

**PROFIL PROTEIN SPESIFIK URINE DIHUBUNGKAN DENGAN
KELAS HISTOPATOLOGI DAN AKTIVITAS
PENYAKIT NEFRITIS LUPUS**

TESIS

Untuk Memenuhi Persyaratan

Memperoleh Gelar Spesialis Patologi Klinik



Oleh :

Dany Farida

NIM 148070500011004

PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-1 PATOLOGI KLINIK

FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2018

DAFTAR ISI

Lembar Persetujuan i

Lembar Pengujian ii

Lembar Pengesahan iii

Pernyataan Orisinalitas Tulisan iv

Kata Pengantar v

Abstrak viii

Abstract ix

Daftar Isi x

Daftar Tabel xiii

Daftar Gambar xiv

Daftar Lampiran xv

Daftar Singkatan xvi

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang 1

1.2 Rumusan Masalah 4

1.3 Tujuan Penelitian 4

1.4 Manfaat 4





BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Definisi	6
2.2 Epidemiologi	8
2.3 Etiologi	10
2.4 Patofisiologi dan Patogenesis Nefritis Lupus	10
2.5 Manifestasi Klinis	15
2.6 Gambaran Histopatologi	16
2.7 Pemeriksaan Fisik dan Penunjang	19
2.8 Diagnosis	20
2.9 Silent Lupus Nefritis dan Biopsi Ginjal	22
2.10 Klasifikasi Status Aktifitas (<i>flare</i>) Lupus Nefritis	24
2.11 Penatalaksanaan	27
2.12 Prognosis	31
2.13 Biomarker Lupus	32
2.14 Proteomik Urine pada Nefritis Lupus	33
2.15 Kerangka Teori	36

BAB III KERANGKA KONSEP

3.1 Kerangka Konsep	38
3.2 Hipotesa	39

BAB IV METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian	40
4.2 Populasi dan Sampel Penelitian	40
4.3 Variabel Penelitian	42
4.4 Definisi Operasional	42
4.5 Prosedur Pemeriksaan	43

4.5.1	Pengumpulan Sampel Urine	43
4.5.2	Proses Penyimpanan Sampel Urine	44
4.5.3	Prosedur Kromatografi Kolom	45
4.5.4	Prosedur SDS Page	50
4.5.5	Prosedur Biopsi Ginjal	51
4.5.6	Tehnik Pengumpulan Data dan Analisis Data	52
4.6	Alur Penelitian	53
BAB V HASIL PENELITIAN		
5.1	Karakteristik Subyek yang diteliti	54
5.2	Pola Protein Spesifik Urine berdasarkan Hasil Komatrografi Kolom	58
5.3	Gambaran Berat Molekul Protein Urine sesuai Hasil SDS-PAGE .	65
5.4	Gambaran Berat Molekul Protein Spesifik Urine pada Pasien Nefritis Lupus berdasarkan Kelas Histopatologi	66
5.5	Gambaran Berat Molekul Protein Speisiik Urine pada Pasien Nefritis Lupus Berdasarkan Aktivitas	68
BAB VI PEMBAHASAN		
6.1	Karakteristik Pasien yang Diteliti	70
6.2	Gambaran Hasil Kromatografi Protein Spesifik Urine Pasien NL ..	73
6.3	Gambaran Berat Molekul Protein Spesifik Urine Pasien NL	74
6.4	Gambaran Berat Molekul Protein Spesifik Urine Pasien NL Berdasarkan Kelas Histopatologi	75
6.5	Gambaran Berat Molekul Protein Spesifik Urine Berdasarkan Aktivitas Nefritis Lupus	77
BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN		
7.1	Kesimpulan	79
7.2	Saran	80
	DAFTAR PUSTAKA	81

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Gejala Klinis dari Masing-masing Klas Nefritis Lupus	15
Tabel 2.2 Klasifikasi Nefritis Lupus (WHO, 2003)	17
Tabel 2.3 Kriteria LES Berdasarkan Kriteria ARA Tahun 1997	21
Tabel 2.4 Kriteria untuk LES Berdasarkan Kriteria Systemic Lupus International Collaborating Clinics (SLICC) 2012	21
Tabel 2.5 Klasifikasi Flare Nefritis Lupus	24
Tabel 2.6 SLEDAI-2K data <i>collection sheet</i>	26
Tabel 4.1 Definisi Operasional Penelitian	43
Tabel 5.1 Karakteristik Subyek yang Diteliti	55
Tabel 5.2 Uji Beda Aktivitas NL terhadap Hasil Urinalisis	56
Tabel 5.3 Uji Beda Kelas Histopatologi terhadap Hasil Urinalisis	57
Tabel 5.4 Jumlah <i>Peak Protein Urine</i> Berdasarkan Kelas Histopatologi dan Aktivitas NL	59
Tabel 5.5 Berat Molekul Protein Pasien NL	66
Tabel 5.6 Berat Molekul Protein Pasien NL Berdasarkan Kelas Histopatologi dan Aktivitas NL	67

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Proses Terjadinya Nefritis Lupus 7

Gambar 2.2 Patofisiologi Terjadinya Nefritis Lupus 11

Gambar 2.3 Respon Autoantibodi pada LES 13

Gambar 3.1 Tahapan Pengerjaan Kromatografi Kolom 46

Gambar 3.2 Foto Urutan Kromatografi Kolom 47

Gambar 5.1 Diagram Jumlah *Peak* terhadap Kelas Histopatologi Pasien NL 60

Gambar 5.2 Diagram Jumlah *Peak* terhadap Aktivitas NL 60

Gambar 5.3 Marker Kromatografi 61

Gambar 5.4 Kromatografi pasien NL (A-C) 62

Gambar 5.5 Kromatografi pasien NL Tidak Aktif 63

Gambar 5.6 Kromatografi pada Pasien NL Aktif 63

Gambar 5.7 Kromatografi pada Pasien NL derajat ringan (kelas I,II) (3C) 64

Gambar 5.8 Kromatografi pada Pasien NL derajat berat (kelas III,IV,V) 64

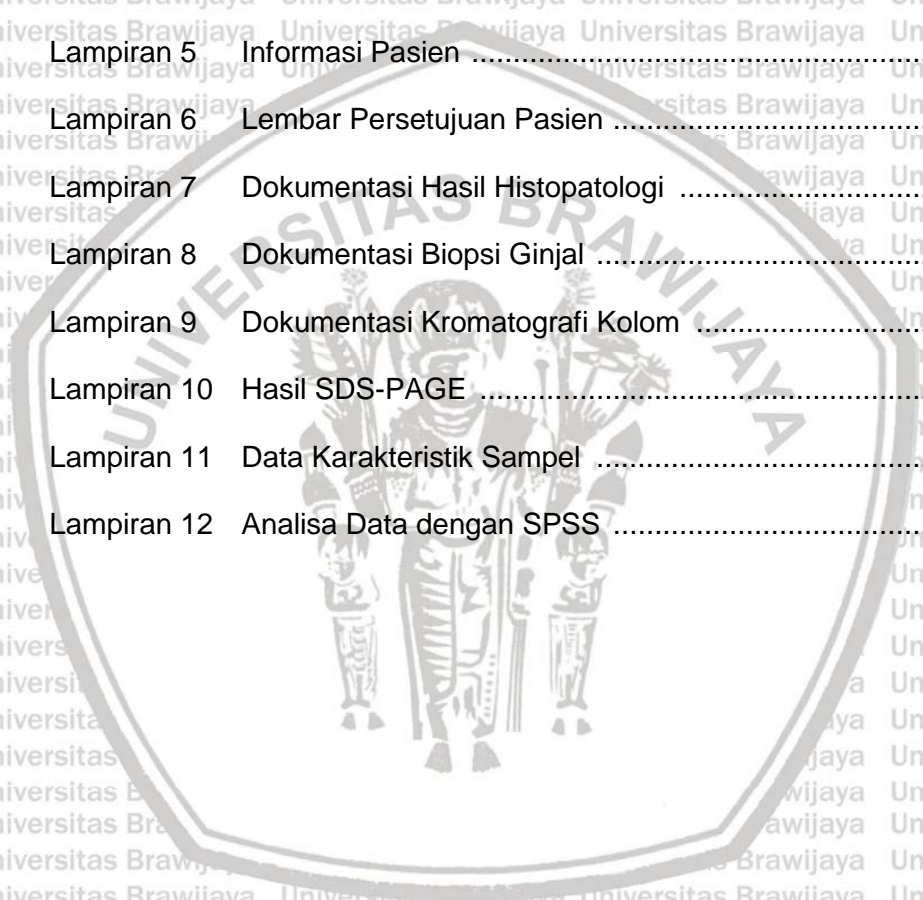
Gambar 5.9 Hasil SDS-PAGE pada Pasien NL Dibandingkan dengan Marker Protein 65

Gambar 5.10 Diagram Berat Molekul Protein Urine Pasien NL berdasarkan Kelas Histopatologi 68

Gambar 5.11 Diagram Berat Molekul Protein Urine pada Pasien NL Berdasarkan Aktivitas 69

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Kelaikan Etik	86
Lampiran 2	Status Penderita LES	87
Lampiran 3	MEX SLEDAL	92
Lampiran 4	Informasi Biopsi Ginjal	94
Lampiran 5	Informasi Pasien	98
Lampiran 6	Lembar Persetujuan Pasien	99
Lampiran 7	Dokumentasi Hasil Histopatologi	100
Lampiran 8	Dokumentasi Biopsi Ginjal	101
Lampiran 9	Dokumentasi Kromatografi Kolom	102
Lampiran 10	Hasil SDS-PAGE	103
Lampiran 11	Data Karakteristik Sampel	112
Lampiran 12	Analisa Data dengan SPSS	114



DAFTAR SINGKATAN

- ACE = Angiotensin-converting Enzyme
- ACR = American College of Rheumatology
- AGP-AAG = α 1-Acidglycoprotein
- ANA = Anti Nuclear Antibody
- ARA = American Rheumatism Association
- ARB = Angiotensin Receptor Blokera
- BM = Berat Molekul
- C3 = Komplemen 3
- C4 = Komplemen 4
- C5 = Komplemen 5
- CICX = Circulating Immune Complexes
- CP = Ceruloplasmin
- dsDNA = Double Strained Deoxyribonucleic Acid
- ESRD = End Stage Renal Disease
- Hb = Hemoglobin
- HIV = Human Immunodeficiency Virus
- Ig G = Immunoglobulin G
- KCKT = Kromatografi Cair Kinerja Tinggi
- KCRR = Kromatografi Cair Kinerja Rendah
- kDa = Kilodalton
- LED = Laju Endap Darah
- LES = Lupus Erythematosus Systemic
- LFG = Laju Filtrasi Ginjal

- LMW = Low Molecular Weight
- LPB = Lapang Pandang Besar
- L-PGDS = Lipocaline-type Prostaglandin D-Synthetase
- LPLC = Low Performance Liquid Chromatography
- mAU = 1/1000 Absorbent Unit
- MEX-SLEDAI = Mexican Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index
- NL = Nefritis Lupus
- OAINS = Oral Anti Inflamasi Non Steroid
- SDS-PAGE = Sodium Dodecyl Sulphate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis
- SLICC = Systematic Lupus International Collaborating Clinics
- TF = Transferrin
- uIL-12 = Urine Interleukin-12
- uMCP1 = Urine Monocyte Chemoattractant Protein-1
- uNGAL = Urinary Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin
- uTGF- β 1 = Urine Transforming Growth Factor Beta-1
- WHO = World Health Organization

ABSTRAK

Farida, Dany, 2018, **Profil Protein Spesifik Urine Dihubungkan dengan Kelas Histopatologi dan Aktivitas Penyakit Nefritis Lupus**. Program Pendidikan Dokter Spesialis I Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Pembimbing (1) Dr. dr. Hani Susianti, Sp.PK(K), (2) dr. I. Putu Adi Santosa, Sp.PK

Nefritis Lupus (NL) merupakan manifestasi serius pada Lupus Eritematosus Sistemik (LES). Biomarker yang ada saat ini untuk mengevaluasi aktivitas NL masih belum memuaskan, biopsi ginjal masih menjadi standar baku untuk penilaian kelas histopatologi. Kelas histopatologi dan aktivitas NL digunakan untuk menentukan prognosis atau progresifitas NLI. Perubahan patologis pada membran basalis dan selektifitas protein akan menyebabkan suatu pola protein spesifik dari urin yang diekskresi. Identifikasi pola protein spesifik tersebut diharapkan membantu mengevaluasi progresifitas dan menentukan prognosis NL Tujuan penelitian ini adalah mengetahui gambaran protein spesifik urin pada NL berdasarkan kelas histopatologi dan aktivitas. Metode *cross-sectional* berdasarkan studi observasional dengan sampel 20 pasien NL dilakukan pemeriksaan protein urin dengan kromatografi kolom dan SDS-PAGE. Pasien NL dilakukan biopsi ginjal untuk menentukan kelas histopatologi dan aktivitasnya. Dilakukan deskripsi gambaran protein spesifik urin dan berat molekul dan dilakukan uji beda terhadap kelas histopatologi dan aktivitasnya. Hasil didapatkan perbedaan gambaran pola protein spesifik urin dan jumlah *peak* pada pasien NL tidak aktif dan aktif. Berat molekul protein spesifik urin pada NL tidak aktif dan derajat ringan (kelas I,II) > 66kDa sedangkan pada NL aktif dan derajat berat (kelas III, IV, V) mempunyai protein urin tambahan dan protein berat molekul rendah 30-21kDa. Terdapat perbedaan gambaran jumlah *peak* dan berat molekul protein spesifik urin pada NL tidak aktif dan NL aktif. Pada NL derajat berat kelas III, IV, V dan NL aktif mempunyai protein urin tambahan dengan berat molekul rendah 30-21kDa.

Kata kunci : Nefritis Lupus, protein spesifik urin, kelas histopatologi, aktivitas

ABSTRACT

Farida, Dany, 2018, **Specific Urine Protein Profile Associated with Histopathology Class and Lupus Nephritis Disease Activity**. Specialist Doctor Education Program I Pathology Clinic Faculty of Medicine Brawijaya University Malang. Supervisors (1) Dr. dr. Hani Susianti, Sp.PK (K), (2) dr. I. Putu Adi Santosa, Sp.PK

Lupus Nephritis (NL) is a serious manifestation of Systemic Lupus Erythematosus (LES). Current biomarkers for evaluating NL activity are still unsatisfactory, renal biopsy is still the standard for histopathologic grade assessment. Classes of histopathology and activity of NL are used to determine the prognosis or progression of NL. Pathological changes in the basement membrane and protein selectivity will lead to a specific protein pattern of urine being excreted. Identification of specific protein patterns is expected to help evaluate progressiveness and determine the prognosis of NL. The purpose of this study is to know the description of urine-specific proteins in NL based on histopathology and activity classes. The *cross-sectional* method based on observational studies with 20 NL samples was examined for urine protein by column chromatography and SDS-PAGE. The NL patient performed a renal biopsy to determine the histopathology class and its activity. A description of urine specific protein and molecular weight was performed and different tests were conducted on the histopathology class and its activity. The results showed differences in urine-specific protein pattern and the number of peaks in inactive and active NL patients. The weight of urine-specific protein molecules in NL is inactive and mild degrees (class I, II) > 66kDa whereas in active NL and degree of weight (class III, IV, V) have additional urine protein and low molecular weight protein 30-21kDa. Tdapat difference description of the number of peaks and the weight of urine specific protein molecules in inactive NL and active NL. In NL the class III, IV, V and NL active doses have additional urine protein with a low molecular weight of 30-21 kDa.

Keyword : Lupus Nephritis, spesific urine protein, histopatology class, activity

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Nefritis Lupus (NL), salah satu dari manifestasi paling serius dari Lupus Eritematosus Sistemik (LES) biasanya muncul dalam 5 tahun setelah diagnosis.

Nefritis lupus tampak jelas secara histologis pada kebanyakan pasien dengan LES, tetapi ada yang tidak menunjukkan manifestasi klinis penyakit ginjal. Gejala

NL umumnya berhubungan dengan hipertensi, proteinuria dan gagal ginjal.

(Brent and Hamed, 2008)

The Lupus Foundation of America memperkirakan sekitar 1,5 juta kasus LES dan WHO mencatat sekitar 5 juta kasus LES di dunia. Setiap tahun diperkirakan terjadi sekitar 16 ribu kasus baru lupus. Di Indonesia pada tahun 2016 jumlah penderita lupus sekitar 1,25 juta orang (prevalensi sekitar 0,5%).

Perhimpunan SLE Indonesia (PESLI) pada tahun 2016 mendapatkan rata-rata insiden kasus baru dari 8 rumah sakit besar di Indonesia adalah sekitar 10,5% dan pada laki-laki jumlahnya meningkat. (Belmont, 20016)

Keterlibatan ginjal pada LES merupakan manifestasi penyakit yang umum dijumpai dan merupakan prediktor prognosis yang lebih buruk. Prevalensi penyakit ginjal pada 8 studi kohort besar yang terdiri atas 2649 pasien LES bervariasi antara 31-65%. Suatu studi menganalisis insidensi tahunan dari nefritis pada 384 pasien lupus di John Hopkins Medical Center antara 1992-1994, (Rus, 2007) berdasarkan data dari Asia, keterlibatan ginjal berkisar antara 60-100% secara keseluruhan. (Dooley, 2007). Prevalensi keterlibatan ginjal pada pasien LES kemungkinan sekitar 50%, lebih sering pada anak-anak dan etnis tertentu .

LES lebih sering pada orang kulit hitam dan ras Hispanik dibandingkan kulit putih.

Nefritis lupus yang berat terutama lebih sering ditemukan pada orang kulit hitam dan ras Asia dibandingkan ras lain. Karena prevalensi LES lebih tinggi pada wanita (rasio wanita:pria=9:1), nefritis lupus juga lebih sering dijumpai pada wanita, bagaimanapun prognosis penyakit ginjal klinis lebih umum pada pria dengan LES. (Gloor, 1998) (Brunner, 2008)

Nefritis lupus sering terjadi pada pasien usia 20-40 tahun. Anak dengan LES memiliki risiko penyakit ginjal lebih tinggi daripada dewasa dan lebih sering mengalami cedera akibat penyakit yang agresif dan toksisitas akibat pengobatan.

(Bartels, 1998) (Petri, 2012) Selama 4 dekade terakhir, perubahan manajemen pasien NL telah banyak membuat hidup pasien meningkat. Saat ini rata-rata kelangsungan hidup 10 tahun dari LES telah melebihi 90%. Sebelum tahun 1955, kelangsungan hidup 5 tahun ke depan kurang dari 50%. Penurunan mortalitas terkait SLE dapat merupakan kontribusi diagnosis lebih awal (termasuk kasus ringan), perbaikan pengobatan spesifik dan kemajuan ilmu kedokteran secara umum. Prognosis pasien NL, dikatakan baik untuk kelas histopatologi 1 dan II, sedangkan kelas III, IV dan V mempunyai prognosis yang buruk. Menurut kriteria

Mexican Systemix Lupus Erythematosus Daily Activity Index (MEX-SLEDAI), pasien yang memiliki skor <2 memiliki aktivitas penyakit LES ringan, skor 2-5 memiliki aktivitas penyakit LES sedang, dan skor >5 memiliki aktivitas LES yang berat. Sedangkan untuk pasien NL, aktivitas tetap dinilai berdasarkan MEX-SLEDAI dengan hanya melihat keterlibatan ginjal, NL tidak aktif apabila skor <4 dan NL aktif apabila skor ≥4. (Gilboe, 1999)

Biomarker yang telah ada seperti dsDNA, C3, C4 ternyata memiliki sensitivitas dan spesifitas yang kurang memuaskan untuk NL yaitu sekitar 49-

79%. (Sudoyo, 2007) Beberapa biomarker NL baru telah diteliti, namun masih memerlukan validasi berdasarkan latar belakang etnis yang berbeda. Kombinasi dari beberapa biomarker nampaknya membantu memperkirakan aktivitas penyakit dan gambaran histopatologi ginjal. Pendekatan ini berpotensi mengurangi perlunya dilakukan biopsi ginjal, memperbaiki efisiensi terapi, dan mengurangi efek toksisitas terapi. (Mok, 2003)

Protein spesifik urine menjadi biomarker urine pilihan karena sampel urine mudah didapat, tidak invasif serta lebih akurat dalam membedakan penyakit ginjal dari organ lain. Protein spesifik urine yang pernah dikembangkan antara lain *transferrin (TF)* 79 kDa, *α 1-acid glycoprotein (AGP;AAG)* 56 kDa, *ceruloplasmin (CP)* 133 kDa, *lipocaline-type prostaglandin D-synthetase (L-PGDS)* 23 kDa, *hepcidin* 20 kDa, *hepcidin* 25 kDa. Interaksi dari sitokin proinflamasi, sitokin antiinflamasi dan kerusakan ginjal inilah yang merupakan mekanisme patogenesis pada nefritis lupus. (Rovin, 2007)

Penelitian yang dilakukan Varghese pada tahun 2007 menunjukkan pada penyakit ginjal dan kelas NL yang berbeda, terdapat perubahan patologik dari ukuran membran basalis glomerulus dan selektivitas muatan listrik yang spesifik pada penyakit dan kelas histopatologi tertentu. Hal tersebut menyebabkan pola dari plasma protein yang diekskresi ke dalam urine spesifik pada penyakit dan kelas histopatologi tertentu. Penelitian yang dilakukan oleh Zhang dan kawan-kawan pada tahun 2008 dengan pendekatan berbasis proteomik berhasil menemukan beberapa protein spesifik urine dengan berat molekul rendah (< 30 kDa) pada sampel serial urine pasien NL sebagai biomarker prediktif adanya flare pada pasien NL. Di Indonesia sendiri belum terdapat data mengenai protein tertentu yang terdapat pada urine pasien NL. Berdasarkan hal tersebut diatas,

penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi protein spesifik pada urine pasien NL yang harapannya dapat dikembangkan menjadi biomarker untuk menilai histopatologi ginjal tanpa melalui biopsi dan menilai aktivitas penyakit. (Zhang, 2008)

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah yang disampaikan pada penelitian ini adalah :

1. Apakah terdapat perbedaan pola protein spesifik urine pada kelas histopatologi derajat ringan (kelas I, II) dan derajat berat (kelas III, IV, V) pada penyakit nefritis lupus?
2. Apakah terdapat perbedaan pola protein spesifik urine pada penyakit nefritis lupus tidak aktif dan aktif?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan khusus dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Untuk mengetahui adanya perbedaan pola protein spesifik urine pada kelas histopatologi derajat ringan (kelas I, II) dan derajat berat (kelas III, IV, V) pada penyakit nefritis lupus.
2. Untuk mengetahui adanya perbedaan pola protein spesifik urine pada penyakit nefritis lupus tidak aktif dan aktif.

1.4 Manfaat

Manfaat yang diharapkan adalah bisa membantu mempermudah penegakkan diagnosis nefritis lupus yang *non invasive* dengan melihat profil protein spesifik urine pada penderita yang di curigai terjadi nefritis lupus. Hal ini

akan lebih mempermudah klinisi untuk diagnosis NL dan juga tidak memberatkan penderita karena hanya dilakukan pengambilan sampel urine sewaktu untuk diperiksa. Selain itu analisa protein spesifik urine juga bisa untuk menilai aktivitas penyakit nefritis lupus, sehingga bisa diketahui prognosis dan pemberian terapi akan lebih awal diberikan dan lebih tepat.



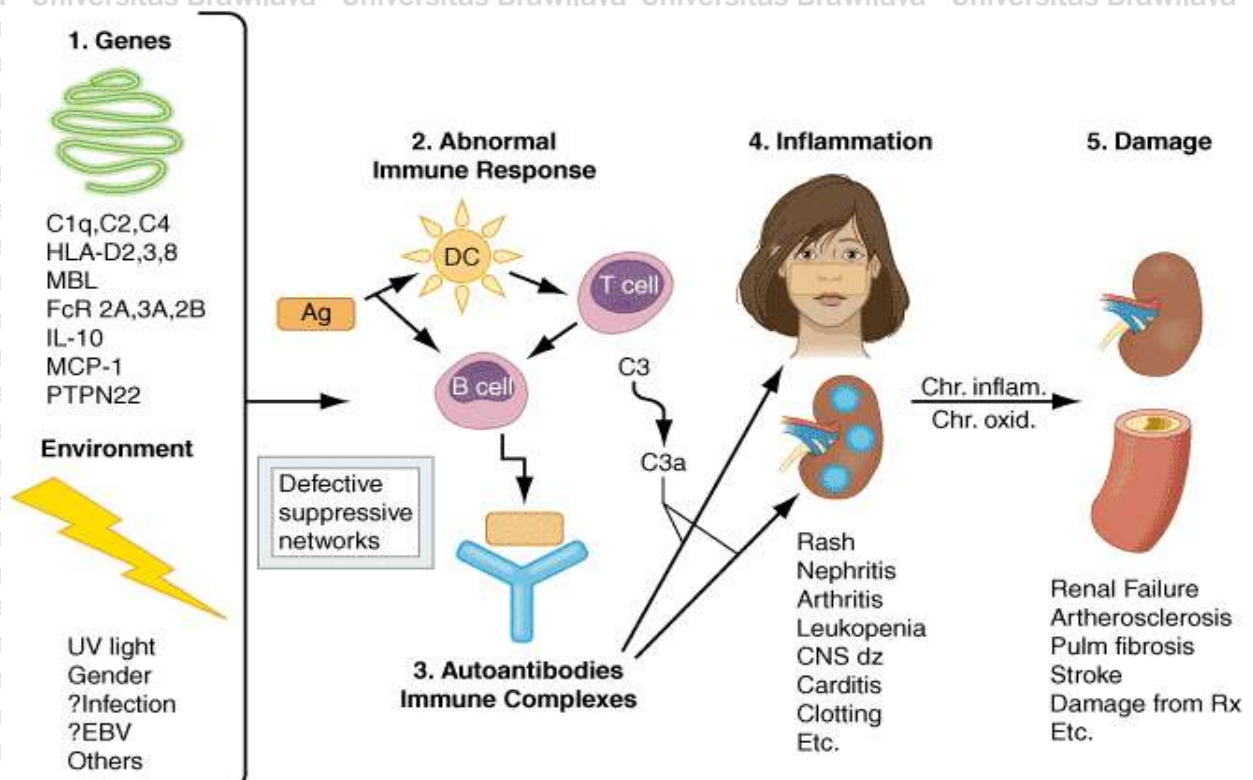
BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Definisi

Nefritis Lupus (NL) adalah komplikasi ginjal pada Lupus Eritematosus Sistemik (LES). Diagnosis klinis NL ditegakkan bila pada LES terdapat tanda-tanda proteinuria dalam jumlah lebih atau sama dengan 0,5 gram/24 jam atau/dengan hematuria (>5 eritrosit/LPB) atau dengan penurunan fungsi ginjal sampai 30%. Sebanyak 60% pasien LES dewasa akan mengalami komplikasi ginjal yang nyata, walaupun pada fase awal LES, kelainan atau gangguan fungsi ginjal terdapat 30%-50% kasus, dimana 60% diantaranya pasien dewasa dan 80% anak-anak. Rasio wanita:pria dengan kelainan ginjal adalah 10:1 dengan puncak insiden antara 15-40 tahun. (Schur, 2005)

Nefritis lupus adalah suatu proses inflamasi ginjal yang disebabkan oleh Sistemik Lupus Eritematosus, yaitu suatu penyakit autoimun. Selain ginjal, dapat merusak kulit, sendi, sistem saraf dan hampir semua organ dalam tubuh. (Gill, 2003)



Gambar 2.1 Proses Terjadinya Nefritis Lupus.(Fauci, 2008)

Pada Gambar 2.1 menunjukkan patogenesis timbulnya LES diawali oleh interaksi antara faktor predisposisi genetik dengan faktor lingkungan, faktor hormonal, faktor sistem neuroendokrin. Interaksi faktor-faktor ini akan mengakibatkan terjadinya respon imun abnormal, yang menimbulkan peningkatan aktivitas sel-T dan sel_B, aktifasi *innate immunity* (sel dendritik) oleh CpG DNA, DNA pada kompleks imun dan RNA pada *RNA/protein self-antigen*, penurunan ambang aktivasi dari sel imun adaptif (*antigen-specific* limfosit T dan B), regulasi dan inhibisi inefektif dari sel T CD4+ dan CD8+, penurunan bersihan sel apoptosis dan kompleks imun sehingga terjadi peningkatan autoantibodi (DNA-anti-DNA). Sebagian dari autoantibodi ini akan membentuk kompleks imun bersama dengan nukleosom (DNA-histon), kromatin C1q, laminin, Ro(SS-A),

ubikuitin, dan ribosom yang kemudian akan membuat deposit (endapan) sehingga akan terjadi kerusakan jaringan dan organ. (Sudoyo, 2009)

2.2 Epidemiologi

The Lupus Foundation of America memperkirakan sekitar 1,5 juta kasus dan WHO mencatat sekitar 5 juta kasus di dunia. Setiap tahun diperkirakan terjadi sekitar 16 ribu kasus baru lupus. Di Indonesia pada tahun 2016 jumlah penderita lupus sekitar 1,25 juta orang (prevalensi sekitar 0,5%). Perhimpunan LES Indonesia (PESLI) pada tahun 2016 mendapatkan rata-rata insiden kasus baru dari 8 rumah besar di Indonesia adalah sekitar 10,5% dan pada laki-laki jumlahnya meningkat. (Belmont, 2006)

Keterlibatan ginjal pada LES merupakan manifestasi penyakit yang umum dijumpai dan merupakan prediktor prognosa yang lebih buruk. Prevalensi penyakit ginjal pada 8 studi kohort besar yang terdiri atas 2649 pasien LES bervariasi antara 31-65%. Suatu studi menganalisis insidensi tahunan dari nefritis pada 384 pasien lupus di John Hopkins Medical Center antara 1992-1994, berdasarkan data dari Asia, keterlibatan ginjal berkisar antara 6-100% secara keseluruhan. (Rus, 2007)

Secara histologis, ginjal terpengaruh sampai derajat tertentu pada kebanyakan pasien dengan LES. Perkiraan prevalensi keterlibatan ginjal secara klinis pada pasien LES berkisar antara 30%-90% pada studi-studi yang sudah dipublikasikan. LES lebih sering pada orang kulit hitam dan ras Hispanik dibandingkan kulit putih. Nefritis lupus yang berat terutama lebih sering ditemukan pada orang kulit hitam dan ras Asia dibandingkan ras lain. Karena prevalensi LES lebih tinggi pada wanita (rasio wanita:pria = 9:1), NL juga lebih sering dijumpai pada wanita. (Yung, 2008) (Ardoin, 2008) (Rahman, 2008)

Kebanyakan pasien dengan LES terkena nefritis lupus pada awal perjalanan penyakitnya. LES lebih sering terjadi pada wanita di dekade ketiga kehidupannya, dan nefritis lupus juga sering terjadi pada pasien usia 20-40 tahun. Anak dengan LES memiliki risiko penyakit ginjal lebih tinggi daripada dewasa dan lebih sering mengalami cedera akibat penyakit yang agresif dan toksisitas akibat pengobatan. (Simon, 2004)

Selama 4 dekade terakhir, perubahan dari manajemen NL telah banyak meningkatkan kemungkinan hidup pasien. Saat ini rata-rata kelangsungan hidup 10 tahun dari LES telah melebihi 90%. Sebelum tahun 1955, kelangsungan hidup 5 tahun kurang dari 50%. Penurunan mortalitas terkait LES dapat merupakan kontribusi diagnosis lebih awal (termasuk kasus ringan), perbaikan pengobatan spesifik dan kemajuan ilmu kedokteran secara umum. (Adis, 1999) (Wening, 2004)

Morbiditas dari NL terkait dengan penyakit ginjalnya sendiri, selain komplikasi pengobatan dan komorbiditas seperti penyakit kardiovaskular dan trombosis. Gagal ginjal progresif dapat berakhir pada anemia, uremia dan gangguan asam basa serta elektrolit. Hipertensi akan semakin meningkatkan risiko penyakit jantung koroner dan stroke. Sindroma nefrotik dapat menimbulkan edema, asites dan hiperlipidemia. Komplikasi infeksi yang terkait LES aktif dan pengobatan immunosupresi saat ini merupakan penyebab utama kematian pada LES fase awal yang aktif, dan arteriosklerosis dini adalah penyebab kunci mortalitas pada fase lanjut. *Framingham Offspring Study* menunjukkan bahwa wanita usia 35-44 tahun dengan LES adalah 50 kali lebih mudah mengalami iskemia miokardial dibandingkan wanita sehat. Penyebab PJK dini pada pasien LES bersifat multifaktorial, termasuk disfungsi endotel, mediator inflamasi,

atherogenesis yang diinduksi kortikosteroid dan dislipidemia yang terkait dengan penyakit ginjal. (Weening, 2004)

2.3 Etiologi

Nefritis Lupus terjadi ketika antibodi (*antinuclear antibody*) dan komplemen menyebabkan terjadinya proses peradangan di ginjal. Terjadi deposit *autoimmune-complex* yang menyebabkan fungsi ginjal terganggu. Hal tersebut biasanya mengakibatkan terjadinya sindrom nefrotik (eksresi protein yang besar) dan dapat progresi cepat menjadi gagal ginjal. Produk nitrogen terlepas kedalam aliran darah.

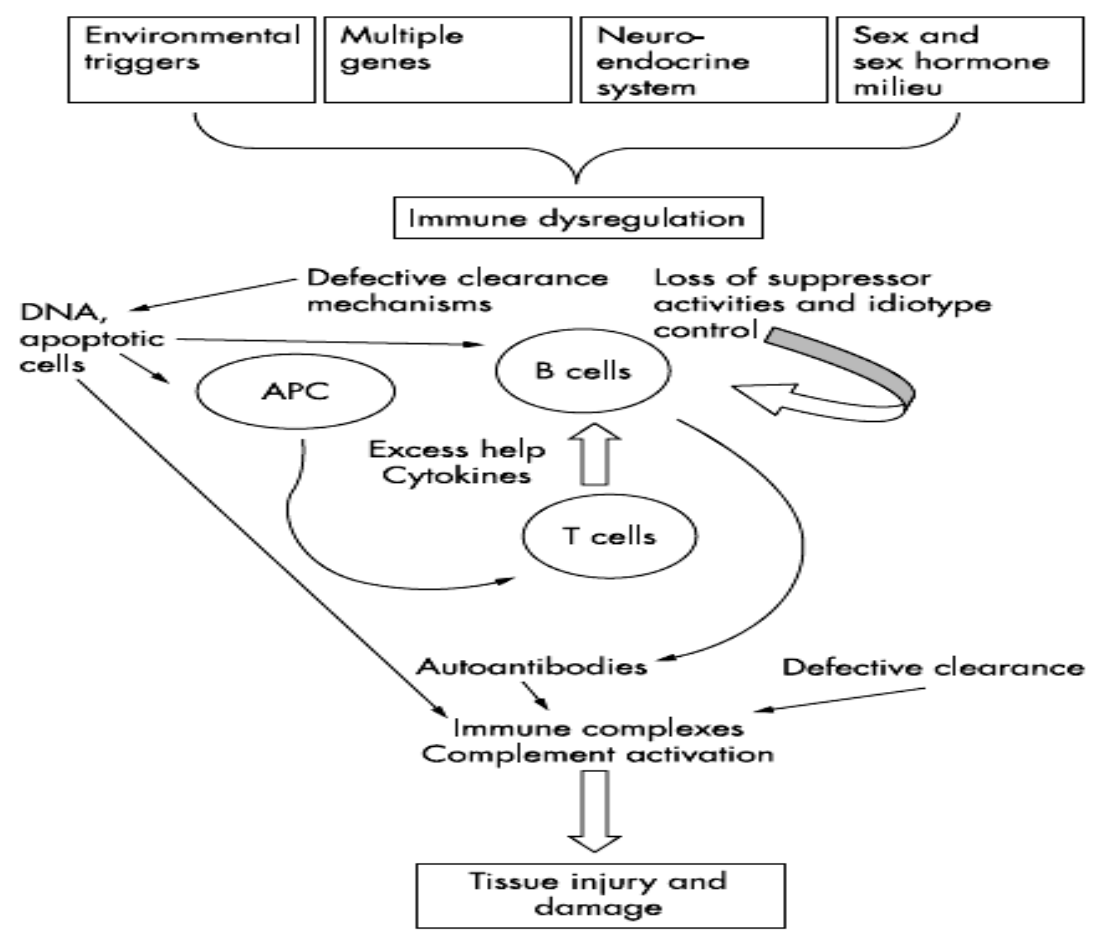
Lupus Erythematosus Systemic (LES) menyerang berbagai struktur internal dari ginjal, meliputi nefritis interstitial dan glomerulonefritis membranosa. Nefritis lupus mengenai 2 dari 10 ribu orang. Pada anak dengan LES, sekitar setengahnya akan mengakibatkan terjadinya progresifitas menjadi gagal ginjal. (West, 2007)

2.4 Patofisiologi dan Patogenesis Nefritis Lupus

Patogenesis timbulnya LES diawali oleh adanya interaksi antara faktor predisposisi genetik dengan faktor lingkungan, faktor hormon seks, dan faktor sistem neuroendokrin. Interaksi faktor-faktor tersebut ini akan mempengaruhi dan mengakibatkan terjadinya respons imun yang menimbulkan peningkatan aktivitas sel-T dan sel-B, sehingga terjadi peningkatan auto-antibodi (DNA-anti-DNA).

Sebagian auto-antibodi ini akan membentuk kompleks imun bersama dengan nukleosom (DNA-histon), kromatin, C1q, laminin, Ro (SS-A), ubiquitin, dan ribosom: yang kemudian akan membuat deposit (endapan) sehingga terjadi kerusakan jaringan. Pada sebagian kecil NL tidak ditemukan deposit kompleks

imun dengan sediaan imunofluoresen atau mikroskop electron. Kelompok ini disebut sebagai *pauci-immune necrotizing glomerulonephritis*. (Mok, 2003)

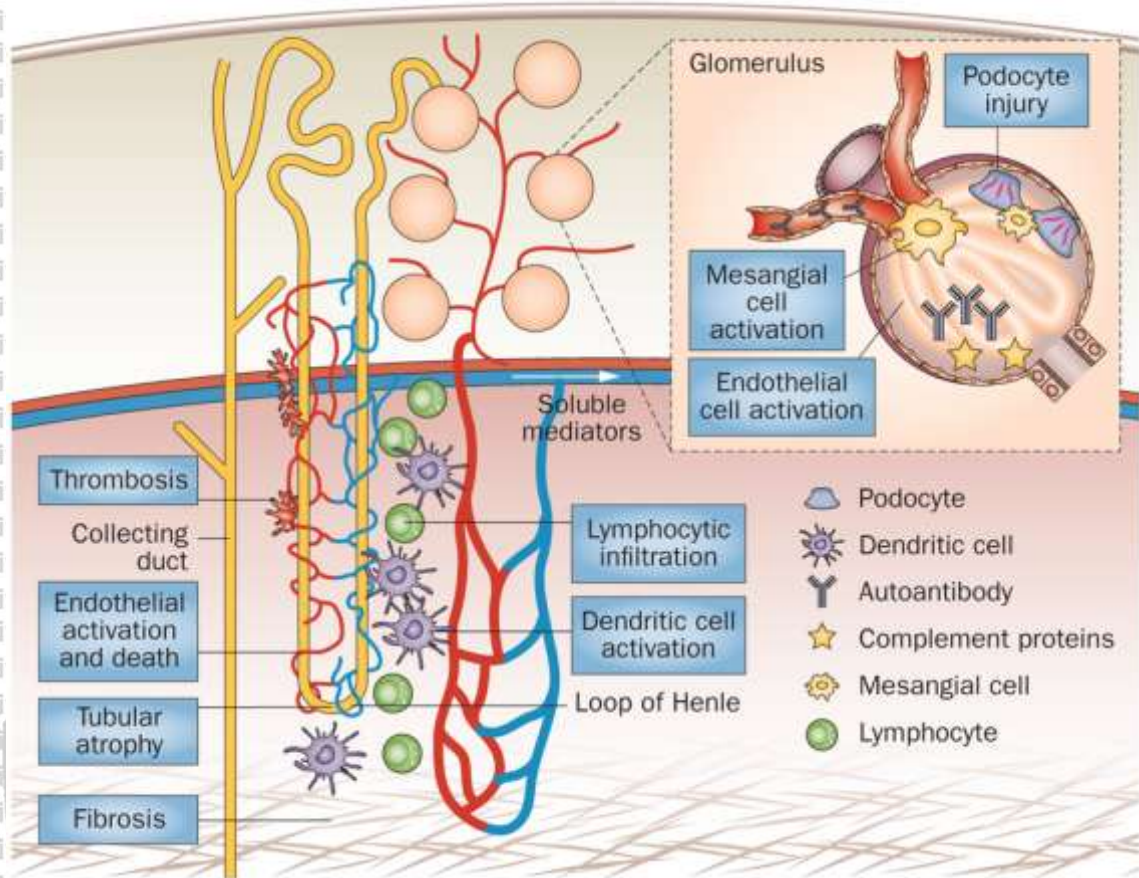


Gambar 2.2 Patofisiologi terjadinya Lupus Nefritis. (Mok, 2003)

Pada Gambar 2.2 menunjukkan, beberapa gen menyebabkan kerentanan terhadap perkembangan penyakit. Interaksi seks, lingkungan hormonal dan regulasi kekebalan tubuh rusak, seperti *clearance* sel, apoptosis dan kompleks imun, memodifikasi kerentanan ini. Hilangnya toleransi kekebalan, meningkatkan beban antigenik, kelebihan T-helper, supresor sel B yang rusak, dan pergeseran Th1 ke respon imun Th2 menyebabkan ketidakseimbangan sitokin, sel B hiperaktif dan produksi autoantibodi patogen. (Mok, 2003)

Gambaran klinis kerusakan glomerulus dihubungkan dengan letak lokasi terbentuknya deposit kompleks imun dapat dilihat pada Gambar 2.3. Deposit pada mesangium dan subendotel terletak proksimal terhadap membran basalis glomerulus sehingga mempunyai akses dengan pembuluh darah. Deposit pada daerah tersebut ini akan mengaktifkan komplemen yang kemudian membentuk kemoatraktan C3a dan C5a. Selanjutnya terjadi masuknya sel neutrofil dan sel mononuklear. Deposit pada mesangium dan subendotel secara histopatologis memberikan gambaran mesangial, proliferaatif fokal, dan proliferaatif difus; secara klinis memberikan gambaran sedimen urin yang aktif (ditemukan eritrosit, leukosit, silinder sel, dan granula), proteinuria, dan sering disertai penurunan fungsi ginjal. Sedangkan deposit pada subepitel tidak mempunyai hubungan dengan pembuluh darah karena dipisahkan oleh membran basalis glomerulus sehingga tidak terjadi influx neutrofil dan sel mononuklear. Secara histopatologis memberikan gambaran nefropati membranosa dan secara klinis hanya memberikan gejala proteinuri. (Mok, 2003)

Formasi in situ kompleks imun dengan aktivasi komplemen dan hasil induksi mediator inflamasi secara kemotaksis dan aktivasi sel inflamasi dalam ginjal dan keluarnya sinyal proinflamasi dan mediator, menyebabkan cedera dan kerusakan elemen seluler dan struktural dalam parenkim ginjal. (Tumlin, 2008)



Gambar 2.3 Respon Autoantibodi pada LES. (Tumlin, 2008)

Respon autoantibodi pada LES tampaknya terarah terhadap nukleosom yang terbentuk dari sel apoptotik. Pasien dengan LES memiliki mekanisme bersihan seluler yang buruk. Debris nuklear dari sel apoptosis menginduksi interferon-alfa melalui sel-sel dendritik plasmasitoid, yang merupakan perangsang sistem imun dan autoimunitas. Pada LES, limfosit B autoreaktif yang secara normal tidak aktif menjadi aktif karena malfungsi mekanisme homeostasis normal, sehingga autoantibodi diproduksi. Autoantibodi lain, termasuk anti-dsDNA terjadi lewat suatu proses penyebaran epitop. Autoantibodi ini akan bertambah banyak seiring waktu secara bertahap, beberapa bulan sampai tahun sebelum onset LES klinis. Lupus nefritis terkait dengan produksi autoantibodi nefritogenik dengan ciri-ciri sebagai berikut :

1. Yang dianggap antigen secara spesifik adalah nukleosom atau dsDNA : beberapa antibodi dsDNA bereaksi silang dengan membran basal glomerulus.
2. Autoantibodi yang berafinitas tinggi dapat membentuk kompleks imun intravaskular, yang menumpuk dalam glomerulus.
3. Autoantibodi kationik memiliki afinitas yang lebih tinggi dengan membran basal glomerulus yang bersifat anionik.
4. Autoantibodi isotop tertentu (IgG1 dan IgG3) dapat mengaktifasi komplemen. (Tumlin, 2008).

Kompleks imun terbentuk intravaskular dan kemudian diendapkan dalam glomeruli. Selain itu, autoantibodi dapat berikatan langsung dengan protein pada membran basal glomerulus (yang kemungkinan adalah α -aktinin) dan membentuk kompleks imun. Kompleks imun mencetuskan respons inflamasi dengan mengaktifasi komplemen dan menarik sel-sel radang, termasuk limfosit, makrofag dan netrofil. Tipe histologis dari nefritis lupus yang terjadi tergantung dari berbagai faktor, termasuk spesifisitas antigen dan sifat lain autoantibodi serta tipe respon inflamasi yang ditentukan oleh faktor-faktor inangnya. Pada bentuk yang berat dari nefritis lupus, proliferasi sel endotel, mesangial dan epitel serta produksi matriks protein dapat berakhir pada fibrosis. (Waldman, 2006) (Sidiropoulos, 2006)

Gejala nefritis aktif termasuk edema perifer sekunder terhadap hipertensi atau hipoalbuminemia. Edema perifer ekstrim lebih sering pada pasien dengan nefritis lupus difus proliferatif atau membranosa, karena kedua lesi renal ini terkait dengan proteinuria berat. Gejala lain yang terkait langsung dengan

hipertensi akibat nefritis lupus proliferatif difus termasuk sakit kepala, pusing, gangguan visual dan tanda-tanda gagal jantung. (Brent, 2008)

2.5 Manifestasi Klinis

Gejala klinis yang dapat ditemukan merupakan kombinasi manifestasi kelainan ginjalnya sendiri dan kelainan di luar ginjal seperti gangguan sistem

Sistem Saraf Pusat, sistem hematologi, persendian dan lainnya. Manifestasi

ginjal berupa proteinuri didapatkan pada semua pasien, sindrom nefrotik pada

45-65% pasien, hematuria mikroskopik pada 80% pasien, gangguan tubular pada

60-80% pasien, hipertensi pada 15-50% pasien, penurunan fungsi ginjal pada

40-80% pasien, dan penurunan fungsi ginjal yang cepat pada 30% pasien.

Gambaran klinis yang ringan dapat berubah menjadi bentuk yang berat dalam

perjalanan penyakitnya. Beberapa biomarker yang dihubungkan dengan

perburukan fungsi ginjal pada saat pasien diketahui menderita NL antara lain ras

kulit hitam, hematokrit 2.4 mg/dl, dan kadar C3 < 76 mg/dl. Gejala klinis NL yang

dapat ditemukan sesuai klasifikasi histopatologi dari WHO dapat dilihat pada

Tabel 2.1 dibawah ini.

Tabel 2.1 Gejala Klinis dari Masing-masing Klas Nefritis Lupus. (Sudoyo, 2007)

Klasifikasi	Gejala klinis				
	Proteinuria	Hematuria	Hipertensi	Sindrom Nefrotik	Fungsi ginjal
NL kelas I	+	-	-	-	Normal
NL kelas IIA	+	-	-	-	Normal
NL kelas IIB	+	+	-	-	Normal
NL kelas III	++	++	+	+	Normal atau menurun
NL kelas IV	++	+++	++	++	Menurun
NL kelas V	++	+	±	++	Normal atau menurun
NL kelas VI	+	±	±	±	Menurun

Lupus Nefritis Kelas:

- I Proteinuria tanpa kelainan pada sedimen urin
- IIa Proteinuria tanpa kelainan pada sedimen urin
- IIb Hematuria mikroskopik dan atau proteinuria tanpa hipertensi dan tidak pernah terjadi sindrom nefrotik atau gangguan fungsi ginjal
- III Hematuria dan proteinuria ditemukan pada seluruh pasien, sedangkan pada sebagian pasien ditemukan hipertensi, sindrom nefrotik, penurunan fungsi ginjal.
- IV Hematuria dan proteinuria ditemukan pada seluruh pasien, sedangkan sindrom nefrotik, hipertensi dan penurunan fungsi ginjal.
- V Sindrom nefrotik ditemukan pada seluruh pasien, sebagian dengan hematuria atau hipertensi akan tetapi fungsi ginjal masih normal atau sedikit menurun
- VI NL sklerosis yang sudah parah

2.6 Gambaran Histopatologi

Kelainan ginjal yang ditemukan pada pemeriksaan histopatologi mempunyai nilai yang sangat penting. Gambaran ini mempunyai hubungan dengan gejala klinis yang ditemukan pada pemeriksaan dan juga menentukan pilihan pengobatan yang akan diberikan. Histopatologi klasifikasi NL dapat terlihat pada Table 2.2 berikut ini :

Tabel 2.2. Klasifikasi Nefritis Lupus (WHO, 2003)

Kelas	Deskripsi
I	Glomerulus normal (dengan pemeriksaan mikroskop cahaya, imunofluoresen, mikroskop electron)
II	Perubahan pada mesangial a. Normal dengan mikroskop cahaya, deposit pada mesangial dengan imunofluoresen dan atau mikroskop elektron. b. Hiperselularitas mesangial dan terdapat deposit pada imunofluoresen dan atau mikroskop elektron.
III	Focal segmental glomerulonephritis a. Lesi nekrotik aktif b. Lesi sklerotik aktif c. Lesi sklerotik
IV	Glomerulonefritis difus (proliferasi luas pada mesangial, endokapiler atau mesangiokapiler dan atau deposit luas subendotel) a. Tanpa lesi segmental b. Dengan lesi nekrotik aktif c. Dengan lesi aktif dan sklerotik d. Dengan lesi sklerotik
V	Glomerulonefritis membranosa difus a. Glomerulonefritis membranosa murni b. Berhubungan dengan lesi kelas II (a atau b)
VI	Glomerulonefritis sklerotik lanjut

Nefritis kelas I menunjukkan gambaran glomerulus yang normal dengan/atau tanpa minimal mesangial deposit. Kelas II menunjukkan *mesangial immune complexes* dengan *mesangial proliferation*. Pemeriksaan dengan mikroskop cahaya menunjukkan gambaran hiperselularitas mesangial yang ringan. Kedua kelas ini berhubungan dengan manifestasi ginjal yang minimal, jarang bermanifestasi sebagai sindroma nefrotik. Lesi terbatas pada mesangium dan memiliki prognosis yang baik. Fauci, 2008)

Nefritis lupus kelas III menunjukkan gambaran lesi fokal dengan proliferasi atau jaringan parut, seringkali melibatkan hanya satu segmen dari glomerulus. Gejala klinis pada nefritis kelas III ini bervariasi. Hipertensi, sedimen urin, dan proteinuria dijumpai pada 25-33% pasien. Peningkatan kreatinin serum dijumpai pada 25% pasien. Pasien dengan proliferasi ringan dengan keterlibatan

glomerulus minimal memiliki respon yang baik dengan terapi steroid tunggal dan < 5% berkembang menjadi gagal ginjal setelah 5 tahun. Pasien dengan proliferasi hebat dengan keterlibatan glomerulus yang luas memiliki prognosis yang lebih buruk dengan remisi yang rendah. (Fauci, 2008)

Nefritis lupus kelas IV menunjukkan proliferasi yang difus dan menyeluruh, melibatkan sebagian besar glomerulus. Umumnya memiliki titer antibodi anti-DNA yang tinggi, komplemen serum yang rendah, hematuria, silinder eritrosit, proteinuria, hipertensi dan penurunan fungsi renal. 50% pasien memiliki *nephrotic-range* proteinuria. Pasien dengan hasil biopsi yang *crescents* seringkali mengalami penurunan fungsi renal yang progresif. Tanpa terapi, prognosis ginjal akan buruk. Tetapi jika remisi tercapai (fungsi ginjal mendekati normal dan proteinuria 330 mg/dL per hari) dengan terapi, prognosa ginjal umumnya baik. (Fauci, 2008)

Nefritis lupus kelas V menunjukkan gambaran deposit imun subepitel yang menghasilkan *membranous pattern*, berhubungan dengan lesi proliferaatif dan seringkali disebut sebagai *mixed membranous and proliferative disease*. Enam puluh persen pasien memberikan gambaran nefrotik sindrom atau proteinuria yang lebih ringan. Pasien dengan nefritis kelas V memiliki predisposisi terbentuknya trombosis vena renalis dan komplikasi trombotik lainnya. Sebagian kecil pasien dengan kelas V ini memiliki manifestasi hipertensi dan disfungsi renal. (Fauci, 2008)

2.7 Pemeriksaan Fisik dan Penunjang

NL dapat merupakan salah satu gambaran klinis dari LES dan tidak jarang merupakan satu-satunya gambaran klinis dari LES maka untuk menghadapi kedua masalah tersebut diperlukan pemeriksaan penunjang, yaitu :

1. Pemeriksaan penunjang diagnosis : Urinalisis rutin (urin yang diambil harus segar), Faal ginjal/Laju Filtrasi Glomerulus (LFG) dengan cara mengukur klirens kreatinin tes 24 jam Elektroforesis protein, Profil lipid, Darah rutin (Hb, lekosit, LED, trombosit)
2. Pemeriksaan serologis : ANA fluorescen, Anti dsDNA (double-stranded DNA), Antibodi SmNA (nuclear antigen), Profil komplemen (C3, C4), *Circulating immune complexes* (CICX), Imunoglobulin serum. (Sudoyo, 2007)

Tanda biologik yang selama ini digunakan pada NL (tanda biologik konvensional) adalah pemeriksaan sedimen urin, proteinuri, kreatinin, komplemen 3 dan 4 (C3, C4) serta *anti-double-stranded* DNA antibodi.

Pemeriksaan serologis penting untuk menentukan diagnosis NL karena menunjukkan adanya produksi autoantibodi yang abnormal tetapi kurang tepat untuk menentukan adanya kelainan ginjal, menilai prognosis maupun tindak lanjut selama terapi. Tes ANA sangat sensitif untuk LES, tetapi tidak spesifik. ANA juga ditemukan pada arthritis rheumatoid, skleroderma, sindrom Sjorgen, polimiositis dan infeksi HIV. Titer ANA tidak mempunyai korelasi yang baik dengan beratnya kelainan ginjal pada LES. (Congress of SLE, 2007)

2.8 Diagnosis

Diagnosis lupus eritematosus sistemik didasarkan pada kriteria klinis dan laboratoris. Kriteria dikembangkan oleh American College of Rheumatology (ACR) bisa dilihat pada table 2.3. Pada suatu studi yang menggunakan pasien berpenyakit jaringan ikat sebagai grup kontrol, kriteria diagnostik ACR untuk LES ditemukan memiliki sensitivitas 96% dan spesifisitas 96%. Studi lain melaporkan sensitivitas mulai 70-96% dan spesifisitas mulai 89-100%. Bagaimanapun kriteria ACR mungkin kurang akurat pada pasien dengan manifestasi ringan LES.

(Rovin, 2007) Peningkatan titer antibodi antinuklear (ANA) menjadi 1:40 atau lebih tinggi adalah yang paling sensitif dari kriteria ACR. Lebih dari 99% pasien dengan LES memiliki peningkatan kadar ANA pada titik tertentu, walaupun sejumlah besar pasien mungkin titernya negatif pada fase awal penyakit. Bagaimanapun tes ANA tidak spesifik untuk LES. Penyakit lain yang sering terkait dengan uji ANA positif termasuk sindrom Sjögren (68% dari pasien), skleroderma (40-75% pasien), artritis rematoid (25-50%) dan artritis rematoid juvenil (16%). Uji ANA juga bisa positif pada pasien dengan fibromialgia. ACR merekomendasikan uji ANA pada pasien yang mengalami dua atau lebih gejala dan tanda. Apabila titer ANA normal pada kasus keterlibatan sistem organ yang nyata dengan kecurigaan lupus eritematosus sistemik maka harus dilakukan penelusuran diagnosis banding. Bila tidak ditemukan sebab lain, dapat dipertimbangkan diagnosis LES ANA-negatif dan konsultasi ke ahli reumatologi. Bila pasien dengan titer ANA normal mengalami gejala klinis baru yang sesuai dengan LES maka uji ANA harus diulangi. Menurut kriteria ini, bila terdapat 4 dari 11 gejala maka dapat dikategorikan sebagai LES. (Mok, 2010)

Tabel 2.3 Kriteria LES Berdasarkan Kriteria ARA Tahun 1997. (Hahn, 2012)

Gejala	Pengertian
Ruam malar (butterfly rash)	Adanya eritema berbatas tegas, datar atau berelevasi pada wilayah pipi sekitar hidung (wilayah malar)
Ruam diskoid	Bercak eritematous berelevasi sirkuler disertai dengan sisik keratotik adherent. Dapat ditemukan jaringan parut atrofi
Fotosensitivitas	Ruam kulit yang diakibatkan reaksi abnormal terhadap sinar matahari baik dari anamnesa atau dilihat oleh pemeriksa
Ulkus mulut	Terdapat ulkus mulut dan orofaring umumnya tidak nyeri
Arthritis non erosifa	Arthritis non erosive pada dua atau lebih sendi perifer disertai rasa nyeri, bengkak atau efusi
Serositis	Pleuritis atau perikarditis yang ditemukan melalui EKG atau bukti adanya efusi pleura
Gangguan ginjal	Proteinuria >0,5 g/hari atau 3+ yang menetap, atau adanya serpihan seluler
Gangguan neurologik	Psikosa atau kejang tanpa penyebab yang jelas
Gangguan hematologic	Anemia hemolitik dengan retikulositosis atau lekopenia (<4000/l pada dua kali pemeriksaan), limfopenia (<1500/l pada dua kali pemeriksaan) dan atau trombositopenia (<100.000/l tanpa disebabkan oleh obat-obatan)
Gangguan imunologic	Adanya Anti-dsDNA, anti-Sm, dan atau anti-fosfolipid
Antibodi Antinuklear (ANA)	Adanya ANA yang abnormal ditemukan dengan metode immunofluorescence atau pemeriksaan serupa jika diketahui tidak ada pemberian obat yang dapat memicu timbulnya ANA sebelumnya

Dari kriteria diatas, dilakukan kajian kembali kriteria LES, dan muncul kriteria baru yang dikeluarkan oleh Systemic Lupus International Collaborating Clinics (SLICC) pada tahun 2012, sebagai berikut :

Tabel 2.4 Kriteria untuk LES Berdasarkan Kriteria Systemic Lupus International Collaborating Clinics (SLICC) 2012. (Petri, 2012)

Kriteria Klinis	Kriteria Imunologi
1. Acute Cutaneous Lupus	1. ANA
2. Chronic Cutaneous Lupus	2. Anti-DNA
3. Oral or nasal ulcer	3. Anti-Sm
4. Non-scarring alopecia	4. Antibodi antifosfolipid
5. Arthritis	5. Kadar komplemen rendah (C3, C4, CH50)
6. Serositis	6. Direct Coombs Test
7. Renal	
8. Neurologic	
9. Hemolitik anemia	
10. Leukopenia	
11. Trombositopenia	

Diagnosa LES minimal ≥ 4 kriteria (minimal 1 kriteria klinis dan 1 kriteria laboratorium).⁸

Diagnosis dari NL adalah ditemukannya 4 dari 11 kriteria ARA di atas ditambah dengan kriteria yang dikeluarkan oleh *American College of Rheumatology* (ACR).

Prevalensi gangguan ginjal pada pasien NL dengan kriteria ini sekitar 29% sampai 65%. Kriteria adanya gangguan ginjal menurut ACR 1987 adalah :

Proteinuria yang menetap atau lebih besar dari 0.5 gram perhari (atau pada pemeriksaan dipstik didapatkan proteinuri >3 +), atau adanya kelainan sedimen yaitu silinder selular dalam berbagai bentuk. (Dooley, 2007)

Kriteria lain dengan sensitifitas lebih dari 95 % dibuat oleh penelitian Wallace/Dubois tahun 1950 sampai 1991. Kriteria tersebut adalah : (1) Hasil biopsi ginjal menurut klasifikasi WHO adalah kelas IIB mesangial, proliferasi fokal, proliferasi difus atau glomerulonefritis membranous, (2) Penurunan klirens kreatinin 30% dalam 1 tahun pada pasien lupus yang aktif, (3) Protein urin lebih dari 1 gr/ 24 jam. Bila salah satu kriteria ini terpenuhi maka disebut NL. Kriteria lain sebagai alternatif adalah: (1) Kadar albumin serum > 3 gr /dL, (2) Proteinuria 2+ sampai 4+ , (3) oval fat bodies atau silinder granular, hialin atau silinder eritrosit di urin, (4) hematuria yang persisten yaitu lebih dari 5/LPB. Bila minimal 3 dari kriteria ini terpenuhi dalam 12 bulan maka disebut sebagai NL.

2.9 Silent Lupus Nephritis dan Biopsi Ginjal

Kecurigaan pada nefritis lupus biasanya muncul dari temuan klinis dan laboratorium yang mengindikasikan kemungkinan bentuk aktif proliferasi dari nefritis lupus. Sebagai contoh, pasien dengan gross hematuria atau mikroskopik umumnya dianggap nefritis lupus tipe yang lebih berat dan lebih cenderung dilakukan biopsi ginjal. Beberapa studi telah dilakukan atas dasar keraguan tentang kemampuan urinalisa untuk memprediksi patologi penyakit ginjal.

Sebagai contoh, Eiser dkk melakukan biopsi renal pada 13 pasien dengan diagnosis klinis LES dan manifestasi nonrenal aktif, tetapi tanpa tanda gagal ginjal kronis atau urinalisa yang abnormal. Menariknya biopsi ginjal 7 dari 13 pasien menunjukkan nefritis lupus proliferasif difus atau fokal. Pengamatan ini mengangkat suatu kemungkinan bahwa nefritis lupus yang tersembunyi bisa terjadi tanpa temuan laboratorik penyakit ginjal. (Tumlin, 2008)

Kegagalan level kreatinin serum dan proteinuria dalam mendeteksi kelas nefritis lupus spesifik juga diamati oleh peneliti lain. Sebagai contoh, Jacobsen meneliti secara retrospektif biopsi dari 94 pasien dengan lupus aktif tetapi kreatinin serum normal. Walaupun fungsi ginjal tampak normal secara laboratorik saat biopsi, 55% pasien didapatkan memiliki nefritis lupus proliferasif difus kelas IV. Proteinuria berkisar mulai dari 31 gram/24 jam. Tidak ada korelasi antara derajat proteinuria dan histologi yang mendasarinya, kecuali pasien dengan penyakit membranosa kelas V yang cenderung memiliki level proteinuria lebih tinggi. (Tumlin, 2008)

Observasi bahwa kreatinin serum, proteinuria dan sedimen urin merupakan prediktor yang buruk dari patologi renal. Roberti dkk melakukan studi prospektif yang membandingkan temuan urinalisa dengan hasil biopsi renal pada 15 pasien dengan LES aktif. Dari 15 orang pasien, pada 6 orang (40%) tidak dijumpai tanda penyakit ginjal aktif, sementara 9 orang memiliki penyakit ginjal aktif. Tidak ada parameter urinalisis tunggal yang berkorelasi dengan kelas nefritis lupus yang mendasarinya atau pun mengidentifikasi pasien dengan penyakit ginjal progresif. Pengamatan ini menyimpulkan bahwa keputusan untuk melakukan biopsi ginjal sebaiknya dibuat dengan mengamati berbagai variabel yang mengindikasikan penyakit ginjal yang signifikan. Sebaliknya, tidak ada satu

temuan laboratorium tunggal (mis. hematuria atau proteinuria) dapat menyingkirkan nefritis lupus. (Tumlin, 2008)

2.10 Klasifikasi Status Aktifitas (*Flare*) Lupus Nefritis

Klasifikasi patologis, aktivitas, dan kronisitas merupakan faktor prediksi untuk menentukan prognosis renal (progresi dari penyakit ginjal). Indeks aktivitas merefleksikan keadaan inflamasi aktif yang diperoleh dari biopsi, yang reversibel dengan terapi obat. Indeks kronisitas merefleksikan banyaknya fibrosis dan jaringan parut/nekrosis yang tidak berespon terhadap terapi. Indeks aktivitas dan kronisitas dievaluasi pada lesi ginjal yang mungkin mentransrotasi dari 1 kelas ke kelas yang lain secara spontan/pengobatan. (Bernatsky, 2010)

Klasifikasi status aktifitas (*flare*) seperti tercantum pada Tabel 2.5 berikut ini.

Tabel 2.5 Klasifikasi Aktif (*Flare*) NL. (Rovin, 2007)

Derajat <i>Flare</i> NL	Kriteria
Ringan	Peningkatan glomerular hematuria <5/LPB menjadi >15/LPB, dengan ≥ 2 akantosit/LPB dan/atau rekuren dari ≥ 1 silinder eritrosit, silinder lekosit (tidak infeksi), atau keduanya
Sedang	Jika peningkatan kreatinin 0,2–1,0 mg/dl bila kreatinin awal <2 mg/dl, Jika peningkatan kreatinin 0,4–1,5 mg/dl bila kreatinin awal ≥ 2 mg/dl, dan/atau Jika urin Pr/Cr awal <0,5, tiap peningkatan sampai ≥ 1 Jika urin Pr/Cr awal 0,5-1, tiap peningkatan sampai ≥ 2 Jika urin Pr/Cr awal >1, tiap peningkatan dari ≥ 2 kali lipat dengan absolut Pr/Cr<5
Berat	Jika peningkatan > 1 mg/dl bila kreatinin awal < 2 mg/dl, Jika peningkatan > 1,5 mg/dl bila kreatinin awal ≥ 2 mg/dl, dan / atau peningkatan absolut Pr/Cr dalam urin > 5

Keterangan : Pr/Cr ; Protein-kreatinin ratio, LPB ; Lapang pandang besar

Dengan kriteria di atas, tampak bahwa perubahan kadar serum kreatinin dan proteinuria memegang peran dalam LES. Laju eksresi protein urine harian ditentukan melalui pengukuran protein/kreatinin rasio pada sampel urine tampung 24 jam. (Rovin, 2007)

Aktifitas Penyakit Nefritis Lupus

Aktivitas penyakit NL ditentukan berdasarkan jumlah skor pada *renal domain SLEDAI score* yang terdiri dari :

- Silinder urin : Nilai 4 jika terdapat silinder eritrosit granular atau eritrosit dan nilai 0 jika tidak terdapat silinder
- Hematuria : Nilai 4 jika terdapat eritrosit > 5/LPB, nilai 0 jika eritrosit < 5, tanpa infeksi dan batu ginjal
- Proteinuria : Nilai 4 jika terdapat proteinuria > 0,5 gram /24 jam atau proteinuria sewaktu ≥ 3+, nilai 0 jika proteinuria < 0,5 gr/24 jam atau proteinuria sewaktu < 3+
- Lekosituria : Nilai 4 jika terdapat lekosituria > 5/LBP, nilai 0 jika lekosituria < 5/LPB, tidak ada infeksi saluran kencing. (Suzuki, 2008)

Aktivitas penyakit nefritis dibagi menjadi dua yaitu aktif dan tidak aktif. NL dinyatakan aktif apabila *renal domain SLEDAI score* ≥ 4. NL dinyatakan tidak aktif bila *renal domain SLEDAI score* = 0. Hal ini sesuai dengan Tabel 2.6 dibawah ini. (Bernatsky, 2010) (Suzuki, 2008)

Tabel 2.6 SLEDAI-2K data collection sheet. (Tumlin, 2008)

Skor	Deskripsi	Definisi
8	Kejang	Onset terbaru, selain penyebab metabolik, infeksi, atau obat-obatan.
8	Psikosis	Perubahan kemampuan karena gangguan akut pada persepsi realitas. Termasuk halusinasi, inkoherens, asosiasi longgar yang jelas, pikiran yang miskin isi, pikiran tidak logis yang jelas, perilaku aneh, tidak terorganisir, atau katonik. Tidak termasuk penyebab uremia dan obat-obatan.
8	Sindrom otak organic	Perubahan fungsi mental dengan gangguan orientasi, memori, onset dini, gambaran klinis berfluktuasi, ketidakmampuan untuk mempertahankan perhatian ke lingkungan, ditambah paling sedikit 2 dari: gangguan persepsi, perkataan inkoheren, insomnia, atau mengantuk di siang hari, atau peningkatan / penurunan aktivitas psikomotor. Tidak termasuk penyebab metabolik, infeksi, atau obat-obatan.
8	Gangguan penglihatan	Perubahan retina. Termasuk badan sitoid (<i>cytoid bodies</i>), perdarahan retina, eksudat serosa atau perdarahan dalam koroid atau neuritis optik. Tidak termasuk penyebab hipertensi, infeksi, atau obat-obatan.
8	Gangguan saraf pusat	Onset baru dari neuropati sensorik atau motorik termasuk sistem saraf otak.
8	Sakit kepala	Sakit kepala berat, terus-menerus; dapat bersifat migren, harus tidak berespon pada analgesia narkotik.
8	Serebrovaskuler	Serangan serebrovaskuler dengan onset baru. Tidak termasuk arteriosklerosis.
8	Vaskulitis	Ulserasi, gangren, nodul jari yang lunak, infark periungual, perdarahan serpihan (<i>splinter</i>), atau bukti biopsi / angiogram terdapat vaskulitis.
4	Artritis	≥2 sendi dengan nyeri dan tanda inflamasi (misal, perلونakan, pembengkakan, atau efusi)
4	Miositis	Nyeri / kelemahan otot proksimal, berhubungan dengan peningkatan kreatinin fosfokinase/aldolase/perubahan elektromiogram/biopsi menunjukkan miositis.
4	Silinder urine	Silinder granuler-heme atau silinder eritrosit.
4	Hematuri	Sel darah merah >5/LPB. Tidak termasuk penyebab batu, infeksi
4	Proteinuri	>0,5 gram/24 jam.
4	Lekosituria	>5 leukosit/LPB. Tidak termasuk infeksi.
2	Ruam kulit	Ruam tipe inflamasi.
2	Alopesia	Kerontokan rambut yang abnormal, setengah-setengah (<i>patchy</i>) atau menyebar (<i>diffuse</i>).
2	Ulkus mukosa	Ulserasi oral atau nasal.
2	Radang pleura	Nyeri dada pleuritik dengan <i>pleural rub</i> /efusi pleura/penebalan pleura.
2	Perikarditis	Nyeri perkardial dengan paling sedikit 1 dari: gosokan (<i>rub</i>), efusi atau konfirmasi elektrokardiogram atau <i>echocardiogram</i> .
2	Kadar komplemen	Penurunan protein komplemen C3 dan C4 atau total aktivitas komplemen (CH50), di bawah batas terendah nilai normal untuk tes laboratorium.
2	Peningkatan ikatan DNA	Peningkatan ikatan DNA dengan pemeriksaan Farr di atas kisaran normal untuk tes laboratorium.
1	Demam	>38°C. Tidak termasuk penyebab infeksi.
1	Trombosit	Trombosit <100.000/ x10 ⁹ /L, tidak termasuk penyebab obat-obatan.
1	Leukopeni	Leukosit <3.000/ x10 ⁹ /L, tidak termasuk penyebab obat-obatan.



2.11 Penatalaksanaan

Kebanyakan klinisi sepakat akan tujuan terapeutik seperti berikut untuk pasien yang baru terdiagnosis nefritis lupus : (1) untuk mencapai remisi renal segera, (2) untuk mencegah renal flare, (3) untuk menghindari gangguan ginjal kronik, (4) untuk mencapai tujuan-tujuan di atas dengan toksisitas minimal.

Walaupun dalam dekade terakhir angka survival meningkat, harus ditekankan bahwa regimen immunosupresif hasilnya masih suboptimal. Pertama, angka remisi

renal setelah terapi lini pertama paling baik hanya 81% dalam studi-studi prospektif terbaru. Kedua, relaps renal terjadi pada sepertiga dari pasien LN, kebanyakan saat pasien masih dalam kondisi immunosupresi. Ketiga, antara 10-20% pasien mengalami gagal ginjal terminal 5-10 tahun setelah onset penyakit, walaupun angka ini menurun pada studi-studi berikutnya (5-10%). Akhirnya, toksisitas terkait pengobatan masih merupakan kekhawatiran utama, seperti efek samping metabolik dan tulang pada kortikosteroid dosis tinggi, infeksi tulang atau gagal ovarium prematur pada wanita yang menerima siklofosamid dosis tinggi.

(Tumlin, 2008)

Prinsip pengobatan nefritis lupus :

1. Terapi kortikosteroid harus diberikan bila pasien mengalami penyakit ginjal yang signifikan secara klinis. Gunakan agen immunosupresif terutama siklofosamid, azathioprine, atau mycophenolate mofetil bila pasien mengalami lesi proliferasi agresif. Agen-agen ini juga bisa digunakan bila pasien tidak respon atau terlalu sensitif terhadap kortikosteroid.

2. Obati hipertensi secara agresif, pertimbangkan pemberian ACE inhibitor atau ARB bila pasien mengalami proteinuria signifikan tanpa insufisiensi renal signifikan.

3. Restriksi asupan lemak atau gunakan terapi lipid-lowering seperti statin untuk hiperlipidemia sekunder terhadap sindrom nefrotik. Restriksi asupan protein bila fungsi ginjal sangat terganggu. Berikan suplementasi kalsium untuk mencegah osteoporosis bila pasien dalam terapi steroid jangka panjang dan pertimbangkan penambahan bifosfonat.

4. Hindari obat-obatan yang mempengaruhi fungsi ginjal, termasuk OAINS terutama pada pasien dengan level kreatinin yang meningkat. Salisilat non asetilasi dapat digunakan untuk mengobati gejala inflamasi pada pasien dengan penyakit ginjal.

5. Pasien dengan nefritis lupus aktif harus menghindari kehamilan, karena dapat memperburuk penyakit ginjalnya.

6. Pasien dengan ESRD, sklerosis dan indeks kronisitas tinggi berdasarkan biopsi ginjal biasanya tidak berespon terhadap terapi agresif. Pada kasus-kasus ini fokuskan terapi pada manifestasi ekstrarenal dari LES dan kemungkinan transplantasi ginjal

Terapi untuk tipe spesifik nefritis lupus berdasarkan patologi renal :

Kelas I : Nefritis lupus minimal mesangial tidak memerlukan terapi spesifik

Kelas II : Nefritis lupus mesangial proliferaatif mungkin memerlukan pengobatan bila proteinuria lebih dari 1000 mg/hari. Pertimbangkan prednison dosis rendah sampai moderat (mis. 20-40 mg/hari selama 1-3 bulan diikuti tapering.

Kelas III dan IV : Pasien dengan nefritis fokal atau difus berisiko tinggi menjadi ESRD dan memerlukan terapi agresif.

- Terapi prednison 1 mg/kg/hari selama paling sedikit 4 minggu tergantung respons klinis. Kemudian dilakukan tapering sampai dosis rumatan 5-10 mg/hari selama kurang lebih 2 tahun. Pada pasien sakit akut, metilprednisolon intravena dengan dosis hingga 1 gram/hari selama 3 hari dapat digunakan untuk inisiasi terapi kortikosteroid.

- Gunakan obat immunosupresif sebagai tambahan kortikosteroid pada pasien yang tidak berespon dengan kortikosteroid sendiri, yang mengalami toksisitas terhadap kortikosteroid, yang fungsi ginjalnya memburuk, yang mengalami lesi proliferatif berat atau terdapat bukti sklerosis pada spesimen biopsi ginjal.

Siklofosamid dan azathioprine efektif untuk nefritis lupus proliferatif walaupun siklofosamid tampaknya lebih efektif dalam mencegah progresi ke End Stage renal Disease (ESRD). Mycophenolate mofetil telah ditunjukkan cukup efektif dalam mengobati pasien-pasien ini dan dapat digunakan sendiri atau setelah 6 bulan siklofosamid intravena.

- Terapi siklofosamid intravena secara bulanan selama 6 bulan dan setelahnya tiap 2-3 bulan tergantung respons klinis. Durasi terapi yang umum adalah 2-2,5 tahun. Turunkan dosis bila klirens kreatinin <30 mL/menit. Sesuaikan dosis tergantung respon hematologis. Leuprolide asetat, suatu analog gonadotropin-releasing hormone, dapat melindungi terhadap gagal ovarium.

- Azathioprine dapat juga digunakan sebagai agen lini kedua, dengan penyesuaian dosis tergantung respon hematologis.

- Mycophenolate mofetil berguna pada pasien dengan nefritis lupus fokal atau difus dan telah terbukti setidaknya sama efektif dengan siklofosamid intravena dengan toksisitas lebih rendah pada pasien dengan fungsi ginjal yang stabil.

Kelas V : Pasien dengan nefritis lupus membranosa umumnya diterapi dengan prednison selama 1-3 bulan, diikuti tapering selama 1-2 tahun bila respon baik.

Bila tidak ada respon, obat dihentikan. Agen immunosupresif umumnya tidak digunakan kecuali fungsi ginjal memburuk atau komponen proliferasi ditemukan pada sampel biopsi renal. Beberapa bukti klinis mengindikasikan bahwa azathioprine, siklofosamid, siklosporin, dan klorambusil efektif dalam mengurangi proteinuria. Mycophenolate mofetil juga mungkin efektif.

Pasien dengan ESRD memerlukan dialisis dan merupakan kandidat yang baik untuk transplantasi ginjal. Pasien dengan ESRD sekunder terhadap LES mewakili 1,5% dari seluruh pasien dialisis di Amerika. Angka survival pasien dengan dialisis sebanding dengan pasien dialisis yang tidak punya LES (5 year survival rate 60-70%). Hemodialisis lebih disukai dibandingkan dialisis peritoneal; beberapa studi mendokumentasikan level anti-dsDNA yang lebih tinggi, lebih banyak trombositopenia dan kebutuhan steroid yang lebih tinggi pada pasien ESRD akibat LES yang dilakukan dialisis peritoneal. Hemodialisis juga memiliki efek anti-inflamasi dengan penurunan level limfosit T-helper. Umumnya LES tenang pada pasien hemodialisis. Walaupun flare seperti rash, artritis, serositis, demam dan leukopenia dapat terjadi, dan memerlukan terapi spesifik.

(Sidiropoulos, 2006)

Perjalanan penyakit nefritis lupus bervariasi antar pasien LES, bahkan pada mereka yang memiliki tipe histologis yang sama. Agen immunosupresif dapat

menginduksi remisi pada sebagian besar pasien dengan nefritis lupus proliferaif, tetapi sebagian proporsi dari mereka- berkisar antara 27-66% pada berbagai studi-akan mengalami flare. Flare merupakan masalah karena bahaya kerusakan kumulatif yang dapat menurunkan fungsi ginjal dan juga toksisitas akibat immunosupresi tambahan. Terapi rumatan dengan azathioprine, mycophenolate mofetil atau pulse siklofosamid biasanya direkomendasikan. Flare renal dapat dikategorikan sebagai nefritik atau nefrotik dan bisa ringan atau berat. Mayoritas pasien yang mengalami flare dapat pulih fungsi ginjalnya, bila didiagnosis dan diobati segera. (Sidiropoulos, 2006)

Mocca dkk mendefinisikan renal flare sebagai peningkatan 30% dari kreatinin serum atau peningkatan 2,0 gram/hari dari proteinuria setelah terapi induksi. Pasien dengan indeks aktivitas teinggi dan adanya karyorrhesis lebih sering mengalami rekurensi penyakit. Ioannidis dkk mendefinisikan penyakit rekuren sebagai sedimen urin aktif (8-10 RBC/lpb) atau lebih dari 500 mg proteinuria/24 jam. (Tumlin, 2008)

Tujuan pengobatan adalah memperbaiki fungsi ginjal. Medikamentosa berupa kortikosteroid dan agen immunosupresif . Dialisis dapat dilakukan untuk mengontrol gejala gagal ginjal. Transplantasi ginjal juga direkomendasikan (pasien dengan lupus yang aktif tidak boleh dilakukan transplantasi ginjal).

2.12 Prognosis

Pada nefritis lupus kelas I dan II hampir tidak terjadi penurunan fungsi ginjal yang bermakna sehingga secara nefrologis kelompok ini memiliki prognosis yang baik. Nefritis lupus kelas III dan IV hampir seluruhnya akan menimbulkan penurunan fungsi ginjal. Pada nefritis lupus kelas III yang keterlibatan glomerulus

50%, dimana prognosis kelompok ini menyerupai prognosis nefritis lupus kelas IV yaitu buruk. Nefritis lupus kelas V memiliki prognosis yang cukup baik sama dengan nefropati membranosa primer, sebagian kecil menimbulkan sindrom nefrotik yang berat. (Bernatsky, 2010)

Prognosis bergantung kepada bentuk dari nefritis lupus. Pasien dapat sembuh sementara dan kemudian timbul kembali gejala akut dari lupus. Beberapa kasus berkembang menjadi gagal ginjal kronik. (D'Agati, 2007)

2.13 Biomarker Lupus

Biomarker yang telah ada seperti dsDNA, C3, C4 ternyata memiliki sensitivitas dan spesifitas yang rendah untuk NL yaitu sekitar 49-79% (Sudoyo, 2009). Beberapa biomarker NL baru telah diteliti, namun masih memerlukan validasi berdasarkan latar belakang etnis yang berbeda. Kombinasi dari beberapa biomarker nampaknya membantu memperkirakan aktivitas penyakit dan gambaran histopatologi ginjal. Pendekatan ini berpotensi mengurangi perlunya dilakukan biopsi ginjal, memperbaiki efisiensi terapi, dan mengurangi efek toksisitas terapi. (Mok, 2010)

Biomarker urine merupakan pilihan karena sampel urine mudah didapat, tidak invasif serta lebih akurat dalam membedakan penyakit ginjal dari organ lain. Biomarker urine yang pernah dikembangkan antara lain uMCP-1 dan uLL-12 (sitokin proinflamasi), uNGAL dan rasio protein kreatinin (biomarker kerusakan ginjal) serta uTGF- β 1 (sitokin antiinflamasi). Interaksi dari sitokin proinflamasi, sitokin antiinflamasi, dan kerusakan ginjal inilah yang merupakan mekanisme patogenesis pada nefritis lupus. (Rovin, 2007)

Penelitian proteomik urine untuk mencari biomarker pada nefritis lupus belum banyak dilakukan. Hasil penelitian Varghese (2007) menunjukkan pada penyakit ginjal dan kelas NL yang berbeda, terdapat perubahan patologi dari ukuran membran basalis glomerulus dan selektivitas muatan listrik yang spesifik pada penyakit dan kelas histopatologi tertentu. Hal tersebut menyebabkan pola dari plasma protein yang diekskresi ke dalam urine spesifik pada penyakit dan kelas histopatologi tertentu. Penelitian yang dilakukan oleh Zhang dan kawan-kawan pada tahun 2008 dengan pendekatan berbasis proteomik berhasil menemukan beberapa proteome berat molekul rendah (< 30 kDa) pada sampel serial urin pasien NL sebagai biomarker prediktif adanya flare pada pasien NL (Zhang *et al.*, 2008). Di Indonesia sendiri belum terdapat data mengenai protein tertentu yang terdapat pada urine pasien NL. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi protein spesifik pada urin pasien NL yang selanjutnya dapat digunakan untuk menilai kelas histopatologi secara invasif dan menilai indeks kronisitas NL.

2.14 Protein Spesifik Urine pada Nefritis Lupus

Urine saat telah menjadi salah satu biofluida yang paling menarik di proteomik klinis. Proteomik urine telah demikian berkembang pesat dan telah banyak diterapkan untuk penemuan biomarker penyakit klinis, terutama penyakit ginjal. Pada penyakit ginjal, proteomik adalah pendekatan yang menjanjikan untuk mendeteksi biomarker baru dalam cairan biologis seperti urin, plasma, dan serum. Urine dianggap sebagai sampel proteomik yang paling menarik karena beberapa keuntungan, diantaranya adalah non-invasif dan mudah untuk diperoleh dalam jumlah besar, protein dan peptida dalam urin cukup stabil dan

kurang kompleks, serta jumlah dan komposisi proteoma urine secara langsung mencerminkan perubahan dalam fungsi ginjal dan saluran urogenital. (Rovin, 2007)

Salah satu pemeriksaan proteomik yang telah dikembangkan adalah *Urine Protein Signature* yang digunakan untuk membedakan NL dari proteinuria karena penyakit lain seperti Nefropati Diabetes, *Focal Segmental Glomerulosclerosis* serta membedakan kelas histopatologi diantara pasien NL.

Hasil penelitian menunjukkan pada penyakit ginjal dan kelas NL yang berbeda, terdapat perubahan patologik dari ukuran membran basalis glomerulus dan selektivitas muatan listrik yang spesifik pada penyakit dan kelas histopatologi tertentu. Hal tersebut menyebabkan pola dari plasma protein yang diekskresi ke dalam urin spesifik pada penyakit dan kelas histopatologi tertentu. Untuk membedakan penyakit ginjal secara sensitif dan akurat, minimal 50 protein urin atau isoform protein harus diperiksa secara simultan, sehingga sebuah biomarker saja dianggap tidak cukup demikian juga untuk memprediksi terjadinya *flare*.

Penelitian menggunakan 120 macam protein atau isoform protein, menunjukkan bahwa NL dapat dibedakan dari *Focal Segmental Glomerulosclerosis*, Nefropati Membranosa dan Nefropati Diabetik dengan sensitifitas 86% dan spesifitas 89%. Untuk membedakan kelas histopatologi NL (menurut klasifikasi WHO), pada penelitian longitudinal dibutuhkan panel 10 protein untuk mendapatkan hasil yang paling sensitif. Protein pada panel ini terutama glikoprotein seperti α -1 glikoprotein, α -1 mikroglobulin dan zink α -2 glikoprotein. (Rovin, 2007)

Protein spesifik urine menjadi biomarker urine pilihan karena sampel urine mudah didapat, tidak invasif serta lebih akurat dalam membedakan penyakit ginjal dari organ lain. Protein spesifik urine yang pernah dikembangkan

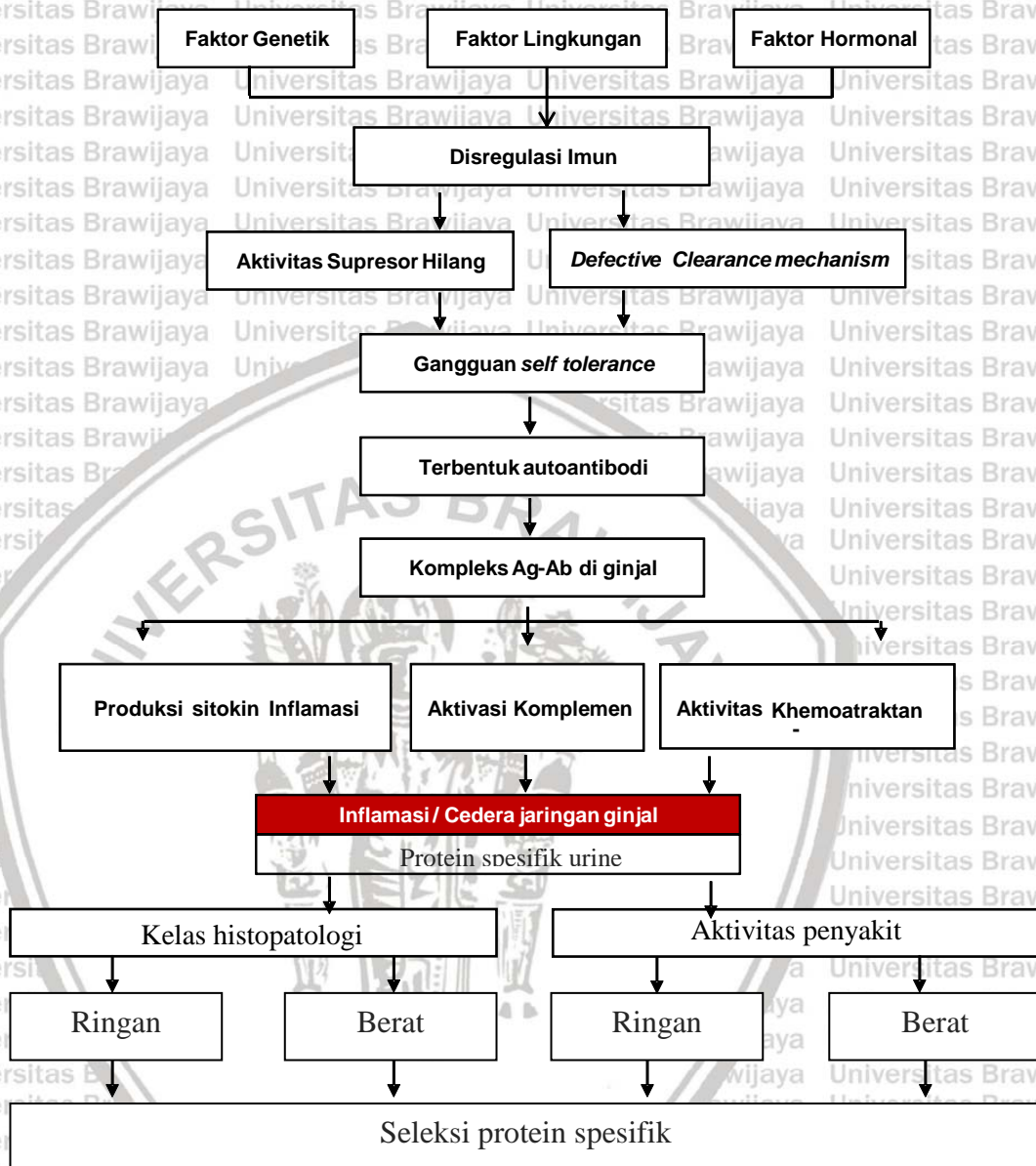
antara lain *transferrin* (TF) 79 kDa, *α 1-acid glycoprotein* (AGP:AAG) 56 kDa, *ceruloplasmin* (CP) 133 kDa, *lipocaline-type prostaglandin D-synthetase* (L-PGDS) 23 kDa, *hepcidin* 20 kDa, *hepcidin* 25 kDa. Interaksi dari sitokin proinflamasi, sitokin antiinflamasi, dan kerusakan ginjal inilah yang merupakan mekanisme patogenesis pada nefritis lupus. (Rovin,2007)

Penelitian lain yang dilakukan oleh Zhang dan kawan-kawan pada tahun 2008 berhasil menentukan proteome berat molekul rendah (< 30 kDa) pada sampel serial urin pasien NL sebagai biomarker prediktif adanya *flare* pada pasien NL. Ditemukan sekitar 176 protein yang mana beberapa diantaranya diekspresikan spesifik pada masing-masing interval flare yang berbeda.

Penelitian ini memberikan informasi bahwa analisa proteomik memberikan peluang dalam memprediksi kondisi relaps, derajat keparahan, dan potensi *recovery* pada pasien LN yang mengalami *flare*. (Zhang, 2008)



2.15 Kerangka Teori



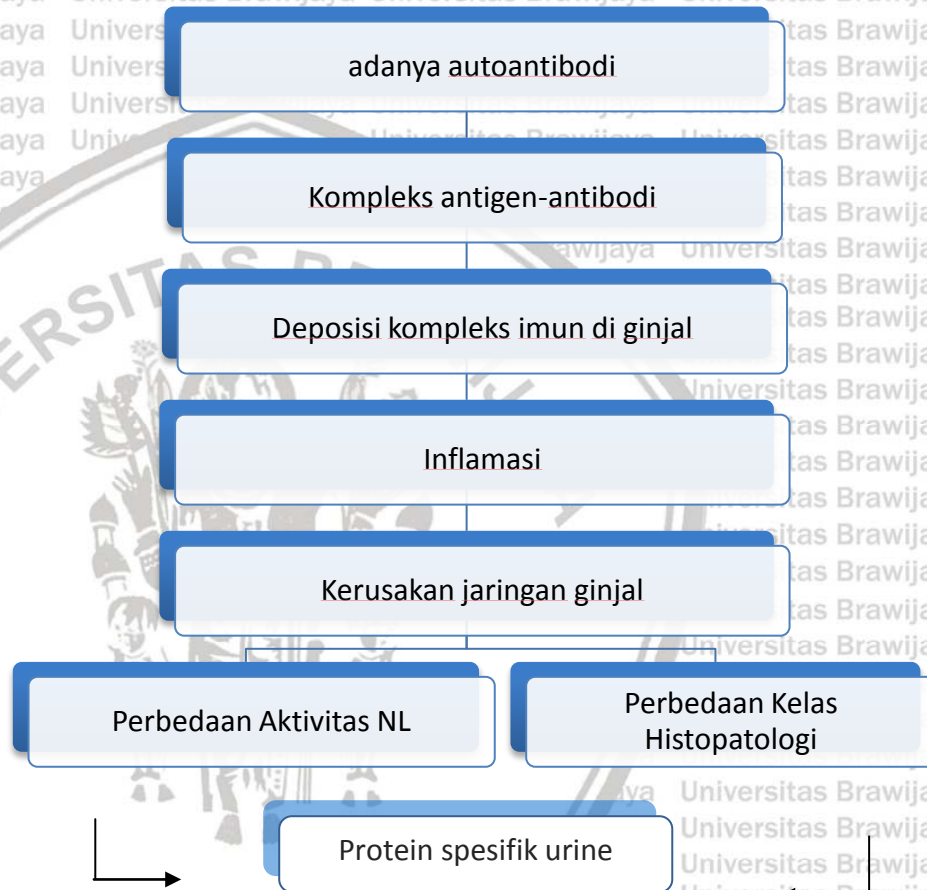
Patogenesis penyakit autoimmune SLE terjadi karena faktor genetik, lingkungan dan hormonal, sehingga akan terjadi gangguan system kekebalan tubuh yang akan menimbulkan *self-tolerance* pada tubuh sendiri sehingga terjadi proses autoimun yang akan terbentuk autoantibodi, kemudian membentuk kompleks antigen-antibodi yang semakin lama akan mengakibatkan deposisi kompleks imun di ginjal sehingga pasien SLE akan masuk dalam kondisi Nefritis Lupus.

Deposisi tersebut akan memicu terjadinya inflamasi, aktivasi komplemen dan kemoatraktan, mengakibatkan kerusakan jaringan di ginjal. Kerusakan ini menghasilkan pelepasan biomarker yang diekskresi di urine. Seiring dengan perjalanan penyakit penderita NL, akan dicari apakah ada hubungan antara protein urine spesifik tersebut terhadap kelas histopatologi dan aktivitas penyakit NL.



BAB III
KERANGKA KONSEP

3.1. Kerangka Konsep



Pada penderita NL, akan terjadi proses autoimun yang akan terbentuk autoantibodi, sehingga akan terbentuk kompleks antigen-antibodi yang semakin lama akan mengakibatkan deposisi kompleks imun di ginjal. Deposisi tersebut akan memicu terjadinya inflamasi dan mengakibatkan kerusakan jaringan ginjal. Kerusakan jaringan ginjal akan menghasilkan pelepasan biomarker yang diekskresi di urine penderita NL, biomarker yang akan diperiksa adalah proteon

spesifik urine. Seiring dengan perjalanan penyakit penderita NL, akan dicari apakah ada hubungan antara protein urine spesifik tersebut dan aktivitas penyakit.

3.2 Hipotesa

1. Terdapat perbedaan protein spesifik urine pada kelas histopatologi NL ringan dan berat.
2. Terdapat perbedaan protein spesifik urine pada LN aktif dan tidak aktif.



BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian dengan pendekatan *cross sectional*.

Baik variabel bebas maupun variabel terikat diukur pada waktu yang bersamaan.

Penelitian *cross-sectional* ini merupakan salah satu studi observasional dimana

peneliti mencari hubungan antara variabel bebas dan variabel terikat dengan

melakukan pengukuran sesaat.

4.2 Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi penelitian adalah seluruh pasien yang telah didiagnosa LES

yang berobat ke poliklinik penyakit dalam atau ruang rawat inap penyakit dalam

di RS Dr Saiful Anwar Malang. Sampel pada penelitian ini yaitu pasien yang

didiagnosis Nefritis Lupus oleh dokter ahli penyakit dalam dan telah dilakukan

biopsi ginjal. Data pasien diambil pada periode Maret-Agustus 2015. Penelitian

akan dikerjakan setelah mendapatkan persetujuan dari komite etik Fakultas

Kedokteran Universitas Brawijaya/RS Dr Saiful Anwar Malang. Seluruh pasien

yang diikutkan dalam penelitian ini diminta untuk menandatangani lembar

persetujuan (*Informed Consent*).

Kriteria inklusi dari penelitian ini adalah :

1. Pasien wanita yang telah tegak diagnosa Nefritis Lupus secara klinis.
2. Pasien bersedia diikutkan dalam penelitian ini dan menandatangani *informed consent*.

Kriteria eksklusi dari penelitian ini adalah :

1. Menderita penyakit infeksi saluran kemih.
2. Menderita penyakit diabetes nefropati dan hipertensi nefropati.
3. Penderita batu ginjal.

Selanjutnya subjek penelitian LES akan dikategorikan menjadi kelompok nefritis lupus ringan dan nefritis lupus berat sesuai dengan hasil klasifikasi derajat keparahan penyakit berdasarkan hasil histopatologi biopsi ginjal.

Besar sampel minimal diperoleh dengan rumus :

$$n = \frac{(Z\alpha \sqrt{2PQ} + Z\beta \sqrt{P_1Q_1 + P_2Q_2})^2}{(P_1 - P_2)^2}$$

$$n = \frac{(1,04 \sqrt{2(0,75)(0,25)} + 0,04 \sqrt{(0,9)(0,1) + (0,6)(0,4)})^2}{(0,9 - 0,6)^2} = 10$$

Keterangan :

n = jumlah sampel minimal

Z α = deviat baku alpha (ditentukan 1,04)

Z β = deviat baku beta (ditentukan 0,04)

P₂ = proporsi pajanan pada kelompok kontrol (0,6 dari literatur)

Q₂ = 1 - P₂

RR = resiko relatif (yaitu 1,5 yang didapat dari literatur)

P₁ = RR x P₂

Q₁ = 1 - P₁

P = $\frac{1}{2} (P_1 + P_2)$

Q = 1 - P

Dalam penelitian ini jumlah sampel minimal adalah 20 orang.

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel Bebas

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kelas histopatologi dan aktivitas penyakit Nephritis Lupus

4.3.2 Variabel Terikat

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pola protein spesifik urine pada kromatogram, jumlah band di DSD-PAGE dan berat molekul protein spesifik urine yang di dapat.

4.4 Definisi Operasional

Penelitian ini menggunakan variabel yang penjelasan definisi operasional variable dapat dilihat pada Tabel 4.1 dibawah ini.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



Tabel 4.1 Definisi Operasional Penelitian

NO	VARIABEL	DEFINISI
1	Pasien LES	pasien yang memenuhi kriteria ARA yang dimodifikasi (4 dari 11 kriteria positif). Tidak menderita penyakit infeksi saluran kemih dan batu ginjal, dan termasuk penderita hipertensi dan diabetes mellitus terkontrol.
2	Pasien Nefritis Lupus Penderita nefropati (diabetes dan hipertensi)	Penderita LES secara klinis mempunyai gambaran proteinuria melebihi 500 mg/hari (dipstick urine >3+) atau terdapat silinder selular (eritrosit, granular, tubular atau mixed) dan didiagnosis oleh dokter spesialis penyakit dalam. Penderita nefropati diabetes dan nefropati hipertensi ditunjukkan dengan adanya proteinuria menetap >300 mg/24jam minimal 2x pemeriksaan dalam waktu 3-6 bulan
3	Biopsi ginjal	Pasien nefritis lupus menjalani biopsi ginjal dengan hasil positif. Derajat ringan : kelas I,II; Derajat berat : kelas III, IV, V
4	Aktivitas NL	Berdasarkan SLEDAI score, dibagi menjadi tidak aktif dan aktif. Aktif: skore 1-3, Aktif skore ≥4
5	Protein spesifik (profil urine)	Protein spesifik urine adalah protein-protein Low Molecular Weight (LMW) yang ditemukan pada sampel urine dengan berat molekul <30 kD
6	Proteinuria	Positif bermakna apabila ≥3+
7	Hematuria	Positif bermakna apabila ≥1+
8	Hematuria Mikroskopis	Positif apabila ≥5/lpb
9	Leukosituria Mikroskopis	Positif apabila ≥5/lpb
10	Silinder	Positif bermakna apabila ditemukan minimal 1 silinder baik eritrosit, leukosit ataupun granular
11	Peak Kromatografi	Peak (puncak) grafik yang terbentuk dari jenis asam amino, dapat dilihat pada gambar kromatogram dan dihitung jumlahnya.

4.5 Prosedur Penelitian

4.5.1 Pengumpulan Sampel Urine

Pada penelitian ini pengumpulan sampel dilakukan dengan metode urine porsi tengah atau *midstream* dengan jenis pengambilan urine sewaktu yaitu urine yang dikeluarkan setiap saat dan tidak ditentukan secara khusus. Urine porsi

tengah sebagai sampel pemeriksaan urine merupakan teknik pengambilan yang paling sering dilakukan dan tidak menimbulkan ketidaknyamanan pada pasien.

Sampel urine yang didapatkan segera dilakukan sentrifugasi 1500rpm selama 5 menit kemudian diambil supernatan dan dilanjutkan langkah pemeriksaan selanjutnya yaitu pemisahan protein dengan kromatografi kolom.

4.5.2 Proses Penyimpanan Sampel Urine

Pengaruh beberapa siklus beku-mencair dalam penanganan sampel urine pada proteome kemih merupakan menjadi perhatian lain. Disebutkan bahwa tidak ada perubahan yang signifikan dari profil protein urin sebelum pembekuan dan setelah 1 sampai 4 siklus beku-mencair, tetapi intensitas di beberapa puncak yang lemah menjadi tidak terdeteksi setelah siklus beku-mencair kelima. Namun secara umum, lebih aman untuk menghindari beberapa siklus beku-cair dalam penanganan sampel urine untuk meminimalisasi kesalahan dalam proses.

Zerefos dan Vlahou (2008) melaporkan bahwa perubahan sesekali profil protein diamati untuk penyimpanan 24 jam pada 4°C; dengan demikian, waktu penyimpanan yang lebih pendek (sampai 6 jam) pada 4°C menjadi pilihan yang baik. Karena itu, menurut temuan ini, dapat disimpulkan bahwa protein dan polipeptida cukup stabil dalam sampel urine. Data lain menyebutkan bahwa untuk waktu yang terbatas urine dapat disimpan pada suhu 4°C, dan untuk waktu yang relatif lama yang terbaik adalah untuk membekukan pada -80°C sebelum analisis. (Austin, 2004)

4.5.3 Prosedur Kromatografi Kolom

Kromatografi kolom adalah metode yang digunakan untuk memurnikan bahan kimia tunggal dari campurannya. Metode ini sering digunakan untuk aplikasi preparasi pada skala mikrogram hingga kilogram. Keuntungan utama kromatografi kolom adalah biaya yang rendah dan kemudahan membuang fasa diam yang telah digunakan. Kemudahan pembuangan fase diam ini mencegah kontaminasi silang dan degradasi fase diam akibat pemakaian ulang atau daur ulang. (Walls, 2011)

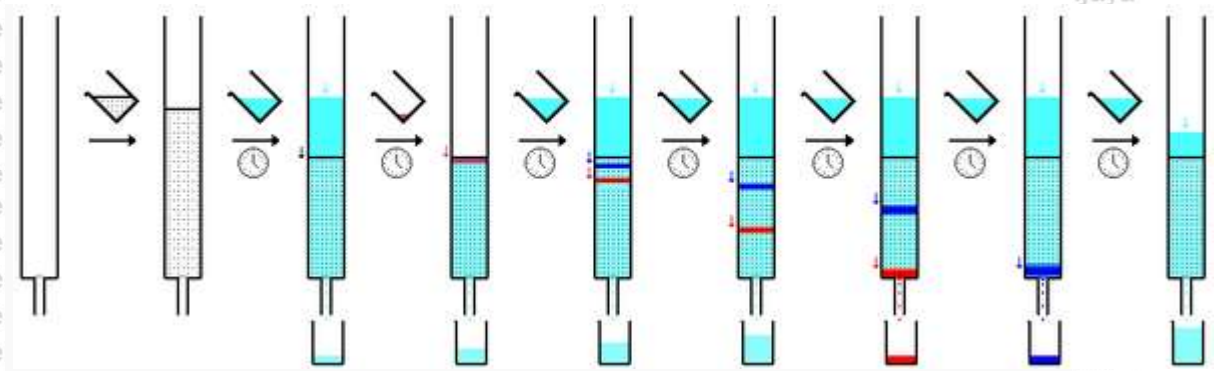
Kromatografi kolom preparatif klasik berupa tabung kaca dengan diameter antara 5 mm hingga 50 mm dengan panjang 5 cm hingga 1 m dengan keran dan pengisi (dengan sumbat kaca atau serat kaca – untuk mencegah hilangnya fasa diam) pada bagian bawah. Dua metode yang umum digunakan untuk preparasi kolom adalah: metode kering dan metode basah.

- Pada metode kering, kolom pertama kali diisi dengan serbuk kering fase diam, kemudian kolom dialiri fase gerak hingga seluruh kolom terbasahi. Mulai titik ini, fase diam tidak diperkenankan mengering.
- Pada metode basah, fase diam dibasahi dengan fase gerak hingga menjadi bubur di luar kolom, dan kemudian dituangkan perlahan-lahan ke dalam kolom. Pencampuran dan penuangan harus ekstra hati-hati untuk mencegah munculnya gelembung udara. Larutan bahan organik diletakkan di bagian atas fase diam menggunakan pipet. Lapisan ini biasanya ditutup dengan lapisan kecil pasir atau katun atau wol kaca untuk melindungi bentuk lapisan organik dari tuangan eluen. Eluen kemudian dialirkan perlahan melalui kolom sambil membawa sampel bahan organik. Sering

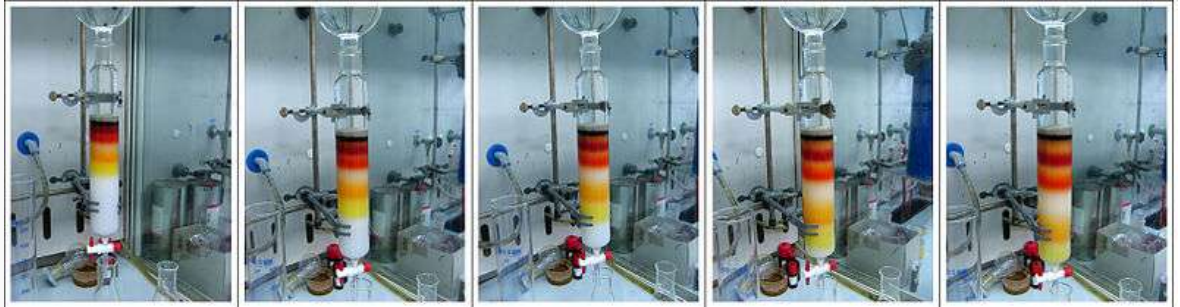
kali, wadah eluen sferis atau corong pisah bersumbat yang sudah diisi eluen diletakkan di bagian atas kolom.

Komponen-komponen tunggal tertahan oleh fasa diam secara berbeda satu sama lain pada saat mereka bergerak bersama eluen dengan laju yang berbeda melalui kolom. Di akhir kolom, mereka terelusi satu per satu. Selama keseluruhan proses kromatografi, eluen dikumpulkan sesuai fraksi-fraksinya. Fraksi-fraksi dapat dikumpulkan secara otomatis oleh pengumpul fraksi. Produktivitas kromatografi dapat ditingkatkan dengan menjalankan beberapa kolom sekaligus. Di sini, diperlukan pengumpul multi aliran. Komposisi aliran eluen dapat dimonitor dan masing-masing fraksi dianalisa senyawa terlarutnya, misalnya dengan kromatografi, absorpsi sinar UV atau fluoresensi. Senyawa berwarna (atau senyawa berfluoresensi di bawah lampu UV) dapat terlihat di dalam kolom sebagai pita-pita bergerak.

Fase Diam



Gambar 3.1 Tahapan Pengerjaan Kromatografi Kolom. (Walls, 2011)



Gambar 3.2 Foto urutan kromatografi kolom. (Walls, 2011)

Fase diam atau *adsorben* (penjerap) dalam kromatografi kolom adalah zat padat.

Fase diam yang paling umum untuk kromatografi kolom adalah silika gel, diikuti dengan alumina. Serbuk selulosa pernah banyak digunakan. Kromatografi kolom memungkinkan melakukan teknik kromatografi pertukaran ion, kromatografi fase terbalik, kromatografi afinitas, atau penjerapan bed ekspansi. *Fase diam* biasanya serbuk halus atau gel dan/atau mikropori untuk peningkatan permukaan, meskipun dalam EBA digunakan bed berfulida. Ada rasio penting antara berat *fase diam* dan berat kering campuran analit yang dapat diaplikasikan ke dalam kolom. Untuk kolom silika, rasio berada antara 20:1 hingga 100:1, bergantung pada kedekatan jarak elusi antar komponen analit.

Fase Gerak (eluen)

Fasa gerak atau *eluen* dapat berupa pelarut murni atau campuran pelarut. Pemilihan dilakukan sedemikian rupa sehingga nilai faktor retensi senyawa yang diinginkan berada pada kisaran 0,2 - 0,3 untuk meminimalkan waktu dan jumlah eluen yang diperlukan selama kromatografi. Eluen dapat pula dipilih berdasarkan daya pisahnya sehingga senyawa yang berbeda dapat dipisahkan secara efektif. Optimasi eluen dilakukan melalui uji pendahuluan berskala kecil, biasanya menggunakan kromatografi lapisan tipis (KLT) dengan fasa gerak yang sama.

Ada laju aliran optimum untuk masing-masing pemisahan. Semakin cepat laju aliran eluen akan meminimalkan waktu yang dibutuhkan untuk melalui kolom sehingga meminimalkan difusi, menghasilkan pemisahan yang lebih baik. Namun, laju aliran maksimum perlu dibatasi karena analit memerlukan waktu tertentu untuk berada pada kesetimbangan antara fase diam-fasa gerak, lihat persamaan Van Deemter. Kolom laboratorium sederhana bekerja dengan prinsip aliran gravitasi. Laju aliran kolom semacam ini dapat dinaikkan dengan menambah eluen baru di bagian atas fase diam, atau diturunkan dengan mengatur keran di bagian bawah. Laju aliran yang lebih cepat dapat diperoleh dengan menggunakan pompa atau gas bertekanan (misalnya: udara, nitrogen, atau argon) untuk menekan pelarut melalui kolom (kromatografi kolom kilat).

Ukuran partikel fase diam pada kromatografi kolom kilat biasanya lebih halus daripada kromatografi kolom gravitasi. Misalnya, silika gel untuk kromatografi kilat berukuran antara 230 – 400 mesh (40 – 63 μm), sementara untuk kromatografi gravitasi antara 70 – 230 mesh (63 – 200 μm).

Telah dikembangkan lembar lajur (*spreadsheet*) yang mendukung suksesnya pengembangan kolom kilat. Lembar lajur memperkirakan volume retensi dan pita volume analit, jumlah fraksi yang diperkirakan untuk masing-masing kandungan analit, dan resolusi antara dua puncak yang berdekatan. Informasi ini memungkinkan pengguna memilih parameter optimal untuk pemisahan berskala preparatif sebelum dicobakan pada kolom kilat.

Sistem Otomatisasi

Kromatografi kolom adalah tahapan yang sangat memakan waktu dalam laboratorium apapun, dan dapat berubah menjadi suatu proses leher botol dalam

sekejap. Oleh karenanya, beberapa pabrikan seperti Buchi, Interchim dan Teledyne Isco telah mengembangkan sistem otomasi kromatografi kilat (biasanya dirujuk sebagai KCTR, kromatografi cair tekanan rendah dengan tekanan antara 350–525 kPa atau 50,8–76,1 psi, yang meminimalisir keterlibatan manusia dalam proses pemurnian. Sistem otomasi meliputi komponen-komponen yang secara normal ditemukan dalam sistem yang lebih mahal kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) seperti pompa gradien, port injeksi sampel, detektor UV, dan pengumpul fraksi untuk mengoleksi eluen. Biasanya, sistem otomatis ini dapat memisahkan sampel mulai beberapa miligram hingga skala industri kilogram, dan menawarkan solusi yang lebih murah dan cepat untuk melakukan injeksi multipel pada sistem KCKT-preparasi.

Resolusi (kemampuan memisahkan campuran) pada sistem LPLC pasti lebih rendah daripada KCKT, karena bahan kemasan dalam kolom KCKT dapat lebih kecil, biasanya hanya 5 mikrometer sehingga meningkatkan luas permukaan fase diam, meningkatkan luas permukaan interaksi dan pemisahan menjadi lebih baik. Namun, penggunaan media berkemasan kecil ini menyebabkan tekanan balik yang tinggi dan itulah mengapa disebut kromatografi cair tekanan tinggi. Kolom LPLC biasanya dikemas dengan silika sekitar 50 mikrometer, sehingga mengurangi tekanan balik dan resolusi, tetapi juga menghilangkan kebutuhan pompa bertekanan tinggi yang mahal. Pabrikan juga sekrang mulai berpindah kepada sistem kromatografi kilat bertekanan tinggi dan memberinya nama sistem kromatografi cair tekanan menengah yang beroperasi pada tekanan di atas 1 Mpa (150 psi). (Walls, 2011)



4.5.4 Prosedur SDS-PAGE

Persiapan sampel

1. Sampel protein ditambah reducing sampel buffer (RSB) dg perbandingan 1:1 dalam tabung 1,5 ml
2. Sampel dipanaskan pada suhu 100°C selama 5 menit

Pembuatan separating gel 12,5% dan stacking gel 5%

1. Plate pembentuk gel disusun sesuai prosedur penyusunan plate elektroforesis
 2. separating gel 12,5% dibuat dg komposisi:

3,125 ml stok poliakrilamid 30%	75µ SDS 10%
1,505 ml Tris pH 8,8;1M	75µ APS 10%
2,75 ml aquabides	5µ TEMED
 3. Segera tuang larutan kedalam plate pembentuk gel menggunakan mikropipet 1ml sampai batas yang terdapat pada plate.
 4. Perlahan tambahkan aquadest di atas larutan gel dalam plate agar permukaan gel tidak bergelombang
 5. Biarkan gel memadat selama kurang lebih 30 menit (ditandai dg terbentuknya garis transparan di antara batas air dan gel yang terbentuk). setelah itu, air yang menutup separating gel dibuang.
 6. Dibuat *stacking gel* 5% dg komposisi sbb:

0,45 stok poliakrilamid 30%	30 µ SDS 10%
0,38 ml Tris pH 6,8;1M	30 µ APS 10%
2,11 ml aquabides	5µ TEMED
- Stacking gel dituang kedalam plate dan dipasang sisiran gel.

Pemasangan Plate dan Running

1. Plate berisi gel dimasukkan dalam chamber elektroforesis
2. Running buffer ph 8,3 dituang sampai bagian atas dan bawah gel terendam
3. Sisiran diangkat pada plate sehingga terbentuk sumuran gel
4. Sampel sebanyak 10-30 μ l ke dalam sumuran gel. Untuk memulai running, perangkat elektroforesis dihubungkan dg power supply
5. Running dilakukan pada konstant current 20mA selama kurang lebih 3 jam atau sampai tracking dye mencapai jarak 0,5 cm dari dasar gel.
6. setelah selesai, running buffer dituang dan gel diambil dari plate.

Pewarnaan Gel

1. Gel direndam dalam 20 ml pewarna sampai digoyang selama \pm 15 menit dg komposisi 10% asam asetat glasial, 50% methanol, 0,05% CBB R250 dan 40% aquabides. Setelah itu larutan staining dituang kembali pada wadahnya.
2. Setelah dicuci dg air beberapa kali, gel direndam dalam 50 ml destaining solution dg komposisi 10% asam asetat glasial, 50% methanol dan 40% aquabides. Sambil digoyang selama \pm 30 menit atau sampai band protein terlihat jelas.

4.5.5 Prosedur Biopsi Ginjal

Biopsi ginjal dilakukan dengan menusukkan jarum biopsi melalui kulit ke dalam jaringan renal atau dengan melakukan biopsi terbuka melalui luka insisi yang kecil di daerah pinggang. Pemeriksaan ini berguna untuk mengevaluasi

perjalanan penyakit ginjal dan mendapatkan spesimen bagi pemeriksaan mikroskopik, khususnya untuk menilai glomerulus. Berikut prosedur biopsi ginjal:

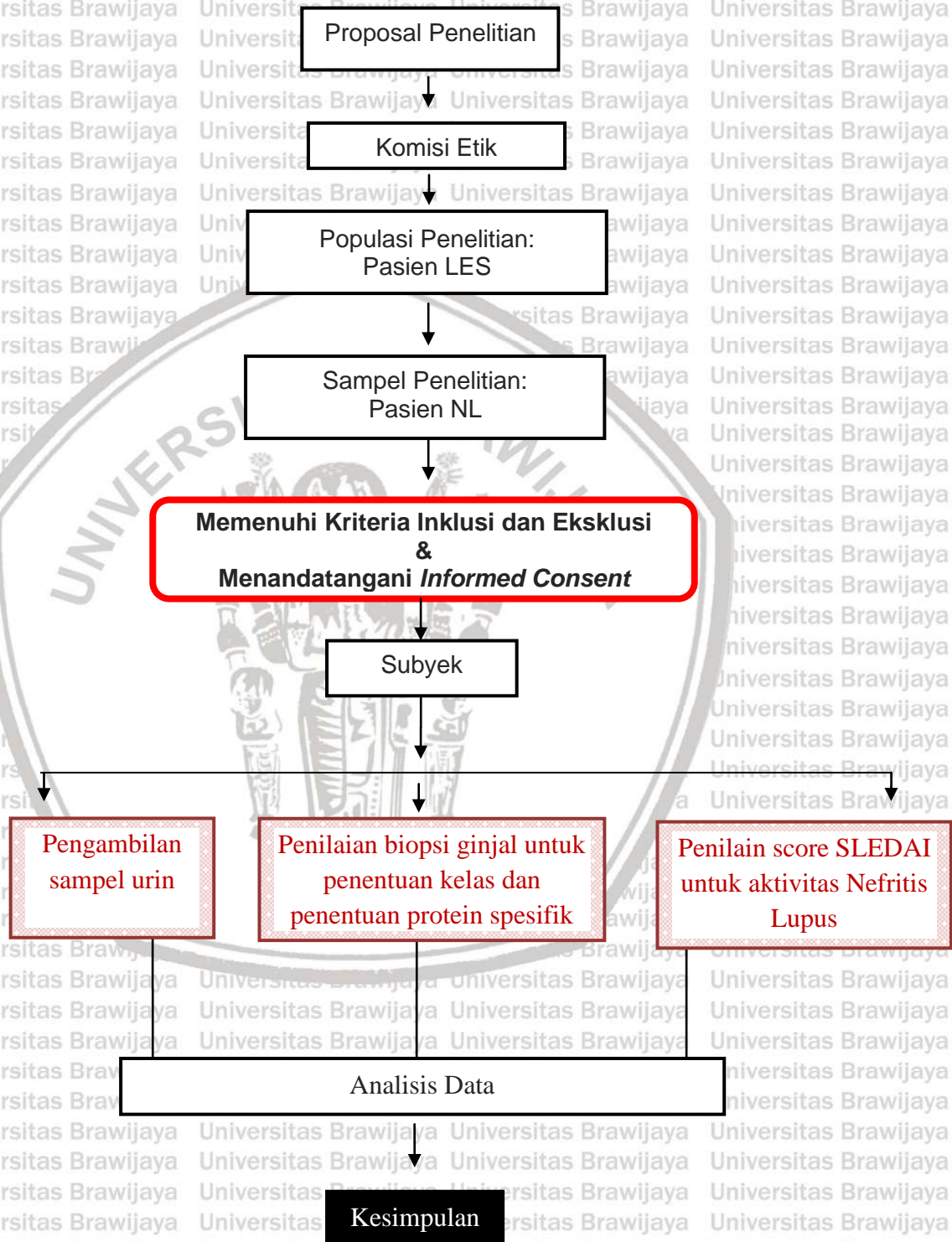
- Pasien dipuasakan selama 6 hingga 8 jam sebelum pemeriksaan
- Set infus dipasang
- Pasien yang sudah dalam keadaan sedasi ditempatkan dalam posisi telungkup dengan bantal pasir diletakan dibawah perut
- Kulit pada lokasi biopsi diinfiltrasi dengan preparat anestesi lokal
- Jarum biopsi ditusukan tepat di sebelah dalam kapsula ginjal pada kuadran ginjal sebelah luar. Lokasi jarum dapat dipastikan melalui fluoroskopi atau ultrasouand dengan menggunakan teknik khusus.
- Sampel jaringan biopsi yang didapat selanjutnya dilakukan pembuatan slide preparat histopatologi.

4.5.6 Teknik Pengumpulan Data dan Analisis Data

Setiap memperoleh sampel penelitian yang memenuhi kriteria akan dilakukan anamnesa, pemeriksaan fisik, dan pemeriksaan penunjang. Data dicatat dalam lembar (*form*) yang telah disiapkan. Selanjutnya pasien tersebut akan diambil sampel urine yang digunakan untuk mendapatkan data protein biomarker urin. Pasien juga akan dilakukan biopsi ginjal untuk pemeriksaan fenotip histologi ginjal. Semua data yang diperoleh dari hasil penelitian dicatat dalam buku khusus penelitian (*log book*) dan disimpan dalam file komputer.

Analisa data diolah secara diskriptif.

4.6 Alur Penelitian



BAB V

HASIL PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan 20 orang subyek pasien Nefritis Lupus yang telah memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi dan bersedia berpartisipasi pada penelitian ini dengan menandatangani *informed consent*. Pada pasien ini dilakukan biopsi ginjal dan telah diketahui hasilnya. Pada subyek ini diambil sampel urine kemudian dilakukan pemeriksaan kromatografi dan SDS-PAGE.

5.1 Karakteristik Subyek yang diteliti

Data yang diperoleh dari penelitian ini disajikan dalam bentuk tabel. Pengolahan data memperhatikan jenis data yang dikumpulkan dengan tehnik analisis deskriptif. Dalam hal ini, data karakteristik penderita disajikan dalam mean \pm standar deviasi, median dan range jika data berskala interval dan rasio, sedangkan jika data berskala nominal dan ordinal, maka distribusi frekuensi akan disajikan dalam bentuk prosentase.

Dari 20 pasien tersebut, hasil pemeriksaan biopsi ginjal menunjukkan kelas biopsi I, II (derajat ringan) dan kelas III, IV dan V (derajat berat).

Karakteristik subyek penelitian ditunjukkan pada tabel 5.1.

Pada karakteristik subyek penelitian, akan dilakukan perhitungan nilai p dengan melakukan uji beda dengan t-test mann whitney berdasarkan data non parametrik.

Tabel 5.1 Karakteristik Subyek yang Diteliti

Variabel	Hasil
Usia (tahun)	18-58 tahun
Jenis Kelamin : Wanita	20 (100%)
Hasil Urinalisis	
Proteinuria (N, %)	
- Negatif	9 (45%)
- 1+	2 (10%)
- 2+	4 (20%)
- 3+	5 (25%)
Leukosituria (N, %)	
- Negatif	14 (70%)
- 1+	3 (15%)
- 2+	2 (10%)
- 3+	1 (5%)
Hematuria Dipstick (N, %)	
- Negatif	13 (65%)
- 1+	3 (15%)
- 2+	2 (10%)
- 3+	2 (10%)
Hematuria Mikroskopis (N, %)	
- ≤5/lpb	12 (60%)
- >5lpb	8 (40%)
Leukosit Mikroskopis (N, %)	
- ≤5/lpb	7 (35%)
- >5lpb	13 (65%)
Silinder (N, %)	
- Negatif	14 (70%)
- Granular	5 (25%)
- Eritrosit	-
- Leukosit	1 (5%)
Kelas Histopatologi (Biopsi) (N, %)	
Derajat Ringan (kelas I, II)	6 (30%)
Derajat Berat (kelas III, IV, V)	14 (70%)
Aktivitas NL (N, %)	
Tidak Aktif (SLEDAI Score <4)	6 (30%)
Aktif (SLEDAI Score ≥4)	14 (70%)

Pada Tabel 5.1 menunjukkan bahwa dari keseluruhan pasien didapatkan usia 18-58 tahun. Dari hasil analisis urine pada kelompok kasus didapatkan proteinuria *dipstick* sebanyak 11 orang (55%), hematuria *dipstick* 7 orang (35%),

hematuria mikroskopik >5/lpb sebanyak 8 orang (40%), leukosit mikroskopik >5/lpb sebanyak 13 orang (65%), terdapat silinder granular sebanyak 6 orang (30%). Semua pasien NL telah mendapatkan terapi dengan methylprednisolon dengan dosis dan lama penggunaan yang berbeda-beda (data tidak ditampilkan). Sedangkan untuk aktivitas NL didapatkan pasien dengan *SLEDAI score* ≥ 4 (aktif/*flare*) sebanyak 11 orang (55%) dan *SLEDAI score* < 4 (tidak aktif/*non flare*) sebanyak 9 orang (45%). Pada karakteristik subyek penelitian, akan dilakukan perhitungan nilai p dengan melakukan uji beda dengan uji t-test dan *Mann-Whitney*.

Tabel 5.2 Uji Beda Aktivitas NL terhadap Hasil Urinalisis

Variabel	Aktivitas		Nilai p
	Tidak Aktif (N=6)	Aktif (N=14)	
Usia (mean\pmSD)	30.67 \pm 12.691	27.64 \pm 10.689	0.535
Proteinuria (N, %)			
- Negatif	4 (67%)	5 (36%)	0.054
- 1+	2 (33%)	-	
- 2+	-	4 (28%)	
- 3+	-	5 (36%)	
Leukosituria Dipstick (N, %)			
- Negatif	6 (100%)	12 (36%)	0.333
- 1+	-	-	
- 2+	-	4 (28%)	
- 3+	-	5 (36%)	
Hematuria Dipstick (N, %)			
- Negatif	5 (83%)	9 (65%)	0,041
- 1+	1 (16%)	2 (14%)	
- 2+	-	2 (14%)	
- 3+	-	1 (7%)	
Hematuria Mikroskopis (N, %)			
- $\leq 5/lpb$	6 (100%)	6 (43%)	0.001
- $> 5/lpb$	-	8 (57%)	
Leukosit Mikroskopis (N,%)			
- $\leq 5/lpb$	5 (83%)	2 (14%)	0.002
- $> 5/lpb$	1 (16%)	12 (86%)	

Pada Tabel 5.2 menunjukkan bahwa pada kelompok NL tidak aktif dan NL aktif terhadap usia, hasil urinalisis proteinuria, leukositosituria dipstick, hematuria dipstick, hematuria mikroskopik, leukosit mikroskopik didapatkan nilai p berturut-turut sebesar 0,535; 0,054; 0,333; 0,041; 0,001 dan 0.002 ($p < 0,05$). Rerata usia, hematuria mikroskopik dan leukosituria mikroskopik berturut-turut pada kelompok NL tidak aktif adalah 30.67 ± 12.691 , 0.266 ± 0.653 dan 4.13 ± 2.286 . Sedangkan pada kelompok NL aktif rerata usia, hematuria mikroskopik dan leukosituria mikroskopik berturut-turut adalah 27.64 ± 10.689 , 13.835 ± 14.789 dan 88.36 ± 264.142 .

Tabel 5.3 Uji Beda Kelas Histopatologi terhadap Hasil Urinalisis

Variabel	Kelas Histopatologi		Nilai p
	Ringan (kelas I,II)	Berat (kelas III,IV,V)	
Usia (mean±SD)	27.33±5.854	29.07±12.845	0.649
Proteinuria (N, %)			
- Negatif	5 (83%)	4 (29%)	0.016
- 1+	1 (16%)	2 (13%)	
- 2+	-	4 (29%)	
- 3+	-	4 (29%)	
Leukosituria (N, %)			
- Negatif	4 (68%)	10 (72%)	0.760
- 1+	1 (16%)	2 (14%)	
- 2+	-	2 (14%)	
- 3+	1 (16%)	-	
Hematuria Dipstick (N, %)			
- Negatif	6 (100%)	7 (50%)	0.041
- 1+	-	2 (14%)	
- 2+	-	2 (14%)	
- 3+	-	3 (22%)	
Hematuria Mikroskopis (N, %)			
- ≤5/lpb	4 (67%)	8 (57%)	0.245
- >5lpb	2 (33%)	6 (43%)	
Leukosit Mikroskopis (N, %)			
- ≤5/lpb	2 (33%)	5 (36%)	0.934
- >5lpb	4 (67%)	9 (64%)	

Pada karakteristik subyek penelitian, akan dilakukan perhitungan nilai p dengan melakukan uji beda dengan uji t-test dan *Mann-Whitney*. Berdasarkan kelompok NL derajat ringan (kelas I,II) dan NL derajat berat (kelas III, IV, V) terhadap usia, hasil urinalisis proteinuria, leukosituria *dipstick*, hematuria *dipstick*, hematuria mikroskopik, leukosit mikroskopik didapatkan nilai p berturut-turut sebesar 0,649; 0,016; 0,760; 0,041; 0,245 dan 0,934 ($p>0,05$). Rerata usia, hematuria mikroskopik dan leukosituria mikroskopik pada kelompok NL derajat ringan (kelas I, II) berturut-turut adalah 27.33 ± 5.854 , 5.366 ± 8.486 dan 171.97 ± 407.437 . Sedangkan rerata pada kelompok NL derajat berat (kelas III, IV, V) berturut-turut adalah 29.07 ± 12.845 , 11.65 ± 15.424 dan 14.4 ± 20.728 .

5.2 Pola Protein Spesifik Urin Kasus NL sesuai dengan Hasil Kromatografi Kolom

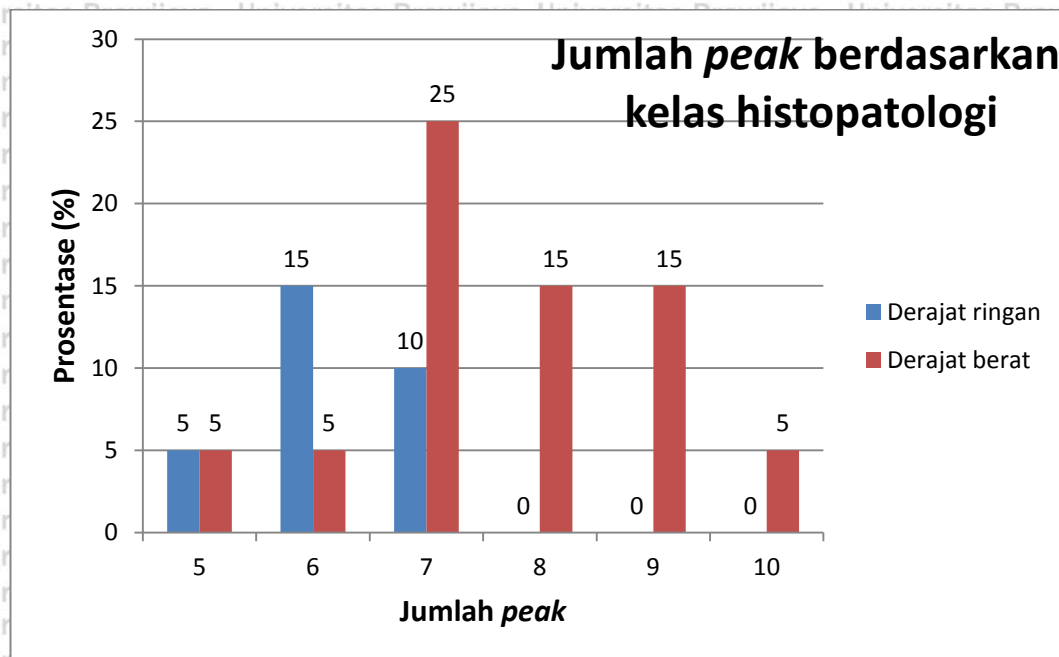
Pada penelitian ini dilakukan identifikasi gambaran pola protein spesifik urine pada kasus pasien NL dengan melakukan kromatografi kolom dengan hasil data berupa kromatogram. Pada kromatogram marker protein standar menunjukkan jenis protein pada beberapa *peak*. *Peak* pertama yang muncul terukur volume elusi 10 ml sampai 15 ml (albumin dengan BM 66 kDa) dan 15 ml sampai 25 ml yang menunjukkan suatu fragmen albumin (ovalbumin dengan BM 45 kDa), kemudian diikuti dengan *peak* yang muncul pada ukuran 25 ml sampai dengan 30 ml yang menunjukkan trypsin (berat molekul sekitar 20 kDa).

Pada pemeriksaan dengan kromatografi kolom didapatkan hasil yang menunjukkan perbedaan jumlah *peak* protein pada pasien NL seperti yang digambarkan pada tabel 5.4 dan gambar 5.1 di bawah ini.

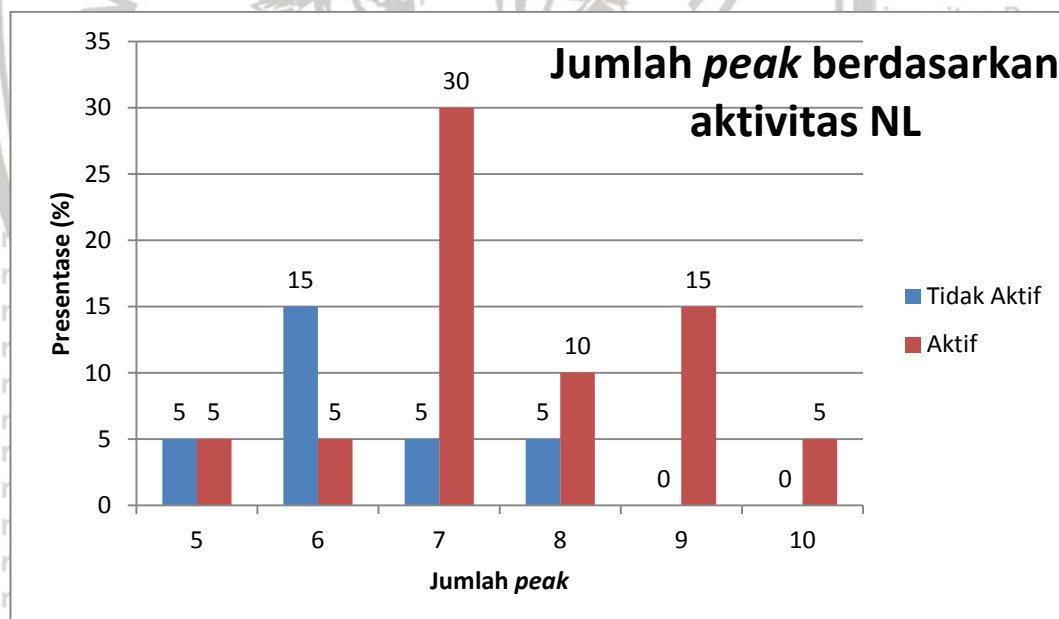
Tabel 5.4 Jumlah Peak Protein Urine Berdasarkan Kelas Histopatologi dan Aktivitas NL

Jumlah peak	Aktivitas NL		Kelas Histopatologi	
	Tidak Aktif (N=6, %)	Aktif (N=14, %)	Ringan (I,II) (N=6, %)	Berat (III, IV, V) (N=14, %)
5	1(5)	1(5)	1(5)	1(5)
6	3(15)	1(5)	3(15)	1(5)
7	1(5)	6(30)	2(10)	5(25)
8	1(5)	2 (10)	-	3(15)
9	-	3(15)	-	3(15)
10	-	1 (5)	-	1(5)

Pada tabel 5.4 menunjukkan pada NL tidak aktif mempunyai *peak* protein bervariasi mulai 5 sampai 8 *peak*, sedangkan NL aktif menunjukkan sampai 10 *peak*. Pada NL derajat berat (kelas III, IV, V) mempunyai *peak* protein tambahan yaitu 8,9, dan 10 yang tidak dimiliki oleh NL kelas ringan (kelas I,II). Tidak didapatkan hasil uji beda yang bermakna antara pasien NL tidak aktif dan aktif terhadap jumlah *peak* dan tidak juga didapatkan hasil uji beda yang bermakna antara pasien NL derajat ringan dan derajat berat terhadap jumlah *peak*, dengan nilai p berturut-turut 0,384 dan 0,133.

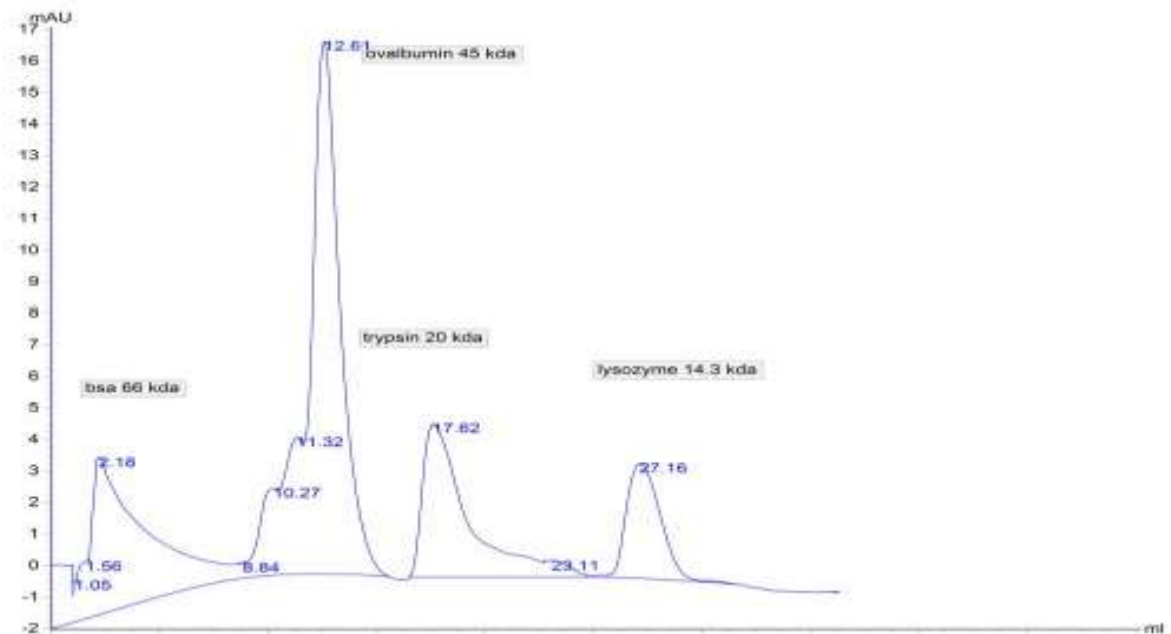


Gambar 5.1 Diagram Jumlah Peak terhadap Kelas Histopatologi Pasien NL



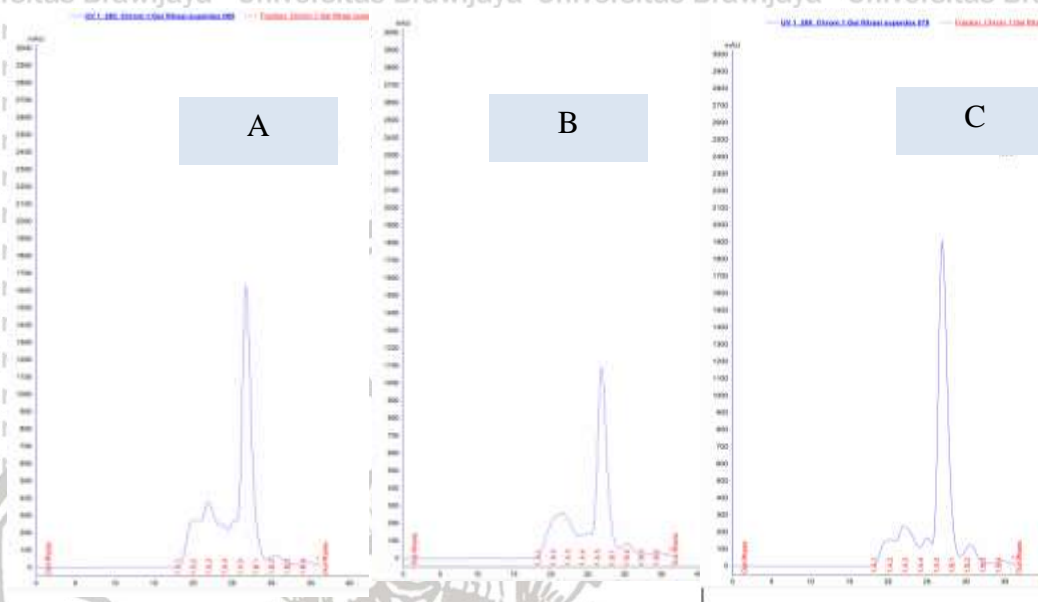
Gambar 5.2 Diagram Jumlah Peak terhadap Aktivitas NL

Pada tabel 5.1 menunjukkan bahwa pada kasus NL dapat ditemukan *peak* protein sebanyak 5, 6, 7, 8, 9, dan 10 dengan paling banyak ditemukan 7 *peak* sebanyak 25% berdasarkan kelas histopatologi. Pada gambar 5.2 menunjukkan bahwa jumlah *peak* terbanyak pada NL aktif yaitu sebanyak 7 *peak* sebanyak 30%.



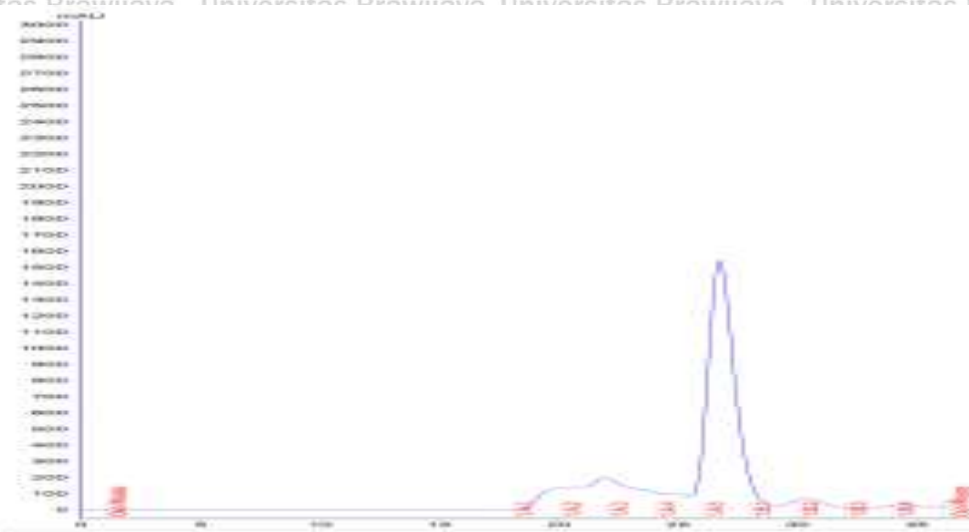
Gambar 5.3 Marker Kromatografi

Pada Gambar 5.3 menunjukkan kromatogram dari sampel marker protein yang digunakan sebagai perbandingan terhadap hasil pasien NL. Hasil kromatografi menunjukkan 4 *peak* dengan berat molekul 66 kDa, 45 kDa, 20 kDa, 14,3 kDa. Berdasarkan marker tersebut, maka berat molekul yang digunakan sebagai dasar perbandingan adalah berat molekul tertinggi yaitu 66 kDa.

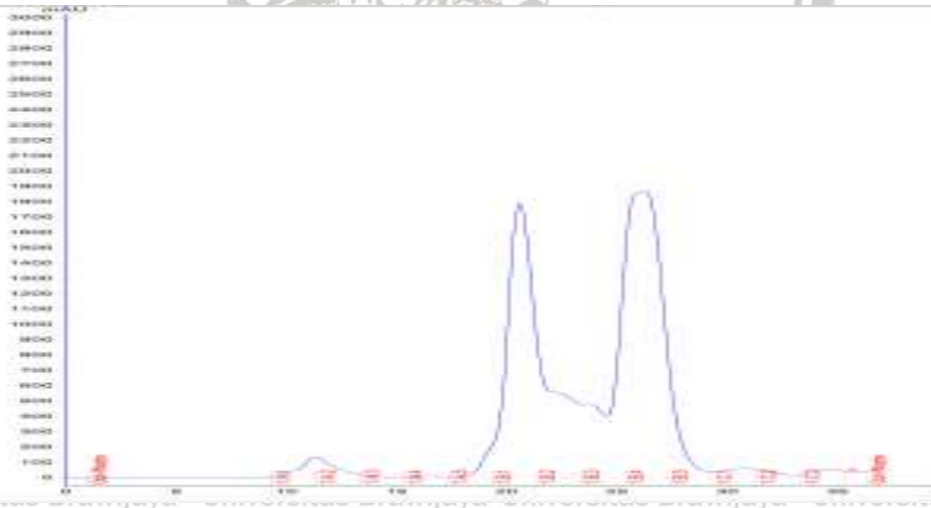


Gambar 5.4 (A-C)
Kromatogram pasien NL, peak pertama muncul pada ukuran antara 15 ml sampai 25 ml dengan konsentrasi peak awal yang muncul ≥ 300 mAu.

Pada Gambar 5.4 menunjukkan hasil kromatogram dengan *peak* pertama protein urin mulai nampak pada volume elusi 10 ml sampai 20 ml dengan konsentrasi ≥ 300 mAu. Jika pola ini diukur dengan pola protein pada marker protein standart (gambar 5.3), maka hasil ini menunjukkan adanya suatu fragmen albumin (berat molekul sekitar 66 kDa sampai dengan 45 kDa).



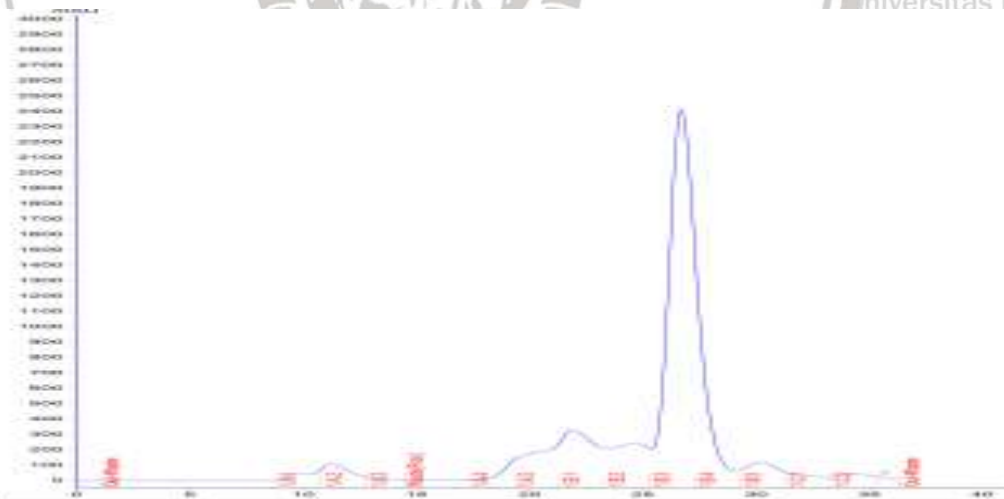
Gambar 5.5
Kromatogram pasien Nefritis Lupus tidak aktif (SLEDAI Score <4). Jumlah peak yang paling sering muncul adalah 6 peak, dengan peak pertama muncul dengan konsentrasi $\geq 300\text{mAu}$



Gambar 5.6
Kromatogram pada Nefritis Lupus aktif (SLEDAI Score ≥ 4). Dapat ditemukan peak lebih banyak rata-rata 7-9 peak dengan peak pertama yang muncul rata-rata dengan konsentrasi $\geq 400\text{mAu}$



Gambar 5.7
 Kromatogram pada Nefritis Lupus derajat ringan (kelas I, II). Jumlah **peak** yang paling sering muncul adalah 6 **peak**, dengan **peak pertama** muncul rata-rata dengan konsentrasi $\geq 400\text{mAu}$



Gambar 5.8
 Kromatogram pada Nefritis Lupus derajat berat (kelas III, IV). Dapat ditemukan **peak** lebih banyak rata-rata 7-10 dengan **peak pertama** yang muncul dengan konsentrasi $\geq 400\text{mAu}$

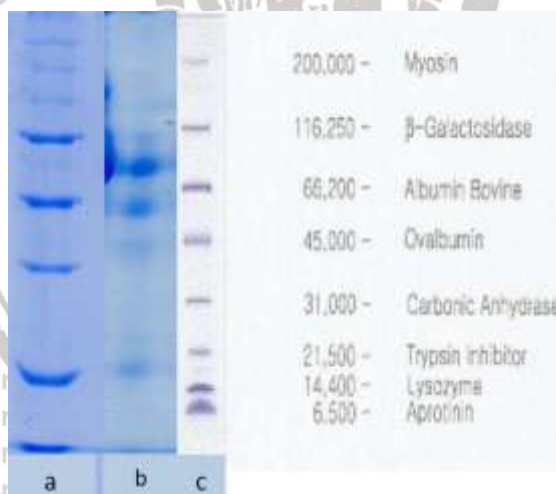
Pada Gambar 5.4 sampai Gambar 5.8 menunjukkan gambaran hasil kromatografi (jumlah *peak* protein urine) pada aktivitas NL dan kelas histopatologi NL yang berbeda-beda.

5.3 Gambaran Berat Molekul Protein Urine sesuai Hasil SDS-PAGE

Pada pemeriksaan dengan SDS-PAGE didapatkan adanya variasi berat molekul protein spesifik urine pada kelompok kasus NL dan kelompok sehat.

Pada gambar 5.9 di bawah ini dapat dilihat hasil SDS-PAGE berupa *band* protein urin spesifik pada salah satu kasus NL yang dibiopsi (gambar b) yang diukur dengan membandingkan *band* pada *marker* (gambar a dan c).

Band protein yang muncul setara ukuran pada marker dengan berat molekul 21 kDa, 45kDa, 60 kDa, 70 kDa, 100 kDa.



Gambar 5.9
Hasil SDS-PAGE pasien NL (b) dibanding dengan marker (a dan c).

Pengukuran berat molekul protein spesifik urine dengan pemeriksaan SDS-PAGE menunjukkan bahwa protein pada kelompok sehat memiliki berat molekul > 66 kDa (95% dari kelompok sehat), sedangkan pada kelompok kasus

ditemukan sebagian besar *band* protein dengan berat molekul ≤ 66 kDa dengan berbagai macam variasi berat molekul. Berat molekul ditemukan beberapa protein dengan berat molekul rendah (*Low Molecule Weight*) yaitu sekitar 25-21 kDa.

Tabel 5.5 Berat Molekul Protein

Berat molekul Protein (kDa)	Pasien NL (N, %)
100-91	3 (3,2)
90-81	-
80-71	12(12,9)
70-61	20(21,5)
60-51	16(17,2)
50-41	18(19,3)
40-31	2 (2,1)
30-21	22(23,6)
20-11	-
<10	-

Pada Tabel 5.5 menunjukkan bahwa pada kelompok NL 83.7% ditemukan pada berat molekul ≤ 66 kDa dan sekitar 23.6% mempunyai berat molekul rendah yaitu antara 30-21 kDa.

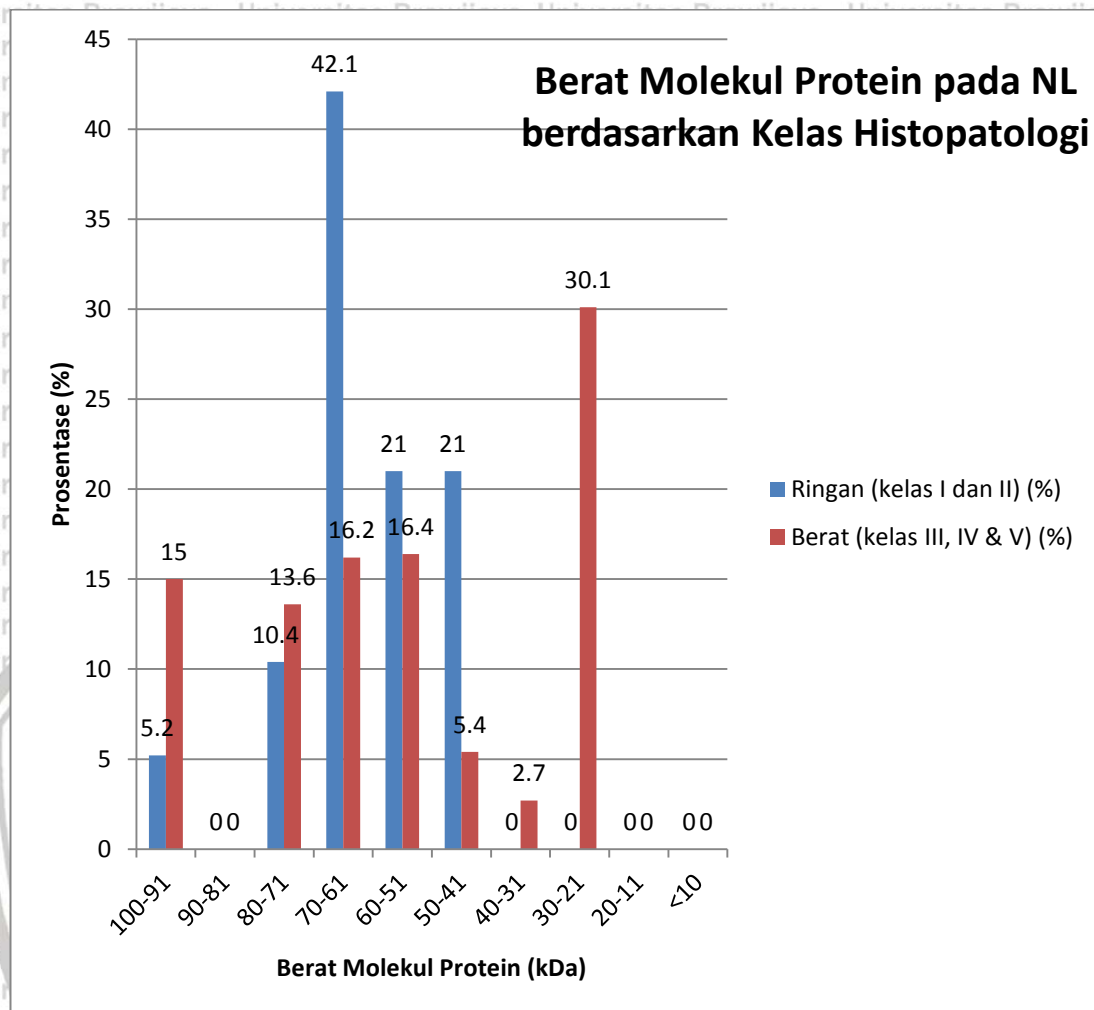
5.4 Gambaran Berat Molekul Protein Spesifik Urine Pada Nefritis Lupus Berdasar Kelas Histopatologi

Pada tabel 5.5 dapat ditunjukkan adanya protein spesifik urine dengan berat molekul ≤ 66 kDa dan beberapa protein dengan molekul rendah antara 30-21 kDa yang dapat ditemukan pada beberapa NL dengan kelas yang berbeda-beda. Protein dengan berat molekul rendah (30-21 kDa) hanya ditemukan pada NL kelas III, IV dan V sedangkan pada NL kelas I dan II tidak ditemukan protein

dengan berat molekul rendah tetapi mayoritas protein yang ditemukan mempunyai berat molekul ≤ 66 kDa (64% dari semua NL kelas I dan II).

Tabel 5.6 Berat Molekul Protein Pasien NL berdasarkan Kelas Histopatologi dan Aktivitas NL

Berat molekul protein (kDa)	SLEDAI Score		Kelas Histo PA NL	
	Tidak Aktif	Aktif	Ringan (kelas I dan II)	Berat (kelas III, IV & V)
100-91	1	1	1(5,2)	11(15)
90-81	0	1	-	-
80-71	3	6	2(10,4)	10(13,6)
70-61	8	14	8(42,1)	12(16,4)
60-51	4	12	4(21)	12(16,4)
50-41	4	9	4(21)	4(5,4)
40-31	0	2	-	2(2,7)
30-21	5	16	-	22(30,1)
20-11	0	0	-	-
<10	0	0	-	-

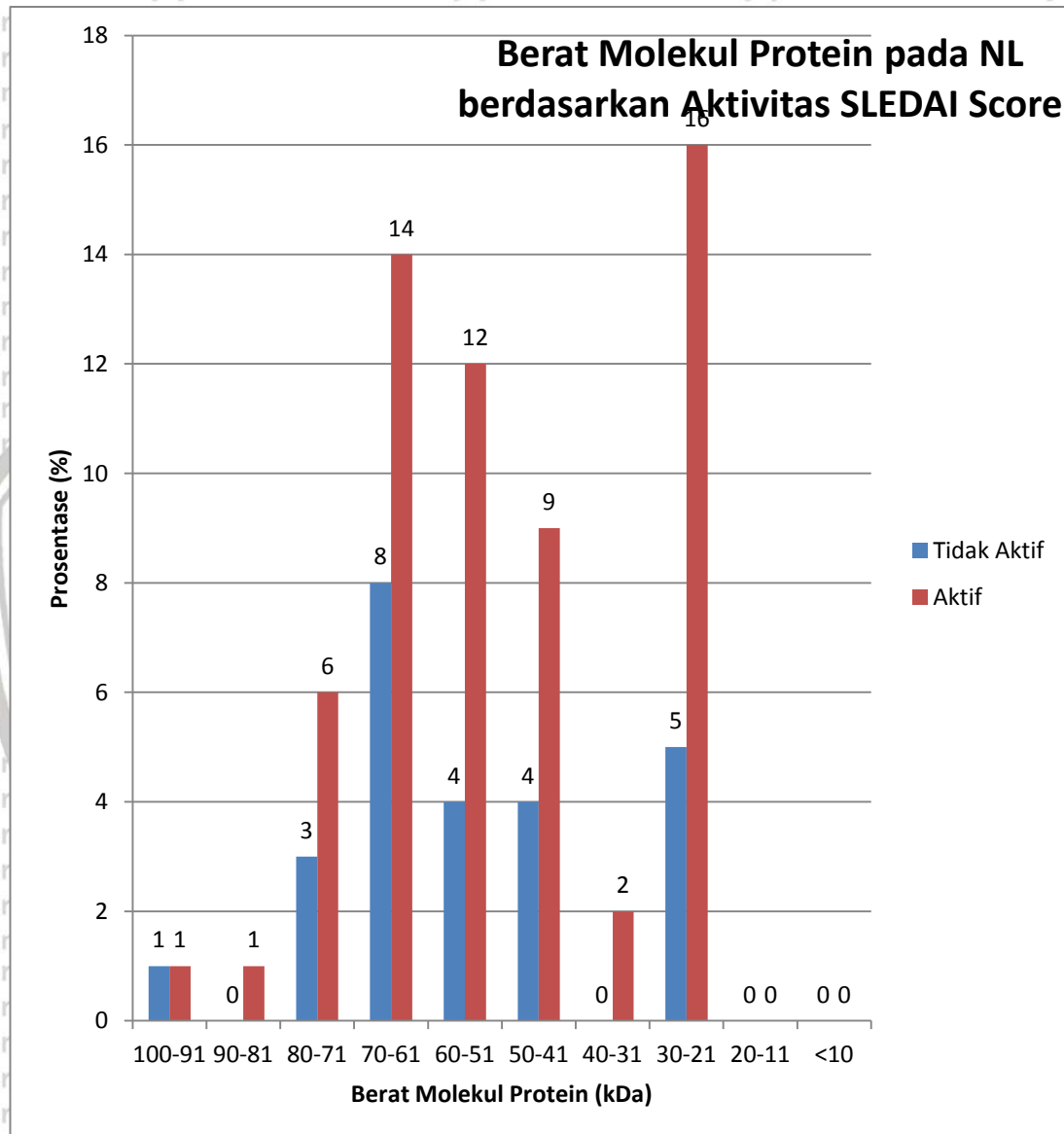


Gambar 5.10 Diagram Berat Molekul Protein Urine Pasien Nefritis Lupus Berdasarkan Kelas Histopatologi

5.5 Gambaran Berat Molekul Protein Spesifik Urine Berdasar Aktivitas (SLEDAI Score : Tidak Aktif dan Aktif)

Pada tabel 5.5 diatas dan diagram pada gambar 5.6 juga dapat dilihat bahwa pada NL dengan berat molekul ≤ 66 kDa dengan SLEDAI score ≥ 4 (kondisi aktif) sebanyak yaitu 61,6% dan 24,4% dengan SLEDAI score < 4 (kondisi tidak aktif). Sedangkan pada NL dengan berat molekul 30-21 kDa dengan SLEDAI score ≥ 4 (kondisi aktif) sebanyak 18,6% dan 5,8% pada dengan SLEDAI score < 4 (kondisi tidak aktif). Jumlah protein dengan berat molekul

rendah sekitar 30-21 kDa lebih banyak ditemukan pada NL aktif dibandingkan dengan NL tidak aktif. Berikut diagram batang berat molekul protein spesifik urin pada NL berdasarkan aktivitas berdasarkan SLEDAI score.



Gambar 5.11 Diagram Berat Molekul Protein Urine Pasien Nefritis Lupus Berdasarkan Aktivitas NL

BAB VI

PEMBAHASAN

6.1 Karakteristik Pasien yang Diteliti

Pada penelitian ini kami mengambil NL pasien wanita sebanyak 20 orang (100%). Hal ini bertujuan untuk mendapatkan homogenitas sampel penelitian.

Pada literatur menyatakan bahwa frekuensi LES pada wanita lebih tinggi daripada laki-laki. (Gloor, 1998) (Brunner, 2008) Pada penelitian yang dilakukan oleh Petel pada tahun 2006 menyebutkan angka kejadian NL secara keseluruhan lebih tinggi pada wanita dibandingkan pada laki-laki yaitu 0,68 per 100.000 penduduk berbanding 0,09 per 100.000 penduduk LES dilaporkan lebih sering pada usia produktif, hal ini disebabkan karena adanya keterlibatan hormon estrogen pada perkembangan dan perjalanan penyakit LES. (Osio, 2010) Rata-rata usia adalah 18-34 tahun, hal ini sesuai dengan beberapa teori bahwa LES lebih banyak ditemukan pada usia muda (20-40 tahun). (Bartels, 1998) (Petri, 2012)

Hasil urinalisis pada pasien NL menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan pada kelompok NL tidak aktif dan aktif terhadap hematuria mikroskopik dan leukosituria mikroskopik dengan nilai p berturut-turut 0.001 dan 0.002 ($p < 0.05$). Hal ini menunjukkan bahwa adanya hematuria dan leukosituria memang sangat berperan terhadap tanda aktivitas NL. Hal ini sesuai dengan kriteria MEX-SLEDAI untuk penyakit NL yang didalamnya melibatkan hematuria mikroskopik dan leukosituria mikroskopik, selain proteinuria dan adanya silinder. (Bernatsky, 2010) (D;Agati, 2007) Pada hasil urinalisis pasien NL terhadap kelas histopatologi, menunjukkan perbedaan yang signifikan antara NL derajat ringan

(kelas I,II) dan NL derajat berat (kelas III, IV, V) terhadap proteinuria dan hematuria *dipstick*, dengan nilai p berturut-turut 0.016 dan 0.041 ($p < 0.05$).

Hal ini menunjukkan adanya kerusakan glomerulus yang ditandai dengan adanya proteinuria dan hematuria. Hasil ini sesuai dengan studi yang dilakukan oleh Saxena tahun 2008. Protein masuk urine melalui beberapa mekanisme fisiologi dan patofisiologi. Patofisiologi NL meliputi respon sistemik dan selular renal serta respon humoral yang akan mengurangi fungsi barier filtrasi glomerulus yang akan membiarkan protein dengan ukuran abnormal dikeluarkan dalam urine dalam jumlah yang lebih besar. Adanya deposit autoantibodi pada glomerulus akan menyebabkan kerusakan tubular, inflamasi interstitial tubulus dan fibrosis. Jika aktivitas imun pada LES dapat dikontrol, maka proteinuria dapat kembali normal. Adanya proteinuria berulang berhubungan dengan NL yang aktif (*flare*). (Wang, 2009) (Ameur, 2010)

Protein keluar dari sirkulasi kapiler dengan melewati tiga lapis barier filtrasi yang terdiri dari sel endotel, membran basalis glomerulus dan celah diafragma podosit. Protein dengan berat molekul kecil < 20 kDa bebas dari filtrasi tetapi akan segera di reabsorpsi oleh sel tubular proksimal. Jika podosit ini mengalami kerusakan maka akan mengakibatkan hilangnya struktur aktin yang kaya dengan sitoskeleton, diafragma protein akan mengalami perubahan atau akan kehilangan daya isi negatif pada sel permukaan. Dalam kondisi seperti ini beberapa protein dengan berat molekul sedang (contoh albumin dengan berat molekul 65 kDa) dapat masuk dalam urin primer. Pada beberapa kerusakan ginjal beberapa protein yang lebih besar seperti immunoglobulin dengan berat molekul 150 kDa juga dapat masuk dalam urin. (Chan, 2006)

Proteinuria merupakan manifestasi yang sering terjadi pada NL dan dilaporkan terjadi pada hampir 100% pasien, diikuti dengan adanya cast granular dan selular, hematuria dan penurunan fungsi ginjal. Proteinuria merupakan salah satu penanda keterlibatan ginjal pada LES sekaligus memonitor adanya respon terapi dan progresi penyakit. Proteinuria merupakan manifestasi utama pada semua subtype histologi NL, dan jika proteinuria > 3,5 g/hari sering dihubungkan dengan NL berat. (Chan, 2006)

Hasil penelitian tentang gambaran histopatologi menunjukkan NL derajat ringan (kelas I, II) sebanyak 6 orang (30%) sedangkan NL derajat berat (kelas III, IV, V) lebih banyak yaitu 14 orang (75%). Hasil ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Handono (2010) yang menunjukkan biopsi ginjal yang dilakukan pada 31 pasien LES, 58% diantaranya menunjukkan NL kelas III, IV dan V dengan prognosis yang buruk karena sering berakhir dengan gagal ginjal. (Handono, 2010) Penelitian yang dilakukan oleh Contreas (2005) juga menunjukkan dari 213 pasien yang dibiopsi ginjal 32% kelas IV, 30% kelas III, 18% kelas V dan hanya 5% kelas II. (Osio, 2010)

Dari data tersebut, bisa diambil kesimpulan bahwa hematuria mikroskopis lebih bermakna signifikan terhadap aktivitas NL dibanding dengan hematuria dipstick, sedangkan apabila dibandingkan terhadap kelas histopatologi, hematuria mikroskopis tidak bermakna signifikan bisa disebabkan karena metode pemeriksaan yang berbeda antara hematuria dipstick dan hematuria mikroskopis.

Pada metode pemeriksaan hematuria dipstick melalui reaksi menggunakan reagen *diisopropylbenzene dehydroperoxide tetramethylbenzidine*, yang bisa dipengaruhi oleh agen oksidatif, bakteri peroksidase, atau kontaminasi darah menstruasi. Sedangkan pemeriksaan hematuria mikroskopis dilakukan dengan

memeriksa sediaan basah urine dibawah mikroskop. Hal ini sangat tergantung operator analis yang memeriksa. Sering dijumpai hasil hematuria *dipstick* yang positif dengan hasil hematuria mikroskopis yang lebih sedikit atau negatif, bisa dikarenakan eritrosit yang telah lisis sehingga tidak terlihat pada saat pemeriksaan dibawah mikroskop. Selain itu, penyebab ketidaksesuaian hasil hematuria *dipstick* dan mikroskopis adalah pada pemeriksaan dengan *dipstick* dapat mengukur mioglobin disamping eritrosit itu sendiri, sehingga pada pemeriksaan *dipstick* bisa didapatkan hasil yang lebih banyak. (Sysmex, 2014)

6.2 Gambaran Hasil Kromatografi Protein Spesifik Urine Pasien NL

Pada pemeriksaan dengan kromatografi kolom pada penelitian ini menunjukkan bahwa protein spesifik urin pada pasien NL, puncak *peak* pertama yang muncul pada volume elusi 10 ml sampai 15 ml dengan konsentrasi ≥ 300 mAu.

Pada kelompok NL tidak aktif tidak mempunyai *peak* 8,9 dan 10 seperti nampak pada kelompok NL aktif. Hal ini membuktikan bahwa ada protein tambahan pada kelompok NL aktif yang tidak dimiliki oleh kelompok NL tidak aktif. Jumlah *peak* pada NL derajat berat (kelas III, IV, V) juga mempunyai *peak* tambahan yang tidak dimiliki oleh NL derajat ringan (kelas I, II). Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Rovin tahun 2008 bahwa adanya albuminuria-proteinuria lebih banyak ditemukan pada NL dengan klasifikasi WHO III, IV dan V dan dalam kondisi aktif. (Fauci, 2008)

Albumin dalam kondisi normal difiltrasi oleh glomerulus dalam jumlah sedikit tapi signifikan yaitu sekitar 1-2 mg/ menit (setara dengan 2 gram/ hari), tetapi 99% albumin yang tersaring ini mayoritas (99%) akan direabsorpsi dan

didegradasi oleh tubulus proksimal sehingga hanya menyisakan <math>< 5\mu\text{g}</math>/ menit (7mg/hari) untuk diekskresi. (Fauci, 200). Ada beberapa pendapat yang mengemukakan tentang albumin yang difiltrasi dengan jumlah yang lebih besar (>200mg/hari), tetapi tubulus proksimal akan mengambil kembali albumin terfiltrasi yang intak dan mengirimkan ke sirkulasi tubuh, kecuali albumin yang terdegradasi dan sedikit albumin yang masih intak. Pada kondisi patologis seperti pada gangguan pada ginjal terjadi peningkatan permeabilitas glomerulus terhadap sirkulasi albumin yang disebabkan karena gangguan pada fungsi sel endotelial, abnormalitas membran basalis dan kelainan pada podosit (sel epitel visceral). Kelainan inilah yang akan menyebabkan permeabilitas glomerulus terhadap albumin akan berlebihan. Selain itu albuminuria ini disebabkan karena berkurangnya fungsi tubulus proksimal untuk reabsorpsi albumin yang terfiltrasi. (Fauci, 2008) Pada beberapa sampel urin termasuk kontrol sehat dapat dijumpai adanya fragmen albumin, tetapi dalam jumlah yang sedikit dibandingkan dengan kelompok NL yang terjadi gangguan fungsi glomerulus dan tubulus proksimal. (Chan, 2006)

6.3 Gambaran Berat Molekul Protein Spesifik Urine Pasien NL

Pada penelitian ini, pasien NL didapatkan protein dengan variasi berat molekul yang mayoritas (84%) berukuran $\leq 66\text{kDa}$, bahkan sekitar 23,6% dari ditemukan protein dengan berat molekul 30-21 kDa. Hal ini terjadi karena munculnya beberapa protein dengan *low molecular weight* (LMW) pada pasien NL.

Hal ini sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Zhang pada tahun 2008 yang mengidentifikasi adanya protein spesifik urin dengan berat

molekul < 30 kDa pada sampel urin serial pasien NL dan protein spesifik ini digunakan sebagai biomarker prediktif pada NL aktif, (Zhang, 2008) dan penelitian oleh Suzuki tahun 2008 menemukan kandidat protein sebagai biomarker NL dengan berat molekul 2.7-133 kDa. (Suzuki, 2008)

6.4 Gambaran Berat Molekul Protein Spesifik Urine Pasien Nefritis Lupus Berdasar Kelas Histopatologi

Protein dengan berat molekul ≤ 66 kDa lebih banyak ditemukan pada NL kelas III, IV dan V (derajat berat) jika dibandingkan dengan NL kelas I dan II (derajat ringan). Protein dengan berat molekul 30-21 kDa hanya ditemukan pada NL kelas III, IV dan V.

Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Varghese pada tahun 2007 yang menjelaskan bahwa pada beberapa penyakit ginjal dan kelas NL yang berbeda-beda akan terdapat perubahan patologik ukuran membran basalis glomerulus dan selektivitas muatan listrik yang spesifik pada penyakit dan kelas histopatologi tertentu. Hal ini akan menyebabkan adanya pola protein spesifik yang akan diekskresi ke dalam urin pada penyakit ginjal dan kelas histopatologi tertentu. (Zhang, 2008)

Pada penelitian oleh Varghese juga berhasil mengidentifikasi 11 protein urin yang berhubungan dengan kelainan glomerulosklerosis segmental, fokal, NL kelas III, IV dan V, serta nefritis membranous dan nefropati diabetik. Selain itu mereka mampu membedakan NL dari glomerulosklerosis fokal segmental, nefropati membranosa dan nefropati diabetik dengan 11 protein *signature*. Yang termasuk protein tersebut adalah plasma glicoprotein seperti α -1 acid glycoprotein (AGP), α 1-microglobulin, zinc α 2-glycoprotein, selain itu didapatkan

AGP, transferrin, α -1 antitrypsin, complement factor B, haptoglobin, transthyretin, plasma retinol binding protein, albumin dan hemopexin. (Varghese, 2006)

Suzuki dkk pada tahun 2008 melakukan penelitian tentang pola proteomik urin pada NL anak-anak yang terdiri dari delapan biomarker protein. Sebanyak 32 pasien SLE diikuti dalam penelitian dan 11 pasien *juvenile idiopathic arthritis* (JIA) yang diikuti sebagai kontrol. Pada penelitian dengan menggunakan metode massa spektrofotometri ini menemukan puncak massa spektrometri pada kDa 2, 22, 23, 44, 56, 79, 100, dan 133 pada pasien NL kelas III, IV dan V. Namun demikian tidak ada perbedaan yang signifikan antara pola proteomik urin pada pasien LES tanpa nefritis. Perbedaan yang signifikan didapatkan pada pola proteomik NL pada kelas III dan IV dibandingkan dengan kelas V. Pada penelitian ini dapat mengidentifikasi protein tersebut yaitu transferin, seruloplasmin, α -1-acid-glikoprotein (AGP), albumin, dan fragmen albumin. (Suzuki, 2008)

Perbedaan hasil berat molekul penelitian Suzuki dengan penelitian ini, kemungkinan dikarenakan metode yang berbeda, penelitian Suzuki menggunakan metode mass spektrofotometri yang mempunyai akurasi lebih baik dibanding kolom kromatografi, selain itu marker yang digunakan pada penelitian ini menggunakan kolom kromatografi superdex 75 10/300 GI yang bisa mendeteksi jenis protein sampai dengan berat molekul 100 kDa dan marker protein yang digunakan untuk SDS-PAGE juga menggunakan marker dengan berat molekul maksimal 100kDa sehingga protein dengan berat molekul diatas 100kDa tidak akan bisa terdeteksi.

Hasil penelitian Zhang et al (2008) dengan sampel pasien NL aktif kelas histopatologi III, IV dan V, menunjukkan adanya hepcidin 20 dan 25, α -1

antitrypsin dan fragmen albumin (N-terminal region). Hecpidin 20 dan fragmen albumin ditemukan meningkat 4 bulan sebelum NL aktif, hepcidin 25 menurun saat NL aktif dan kembali ke baseline 4 bulan setelah NL aktif, sehingga hepcidin 20 bisa dimungkinkan dipakai sebagai prediksi NL aktif dan hepcidin 25 digunakan sebagai monitoring respon terapi. (Mok, 2010)

6.5 Gambaran Berat Molekul Protein Spesifik Urine Berdasar Aktivitas Nefritis Lupus

Pada penelitian ini protein dengan berat molekul 30-21 kDa lebih banyak didapatkan pada NL aktif dibandingkan pasien NL tidak aktif.

Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Suzuki, et al (2009) tentang biomarker protein spesifik urine diantaranya transferin 79 kDa, lipocalin-type prostaglandin D-synthetase (L-PDGS) 23 kDa, α 1-acid-glycoprotein (AGP) 56 kDa, ceruloplasmin (CP) 133 kDa untuk melihat aktivitas NL dengan metode immunonephelometri dan ELISA, didapatkan signifikansi yang tinggi terhadap pasien NL tidak aktif dan aktif, dengan kurva ROC menunjukkan penampilan yang lebih baik dibanding marker renal tradisional sebelumnya seperti level komplemen, klirens kreatinin dan rasio protein/kreatinin urin. (Mok, 2010)

Penelitian Mosley et al (2006) menemukan protein spesifik pada urine dengan berat molekul 33.4 kDa dan 39.8 kDa ditemukan pada SLE aktif daripada SLE tidak aktif. (Mok, 2010). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Zhang et al (2008) menemukan protein spesifik hepcidin dengan berat molekul 20 kadarnya meningkat secara signifikan pada 4 bulan sebelum terjadi *flare* dan hepcidin berat molekul 25 kDa yang menunjukkan pola ekspresi terbalik, dengan konsentrasi menurun selama NL flare dan kembali ke *baseline* 4 bulan setelah

kejadian *flare*. (Zhang, 2008) Dari beberapa penelitian diatas, dapat diketahui bahwa kerusakan pada ginjal akan meningkatkan ukuran membran basalis glomerulus dan mempunyai selektifitas terhadap protein dengan berat molekul tertentu. (Rovin, 2007). Wu et al (2010) juga melakukan penelitian terhadap hewan coba yang dikondisikan pada NL, kemudian mengisolasi 4 protein yaitu PDGS, renin atau protease total, serum amyloid-P (SAP) dan superoxide dismutase (SOD), dimana ke empat protein tersebut ditemukan berkorelasi kuat terhadap skor glomerulonefritis dan index aktivitas patologi. (Jing Wu, 2010)

Penelitian ini mempunyai kelemahan terkait dengan jumlah sampel yang kurang besar. Hal ini disebabkan karena pasien NL cenderung mengalami ketakutan apabila akan dilakukan biopsi ginjal. Penelitian ini belum sampai pada tahap identifikasi protein, sehingga perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk dapat mengidentifikasi jenis protein yang ditemukan. Identifikasi protein bisa dilakukan dengan menggunakan software MALDI-TOF atau bisa dilakukan dengan mass spectrofotometry.

BAB VII

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Penelitian yang dilakukan untuk mengetahui gambaran protein spesifik urine pada pasien Nefritis Lupus berdasarkan aktivitas dan kelas histopatologi, maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Terdapat perbedaan berat molekul protein spesifik urine pada pasien NL terhadap kelas histopatologi derajat ringan (kelas I, II) dan derajat berat (kelas III, IV, V).

Gambaran protein spesifik urine pada NL derajat berat (kelas III, IV, V) memiliki berat molekul protein ≤ 66 kDa dan lebih banyak didapatkan protein dengan berat molekul rendah 30-21 kDa dibandingkan dengan NL derajat ringan (kelas I, II).

2. Terdapat perbedaan gambaran pola protein spesifik urine pada pasien NL terhadap aktivitas NL tidak aktif dan NL aktif.

Gambaran protein spesifik urine pada NL aktif mempunyai berat molekul ≤ 66 kDa dan ditemukan protein dengan berat molekul rendah 30-21 kDa sedangkan pada NL tidak aktif berat molekul protein > 66 kDa dan tidak ada protein dengan berat molekul rendah.

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa pada NL kelas III, IV dan V serta NL aktif mempunyai protein spesifik urine dengan berat molekul ≤ 66 kDa dan didapatkan protein berat molekul rendah 30-21 kDa.

7.2 Saran

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat diberikan beberapa saran diantaranya:

1. Penelitian lebih lanjut masih diperlukan untuk dapat mengidentifikasi protein dengan ukuran 30-21 kDa sebagai penanda kelas histopatologi dan aktivitas pada NL.
2. Penelitian lebih lanjut sebaiknya menggunakan jumlah sampel yang lebih banyak supaya didapatkan pola protein spesifik yang lebih banyak.
3. Pengembangan penelitian lebih lanjut untuk mendapatkan biomarker NL dari protein spesifik urine.



DAFTAR PUSTAKA

Adis International Limited. Treat lupus according to disease presentation. Drug Ther Perspect 14(8):6-9, 1999.

Ameur R, Laurence M, Capucine B, Chamsedine K, Faycal J, Hammadi A, Franck M, dan Claude G. Proteomic approach for discovering biomarkers of DM Nephropathy. Nephrol Dial Transplant.2010; 1: 1-10

Ardoin SP, Pisetsky DS. Development in the scientific understanding of lupus. Arthritis Research & Therapy 2008, 10:218

Austin HA III, Muenz LR, Joyce KM, et al. Diffuse proliferative lupus nephritis: identification of specific pathologic features affecting renal outcome. Kidney Int 2004; 25: 689-95

Bartels CM, Muller D. The Systemic Lupus Erythematosus (Rheumatology). Arthritis Rheum 1998; 239: 1856-9

Belmont MH. Lupus Clinical Overview. In: James K, Blaire M, eds. Nephritis Lupus. 5th ed. New York, PA: McShane; 2006: 123-58.

Bernatsky, S, Fournier, M, Pineau, CA, Clarke, AE, Vinet, E & Smargiassi, A 2010, 'Associations between Ambient Fine Particulate Levels and Disease Activity in Patients with Systemic Lupus Erythematosus(SLE)', *Environmental health perspectives*, vol. 119, no. 1, pp. 45-9.

Brent LH, Hamed FA. Lupus Nephritis. Bulletin of the NYU Hospital for Joint Diseases 2008;62(5):123-45

Brent LH, Hamed FA. Lupus Nephritis. In: James K, Blom, eds. Lupus Erythematosus. 12th ed. Washington, PA: Lippincott Williams and Wilkins; 2008: 849-67.

Brunner HI, Gladman DD, Ibañez D, Urowitz MD, Silverman ED. Difference in disease features between childhood-onset and adult-onset systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum. Feb 2008;58(2):556-62.

Chan R, Lai F, Li M. Imbalance of Th1/Th2 transcription factor in patients with lupus nephritis. *Journal of Rheumatology*. 2006 ; 45:951-957

D'Agati, VD & Appel, GB. 'Lupus Nephritis: Pathology and Pathogenesis', in DJH Wallace, Bevra Hannahs (ed.), *Dubois' Lupus Erythematosus*, 7th edn, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia. 2007. p. 1096

Dooley MA. Clinical and laboratory features of lupus nephritis. In: Wallace DJ, Hahn BH, eds. *Dubois' Lupus Erythematosus*. 7th ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins; 2007:1112-30.

Dooley MA. Clinical and laboratory features of lupus nephritis. In: Wallace DJ, Hahn BH, eds. *Dubois' Lupus Erythematosus*. 7th ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins; 2007:1112-30.

Fauci, A.S., Kasper, D.L., Longo, D.L., Braunwald, E. Hauser, S.L., Jameson, J.L., Loscalzo, J. 2008. *Systemic Lupus Erythematosus. Harrison's Principle of Internal Medicine 17th Edition*. United States: McGraw Hill's Companies Inc.

Gilboe IM, Husby G. Application of the 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus on a cohort of 346 Norwegian patients with connective tissue disease. *Scand J Rheumatol* 1999;28:81-7.

Gill JM et al. Diagnosis of systemic lupus erythematosus. *Am Fam Physician*. (Journal).2003;68:2179-86.

Gloor JM. Lupus nephritis in children. *Lupus*. 1998;7(9):639-43.

Hahn et al. American College of Rheumatology Guideline for Screening, Case definition, Treatment and Management of Lupus Nephritis. *Journal of NCBI*. HHS Public Access. 2012.

Handono K. Peran Polimorfisme gen IFN- γ pada fenotip histologi nefritis lupus. *Indonesian Journal of Clinical Pathology and Medical Laboratory*.2010;17:38-43.

Jing Wu, Yi-ding Chen, and Wei Gu. 2010. Urinary proteomics as a novel tool for biomarker discovery in kidney diseases. *J. Zhejiang Univ Sci B*, 11(4) 227-237.

Mok C, Lau S. Pathogenesis of Systemic Lupus Erythematosus. *J Clin Pathol.* 2003; 56:481-90.

Mok Chi Chiu. Biomarker for Lupus Nephritis : A Critical Appraisal. Departement of Medicine & Geriatric, Tuen Mun Hospital and Center for Assessment and Treatment of Rheumatic Disease, Pok Oi Hospital, Hongkong. 2010.

Osio-Salido E, Manapat-Reyes H. Epidemiology of Systemic Lupus Erythematosus in Asia. *Lupus.* 2010;19:1365-73.

Petri M, Orbai AM, Alarcón GS, et al. Derivation and validation of the Systemic Lupus International Collaborating Clinics classification criteria for systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2012 Aug. 64(8):2677-86.

PI Sidiropoulos et al. Lupus nephritis flares. *Lupus* 2005;14: 49-52
25. Ramachandran TS, Grisolia JS. Systemic Lupus Erythematosus (Neurology). *Kidney Int* 2006; 70 : 1232-48.

Rahman A, Isenberg DA. Systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med.* 2008;358(9):929-39.

Rovin, BH, Birmingham, DJ, Nagaraja, HN, Yu, CY & Hebert, LA, 'Biomarker discovery in human SLE nephritis', *Bulletin of the NYU hospital for joint diseases*, vol. 65, no. 3, 2007. pp. 187-93.

Rus V, Maury EE, Hochberg MC. Epidemiology of Systemic Lupus Erythematosus. In: Wallace DJ, Hahn BH, eds. *Dubois' Lupus Erythematosus*. 7th ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins; 2007:34-44.

Schur PH. General symptomatology and diagnosis of systemic lupus erythematosus in adults. (Letter). 2005;60: 125.

Simón JA, Cabiedes J, Ortiz E, Alcocer-Varela J, Sánchez-Guerrero J. Anti-nucleosome antibodies in patients with systemic lupus erythematosus of recent onset. Potential utility as a diagnostic tool and disease activity marker. *Rheumatology (Oxford)*. 2004;43(2):220-4

Sudoyo AW et al. Nephritis lupus. In : *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid 3*. Edisi IV. Jakarta : Pusat Penerbitan Ilmu Penyakit Dalam UI, 2007.

Suzuki, M, Wiers, KM, Klein-Gitelman, MS, Haines, KA, Olson, J, Onel, KB, O'Neil, K, Passo, MH, Singer, NG & Tucker, L 2008, 'Neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a biomarker of disease activity in pediatric lupus nephritis', *Pediatric Nephrology*, vol. 23, no. 3, pp. 403-12.

Sysmex. Flowcytometry Urinalysis Manual Kit. 2014.

The 8th International Congress on SLE; May 23-27, 2007; Shanghai, China. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus [Letter]. *Arthritis Rheum* 1997;40:1725.

Tumlin JA. Lupus Nephritis : Histology, diagnosis and treatment. *Bulletin of the NYU Hospital for Joint Diseases* 2008;66(3):188-94.

Varghese SA., Powell TB., Budisavljevic MN., Oates JC., Raymond JR., Almeida JS., Arthur JM. 2006. Urine Biomarkers Predict the Cause of Glomerular Disease. *J Am Soc Nephrol*. 18: 913–922.

Waldman M, Appel GB. Update on the treatment of lupus nephritis. *Kidney Int* 2006; 70 : 1403-12.

Walls D, Loghran S. Protein chromatography : Methods and protocols, methods in molecular biology. *Chromatography*. 2011;681.

Wang Y, Ito S, Chino Y, et al. Laser microdissection-based analysis of cytokine balance in the kidneys of patients with lupus nephritis. *Clin Exp Immunol* 2009; 159: 1–10.

Weening JJ, D'Agati VD, Schwartz MM, Seshan SV, Alpers CE, Appel GB. The classification of glomerulonephritis in systemic lupus erythematosus revisited. *J Am Soc Nephrol*. 2004;15(2):241-50.

West, SG, Achenbach, GA & Edelstein, CL, 'Renal Involvement in Systemic Lupus Erythematosus', in Schrier & R W (eds), *Diseases of the Kidney & Urinary Tract*, 8th edn, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2007, p. 1674.

Yung S, Chan TM. Anti-DNA antibodies in the pathogenesis of lupus nephritis—the emerging mechanisms. *Autoimmun Rev.* Feb 2008;7(4):317-21.

Zhang X., Ming J., Haifeng W., Tibor N., Gyongyi N., Nathan H., Green-Church K., Hakady N., Daniel J. B., Chack-Yung Y., Lee A. H. 2008. Biomarkers of lupus nephritid determined by serial urine proteomics. *Kidney International*, 74; 799-807.



LAMPIRAN 1
KELAIKAN ETIK



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
THE MINISTRY OF EDUCATION AND CULTURE
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FACULTY OF MEDICINE UNIVERSITY OF BRAWIJAYA
KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN
HEALTH RESEARCH ETHICS COMMITTEE
Jalan Veteran Malang – 65145
Telp./ Fax. (62) 341 - 553930

KETERANGAN KELAIKAN ETIK
("ETHICAL CLEARANCE")

No. 433 / EC / KEPK / 08 / 2015

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

- JUDUL** : Identifikasi Protein Urine Untuk Menilai Kelas Histopatologi dan Indeks Kronisitas Penyakit Nefritis Lupus.
- PENELITI UTAMA** : dr. Atma Gunawan, Sp.PD-KGH
- ANGGOTA** : dr. Dany Farida
dr. Fitriyah Mayorita
dr. Hesti Purwanti
- UNIT / LEMBAGA** : Fakultas Kedokteran – Universitas Brawijaya Malang.
- TEMPAT PENELITIAN** : Laboratorium Sentral Ilmu Hayati Universitas Brawijaya dan RSU dr. Saiful Anwar Malang.

DINYATAKAN LAIK ETIK.

Malang, 11 AUG 2015



Komisaris Etik Penelitian Kesehatan

Prof. Dr.dr. Moch. Istiadjid ES, SpS, SpBS, M.Hum
NIP. 19480516 197111 1 001

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



LAMPIRAN 2

STATUS PENDERITA LUPUS ERITEMATOSUS SISTEMIK
RS Dr SAIFUL ANWAR MALANG

No.Pasien :
 No.Register : MRS tanggal :
 Nama pasien : KRS tanggal :
 Tanggal lahir : Sex : L / P
 Alamat :
 Telp
 Status : TK/Kwn/Jnd Suku :
 Pekerjaan : Jumlah anak :
 Pendidikan : - / SD / SMP / SMA / PT
 Penghasilan Keluarga : / Bulan

1. ANAMNESA, tanggal

Riwayat Penyakit

1. a. Sejak kapan didiagnosa SLE :
- b. Sejak Kapan Gejala2 SLE Muncul :
- c. Sejak Umur berapa Gejala2 SLE Muncul :
2. Gejala pertama :
3. Sering kambuh : ya / tidak kali dalam setahun
4. Obat yang diberikan : NSAID/Corticosteroid Lamanya Dosis
5. Riwayat merokok : ya / tidak batang/hari, lama :
6. Penurunan Berat Badan : ya / tidak, kg hari/bulan
7. Riwayat : a) Obgin (Abortus/ Lahir mati/ Anak Cacat) b) Ginjal (Bengkak/ SN)

Anamnesa Umum saat diperiksa

1. Keadaan Umum :

- Panas : ya / tidak, mulai.....
- Kelelahan : ya / tidak, mulai.....

2. Rash baru : ya / tidak, mulai.....

3. Rambut rontok : ya / tidak, mulai.....

4. Mata

- Merah : ya / tidak, mulai.....
- Sakit : ya / tidak, mulai.....
- Penglihatan berkurang : ya / tidak, mulai.....

5. Mulut/tenggorokan luka : ya / tidak, mulai.....

6. Saluran nafas

- Batuk : ya / tidak, mulai.....
- Sesak Nafas/ Mudah Capek : ya / tidak, mulai.....
- Nyeri : ya / tidak, mulai.....
- Nafas sakit : ya / tidak, mulai.....

7. Jantung

- Berdebar : ya / tidak, mulai.....
- Nyeri dada : ya / tidak, mulai.....
- Orthopnea : ya / tidak, mulai.....
- Paroxysmal nocturnal dyspneu : ya / tidak, mulai.....
- Lain-lain : ya / tidak, mulai.....

8. Otot tulang sendi

- Nyeri otot/Kelemahan Otot : ya / tidak, mulai.....
- Nyeri sendi : ya / tidak, mulai.....
- Bengkak : ya / tidak, mulai.....
- Gangren : Ya / Tidak

9. Saraf

- Sakit kepala : ya / tidak, mulai.....
- Kejang : ya / tidak, mulai.....

10. Riwayat keluarga : ya / tidak, Siapa

PEMERIKSAAN FISIK, tanggal :

Keadaan umum : tampak sakit ringan / sedang / berat

Kesadaran : compos mentis / delirium / apatis / somnolen / coma

TB :cm, BB :kg, IMT :kg/m² Status Gz :

Tekanan darah :/.....mmHg, Suhu :°C Respirasi :x/mnt

1. Kulit

- Rash baru : ya / tidak

2. Kepala

- Alopesia : ya / tidak

3. Mulut

- Ulkus : ya / tidak

4. Mata

- .Konjungtivitis : ya / tidak
- Keratokonjungtivitis : ya / tidak
- Retinopathy : ya / tidak
- Eksudat choroid : ya / tidak
- Lain-lain : ya / tidak

5.Thorax

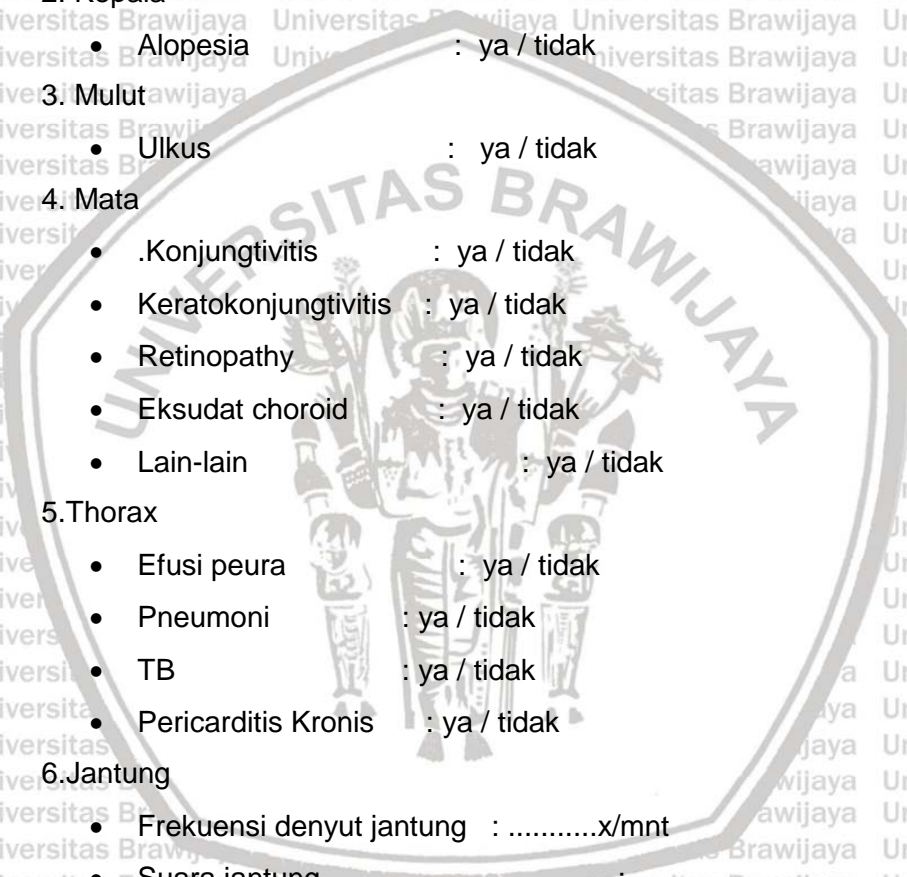
- Efusi peura : ya / tidak
- Pneumoni : ya / tidak
- TB : ya / tidak
- Pericarditis Kronis : ya / tidak

6.Jantung

- Frekuensi denyut jantung :x/mnt
- Suara jantung :
- Bising :
- Gesekan pericard :
- Cardiomegali :

7. Ekstremitas

- Pembengkakan/Radang sendi : ya / tidak
- Nyeri sendi : ya / tidak
- Edema : Ya / Tidak



8. Saraf

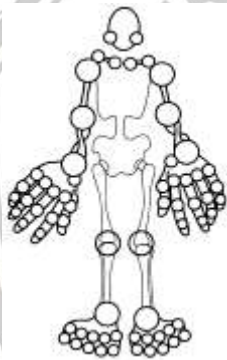
- Neuropathy : ya / tidak
- Parese / paralisis : ya / tidak

9. Status Mental

- Daya ingat :
- Proses berfikir :
- Anxietas :
- Insomnia :
- Psikosis :
- Depresi :

10. Apakah ada nyeri sendi? (minimal 2 sendi) Ya / Tidak

Jika ya, jelaskan daerah persendian mana yang terkena



Tandai daerah sendi yang terkena



Untuk sendi yang bengkak/ efusi



Untuk sendi yang nyeri

LABORATORIUM, tanggal :

Darah lengkap

Hb :mg/dl

Lekosit :/ul

LED :/jam 1

Trombosit :/ul

Retikulosit :%

Hitung jenis Eo / Bas / St / Seg / Ly / Mo =

Urine Lengkap

Albumin :

Glukosa :

Urobilin :

Bilirubin :

Bleeding Time :

Clotting Time :

Sedimen Hialin :/lpb Granular :/lpb

Lekosit : Eritrosit :/lpb

Kristal : Epitel :

Eritrosit : Bakteri :

Protein :

Kimia Darah

Gula darah Sewaktu :mg/dl

Gula darah 2 jam PP :mg/dl

Ureum :mg/dl

Creatinin :mg/dl

HDL : LDL :

Trigliserida : Kolesterol Total:

SGOT/SGPT :/.....mU/ml

Protein Total :g/dl

Albumin :g/dl

Globulin :g/dl

Serologi

ANA tes : positif / negative Complement CH50 :

CRP : ACA :

Coomb's Test : positif / negative Anti ds-DNA :

Radiologi, tanggal :

Thoraks :

EKG, tanggal :

Hasil :

Biopsi Ginjal, tanggal :

Hasil :



LAMPIRAN 3

Sub Bagian Rheumatologi SMF/Lab. Ilmu Penyakit Dalam

RS.Dr.Saiful Anwar Malang

MEX SLEDAI 2K

Nama : _____

Nomor : _____

Tanggal : _____

Skor	Deskripsi	Definisi
8	Kejang	Onset terbaru, selain penyebab metabolik, infeksi, atau obat-obatan.
8	Psikosis	Perubahan kemampuan karena gangguan akut pada persepsi realitas. Termasuk halusinasi, inkoherens, asosiasi longgar yang jelas, pikiran yang miskin isi, pikiran tidak logis yang jelas, perilaku aneh, tidak terorganisir, atau katatonik. Tidak termasuk penyebab uremia dan obat-obatan
8	Sindrom otak organic	Perubahan fungsi mental dengan gangguan orientasi, memori, onset dini, gambaran klinis berfluktuasi, ketidakmampuan untuk mempertahankan perhatian ke lingkungan, ditambah paling sedikit 2 dari: gangguan persepsi, perkataan inkoheren, insomnia, atau mengantuk di siang hari, atau peningkatan / penurunan aktivitas psikomotor. Tidak termasuk penyebab metabolik, infeksi, atau obat-obatan.
8	Gangguan penglihatan	Perubahan retina. Termasuk badan sitoid (<i>cytoid bodies</i>), perdarahan retina, eksudat serosa atau perdarahan dalam koroid atau neuritis optik. Tidak termasuk penyebab hipertensi, infeksi, atau obat-obatan.
8	Gangguan saraf pusat	Onset baru dari neuropati sensorik atau motorik termasuk sistem saraf otak.
8	Sakit kepala	Sakit kepala berat, terus-menerus; dapat bersifat migren, harus tidak berespon pada analgesia narkotik.
8	Serebrovaskuler	Serangan serebrovaskuler dengan onset baru. Tidak termasuk arteriosklerosis.
8	Vaskulitis	Ulserasi, gangren, nodul jari yang lunak, infark periungual, perdarahan serpihan (<i>splinter</i>), atau bukti biopsi / angiogram terdapat vaskulitis.

4	Artritis	≥2 sendi dengan nyeri dan tanda inflamasi (misal, perlungkan, pembengkakan, atau efusi)
4	Miositis	Nyeri / kelemahan otot proksimal, berhubungan dengan peningkatan kreatinin fosfokinas/aldolase/perubahan elektromiogram/biopsi menunjukkan miositis.
4	Silinder urine	Silinder granuler-heme atau silinder eritrosit.
4	Hematuri	Sel darah merah >5/LPB. Tidak termasuk penyebab batu, infeksi
4	Proteinuri	>0,5 gram/24 jam.
4	Lekosituria	>5 leukosit/LPB. Tidak termasuk infeksi.
2	Ruam kulit	Ruam tipe inflamasi.
2	Alopesia	Kerontokan rambut yang abnormal, setengah-setengah (<i>patchy</i>) atau menyebar (<i>diffuse</i>).
2	Ulkus mukosa	Ulserasi oral atau nasal.
2	Radang pleura	Nyeri dada pleuritik dengan <i>pleural rub</i> /efusi pleura/penebalan pleura.
2	Perikarditis	Nyeri perkardial dengan paling sedikit 1 dari: gosokan (<i>rub</i>), efusi atau konfirmasi elektrokardiogram atau <i>echocardiogram</i> .
2	Kadar komplemen	Penurunan protein komplemen C3 dan C4 atau total aktivitas komplemen (CH50), di bawah batas terendah nilai normal untuk tes laboratorium.
2	Peningkatan ikatan DNA	Peningkatan ikatan DNA dengan pemeriksaan Farr di atas kisaran normal untuk tes laboratorium.
1	Demam	>38°C. Tidak termasuk penyebab infeksi.
1	Trombosit	Trombosit <100.000/ x10 ⁹ /L, tidak termasuk penyebab obat-obatan.
1	Leukopeni	Leukosit <3.000/ x10 ⁹ /L, tidak termasuk penyebab obat-obatan.

LAMPIRAN 4

INFORMASI BIOPSI GINJAL

Pendahuluan

Lembaran ini berisikan informasi mengenai prosedur yang disebut dengan **Biopsi Ginjal**, menerangkan apa saja yang terjadi dan kemungkinan resiko yang dapat terjadi. Ini tidak dimaksudkan untuk menggantikan diskusi antara anda dan dokter yang merawat anda, tetapi lebih dimaksudkan sebagai bahan awal untuk diskusi lebih lanjut dengan dokter anda. Ini dimaksudkan agar anda dapat mempunyai informasi yang cukup dan menyeluruh sebelum anda menandatangani persetujuan tindakan medis.

Apakah Biopsi Ginjal?

Meskipun kebanyakan masalah penyakit ginjal dapat didiagnosa berdasarkan gejala, pemeriksaan fisik, pemeriksaan darah dan radiologis, namun ada beberapa kelompok penyakit ginjal yang harus dilakukan pemeriksaan langsung dengan memeriksakan bagian kecil dari jaringan ginjal untuk dapat menentukan diagnosis yang tepat, yang pada gilirannya berhubungan dengan rencana pengobatan. Yang termasuk kedalam kelompok ini salah satunya adalah penyakit lupus eritematosus sistemik. Prosedur untuk mengambil contoh jaringan tersebut dinamakan Biopsi Ginjal. Kebanyakan penyakit ginjal mengenai kedua ginjal dengan derajat yang sama sehingga contoh yang diambil dari salah satu ginjal sudah dapat mewakili masalah pada ginjal anda.

Apakah Peranan Ginjal ?

Ginjal merupakan organ yang mempunyai peranan untuk melakukan penyaringan dan pemurnian darah, mengatur keseimbangan/pengeluaran cairan, garam dan produk-produk sisa/buangan lainnya. Fungsi lainnya dari ginjal adalah menghasilkan 3 produk penting yaitu

- Vitamin D aktif, yang dibutuhkan untuk absorpsi kalsium
- Renin, yang mengendalikan tekanan darah, dan

- Eritropoietin, yang merangsang sumsum tulang untuk menghasilkan sel darah merah.

Dimanakah Letak Ginjal ?

Ginjal terletak dibagian pinggang pada sebelah kanan dan kiri dari tulang belakang. Berukuran panjang 9-11 cm dengan lebar sekitar 4 cm dan mempunyai bentuk seperti kacang tanah

Siapa yang melakukan biopsi ginjal ?

Biopsi ginjal akan dilakukan oleh seorang ahli penyakit dalam konsultan dibidang ginjal hipertensi dengan bantuan ahli radiologi konsultan

Dimana biopsi ginjal akan dilakukan ?

Biopsi ginjal akan dilakukan di ruang USG Radiologi RS.Dr. Saiful Anwar Malang.

Apa yang harus saya persiapkan ?

Anda akan dirawat inapkan selama satu hari untuk dilakukan pemeriksaan darah untuk memastikan tidak didapatkannya resiko untuk terjadinya perdarahan dan juga untuk melakukan pemeriksaan urine dan pengambilan serum darah.

Pemeriksaan darah dapat juga dilakukan secara poliklinis (rawat jalan). Anda harus menginformasikan pada dokter anda apabila anda minum obat-obatan yang dapat mencegah pembekuan darah seperti warfarin, aspirin, dipyridamol atau clopidogrel. Anda sebaiknya tidak makan empat jam sebelum dilakukannya biopsi namun boleh minum.

Apa yang terjadi selama dilakukannya biopsi ?

Oleh karena ginjal terletak dibagian belakang maka biopsi dilakukan dengan anda dalam posisi terlungkup. Kemudian dilakukan pemeriksaan ultrasonografi (USG) untuk menentukan secara tepat tempat dilakukannya insersi jarum biopsi.

Kemudian kulit akan dibersihkan dengan cairan antiseptik dan kemudian ditutupi dengan kain steril. Kulit dan jaringan sekitarnya kemudian akan disuntik dengan cairan anastesi (untuk "mati rasa"). Oleh karena ginjal bergerak sewaktu anda bernafas, maka nanti akan diminta untuk menahan napas sewaktu jarum biopsi

dimasukkan. Anda akan mendengar bunyi "klik" ketika jarum biopsi di aktifkan. Untuk memastikan bahwa ada cukup jaringan yang dapat dievaluasi maka akan dilakukan 2 kali pengambilan.

Apakah Nyeri ?

Beberapa orang menyatakan berada dalam posisi terlungkup selama periode waktu tertentu adalah tidak nyaman, namun ini biasanya tidak menimbulkan masalah oleh karena waktu yang dibutuhkan untuk biopsi ginjal tidaklah lama. Nyeri biasanya dirasakan sewaktu dilakukan suntikan "mati rasa", namun setelahnya biasanya tidak terasa nyeri. Anda mungkin merasakan sewaktu jarum biopsi dimasukkan tetapi tidak merasakan nyeri.

Berapa Lama ?

Tidak ada patokan waktu yang tepat, karena tingkat kesulitan pada masing-masing individu adalah berbeda. Persiapan dan tindakan itu sendiri biasanya dapat diselesaikan dalam waktu kurang dari 30 menit.

Apa yang terjadi setelah biopsi ?

Setelah biopsi selesai dilakukan anda diminta untuk berada dalam posisi terlentang selama 4 jam berikutnya. Jika tidak ada keluhan maka anda diperbolehkan untuk pulang

Apakah ada resiko atau komplikasi ?

Sebagaimana tindakan medis lainnya, biopsi ginjal juga mempunyai resiko atau komplikasi. Adapun resikonya antara lain :

1. Perdarahan.

Perdarahan merupakan komplikasi yang paling sering terjadi pada tindakan biopsi ginjal. Perdarahan kebanyakan tidak dapat dilihat dengan mata telanjang. Kebanyakan pasien didapatkan perdarahan pada urine. Ini bisa dideteksi dengan menggunakan dipstick ataupun pemeriksaan laboratorium.

Perdarahan ini biasanya akan berhenti dengan sendirinya. Sekitar 2 % (2 dari 100 pasien yang dibiopsi) mengalami perdarahan yang harus membutuhkan

pengobatan (tidak berhenti dengan sendirinya). Jarang sekali dibutuhkan transfusi untuk menggantikan perdarahan yang terjadi (sekitar 0.1% atau 1 dari 1000 pasien yang dilakukan biopsi)

2. Nyeri

Nyeri kebanyakan didapatkan pada pasien yang dilakukan biopsi. Biasanya berupa rasa "kemeng" pada tempat bekas dilakukannya biopsi. Nyeri biasanya dapat diatasi dengan pemberian obat-obat penghilang nyeri seperti Parasetamol.

3. Infeksi

Biopsi dilakukan dalam kondisi yang steril sehingga kemungkinan untuk terjadinya infeksi kecil adanya

Kesimpulan

Beberapa pertanyaan yang sering diajukan telah coba dijelaskan dalam lembaran ini, namun ingatlah bahwa lembaran ini merupakan tahapan awal untuk melakukan diskusi dengan dokter anda. Pastikan bahwa anda puas dan telah mendapatkan informasi yang cukup tentang prosedur yang akan dilakukan sebelum anda melakukan penandatanganan persetujuan tindakan medis.

LAMPIRAN 5**INFORMASI PASIEN**

Judul Penelitian : PROFIL PROTEIN SPESIFIK URINE DIHUBUNGKAN DENGAN KELAS HISTOPATOLOGI DAN AKTIVITAS PENYAKIT NEFRITIS LUPUS

Peneliti : dr. Dany Farida

**Pembimbing : Dr. dr. Hani Susianti, SpPK (K)
dr. I. Putu Adi S, Sp.PK**

Sebelum anda menyetujui untuk ikut serta dalam penelitian ini, diharapkan untuk membaca dan memahami semua informasi yang tertulis dibawah ini. Ibu/bapak diundang untuk ikut menjadi partisipan dalam penelitian yang bertujuan untuk mengetahui **PROFIL PROTEIN SPESIFIK URINE DIHUBUNGKAN DENGAN KELAS HISTOPATOLOGI DAN AKTIVITAS PENYAKIT NEFRITIS LUPUS**. Ibu / Bapak akan diwawancara, mengisi formulir penelitian, dilakukan pemeriksaan fisik, diambil contoh darah dan air seninya untuk pemeriksaan laboratorium dan dilakukan pemeriksaan biopsi ginjal untuk dilakukan pemeriksaan histopatologi. Manfaat penelitian ini untuk ibu adalah agar ibu/bapak mengetahui ada/tidak gangguan ginjal pada ibu, jika ada bagaimana tingkatan keparahannya yang semuanya mempengaruhi pengobatan yang akan diberikan. Hasil penelitian akan memberikan masukan dalam pengelolaan pasien-pasien LES dengan komplikasi ginjal serta dapat menentukan prognosanya. Jika ibu/bapak mengambil keputusan untuk ikut serta dalam penelitian ini, maka ibu/bapak akan menandatangani surat persetujuan yang menyatakan telah mendapatkan penjelasan dan secara sukarela bersedia untuk ikut dalam penelitian.

LAMPIRAN 6

LEMBAR PERSETUJUAN PASIEN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini, telah membaca, mengetahui dan memahami tujuan serta manfaat penelitian ini, dan saya setuju untuk dilakukan wawancara, pemeriksaan fisik, pengambilan darah, air seni dan pemeriksaan biopsi ginjal

Nama Pasien:

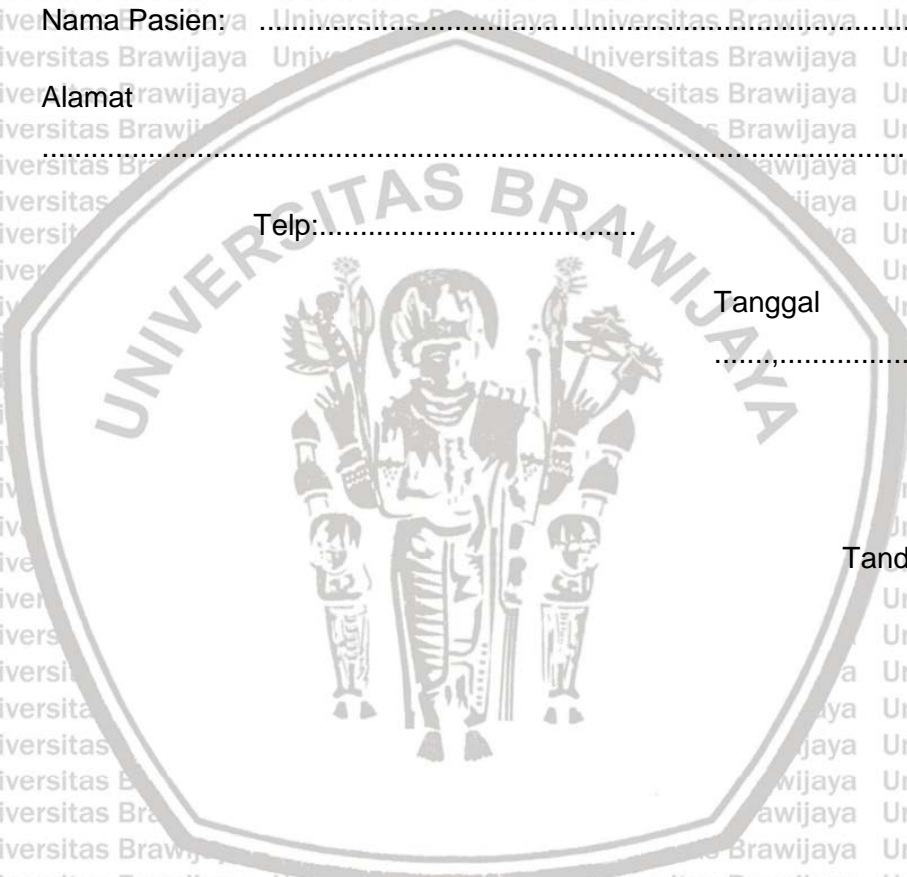
Alamat

Telp:

Tanggal

20..

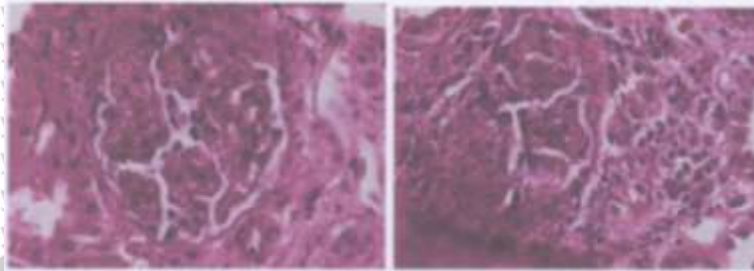
Tanda tangan



LAMPIRAN 7

DOKUMENTASI HASIL HISTOPATOLOGI

Contoh 1. Ny. Handriana (21 tahun)

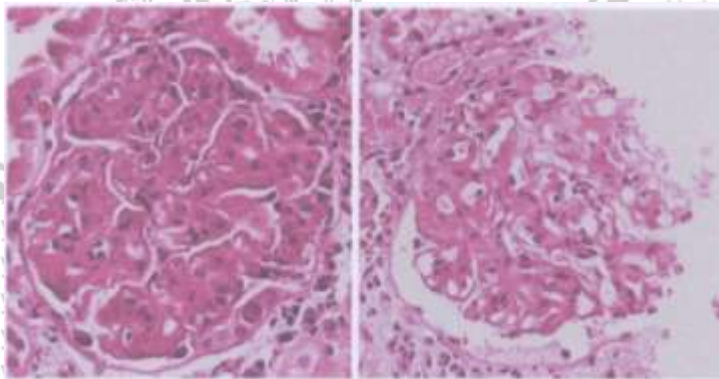


KESIMPULAN : Glomerulonephritis membranoproliferatif fokal dengan segmental glomerulosklerosis dan kresent

Gambaran ini sesuai dengan Nefritis Lupus kelas III (C)

Indeks kronisitas 4/12

Contoh 2. Ny. Siti Khotijah (27 tahun)



KESIMPULAN : Glomerulonephritis membranoproliferatif diffuse dengan segmental global, glomerulosklerosis dan kresent

Gambaran ini sesuai dengan Nefritis Lupus kelas IV (A/C) dan V

Indeks kronisitas 4/12

LAMPIRAN 8

DOKUMENTASI BIOPSI GINJAL

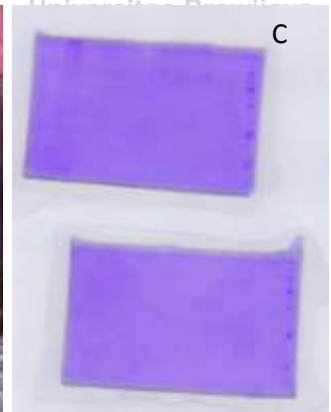
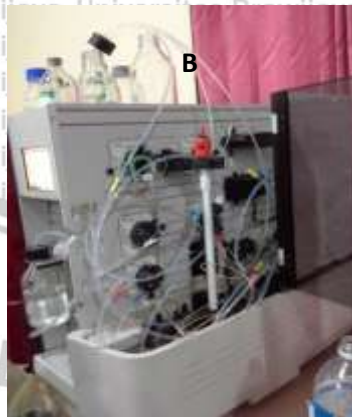
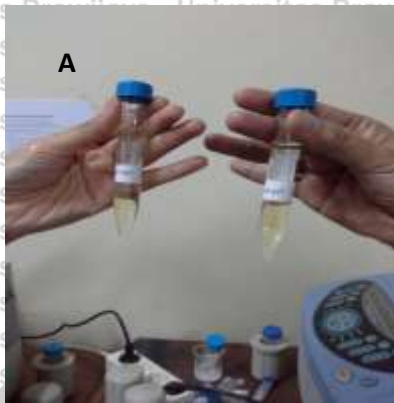
Dokumentasi Biopsi Ginjal



- A. Persiapan Box OCT compound dan needle biopsy
- B. Gun Shot Bar Magnum
- C. Persiapan Pasien
- D. Biopsi ginjal dengan tuntunan USG

LAMPIRAN 9

DOKUMENTASI KROMATOGRAFI KOLOM



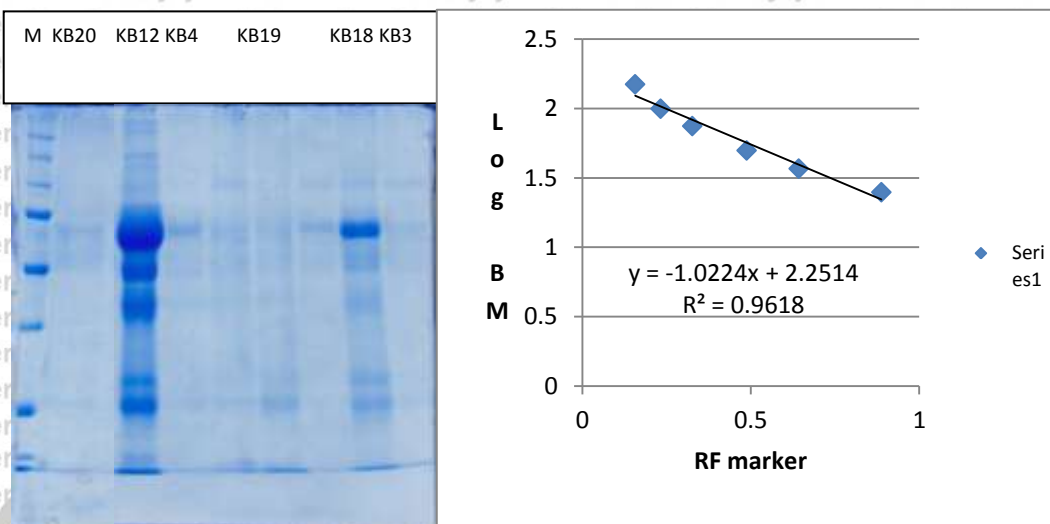
- A. Sampel setelah di sentrifuse 4500 rpm selama 15 menit
- B. Kromatogram Marker Protein Standart
- C. Hasil SDS-PAGE dengan pewarnaan CBB
- D.



- E. Marker Protein (penilaian berat molekul protein)

HASIL SDS-PAGE

PERHITUNGAN BERAT MOLEKUL PROTEIN PADA KASUS NL KELAS III, IV, DAN V



Sumur 1 = marker

Marker (kDa)	a	B	rf =a/b	log Berat molekul marker
150	0.93	5.95	0.156	2.176
100	1.38	5.95	0.232	2.000
75	1.94	5.95	0.326	1.875
50	2.9	5.95	0.487	1.699
37	3.82	5.95	0.642	1.568
25	5.28	5.95	0.887	1.398

sumur 2 (KB 20) / Amilatus Aziza

Pita	a	b	Rf	log BM	BM
pita1	2.18	5.95	0.366387	1.876552941	65.25805
pita2	2.74	5.95	0.460504	1.780364706	60.30658
pita3	5.14	5.95	0.863866	1.368129412	23.34153

sumur 8 (KB12) / Rupinah

Pita	a	b	Rf	log BM	BM
pita1	0.89	5.95	0.14958	2.098129412	125.3515
pita2	1.12	5.95	0.188235	2.058623529	114.452
pita3	1.48	5.95	0.248739	1.996788235	89.26319
Pita4	1.92	5.95	0.322689	1.921211765	73.40878
Pita5	2.42	5.95	0.406723	1.835329412	66.44306
Pita6	3.01	5.95	0.505882	1.733988235	54.19862
Pita7	3.64	5.95	0.611765	1.625776471	42.24511
Pita8	4.76	5.95	0.8	1.4334	27.12689
Pita9	5.23	5.95	0.878992	1.352670588	22.5253

sumur 9 (KB4) / Linda

Pita	a	b	Rf	log BM	BM
pita1	2.23	5.95	0.37479	1.867964706	73.78443
pita2	2.89	5.95	0.485714	1.7546	56.83292
pita3	3.44	5.95	0.578151	1.660129412	45.72244
Pita4	5.06	5.95	0.85042	1.381870588	24.09187

sumur 11 (KB19) / Fitria

Pita	a	b	Rf	log BM	BM
pita1	2.19	5.95	0.368067	1.874835294	74.96099
pita2	2.85	5.95	0.478992	1.761470588	57.73918
pita3	3.37	5.95	0.566387	1.672152941	47.00596
Pita4	4.77	5.95	0.801681	1.431682353	27.01981
Pita5	5.2	5.95	0.87395	1.357823529	22.79416

sumur 13 (KB18)/ Oktavina

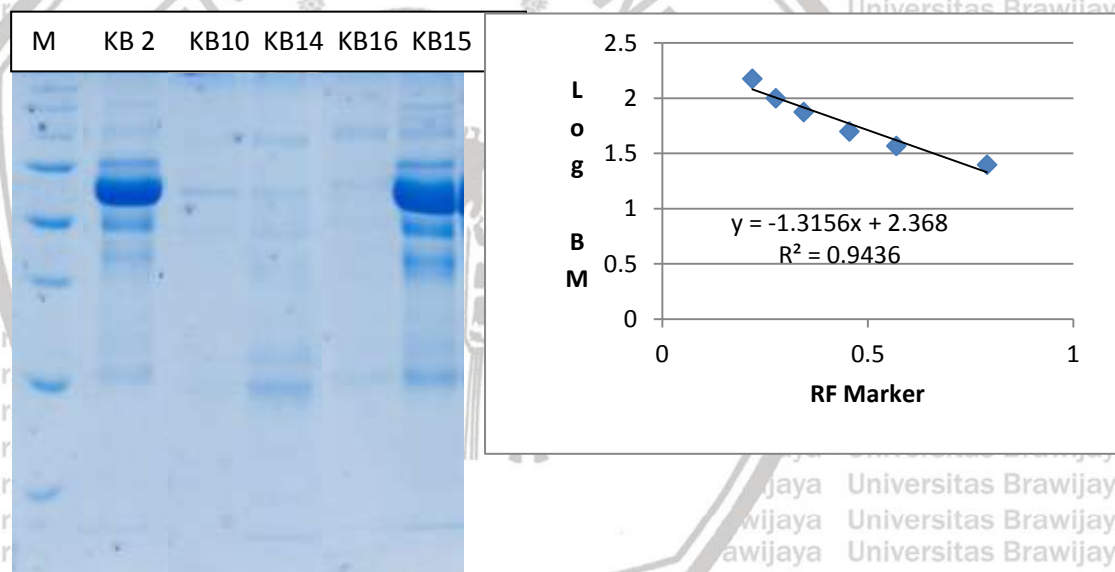
Pita	a	b	Rf	log BM	BM
pita1	1.45	5.95	0.243697	2.001941176	100.448
pita2	1.92	5.95	0.322689	1.921211765	73.40878
pita3	2.26	5.95	0.379832	1.862811765	62.91414
Pita4	2.82	5.95	0.47395	1.766623529	58.42834
Pita5	3.54	5.95	0.594958	1.642952941	43.9494
Pita6	4.74	5.95	0.796639	1.436835294	27.34232
Pita7	5.19	5.95	0.872269	1.359541176	22.88449

sumur 14 (KB3)/ Ulfa

Pita	a	b	Rf	log BM	BM
pita1	1.43	5.95	0.240336	2.005376471	101.2457
pita2	2.21	5.95	0.371429	1.8714	64.37038
pita3	2.85	5.95	0.478992	1.761470588	57.73918
Pita4	5.09	5.95	0.855462	1.376717647	23.80771

HASIL SDS-PAGE

PERHITUNGAN BERAT MOLEKUL PROTEIN PADA KASUS NL KELAS III, IV DAN V



sumur 1

Marker (kDa)	a	b	rf =a/b	log BM marker
150	1.42	6.48	0.219	2.176
100	1.79	6.48	0.276	2.000
75	2.23	6.48	0.344	1.875
50	2.95	6.48	0.455	1.699
37	3.69	6.48	0.569	1.568
25	5.12	6.48	0.790	1.398

sumur 3 (KB2)/ Dyah Candrawati

Pita	a	b	Rf	log BM	BM
pita1	1.71	6.48	0.263889	2.020986	104.9509
pita2	2.07	6.48	0.319444	1.947931	78.70142
pita3	2.6	6.48	0.401235	1.840377	69.24311
Pita4	2.93	6.48	0.45216	1.773409	59.34839
Pita5	3.33	6.48	0.513889	1.692236	49.23071
Pita6	4.47	6.48	0.689815	1.460894	28.89971
Pita7	4.89	6.48	0.75463	1.375662	23.74991

sumur 4 (KB10) / Seftiani

Pita	a	b	Rf	log BM	BM
pita1	6.56	26.76	0.245142	2.068939	117.203
pita2	9.94	26.76	0.37145	1.921032	73.37429
Pita3	12.22	26.76	0.456652	1.821261	66.26144
Pita4	14.23	26.76	0.531764	1.733305	54.11337
Pita5	16.61	26.76	0.620703	1.629157	42.57526
Pita6	17.93	26.76	0.67003	1.571395	37.27306
Pita7	18.99	26.76	0.709641	1.52501	33.49732
Pita8	20.94	26.76	0.782511	1.439679	27.52196
Pita9	23.32	26.76	0.87145	1.335532	21.6537

sumur 6 (KB 14)/ Dida

Pita	a	b	Rf	log BM	BM
pita1	1.67	6.48	0.257716	2.029103	106.9309
pita2	2.34	6.48	0.361111	1.893139	78.18778
pita3	2.89	6.48	0.445988	1.781526	60.46809
Pita4	4.46	6.48	0.688272	1.462923	29.03507
Pita5	4.99	6.48	0.770062	1.355369	22.66568

sumur 7 (KB 11) / Handriana

Pita	a	b	Rf	log BM	BM
pita1	1.67	6.48	0.257716	2.029103	106.9309
pita2	2.36	6.48	0.364198	1.88908	77.46049
pita3	4.99	6.48	0.770062	1.355369	22.66568

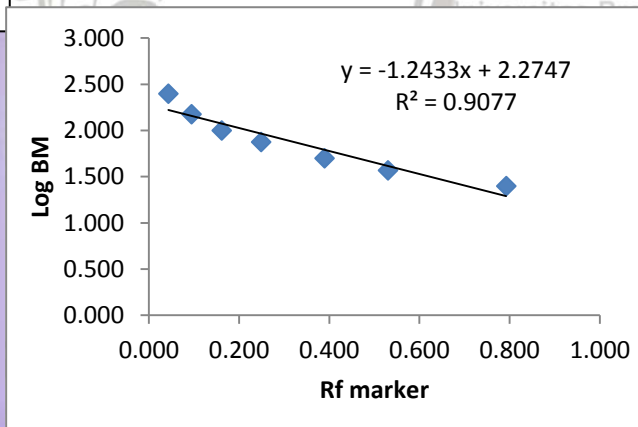
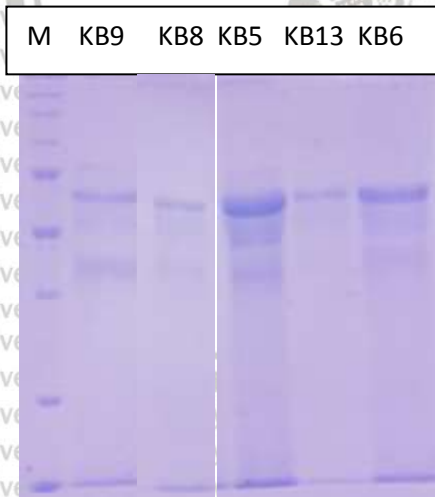
sumur 8 (KB16)/ Dewi Astuti

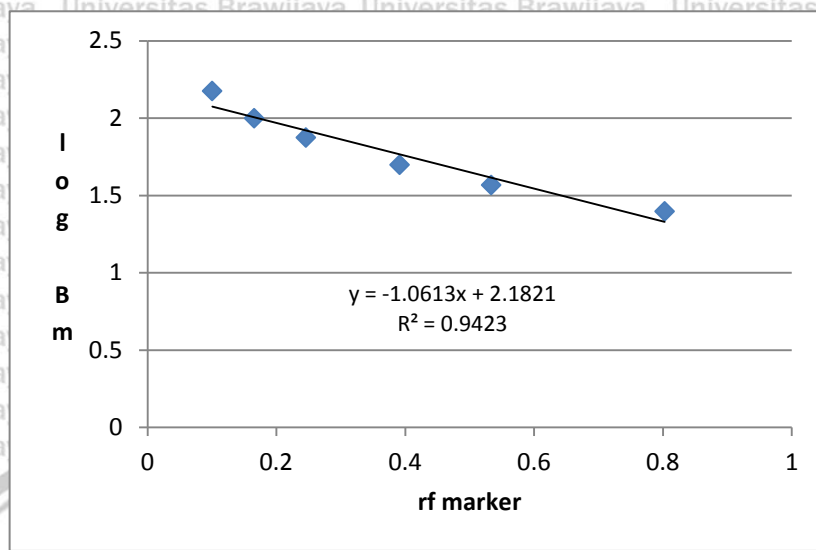
Pita	a	b	Rf	log BM	BM
pita1	1.73	6.48	0.266975	2.016927	103.9747
pita2	2.38	6.48	0.367284	1.885022	76.73997
pita3	4.96	6.48	0.765432	1.361457	22.98565

sumur 9 (KB 15) / Siti Khotijah

Pita	a	b	Rf	log BM	BM
pita1	1.73	6.48	0.266975	2.016927	103.9747
pita2	2.07	6.48	0.319444	1.947931	88.70142
pita3	2.68	6.48	0.41358	1.824142	66.70248
Pita4	2.98	6.48	0.459877	1.763262	57.97788
Pita5	3.53	6.48	0.544753	1.65165	44.83836
Pita6	4.52	6.48	0.697531	1.450747	28.23234
Pita7	4.97	6.48	0.766975	1.359427	22.8785

HASIL SDS-PAGE dan PERHITUNGAN BERAT MOLEKUL PROTEIN PADA KASUS NL KELAS I DAN II





HASIL SDS-PAGE dan PERHITUNGAN BERAT MOLEKUL PROTEIN PADA KASUS NI KELAS I DAN II

sumur 1

Marker (kDa)	a	b	rf = a/b	log BM marker
250	0.25	5.83	0.043	2.398
150	0.55	5.83	0.094	2.176
100	0.94	5.83	0.161	2.000
75	1.45	5.83	0.249	1.875
50	2.27	5.83	0.389	1.699
37	3.09	5.83	0.530	1.568
25	4.62	5.83	0.792	1.398

sumur 3 (KB2) / Morina

Pita	a	B	rf	log BM	BM
pita1	1.76	5.83	0.301887	1.858075472	72.12328
pita2	2.19	5.83	0.375643	1.77893482	60.10835
pita3	2.27	5.83	0.389365	1.764210978	58.10466

sumur 6 (KB8) / Sumartini

pita	a	b	Rf	log BM	BM
pita1	1.85	5.83	0.317324	1.841511149	69.42424
pita2	2.77	5.83	0.475129	1.672186964	47.00964

sumur 8 (KB5) / Nevada Alona

Pita	A	B	rf	log BM	BM
pita1	1.85	5.83	0.317324	1.841511149	69.42424
pita2	2.22	5.83	0.380789	1.773413379	59.349
Pita3	2.63	5.83	0.451115	1.697953688	49.88313

sumur 9 (KB13)/ Rulli

Pita	a	B	rf	log BM	BM
pita1	1.85	5.72	0.323427	1.834963287	68.38538
pita2	2.77	5.72	0.484266	1.662382867	45.9603

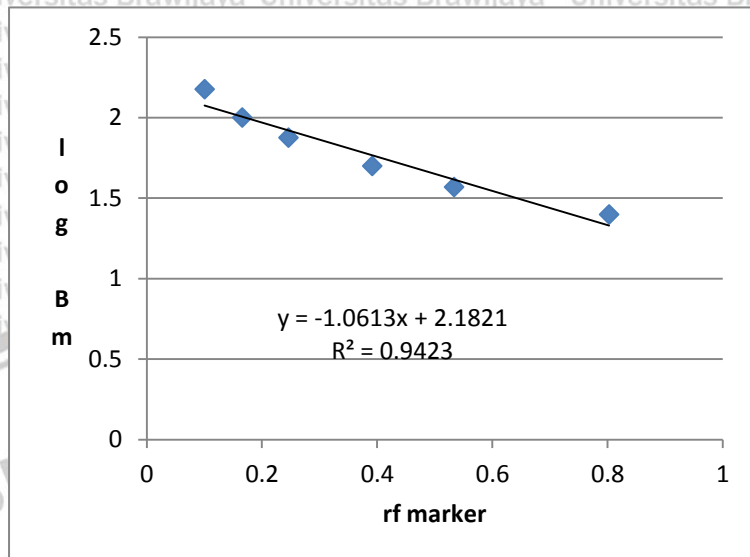
sumur 10 (KB6) / Nilawati

Pita	a	B	rf	log BM	BM
pita1	1.79	5.72	0.312937	1.846218531	70.18084
pita2	2.77	5.72	0.484266	1.662382867	45.9603

sumur 12 (KB17)/ Halimah

pita	a	B	rf	log BM	BM
pita1	1.48	5.95	0.248739	1.996788235	99.26319
pita2	2.19	5.95	0.368067	1.874835294	64.96099

HASIL SDS-PAGE dan PERHITUNGAN BERAT MOLEKUL PROTEIN PADA KASUS NL KELAS III, IV, V



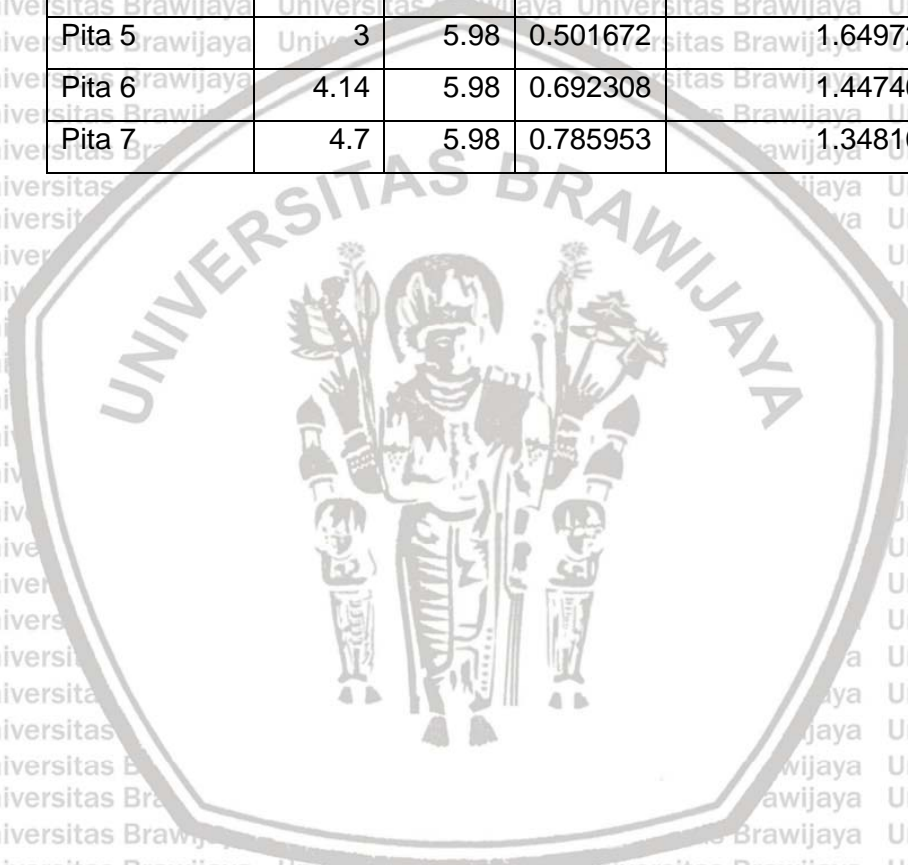
Marker (kDa)	a	b	rf = a/b	log Berat molekul marker
150	0.6	5.98	0.100	2.176
100	0.99	5.98	0.166	2.000
75	1.47	5.98	0.246	1.875
50	2.34	5.98	0.391	1.699
37	3.19	5.98	0.533	1.568
25	4.8	5.98	0.803	1.398

sumur 5 (KB 7) / Neni

pita	a	b	rf	log BM	BM
pita1	1.88	5.98	0.314381	1.848441472	70.54098
pita2	2.39	5.98	0.399666	1.757954849	57.27365
pita3	2.88	5.98	0.481605	1.671016722	46.88314
Pita4	4.17	5.98	0.697324	1.442138796	27.67826

sumur 6 (KB1)/ Sri Hartiningsih

Pita	a	b	rf	log BM	BM
pita1	0.56	5.98	0.093645	2.08264214	120.9601
pita2	1.35	5.98	0.225753	1.942476589	87.59445
pita3	1.99	5.98	0.332776	1.828924749	67.44112
Pita 4	2.37	5.98	0.396321	1.761503344	57.74353
Pita 5	3	5.98	0.501672	1.649725753	44.64016
Pita 6	4.14	5.98	0.692308	1.447461538	28.01957
Pita 7	4.7	5.98	0.785953	1.348103679	22.28967



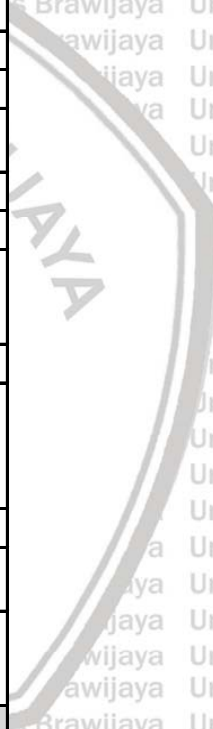
LAMPIRAN 11

DATA KARAKTERISTIK SAMPEL

No	Umur (thn)	Peak I	Jumlah kromatografi	BM (kDa)	Band SDS PAGE	Biopsi	MEX-SLEDAI	Proteinuria
1	55	800	7	120,77,67,5 7,44,28,22	7	Kls IV A/C (RKZ)	0	1+
2	38	600	7	104,78,69,5 9,49,28,23	7	Kls IV A/C (Lav)	8	2+
3	19	400	7	101,64,57,2 3	4	Kls III A	4	2+
4	25	500	6	73,56,45,24	4	Kls IV A/C & V	8	2+
5	18	500	6	69,59,49	3	Kls II	0	1+
6	34	680	7	66,45	2	Kls II	8	-
7	25	600	7	70,57,46,27	4	Kls IV A/C	4	-
8	33	300	7	69,47	2	Kls II	12	-
9	26	400	5	72,60,58	3	Kls I	8	-
10	28	720	7	117,73,66,5 4,42,37,33, 27,21	9	Kls III A/C	16	3+
11	21	800	8	106,66,22	3	III A/C	12	3+
12	58	1800	10	125,104,89, 73,66,54,42 ,27,22	9	Kls III	8	3+
13	25	650	6	68,45	2	Kls II	0	-
14	18	3000	8	106,68,60,2 9,22	5	III A/C	4	Trace
15	23	400	9	103,78,66,5 7,44,28,22	3	Kls III A/C	12	3+
No	Umur (thn)	Peak I	Jumlah kromatografi	BM (kDa)	Band SDS PAGE	Biopsi	MEX-SLEDAI	Proteinuria
16	27	420	8	103, 66, 22	7	Kls IV A/C	0	-
17	28	450	6	91,77,70,69 ,66,62,59	2	Kls II	0	-
18	21	450	9	100,73,62,5 8,43,27,22	7	III A/C	12	3+
19	31	300	5	74,57,47,27 ,22	5	Kls IV A	0	Trace
20	18	1400	9	65,60,63	3	IV A	4	2+



Lekosituria	Leko/lpb	Hematuria	Ery/lpb	Silinder	Nitrit
-	1 sd 2	-	0	-	-
2+	73.2	3+	51.2	0.92	-
-	1.4	2+	28.2	-	-
-	4.7	1+	9.2	1.07	-
-	1 sd 2	-	1 sd 2	-	-
3+	1003.6	Trace	21.3	0.46	-
-	10.4	Trace	3.9	0.15	-
-	8.7	-	8.6	1.84	-
-	11.5	-	2.3	1.38	-
1+	16.5	3+	29.9	graular 1 sd 2	-
Trace	8	Trace	2	leuko 1	-
Trace	7.2	1+	4.8	-	-
1+	4 sd 6	-	0	-	-
Trace	9	-	0.5	-	-
Trace	8.4	2+	8.1		+
Lekosituria	Leko/lpb	Hematuria	Ery/lpb	Silinder	Nitrit
-	0.4	-	1.6		-
-		-			-
1+	30	3+	22	1	-
Trace		-			-
2+	44.4	-	1.7	-	-



LAMPIRAN 12 ANALISA DATA DENGAN SPSS SLEDAI

Case Processing Summary

	SLEDAI	Cases					
		Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
Proteinuria	1.00	6	100.0%	0	0.0%	6	100.0%
	2.00	14	100.0%	0	0.0%	14	100.0%
Leukosituria	1.00	6	100.0%	0	0.0%	6	100.0%
	2.00	14	100.0%	0	0.0%	14	100.0%
Leukosituria_mikros	1.00	6	100.0%	0	0.0%	6	100.0%
	2.00	14	100.0%	0	0.0%	14	100.0%
Hematuria_mikros	1.00	6	100.0%	0	0.0%	6	100.0%
	2.00	14	100.0%	0	0.0%	14	100.0%

Descriptives

	SLEDAI	Statistic	Std. Error	
Proteinuria	Mean	.33	.211	
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	-.21	
		Upper Bound	.88	
	5% Trimmed Mean	.31		
	Median	.00		
	Variance	.267		
	1.00 Std. Deviation	.516		
	Minimum	0		
	Maximum	1		
	Range	1		
	Interquartile Range	1		
	Skewness	.968	.845	
	Kurtosis	-1.875	1.741	
	2.00	Mean	1.64	.357
95% Confidence Interval for Mean		Lower Bound	.87	
		Upper Bound	2.41	
5% Trimmed Mean	1.66			

		Median		2.00	
		Variance		1.786	
		Std. Deviation		1.336	
		Minimum		0	
		Maximum		3	
		Range		3	
		Interquartile Range		3	
		Skewness		-.357	.597
		Kurtosis		-1.790	1.154
		Mean		.17	.167
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	-.26	
			Upper Bound	.60	
		5% Trimmed Mean		.13	
		Median		.00	
		Variance		.167	
	1.00	Std. Deviation		.408	
		Minimum		0	
		Maximum		1	
		Range		1	
		Interquartile Range		0	
		Skewness		2.449	.845
		Kurtosis		6.000	1.741
	Leukosituria	Mean		.64	.269
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	.06	
			Upper Bound	1.22	
		5% Trimmed Mean		.55	
		Median		.00	
		Variance		1.016	
	2.00	Std. Deviation		1.008	
		Minimum		0	
		Maximum		3	
		Range		3	
		Interquartile Range		1	
		Skewness		1.383	.597
		Kurtosis		.805	1.154
		Mean		1.73	.933
	Leukosituria	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	-.67	
	_mikros		Upper Bound	4.13	
		5% Trimmed Mean		1.59	

		Median	1.20	
		Variance	5.227	
		Std. Deviation	2.286	
		Minimum	0	
		Maximum	6	
		Range	6	
		Interquartile Range	3	
		Skewness	1.630	.845
		Kurtosis	2.786	1.741
		Mean	88.36	70.595
		95% Confidence Interval for Mean		
		Lower Bound	-64.15	
		Upper Bound	240.87	
		5% Trimmed Mean	42.34	
		Median	9.70	
		Variance	69771.121	
2.00		Std. Deviation	264.142	
		Minimum	1	
		Maximum	1004	
		Range	1002	
		Interquartile Range	26	
		Skewness	3.707	.597
		Kurtosis	13.810	1.154
		Mean	.2667	.26667
		95% Confidence Interval for Mean		
		Lower Bound	-.4188	
		Upper Bound	.9522	
		5% Trimmed Mean	.2074	
		Median	.0000	
		Variance	.427	
1.00		Std. Deviation	.65320	
		Minimum	.00	
		Maximum	1.60	
		Range	1.60	
		Interquartile Range	.40	
		Skewness	2.449	.845
		Kurtosis	6.000	1.741
		Mean	13.8357	3.9525
2.00		95% Confidence Interval for Mean		
		Lower Bound	5.2968	
		Upper Bound		

Hematuria_
mikros

	Upper Bound	22.3746	
	5% Trimmed Mean	12.5008	
	Median	8.3500	
	Variance	218.715	
	Std. Deviation	14.78901	
	Minimum	.50	
	Maximum	51.20	
	Range	50.70	
	Interquartile Range	21.33	
	Skewness	1.408	.597
	Kurtosis	1.724	1.154

Tests of Normality

	SLEDAI	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Proteinuria	1.00	.407	6	.002	.640	6	.001
	2.00	.248	14	.019	.768	14	.002
Leukosituria	1.00	.492	6	.000	.496	6	.000
	2.00	.381	14	.000	.697	14	.000
Leukosituria_mikros	1.00	.287	6	.134	.796	6	.054
	2.00	.451	14	.000	.350	14	.000
Hematuria_mikros	1.00	.492	6	.000	.496	6	.000
	2.00	.266	14	.008	.826	14	.011

a. Lilliefors Significance Correction

Tests of Normality

	SLEDAI	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Proteinuria	1.00	.407	6	.002	.640	6	.001
	2.00	.248	14	.019	.768	14	.002
Leukosituria	1.00	.492	6	.000	.496	6	.000
	2.00	.381	14	.000	.697	14	.000
Leukosituria_mikros	1.00	.287	6	.134	.796	6	.054
	2.00	.451	14	.000	.350	14	.000
Hematuria_mikros	1.00	.492	6	.000	.496	6	.000
	2.00	.266	14	.008	.826	14	.011

a. Lilliefors Significance Correction

**NPar Tests
Mann-Whitney Test**

Ranks

Universitas Brawijaya	SLEDAI	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Proteinuria	1.00	6	6.83	41.00
	2.00	14	12.07	169.00
	Total	20		
Leukosituria	1.00	6	8.92	53.50
	2.00	14	11.18	156.50
	Total	20		
Leukosituria_mikros	1.00	6	4.17	25.00
	2.00	14	13.21	185.00
	Total	20		
Hematuria_mikros	1.00	6	3.67	22.00
	2.00	14	13.43	188.00
	Total	20		

Test Statistics^a

	Proteinuria	Leukosituria	Leukosituria_ mikros	Hematuria_mi kros
Mann-Whitney U	20.000	32.500	4.000	1.000
Wilcoxon W	41.000	53.500	25.000	22.000
Z	-1.927	-.969	-3.137	-3.407
Asymp. Sig. (2-tailed)	.054	.333	.002	.001
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.076 ^b	.444 ^b	.001 ^b	.000 ^b

a. Grouping Variable: SLEDAI, b. Not corrected for ties.

**NPar Tests
Mann-Whitney Test**

Ranks

Universitas Brawijaya	SLEDAI	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Proteinuria	1.00	6	6.83	41.00
	2.00	14	12.07	169.00
	Total	20		
Leukosituria	1.00	6	8.92	53.50
	2.00	14	11.18	156.50

	Total	20		
Leukosituria_mikros	1.00	6	4.17	25.00
	2.00	14	13.21	185.00
	Total	20		
Hematuria_mikros	1.00	6	3.67	22.00
	2.00	14	13.43	188.00
	Total	20		

Test Statistics^a

	Proteinuria	Leukosituria	Leukosituria_mikros	Hematuria_mikros
Mann-Whitney U	20.000	32.500	4.000	1.000
Wilcoxon W	41.000	53.500	25.000	22.000
Z	-1.927	-.969	-3.137	-3.407
Asymp. Sig. (2-tailed)	.054	.333	.002	.001
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.076 ^b	.444 ^b	.001 ^b	.000 ^b

a. Grouping Variable: SLEDAI, b. Not corrected for ties.

Explore
Kel_kelas

Case Processing Summary

	Kel_kelas	Cases					
		Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
Proteinuria	Histo ringan	6	100.0%	0	0.0%	6	100.0%
	Histo berat	14	100.0%	0	0.0%	14	100.0%
Leukosituria	Histo ringan	6	100.0%	0	0.0%	6	100.0%
	Histo berat	14	100.0%	0	0.0%	14	100.0%
Leukosituria_mikros	Histo ringan	6	100.0%	0	0.0%	6	100.0%
	Histo berat	14	100.0%	0	0.0%	14	100.0%
Hematuria_mikros	Histo ringan	6	100.0%	0	0.0%	6	100.0%
	Histo berat	14	100.0%	0	0.0%	14	100.0%

Descriptives

	Kel_kelas		Statistic	Std. Error
		Mean	.17	.167
		95% Confidence Interval for Mean		
		Lower Bound	-.26	
		Upper Bound	.60	
		5% Trimmed Mean	.13	
		Median	.00	
		Variance	.167	
	Histo ringan	Std. Deviation	.408	
		Minimum	0	
		Maximum	1	
		Range	1	
		Interquartile Range	0	
		Skewness	2.449	.845
		Kurtosis	6.000	1.741
Proteinuria		Mean	1.71	.339
		95% Confidence Interval for Mean		
		Lower Bound	.98	
		Upper Bound	2.45	
		5% Trimmed Mean	1.74	
		Median	2.00	
	Histo berat	Variance	1.604	
		Std. Deviation	1.267	
		Minimum	0	
		Maximum	3	
		Range	3	
		Interquartile Range	3	
		Skewness	-.433	.597
		Kurtosis	-1.535	1.154
		Mean	.67	.494
Leukosituria	Histo ringan	95% Confidence Interval for Mean		
		Lower Bound	-.60	

		Upper Bound	1.94	
		5% Trimmed Mean	.57	
		Median	.00	
		Variance	1.467	
		Std. Deviation	1.211	
		Minimum	0	
		Maximum	3	
		Range	3	
		Interquartile Range	2	
		Skewness	1.952	.845
		Kurtosis	3.657	1.741
		Mean	.43	.202
		Lower Bound	-.01	
		95% Confidence Interval for Mean		
		Upper Bound	.87	
		Lower Bound		
		5% Trimmed Mean	.37	
		Median	.00	
	Histo berat	Variance	.571	
		Std. Deviation	.756	
		Minimum	0	
		Maximum	2	
		Range	2	
		Interquartile Range	1	
		Skewness	1.526	.597
		Kurtosis	.936	1.154
		Mean	171.97	166.336
		Lower Bound	-255.61	
		95% Confidence Interval for Mean		
		Upper Bound	599.55	
		Lower Bound		
		5% Trimmed Mean	135.32	
Leukosituria_	Histo ringan	Median	7.35	
mikros		Variance	166005.139	
		Std. Deviation	407.437	
		Minimum	0	
		Maximum	1004	
		Range	1004	
		Interquartile Range	258	

	Skewness		2.449	.845
	Kurtosis		5.998	1.741
	Mean		15.40	5.540
		Lower Bound	3.43	
	95% Confidence Interval for Mean	Upper Bound	27.37	
	5% Trimmed Mean		13.04	
	Median		8.20	
Histo berat	Variance		429.645	
	Std. Deviation		20.728	
	Minimum		0	
	Maximum		73	
	Range		73	
	Interquartile Range		18	
	Skewness		2.071	.597
	Kurtosis		4.192	1.154
	Mean		5.3667	3.46474
		Lower Bound	-3.5397	
	95% Confidence Interval for Mean	Upper Bound	14.2731	
	5% Trimmed Mean		4.7796	
	Median		1.1500	
Histo ringan	Variance		72.027	
	Std. Deviation		8.48685	
	Minimum		.00	
Hematuria_mikros	Maximum		21.30	
	Range		21.30	
	Interquartile Range		11.78	
	Skewness		1.760	.845
	Kurtosis		2.809	1.741
	Mean		11.6500	4.12229
		Lower Bound	2.7443	
Histo berat	95% Confidence Interval for Mean	Upper Bound	20.5557	
		Lower Bound	10.1000	

Median	4.3500	
Variance	237.906	
Std. Deviation	15.42419	
Minimum	.00	
Maximum	51.20	
Range	51.20	
Interquartile Range	22.23	
Skewness	1.597	.597
Kurtosis	2.064	1.154

Tests of Normality

Univ	Kel_kelas	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Proteinuria	Histo ringan	.492	6	.000	.496	6	.000
	Histo berat	.232	14	.039	.805	14	.006
Leukosituria	Histo ringan	.376	6	.008	.666	6	.003
	Histo berat	.429	14	.000	.616	14	.000
Leukosituria_mikros	Histo ringan	.486	6	.000	.506	6	.000
	Histo berat	.310	14	.001	.723	14	.001
Hematuria_mikros	Histo ringan	.308	6	.079	.739	6	.015
	Histo berat	.277	14	.005	.766	14	.002

a. Lilliefors Significance Correction

**NPar Tests
Mann-Whitney Test**

Ranks

Universitas Brawijaya	Kel_kelas	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Proteinuria	Histo ringan	6	5.92	35.50
	Histo berat	14	12.46	174.50
	Total	20		
Leukosituria	Histo ringan	6	11.00	66.00
	Histo berat	14	10.29	144.00
	Total	20		
Leukosituria_mikros	Histo ringan	6	10.33	62.00
	Histo berat	14	10.57	148.00
	Total	20		
Hematuria_mikros	Histo ringan	6	8.17	49.00
	Histo berat	14	11.50	161.00
	Total	20		

Test Statistics^a

	Proteinuria	Leukosituria	Leukosituria_mikros	Hematuria_mikros
Mann-Whitney U	14.500	39.000	41.000	28.000
Wilcoxon W	35.500	144.000	62.000	49.000
Z	-2.409	-.306	-.083	-1.163
Asymp. Sig. (2-tailed)	.016	.760	.934	.245
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.020 ^b	.841 ^b	.968 ^b	.274 ^b

a. Grouping Variable: Kel_kelas, b. Not corrected for ties.

**Explore
SLEDAI**

Case Processing Summary

Universitas Brawijaya	SLEDAI	Cases					
		Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
Jumlah_peak	Tidak aktif	6	100.0%	0	0.0%	6	100.0%
	Aktif	14	100.0%	0	0.0%	14	100.0%

Descriptives

Universitas B	SLEDAI	Statistic	Std. Error	
Jumlah_peak	Mean	6.33	.422	
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	5.25	
		Upper Bound	7.42	
	5% Trimmed Mean	6.31		
	Median	6.00		
	Variance	1.067		
	Tidak aktif	Std. Deviation	1.033	
	Minimum	5		
	Maximum	8		
	Range	3		
	Interquartile Range	2		
	Skewness	.666	.845	
	Kurtosis	.586	1.741	
	Aktif	Mean	7.57	.359
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	6.80
Upper Bound			8.35	
5% Trimmed Mean		7.58		
Median		7.00		
Variance		1.802		
Std. Deviation		1.342		
Minimum		5		
Maximum		10		
Range		5		
Interquartile Range		2		
Skewness		.045	.597	
Kurtosis		-.156	1.154	

Tests of Normality

Universitas Br	SLEDAI	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Jumlah_peak	Tidak aktif	.293	6	.117	.915	6	.473
	Aktif	.236	14	.033	.931	14	.314

a. Lilliefors Significance Correction

T-Test

Group Statistics

Universitas Bra	SLEDAI	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Jumlah_peak	Tidak aktif	6	6.33	1.033	.422
	Aktif	14	7.57	1.342	.359

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
Jumlah_peak	Equal variances assumed	.797	.384	-2.007	18	.060	-1.238	.617	-2.534	.058
	Equal variances not assumed			-2.236	12.368	.044	-1.238	.554	-2.440	-.036

Explore Kel_kelas

Case Processing Summary

Universita	Kel_kelas	Cases					
		Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
Jumlah_peak	Histo ringan	6	100.0%	0	0.0%	6	100.0%
	Histo berat	14	100.0%	0	0.0%	14	100.0%

Descriptives

Universitas Bra	Kel_kelas	Statistic	Std. Error
Jumlah_peak	Histo ringan	Mean	.307
		95% Confidence Interval for Lower Bound	5.38
		Mean Upper Bound	6.96
		5% Trimmed Mean	6.19

	Median		6.00	
	Variance		.567	
	Std. Deviation		.753	
	Minimum		5	
	Maximum		7	
	Range		2	
	Interquartile Range		1	
	Skewness		-.313	.845
	Kurtosis		-.104	1.741
	Mean		7.64	.357
		Lower		
	95% Confidence Interval for	Bound	6.87	
	Mean	Upper	8.41	
		Bound		
	5% Trimmed Mean		7.66	
	Median		7.50	
Histo berat	Variance		1.786	
	Std. Deviation		1.336	
	Minimum		5	
	Maximum		10	
	Range		5	
	Interquartile Range		2	
	Skewness		-.131	.597
	Kurtosis		-.079	1.154

Tests of Normality

Universitas B	Kel_kelas	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Jumlah_peak	Histo ringan	.254	6	.200*	.866	6	.212
	Histo berat	.185	14	.200*	.949	14	.547

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

a. Lilliefors Significance Correction

T-Test

Group Statistics

Universitas Brawijaya	Kel_kelas	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Jumlah_peak	Histo ringan	6	6.17	.753	.307
	Histo berat	14	7.64	1.336	.357

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	
Jumlah_peak	Equal variances assumed	2.476	.133	-2.515	18	.022	-1.476	.587	-2.709	-.243
	Equal variances not assumed			-3.133	16.236	.006	-1.476	.471	-2.474	-.479

