaya, d. and Saha, k., 1993. Tumor necrosis factor: status in reactions in leprosy before and after treatment. *International journal of dermatology*, 32(6): 436-39.

Selmaj KW, Raine CS. 1988. Tumor Necrosis Factor. Mediates Myelin and Oligodendrocyte Damage In Vitro. *Annals of Neurology*; 23: 339-346

Seyler Jr, L.E., Fertig, J., Pomerleau, O., Hunt, D. and Parker, K., 1984. The effects of smoking on ACTH and cortisol secretion. *Life Sciences*, 34(1), pp.57-65.

Seyler Jr, L.E., Pomerleau, O.F., Fertig, J.B., Hunt, D. and Parker, K., 1986. Pituitary hormone response to cigarette smoking. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 24(1), pp.159-162.

Silva GL dan Foss N T . 1989, Tumour necrosis factor in leprosy patients. *J Infect Dis*; 159:787-790.

Singh, S., Singh, N., Handa, R. 2000, Tumor necrosis factor. alpha in patients with malaria. *Indian journal of malariology*, 37(1-2), pp.27-33.

Skoff AM, Lisak RP, Bealmear B, Benjamin JA. 1998. TNF- α and TGF- β Act Synergistically to Kill Schwann Cells. *J Neurosci. Res.* 53: 747-756

Spencer JS, Duthie MS, Geluk A, Balagon. MF, Kim HJ, Wheat WH, Chatterjee D, Jackson M, Li W, Kurihara JN, Maghanoy A, Mal- lari I, Saunderson P, Brennan PJ, Dockrell HM 2012. Identifica- tion of serological biomarkers of infection, disease progression and treatment efficacy for leprosy. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 107 (Suppl. I): 79-89.

Spierings E, De Boer T, Zulianello L, et al., 2000. Novel mechanisms in the immunopathogenesis of leprosy nerve damage: the role of Schwann cells, T-cells and *Mycobacterium leprae*. *Immunol Cell Biol*,78(4): 349-55.

Stewart P.M, John D.C, Price N. 2016. The adrenal cortex, in *Williams Textbook of Endocrinology*, P. R. Larsen, H. M. Kronenberg, S. Melmed, and K. S. Polonsky, Eds., Saunders, Philadelphia, Pa, USA, 10th edition, pp. 490–588.

Suchonwanit P, Triamchaisri S, Wittayakornrerk S, Rattanakaemakorn P., 2015. Leprosy reaction in Thai population: a 20-year retrospective study. *Dermatology research and practice*.

Sujarweni, VW. 2015. Korelasi; *Statistik Untuk Kesehatan*. Penerbit Gava Medika. Yogyakarta. Hal.81.

Sukirman PV, Soebono H, Harijadi. 2005. Derajat Klinis dan Gambaran Histopatologi Eritema Nodosum Leprosum. *Berkala IPKK*; 17(3): 201–6.

Talhari, S., Orsi, A.T., Talhari, A.C., Souza, F.H. and Ferreira, L.C., 1995. Pentoxifylline may be useful in the treatment of type 2 leprosy reaction. 2000. *Leprosy review*, 66(3), p.261.

Tetta, C., Camussi, G., Modena, V., Di Vittorio, C. and Baglioni, C., 1990. Tumour necrosis factor in serum and synovial fluid of patients with active and severe rheumatoid arthritis. *Annals of the rheumatic diseases*, 49(9), p.665.

The International Federation of Anti-Leprosy Associations (ILEP). 2002. *How to recognise and manage reactions*. London: ILEP.

Tiwow, P.I., Kandou, R.T. and Pandaleke, H.E., 2014. Profil Penderita Morbus Hansen (MH) di Poliklinik Kulit dan Kelamin BLU RSUP Prof. dr. RD Kandou Manado Periode Januari–Desember 2012. *e-CliniC*, 2(1).

Tominaga T, Fukata J, Hayashi Y, et al.,1992. Distribution and characterization of immunoreactive corticostatin in the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Endocrinology*,130:1593–98.

Torpy, D.J. and Ho, J.T., 2007. Value of free cortisol measurement in systemic infection. *Hormone and metabolic research*, 39(06): 439-444.

Turnbull AV, Rivier CL. 1999. Regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis by cytokines: actions and mechanisms of action. *Physiol Rev*, 79:1–71.

Umeda, T., Hiramatsu, R., Iwaoka, T., Shimada, T., Miura, F., Sato, T.,1981. Use of saliva for monitoring unbound free cortisol levels in serum. *Clinica Chimica Acta*, 110(2-3): 245-53.

Van Veen, N.H., Lockwood, D.N., Van Brakel, W.H., Ramirez, J. and Richardus, J.H., 2009. Interventions for erythema nodosum leprosum. A Cochrane review. *Leprosy review*, 80(4) : 355-72.

Van Veen, N.H., Nicholls, P.G., Smith, W.C. and Richardus, J.H., 2007. Corticosteroids for treating nerve damage in leprosy. *The Cochrane database of systematic reviews*, 2 : p.CD005491.

Vining, R.F., McGinley, R.A., Maksvytis, J.J., Ho, K.Y., 1983. Salivary cortisol: a better measure of adrenal cortical function than serum cortisol. *Ann. Clin. Biochem.* 20 (6): 329-35.

Voorend CG, Post EB. 2013, Systematic. Review on The Epidemiological Data Of Erythema Nodosum Leprosum, a Type 2 Leprosy Reaction. *PLoS Negl Trop Dis* , 7(10):e2440.

Wahyudi, N, Suyoso S, Listiawan, MY. 2008, 'Kadar Plasma Kortisol pada Pasien Kusta dengan ENL', Tesis, Universitas Airlangga, Surabaya.

Wajant, H., 2009. The role of TNF in cancer. In *Death Receptors and Cognate Ligands in Cancer* (pp. 1-15). Springer, Berlin, Heidelberg, p.1-15.

Wakefield, PE, James, WD, Samlaska GP, Meltzer MS.1991 Tumor necrosis factor. *J Am Acad Dermatol*, 24: 675-85.

Walker, S.L., Lebas, E., Doni, S.N., Lockwood, D.N. and Lambert, S.M., 2014. The mortality associated with erythema nodosum leprosum in Ethiopia: a retrospective hospital-based study. *PLoS neglected tropical diseases*, 8(3): p.e2690.

Wamboldt, M.Z., Laudenslager, M., Wamboldt, F.S., Kelsay, K. Hewitt, J., 2003. Adolescents with atopic disorders have an attenuated cortisol response to laboratory stress. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 111(3), pp.509-514.

Wedekind, D., Bandelow, B., Brooks, A., Hajak, G., Ruther, E., 2000. Salivary, total plasma and plasma free cortisol in panic disorder. *J. Neural Transm.* 107: 831-37.

Wemambu, S.N.C., Turk, J.L., Waters, M.F.R. and Rees, R.J.W., 1969. Erythema nodosum leprosum: a clinical manifestation of the arthus phenomenon. *The Lancet*, 294(7627): 933-35.

Widasmara D, Inneke Y. 2018, Kusta. Tipe. Multi Basiler Relaps. dan Eritema Nodosum Leprosum yang Diinduksi oleh Kehamilan pada Wanita usia 33 tahun. *Jurnal Kesehatan Malang*; 3(1),h.438-49.

Woodside D.B., Winter K., Fisman S. 1991, Salivary cortisol in children: Correlations with serum values and effect of psychotropic drug administration. *Can. J. Psychiatry*. 1991: 36 (10): 746-48.

Wong, J.A., Pickworth, W.B., Waters, A.J., Al'Absi, M. and Leventhal, A.M., 2014. Cortisol levels decrease after acute tobacco abstinence in regular smokers. *Human Psychopharmacology: Clinical and Experimental*, 29(2), pp.152-162.

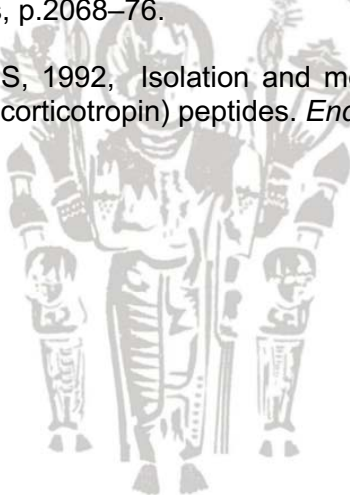
World Health Organization, 1988. A guide to leprosy control.

Wulan, I.G.K., Agusni, I. and Rosita, C., 2014. Profil Pasien Kusta Baru pada Anak. *Berkala Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin*, 26(2), pp.1-6.

Yang, D., Shui, T., Miranda, J.W., Gilson, D.J., Song, Z., Chen, J., Shi, C., Zhu, J., Yang, J. and Jing, Z., 2016. Mycobacterium leprae-infected macrophages preferentially primed regulatory T cell responses and was associated with lepromatous leprosy. *PLoS neglected tropical diseases*, 10(1), p.e0004335.

Zaloga GP, Bhatt B, Marik PE., 2001. Critical illness and systemic inflammation. In: Becker K, Nylene E, eds. *Practice and principles of endocrinology and metabolism*. Philadelphia, PA: Lippincott, Williams and Wilkins, p.2068–76.

Zhu Q, Solomon S, 1992, Isolation and mode of action of rabbit corticostatic (antiadrenocorticotropin) peptides. *Endocrinology*, 130:1413–23.



LAMPIRAN

Lampiran 1

LEMBAR PEMILIHAN PASIEN

Nomor penelitian :

Nomor rekam medik :

Nama :

Pekerjaan :

Alamat :

Nomor telepon :

Usia :

Jenis kelamin :

Tanggal pengambilan data :

1. Apakah anda (khusus wanita) yang saat ini menggunakan kontrasepsi hormonal? Ya/Tidak
2. Apakah anda mengonsumsi kortikosteroid dalam jangka waktu 3 minggu berturut-turut atau lebih? Ya/Tidak
3. Apakah anda merokok lebih dari 20 batang sehari berturut-turut dalam dua bulan sebelumnya? Ya/Tidak
4. Apakah anda mengonsumsi salah satu atau lebih obat-obatan dengan mekanisme kerja sebagai *TNFi inhibitor* berikut ini : *Thalidomide, Pentoxifylline, Lenamolide, Pomalidomide, Infliximab, Etanercept, Adalimumab* Ya/Tidak
5. Apakah anda memiliki riwayat menderita tumor atau didiagnosis kanker oleh dokter? Ya/Tidak
6. Apakah anda memiliki riwayat menderita AIDS atau mengonsumsi agen antiretroviral (*Zidovudine, Lamivudine, Nevirapine, Efavirenz, Tenofovir, Emtricitabine*) ? Ya/Tidak
7. Apakah anda memiliki riwayat transplantasi organ? Ya/Tidak
8. Apakah anda memiliki riwayat didiagnosis sklerosis multipel? Ya/Tidak

9. Apakah anda memiliki riwayat artritis rematoid? Ya/Tidak
10. Apakah anda memiliki riwayat sakit malaria? Ya/Tidak
11. Apakah anda memiliki riwayat psoriasis? Ya/Tidak
12. Apakah anda memiliki riwayat didiagnosis dermatitis atopik? Ya /Tidak
13. Apakah anda memiliki riwayat didiagnosis akne vulgaris derajat berat ? Ya /Tidak

Bila ada satu jawaban ya, maka pasien tidak dapat diikuti dalam penelitian ini.



Lampiran 2

LEMBAR PENGUMPULAN DATA

1	Nomor penelitian	:	
2	Nomor rekam medik	:	
3	Tanggal pengambilan data	:	
4	Nama pasien	:	
5	Usia Pasien	:	
6	Pekerjaan	:	
7	Pendidikan	:	
8	Suku	:	
9	Nomor telepon	:	
10	Alamat	:	
11	Jenis kelamin	:	☐ Laki-laki ☐ Perempuan
12	Tanggal pemeriksaan	:	
13	Keluhan utama	:	
14	Pertama kali tegak diagnosis MH	:	
15	Kriteria WHO yang didapatkan pada pasien sehingga tegak diagnosis MH	:	☐ Lesi kulit karakteristik ☐ Hilangnya sensasi sensoris ☐ Penebalan saraf tepi ☐ BTA pada <i>slit skin smears</i> (Riwayat didapatkan sebelumnya/saat ini)
			*Coret yang tidak dipergunakan
	Riwayat narakontak penyakit kusta	:	☐ serumah ☐ tidak serumah
16	Terapi MH	:	☐ MDT ☐ ROM ☐ Regimen lainnya.....
17	Durasi terapi	:	...hari/bulan/tahun*
			*Coret yang tidak dipergunakan
18	Release From Treatment (RFT)	:	☐ Ya ☐ Tidak (lanjut ke no.19)
19	Jangka waktu Release From Treatment (RFT) dari terapi akhir MDT/lainnya berakhir	:	...hari/bulan/tahun* sebelumnya

20 Pernah menderita reaksi

: ☐ Ya ☐ Tidak

21 Saat ini menderita reaksi

: ☐ Ya ☐ Tidak

22 Kriteria Reaksi yang didapatkan pada pasien sehingga tegak diagnosis reaksi tipe 2 atau ENL pada saat ini, dengan kriteria diagnosis berdasar Naafs, 2003 dan Lockwood, 2017. (Didapatkan kriteria mayor atau paling tidak 3 dari kriteria minor)

: Mayor

- ☐ Papul eritematosa nyeri
- ☐ Nodul eritematosa nyeri
- ☐ Plak eritematosa nyeri
- ☐ Ulkus nyeri

Minor

- ☐ Febris/subfebris
- ☐ Nyeri dan atau pembesaran pada saraf
- ☐ Peningkatan hilangnya sensasi sensoris atau kekuatan otot
- ☐ Artritis
- ☐ Limfadenitis
- ☐ Epididimooritis
- ☐ Iridosiklitis/eoskleritis
- ☐ Edema pada ekstremitas atau wajah
- ☐ Tes Rhye atau Ellis positif

23 Berapa kali riwayat didiagnosis menderita reaksi ENL

: kali

24 Saat ini mengkonsumsi kortikosteroid berturut-turut

: ☐ Ya ☐ Tidak (lanjut ke nomor 24) jenis kortikosteroid.....

25 Berapa lama mengkonsumsi kortikosteroid

: hari/bulan*

*Coret yang tidak dipergunakan

26 Bila tidak mengkonsumsi kortikosteroid, Kapan terakhir mengkonsumsi kortikosteroid

:

-hari/bulan/tahun sebelumnya*
jenis kortikosteroid.....
- *Coret yang tidak dipergunakan
- 27 Riwayat penyakit dalam
bidang kulit dan kelamin
• Tumor kulit
• Psoriasis
• Penyakit lainnya
- 28 Riwayat menderita
keganasan
- 29 Riwayat penyakit sistemik
- 30 Riwayat merokok Batang sehari
- 31 Riwayat konsumsi alkohol Jenis.....
..... Gelas (+/- 200 ml) per hari
skor CIWA.....

PEMERIKSAAN FISIK

- 32 Tanda Vital : Tekanan darah:/..... mmHg
N:x/menit
RR:
Suhu:
- 33 Berat Badan : kg
- 34 Tinggi badan :cm
- 35 Indeks Massa Tubuh :
- 36 Adakah perdarahan, Ya/Tidak* *Coret yang tidak dipergunakan
peradangan atau tumor
pada mukosa oral? Bila Ya : ☐Perdarahan
☐Peradangan
☐Tumor

STATUS DERMATOLOGIS

- 36 Regio :
- 37 Ruam : ☐Makula hipopigmentasi
☐Makula kecoklatan/hiperpigmentasi
☐Punch out lesion
☐Penebalan saraf tepi

..... pg/mL

Lampiran 3

INFORM CONSENT PENJELASAN PENELITIAN DAN PUBLIKASI ILMIAH*(Informed Consent of Research Information and Scientific Publication)*

Saya, dr. Alfonsus Rendy Laksditalia Nugroho, peserta Program Pendidikan Dokter Spesialis (PPDS-1) Kulit dan Kelamin FKUB sebagai peneliti utama bermaksud mengajak Bapak/Ibu/Saudara/i untuk turut serta dalam penelitian saya yang berjudul "Perbedaan Kadar Kortisol dan TNF α Saliva MH MB dengan ENL dan MH MB non reaksi di RSUD dr. Saiful Anwar Malang dan RS Kusta Kediri". Penelitian ini bertujuan untuk mengukur Kadar Kortisol dan TNF α saliva Pada Pasien MH MB dengan ENL dan MH MB non reaksi Di RSUD dr. Saiful Anwar Malang dan RS Kusta Kediri.

Manfaat bagi subyek dalam keikut-sertaan di penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Pasien akan mendapat pengetahuan dan penjelasan tentang penyakit morbus hansen mulai dari penyebab, rencana terapi dan perkembangan terapi saat ini.
2. Subyek penelitian tidak dibebankan biaya.
3. Pasien sebagai subyek penelitian akan mendapatkan informasi mengenai hasil dari penelitian ini.

Bapak/Ibu/Saudara/I, pada saat ini anda telah memenuhi kriteria yang telah ditentukan dan dapat turut serta dalam penelitian ini tanpa dikenakan biaya tambahan apapun berkenaan dengan pelaksanaan penelitian ini.

Proses penelitian ini akan berjalan selama satu hari yaitu akan dilakukan pemeriksaan fisik, pemeriksaan dermatologis, pengisian kuesioner dan wawancara, pemeriksaan saliva (air liur).

Pemeriksaan saliva (air liur) akan dilakukan pada pagi hari yaitu pukul: 8.00-9.00 yang dilakukan di Poli Kulit dan Kelamin RSUD dr. Saiful Anwar Malang atau RS Kusta Kediri dalam satu ruang tertutup dengan fasilitas bak cuci dan disediakan *tissue*. Untuk pemeriksaan saliva (air liur) peserta penelitian diwajibkan selang waktu 1 jam sebelumnya tidak makan, 30 menit sebelumnya tidak minum kopi, minuman asam/ manis dan merokok. Untuk kondisi tersebut pasien akan diingatkan sebelum kedatangan pasien dalam pengambilan sampel. Proses pengambilan saliva (air liur) dilakukan dengan cara pasif tanpa proses stimulasi atau dirangsang. Peserta penelitian berkumur terlebih dahulu dengan dengan air bersih sebanyak 3-4 kali, lalu air liur dibiarkan terkumpul di bawah lidah (di dasar rongga mulut) dalam rentang waktu sekitar 2 menit dan dimasukkan ke dalam *polypropylene vial* sampai kurang lebih 5 ml (100 tetes) Bila ada perdarahan yang terlihat (*visible blood*) maka perlu dilakukan pengumpulan ulang dari saliva (air liur) dengan proses yang dijelaskan sebelumnya. Sampel saliva (air liur) yang didapatkan kemudian disimpan dalam pendingin 4 °C dan diletakkan dalam freezer -20°C kemudian dilakukan pemeriksaan khuss dengan alat *Salimetrics® kit*.

Resiko dari pengambilan air liur atau saliva ini adalah hampir tidak ada selain sedikit rasa tidak nyaman dalam prosedur pengambilan. Prosedur ini juga tidak

berbahaya apabila pasien sebagai subyek penelitian sedang hamil, dan tindakan pengambilan sampel saliva tidak berpengaruh pada kehamilan. Pengambilan sampel saliva akan dilakukan oleh peneliti yang kemudian di bawa dan dilakukan pemeriksaan kadar TNF α dan kortisol saliva dengan *kit* merek Salimetrics® di Laboratorium Ilmu Faal Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya (FKUB) Malang. Data yang kami dapat bersifat rahasia dan hanya diketahui oleh dokter. Hal-hal yang ingin diketahui oleh pasien sehubungan dengan penyakit, pengobatan dan informasi lain dapat langsung ditanyakan pada dokter yang merawat atau peneliti. Peneliti akan bertanggung jawab dan akan menanggung penuh biaya pengobatan. Peneliti akan memberikan taliasih berupa pelembab sebagai tanda terima kasih kami akan keikutsertaan Bapak/Ibu/Saudara/i dalam penelitian ini. Jika setuju untuk ikut serta, maka Bapak/Ibu/Saudara/i dapat menandatangani lembar persetujuan mengikuti penelitian dan lembar persetujuan dilakukan tindakan khusus yang telah dipersiapkan untuk penelitian ini. Seandainya Bapak/Ibu/Saudara/i tidak menyetujui cara ini maka anda dapat memilih cara lain (tidak ada) atau Bapak/Ibu/Saudara/i boleh tidak mengikuti penelitian ini sama sekali. Untuk itu Bapak/Ibu/Saudara/i tidak akan dikenai sanksi apapun dan pelayanan atau tatalaksana sesuai prosedur. Nama dan jati diri Ibu/Saudari tetap dirahasiakan. Bapak/Ibu/Saudara/i tidak dikenakan biaya tambahan apapun yang berkenaan dengan pelaksanaan penelitian ini. Semua data dan informasi yang kami peroleh dalam proses penelitian ini bersifat rahasia dan hanya diketahui oleh peneliti dan komite etik. Hasil penelitian ini akan dipublikasikan dengan mempergunakan nama inisial tanpa ada identitas yang dipaparkan. Hal-hal yang ingin diketahui oleh pasien berkenaan dengan penyakit, pengobatan dan informasi-informasi lain dapat langsung ditanyakan pada dokter yang merawat atau peneliti. Peneliti akan memberi taliasih berupa *emollient* (pelembab) yang merupakan tanda terima kasih kami atas keikutsertaan Bapak/Ibu/Saudara/i dalam penelitian ini. Apabila Bapak/Ibu/Saudara/i setuju untuk turut serta dalam penelitian ini, maka Bapak/Ibu/Saudara/i dapat menandatangani lembar persetujuan untuk mengikuti penelitian dan lembar persetujuan untuk dilakukan tindakan khusus yang telah kami dipersiapkan untuk penelitian ini. Seandainya Bapak/Ibu/Saudara/i tidak menyetujui cara ini maka anda dapat memilih cara lain (tidak ada) atau Bapak/Ibu/Saudara/i boleh tidak mengikuti penelitian ini sama sekali. Untuk itu Bapak/Ibu/Saudara/i tidak akan dikenai sanksi apapun dan pelayanan atau tatalaksana sesuai prosedur. Nama dan jati diri Ibu/Saudari tetap dirahasiakan.

Lampiran 4

**PERNYATAAN PERSETUJUAN UNTUK BERPARTISIPASI DALAM
PENELITIAN DAN PUBLIKASI ILMIAH**

Saya, yang bertanda tangan di bawah ini

Nama

Alamat

Umur

tahun

Dengan ini menyatakan dengan sesungguhnya bahwa secara sadar, sukarela dan tanpa paksaan apapun bersedia:

1. Ikut berpartisipasi dalam penelitian yang berjudul : Perbedaan Kadar Kortisol dan TNF α Saliva MH MB dengan ENL dan MH MB non reaksi di RSUD dr. Saiful Anwar Malang dan RS Kusta Kediri dan akan mengikuti semua prosedur serta tatalaksana yang ditentukan dalam penelitian tersebut termasuk tindakan medik pengambilan sampel saliva (air liur) untuk penelitian.
2. Setelah mempelajari tata cara penelitian dan penjelasan dari peneliti, saya memahami akan maksud dan tujuan penelitian tersebut serta metode yang digunakan.
3. Hasil penelitian ini akan dipublikasikan sebagai suatu publikasi ilmiah dengan mempergunakan nama inisial tanpa ada identitas yang dipaparkan.
4. Saya mengerti bahwa dapat membatalkan pernyataan ini dan dapat menarik diri dari penelitian setiap waktu tanpa mempengaruhi perawatan yang seharusnya diterima.

Malang,

Peneliti

Pemberi
pernyataan

Saksi I

Saksi II

dr. Alfonsus
Rendy Laksditalia
Nugroho

(.....)

(.....)

(.....)

Lampiran 5

PERNYATAAN PERSETUJUAN TINDAKAN MEDIK

Yang bertanda tangan di bawah ini

Nama :

Alamat :

Umur : tahun

Dengan ini saya menyatakan memberikan PERSETUJUAN untuk dilakukan tindakan medis berupa pengambilan sampel saliva (air liur) pada rongga mulut yang kemudian ditampung dalam *polypropylene vial*.

Tujuan, sifat dan perlunya tindakan medis tersebut diatas serta resiko yang ditimbulkan cukup dijelaskan oleh dokter dan saya mengerti sepenuhnya, serta tidak akan melakukan tuntutan apapun berkaitan dengan penelitian ini

Demikian surat persetujuan ini saya buat dengan penuh kesadaran tanpa ada paksaan

Peneliti

Malang,
Pemberi
pernyataan

Saksi I

Saksi II

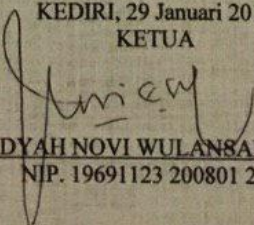
dr. Alfonsus
Rendy Laksditalia
Nugroho

(.....)

(.....)

(.....)

Lampiran 6

 PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR DINAS KESEHATAN RUMAH SAKIT UMUM DAHA HUSADA KEDIRI Jalan Veteran No. 48. Telp. 771062 Fax. 773479 Kediri, Kode Pos 64122	
KETERANGAN KELAIKAN ETIK (ETHICAL CLEARANCE)	
NO. 001 /EC / KEPK RSDH / 01 / 2019	
KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN RUMAH SAKIT DAHA HUSADA KEDIRI SETELAH MEMPELAJARI DENGAN SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG DIUSULKAN, DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA PENELITIAN DENGAN JUDUL :	
<i>“ Hubungan Antara Kadar Kortisol Saliva Dan TNF- α Saliva Pasien Eritema Nodosum Leprosum “</i>	
PENELITI UTAMA	: dr. Alfonsus Rendy Laksditalia Nugroho
UNIT / LEMBAGA/ TEMPAT PENELITIAN	: RSU Daha Husada Kediri
DINYATAKAN LAIK ETIK	
KEDIRI, 29 Januari 2019 KETUA	
 <u>dr. DYAH NOVI WULANSARI, M.Kes</u> NIP. 19691123 200801 2011	

Lampiran 7

RUMAH SAKIT UMUM DAERAH Dr. SAIFUL ANWAR MALANG
Jl. Jaksa agung Suprpto No.2 Malang
KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN
TERAKREDITASI KARS VERSI 2012 TINGKAT PARIPURNA
★★★★★
24 Februari 2015 s.d. 23 Februari 2018
Jl. Jaksa Agung Suprpto No.2 MALANG 65111
Telp. (0341) 362101, Fax. (0341) 369384
E-mail : staf-rsu-drsaifulanwar@jatimprov.go.id
Website : www.rsusaifulanwar.jatimprov.go.id

KETERANGAN KELAIKAN ETIK
PELAKSANAAN PENELITIAN
("ETHICAL CLEARANCE")
No: 400/235/K.3/302 /2018

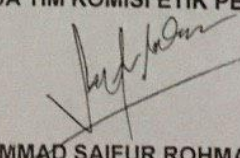
KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN RSUD Dr SAIFUL ANWAR MALANG,
SETELAH MEMPELAJARI DENGAN SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG
DIUSULKAN, DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA PENELITIAN DENGAN

JUDUL : Hubungan Antara Kadar Kortisol Saliva dan TNF- α Saliva Pasien Eritema
Nodosum Leprosum

PENELITI UTAMA : dr. Alfonsus Rendy Laksditalia Nugroho

UNIT / LEMBAGA / TEMPAT PENELITIAN
RSUD Dr Saiful Anwar Malang

DINYATAKAN LAIK ETIK

MALANG, 19 DESEMBER 2018
KETUA TIM KOMISI ETIK PENELITIAN

dr. MOHAMMAD SAIFUR ROHMAN, SpJP (K)., PhD

Lampiran 8

Data Subyek Penelitian

NO PENELITIAN	No Rekam Medik	Nama	Usia	Asal RS	Tanggal Pengambilan data	Jenis Kelamin	Pekerjaan	Pendidikan	Suku	Alamat	Pertama Kali Tegak MH	Narakontak	Terapi MH	Durasi Terapi	RFT/ Dalam Terapi	Jangka Waktu RFT	Pernah Reaksi	Berapa kali Riwayat Menderita ENL	Lama Mengonsumsi steroid sebelum diambil sampel	Terakhir mengonsumsi kortikosteroid sebelumnya	Riwayat Merokok (berapa batang)	BI	MI	Kadar TNF- α Saliva (ng/L)	Kadar Kortisol Saliva (μ g/dL)
1	11396214	II	29	RSSA	14 Januari 2019	Perempuan	Ibu Rumah Tangga	SMP	Madura	Malang	7 bulan lalu	Tidak Serumah	MDT	7 bulan	Dalam Terapi	Belum	Belum	2	Tidak	5 bulan sebelumnya	tidak	(+4)	2%	62.18085	0.301344
2	11298147	MU	34	RSSA	17 Januari 2019	Laki-laki	Koki	Diploma	Banyuwangi	Malang	1 tahun 6 bulan	Tidak Serumah	MDT	1 tahun (Selesai)	RFT	2 bulan lalu	Pernah	2	tidak	2 tahun	6 batang per hari	(+1)	0	228.4574	0.203699
3	11051708	SA	38	RSSA	17 Januari 2019	Perempuan	Ibu Rumah Tangga	SMP	Jawa	Malang (Tajinan)	2 tahun	Tidak Serumah	MDT	1 tahun (Selesai)	RFT	1 tahun lalu	Pernah	2	tidak	1 bulan	tidak	(+2)	0	18.67021	0.372715
4	11418667	MI	49	RSSA	17 Januari 2019	Laki-laki	Buruh Pabrik Rokok	SD	Madura	Malang (Bumi Ayu)	1 tahun 4 bulan	Tidak Serumah	MDT	1 tahun (Selesai)	RFT	4 bulan	Belum	0	tidak	tidak pernah	tidak	0	0	116.0106	0.343304
5	42677	MS	52	RS Kusta Kediri	01 Februari 2019	Laki-laki	Pedagang	SMP	Jawa	Nganjuk	6 bulan	Tidak Serumah	MDT	Terpi Bulan ke-	RFT	Belum	Pernah	2	14 hari	tidak pernah	4 batang sehari	(+4)	0	263.5638	0.046055
6	029402	WI	35	RS Kusta Kediri	1 Februari 2019	Laki-laki	Pedagang	SMU	Jawa	Trenggalek	2 tahun 2 bulan	Tidak Serumah	MDT	1 tahun (Selesai)	RFT	1 tahun 2 bulan	Pernah	5	Tidak	2 bulan	tidak	(+2)	0	245.7979	0.175856
7	011491	MN	13	RS Kusta Kediri	15 Februari 2019	Laki-laki	Pelajar	SMP	Jawa	Tulungagung	3 tahun	Tidak Serumah	MDT	1 tahun (Selesai)	RFT	3 tahun	Pernah	5	3 hari	tidak	tidak	(+2)	0	66.32979	0.191934
8	027677	AS	37	RS Kusta Kediri	15 Februari 2019	Laki-laki	Kuli Bangunan	SMP	Jawa	Pare	1 tahun 6 bulan	Tidak Serumah	MDT	1 tahun (Selesai)	RFT	7 bulan	Pernah	7	4 hari	tidak pernah	tidak	(+1)	0	267.1809	0.234286
9	028336	SU	53	RS Kusta Kediri	15 Februari 2019	Laki-laki	Petani	SD	Jawa	Nganjuk	1 tahun 6 bulan	Tidak Serumah	MDT	1 tahun (Selesai)	RFT	6 bulan	Pernah	3	3 hari	tidak pernah	2 batang sehari	(+2)	0	240.3723	0.093505
10	043578	AF	32	RS Kusta Kediri	15 Februari 2019	Laki-laki	Bengkel	SMK	Jawa	Nganjuk	8 bulan lalu	Tidak Serumah	MDT	Terpi Bulan ke-	Dalam Terapi	Belum	Pernah	2	3 hari	tidak pernah	tidak	(+3)	0	261.5426	0.080564
11	011470	ES	27	RS Kusta Kediri	15 Februari 2019	Laki-laki	Buruh Harian	SMP	Jawa	Kediri	3 tahun	Tidak Serumah	MDT	2 tahun (IMH MB)	RFT	3 bulan	Pernah	2	2 minggu	tidak	tidak merokok	(+3)	0	198.0319	0.055075
12	04356	ZB	22	RS Kusta Kediri	15 Februari 2019	Laki-laki	Mahasiswa	SMU	Jawa	Madiun	1 tahun 3 bulan	Tidak Serumah	MDT	1 tahun (Selesai)	RFT	3 bulan	Pernah	8	14 hari	tidak pernah	tidak merokok	(+2)	0	245.0532	0.049192
13	016263	HS	45	RS Kusta Kediri	15 Februari 2019	Laki-laki	Buruh Pabrik	SMU	Jawa	Kediri	3 tahun 10 bulan	Tidak Serumah	MDT	1 tahun (Selesai)	RFT	3 tahun	Pernah	10	3 hari	tidak pernah	tidak merokok	(+3)	0	123.883	0.375068
14	11428158	MY	35	RSSA	19 Februari 2019	Laki-laki	Serabutan	SMP	Madura	Malang (Turen)	New Case	Tidak Serumah	belum diterapi	belum diterapi	Belum Terapi	Belum	Belum	0	Tidak	tidak pernah	3 batang per hari	(+4)	75%	219.9468	0.362911
15	041072	AG	51	RS Kusta Kediri	28 Februari 2019	Laki-laki	Pedagang	SD	Jawa	Kediri	8 bulan lalu	Tidak Serumah	MDT	8 bulan	Dalam Terapi	Belum	Ya	2	Tidak	7 bulan lalu	tidak merokok	(+2)	0	37.39362	0.144484
16	027649	RA	22	RS Kusta Kediri	28 Februari 2019	Laki-laki	Pedagang	SMP	Jawa	Pare	1 tahun 5 bulan	Tidak Serumah	MDT	1 tahun (Selesai)	RFT	5 bulan	Pernah	3	5 hari	1 bulan lalu	tidak merokok	(+2)	0	198.2447	0.020958
17	014633	DS	26	RS Kusta Kediri	28 Februari 2019	Laki-laki	Penggiling Padi	SMU	Madura	Nganjuk	1 tahun 9 bulan	Tidak Serumah	MDT	1 tahun (Selesai)	RFT	9 bulan	Pernah	2	tidak	1 bulan lalu	tidak merokok	0	0	199.4149	0.20213
18	042481	KA	71	RS Kusta Kediri	28 Februari 2019	Laki-laki	Imam Masjid	SD	Jawa	Nganjuk	3 bulan	Serumah	MDT	1 tahun (Selesai)	RFT	3 bulan	Pernah	2	Tidak	2 bulan	tidak merokok	(+2)	0	42.5	0.124877
19	025019	HE	40	RS Kusta Kediri	28 Februari 2019	Laki-laki	Peternak	SD	Jawa	Kediri	2 tahun 2 bulan	Tidak Serumah	MDT	1 tahun (Selesai)	RFT	2 tahun	Pernah	3	3 hari	tidak pernah	2 batang sehari	0	0	126.117	0.140955
20	045040	MR	25	RS Kusta Kediri	28 Februari 2019	Perempuan	Ibu Rumah Tangga	SMP	Jawa	Nganjuk	10 tahun	Serumah	MDT	1 tahun (Selesai)	RFT	9 tahun	Pernah	5	Tidak	1 tahun	tidak merokok	(+2)	0	277.8191	0.274286
21	11426223	TH	36	RSSA	4 Maret 2019	Laki-laki	Pedagang	SD	Madura	Malang	1 bulan	Tidak Serumah	MDT	1 bulan	Dalam Terapi	Belum	Belum	1	belum	tidak pernah	2 batang sehari	(+6)	60%	42.92553	0.329971
22	041058	SS	49	RS Kusta Kediri	14 Maret 2019	Laki-laki	Petani	SMP	Jawa	Prambon	10 bulan lalu	Tidak Serumah	MDT	10 bulan	Dalam Terapi	belum	Pernah	3	belum	6 minggu lalu	tidak merokok	(+3)	0	66.75532	0.295854

23	042653	AR	34	RS Kusta Kediri	14 Maret 2019	Perempuan	Ibu Rumah Tangga	SMP	Jawa	Blitar	1 tahun 3 bulan	Serumah	MDT	1 tahun (Selesai)	RFT	3 bulan	Pernah	2	Tidak	3 bulan	tidak merokok	(+2)	0	161.3298	0.125661
24	025030	NC	35	RS Kusta Kediri	14 Maret 2019	Laki-laki	Pemulung	SD	Jawa	Blitar	4 bulan 4 tahun	Serumah	MDT bulan	2 bulan	RFT	Belum	Pernah	6	Tidak	4 bulan	tidak merokok	(+4)	0	267.1809	0.161347
25	10497041	HA	56	RSSA	19 Maret 2019	Laki-laki	Guide	SMU	Madura	Kediri	2 tahun 1 bulan	Serumah	MDT	1 tahun (Selesai)	RFT	2 tahun	Ya	4	Tidak	1 bulan lalu	tidak merokok	0	0	112.7128	0.47585
26	029416	PU	42	RS Kusta Kediri	27 Maret 2019	Laki-laki	Petani	SD	Jawa	Nganjuk	1 tahun 1 bulan	Tidak Serumah	MDT	1 tahun (Selesai)	RFT	1 bulan	Pernah	5	Tidak	2 bulan	tidak merokok	(+2)	0	247.3936	0.215071
27	026945	HC	33	RS Kusta Kediri	27 Maret 2019	Laki-laki	Supir Truck	SMP	Jawa	Kediri	1 tahun 7 bulan	Tidak Serumah	MDT	1 tahun (Selesai)	RFT	7 bulan	Pernah	4	Tidak	5 bulan sebelumnya	7 batang per hari	0	0	302.7128	0.095466
28	045754	AF	43	RS Kusta Kediri	27 Maret 2019	Perempuan	Pedagang	SD	Jawa	Trenggalek	New Case	Serumah	MDT	New case	Dalam Terapi	Belum	Pernah	0	Tidak	Tidak pernah	tidak merokok	(+6)	75%	108.883	0.386832
29	095365	AD	27	RS Kusta Kediri	28 Maret 2019	Laki-laki	Supir Truck	SMP	Jawa	Kesamben	2 tahun 1 bulan	Tidak Serumah	MDT	1 tahun (Selesai)	RFT	6 bulan	Pernah	4	Tidak	3 bulan	tidak merokok	(+4)	0	177.0745	0.248796
30	11433814	MP	11	RSSA	2-Apr-19	Laki-laki	Pelajar	SD	Jawa	Malang (Blimbing)	8 bulan lalu	Serumah	MDT bulan	belum diterapi	Dalam Terapi	Belum	Belum	2	Tidak	1 bulan lalu	tidak merokok	(+3)	0	206.2234	0.299383

Lampiran 9

ANALISIS STATISTIK DATA HASIL PENELITIAN

Uji Normalitas

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
TNF_Alfa	.156	30	.061	.922	30	.029
Kortisol	.085	30	.200*	.966	30	.448

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Uji Korelasi

Correlations

		TNF Alfa	Kortisol
TNF_Alfa	Pearson Correlation	1	-.441*
	Sig. (2-tailed)		.015
	N	30	30
Kortisol	Pearson Correlation	-.441*	1
	Sig. (2-tailed)	.015	
	N	30	30

*. Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

Uji Beda Karakteristik Subyek

Usia

Jumlah

Kode Usia

	Observed N	Expected N	Residual
Kurang dari 15 tahun	2	10.0	-8.0
15-64 Tahun	27	10.0	17.0
Lebih dari 65 Tahun	1	10.0	-9.0
Total	30		

Test Statistics

	Kode Usia
Chi-Square	43.400 ^a
Df	2
Asymp. Sig.	.000

a. 0 cells (0.0%) have expected frequencies less than 5. The minimum expected cell frequency is 10.0.

Uji Beda

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
TNF_Alfa	Kurang dari 15 tahun	2	184.7340	166.84711	117.97872	-1314.3278	1683.7959	66.76	302.71
	15-64 Tahun	27	168.7411	84.95637	16.34986	135.1335	202.3488	18.67	277.82
	Lebih dari 65 Tahun	1	206.2234	.	.	.	.	206.22	206.22
	Total	30	171.0567	86.55291	15.80233	138.7373	203.3761	18.67	302.71
Kortisol	Kurang dari 15 tahun	2	.1957	.14170	.10019	-1.0774	1.4687	.10	.30
	15-64 Tahun	27	.2125	.12339	.02375	.1637	.2613	.02	.48
	Lebih dari 65 Tahun	1	.2994	.	.	.	.	.30	.30
	Total	30	.2142	.12091	.02207	.1691	.2594	.02	.48

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
TNF_Alfa	Between Groups	1755.606	2	877.803	.110	.896
	Within Groups	215495.179	27	7981.303		
	Total	217250.785	29			
Kortisol	Between Groups	.008	2	.004	.260	.773
	Within Groups	.416	27	.015		
	Total	.424	29			

Pekerjaan

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval		Minimum	Maximum
						for Mean			
						Lower Bound	Upper Bound		
TNF_Alfa	Ibu Rumah Tangga	4	133.8564	119.85283	59.92641	-56.8562	324.5690	18.67	245.80
	Pedagang	6	172.0567	87.55231	35.74308	80.1762	263.9373	62.18	267.18
	Pelajar/Mahasiswa	3	165.1950	122.73670	70.86207	-139.6998	470.0899	66.76	302.71
	Petani	4	205.1862	67.28538	33.64269	98.1201	312.2522	112.71	263.56
	Lainnya	13	172.8928	82.54869	22.89489	123.0091	222.7765	37.39	277.82
	Total	30	171.0567	86.55291	15.80233	138.7373	203.3761	18.67	302.71
Kortisol	Ibu Rumah Tangga	4	.2193	.10737	.05368	.0484	.3901	.12	.37
	Pedagang	6	.1374	.10265	.04191	.0296	.2451	.02	.30
	Pelajar/Mahasiswa	3	.1774	.10505	.06065	-.0835	.4384	.10	.30
	Petani	4	.1933	.20196	.10098	-.1281	.5147	.05	.48
	Lainnya	13	.2631	.09991	.02771	.2028	.3235	.08	.39
	Total	30	.2142	.12091	.02207	.1691	.2594	.02	.48

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
TNF_Alfa	Between Groups	10347.641	4	2586.910	.313	.867
	Within Groups	206903.144	25	8276.126		
	Total	217250.785	29			
Kortisol	Between Groups	.072	4	.018	1.288	.301
	Within Groups	.351	25	.014		
	Total	.424	29			

Pendidikan

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
SD	10	210.1064	77.95309	24.65093	154.3421	265.8707	42.93	302.71
SMP	13	158.6538	92.35004	25.61329	102.8473	214.4604	18.67	277.82
SMA	6	155.1241	68.67427	28.03615	83.0549	227.1933	66.33	261.54
Diploma	1	37.3936	.	.	.	.	37.39	37.39
Total	30	171.0567	86.55291	15.80233	138.7373	203.3761	18.67	302.71
SD	10	.2135	.14768	.04670	.1078	.3191	.05	.48
SMP	13	.2357	.11847	.03286	.1641	.3073	.02	.39
SMA	6	.1808	.09128	.03727	.0850	.2766	.08	.34
Diploma	1	.1445	.	.	.	.	.14	.14
Total	30	.2142	.12091	.02207	.1691	.2594	.02	.48

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
TNF_Alfa	Between Groups	36637.481	3	12212.494	1.758	.180
	Within Groups	180613.304	26	6946.666		
	Total	217250.785	29			
Kortisol	Between Groups	.018	3	.006	.375	.772
	Within Groups	.406	26	.016		
	Total	.424	29			

IM (Indeks Morfologis)

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum	
					Lower Bound	Upper Bound			
TNF_Alfa	.00	26	170.3232	84.83736	16.63797	136.0567	204.5898	37.39	302.71
	.75	1	177.0745	.	.	.	.	177.07	177.07
	2.00	1	18.6702	.	.	.	.	18.67	18.67
	60.00	1	240.3723	.	.	.	.	240.37	240.37
	75.00	1	267.1809	.	.	.	.	267.18	267.18
	Total	30	171.0567	86.55291	15.80233	138.7373	203.3761	18.67	302.71
Kortisol	.00	26	.2135	.12333	.02419	.1637	.2633	.02	.48
	.75	1	.2488	.	.	.	.	.25	.25
	2.00	1	.3727	.	.	.	.	.37	.37
	60.00	1	.0935	.	.	.	.	.09	.09
	75.00	1	.1613	.	.	.	.	.16	.16
	Total	30	.2142	.12091	.02207	.1691	.2594	.02	.48

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
TNF_Alfa	Between Groups	37316.352	4	9329.088	1.296	.298
	Within Groups	179934.433	25	7197.377		
	Total	217250.785	29			
Kortisol	Between Groups	.044	4	.011	.718	.587
	Within Groups	.380	25	.015		
	Total	.424	29			

Uji Beda
Jenis kelamin

Group Statistics

	Jenis_Kelamin	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
TNF_Alfa	Laki-laki	25	173.1638	81.46328	16.29266
	Perempuan	5	160.5213	119.70216	53.53243
Kortisol	Laki-laki	25	.2156	.12689	.02538
	Perempuan	5	.2077	.09652	.04317

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
TNF_Alfa	Equal variances assumed	3.400	.076	.293	28	.771	12.64255	43.08644	-75.61602	100.90112
	Equal variances not assumed			.226	4.769	.831	12.64255	55.95688	-133.32479	158.60989
Kortisol	Equal variances assumed	1.743	.197	.130	28	.897	.00786	.06026	-.11558	.13130
	Equal variances not assumed			.157	7.101	.880	.00786	.05007	-.11021	.12592

Suku

Group Statistics

	Kode_Suku	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
TNF_Alfa	Jawa	23	180.6221	80.85018	16.85843
	Luar Jawa	7	139.6277	103.62055	39.16489
Kortisol	Jawa	23	.2154	.12554	.02618
	Luar Jawa	7	.2103	.11332	.04283

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
TNF_Alfa	Equal variances assumed	1.849	0.185	1.101	28	0.28	40.99445	37.22565	35.25883	117.24773
	Equal variances not assumed			0.961	8.351	0.363	40.99445	42.63913	-56.6164	138.6053
Kortisol	Equal variances assumed	0.194	0.663	0.097	28	0.924	0.00514	0.05311	-0.10365	0.11392
	Equal variances not assumed			0.102	10.904	0.92	0.00514	0.0502	-0.10547	0.11574

Domisili

Group Statistics

	Alamat_	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
TNF_Alfa	Malang	7	123.0927	115.54383	43.67146
	Luar	23	185.6545	72.65845	15.15033
Kortisol	Malang	7	.2014	.11553	.04367
	Luar	23	.2182	.12474	.02601
	Malang				

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
TNF_Alfa	Equal variances assumed	6.061	0.02	-1.731	28	0.094	-62.56178	36.13839	-136.58792	11.46436
	Equal variances not assumed			-1.353	7.501	0.215	-62.56178	46.22477	-170.40201	45.27845
Kortisol	Equal variances assumed	0.007	0.935	-0.316	28	0.754	-0.01676	0.05302	-0.12536	0.09185
	Equal variances not assumed			-0.33	10.648	0.748	-0.01676	0.05083	-0.12908	0.09557

Riwayat ENL

Group Statistics

	Riwayat_ENL	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
TNF_Alfa	Kurang dari 5	22	175.5851	90.31523	19.25527
	lebih dari sama dengan 5	8	158.6037	79.52124	28.11500
Kortisol	Kurang dari 5	22	.2192	.12814	.02732
	lebih dari sama dengan 5	8	.2008	.10495	.03711

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
TNF_Alfa	Equal variances assumed	0.371	0.547	0.469	28	0.643	16.98138	36.225	-57.22216	91.18493
	Equal variances not assumed			0.498	14.075	0.626	16.98138	34.07666	-56.06944	90.0322
Kortisol	Equal variances assumed	1.804	0.19	0.363	28	0.719	0.0184	0.05068	-0.08542	0.12221
	Equal variances not assumed			0.399	15.161	0.695	0.0184	0.04608	-0.07973	0.11652

Penggunaan Kortikosteroid

Group Statistics

	kortikosteroid_	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
TNF_Alfa	Tidak Pernah	13	140.4133	69.55407	19.29083
	Pernah	17	194.4900	92.75481	22.49635
Kortisol	Tidak Pernah	13	.2801	.11757	.03261
	Pernah	17	.1639	.09954	.02414

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
TNF_Alfa	Equal variances assumed	0.809	0.376	-1.756	28	0.09	-54.07673	30.80281	-117.17342	9.01996
	Equal variances not assumed			-1.825	27.997	0.079	-54.07673	29.6348	-114.78114	6.62767
Kortisol	Equal variances assumed	0.542	0.468	2.931	28	0.007	0.11622	0.03966	0.03499	0.19746
	Equal variances not assumed			2.865	23.472	0.009	0.11622	0.04057	0.03238	0.20006

Merokok

Group Statistics

	Merokok	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
TNF_Alfa	1.00	23	174.5583	87.22334	18.18732
	2.00	7	159.5517	90.06312	34.04066
Kortisol	1.00	23	.1985	.11660	.02431
	2.00	7	.2659	.12942	.04892

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
TNF_Alfa	Equal variances assumed	.000	.988	.396	28	.695	15.00661	37.91735	-62.66357	92.67678
	Equal variances not assumed			.389	9.699	.706	15.00661	38.59463	-71.35087	101.36408
Kortisol	Equal variances assumed	.001	.973	-1.306	28	.202	-.06735	.05157	-.17298	.03828
	Equal variances not assumed			-1.233	9.178	.248	-.06735	.05463	-.19056	.05586

Uji Korelasi

Descriptive Statistics

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
TNF_Alfa	30	18.67	302.71	171.0567	86.55291
Kortisol	30	.02	.48	.2142	.12091
Valid N (listwise)	30				

Uji Normalitas

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
TNF_Alfa	.156	30	.061	.922	30	.029
Kortisol	.085	30	.200*	.966	30	.448

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Uji Korelasi

Correlations

		TNF_Alfa	Kortisol
TNF_Alfa	Pearson Correlation	1	-.441*
	Sig. (2-tailed)		.015
	N	30	30
Kortisol	Pearson Correlation	-.441*	1
	Sig. (2-tailed)	.015	
	N	30	30

*. Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

Analisis Regresi

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.441 ^a	.194	.166	.11044

a. Predictors: (Constant), TNF_Alfa

ANOVA^a

Model	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1 Regression	.082	1	.082	6.757	.015 ^b
Residual	.342	28	.012		
Total	.424	29			

a. Dependent Variable: Kortisol

b. Predictors: (Constant), TNF_Alfa

Coefficients^a

Model	Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
	B	Std. Error	Beta		
1 (Constant)	.320	.045		7.060	.000
TNF Alfa	-.001	.000	-.441	-2.599	.015

a. Dependent Variable: Kortisol

Lampiran 10 Lembar Bebas Plagiasi

plagiarism-detector
Cutting-edge class tool for plagiarism detection and prevention

19 0699 T





KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
PASCASARJANA

SERTIFIKAT BEBAS PLAGIASI
Nomor: 1090/UN10.F40/PN/2019
Sertifikat ini diberikan kepada:

Nama	: Alfonsus Rendy Laksditalia Nugroho
NIM	: 158071400011002
Program Studi	: Pendidikan Dokter Spesialis Dermatologi dan Venereologi (SP-1 Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin)
Fakultas	: Fakultas Kedokteran
Universitas	: Universitas Brawijaya

Dengan Judul Tesis

Korelasi Antara Kortisol Saliva dan TNF- α Saliva Pasien Eritema Nodosum Leprosum

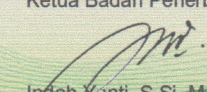
Telah dideteksi tingkat plagiasinya secara online pada tanggal **22 Mei 2019**
dan dinyatakan **bebas plagiasi** dengan kriteria toleransi $\leq 5\%$.

Direktur



Prof. Dr. M. Phil
NIP. 19621113 1983031004

Malang, 22 Mei 2019
Ketua Badan Penerbitan Jurnal



Indah Vanti, S.Si, M.Si.
NIP. 19791129 200501 2 002

KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
PASCASARJANA
Jl. Mayjen Haryono 169, Malang 65145, Indonesia
Telp: +62-341-571260 ; Fax: +62-341-580801
http://pps.ub.ac.id E-mail: pps.ub@ub.ac.id

SURAT KETERANGAN BEBAS PLAGIASI
Nomor: 1090/UN10.F40/PN/2019

Direktur Pascasarjana Universitas Brawijaya menyatakan bahwa Tesis:

Nama : Alfonsus Rendy Lakeditalia Nugroho
NIM : 158071400011002
Judul : Korelasi Antara Kortisol Saliva dan TNF- α Saliva Pasien Eritema Nodosum Leprosum
Program studi : Pendidikan Dokter Spesialis Dermatologi dan Venereologi (SP-1 Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin)
Fakultas : Fakultas Kedokteran

telah dideteksi tingkat plagiasinya dengan kriteria toleransi $\leq 5\%$, dan dinyatakan bebas dari plagiasi (Rincian hasil plagiasi terlampir).
Demikian surat ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.

22 Mei 2019
Direktur


Tembusan:
1. Ketua Program Studi yang bersangkutan
2. Pembimbing/Promotor

Prof. Dr. Marjono, M.Phil
NIP. 19521116 198803 1 004