

**PERBEDAAN GAMBARAN PROTEIN SPESIFIK URINE**

**PADA NEFRITIS LUPUS ANTARA KADAR UREUM DAN KREATININ SERUM  
TINGGI DAN NORMAL**

**TESIS**

**Untuk Memenuhi Persyaratan  
Memperoleh Gelar Spesialis Patologi Klinik**



**Oleh:**

**Fitriyah Mayorita**

**NIM 148070500011001**

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS PATOLOGI KLINIK I**

**FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**MALANG**

**2018**



**LEMBAR PERSETUJUAN**

**PERBEDAAN GAMBARAN PROTEIN SPESIFIK URINE  
PADA NEFRITIS LUPUS ANTARA KADAR UREUM DAN KREATININ SERUM  
TINGGI DAN NORMAL**

Oleh:

**dr. Fitriyah Mayorita**

NIM:148070500011001

**Dinyatakan memenuhi syarat untuk diuji**

**Pembimbing I**

**Pembimbing II**

Dr. dr. Hani Susianti, Sp.PK(K)

dr. I Putu Adi Santosa, Sp.PK

NIP. 19690117 199803 2 005

NIP. 19640902 199603 1 003



TESIS

**PERBEDAAN GAMBARAN PROTEIN SPESIFIK URINE  
PADA NEFRITIS LUPUS ANTARA KADAR UREUM DAN KREATININ SERUM  
TINGGI DAN NORMAL**



Oleh:

**dr. Fitriyah Mayorita**

NIM:148070500011001

Telah dipertahankan di depan Dewan Penilai

Pada Tanggal: 25 Juli 2018

Dinyatakan memenuhi syarat

1. Penguji I : dr. Agustin Iskandar, M. Kes., Sp. PK

NIP. 19730817 19990 3 2001

2. Penguji II : dr. Siti Fatonah, Sp. PK

NIP. 19760227 201410 2 001

**LEMBAR PENGESAHAN**

**PERBEDAAN GAMBARAN PROTEIN SPESIFIK URINE  
PADA NEFRITIS LUPUS ANTARA KADAR UREUM DAN KREATININ SERUM  
TINGGI DAN NORMAL**

Oleh:

**dr. Fitriyah Mayorita**

NIM:148070500011001



**Telah disetujui menjadi Karya Tulis Akhir dalam memenuhi  
persyaratan memperoleh keahlian Spesialis Patologi Klinik**

**Program pendidikan Spesialis Patologi Klinik**

**Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang**

**Ketua Program Studi**

**Dr. dr. Hani Susianti ,Sp.PK(K)**

**NIP.19690117 199803 2 005**



**PERNYATAAN  
ORISINALITAS TESIS**

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

Apabila ternyata di dalam naskah ini dapat dibuktikan terdapat unsur-unsur PLAGIASI, saya bersedia Tesis ini digugurkan dan gelar akademik yang telah saya peroleh dibatalkan, serta diproses sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku (UU No.20 Tahun 2003, pasal 25 ayat 2 dan pasal 70).

Malang, 25 Juli 2018

Mahasiswa,

Nama: dr. Fitriyah Mayorita

NIM: 148070500011001

PS: Spesialis I Patologi Klinik

## KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur senantiasa kami panjatkan kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga Tesis dengan judul "**Perbedaan Gambaran Protein Spesifik Urine pada Nefritis Lupus antara Kadar Ureum dan Kreatinin Serum Tinggi dan Normal**" ini dapat terselesaikan.

Ucapan terimakasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya kami sampaikan kepada semua pihak yang telah berjasa dalam menyelesaikan penelitian ini, terutama kepada:

1. DR. Dr. Sri Andarini, M.Kes selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang.
2. dr. Restu Kurnia Tjahjani, M.Kes selaku Direktur Rumah Sakit Saiful Anwar Malang yang telah memberikan kesempatan untuk belajar dan bekerja di Lingkungan Rumah Sakit Umum Dr. Saiful Anwar Malang.
3. Dr. dr. Hani Susianti, Sp.PK(K) sebagai pembimbing I dan selaku Ketua Program Studi Program Pendidikan Dokter Spesialis Patologi Klinik, RSUD Saiful Anwar/ Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang, yang telah meluangkan waktu untuk membimbing, memberi dukungan dan kesempatan yang seluas-luasnya untuk menempuh pendidikan di Patologi klinik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang.
4. dr. I Putu Adi Santosa, Sp.PK selaku pembimbing II dan selaku Kepala Instalasi Laboratorium Sentral RSSA Malang yang telah senantiasa mengarahkan, memotivasi dan memberikan jalan keluar untuk segala permasalahan yang muncul dalam proses pengerjaan penelitian ini.



5. dr. Siti Fatonah, Sp.PK sebagai penguji I dan dr. Agustin Iskandar, M.Kes., Sp.PK selaku penguji II yang bersedia menguji dan memberikan saran untuk penyempurnaan tugas akhir ini.
6. Dr. dr. Tinny Endang Hernowati, Sp.PK(K) selaku kepala SMF/ Laboratorium Patologi Klinik FKUB
7. Prof. Dr. dr. Edi Widjanto, MS, Sp.PK(K), Prof. Dr. dr. Kusworini, M.Kes, Sp.PK, Dr. dr. Tinny Endang Hernowati, Sp.PK(K), dr. Hartojo, Sp.PK(K), Alm. dr. Budiman, Sp.PK(K), dr. Ati Rastini R.I., Sp.PK(K), dr. Anik Widijanti, Sp.PK(K), Dr. dr. Hani Susianti, Sp.PK(K), dr. I Putu Adi Santosa, Sp.PK, dr. Maimun Zulhaidah Arthamin, M.Kes, Sp.PK, dr. Siti Fatonah, Sp.PK, dr. Agustin Iskandar, MKes, Sp.PK, dr. Novi Khila Firani, MKes, Sp.PK, dr. Catur Suci Sutrisnani, M. Biomed, Sp.PK, dr. Dian Sukma Hanggara, M. Biomed, Sp.PK, dr. Indah Adhita Wulanda, M. Biomed, Sp.PK, dr. Singgih Pudjo Wahono, Sp.PK atas segala saran, teladan, dukungan, serta ajaran Beliau semua yang dapat menjadi motivasi selama menjalani PPDS.
8. Seluruh Staf Laboratorium Sentral, Laboratorium Mikrobiologi RSUD Saiful Anwar Malang, Laboratorium Fisiologi dan Laboratorium Biologi Molekuler Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang untuk bantuan dan kerjasamanya selama pendidikan dan penelitian.
9. Orang tua tercinta Bapak Frido Soebyantoro dan Ibunda Siti Choirijah, Saudara saya drg. Faisal Adi Candra dan Dewi Ratna Sari, Amd.Keb. yang selalu memberikan semangat, restu dan doa yang tiada henti.
10. Suami tercinta dr. Munaqib, MM, AAK, dan Ananda tercinta Afiqah Amanina Elfiqui, Najwa Aqila Elfiqui dan Muhammad Wira Amzar Elfiqui yang selalu memberikan dukungan dan semangat saya untuk segera menyelesaikan

pendidikan spesialis ini, serta kesabaran, pengertian, dan pengorbanannya yang tidak akan tergantikan.

11. Teman-teman seperjuangan dr. Nelly Ismayasih, dr. Rossy Meilani, dr. Dany Farida yang senantiasa mendukung, bahu membahu, saling mengisi dan memotivasi sebagai satu tim yang solid serta seperti saudara sendiri.
12. Tim penelitian saya, dr. Dany Farida dan dr. Hesti Purwanti, Sp.PD yang telah bahu membahu dalam penyelesaian penelitian ini.
13. Semua rekan-rekan PPDS Patologi Klinik yang ikut mendukung sehingga penelitian ini dapat terlaksana.
14. Semua pihak yang telah turut andil demi tersusunnya Tesis ini yang tidak dapat penulis ungkapkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa dalam Tesis ini masih banyak terdapat kekurangan, oleh sebab itu penulis mengharapkan kritik dan saran dari pembaca agar tulisan ini dapat disempurnakan.

Akhir kata dengan segala kerendahan hati semoga Tesis ini dapat bermanfaat bagi ilmu pengetahuan khususnya bidang Patologi Klinik di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya maupun bidang lain yang berhubungan.

Malang, 30 Agustus 2018

Penulis



## ABSTRAK

Mayorita, Fitriyah. 2018. **Perbedaan Gambaran Protein Spesifik Urine Pada Nefritis Lupus Antara Kadar Ureum Dan Kreatinin Serum Tinggi Dan Normal.** 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

**Latar Belakang:** Nefritis Lupus (NL) merupakan manifestasi serius pada Lupus Eritematosus Sistemik (LES) dan prediktor utama untuk prognosis buruk LES. Biomarker yang ada saat ini untuk mengevaluasi aktivitas dan kronisitas NL masih belum memuaskan, biopsi ginjal masih menjadi standar baku. Ureum dan kreatinin merupakan parameter yang banyak digunakan untuk mengetahui fungsi ginjal karena merupakan substansi endogen yang diproduksi relatif lebih stabil. Perubahan patologis pada membran basalis dan selektifitas protein akan menyebabkan suatu pola protein urine yang diekskresi. Identifikasi protein spesifik ini diharapkan membantu mengevaluasi keterlibatan ginjal yang berat.

**Tujuan:** Mengetahui perbedaan gambaran protein spesifik urine pada NL dengan kadar ureum-kreatinin serum tinggi dan normal

**Metode:** Penelitian deskriptif pada 20 orang kelompok sehat dan 20 orang kelompok NL. Pemeriksaan protein urine dilakukan dengan kromatografi kolom dan SDS-PAGE.

**Hasil:** Terdapat perbedaan gambaran fragmen albumin dan jumlah *peak* pada kelompok NL dibandingkan kelompok sehat. Berat molekul protein spesifik urine pada kelompok sehat  $> 66\text{kDa}$  sedangkan kelompok NL  $\leq 66\text{kDa}$ . NL dengan kadar ureum-kreatinin serum tinggi mempunyai protein urine tambahan yaitu protein dengan berat molekul rendah ( 21-30 kDa).

**Kesimpulan:** Terdapat perbedaan gambaran, jumlah dan berat molekul protein spesifik urine pada kelompok sehat dan kelompok NL. NL dengan kadar ureum-kreatinin serum tinggi mempunyai protein urine tambahan yaitu protein dengan berat molekul rendah ( 21-30 kDa).

**Kata kunci :** Nefritis Lupus, Protein Spesifik Urine, Kadar Ureum-Kreatinin Serum.



## ABSTRACT

Mayorita, Fitriyah. 2018. **The Differentiation Of Urine Specific Protein Pattern In Lupus Nephritis Between High And Normal Level Ureum And Kreatinin Serum.** Clinical Pathology Program, Faculty of Medicine, Brawijaya University. Supervisors: (1) Dr. dr. Hani Susianti, Sp.PK (K), (2) dr. I. Putu Adi Santosa, Sp.PK

**Background:** Lupus Nephritis (LN) is the most serious manifestation in Systemic Lupus Erythematosus (SLE) and a major predictor for poor prognosis in SLE. Current biomarkers for evaluating activity and chronicity LN are considered to be unsatisfactory and renal biopsy is still to be "gold standart". Ureum and creatinine are parameters that are widely used to determine kidney function because It is an endogenous substance produced relatively more stable. Pathological changes in glomerular basement membrane and selectivity of electrical charge are causing specific patterns of urine proteins excretion. Identification of specific protein is expected to help evaluate severe kidney involvement.

**Objective:** To examine the differences of urine specific protein patterns in NL with high and normal levels ureum-creatinine serum.

**Methods:** A descriptive study in 20 normal group and 20 patients NL group. The patterns of urine specific proteins were determined using column chromatography and SDS-PAGE.

**Results:** The pattern of urine specific proteins between normal group and case group are different in additional protein, total peaks and molecular weight. The weight of urine specific protein molecules in normal group  $> 66\text{kDa}$  while case group  $\leq 66\text{kDa}$ . NL with high serum ureum-creatinine levels have additional urinary proteins that are low molecular weight proteins (21-30 kDa).

**Conclusions:** There were differences in the patterns of the molecular weight of protein urine between normal group and case group. NL with high levels ureum-creatinine serum have additional urinary proteins that are low molecular weight proteins (21-30 kDa)

**Keywords:** Lupus Nephritis, Specific Urine Protein, Serum Ureum-Creatinine Level.



DAFTAR ISI

<b>Lembar Persetujuan .....</b>	<b>i</b>
<b>Lembar Penguji.....</b>	<b>ii</b>
<b>Lembar Pengesahan.....</b>	<b>iii</b>
<b>Pernyataan Orisinalitas Tesis.....</b>	<b>iv</b>
<b>Kata Pengantar .....</b>	<b>v</b>
<b>Abstrak.....</b>	<b>viii</b>
<b>Abstract.....</b>	<b>ix</b>
<b>Daftar Isi .....</b>	<b>x</b>
<b>Daftar Tabel.....</b>	<b>xiii</b>
<b>Daftar Gambar.....</b>	<b>xiv</b>
<b>Daftar Singkatan.....</b>	<b>xv</b>
<b>Bab I Pendahuluan .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	5
1.3 Tujuan Penelitian .....	5
1.4 Manfaat Penelitian .....	5
<b>Bab II Tinjauan Pustaka.....</b>	<b>6</b>
2.1 Nefritis Lupus.....	6
2.2 Epidemiologi.....	7
2.3 Faktor-Faktor Penyebab Nefritis Lupus.....	8
2.4 Etiologi.....	9
2.5 Patogenesis Nefritis Lupus.....	9
2.6 Gambaran Klinis Nefritis Lupus.....	17



2.7	Klasifikasi Nefritis Lupus .....	20
2.8	Pemeriksaan Fisik dan Penunjang .....	25
2.9	Diagnosis Nefritis Lupus .....	27
2.10	Biopsi Ginjal dan Silent Lupus Nephritis.....	29
2.11	Penatalaksanaan .....	31
2.12	Prognosis.....	35
2.13	Biomarker Nefritis Lupus.....	36
2.14	Protein Spesifik Urin pada Nefritis Lupus .....	37
2.15	Kadar Ureum dan Kreatinin Serum .....	38
2.16	Faktor yang dapat mempengaruhi kadar ureum dan kreatinin serum..	40
2.17	Kerangka Teori .....	43
<b>Bab III Kerangka Penelitian Dan Hipotesis .....</b>		<b>44</b>
3.2	Kerangka Konsep .....	44
3.3	Hipotesis.....	46
<b>Bab IV Metode Penelitian .....</b>		<b>47</b>
4.1	Desain Penelitian .....	47
4.2	Populasi dan Objek Penelitian .....	47
4.3	Definisi Operasional Variabel .....	49
4.4	Prosedur Penelitian.....	50
4.4.1	Pengumpulan Sampel Urine.....	50
4.4.2	Proses Penyimpanan Sampel Urin.....	51
4.4.3	Prosedur Kromatografi Kolom .....	51
4.4.4	Prosedur SDS-PAGE .....	56
4.4.5	Pemeriksaan kadar Ureum dan Kreatinin Serum.....	58
4.4.6	Prosedur Biopsi Ginjal.....	59



4.5 Teknik Pengumpulan Data dan Analisa Data.....	60
4.6 Bagan Alur Penelitian .....	61
<b>Bab V Hasil Penelitian .....</b>	<b>62</b>
5.1 Karakteristik Subyek yang diteliti .....	62
5.2 Gambaran Protein Spesifik Urine pada Kontrol Sehat dan Kasus NL sesuai dengan Hasil Kromatografi Kolom.....	66
5.3 Gambaran Berat Molekul Protein Urine pada Kontrol Sehat dan Kelompok NL sesuai dengan Hasil SDS-PAGE .....	69
5.4 Perbedaan Gambaran Berat Molekul Protein Spesifik Urine Pada Nefritis Lupus dengan Kadar Ureum-Kreatinin Serum Normal dan Tinggi .....	72
<b>Bab VI Pembahasan .....</b>	<b>74</b>
6.1 Karakteristik Pasien Nefritis Lupus yang Diteliti .....	74
6.2 Gambaran Protein Spesifik Urine pada Kelompok Kontrol Sehat dan Kelompok Kasus NL .....	76
6.3 Gambaran Berat Molekul Protein Spesifik Urine pada Kelompok Sehat dan Kelompok Kasus NL .....	78
6.4 Perbandingan Gambaran Berat Molekul Protein Spesifik Urine pada Nefritis Lupus dengan Kadar Ureum-Kreatinin Serum Tinggi dan Normal .....	80
<b>Bab VII Kesimpulan Dan Saran.....</b>	<b>81</b>
7.1 Kesimpulan.....	81
7.2 Saran.....	82
<b>Daftar Pustaka .....</b>	<b>83</b>
<b>Lampiran .....</b>	<b>88</b>

**DAFTAR GAMBAR**

Gambar 2.1 Proses Terjadinya Nefritis Lupus ..... 6

Gambar 2.2 Patogenesis Lupus Eritematosus Sistemik..... 10

Gambar 2.3 Mekanisme kerusakan ginjal pada nefritis lupus ..... 12

Gambar 2.4 Gambaran kerusakan ginjal pada nefritis lupus..... 15

Gambar 2.5 Hubungan antara infiltrasi makrofag dan produknya pada inflamasi kronik dengan kerusakan struktur dan fungsi ginjal..... 17

Gambar 2.6 Biosintesis Urea ..... 39

Gambar 2.7 Biosintesis Kreatinin ..... 40

Gambar 4.1 Tahapan pengerjaan kromatografi kolom ..... 53

Gambar 4.2 Foto urutan kromatografi kolom..... 53

Gambar 5.1 Diagram Jumlah Peak Protein Urine pada Kelompok Kasus NL dan Kelompok Sehat ..... 67

Gambar 5.2 Marker Kromatografi ..... 67

Gambar 5.3 Hasil SDS-PAGE pada kasus biopsi NL (b) dibanding dengan marker ( a dan c )..... 70

Gambar 5.4 Diagram Berat Molekul Protein Urin pada Kelompok Kasus NL dan Kelompok Sehat..... 71

Gambar 5.5 Diagram Perbandingan Berat Molekul Protein Urin pada Nefritis Lupus dengan Kadar Ureum-Kreatinin Serum Tinggi dan Normal..... 73



DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Gejala Klinis dari Masing-masing Klas Nefritis Lupus .....	19
Tabel 2.2	Klasifikasi Nefritis Lupus .....	22
Tabel 2.3	<i>International Society of Nephrology/Renal Pathology Society (ISN/RPS) 2003 Classification of Lupus Nephritis</i> .....	23
Tabel 2.4	Gambaran Patologi untuk Penilaian NL Aktif atau Kronik.....	24
Tabel 2.5	Kriteria untuk LES Berdasarkan Kriteria Systemic Lupus International Collaborating Clinics (SLICC) 2012 .....	28
Tabel 2.6	Kriteria Diagnosis LES yang Direvisi oleh ARA Tahun 1997 .....	28
Tabel 2.7	Faktor penyebab kenaikan ureum.....	41
Tabel 2.8	Faktor penyebab penurunan ureum.....	41
Tabel 2.9	Faktor penyebab kenaikan kreatinin .....	42
Tabel 2.10	Faktor penyebab penurunan kreatinin .....	42
Tabel 5.1	Karakteristik Subyek yang Diteliti.....	63
Tabel 5.2	Uji Beda Kadar Ureum Serum terhadap Urinalisis .....	64
Tabel 5.3	Uji Beda Kadar Kreatinin Serum terhadap Urinalisis .....	65
Tabel 5.4	Jumlah <i>peak</i> Protein pada Kelompok Sehat dan Kelompok NL .....	66
Tabel 5.5	Perbedaan Jumlah <i>peak</i> Protein Urin pasien NL dengan kadar ureum-kreatinin serum normal dan tinggi.....	69
Tabel 5.6	Berat Molekul Protein pada Kelompok Sehat dan Kelompok NL.....	71
Tabel 5.7	Perbedaan Berat Molekul Protein pada pasien NL dengan kadar ureum-kreatinin serum tinggi dan normal .....	72



**DAFTAR SINGKATAN**

ACR	<i>American College of Rheumatology</i>
APC	<i>Antigen Presenting Cell</i>
DNA	<i>Deoxyribonucleic Acid</i>
ESRD	<i>End Stage Renal Disease</i>
FSGS	<i>Focal Segmental Gomerulo Sclerosis.</i>
FcγR	<i>Fc receptors for IgG</i>
HPA	<i>Hypothalamic-pituitary-adrenal</i>
ISN/RPS	<i>International Society of Nephrology and The Renal Pathology Society</i>
IL	<i>Interleukin</i>
LFG	<i>Laju Filtrasi Ginjal</i>
LES	<i>Lupus Erythematosus Systemic</i>
MMP	<i>Matrix Metallo Proteinase</i>
NL	<i>Nephritis Lupus</i>
NIH	<i>National Institute of Health</i>
NGAL	<i>Neutrophil gelatinase-associated lipocalin</i>
OLN	<i>Overt Lupus Nephritis</i>
PAS dan HE	<i>Periodic Acid-Stiff dan Hematoxylin Eosin</i>
PAI	<i>Plasminogen Activator Inhibitor</i>
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
SLN	<i>Silent Lupus Nefritis</i>



SDS-PAGE

Sodium Dodecyl Sulfate – Polyacrylamide Gel  
Elektrophoresis

TLR

Toll- Like Receptor

TGF

Tumor Growth Factor

TIMP

Tissue Inhibitor Metalloproteinase

Th

T helper,



## ABSTRAK

Mayorita, Fitriyah. 2018. **Perbedaan Gambaran Protein Spesifik Urine Pada Nefritis Lupus Antara Kadar Ureum Dan Kreatinin Serum Tinggi Dan Normal.** 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

**Latar Belakang:** Nefritis Lupus (NL) merupakan manifestasi serius pada Lupus Eritematosus Sistemik (LES) dan prediktor utama untuk prognosis buruk LES. Biomarker yang ada saat ini untuk mengevaluasi aktivitas dan kronisitas NL masih belum memuaskan, biopsi ginjal masih menjadi standar baku. Ureum dan kreatinin merupakan parameter yang banyak digunakan untuk mengetahui fungsi ginjal karena merupakan substansi endogen yang diproduksi relatif lebih stabil. Perubahan patologis pada membran basalis dan selektifitas protein akan menyebabkan suatu pola protein urine yang diekskresi. Identifikasi protein spesifik ini diharapkan membantu mengevaluasi keterlibatan ginjal yang berat.

**Tujuan:** Mengetahui perbedaan gambaran protein spesifik urine pada NL dengan kadar ureum-kreatinin serum tinggi dan normal

**Metode:** Penelitian deskriptif pada 20 orang kelompok sehat dan 20 orang kelompok NL. Pemeriksaan protein urine dilakukan dengan kromatografi kolom dan SDS-PAGE.

**Hasil:** Terdapat perbedaan gambaran fragmen albumin dan jumlah *peak* pada kelompok NL dibandingkan kelompok sehat. Berat molekul protein spesifik urine pada kelompok sehat  $> 66\text{kDa}$  sedangkan kelompok NL  $\leq 66\text{kDa}$ . NL dengan kadar ureum-kreatinin serum tinggi mempunyai protein urine tambahan yaitu protein dengan berat molekul rendah ( 21-30 kDa).

**Kesimpulan:** Terdapat perbedaan gambaran, jumlah dan berat molekul protein spesifik urine pada kelompok sehat dan kelompok NL. NL dengan kadar ureum-kreatinin serum tinggi mempunyai protein urine tambahan yaitu protein dengan berat molekul rendah ( 21-30 kDa).

**Kata kunci :** Nefritis Lupus, Protein Spesifik Urine, Kadar Ureum-Kreatinin Serum.



**ABSTRACT**

Mayorita, Fitriyah. 2018. **The Differentiation Of Urine Specific Protein Pattern In Lupus Nephritis Between High And Normal Level Ureum And Kreatinin Serum.** Clinical Pathology Program, Faculty of Medicine, Brawijaya University.

Supervisors:(1) Dr. dr. Hani Susianti, Sp.PK (K), (2) dr. I. Putu Adi Santosa, Sp.PK

**Background:** Lupus Nephritis (LN) is the most serious manifestation in Systemic Lupus Erythematosus (SLE) and a major predictor for poor prognosis in SLE. Current biomarkers for evaluating activity and chronicity LN are considered to be unsatisfactory and renal biopsy is still to be "gold standart". Ureum and creatinine are parameters that are widely used to determine kidney function because It is an endogenous substance produced relatively more stable. Pathological changes in glomerular basement membrane and selectivity of electrical charge are causing spesific patterns of urine proteins excretion. Identification of specific protein is expected to help evaluate severe kidney involvement.

**Objective:** To examine the differences of urine specific protein patterns in NL with high and normal levels ureum-creatinine serum.

**Methods:** A descriptive study in 20 normal group and 20 patients NL group. The patterns of urine specific proteins were determined using column chromatography and SDS-PAGE.

**Results:** The pattern of urine specific proteins between normal group and case group are different in additional protein, total peaks and molecular weight. The weight of urine specific protein molecules in normal group  $> 66\text{kDa}$  while case group  $\leq 66\text{kDa}$ . NL with high serum ureum-creatinine levels have additional urinary proteins that are low molecular weight proteins (21-30 kDa).

**Conclusions:** There were differences in the patterns of the molecular weight of protein urine between normal group and case group. NL with high levels ureum-creatinine serum have additional urinary proteins that are low molecular weight proteins (21-30 kDa)

**Keywords:** Lupus Nephritis, Specific Urine Protein, Serum Ureum-Creatinine Level.



## BAB 1

## PENDAHULUAN

**1.1 Latar Belakang**

Nefritis Lupus (NL) merupakan manifestasi serius yang sering terjadi pada penyakit Lupus Eritematosus Sistemik (LES), biasanya muncul dalam 5 tahun setelah terdiagnosa dan merupakan prediktor utama untuk prognosis yang buruk. Keterlibatan ginjal pada penderita LES merupakan faktor yang berpengaruh terhadap morbiditas dan mortalitas penderita LES (Brent & Hamed, 2008). Prevalensi NL diperkirakan sekitar 30-90% terjadi pada awal penyakit LES. Hanya 25-50% pasien LES yang mempunyai gambaran abnormal pada urinalisis, namun data lain menyebutkan bahwa sekitar 60% pasien LES mengalami gangguan ginjal dalam perjalanan penyakitnya (Rus, 2007).

*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%). PESLI (Perhimpunan SLE Indonesia) 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). 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. LES lebih sering terjadi pada wanita di dekade ketiga kehidupannya (rasio wanita:pria = 9:1), dan nefritis lupus juga sering terjadi pada pasien usia 20-40 tahun (Brunner, 2008).

Anak dengan LES memiliki risiko penyakit ginjal lebih tinggi daripada dewasa dan



lebih sering mengalami cedera akibat penyakit yang agresif dan toksisitas akibat pengobatan (Mok, 2003).

Diagnosis NL berdasarkan kriteria *American Rheumatologi Assosiation* (ACR) 2007 yaitu: adanya Proteinuria  $>0,5g/24$  jam atau stik protein 3+ dan adanya silinder urine (Dooley, 2007). Biopsi ginjal sampai saat ini masih memegang peran penting dalam NL. Selain sebagai "gold standard" diagnosis NL juga bermanfaat untuk memonitor terapi dan menilai prognosis pasien. Penelitian yang dilakukan oleh Kusworini pada tahun 2009 di RS dr. Saiful Anwar Malang melaporkan bahwa dari 30 pasien LES yang dilakukan biopsi ginjal, 73% diantaranya menunjukkan suatu NL dengan gambaran histopatologi kelas III, IV dan V. Penelitian tersebut juga menyebutkan bahwa dari 8 pasien tanpa proteinuria, 37,5% memiliki gambaran histopatologi kelas III dan IV (Handono, 2010). Akan tetapi biopsi ginjal ini merupakan prosedur yang invasif dan tidak nyaman bagi pasien. Sehingga saat ini sangat diperlukan penelitian untuk menemukan biomarker yang dapat menggantikan prosedur biopsi ginjal ini.

Biomarker yang telah ada seperti proteinuria, rasio protein kreatinin urine, dsDNA, dan kadar komplemen C3 dan C4 ternyata memiliki sensitivitas dan spesifitas yang rendah untuk NL, yaitu sekitar 49-79% (Petri, 2012). Penderita SLE dengan NL sering asimtomatik. Pemeriksaan urinalisis dilakukan pada semua penderita yang diduga menderita SLE. Peran biomarker urine merupakan 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,  *$\alpha$ 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 proteomik urine untuk mencari biomarker pada nefritis lupus belum banyak dilakukan.

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 (Sudoyo, 2007). Penelitian yang dilakukan oleh Zhang dan kawan-kawan pada tahun 2008 dengan pendekatan berbasis proteomik berhasil menemukan beberapa proteome dengan berat molekul rendah (< 30 kDa) pada sampel serial urine pasien NL sebagai biomarker prediktif adanya *flare* pada pasien NL (Zhang, 2008).

Ginjal melakukan banyak fungsi, antara lain faal ekskresi produk sisa metabolik dan bahan kimia asing yang bersifat toksis, regulasi keseimbangan air dan elektrolit, regulasi osmolalitas dan kadar elektrolit cairan tubuh, regulasi tekanan arterial, regulasi keseimbangan asam-basa, sekresi metabolisme dan ekskresi hormon, serta glukoneogenesis. Fungsi ginjal akan menurun seiring dengan adanya penyakit. Kemunduran fungsi ginjal tersebut dapat bersifat akut maupun kronis (Santucci, 2013).

Ureum dan kreatinin merupakan parameter yang banyak digunakan untuk mengetahui fungsi ginjal karena substansi tersebut merupakan substansi endogen (dalam tubuh) yang diproduksi relatif lebih stabil (Visnathan, 2011). Selain itu secara ekonomis uji ureum dan kreatinin lebih terjangkau untuk masyarakat



dengan ekonomi menengah ke bawah. Ureum adalah produk akhir katabolisme protein dan asam amino yang diproduksi oleh hati dan didistribusikan melalui cairan intraseluler dan ekstraseluler ke dalam darah untuk kemudian difiltrasi oleh glomerulus. Klirens ureum merupakan indikator yang kurang baik karena sebagian besar dipengaruhi diet. Kreatinin merupakan hasil pemecahan kreatin fosfat otot, diproduksi oleh tubuh secara konstan tergantung massa otot. Kadar kreatinin berhubungan dengan massa otot, menggambarkan perubahan fungsi ginjal. Kadar kreatinin relatif stabil karena tidak dipengaruhi oleh protein dari diet. *The National Kidney Disease Education Program* merekomendasikan penggunaan Ureum-kreatinin untuk mengukur kemampuan filtrasi glomerulus dan digunakan untuk memantau perjalanan penyakit ginjal (Santucci, 2013). Diagnosis gagal ginjal dapat ditegakkan saat nilai kreatinin serum meningkat di atas nilai rujukan normal. Pada keadaan gagal ginjal dan uremia, ekskresi kreatinin oleh glomerulus dan tubulus ginjal menurun.

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 tanpa melalui biopsi dan dikaitkan dengan kadar ureum dan kreatinin serum pasien NL.

## 1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah yang disampaikan pada penelitian ini adalah :

1. Apakah terdapat perbedaan gambaran protein spesifik urine pada kontrol sehat dan pada pasien nefritis lupus?
2. Apakah terdapat perbedaan gambaran protein spesifik urine pasien NL pada kadar ureum dan kreatinin serum yang tinggi dan normal?

## 1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui gambaran protein spesifik urine pada kontrol sehat dan pada pasien NL.
2. Mengetahui perbedaan gambaran protein spesifik urine pasien NL pada kadar ureum dan kreatinin serum yang tinggi dan normal

## 1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat yang diharapkan dengan adanya protein spesifik di urine dapat mempermudah klinisi untuk menentukan Nefritis Lupus dan bukan Nefritis Lupus. Pemeriksaan urinalisis tidak memberatkan penderita karena hanya dilakukan pengambilan sampel urine sewaktu untuk diperiksa. Selain itu analisa protein spesifik urine juga bisa untuk menilai adanya keterlibatan ginjal yang berat, sehingga bisa diketahui prognosis dan pemberian terapi akan lebih awal diberikan dan lebih tepat.

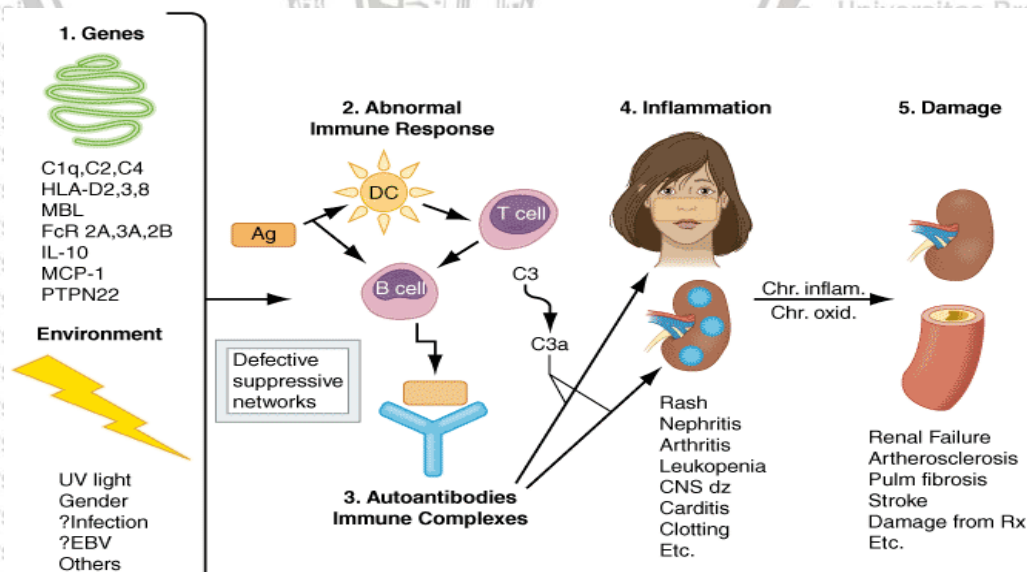


## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Nefritis Lupus

Nefritis Lupus adalah salah satu manifestasi yang paling serius dan merupakan salah satu target organ dari LES dan merupakan prediktor utama untuk morbiditas dan mortalitas penderita LES. Keterlibatan ginjal dijumpai pada 40-75% penderita yang sebagian besar terjadi setelah 5 tahun menderita LES (Brent & Hamed, 2008). Diagnosis klinis NL di tegakkan 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% (Schur, 2005).

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



Gambar 2.1 Proses Terjadinya Nefritis Lupus (Gill, 2003).

**Keterangan:** Interaksi gen-lingkungan menghasilkan respon imun abnormal yang menghasilkan autoantibody pathogen dan deposisi kompleks imun pada jaringan, komplemen aktif, menyebabkan inflamasi dan lama kelamaan mengakibatkan kerusakan organ irreversible. Ag, antigen; C1q, complement system; C3, complement component; CNS, central nervous system; DC, dendritic cell; EBV, Epstein-Barr virus; HLA, human leukocyte antigen; FcR, immunoglobulin Fc-binding receptor; IL, interleukin; MBL, mannose-binding ligand; MCP, monocyte chemotactic protein; PTPN, phosphotyrosine phosphatase; UV, ultraviolet.

## 2.2. Epidemiologi Nefritis Lupus

*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%). PESLI (Perhimpunan SLE Indonesia) 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. Perkiraan prevalensi keterlibatan ginjal secara klinis pada pasien LES berkisar antara 30%-90% (Rus, 2007). 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), lupus nefritis juga lebih sering dijumpai pada wanita (Ardoin, 2008) (Rahman, 2008). 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) (Mok, 2003).



Selama 4 dekade terakhir, perubahan dari manajemen nefritis lupus telah banyak meningkatkan kemungkinan hidup pasien. Saat ini rata-rata *10-year survival rate* dari LES telah melebihi 90%. Sebelum tahun 1955, *5-year survival rate* 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 (Wening, 2004).

### 2.3 Faktor – faktor yang berperan pada terjadinya Nefritis Lupus

Keterlibatan ginjal ternyata lebih banyak didapatkan pada penderita LES anak-anak dibandingkan dengan penderita yang didiagnosis LES saat dewasa, namun pada penderita yang didiagnosis LES pada usia lanjut (di atas 50 tahun) ternyata memiliki gambaran aktifitas penyakit dan kerusakan yang lebih berat dibandingkan dengan penderita yang *early onset* (Santucci, 2013). Pada penelitian-penelitian sebelumnya banyak yang menyatakan semakin muda onset terkena NL akan berhubungan dengan prognosis yang buruk (Dooley, 2007). Pada penderita LES dilaporkan lebih sering pada usia produktif, hal ini disebabkan karena adanya keterlibatan hormon estrogen pada perkembangan dan perjalanan penyakit Lupus. Tetapi ada beberapa penelitian yang menyebutkan komplikasi ginjal lebih banyak didapatkan pada penderita laki-laki dibandingkan dengan wanita. Jenis kelamin laki-laki merupakan faktor resiko terjadinya progresifitas gagal ginjal pada penderita NL (Brunner, 2008).

Definisi dari usia saat onset NL ternyata berbeda pada banyak studi. Ada yang mendefinisikan usia saat dilakukan biopsi ginjal yang terbukti sebagai NL dan ada pula yang mendefinisikan adanya manifestasi klinis renal yang berupa

proteinuria, hematuria dan peningkatan kreatinin sebagai gejala dan tanda onset terjadinya NL. Namun saat ini banyak studi yang bersepakat tentang definisi onset NL adalah onset pada saat dilakukan biopsi ginjal dan terbukti NL (Handono, 2010).

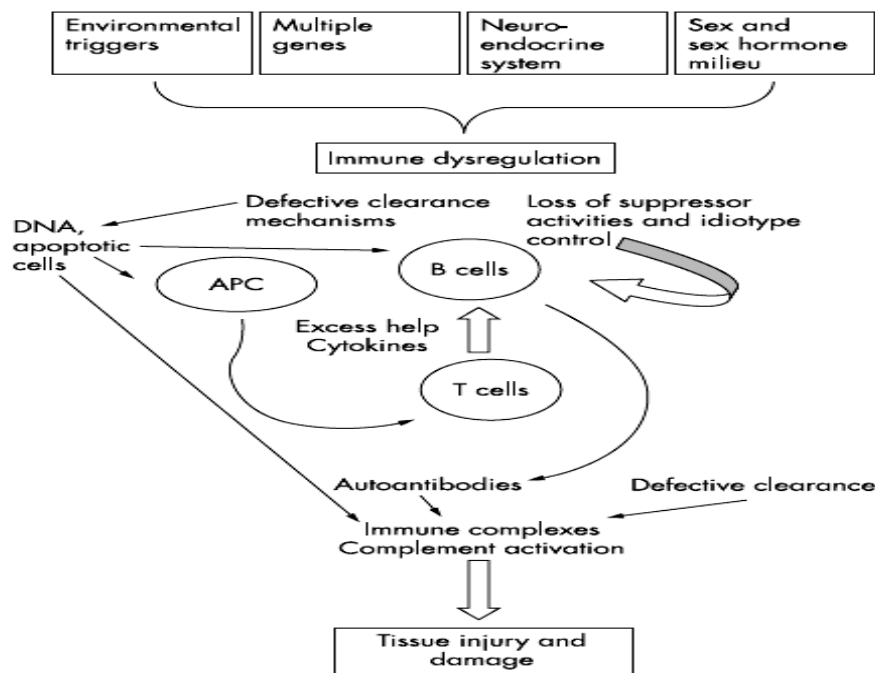
#### 2.4 Etiologi Nefritis Lupus

Nefritis Lupus (NL) terjadi ketika antibodi (*Anti Nuklear Antibody*) dan komplemen menyebabkan terjadinya proses peradangan di ginjal. Terjadi deposit *autoimmune-compleks* yang menyebabkan fungsi ginjal terganggu. Hal tersebut biasanya mengakibatkan terjadinya sindrom nefrotik (ekskresi protein yang besar) dan cepat menjadi gagal ginjal. Produk nitrogen sisa terlepas kedalam aliran darah. *Systemic Lupus Erythematosus* (SLE) menyerang berbagai struktur internal dari ginjal, meliputi nefritis interstitial dan glomerulonefritis membranosa. Nefritis lupus mengenai 2 dari 10 ribu orang. Pada anak dengan SLE, sekitar setengahnya akan mengakibatkan terjadinya progresifitas menjadi gagal ginjal (West, 2007).

#### 2.5 Patogenesis Nefritis Lupus

Berbagai faktor diduga ikut berperan terhadap terjadinya LES. Pasien-pasien LES menunjukkan kaitan familial yang kuat dan hal ini menunjukkan adanya keterkaitan genetik. Pada pasien LES terjadi gangguan sistem imun yang melibatkan sel B, sel T, dan sel-sel monositik, mengakibatkan terjadinya aktivasi sel B poliklonal, peningkatan jumlah sel-sel yang memproduksi antibodi, hipergammaglobulinemia, produksi autoantibodi, dan pembentukan kompleks imun. Sel T yang teraktivasi akan menstimulasi sel B sehingga memproduksi autoantibodi yang patogen (Mok, 2003).





**Gambar 2.2. Patogenesis Lupus Eritematosus Sistemik (Mok, 2003).**

Keterangan: faktor-faktor yang berperan pada patogenesis SLE yaitu pengaruh lingkungan, beberapa gen rentan terhadap perkembangan penyakit, jenis kelamin dan hormon estrogen, HPA axis, dan *immune dysregulasi*, seperti *clearance* sel apoptotic dan kompleks imun, mengubah kerentanan ini. Hilangnya toleransi kekebalan tubuh, peningkatan antigenik, sel *T-helper* berlebih, supresi sel B yang rusak, dan pergeseran respon imun Th1 ke Th2 menyebabkan ketidakseimbangan sitokin, hiperaktivitas sel B, dan produksi autoantibodi patogenik.

Beberapa gen rentan terhadap perkembangan penyakit, ditambah dengan adanya interaksi berbagai faktor seperti jenis kelamin, *milie* hormon, *Hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis* dan regulasi kekebalan tubuh yang rusak seperti klirens sel apoptotic dan kompleks imun, memudahkan kerentanan ini. Faktor presipitasi timbulnya penyakit ini adalah kehilangan fungsi *immune tolerance*, meningkatnya jumlah antigen, *T-helper* yang berlebih, supresi sel B yang rusak, hiperaktivitas sel B, pergeseran Th1 ke Th2 yang mengakibatkan ketidakseimbangan sitokin, dan produksi autoantibodi patogen dan terakhir adanya faktor lingkungan (Molino, 2009).

Keterlibatan glomerulus dalam LES sering dianggap sebagai prototipe kompleks kekebalan kronis klasik yang menginduksi glomerulonefritis seperti yang dijelaskan oleh model eksperimental. Tiga mekanisme utama deposisi imun di ginjal yang telah diidentifikasi: (1) pengikatan autoantibodi pada autoantigen non glomerular yang telah ada sebelumnya di glomerulus, (2) pengikatan autoantibodi terhadap antigen glomerulus intrinsik, (3) deposisi kompleks imun yang beredar. Mekanisme ini tidak saling berdiri sendiri dan masing-masing dapat memberikan kontribusi pada berbagai derajat patogenesis NL dalam individu tertentu (Contreras, 2005). Tanda utama pada NL adalah deposisi imunoglobulin pada membran glomerulus dan tubulus serta adanya respon inflamasi lokal (Hahn, 2012).

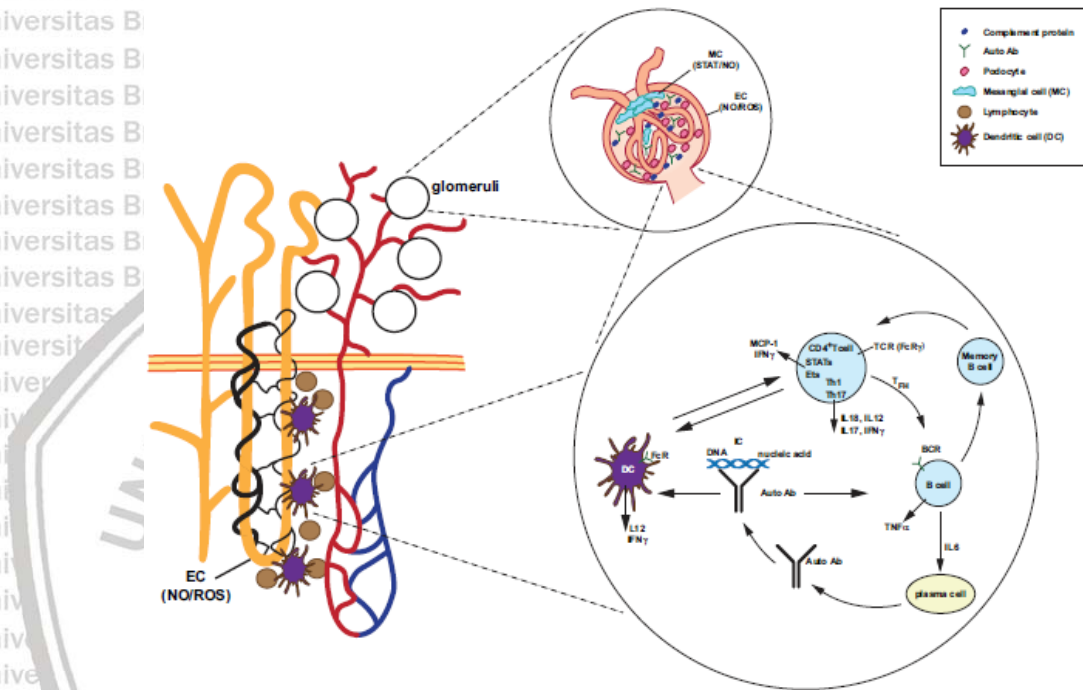
Beberapa abnormalitas imunologi muncul pada LES, namun masih belum jelas faktor mana yang berpengaruh langsung terhadap patogenesis NL. LES merupakan penyakit dimana terjadi disregulasi sistem imun yang menyebabkan hilangnya *self tolerance* dan respon autoimun (Contreras, 2005). Demikian pula pada patogenesis NL ditandai oleh hilangnya *self tolerance* sehingga terbentuk autoantibodi yang kemudian terdeposit di ginjal dan menimbulkan aktivitas komplemen dan reaksi inflamasi yang menimbulkan glomerulonefritis (Yung, 2008).

Autoantibodi dan kompleks imun merupakan mediator yang penting. Deposit kompleks imun dengan komplemen, *Toll-Like Receptor* (TLR) dan atau aktivitas FcγR memicu sel glomerulus imun aktif intrinsik untuk melepaskan sitokin inflamasi dan kemokin kemoatraktan (Dooley, 2007). Autoimunitas memegang peranan penting terhadap pathogenesis NL. Mekanisme imunologis yang mencakup produksi dari autoantibodi dimana karakteristik dari autoantibodi



nefritogenik yang berhubungan dengan NL adalah sebagai berikut (Weening, 2004).

Berikut ini gambaran kerusakan ginjal pada NL seperti yang dijelaskan pada gambar 2.2 di bawah ini.



**Gambar 2.3 Mekanisme kerusakan ginjal pada nefritis lupus (Nowling, 2011)**

Keterangan: Deposisi autoantibodi di ginjal, paparan mediator inflamasi sirkulasi dan aktivasi kaskade komplemen memulai program inflamasi yang melibatkan peningkatan regulasi molekul adhesi pada sel endotel, aktivasi sel ginjal intrinsik, induksi kemokin dan perekrutan sel inflamasi yang merilis sitokin dan molekul lain. Hasil cedera podosit berupa proteinuria dan penurunan produksi membran basalis glomerular, yang merusak pembuluh darah. Trombosis mikrovaskular dan kematian sel endotel berkontribusi terhadap hipoksia ginjal, yang pada gilirannya menyebabkan atrofi tubulus. Peradangan yang progresif semakin meningkatkan beragam mediator inflamasi yang memperkuat cedera. Aktivasi sel endotel dan aktivasi sel dendritik ginjal reversibel pada nefritis tahap awal, namun aktivasi jalur fibrosis dan sel miofibroblas otot polos, dan hilangnya podosit yang progresif akhirnya mengakibatkan kerusakan ginjal ireversibel.

Autoantibodi ini akan membentuk kompleks imun patogenik intravaskular, yang akan terdeposit pada glomerular atau autoantibodi ini mungkin berikatan dengan antigen yang telah berada pada membran basal glomerular, membentuk kompleks imun insitu. Kompleks imun ini akan merangsang respon inflamasi

dengan mengaktifkan komplemen dan menarik sel inflamasi, termasuk limfosit, makrofag, dan netrofil (Susianti, 2012). Begitu kompleks imun telah terdeposit, maka kaskade komplemen yang akan menimbulkan kerusakan lebih lanjut, aktivasi dari faktor-faktor koagulan, infiltrasi monosit dan neutrophil, dilepaskannya enzim-enzim proteolitik dan perluasan dari berbagai sitokin menyebabkan proliferasi sel-sel glomerular dan sintesis matrik.

Tahap pertama dari NL mencakup produksi autoantibodi yang merupakan respon terhadap antigen diikuti dengan formasi kompleks imun di glomerulus.

Kompleks imun mengaktifkan komplemen dan mengaktifkan sel intrinsik ginjal yaitu sel mesangial (MC) dan endotel (EC) yang keduanya merangsang kemokin dan sitokin inflamasi. Ekspresi kemokin mengakibatkan masuknya sel inflamasi seperti limfosit dan makrofag. Disisi lain masuknya sel imun ke intersisial akan mengakibatkan inflamasi di glomerulus dan aktivasi sel endotelial. Aktivasi sel renal (MC dan podosit) dan infiltrasi sel imun (makrofag dan dendrit) memproduksi *Reactive Nitrogen (Nitric Oxide (NO))* dan *Reactive Oxygen Species (ROS)*.

Kombinasi ekspresi sitokin dan ROS menghasilkan inflamasi di ginjal lebih lanjut dan fibrosis, baik pada glomerulus maupun tubulus. Interaksi limfosit dan fungsinya seperti ekspresi sitokin dan produksi antibodi berkontribusi pada inflamasi dan kerusakan tubulus dan glomerulus (Dooley, 2007).

Kompleks imun yang terdeposit di ginjal akan menimbulkan kaskade komplemen yang akan menimbulkan kerusakan lebih lanjut, aktivasi faktor-faktor koagulan, infiltrasi monosit dan neutrofil, dilepaskannya enzim-enzim proteolitik dan penyebaran berbagai sitokin yang menyebabkan proliferasi sel-sel glomerular dan sintesa matrik. Adanya *influk* ke renal dari *FcR-bearing cell* sebagai sel efektor pada NL merupakan bagian yang penting pada permulaan NL. *Chemoattractans*

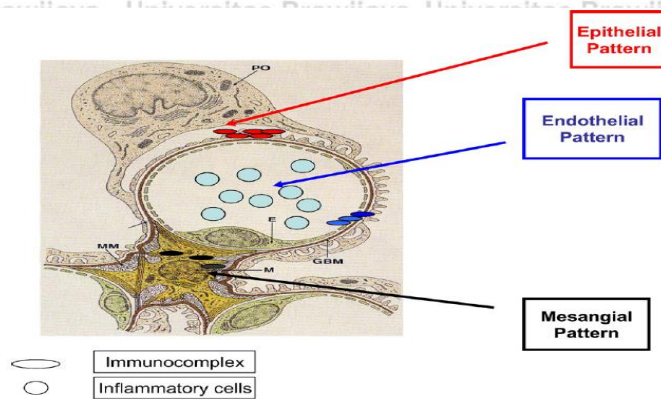


yang penting dalam patogenesis ini antara lain *Colony-Stimulating Factor*, *VCAM-1*, *ICAM-1*, *MCP-1*, *RANTES* dan *Osteopontin* serta didapatkan adanya peningkatan sitokin-sitokin inflamasi dan fibrogenik pada nefritis aktif seperti *IL-1*, *IL-2*, *IL-6*, *TNF*, *IF*, *Endothelin-1* dan *TGF*. Adanya disregulasi sitokin ini mengakibatkan terjadinya proliferasi mesangial, gambaran formasi bulan sabit dan glomerulosklerosis progresif (Zhang, 2008). Kerusakan glomerulus dan vaskular lebih lanjut dapat diakibatkan oleh timbulnya hipertensi dan abnormalitas sistem koagulasi (Tarakemeh, 2002). Pada pasien NL, konsentrasi sitokin pro inflamasi lebih tinggi dibandingkan orang normal. Kadar serum *IL-6*, *IL-17*, *IL-12*, *IFN- $\gamma$* , *IL-18*, *IL-10*, dan *TNF- $\alpha$*  berhubungan dengan aktivitas penyakit (Avihingsanon, 2010). Infiltrasi ginjal oleh sel T, makrofag, dan sel dendritik memiliki peran yang penting dalam perkembangan dari NL menjadi gagal ginjal. Termasuk aktivitas *Th 17* yang memproduksi *IL-17* meningkat pada *periglomerular* dan *perivascular*. Namun, respon sel glomerulus terhadap *immune injury* berpengaruh pada hasil akhir penyakit ini (Gupta, 2005).

Perubahan morfologi ginjal pada pasien LES memiliki spektrum lesi yang luas, meliputi glomerulonefritis, vaskulopati dan penyakit tubulointerstitial.

Gambaran kerusakan pada glomerular tergantung pada tempat akumulasi imunoglobulin, spesifitas antigen, kemampuan untuk berikatan dan mengaktivasi komplemen serta mencetuskan respon inflamasi seluler (Hsieh, 2011). Gambaran kerusakan pada ginjal dapat dibagi menjadi tiga kelompok seperti pada gambar 2.3.





**Gambar 2.4. Gambaran kerusakan ginjal pada nefritis lupus (Molino, 2009)**

Keterangan: Deposit imun kompleks menyebabkan respon inflamasi sel berupa penghancuran barrier filtrasi glomerulus akibat kerusakan sel endotel glomerulus (EC), membran basal glomerulus (GBM), dan podosit (P), yang mengarah ke proteinuria dan hematuria, manifestasi klinis ciri lupus nefritis aktif.

Gambaran mesangial ditandai oleh hiperselularitas mesangial (minimal tiga sel mesangial per daerah mesangial dalam penampang dengan tebal tiga mikron) dan akumulasi matriks sebagai hasil dari akumulasi kompleks imun pada mesangial. Gambaran ini mirip gambaran yang terjadi pada nefropati IgA dan menyebabkan hematuria mikroskopik dan proteinuria subnephrotik dengan penurunan minimal LFG (laju filtrasi ginjal) (Hsieh, 2011).

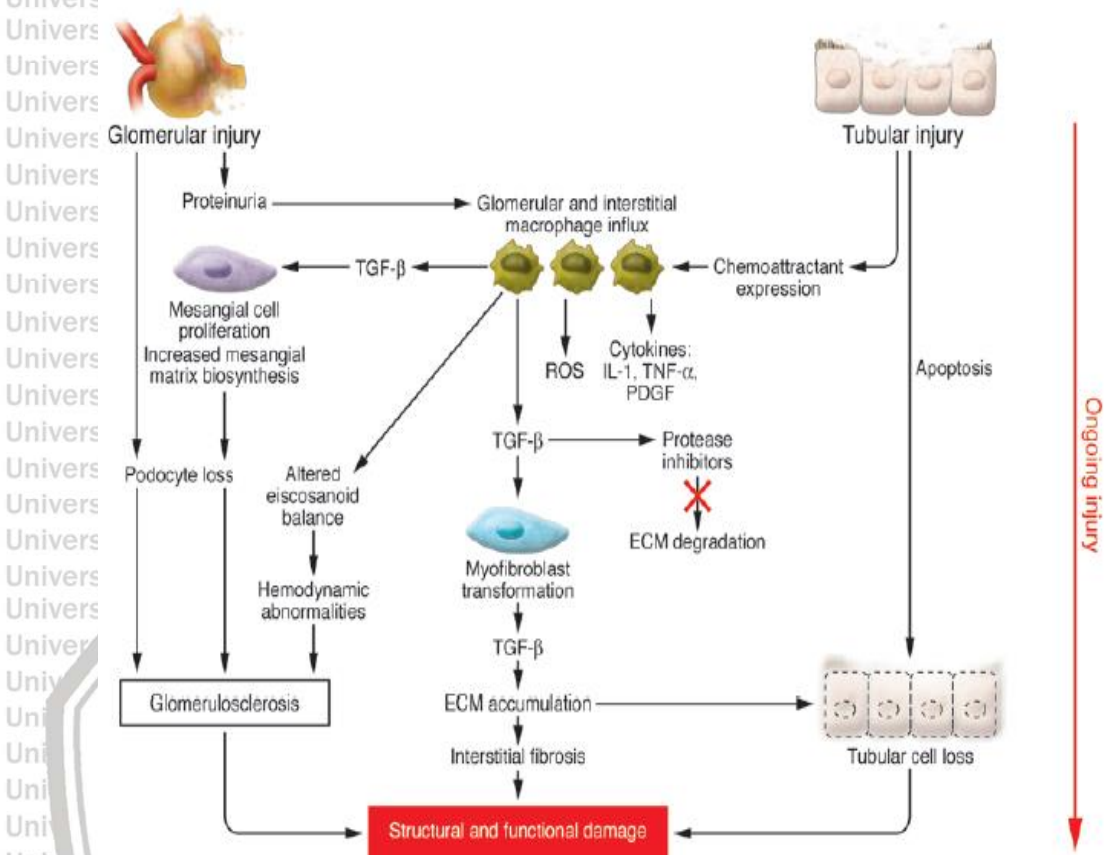
Gambaran endotelial direpresentasikan dengan adanya komponen eksudatif yang ditandai dengan akumulasi leukosit, kerusakan sel endotel dan proliferasi endokapiler serta sering terjadi bersamaan dengan kerusakan dinding kapiler, berbagai tingkat proliferasi mesangial dan formasi *crescent*. Akumulasi kompleks imun yang persisten pada ruang subendotelial dapat menyebabkan kerusakan yang lebih berat dan perubahan kronis, termasuk interposisi seluler dan replikasi membran *basement* glomerular (gambaran mesangiokapiler). Gambaran morfologi yang mirip dapat dijumpai pada glomerulonefritis post infeksi, penyakit membran *basement* antiglomerular, vaskulitis sistemik, hipertensi maligna, dan thrombosis mikroangiopati (Hsieh, 2011).



Gambaran epitelial ditandai adanya kerusakan autoantibodi dan komplemen sitotoksik pada podosit yang menghasilkan lesi non-eksudatif, nonproliferasif kapiler seperti yang didapatkan pada glomerulonefritis membranosa idiopatik. Gambaran ini berhubungan dengan proteinuria, nefrotik dengan penurunan LFG (laju filtrasi ginjal) yang gradual. Pada Nefritis Lupus adanya sering terjadi koeksistensi gambaran morfologi yang berbeda-beda sering terjadi sehingga menimbulkan gambaran klinis yang lebih kompleks (Hsieh, 2011).

Mekanisme fibrosis pada NL digambarkan pada gambar 2.4 di bawah ini. Degradasi matriks ekstraselular tergantung pada dua kunci system enzim yang saling berhubungan, yaitu matrix metalloproteinase (MMP) dan plasmin yang akan merusak kolagen seperti komponen matrik yang lain. MMP diaktifkan oleh aktifator plasminogen oleh urokinase-type dan tissue-type (tPA), kedua aktifator ini juga memecah plasminogen menjadi plasmin aktif. Plasmin aktif ini tidak hanya mengaktifasi MMP dan pembelahan matrik saja, tetapi juga mengaktifkan pemecahan fibrin. MMP9 mempunyai peran yang potensial untuk mengatur beberapa protein biologi aktif, seperti *profibrotic growth factor* seperti transforming growth factor (TGF- $\beta$ ). Peran berikutnya dalam meningkatkan fibrosis dipegang oleh *tissue inhibitor metalloproteinase* (TIMP) dan *plasminogen activator inhibitor 1* (PAI-1). Keduanya akan mengblok degradasi matrik pada tahapan selanjutnya dan berhubungan dengan influk makrofag yang penting pada proses perbaikan.

Keseimbangan proses degradasi dan deposisi ini akan berubah pada fibrosis yang progresif (contohnya pada NL). TGF- $\beta$  merupakan mediator utama pada fibrosis renal, pada stadium menengah dan akhir NL didapatkan kadar TGF- $\beta$  dan mediator profibrotik akan meningkat. TGF- $\beta$  mempunyai peran patologis pada NL, jumlahnya akan meningkat pada ginjal dan urine pasien NL (Ricardo, 2008).



**Gambar 2.5** kerusakan struktur dan fungsi ginjal (Ricardo, 2008)

Keterangan: Ikatan antibodi anti-dsDNA patogenik ke sel-sel ginjal glomerular dan tubulointerstitial berkontribusi pada proliferasi sel, dan proses inflamasi, apoptosis dan fibrogenik. Jika tidak terkontrol, penghancuran parenkim ginjal normal dan penggantinya dengan jaringan fibrosis akan menyebabkan gagal ginjal stadium akhir.

## 2.6 Gambaran Klinis Nefritis Lupus

Pada pasien LES yang disertai dengan NL, biasanya juga didapatkan adanya gejala-gejala LES lainnya seperti kelemahan, demam, malar rash arthritis, serositis, limfadenopati, hipertensi dan peningkatan anti-DNA serta rendahnya kadar C3 (Tarakemeh, 2002). Gejala-gejala ini (NL yang simptomatik/ overt nefritis lupus) lebih umum didapatkan pada NL kelas proliferasi fokal dan proliferasi difus.

Sedangkan pada penderita NL asimtomatik biasa didapatkan pada NL dengan kelas mesangial atau membranous (Susianti, 2012). Penelitian yang dilakukan oleh Wallace pada 570 pasien LES, menyimpulkan bahwa NL lebih sering



didapatkan pada mereka dengan riwayat keluarga dengan LES, anemia, laju endap darah dan kadar kolesterol serta trigliserida yang tinggi, ANA yang positif, anti-dsDNA yang tinggi serta kadar albumin serum, komplemen C3 dan C4 yang rendah (Susianti, 2015).

Pada saat diagnosis awal LES ternyata 50% pasien mempunyai hasil urinalisis yang abnormal dengan atau tanpa disertai oleh peningkatan serum kreatinin. Selama perjalanan penyakitnya, sekitar 75% dari semua pasien LES akan menunjukkan tanda-tanda keterlibatan ginjal, dengan kelainan pada pemeriksaan urine (proteinuria 80%), hematuria (40%) atau penurunan laju filtrasi glomerulus yang tercermin dari klirens kreatininnya. Onset dari NL ini seringkali bersifat asimtomatik, sehingga diperlukan suatu skrining urinalisis pada pasien LES. Pasien dapat datang dengan keluhan urine yang berbusa (proteinuria), nokturia (disfungsi tubular), sindroma nefrotik atau sindroma nefritik dengan hipertensi, yang kesemuanya bergantung pada tingkat deposit imun dan inflamasi pada glomerulus (Zhang, 2008).

Beberapa kepustakaan mengatakan bahwa gambaran klinis NL hanya terdapat pada sekitar duapertiga pasien yang dinamakan dengan *overt* nefritis lupus (OLN) namun banyak juga studi yang dilakukan sejak tahun 1970 yang membuktikan bahwa lebih besar lagi persentase mereka yang secara histopatologi terdapat kelainan, namun secara klinis tidak didapatkan manifestasi. Kondisi ini disebut sebagai *Silent Lupus Nephritis (SLN)* dan hanya dapat didiagnosa jika biopsi dilakukan secara sistematis (Tarakemeh, 2002). Zabaletta dkk menyimpulkan bahwa SLN terdapat pada 97,6% pasien yang tidak menunjukkan gejala klinis.

Studi ini juga didukung oleh beberapa studi sebelumnya dan setelahnya (Adler, 2006). Lesi ginjal yang ditemukan pada pasien yang tidak disertai dengan

gambaran klinis tidak berhubungan dengan lamanya penyakit LES, usia pasien, jenis kelamin, dan juga beratnya kelainan LES lainnya di luar ginjal yang dinilai dengan SLEDAI, namun berhubungan dengan kadar anti dsDNA, tingginya kadar CIC dan penurunan kadar CH<sup>50</sup> dan C3 (Adler, 2006).

Hipertensi sering didapatkan pada pasien dengan NL dan berperan penting pada progresifitas dari kerusakan ginjal. Beberapa studi menyimpulkan hipertensi merupakan prediktor *renal outcome* yang buruk. Gejala-gejala lain yang berhubungan dengan hipertensi antara lain kepala, pusing, gangguan penglihatan, dan tanda gagal jantung (Weening, 2004).

**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 urine

IIa Proteinuria tanpa kelainan pada sedimen urine



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, dan penurunan fungsi ginjal.

IV Hematuria dan proteinuria ditemukan pada seluruh pasien, sedangkan sindrom nefrotik, hipertensi dan penurunan fungsi ginjal ditemukan pada hampir seluruh pasien.

V Sindrom nefrotik ditemukan pada seluruh pasien, sebagian dengan hematuria atau hipertensi akan tetapi fungsi ginjal masih normal atau sedikit menurun

## 2.7 Klasifikasi Nefritis Lupus

Histologi ginjal berperan penting dalam mendiagnosis NL karena dapat menunjukkan lesi glomerulus seperti formasi *crescentic* atau *fibrinoid necrosis* yang dihubungkan dengan luaran yang buruk serta dapat digunakan untuk optimalisasi terapi yang diberikan (Zhang, 2008).

Klippel menggambarkan lima jenis NL secara klinis: NL yang tersembunyi (*silent nephritis*), nefritis kronik aktif, nefritis progresif cepat, sindrom nefrotik, dan gagal ginjal progresif. Subtipe klinis ini mencerminkan keragaman ekspresi klinis yang luar biasa pada NL. NL mesangial sering disertai dengan temuan diagnostik yang normal atau tingkat proteinuria yang ringan, tetapi biasanya tidak didapatkan hipertensi atau sedimen urine yang abnormal. Glomerulonefritis lupus *focal* dan *diffuse* sering dikaitkan dengan prognosis yang buruk dari ginjal dan dapat disertai dengan sindrom nefrotik, hipertensi yang signifikan, dan sedimen urine yang

abnormal. NL membranosa sering ditandai dengan proteinuria sedang-berat, tanpa hematuria atau casts dan sering tidak disertai dengan hipertensi. Sebagian besar pasien memiliki prognosis yang baik dan fungsi ginjal yang relatif terpelihara. Namun, pada sepertiga pasien, sering didapatkan proteinuria nefrotik persisten, lupus nefropati membranosa yang dapat menyebabkan fungsi ginjal menurun dan penyakit ginjal stadium akhir atau gagal ginjal kronik stadium 5 (Contreras, 2005).

Sistem klasifikasi disusun untuk mendapatkan suatu keseragaman dalam pelaporan dan penelitian maka dibuatlah klasifikasi histopatologi ginjal pasien dengan NL oleh WHO pertama kali yang disusun pada tahun 1974, yang kemudian dilakukan revisi pada tahun 1982 dan terakhir direvisi pada tahun 1995. Klasifikasi WHO tahun 1982 membagi Nefritis Lupus dalam 6 kelas dan penambahan subkelas yang relatif banyak tergantung dari pola distribusi, aktifitas dan kronisitas dari lesi (D'Agati, 2007). Meskipun klasifikasi ini lebih detail dan tepat, namun tidak diterima secara luas oleh karena dengan penambahan sub kelas menimbulkan kompleksitas yang besar (Gigante, 2011).



**Tabel 2.2 Klasifikasi Nefritis Lupus (WHO, 2003)**

Kelas	Deskripsi
I	Glomerulus normal (dengan pemeriksaan mikroskop cahaya, imunofluoresen, mikroskop elektron)
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

**Tabel 2.3 International Society of Nephrology/Renal Pathology Society (ISN/RPS) 2003 Classification of Lupus Nephritis**

<p><b>Kelas I : Minimal Mesangial</b></p> <p>Glomerulus tampak normal dengan mikroskop cahaya, tetapi dengan <i>immunofluorescence</i> tampak adanya deposit imun pada mesangial</p>
<p><b>Kelas II : Mesangial Proliferative</b></p> <p>Hiperseluler mesangial murni dengan berbagai derajat atau ekspansi matriks mesangial yang tampak dengan mikroskop cahaya, dengan deposit imun mesangial. Sedikit deposit subepitel atau subendotel dapat tampak dengan <i>immunofluorescence</i> atau mikroskop elektron</p>
<p><b>Kelas III : Focal Lupus Nephritis</b></p> <p>Glomerulonefritis endo atau ekstra kapiler fokal aktif atau inaktif, segmental atau global yang melibatkan &lt;50% dari seluruh glomerulus umumnya terdapat deposit imun subendotel fokal, dengan atau tanpa perubahan pada mesangial</p> <p>Kelas III (A) : lesi fokal proliferasi aktif</p> <p>Kelas III (A/C) : lesi fokal proliferasi aktif dan kronik dan sklerosis</p> <p>Kelas III (C) : lesi kronik inaktif dengan scar pada glomerulus-sklerosis fokal</p>
<p><b>Kelas IV : Diffuse Lupus Nephritis</b></p> <p>Glomerulonefritis endo atau ekstra kapiler difus aktif atau inaktif, segmental atau global yang melibatkan 50% dari seluruh glomerulus, umumnya terdapat deposit imun subendotel difus, dengan atau tanpa perubahan pada mesangial. Kelas ini dibagi menjadi <i>diffuse segmental (IV-S)</i>, jika 50% dari glomerulus yang terlibat memiliki lesi segmental, dan <i>diffuse global (IV-G)</i> jika 50% dari glomerulus yang terlibat memiliki lesi global. Segmental didefinisikan sebagai lesi glomerulus yang melibatkan &lt; 1/2 <i>glomerular tuft</i>. Kelas ini meliputi kasus dengan <i>diffuse wire loop deposits</i> tetapi tanpa atau dengan proliferasi glomerulus minimal</p> <p>Kelas IV-S (A) : lesi aktif-<i>diffuse segmental proliferative</i></p> <p>Kelas IV-G (A) : lesi aktif-<i>diffuse global proliferative and sclerosing</i></p> <p>Kelas IV-S (A/C) : lesi aktif dan kronis -<i>diffuse segmental proliferative and sclerosing</i></p> <p>Kelas IV-G (A/C) : lesi aktif dan kronis-<i>diffuse global proliferative and sclerosing</i></p> <p>Kelas IV-S (C) : lesi kronik inaktif dengan scar-<i>diffuse segmental sclerosing</i></p> <p>Kelas IV-G (C) : lesi kronik inaktif dengan scar-<i>diffuse global sclerosing</i></p>
<p><b>Kelas V : Membranous Lupus Nephritis</b></p> <p>Imun deposit subepitel global atau segmental atau <i>morphologic sequelae</i>-nya dengan mikroskop cahaya dan <i>immunofluorescence</i> atau mikroskop elektron, dengan atau tanpa perubahan mesangial. Kelas V ini dapat terjadi bersamaan dengan kelas III atau IV, dimana keduanya didiagnosis. Kelas V ini dapat menunjukkan sklerosis lanjut</p>
<p><b>Kelas VI : Advanced Sclerotic Lupus Nephritis</b></p> <p>≥90% glomerulus mengalami sklerosis global tanpa aktifitas residual</p>



Tabel 2.3 merupakan klasifikasi yang relatif baru, yang dikeluarkan oleh *International Society of Nephrology (ISN) and The Renal Pathology Society (RPS)* pada tahun 2003, yang sebenarnya merupakan modifikasi dan klasifikasi WHO dengan memberikan penambahan pada subkelas pada kelas VI NL. Klasifikasi inilah yang sekarang banyak dianut oleh karena tetap mempertahankan kriteria standarisasi patologi dan perbedaan yang jelas di antara masing-masing kelas (Bagavanta, 2009).

Sebagai tambahan klasifikasi patologis, aktivitas dan kronisitasnya secara patologis dan secara prediksi untuk penentuan prognosis ginjalnya (progresi dari penyakit ginjal). Indeks aktivitas merefleksikan keadaan inflamasi aktif yang diperoleh dari biopsi, yang *reversible* dengan terapi obat. Indeks kronisitas merefleksikan banyaknya fibrosis dan jaringan parut / nekrosis yang tidak berespon terhadap terapi. Lesi ginjal dengan indeks aktivitas yang tinggi lebih merupakan respon terapi yang agresif dimana lesi ginjal yang kronisitasnya tinggi tidak respon (Molino, 2009).

**Tabel 2.4 Gambaran Patologi untuk Penilaian NL Aktif atau Kronik**

	Indeks aktivitas / lesi aktif	Indeks kronisitas / lesi kronik
<b>Glomerulus</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Proliferasi endokapiler</li> <li>- Infiltrasi lekosit</li> <li>- Deposit hialin subendotel</li> <li>- Nekrosis fibrinoid / karioreksis</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Sklerosis glomerulus (<i>glomerulosclerosis</i>)</li> <li>- Bentuk <i>crescent</i> fibrosis (<i>fibrosis crescent</i>)</li> </ul>
<b>Tubulo-interstitial</b>	Inflamasi interstisial	

Pengobatan yang agresif akan memberikan gejala-gejala yang merupakan perubahan histopatologi aktif. Tanda-tanda kronisitas menunjukkan tidak reversibelnya pengobatan atau terapi agresif yang kurang berhasil. Indeks

aktivitas dan kronisitas dievaluasi pada lesi ginjal yang mungkin mentransformasi dari kelas 1 ke kelas yang lain secara spontan / pengobatan (Chen, 2008).

## 2.8 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 (urine yang diambil harus segar), Faal ginjal/LFG dengan cara mengukur klirens kreatinin tes 24 jam, Elektroforesis protein, Profil lipid dan 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) dan Imunoglobulin serum (Suyono, 2007).

Petanda biologik yang selama ini digunakan pada NL (petanda biologik konvensional) adalah pemeriksaan sedimen urine, 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).



Pada umumnya ANA kurang mempunyai hubungan dengan derajat kerusakan lesi ginjal dan tidak membantu untuk memantau respon terapi dan prognosis. Tes anti-dsDNA (anti *double-stranded* DNA) lebih spesifik tetapi kurang sensitif untuk LES. Tes ini positif pada kira-kira 75% pasien LES aktif yang belum diobati. Dapat diperiksa dengan teknik *radioimmunoassay* Farr atau teknik ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*). Tes anti-ds DNA mempunyai korelasi yang baik dengan adanya kelainan ginjal. Pemeriksaan lain adalah antibodi anti-ribonuklear, seperti anti-Sm dan anti-nRNP. Antibodi anti-Sm meskipun sangat spesifik untuk LES, tetapi hanya ditemukan pada 25% pasien lupus. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa antibodi anti-Sm mempunyai hubungan dengan peningkatan insidens penyakit ginjal dan susunan saraf pusat serta prognosis yang buruk. Antibodi anti-nRNP ditemukan pada 35% pasien LES, juga pada penyakit-penyakit reumatologik terutama penyakit jaringan ikat (Congress of SLE, 2007).

Aktivasi sistem komplemen sering dipantau pada NL. Konsentrasi komplemen C3 dan C4 serum biasanya rendah pada fase aktif. Konsentrasi komplemen serum ini tidak mempunyai hubungan dengan derajat penyakitnya. Kadar C3 dan C4 sering sudah di bawah normal sebelum gejala lupus bermanifestasi. Konsentrasi C3 dan C4 menurun bila terdapat eksaserbasi akut dari lupus tetapi normalisasi kadar komplemen dihubungkan dengan perbaikan NL. Defisiensi komplemen lain seperti C1r, C1s, C2, C5, dan C8 juga didapatkan pada LES dan kadar komplemen total kemungkinan tetap di bawah normal meskipun penyakit dalam keadaan in aktif (Mok, 2010).

*Circulating immune complex* sering ditemukan meningkat pada pasien yang masih aktif tetapi tidak dapat dipakai untuk menentukan derajat penyakit

maupun panduan terapi dan prognosis karena juga dapat dideteksi pada berbagai penyakit autoimun lain. Banyak pemeriksaan antibodi anti nukleus pada NL walaupun spesifisitasnya masih terbatas.

## 2.9 Diagnosis Nefritis Lupus

Diagnosis dini dan terapi awal sedini mungkin dilakukan sebelum terjadi kerusakan ginjal permanen terjadi merupakan faktor kunci untuk *outcome* yang lebih baik (Mok, 2010). Kriteria yang diterima luas untuk diagnosis NL adalah kriteria yang dikeluarkan oleh American College of Rheumatology (ACR) (Yung, 2008).

Kriteria adanya gangguan ginjal / nefritis lupus adalah :

- a. Proteinuria yang menetap atau lebih besar dari 0,5 gram perhari (atau pada pemeriksaan dipstik didapatkan 3 +) dan/atau
- b. Adanya seluler cast termasuk sel darah merah, hemoglobin, granular, tubular atau keduanya), yang bisa diganti dengan sedimen urine aktif (>5 sel darah merah/lpb), (>5 leukosit/lpb) tanpa adanya infeksi atau seluler cast (sel darah merah atau sel darah putih) (Chen, 2008).

Kriteria NL ini mempunyai sensitifitas 51% dan spesifitas 94% (Nowling, 2011). Kriteria ini penting untuk melakukan klasifikasi pasien LES dengan NL sebagai standar inklusi riset (Jakes, 2012). Bahkan pada rekomendasi ACR tahun 2012 menyatakan bahwa diagnosis NL dipertimbangkan berdasarkan pendapat dari ahli rematologi dan nefrologi (Jakes, 2012).

Dari kriteria ARA tahun 1997, dilakukan kajian kembali criteria LES, dan muncul kriteria baru yang dikeluarkan oleh Systemic Lupus International Collaborating Clinics (SLICC) pada tahun 2012, sebagai berikut :



**Tabel 2.5 Kriteria untuk LES Berdasarkan Kriteria Systemic Lupus International Collaborating Clinics (SLICC) 2012**

Clinical Criteria	Immunologic Criteria
1. Acute Cutaneous Lupus*	1. ANA
2. Chronic Cutaneous Lupus*	2. Anti-DNA
3. Oral or nasal ulcers *	3. Anti-Sm
4. Non-scarring alopecia	4. Antiphospholipid Ab *
5. Arthritis *	5. Low complement (C3, C4, CH50)
6. Serositis *	6. Direct Coombs' test (do not count in the presence of hemolytic anemia)
7. Renal *	
8. Neurologic *	
9. Hemolytic anemia	
10. Leukopenia *	
11. Thrombocytopenia (<100,000/mm <sup>3</sup> )	

Diagnosa LES minimal  $\geq 4$  kriteria (minimal 1 kriteria klinis dan 1 kriteria laboratorium) (Ortega, 2010).

**Tabel 2.6 Kriteria Diagnosis LES yang Direvisi oleh ARA Tahun 1997**

<i>Malar rash</i>	Eritema fixtum, datar atau meninggi, pada <i>malar eminences</i>
<i>Discoid rash</i>	Plak eritema sirkuler yang meninggi dengan <i>keratotic scaling</i> dan <i>follicular plugging</i> , dapat disertai scar atrofi
Fotosensitivitas	Paparan terhadap sinar ultraviolet dapat mencetuskan rash
Ulserasi oral	Meliputi ulserasi pada oral dan nasofaring
Artritis	Artritis non-erosif pada $\geq 2$ sendi perifer, disertai nyeri, bengkak atau efusi
Serositis	Pleuritis atau pericarditis yang tampak dari EKG (elektrokardiografi) atau <i>rub</i> atau adanya efusi
Gangguan ginjal	Proteinuria $> 0,5$ g/hari atau $\geq 3+$ , atau silinder seluler
Gangguan neurologis	Kejang atau psikosis tanpa penyebab yang jelas
Gangguan hematologi	Anemia hemolitik atau leukopenia ( $<4.000/\mu\text{L}$ ) atau limfopenia ( $<1.500/\mu\text{L}$ ) atau trombositopenia ( $<100.000/\mu\text{L}$ ) yang bukan disebabkan karena obat
Gangguan imunologi	Anti- <i>double strand</i> DNA (dsDNA), anti-Sm, dan/atau anti-fosfolipid
Antibodi antinuklear	Titer antibodi antinuklear (ANA) yang abnormal dengan <i>immunofluorescence</i> atau pemeriksaan yang serupa, yang dilakukan saat individu tidak mendapat terapi obat yang dapat menginduksi ANA

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%.

## 2.10 Biopsi Ginjal dan Silent Lupus Nephritis

Biopsi ginjal pada pasien LES dan beberapa bukti klinis dari penyakit ginjal penting untuk menegakkan diagnosis dan penatalaksanaan berikutnya. Biopsi ginjal juga berguna untuk menentukan level aktifitas, derajat kronisitas, dan keparahan dari penyakit. Biopsi awal menjadi dasar pemeriksaan yang dapat dibandingkan dengan beberapa biopsi selama perjalanan penyakit dan sebagai panduan terapi berikutnya (Tarakemeh, 2002). Biopsi menjadi "gold standard" dalam penegakan diagnosa NL, karena beberapa NL tidak menunjukkan gejala klinis ginjal. *Silent* NL telah dilaporkan tidak hanya pada NL kelas II akan tetapi pada NL kelas IV juga (Ortega, 2010). Meskipun pasien mengalami proteinuria ringan ataupun tidak mengalami proteinuria, hasil biopsi ternyata dapat menunjukkan bahwa ginjal telah mengalami kerusakan yang signifikan yaitu pada NL kelas III dan IV (Tarakemeh, 2002).

Pada NL biopsi ginjal adalah metode yang ideal untuk mempelajari aktifitas limfosit intrarenal, meskipun biopsi ginjal merupakan metode yang invasive dan memiliki komplikasi serta monitoring berkala yang sulit untuk dilakukan (Ortega 2010). Pada biopsi ginjal pola dan tingkat kerusakan ginjal sangat penting untuk diagnosis dan pemilihan terapi. Berdasarkan banyak model eksperimen dari autoimun dan penyakit imun kompleks pada ginjal dan observasi biopsi ginjal, saat ini telah diketahui bahwa pola imun kompleks glomerulus berhubungan dengan tempat akumulasi dari immunoglobulin, spesifitas antigen, kapasitas dalam



mengikat dan mengaktivasi komplemen dan protease, dan kemampuan dalam menceetus respon inflamasi seluler.

Kecurigaan pada nefritis lupus biasanya muncul dari temuan klinis dan laboratorium yang mengindikasikan kemungkinan bentuk aktif proliferaatif 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 proliferaatif 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 proliferaatif 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).

## 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 kurang optimal. 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 kekuatiran 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 proliferasif 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 nonasetilasi 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.

Berikan 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.

- Menggunakan 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. Baik siklofosamid dan *azathioprine* efektif untuk nefritis lupus proliferatif walaupun *siklofosamid* tampaknya lebih efektif dalam mencegah progresi ke ESRD.

*Mycophenolate mofetil* telah ditunjukkan cukup efektif dalam mengobati pasien-pasien ini dan dapat digunakan sendiri atau setelah 6 bulan *siklofosamid* intravena.

- Berikan *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 proliferatif 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 proliferasif, 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 *siklofosamid* biasanya direkomendasikan. Flare ginjal 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 flare ginjal sebagai peningkatan 30% dari kreatinin serum atau peningkatan 2,0 gram/hari dari proteinuria setelah terapi induksi. Pasien dengan indeks aktivitas tinggi dan adanya *karyorrhexis* lebih sering mengalami rekurensi penyakit. Ioannidis dkk mendefinisikan penyakit rekuren sebagai sedimen urine 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 akan 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 Nefritis Lupus

Biomarker yang telah ada seperti anti-dsDNA, C3, C4 ternyata memiliki sensitivitas dan spesifitas yang rendah untuk NL yaitu sekitar 49-79% (Suyono, 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 uIL-12 (sitokin proinflamasi), uNGAL dan rasio protein kreatinin (biomarker kerusakan ginjal) serta uTGF- $\beta$ 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 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 proteome berat molekul rendah (< 30 kDa) pada sampel

serial urin pasien NL sebagai biomarker prediktif adanya *flare* pada pasien NL (Zhang, 2008).

#### 2.14. Protein Spesifik Urine pada Nefritis Lupus

Urine saat ini 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 urine, 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 urine 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 urine spesifik pada penyakit dan kelas histopatologi tertentu. Untuk membedakan penyakit ginjal secara sensitif dan akurat, minimal 50 protein urine 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  $\alpha$ -1 glikoprotein,  $\alpha$ -1 mikroglobulin dan zink  $\alpha$ -2 glikoprotein (Rovin, 2007).

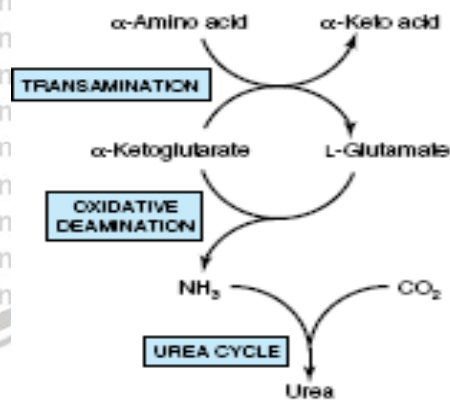
Penelitian lain yang dilakukan oleh Zhang dan kawan-kawan pada tahun 2008 berhasil menentukan proteome berat molekul rendah (< 30 kDa) pada sampel serial urine pasien NL sebagai biomarker prediktif adanya *flare* pada pasien NL. Ditemukan sekitar 176 protein yang mana beberapa diantaranya diekspresikan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

Ureum merupakan hasil metabolisme dari asam amino, dua molekul ammonia dan satu molekul karbon dioksida akan bergabung dan membentuk ureum. Rumus struktur ureum:



Biosintesis urea terdiri dari empat tahap yaitu transaminasi, oxidative deaminasi, transport ammonia dan urea cycle.



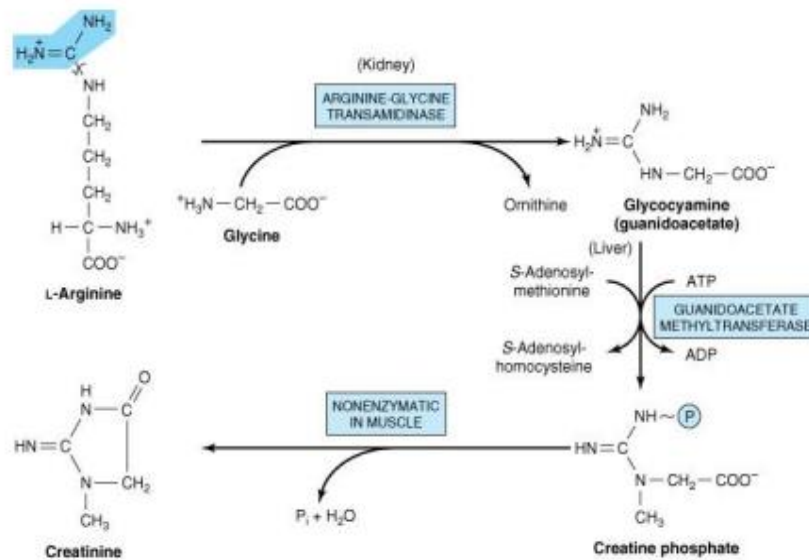
**Gambar 2.5 Biosintesis Urea (Santucci, 2013)**

Keterangan: biosintesis urea meliputi 4 tahap yaitu 1. Transaminasi, 2. Deaminasi oksidatif glutamat, 3. Transport amonia dan 4 siklus urea

Hasil pencernaan protein dalam saluran pencernaan hampir seluruhnya dipecah dalam bentuk asam amino, kemudian asam amino akan disimpan di dalam sel sampai saat akan digunakan untuk membentuk protein seluler. Proses transaminasi merupakan proses ketika radikal amino ditransfer ke asam  $\alpha$ -keto, apabila terdapat asam amino yang berlebihan di dalam sel maka akan terjadi proses deaminasi, proses deaminasi adalah pengeluaran gugus amino dari asam amino sehingga gugus amino tersebut dapat ditransfer ke zat lainnya, namun pada proses pelepasan tersebut juga akan menghasilkan ammonia yang akan dilepaskan dalam darah (Santucci, 2013). Ammonia yang dilepaskan selama deaminasi akan diubah menjadi urea, yaitu dengan cara penggabungan dua molekul ammonia dengan satu molekul karbon dioksida. Urea kemudian akan berdifusi dari sel hati masuk ke dalam cairan tubuh dan diekskresikan oleh ginjal (Visnathan, 2011).



Kreatinin merupakan substansi endogen dengan berat molekul 113 Da, kreatinin diproduksi oleh pemecahan keratinin di otot, proses enzimatik dan berasal dari makanan sehari-hari seperti daging. Rata-rata produksi keratinin sesuai dengan *creatine-phosphat pool* dan massa otot.



**Gambar 2.6 Biosintesa kreatinin (Santucci, 2013)**

Keterangan: kreatin disintesis dari 3 asam amino, glisin, arginin dan metionin. Reaksi pertama: transamidasi arginin jadi glisin membentuk glikosilamin di otot ginjal, bukan di hati dan jantung. Metilasi glikosilamin oleh "metionin aktif" jadi kreatin di hati

Ikatan antara kreatinin dan fosfat merupakan ikatan yang reversible. Ketika tubuh membutuhkan ATP maka ikatan antara kreatinin akan lepas karena fosfat dapat memberikan sejumlah ATP yang cukup untuk tubuh. Namun pada beberapa kreatinin memiliki sifat irreversible, ketika fosfat dilepaskan untuk mencukupi energi maka sisa metabolisme kreatinin akan diekskresikan melalui ginjal.

### 2.16 Faktor yang dapat mempengaruhi Kadar Ureum dan Kreatinin Serum

Nitrogen urea darah berasal dari penguraian protein, sehingga kadar protein dalam tubuh ataupun yang berasal dari asupan makanan dapat

mempengaruhi kadar ureum plasma. Faktor-faktor yang menyebabkan peningkatan dan penurunan kadar ureum dapat dilihat pada tabel 2.7 dan 2.8

**Tabel 2.7 Faktor Penyebab Kenaikan Ureum (Visnathan, 2011)**

Faktor	Penyebab
Pre renal	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hypovolemia, luka bakar, dehidrasi</li> <li>• Gagal jantung kongestif, infark myocardial akut</li> <li>• Perdarahan saluran cerna, asupan protein berlebih</li> </ul>
Renal	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Katabolisme protein berlebih</li> <li>• Penyakit ginjal (glomerulonefritis, pielonefritis, necrosis tubular akut)</li> </ul>
Post renal	<ul style="list-style-type: none"> <li>• obat-obatan yang bersifat nefrotoksik</li> <li>• Obstruksi ureter, obstruksi kandung kemih</li> </ul>

**Tabel 2.8 Faktor Penyebab Penurunan Ureum (Visnathan, 2011)**

Faktor	Penyebab	Mekanisme
Pre renal	Liver failure	Pembentukan ureum menurun karena gangguan fungsi hati
	Hidrasi berlebih	Pengenceran ureum meningkat
	Keseimbangan nitrogen negatif (malnutrisi, malabsorpsi)	
Renal	Sindroma nefrotik	Produksi ureum menurun Ureum menurun disebabkan kehilangan protein

Kreatinin merupakan hasil metabolisme kreatinin fosfat yang banyak terdapat di otot, oleh karena itu massa otot pada individu dapat mempengaruhi kadar kreatinin (Visnathan, 2011). Kreatinin serum akan meningkat setelah asupan makanan tinggi daging dan obat-obatan anti hipertensi yang memiliki efek terhadap angiotensin, obat NSAID, gentamicin dan beberapa obat yang bersifat nefrotoksik (Visnathan, 2011), selain itu terdapat faktor-faktor lain, faktor yang dapat mempengaruhi kadar kreatinin dapat dilihat pada tabel 2.9 dan 2.10.

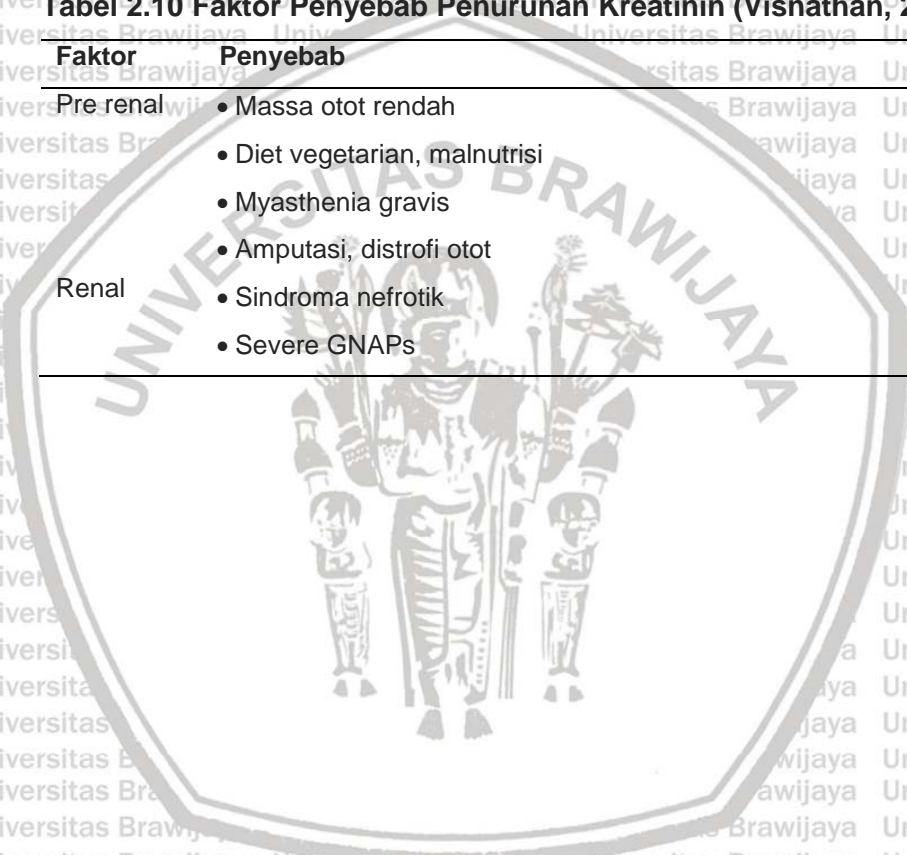


**Tabel 2.9 Faktor Penyebab Peningkatan Kreatinin (Visnathan, 2011)**

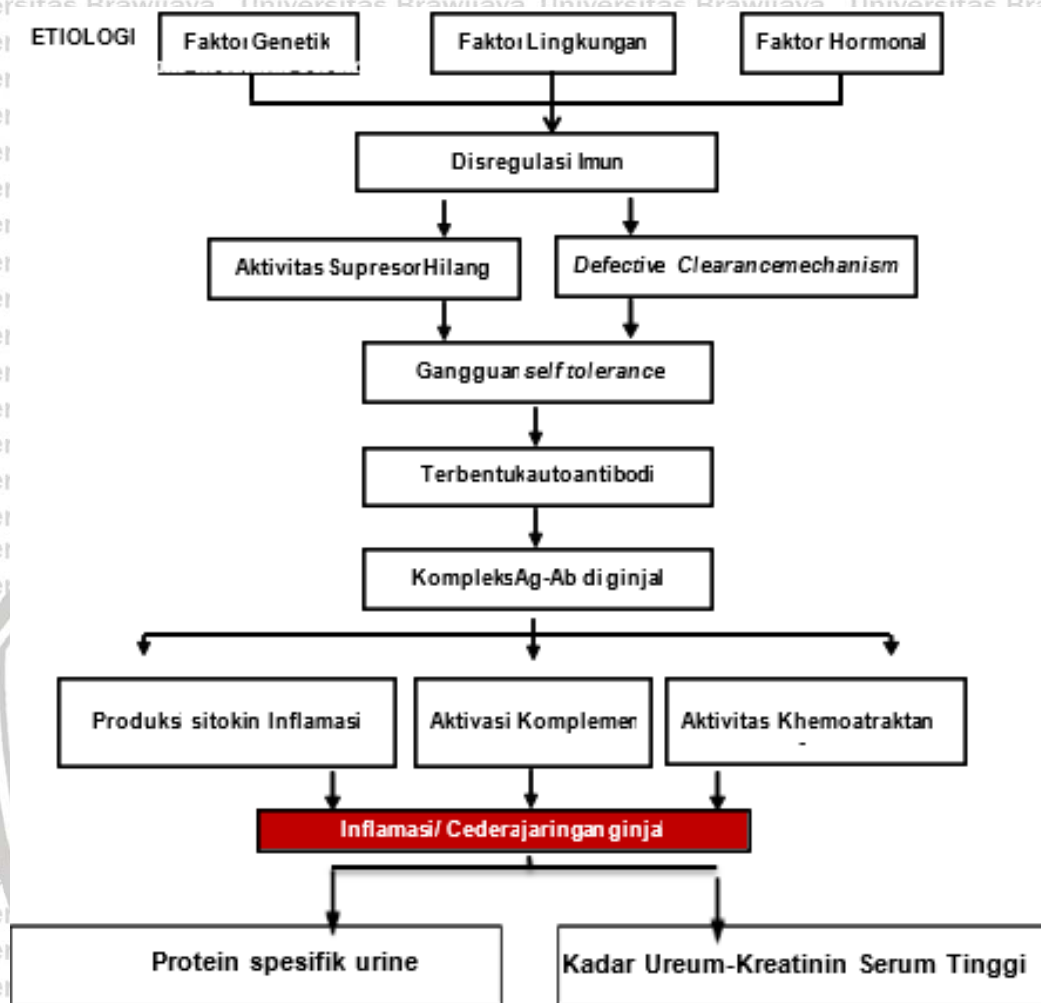
Faktor	Penyebab
Pre renal	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Massa otot tinggi</li> <li>• Diet kaya daging yang tinggi</li> </ul>
Renal	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Penyakit ginjal (glomerulonefritis, pielonefritis, nekrosis tubular akut)</li> </ul>
Post renal	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Obat-obatan yang bersifat nefrotoksik</li> <li>• Obstruksi ureter, obstruksi kandung kemih</li> </ul>

**Tabel 2.10 Faktor Penyebab Penurunan Kreatinin (Visnathan, 2011)**

Faktor	Penyebab
Pre renal	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Massa otot rendah</li> <li>• Diet vegetarian, malnutrisi</li> <li>• Myasthenia gravis</li> <li>• Amputasi, distrofi otot</li> </ul>
Renal	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sindroma nefrotik</li> <li>• Severe GNAPS</li> </ul>



## 2.17 Kerangka Teori



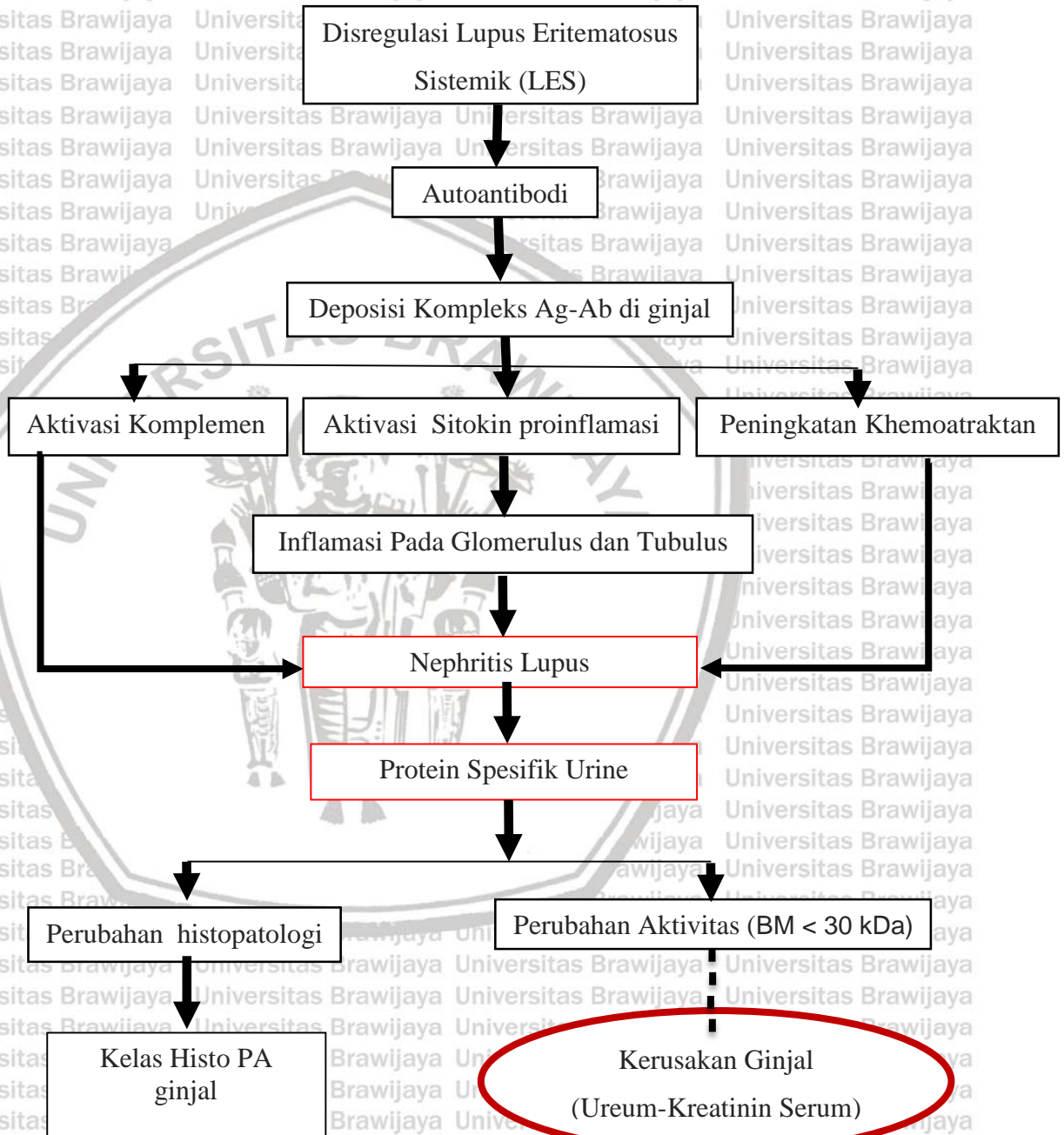
Patogenesis penyakit autoimmune SLE terjadi karena faktor genetik, lingkungan dan hormonal, sehingga akan terjadi gangguan system kekebalan tubuh yang akan menimbulkan *self-tolerance* pada tubuh sendiri sehingga terjadi proses autoimun yang akan terbentuk autoantibodi, kemudian membentuk kompleks antigen-antibodi di ginjal yang semakin lama akan mengakibatkan deposit kompleks imun sehingga pasien SLE akan masuk dalam kondisi Nefritis Lupus. Deposit 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 perbedaan gambaran protein spesifik urine pasien NL pada kadar ureum dan kreatinin serum yang tinggi dan normal.



BAB III

KERANGKA KONSEP

3.1. Kerangka Konsep



Keterangan :  
→ : menyebabkan  
○ : variabel yang diteliti

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 autoantibodi di ginjal, paparan mediator inflamasi sirkulasi dan aktivasi kaskade komplemen memulai program inflamasi yang melibatkan peningkatan regulasi molekul adhesi pada sel endotel, aktivasi sel ginjal intrinsik, induksi kemokin dan perekrutan sel inflamasi yang merilis sitokin dan molekul lain. Hasil cedera podosit berupa proteinuria dan penurunan produksi membran basalis glomerular, yang merusak pembuluh darah. Trombosis mikrovaskular dan kematian sel endotel berkontribusi terhadap hipoksia ginjal, yang pada gilirannya menyebabkan atrofi tubulus. Peradangan yang progresif semakin meningkatkan beragam mediator inflamasi yang memperkuat cedera. Aktivasi sel endotel dan aktivasi sel dendritik ginjal reversibel pada nefritis tahap awal, namun aktivasi jalur fibrosis dan sel miofibroblas otot polos, dan hilangnya podosit yang progresif akhirnya mengakibatkan kerusakan ginjal ireversibel. Protein yang diekskresi di urine penderita NL digunakan sebagai biomarker diagnosis NL. Penelitian yang dilakukan oleh Zhang dan kawan-kawan pada tahun 2008 dengan pendekatan berbasis proteomik berhasil menemukan beberapa protein dengan berat molekul rendah (< 30 kDa) pada sampel serial urine pasien NL sebagai biomarker prediktif adanya flare pada pasien NL. Seiring dengan perjalanan penyakit penderita NL, akan dicari apakah ada perbedaan gambaran protein spesifik urine pasien NL pada kadar ureum dan kreatinin serum yang tinggi dan normal



### 3.2 Hipotesa

Hipotesa pada penelitian ini adalah:

1. Terdapat perbedaan gambaran protein spesifik urine pada kelompok kontrol sehat dan pada kelompok pasien nefritis lupus
2. Terdapat perbedaan gambaran protein spesifik urine pasien NL pada kadar ureum dan kreatinin serum yang tinggi dan normal



## BAB IV

### METODE PENELITIAN

#### 4.1 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian observasional analitik dengan pendekatan *cross sectional*.

#### 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. Data pasien diambil pada periode Maret - Agustus 2015.

Sampel kasus penelitian adalah anggota populasi terjangkau yang dipilih berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi. Sebagai kontrol adalah individu yang dinyatakan sehat berdasarkan hasil pemeriksaan fisik dan memiliki hasil proteinuria yang negatif pada pemeriksaan *dipstick* urine.

#### Kriteria Inklusi Kasus

- Wanita, Usia 18 - 50 tahun.
- Kasus: pasien LES yang telah terdiagnosis berdasarkan kriteria ARA tahun 1997 dengan manifestasi NL yang telah dibuktikan dengan biopsi ginjal.
- Kontrol sehat: dinyatakan sehat berdasarkan hasil pemeriksaan fisik dan memiliki hasil proteinuria yang negatif pada pemeriksaan *dipstick* urine.
- Pasien bersedia diikutkan dalam penelitian ini dan menandatangani *informed consent*.



**Kriteria Eksklusi**

- Menderita infeksi saluran kemih
- Menderita kelainan ginjal kongenital
- Adanya pengaruh pre-renal (dehidrasi, massa otot tinggi atau diet kaya daging yang tinggi) dan post renal (obstruksi ureter atau kandung kemih)
- Terdapat penyakit lain yang dapat mempengaruhi fungsi ginjal (DM, nefropati dan hipertensi nefropati).

Pengumpulan sampel dilakukan dengan teknik *consecutive sampling*, yaitu mencari pasien yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi sampai jumlah sampel yang diperlukan terpenuhi. Penelitian dikerjakan setelah mendapatkan persetujuan dari komite etik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya/RSSA Malang.

Besar sampel minimal dihitung dengan rumus:

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

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

$$n = 10$$

Keterangan :

n = jumlah sampel minimal

Z $\alpha$  = deviat baku alpha (ditentukan 1,04)

Z $\beta$  = deviat baku beta (ditentukan 0,04)

P<sub>2</sub> = proporsi pajanan pada kelompok kontrol (0,6 didapat dari literatur)

Q<sub>2</sub> = 1 - P<sub>2</sub>

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

P<sub>1</sub> = RR x P<sub>2</sub>; Q<sub>1</sub> = 1 - P<sub>1</sub>; P = 1/2 (P<sub>1</sub> + P<sub>2</sub>); Q = 1 - P

Dalam penelitian ini jumlah sampel minimal adalah 20 orang.

Sampel yang digunakan pada penelitian ini yaitu 20 pasien NL dan 20 orang kontrol sehat.

### 4.3 Definisi Operasional

- Pasien SLE adalah pasien yang memenuhi kriteria ARA yang dimodifikasi (4 dari 11 kriteria positif). Tidak menderita infeksi saluran kemih, tidak menderita kelainan ginjal kongenital, tidak ada riwayat batu ginjal serta tidak ada penyakit lain yang dapat memengaruhi fungsi ginjal (DM nefropati dan hipertensi nefropati).
- Penderita hipertensi nefropati dan diabetik nefropati adalah penderita yang ditunjukkan dengan adanya proteinuria persisten  $\geq 3$  g/hari atau minimal proteinuria *dipstick* +3
- Pasien NL adalah Penderita LES secara klinis mempunyai gambaran proteinuria melebihi 500 mg/hari (*dipstick* urine > 3+) atau terdapat silinder selular (eritrosit, granular, tubular atau campuran) serta hasil biopsi ginjal yang menunjukkan NL kelas I - VI.
- Biopsi ginjal: Pasien nefritis lupus yang di diagnosis secara klinis yang menjalani biopsi ginjal dengan hasil positif. Diagnosis pasti dan kelas NL ditentukan oleh dokter Ahli Patologi Anatomi sesuai gambaran histopatologi ginjal berdasarkan klasifikasi ISN/RPS 2003. Biopsi ginjal dilakukan oleh dokter Ahli Penyakit Dalam Konsultan Ginjal - Hipertensi.
- Kontrol Sehat adalah sukarelawan yang dinyatakan sehat berdasarkan hasil pemeriksaan kesehatan oleh dokter ahli Penyakit Dalam, dengan proteinuria yang negatif pada pemeriksaan *dipstick*.
- Protein spesifik adalah protein-protein yang ditemukan pada sampel urine. Pengumpulan sampel dilakukan dengan metode urine porsi tengah atau *midstream* dengan jenis pengambilan urine sewaktu. Protein spesifik urine ini didapatkan dan diukur berat molekulnya dengan menggunakan



pemeriksaan kromatografi kolom dan dilanjutkan dengan SDS-PAGE.

Konsentrasi *peak* protein pertama yang muncul diukur dengan skala mAu, sedangkan berat molekul protein band pada SDS-PAGE diukur dengan satuan *kiloDalton* (kDA).

- Peak Kromatografi: Peak (puncak) grafik yang terbentuk dari jenis asam amino, dapat dilihat pada gambar kromatogram dan dihitung jumlahnya
- Ureum: kadar ureum dalam serum darah sebagai sisa akhir metabolisme protein otot yang diperiksa sebelum dilakukan biopsi dengan satuan mg/dL. (Nilai normal 16,6-48,5 mg/dL)
- Kreatinin: kadar kreatinin dalam serum darah sebagai sisa akhir metabolisme protein otot yang diperiksa sebelum dilakukan biopsi dengan satuan mg/dL. (Nilai normal <1,2 mg/dL)
- Proteinuria: Positif bermakna apabila  $\geq 3+$
- Hematuria *dipstick*: Positif bermakna apabila  $\geq 1+$
- Hematuria Mikroskopis: Positif apabila  $\geq 5/lpb$
- Leukosituria Mikroskopis: Positif apabila  $\geq 5/lpb$
- Silinder: Positif bermakna apabila ditemukan minimal 1 silinder baik eritrosit, leukosit ataupun granular

#### 4.4 Prosedur Penelitian

##### 4.4.1 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.

#### 4.4.2 Proses Penyimpanan Sampel Urine

Pengaruh beberapa siklus beku-mencair dalam penanganan sampel urine merupakan kondisi yang membutuhkan perlakuan lain. Disebutkan bahwa tidak ada perubahan yang signifikan dari profil protein 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. 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).

#### 4.4.3 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



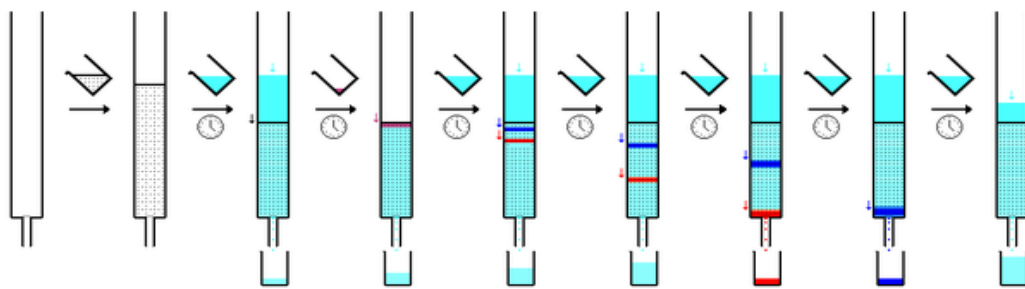
membuang fasa diam yang telah digunakan. Kemudahan pembuangan fase diam ini mencegah kontaminasi silang dan degradasi fase diam akibat pemakaian ulang atau daur ulang (Walls, 2011). Kromatografi kolom preparatif klasik berupa tabung kaca dengan diameter antara 5 mm hingga 50 mm dengan panjang 5 cm hingga 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. 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. 4.1. Tahapan pengerjaan kromatografi kolom (Walls, 2011)



Gambar 4.2. Foto urutan kromatografi kolom (Walls, 2011)

*Fase diam* atau *adsorben* (penyerap) 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 penyerapan *band ekspansi*. Fase diam biasanya serbuk halus atau gel dan/atau mikropori untuk peningkatan



permukaan, meskipun dalam EBA digunakan *band berfluida*. 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  $\mu\text{m}$ ), sementara untuk kromatografi gravitasi antara 70 – 230 mesh (63 – 200  $\mu\text{m}$ ).

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 pabrik 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 fasa 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 sekarang 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).

#### 4.4.4 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

##### Membuat 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 <i>Poliakrilamid</i> 30%	75µ SDS 10%
1,505 ml Tris pH 8,8;1M	75µ APS 10%
2,75 ml <i>Aquabides</i>	5µ TEMED

3. Segera tuang larutan kedalam *plate* pembentuk gel menggunakan mikropipet 1ml sampai batas yang terdapat pada *plate*.

4. Perlahan tambahkan *Aquabides* 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 <i>Poliakrilamid</i> 30%	30 $\mu$ SDS 10%
0,38 ml Tris pH 6,8;1M	30 $\mu$ APS 10%
2,11 ml <i>Aquabides</i>	5 $\mu$ 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  $\mu$ 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 *staining solution* 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.

#### 4.4.5 Pemeriksaan Kadar Ureum dan Kreatinin Serum

Urea merupakan produk sisa dari pemecahan nitrogen yang ada didalam tubuh, urea dapat berdifusi bebas masuk ke dalam cairan intrasel dan ekstrasel, zat ini dipekatkan dalam urine untuk diekskresikan sehingga kadar dalam darah mencerminkan keseimbangan antara produksi dan ekskresi urea.<sup>23</sup> Nilai normal urea dalam serum adalah: anak-anak 5-20 mg/dl, dan dewasa 5-25 mg/dl. Pengukuran urea dapat dilakukan dengan dua metode yaitu metode kimiawi dan metode enzimatik. Namun metode yang banyak digunakan adalah metode enzimatik yang memanfaatkan enzim urease sehingga spesifik untuk urea. Urea akan dihidrolisis oleh urease menjadi ammonia dan karbon dioksida kemudian ammonia akan bereaksi dengan adanya sodium nitroprusid lalu dibaca pada spektrofotometer dengan gelombang  $\gamma$  550nm, intensitas warna yang terbentuk akan sebanding dengan kadar ureum. Metode lain pada pemeriksaan ureum adalah *Auto-Fast-Rate*, pada metode ini sama menggunakan urease hanya saja pengukuran urea dilihat pada peningkatan GDLH.<sup>24</sup>

Uji kreatinin sangat banyak dilakukan karena kreatinin merupakan substansi endogen yang rata-rata produksinya konstan, selain itu kreatinin tidak berikatan dengan plasma protein sehingga dapat difiltrasi dengan bebas di glomerulus. Jumlah kreatinin dipengaruhi oleh massa otot, dan massa otot

dipengaruhi jenis kelamin, usia dan berat badan.<sup>23</sup> Rata-rata produksi kreatinin adalah: laki-laki 0,6-1,3 mg/kg/hari dan wanita 0,5-1,0 mg/kg/hari. Terdapat beberapa metode yang digunakan untuk pengukuran kadar kreatinin dalam serum, yaitu metode Jaffe dan metode enzimatik. Pada metode Jaffe ini kreatinin dan pikrat akan direaksikan dalam suasana basa kemudian akan terjadi perubahan warna menjadi merah-oranye dan perubahan absorban pada panjang gelombang 505nm dan 520nm.<sup>24</sup> Metode yang kedua adalah metode enzimatik, enzim yang digunakan pada pemeriksaan kreatinin adalah enzim kreatininase dan kreatinin inhidrolase. Enzim kreatininase akan mengkatalisis konversi hidrolitik kreatinin menjadi kreatinin, sehingga konsentrasi kreatinin dapat diukur secara fotometri.<sup>24</sup>

#### 4.4.6 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.



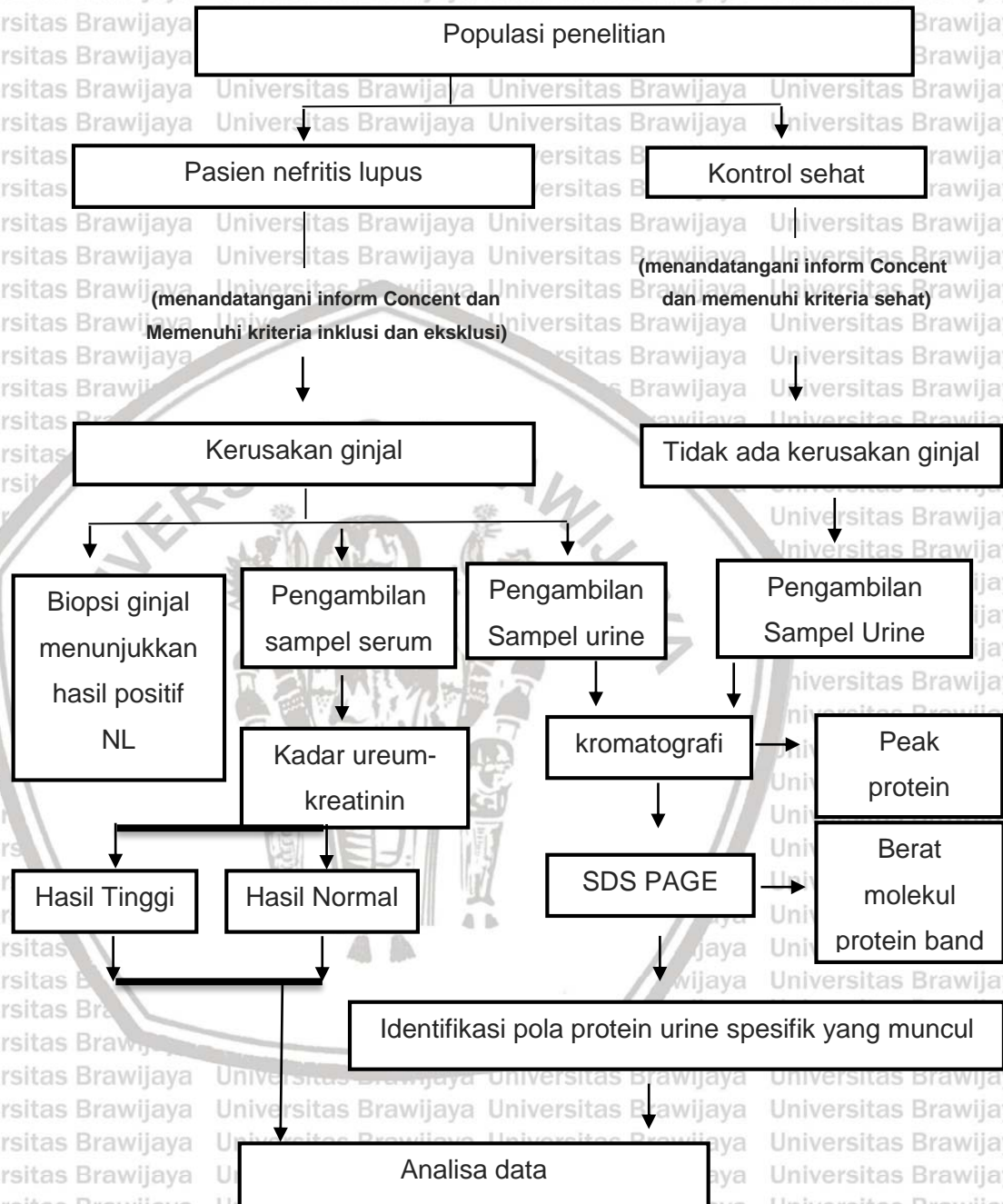
- Sampel jaringan biopsi yang didapat selanjutnya dilakukan pembuatan slide preparat histopatologi.

#### 4.5 Teknik Pengumpulan 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 urine. 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.

Analisis statistik dilakukan menggunakan *SPSS for Windows software version 17.0*. Pengujian normalitas data dengan menggunakan *Kolmogorov-Smirnov* dan Uji beda dengan menggunakan *T-test Mann-Whitney*. Nilai  $P < 0,05$  menunjukkan adanya perbedaan statistik yang bermakna.

#### 4.6 Bagan Alur Penelitian





## BAB V

### HASIL PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan 40 orang subyek yang terdiri dari 20 orang kelompok kasus Nefritis Lupus dan 20 orang kelompok kontrol-orang sehat. Pada subyek kasus dan subyek sehat diambil sampel urine dan dilakukan pemeriksaan kromatografi dan SDS-PAGE. Pemeriksaan kadar ureum-kreatinin serum dan biopsi ginjal hanya dilakukan pada kasus NL.

#### 5.1 Karakteristik Subyek Penelitian

Penelitian ini didapatkan 20 orang kontrol sehat dan 20 pasien Nefritis Lupus (NL) dengan 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.

Data karakteristik keseluruhan pasien dan kontrol sehat adalah wanita dengan usia 18-55 tahun (rerata 37 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%). Sedangkan pada kelompok sehat 20 orang (100%) tidak didapatkan proteinuria dan hematuria. Semua pasien NL telah mendapatkan terapi dengan methylprednisolon dengan dosis dan lama penggunaan yang berbeda-beda (data tidak ditampilkan). Hasil analisis kadar ureum serum pasien NL

didapatkan rerata 56,05 mg/dL ± 32,32 dan kadar kreatinin serum rerata 1,43 mg/dL ± 1,13.

**Tabel 5.1 Karakteristik Subyek Penelitian**

Karakteristik Pasien	Kontrol Sehat	Pasien NL
<b>*Usia ( tahun)</b>	18-55 tahun	18-55 tahun
<b>*Jenis Kelamin :</b>		
- Wanita	20 (100%)	20 (100%)
- Laki-laki	-	-
<b>Hasil Urinalisis</b>		
<b>Proteinuria :</b>		
- Negatif	20 (100%)	9 (45%)
- 1+	-	2 (10%)
- 2+	-	4 (20%)
- 3+	-	5 (25%)
<b>Leukosituria :</b>		
- Negatif	20 (100%)	14 (70%)
- 1+	-	3 (15%)
- 2+	-	2 (10%)
- 3+	-	1 (5%)
<b>Hematuria Dipstick</b>		
- Negatif	20 (100%)	13 (65%)
- 1+	-	3 (15%)
- 2+	-	2 (10%)
- 3+	-	2 (10%)
<b>Hematuria Mikroskopis</b>		
- ≤5/lpb	20 (100%)	12 (60%)
- >5lpb	-	8 (40%)
<b>Leukosit Mikroskopis</b>		
- ≤5/lpb	20 (100%)	7 (35%)
- >5lpb	-	13 (65%)
<b>Silinder (/lpk)</b>		
- Negatif	20 (100%)	14 (70%)
- Granular	-	5 (25%)
- Eritrosit	-	-
- Leukosit	-	1 (5%)
<b>Kadar Ureum serum (mg/dL)</b>		
- Normal	-	9 (40,9%)
- Tinggi	-	11 (50,0%)
<b>Kadar kreatinin serum (mg/dL)</b>		
- Normal	-	11 (50,0%)
- Tinggi	-	9 (40,9%)



Tabel 5.2 Uji Beda Kadar Ureum Serum terhadap Urinalisis

Karakteristik Pasien	Kadar Ureum Serum		P
	Normal	Tinggi	
	N=9(%) Mean±SD	N=11(%) Mean±SD	
Usia	26,00±5,568	27,91±10,728	0,233
<b>Proteinuria :</b>			
- Negatif	5 (55%)	2 (18%)	0,621
- 1+	2 (22%)	2 (18%)	
- 2+	1 (11%)	3 (27%)	
- 3+	1 (11%)	4 (36%)	
- 3+	-	-	
<b>Leukosituria :</b>			
- Negatif	7 (77%)	7 (63%)	0,600
- 1+	2 (22%)	3 (27%)	
- 2+	-	1 (9%)	
- 3+	-	-	
- 3+	-	-	
<b>Hematuria Mikroskopis</b>			
- ≤5/lpb	3 (33%)	4 (36%)	13,54±16,93
- >5lpb	6 (66%)	7 (63%)	
<b>Leukosit Mikroskopis</b>			
- ≤5/lpb	6 (33%)	6 (36%)	17,66±23,06
- >5lpb	3 (67%)	5 (64%)	

Karakteristik subyek penelitian, akan dilakukan perhitungan nilai p dengan melakukan uji beda dengan uji t-test. Berdasarkan kadar ureum serum pasien NL yang normal dan tinggi ada perbedaan yang bermakna terhadap hematuria mikroskopik dan leukosit mikroskopik didapatkan nilai p berturut-turut sebesar 0,009 dan 0,033 ( $p < 0,05$ ). Rerata hematuria mikroskopik dan leukosituria mikroskopik berturut-turut pada kadar ureum serum normal adalah 5,58±6,76 dan 117,01±332,48; Sedangkan pada kadar ureum tinggi rerata hematuria mikroskopik dan leukosituria mikroskopik berturut-turut adalah 13,54±16,93 dan 17,66±23,06.

Tabel 5.3 Uji Beda Kadar Kreatinin Serum terhadap Urinalisis

Karakteristik Pasien	Kadar Kreatinin Serum		P	
	Normal	Tinggi		Nilai p
	N=11(%)	Mean±SD	N=9(%)	Mean±SD
<b>Usia</b>		25,45±5,592		29,00±11,413
<b>Proteinuria :</b>				0,261
- Negatif	5 (45%)		2 (22%)	
- 1+	2 (18%)		2 (22%)	
- 2+	3 (27%)		1 (11%)	
- 3+	1 (9%)		4 (36%)	
<b>Leukosituria :</b>				0,404
- Negatif	4 (36%)		1 (63%)	
- 1+	5 (45%)		4 (36%)	
- 2+	1 (9%)		4 (36%)	
- 3+	1 (9%)		-	
<b>Hematuria Mikroskopis</b>				0,002
- ≤5/lpb	3 (33%)	4,72±6,36	4 (36%)	16,36±17,58
- >5lpb	6 (66%)		7 (63%)	
<b>Leukosit Mikroskopis</b>				0,088
- ≤5/lpb	6 (33%)	99,77±300,01	6 (36%)	16,65±23,13
- >5lpb	3 (67%)		5 (64%)	

Karakteristik subyek penelitian, akan dilakukan perhitungan nilai p dengan melakukan uji beda dengan uji T-test *Mann Whitney*. Berdasarkan kadar kreatinin serum pasien NL yang normal dan tinggi ada perbedaan bermakna terhadap hematuria mikroskopik didapatkan nilai p sebesar 0,002 ( $p < 0,05$ ). Rerata hematuria mikroskopik pada pasien NL dengan kadar kreatinin serum normal adalah  $4,72 \pm 6,36$ . Sedangkan rerata pada pasien NL dengan kadar kreatinin serum tinggi adalah  $16,36 \pm 17,58$ .



## 5.2 Gambaran Protein Spesifik Urine pada Kontrol Sehat dan Kasus NL sesuai dengan Hasil Kromatografi Kolom

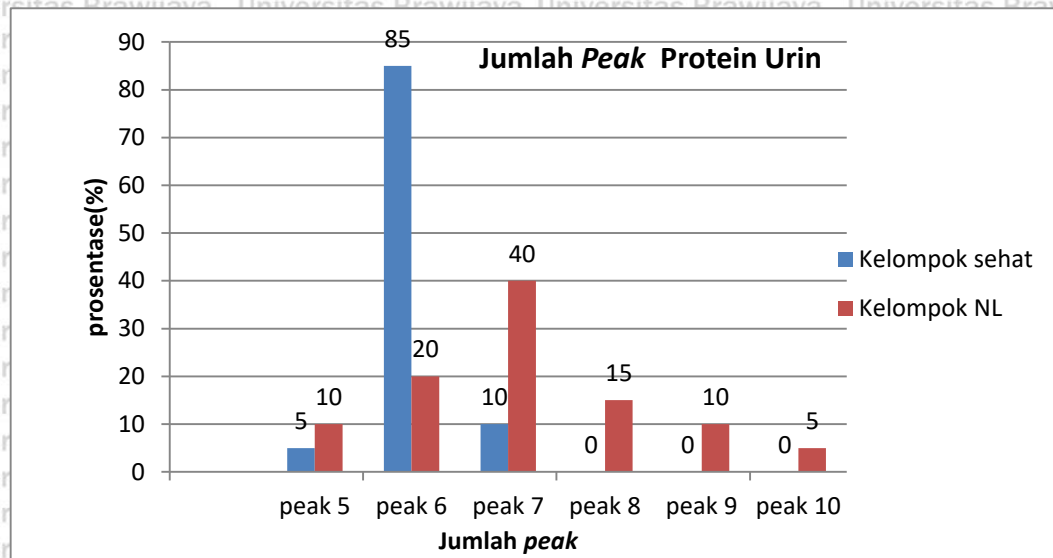
Penelitian ini dilakukan identifikasi gambaran pola protein spesifik urine pada kelompok kontrol sehat dan kelompok kasus dengan melakukan kromatografi kolom dengan hasil data berupa kromatogram. Pada kromatogram marker protein standar menunjukkan jenis protein pada beberapa *peak*. *Peak* pertama yang muncul terukur volume elusi 10 ml sampai 15 ml (albumin dengan BM 66kDa) 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).

Pemeriksaan dengan kromatografi kolom didapatkan hasil yang menunjukkan perbedaan jumlah *peak* protein pada kelompok NL dibandingkan dengan kelompok sehat seperti yang digambarkan pada tabel 5.4 dan diagram 5.1 di bawah ini.

**Tabel 5.4 Jumlah *peak* Protein pada Kelompok Sehat dan Kelompok NL**

Jumlah <i>peak</i>	Kelompok sehat	Kelompok NL
	n (%)	n (%)
5	1 (5)	2 (10)
6	17 (85)	4 (20)
7	2 (10)	8 (40)
8	0	3 (15)
9	0	2 (10)
10	0	1 (5)

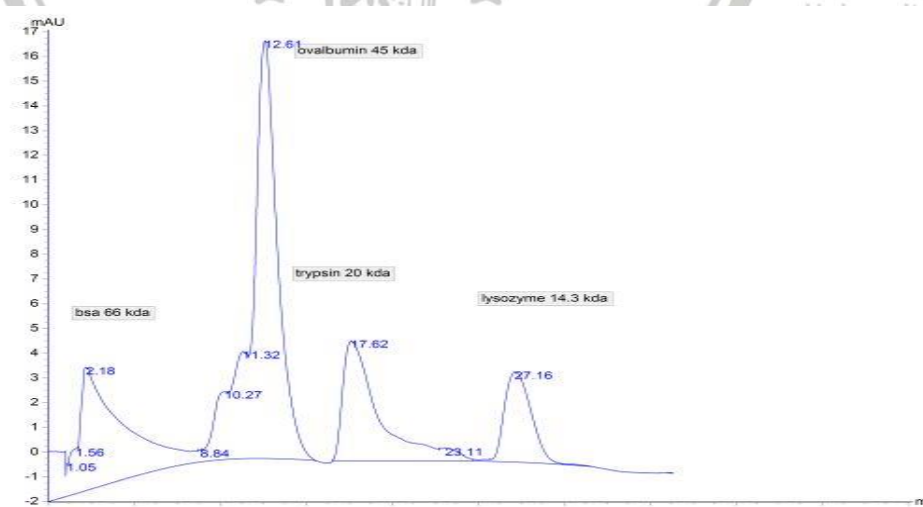
Tabel 5.4 Menunjukkan adanya perbedaan pada kelompok kontrol sehat dan kelompok kasus NL berdasarkan jumlah *peak* yaitu jumlah puncak grafik yang terbentuk dari jenis asam amino, dapat dilihat pada gambar kromatogram.



Gambar 5.1 Diagram Jumlah Peak Protein Urine pada Kelompok Kasus NL dan Kelompok Sehat

Diagram 5.1 Menunjukkan pada kelompok kontrol sehat, mayoritas memiliki 6 *peak* yaitu sebanyak 17 orang (85%). Sedangkan pada kelompok NL, mayoritas memiliki 7 *peak* yaitu 8 orang (40%) dan ditemukan *peak* protein tambahan yaitu *peak* 8, 9, dan 10.

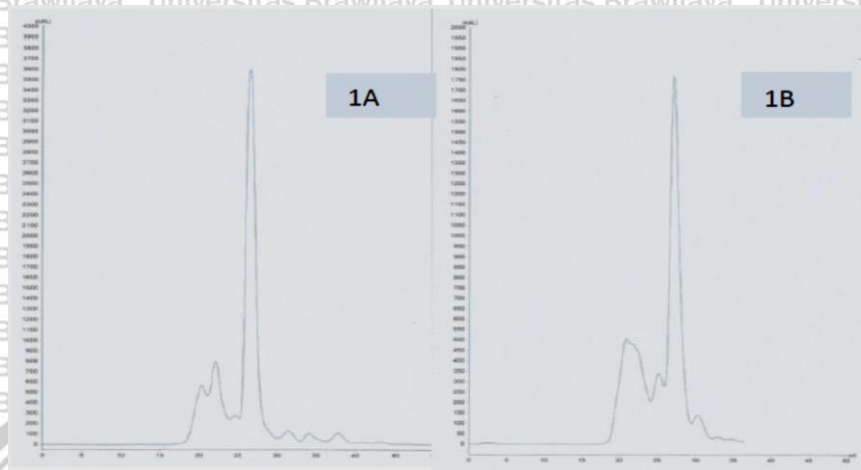
Gambar 5.2 di bawah ini menunjukkan pola protein urine marker kromatografi.



Gambar 5.2 Marker Kromatografi

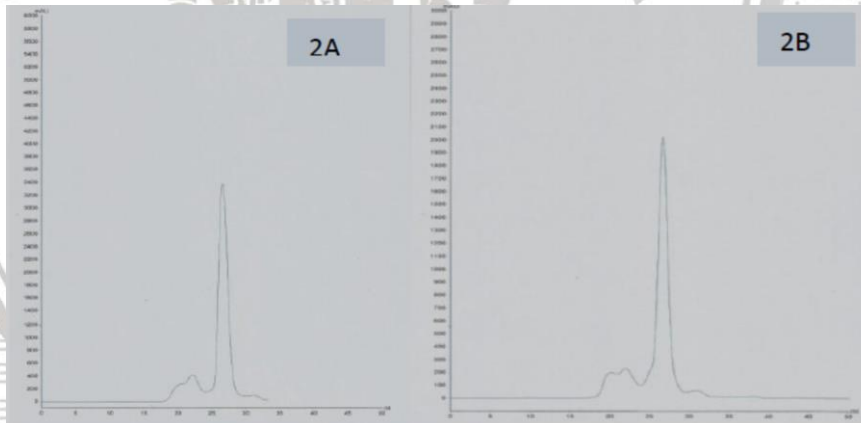


Pola protein urine pada beberapa contoh kelompok kasus (1A-1B) dan pola protein pada kontrol sehat (2A-2B)



Gambar 5.2 (1A-1C)

Kromatogram kelompok kasus, peak pertama muncul pada ukuran antara 15 ml sampai 25 ml dengan konsentrasi peak awal yang muncul > 400mAu.



Gambar 5.2 (2A-2C)

Kromatogram kelompok sehat, peak pertama muncul pada ukuran antara 15 ml sampai 25 ml dengan konsentrasi peak awal yang muncul < 400mAu.

Hasilnya didapatkan adanya perbedaan fragmen albumin yang nampak pada peak pertama yang muncul pada kelompok kasus jika dibandingkan kelompok sehat. Pola protein pada kelompok kasus menunjukkan peak pertama

protein urine yang mulai nampak pada volume elusi 10 ml sampai 20 ml dengan konsentrasi  $\geq 400$  mAu, sedangkan pada kelompok kontrol didapatkan pada konsentrasi  $< 400$  mAu dan muncul pada volume elusi 15 ml sampai dengan 25 ml. Jika pola ini diukur dengan pola protein pada marker protein standart (gambar 5.1), maka hasil ini menunjukkan adanya suatu fragmen albumin (berat molekul sekitar 66 kDa sampai dengan 45 kDa).

Berikut jumlah *peak* protein urine pada pasien NL dengan kadar ureum-kreatinin normal dan tinggi seperti yang digambarkan pada tabel 5.5 di bawah ini.

**Tabel 5.5 Perbedaan Jumlah *peak* Protein Urine pasien NL dengan kadar ureum-kreatinin serum normal dan tinggi**

Jumlah <i>peak</i>	Kadar Ureum Serum		Nilai <i>p</i>	Kadar Kreatinin Serum		Nilai <i>p</i>
	Normal N=9 (%)	Tinggi N=11 (%)		Normal N=9 (%)	Tinggi N=11 (%)	
			0,566			0,703
5	1(5)	1(5)		1(5)	1(5)	
6	3(15)	1(5)		4(20)	-	
7	2(10)	5(25)		1(5)	5(25)	
8	2(10)	1(5)		2(10)	1(5)	
9	-	3(15)		1(5)	2(10)	
10	1(5)	-		1(5)	-	

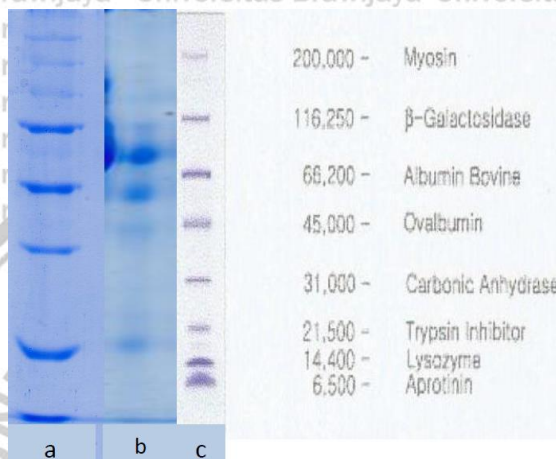
Tabel 5.5 Hasil uji beda menunjukkan pasien NL dengan kadar ureum serum normal dan tinggi berdasarkan jumlah *peak* didapatkan tidak ada perbedaan bermakna dengan nilai *p* berturut-turut 0,566 dan 0,703.

### 5.3 Gambaran Berat Molekul Protein Urine pada Kontrol Sehat dan Kelompok NL sesuai dengan Hasil SDS-PAGE

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



5.3 di bawah ini dapat dilihat hasil SDS-PAGE berupa *band* protein urine 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.

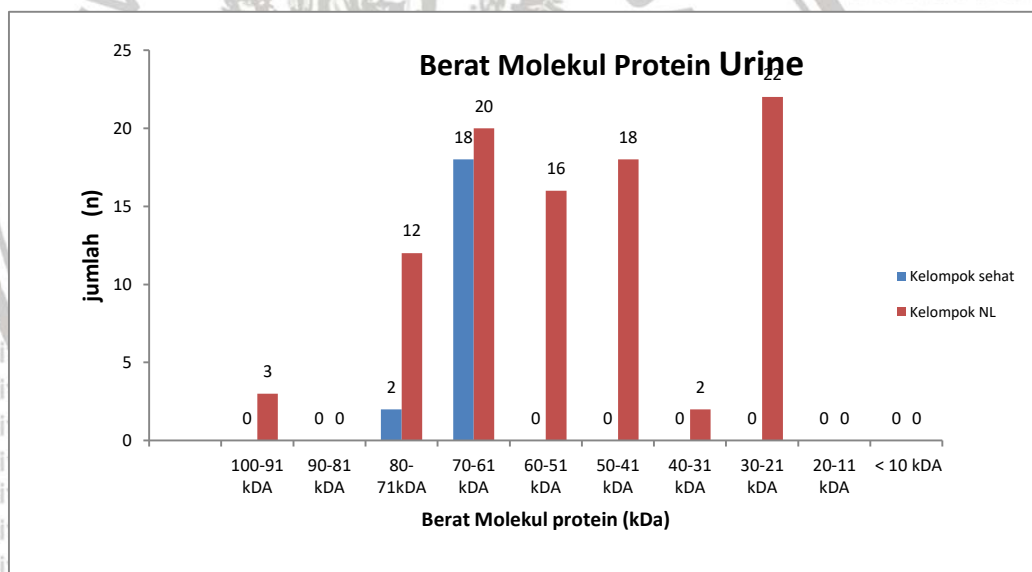


**Gambar 5.3 Hasil SDS-PAGE pada kasus biopsi NL (b) dibanding dengan *marker* ( a dan c ).**

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  $\leq$  66 kDa dengan berbagai macam variasi berat molekul. Pada kelompok kasus juga dapat ditemukan prosentasi terbesar pada protein dengan berat molekul rendah ( *Low Molecule Weight*) yaitu sekitar 21-30 kDa. Pada kelompok sehat tidak ditemukan protein dengan berat molekul rendah ini.

**Tabel 5.6 Jumlah Subyek Penelitian berdasarkan Berat Molekul Protein pada Kelompok Sehat dan Kelompok NL**

Berat molekul protein (kDa)	Kelompok sehat n (%)	Kelompok NL n (%)
100-91	-	3 (3,2)
90-81	-	-
80-71	2(20)	12(12,9)
70-61	18(90)	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	-	-



**Gambar 5.4 Diagram Berat Molekul Protein Urine pada Kelompok Kasus NL dan Kelompok Sehat**

Diagram diatas dapat terlihat bahwa pada kelompok sehat semuanya mempunyai berat molekul > 66 kDa sedangkan pada kelompok NL 84% ditemukan pada berat molekul ≤ 66kDa dan prosentasi terbesar sekitar 22 orang (23,6%) mempunyai berat molekul rendah yaitu antara 21-30 kDa.

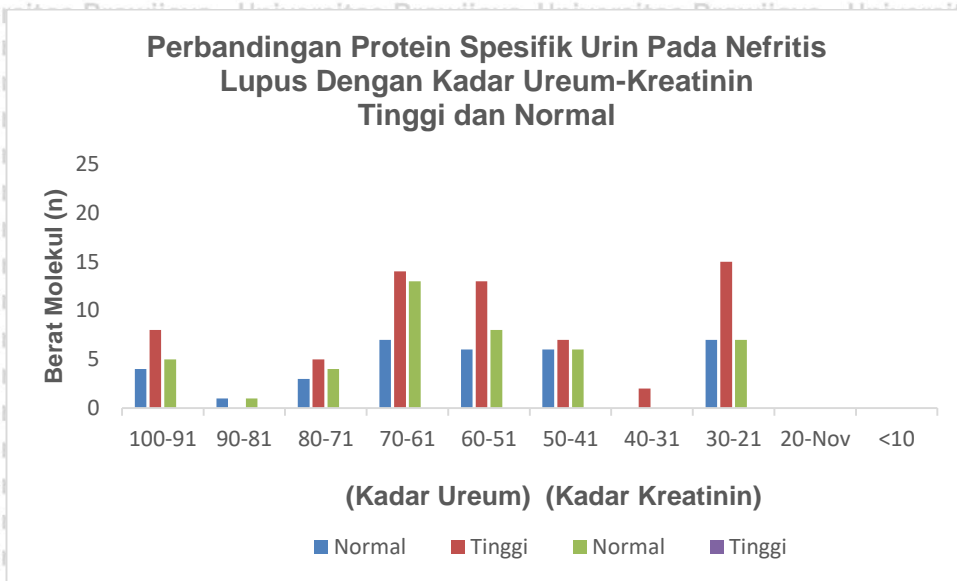


#### 5.4 Perbedaan Gambaran Berat Molekul Protein Spesifik Urine Pada Nefritis Lupus dengan Kadar Ureum-Kreatinin Serum Normal dan Tinggi

Tabel 5.7 dapat ditunjukkan adanya protein spesifik urine dengan berat molekul  $\leq 66$  kDa dan prosentasi terbesar protein dengan molekul rendah antara 21-30 kDa yang dapat ditemukan pada beberapa NL dengan kadar ureum-kreatinin serum berbeda-beda. Protein dengan berat molekul rendah (21-30 kDa) lebih banyak ditemukan pada NL dengan kadar ureum-kreatinin serum tinggi yaitu 15 orang (23-27%), sedangkan pada NL dengan kadar ureum-kreatinin serum normal lebih sedikit ditemukan protein dengan berat molekul rendah yaitu 7 orang (15-20%). Mayoritas protein yang ditemukan mempunyai berat molekul  $\leq 66$  kDa (64% dari semua NL dengan kadar ureum-kreatinin serum normal).

**Tabel 5.7 Perbedaan Berat Molekul Protein pada pasien NL dengan kadar ureum-kreatinin serum Tinggi dan normal**

Berat molekul protein (kDa)	Kadar ureum serum		Kadar kreatinin serum	
	Normal	Tinggi	Normal	Tinggi
100-91	4(11,8)	8(12,5)	5(11,4)	7(12,9)
90-81	1(2,9)	-	1(2,3)	-
80-71	3(8,3)	5(7,8)	4(9,1)	4(7,4)
70-61	7(20,6)	14(21,8)	13(29,5)	8(14,8)
60-51	6(17,6)	13(20,3)	8(18,2)	11(20,4)
50-41	6(17,6)	7(10,9)	6(13,6)	7(12,9)
40-31	-	2(3,1)	-	2(3,7)
30-21	7(20,6)	15(23,4)	7(15,9)	15(27,8)
20-11	-	-	-	-
<10	-	-	-	-



**Gambar 5.5 Diagram Perbandingan Berat Molekul Protein Urine pada Nefritis Lupus dengan Kadar Ureum-Kreatinin Serum Tinggi dan Normal**

Diagram 5.5 diatas dapat terlihat bahwa pada NL dengan kadar ureum-kreatinin serum tinggi memiliki protein urine tambahan dengan prosentasi lebih banyak yaitu protein dengan berat molekul rendah ( 21-30 kDa).



## BAB VI

### PEMBAHASAN

#### 6.1 Karakteristik Pasien Nefritis Lupus

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.<sup>5</sup> 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.<sup>37</sup> Rata-rata usia adalah 18-55 tahun, hal ini sesuai dengan beberapa teori bahwa LES lebih banyak ditemukan pada usia muda (20-40 tahun) (Bartels, 1998).

Hasil urinalisis pada penelitian ini menunjukkan pada kelompok kasus didapatkan proteinuria sebanyak 11 orang (55%), hematuria mikroskopik >5/ lpb sebanyak 8 orang (40%), leukosit mikroskopik >5/ lpb sebanyak 13 orang (65%), terdapat silinder granular sebanyak 6 orang (30%). Sedangkan pada kelompok kontrol sehat 20 orang (100%) tidak didapatkan proteinuria dan hematuria. Hal ini menunjukkan adanya kerusakan glomerulus yang ditandai dengan adanya proteinuria dan hematuria. Hasil ini sesuai dengan studi yang dilakukan oleh Saxena tahun 2011. Protein masuk dalam urine melalui beberapa mekanisme fisiologi dan patofisiologi. Patofisiologi NL meliputi respon sistemik dan selular renal serta respon humoral yang akan mengurangi fungsi barrier 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 flare* (Wang, 2009) (Ameur, 2010).

Gambaran klinik kerusakan glomerulus berhubungan dengan letak lokasi terbentuknya deposit kompleks imun. Lokasi kompleks imun ditentukan oleh spesifisitas, afinitas, dan aviditas antibodi yang terbentuk, kelas dan subkelas, ukuran dan valensi kompleks. Deposit kompleks imun dapat terletak pada mesangial, subendotel atau subepitel (terkadang pada ketiga lokasi tersebut secara simultan). Deposit pada mesangial dan subendotel terletak proksimal terhadap membran basalis glomerulus sehingga mempunyai akses ke pembuluh darah. Deposit pada daerah ini akan mengaktifkan komplemen, yang kemudian membentuk kemoatraktan C3a dan C5a. Selanjutnya terjadi influks sel netrofil dan sel mononuklear. Deposit pada mesangium dan subendotel secara histopatologis memberikan gambaran mesangial, proliferaif fokal, dan proliferaif difus, secara klinis memberi gambaran sedimen urin yang aktif (ditemukan eritrosit, leukosit, silinder sel dan granuler), proteinuria, dan sering disertai penurunan fungsi ginjal. Sedangkan deposit pada subepitelial tidak mempunyai hubungan dengan pembuluh darah karena dipisahkan oleh membran basalis glomerulus sehingga tidak terjadi influks netrofil dan sel mononuklear. Secara histopatologis memberikan gambaran nefropati membranosa dan secara klinis hanya memberi gambaran proteinuria (Nowling, 2011).

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 sub tipe histologi NL, dan jika proteinuria  $>3,5$  g/ hari sering dihubungkan dengan NL kelas III berat (Chan, 2006).

Ureum dan kreatinin merupakan parameter yang banyak digunakan untuk mengetahui fungsi ginjal karena substansi tersebut merupakan substansi endogen (dalam tubuh) yang diproduksi relatif lebih stabil.<sup>4</sup> Selain itu secara ekonomis uji ureum dan kreatinin lebih terjangkau untuk masyarakat dengan ekonomi menengah ke bawah. Hasil urinalisis pasien NL dengan kadar ureum-kreatinin serum menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan pada kelompok NL dengan kadar serum normal dan tinggi terhadap hematuria mikroskopik dan leukosituria mikroskopik dengan nilai p berturut-turut 0.009 dan 0.033 ( $p < 0.05$ ). Hal ini menunjukkan bahwa adanya hematuria dan leukosituria memang sangat berperan terhadap tanda NL. Hal ini sesuai dengan kriteria MEX-SLEDAI untuk penyakit NL yang didalamnya melibatkan hematuria mikroskopik dan leukosituria mikroskopik, selain proteinuria dan adanya silinder (D'Agati, 2007).

## **6.2 Gambaran Protein Spesifik Urine pada Kelompok Kontrol Sehat dan Kelompok Kasus NL**

Pada pemeriksaan dengan kromatografi kolom pada penelitian ini menunjukkan bahwa protein spesifik urine pada kelompok sehat, puncak *peak* pertama yang muncul pada volume elusi 15 ml sampai 25 ml dengan konsentrasi  $<400$  mAu sedangkan kelompok kasus puncak *peak* pertama muncul pada volume elusi 10 ml sampai 20 ml dengan konsentrasi  $\geq 400$  mAU. Hal ini

menunjukkan adanya perbedaan fragmen albumin (muncul pada volume elusi 15 ml sampai 25 ml dengan berat molekul antara 66 sampai 45 kDa) pada kedua kelompok tersebut.

Pada kelompok sehat mayoritas memiliki 6 *peak*, sedangkan pada kelompok kasus mayoritas memiliki 7 *peak* dan didapatkan tambahan *peak* 8,9 dan 10. Hal ini membuktikan bahwa ada protein tambahan pada kelompok NL yang tidak dimiliki oleh kelompok sehat. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Rovin tahun 2008 bahwa adanya albuminuria-proteinuria lebih banyak ditemukan pada NL.

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 < 5µg/ menit (7mg/hari) untuk diekskresi (Fauci, 2008). 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 urine 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).

Hasil uji beda didapatkan tidak ada perbedaan bermakna pada pasien NL dengan kadar ureum-kreatinin serum normal dan tinggi karena keduanya mempunyai *peak* protein yang bervariasi dengan nilai *p* berturut-turut 0,566 dan 0,703. Kadar Ureum-kreatinin serum yang normal tidak sejalan dengan tingkat keparahan pada NL.

Silent NL ditujukan pada pasien NL dengan kadar Ureum-kreatinin serum yang normal tetapi hasil biopsi menunjukkan kelas NL derajat berat dimana NL terjadi tanpa temuan laboratorik penyakit ginjal. Kadar ureum-kreatinin serum dan proteinuria tidak dapat mendeteksi kelas nefritis lupus 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 (Tumlin, 2008).

### **6.3 Gambaran Berat Molekul Protein Spesifik Urine pada Kelompok Sehat dan Kelompok Kasus NL**

Pada penelitian ini ditemukan adanya protein urine dengan berat molekul >66 kDa pada kelompok sehat, sedangkan berat protein pada kelompok kasus dapat ditemukan protein dengan variasi berat molekul yang mayoritas (84%) berukuran  $\leq 66$ kDa, bahkan sekitar 23,6% dari semua pasien NL ditemukan

protein dengan berat molekul 21-30 kDa. Hal ini terjadi karena munculnya beberapa protein dengan *low molecular weight* (LMW) pada kelompok kasus.

Protein keluar dari sirkulasi kapiler dengan melewati tiga lapis barrier 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 (Suzuki, 2008). 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 urine. Pada beberapa kerusakan ginjal beberapa protein yang lebih besar seperti immunoglobulin dengan berat molekul 150 kDa juga dapat masuk dalam urine (Suzuki, 2008). Selain itu 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 100 kDa sehingga protein dengan berat molekul diatas 100 kDa tidak akan bisa terdeteksi.

Hasil penelitian Zhang pada tahun 2008 yang mengidentifikasi adanya protein spesifik urine dengan berat molekul < 30 kDa pada sampel urine serial pasien NL, dan protein spesifik ini digunakan sebagai biomarker prediktif pada NL yang *flare* (Zhang, 2008).



#### 6.4 Perbandingan Gambaran Berat Molekul Protein Spesifik Urine pada Nefritis Lupus dengan Kadar Ureum-Kreatinin Serum Tinggi dan Normal

Protein spesifik urine dengan berat molekul  $\leq 66$  kDa dan beberapa protein dengan molekul rendah antara 21-30 kDa yang dapat ditemukan pada pasien NL dengan kadar ureum-kreatinin serum yang berbeda-beda. Protein dengan berat molekul rendah (21-30 kDa) prosentase lebih banyak ditemukan pada NL dengan kadar ureum-kreatinin serum tinggi, sedangkan pada NL dengan kadar ureum-kreatinin serum normal prosentase lebih sedikit ditemukan protein dengan berat molekul rendah. Mayoritas protein yang ditemukan mempunyai berat molekul  $\leq 66$  kDa (64% dari semua NL dengan kadar ureum-kreatinin serum normal kemungkinan karena adanya pengaruh faktor ketaatan pasien dalam pengobatan). Penelitian Mosley et.al (2006) menemukan protein spesifik urine dengan berat molekul 33,4 kDa dan 39,8 kDa ditemukan pada NL aktif dan NL tidak aktif (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 perbedaan gambaran protein spesifik urine pada NL dengan kadar kadar ureum-kreatinin serum normal dan tinggi, maka dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut:

1. Terdapat perbedaan gambaran pola protein urine pada NL dengan kelompok sehat. Perbedaan ini antara lain pada fragmen albumin (*peak* pertama yang muncul) dan adanya protein tambahan pada NL yang tidak dimiliki kelompok sehat.
2. Gambaran protein spesifik urine pada NL mempunyai berat molekul  $\leq 66$  kDa dan ditemukan prosentase lebih besar pada protein dengan berat molekul rendah 21-30 kDa sedangkan pada kelompok sehat berat molekul protein  $> 66$  kDa dan tidak ada protein dengan berat molekul rendah.
3. Protein dengan berat molekul rendah (21-30 kDa) lebih banyak ditemukan pada NL dengan kadar ureum-kreatinin serum tinggi yaitu 15 orang (23-27%), sedangkan pada NL dengan kadar ureum-kreatinin serum normal lebih sedikit ditemukan protein dengan berat molekul rendah yaitu 7 orang (15-20%). Mayoritas protein yang ditemukan mempunyai berat molekul  $\leq 66$  kDa (64% dari semua NL).

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa Kadar ureum dan kreatinin tidak selalu sejalan dengan tingkat derajat keparahan pada NL dan pasien NL kadar ureum-kreatinin serum tinggi mempunyai protein spesifik urine dengan berat molekul  $\leq 66$  kDa dan didapatkan prosentase terbesar pada protein dengan berat molekul rendah 21-30 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 21-30 kDa sebagai penanda 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

Avihingsanon Y, Hirankarn N. Major lupus organ involvement: severe lupus nephritis. Lupus. 2010;19: 1391-98.

Bagavanta H, Fua SM. Pathogenesis of kidney disease in Systemic Lupus Erythematosus. Curr Opin Rheumatol. 2009;21(5):489-94.

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



Contreras G, Pardo V, Cely C, Boria E, Hurtado A, De La Cuesta C, et al. Factors associated with poor outcomes in patients with lupus nephritis. *Lupus*. (Abstract). 2005;14(11):890-5 D'Agati, VD & Appel, GB. 'Lupus Nephritis: Pathology and Pathogenesis', in DJH Wallace, Bevrá 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.

Fauci, A.S., Kesper, 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 17<sup>th</sup> 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.

Gupta R. Current classificaton of Lupus Nephritis. *J Indian Rheumatol Assoc*. 2005;15:156-61.

Hahn B, McMahan M, Wilkinson A, Wallace W, Daikh D, Gerald J, et al. American College of Rheumatology guidelines for screening, case definition, treatment and management of lupus nephritis. *Arthrit Car Res*. 2012; 64(6):797–808.

Hahn BV. Systemic Lupus Erythematosus. In : Fauci A.S., Kasper DL, Hauser SL, Longo L, Jameson J, Loscalzo Jet al, editors. *Harrison's Principle of Internal Medicine*. 19th ed. USA : McGraw Hill. 2015.p.2124-34

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

Handono K. Peran Polimorfisme gen IFN- $\gamma$  pada fenotip hisologi nefritis lupus. *Indonesian Journal of Clinical Pathology and Medical laboratory*.2010;17:38-43.

Hsieh C, Chang A, Brandt D, Guttikonda R, Utset TO, Clark MR. Predicting outcomes of Lupus Nephritis with tubulointerstitial inflammation and scarring. *Arthrit Care Res*. 2011;63(6):865-74.



Jakes RW, Bae SC, Louthrenoo W, Mok CC, Navarra S, Kwon N. Systematic review of the epidemiology of Systemic Lupus Erythematosus in the Asia-Pacific region: prevalence, incidence, clinical features, and mortality. *Arthrit Care Res.* 2012; 64(2):159–68.

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

Molino C, Fabbian F, Longhini C. Clinical approach to lupus nephritis: recent advances. *Eur J Intern Med.* 2009;20:447-53.

Nowling TK, Gilkeson GS. Mechanism of tissue injury in lupus nephritis. *Arthritis Res Ther.* 2011;13:250-8.

Ortega L, Schultz D, Lenz O, Pardo V, Contreras G. Lupus nephritis: pathologic features, epidemiology and a guide to therapeutic decisions. *Lupus.* 2010;19:557-74.

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.

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.

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.

Santucci L, et all. Urinary proteome in a snapshot : Normal urine and glomerulonephritis. *J nephrol.* 2013; 26(4):610-616



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. Nefritis lupus. In : Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam, Jilid 3. Edisi IV. Jakarta : Pusat Penerbitan Ilmu Penyakit Dalam UI, 2007.

Susianti H, Handono K. Perkembangan petanda biologik nefritis lupus. 1st ed. Malang: UB Press; 2012.p.17-52, 93-120

Suzuki M, Wiers K, Klein Gitelman K, Haines K, Olson J, Onel J, Brunner H. Neutrophil gelatinase associated lipocalin as biomarker of disease activity in pediatric lupus nephritis. *Pediatr Nephrol*. 2008;18(3):913-922

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.

Visnathan G, Upadhyay A. Assessment of proteinuria. *Adv Chronic Kidney Dis*. 2011; 18: 243-248.

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

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

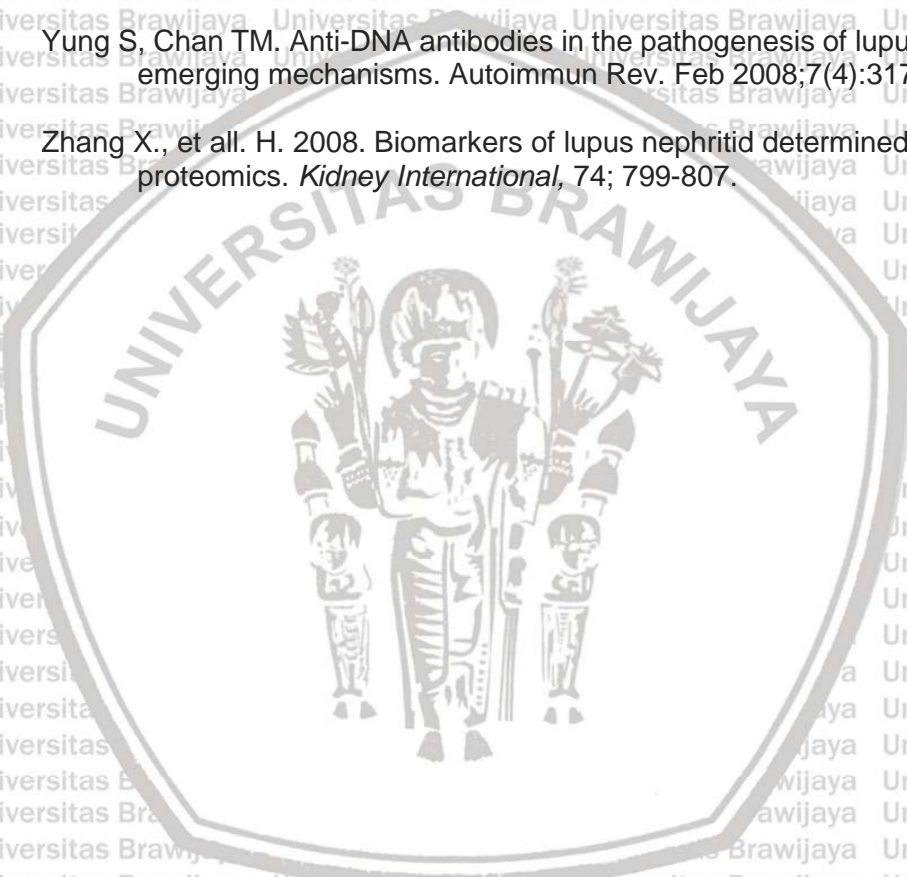
Wang Y, Ito S, Chino Y, et al. Laser microdissection-based analysis of cytokine balance in the kidneys of patients with lupus nephritis. *Clin Exp Immunol* 2009; 159: 1–10.

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., et all. H. 2008. Biomarkers of lupus nephritid determined by serial urine proteomics. *Kidney International*, 74; 799-807.





**LAMPIRAN 1**

**KELAIKAN ETIK**

	<p><b>KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN</b>  <b>THE MINISTRY OF EDUCATION AND CULTURE</b>  <b>FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA</b>  <b>FACULTY OF MEDICINE UNIVERSITY OF BRAWIJAYA</b>  <b>KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN</b>  <b>HEALTH RESEARCH ETHICS COMMITTEE</b>                  Jalan Veteran Malang – 65145                  Telp./ Fax. (62) 341 - 553930</p>
<p><b>KETERANGAN KELAIKAN ETIK</b>                  ("ETHICAL CLEARANCE")</p> <p>No. 433 / EC / KEPK / 08 / 2015</p>	
<p>KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA, SETELAH MEMPELAJARI DENGAN SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG DIUSULKAN, DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA PENELITIAN DENGAN</p>	
<p><b>JUDUL</b></p> <p><b>PENELITI UTAMA</b></p> <p><b>ANGGOTA</b></p> <p><b>UNIT / LEMBAGA</b></p> <p><b>TEMPAT PENELITIAN</b></p>	<p><b>: Identifikasi Protein Urine Untuk Menilai Kelas Histopatologi dan Indeks Kronisitas Penyakit Nefritis Lupus.</b></p> <p><b>: dr. Atma Gunawan, Sp.PD-KGH</b></p> <p><b>: dr. Dany Farida</b> <b>dr. Fitriyah Mayorita</b> <b>dr. Hesti Purwanti</b></p> <p><b>: Fakultas Kedokteran – Universitas Brawijaya Malang.</b></p> <p><b>: Laboratorium Sentral Ilmu Hayati Universitas Brawijaya dan RSU dr. Saiful Anwar Malang.</b></p>
<p><b>DINYATAKAN LAIK ETIK.</b></p>	
<p>Malang, 11 AUG 2015</p> <p>Ketua Komisi Etik Penelitian Kesehatan</p>  <p>Prof. Dr. dr. Moch. Istiadjid ES, SpS, SpBS, M.Hum NIP. 19480516 197111 1 001</p> 	
<p>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)</p>	



**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 : .....  
 • BPanas : ya / tidak, mulai .....  
 • BKelelahan : ya / tidak, mulai .....  
 2. Rash baru : ya / tidak, mulai .....  
 3. Rambut rontok : ya / tidak, mulai .....  
 4. Mata : .....  
 • BMerah : ya / tidak, mulai .....  
 • BSakit : ya / tidak, mulai .....  
 • BPenglihatan 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/m<sup>2</sup> 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

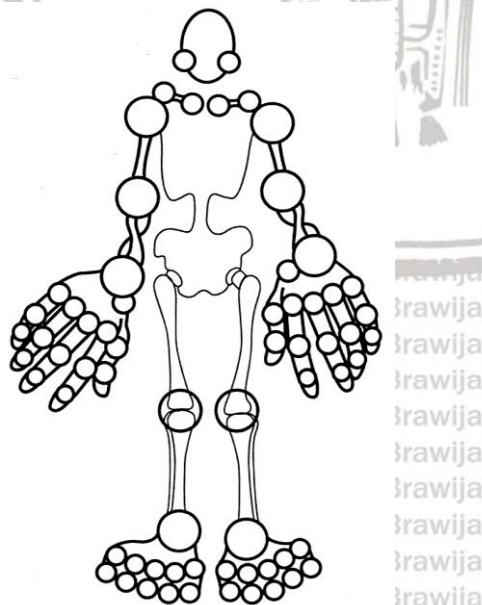
- Neuropathy : ya / tidak
- Parese / paralisis : ya / tidak

9. Status Mental

- Daya ingat : .....
- Proses berfikir : .....
- Ansietas : .....
- 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







Radiologi, tanggal  
Thoraks :

EKG, tanggal  
Hasil :

Biopsi Ginjal, tanggal  
Hasil :





## Sub Bagian Rheumatologi SMF/Lab. Ilmu Penyakit Dalam RS.Dr.Saiful Anwar Malang

**MEX SLEDAI**

Nama : \_\_\_\_\_  
 Nomor : \_\_\_\_\_  
 Tanggal : \_\_\_\_\_

BOBOT	DESKRIPSI	DEFINISI
8	Gangguan neurologis	Psikosa. Gangguan kemampuan melaksanakan aktifitas fungsi normal dikarenakan gangguan persepsi realitas. Termasuk : halusinasi, inkoheren, kehilangan berasosiasi, isi pikiran yang dangkal, berfikir yang tidak logis, <i>bizzare</i> , disorganisasi atau bertingkah laku <i>kataton</i> . Eksklusi : uremia dan pemakaian obat. CVA ( <i>Cerebrovascular accident</i> ) : Sindrom baru. Eksklusi arteriosklerosis. Kejang: Onset baru, eksklusi metabolik, infeksi, atau pemakaian obat. Sindrom otak organik : Keadaan berubahnya fungsi mental yang ditandai dengan gangguan orientasi, memori atau fungsi intelektual lainnya dengan onset yang cepat, gambaran klinis yang berfluktuasi. Seperti : a) kesadaran yang berkabut dengan berkurangnya kapasitas untuk memusatkan pikiran dan ketidak mampuan memberikan perhatian terhadap lingkungan, disertai dengan sedikitnya 2 dari b) gangguan persepsi; berbicara melantur; <i>insomnia</i> atau perasaan mengantuk sepanjang hari; meningkat atau menurunnya aktifitas psikomotor. Eksklusi penyebab metabolik, infeksi atau penggunaan obat. Mononeuritis: Defisit sensorik atau motorik yang baru disatu atau lebih saraf kranial atau perifer. Myelitis: Paraplegia dan/atau gangguan mengontrol BAK/BAB dengan onset yang baru. Eksklusi penyebab lainnya
6	Gangguan ginjal	<i>Castc</i> , <i>Heme granular</i> atau sel darah merah. Haematuria. >5 /lpb. Eksklusi penyebab lainnya (batu/infeksi) Proteinuria. Onset baru, >0.5g/l pada random spesimen. Peningkatan kreatinin (> 5 mg/dl)
4	Vasculitis	Ulserasi, gangren, nodul pada jari yang lunak, infark <i>periungual</i> , <i>splinter haemorrhages</i> . Data biopsi atau angiogram dari vasculitis.
3	Hemolisis	Hb<12.0 g/dl dan koreksi retikulosit > 3%.
	Trombotopeni	Trombotopeni : < 100.000. Bukan disebabkan oleh obat
3	Miositis	Nyeri dan lemahnya otot-otot proksimal, yang dihubungkan dengan peningkatan CPK
2	Artritis	Pembengkakan atau efusi lebih dari 2 sendi.
2	Gangguan Mukokutaneous	Ruam malar. Onset baru atau malar erithema yang menonjol. <i>Mucous ulcers</i> . Oral atau nasopharyngeal ulserasi dengan onset baru atau berulang. Abnormal Alopecia. Kehilangan sebagian atau seluruh rambut atau mudahnya rambut rontok.
2	Serositis	Pleuritis. Terdapatnya nyeri pleura atau <i>pleural rub</i> atau efusi pleura pada pemeriksaan fisik. Pericarditis. Terdapatnya nyeri pericardial atau terdengarnya <i>rub</i> . Peritonitis. Terdapatnya nyeri abdominal difus dengan <i>rebound tenderness</i> (Eksklusi penyakit intra-abdominal).
1	Demam	Demam > 38° C sesudah eksklusi infeksi.
	<i>Fatigue</i>	<i>Fatigue</i> yang tidak dapat dijelaskan
1	Leukopenia	Sel darah putih < 4000/mm <sup>3</sup> , bukan akibat obat
	Limfopeni	Limfosit < 1200. mm <sup>3</sup> , bukan akibat obat.
		TOTAL SKOR MEX-SLEDAI



### Lampiran 3

## Lembar Informasi Pasien 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 biospi 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 4****INFORMASI PASIEN**

**Judul Penelitian :** **Gambaran Protein Spesifik Urin Berdasar Derajat Kronisitas Nefritis Lupus**

**Peneliti :** dr. Hesti Purwanti

**Pembimbing :** Dr. dr. Hani Susianti, SpPK (K)

dr. Atma Gunawan, SpPD-KGH,

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 **Gambaran Protein Spesifik Urin Berdasar Derajat Kronisitas 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.





**LEMBAR PERSETUJUAN PASIEN**

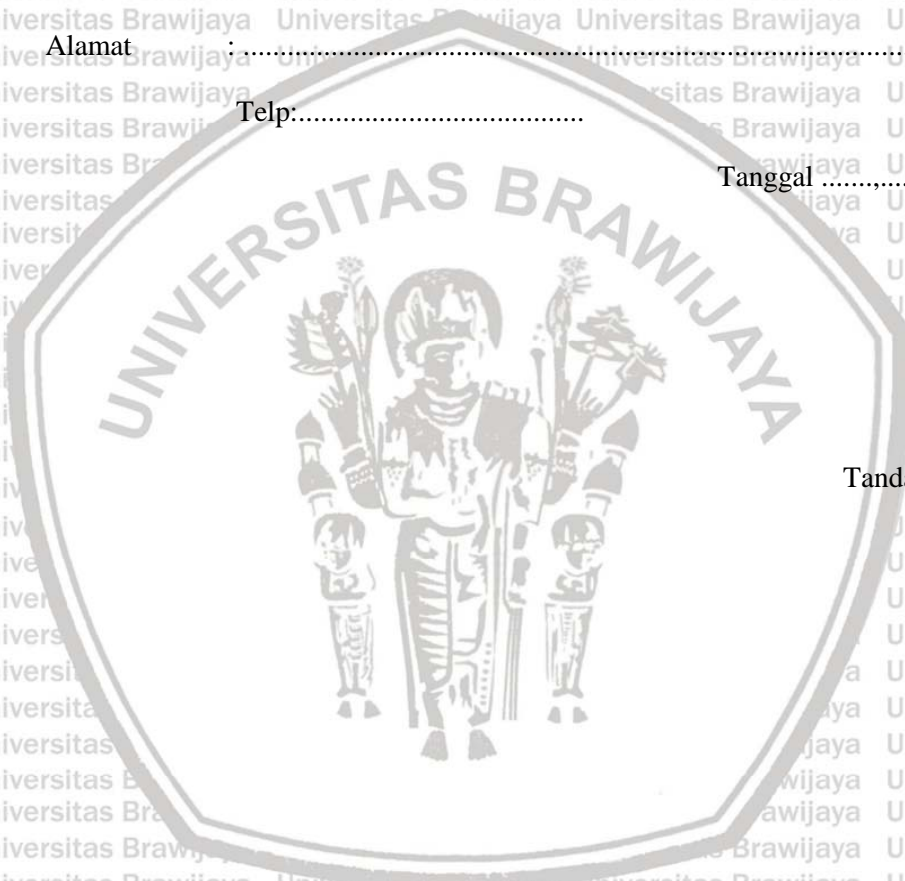
Saya yang bertanda tangan dibawah ini, telah membaca, mengetahui dan memahami tujuan serta manfaat penelitian ini, dan saya setuju untuk dilakukan wawancara, pemeriksaan fisik, pengambilan darah, air seni dan pemeriksaan biopsi ginjal

Nama Pasien:.....

Alamat :.....

Telp:.....

Tanggal .....2016

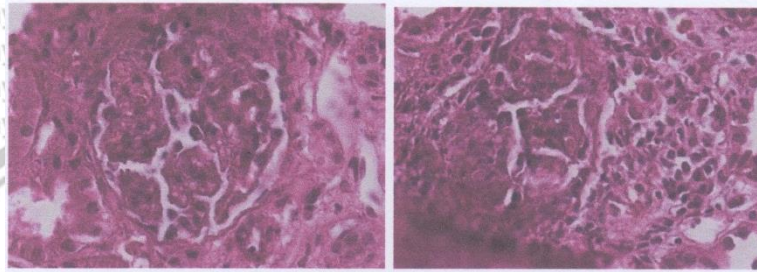


Tanda tangan

**Lampiran 5**

**Dokumentasi Hasil Histopatologi**

**Contoh 1. Ny. Handriana (21 tahun)**

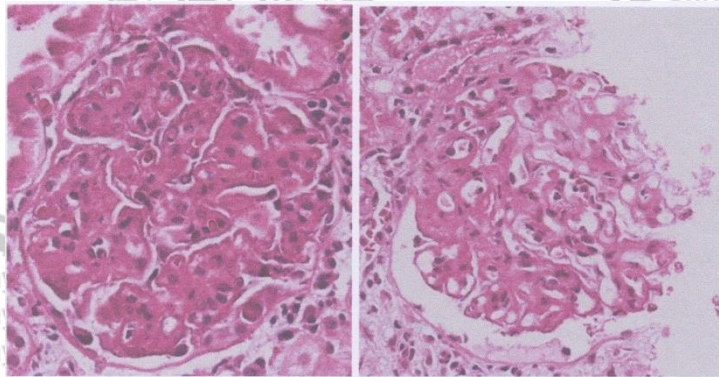


**KESIMPULAN :** Glomerulonephritis membranoproliferatif focal dengan segmental glomerulosclerosis dan kresen

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, glomerulosclerosis dan kresen

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

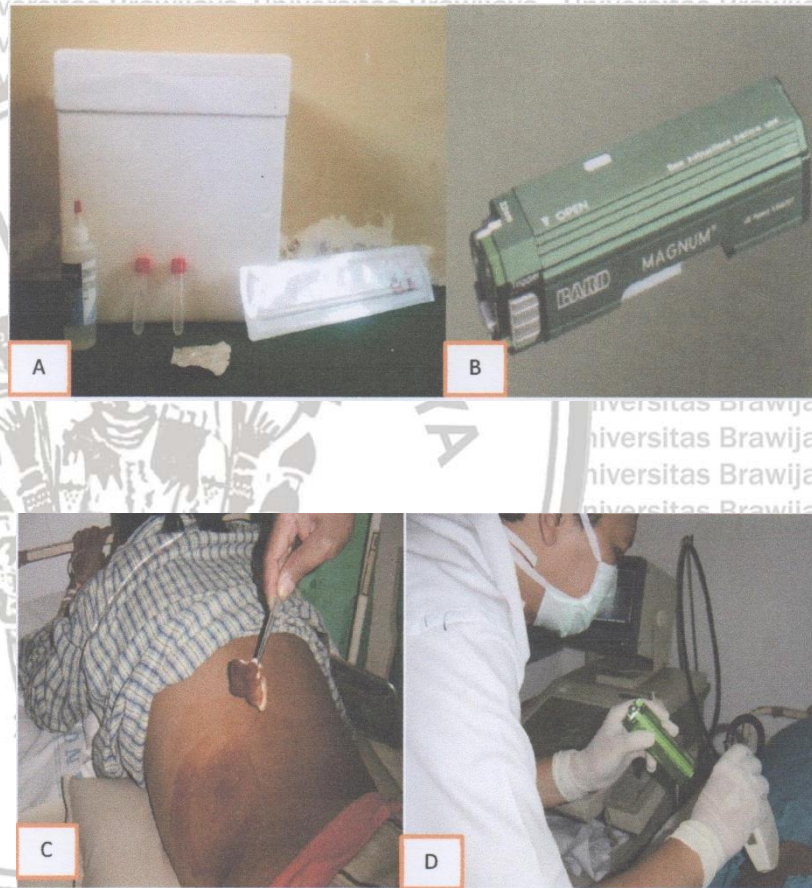
Indeks kronisitas 4/12



LAMPIRAN 6

BIOPSI GINJAL

Dokumentasi Biopsi Ginjal



A. Persiapan Box OCT compound dan needle biopsy

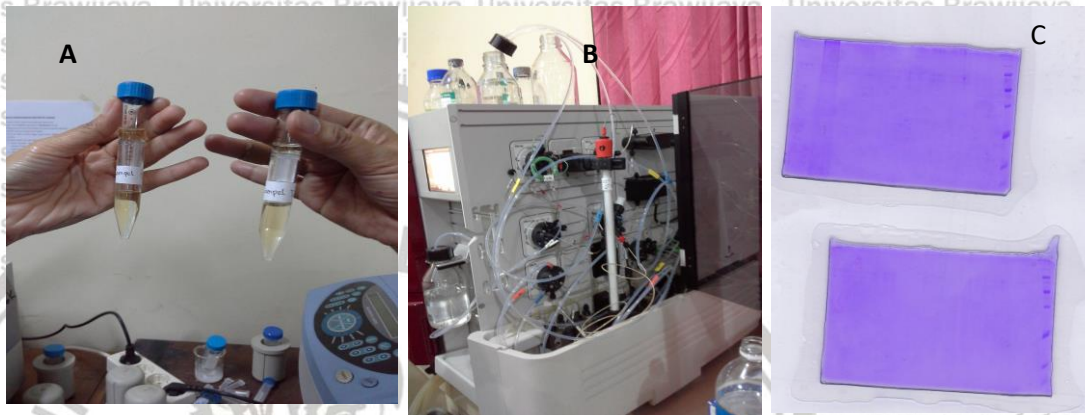
B. Gun Shot Bar Magnum

C. Persiapan Pasien

D. Biopsi ginjal dengan tuntunan USG











**LAMPIRAN 7**  
**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** Nacalai USA, Inc. - Products - Protein Ladder

after CBB staining	M.W. (Da)	Protein
	200,000 -	Myosin
	116,250 -	$\beta$ -Galactosidase
	66,200 -	Albumin Bovine
	45,000 -	Ovalbumin
	31,000 -	Carbonic Anhydrase
	21,500 -	Trypsin Inhibitor
	14,400 -	Lysozyme
	6,500 -	Aprotinin

- D. Marker Protein ( penilaian berat molekul protein)



**LAMPIRAN 8**

**Analisa Karakteristik Pasien NL yang Diteliti**

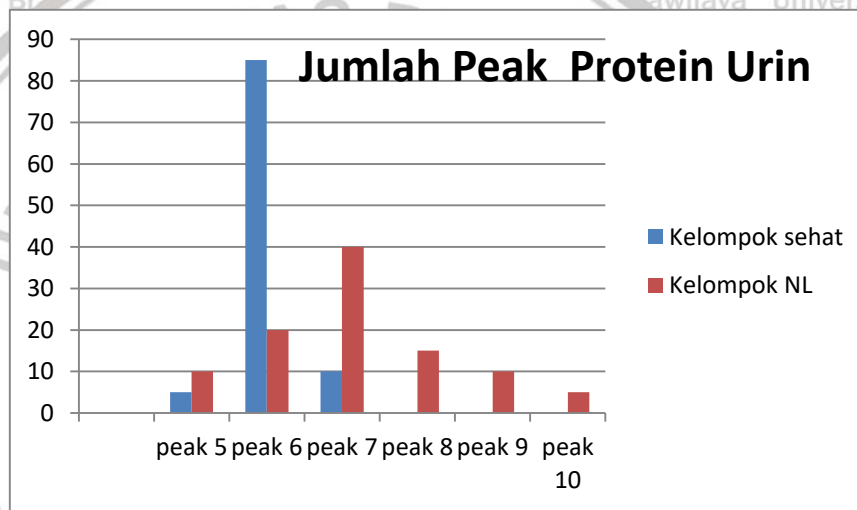
<b>Karakteristik Pasien</b>	<b>Kontrol Sehat</b>	<b>Pasien NL</b>
<b>Usia ( tahun)</b>	18-34 tahun	18-34 tahun
<b>Jenis Kelamin :</b>		
- Wanita	20 (100%)	20 (100%)
- Laki-laki	-	-
<b>Hasil Urinalisis</b>		
<b>Proteinuria :</b>		
- Negatif	20 (100%)	9 (45%)
- 1+	-	2 (10%)
- 2+	-	4 (20%)
- 3+	-	5 (25%)
<b>Leukosituria :</b>		
- Negatif	20 (100%)	14 (70%)
- 1+	-	3 (15%)
- 2+	-	2 (10%)
- 3+	-	1 (5%)
<b>Hematuria Dipstick</b>		
- Negatif	20 (100%)	13 (65%)
- 1+	-	3 (15%)
- 2+	-	2 (10%)
- 3+	-	2 (10%)
<b>Hematuria Mikroskopis</b>		
- ≤5/lpb	20 (100%)	12 (60%)
- >5lpb	-	8 (40%)
<b>Leukosit Mikroskopis</b>		
- ≤5/lpb	20 (100%)	7 (35%)
- >5lpb	-	13 (65%)
<b>Silinder (/lpk)</b>		
- Negatif	20 (100%)	14 (70%)
- Granular	-	5 (25%)
- Eritrosit	-	-
- Leukosit	-	1 (5%)
<b>Kadar Ureum serum (mg/dL)</b>		
- Normal	-	9 (40,9%)
- Tinggi	-	11 (50,0%)
<b>Kadar kreatinin serum (mg/dL)</b>		
- Normal	-	9 (40,9%)
- Tinggi	-	11 (50,0%)

Keterangan : hasil uji statistik tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna antara kasus dengan kontrol

**Jumlah peak Protein pada Kromatografi Kolom**

Jumlah peak	Kelompok sehat n (%)	Kelompok NL n (%)
5	1 (5)	2 (10)
6	17 (85)	4 (20)
7	2 (10)	8 (40)
8	0	3 (15)
9	0	2 (10)
10	0	1 (5)

**Diagram Jumlah Peak Protein Urine**



**Jumlah peak Protein pada Kromatografi Kolom**

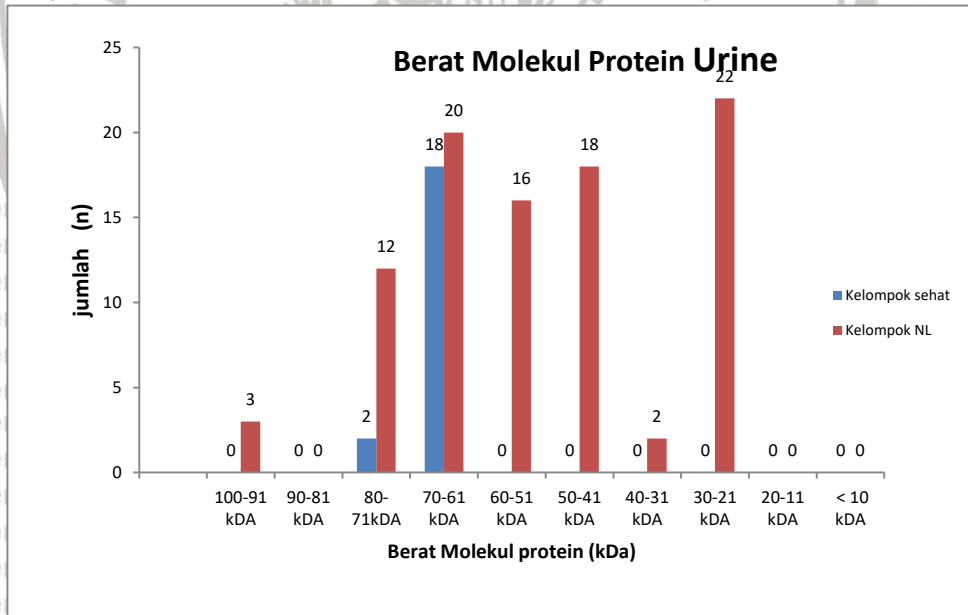
Jumlah peak	Kelompok sehat	Derajat Kronisitas NL		Kelas Histo PA NL	
		Rendah	Tinggi	Ringan (kelas I dan II)	Berat ( kelas III, IV & V)
5	1 (5)	1 (5)	1(5)	1(5)	1(5)
6	17 (85)	3 (15)	1(5)	3(15)	1(5)
7	2 (10)	2 (10)	6(30)	2(10)	6(30)
8	-	1(5)	2(10)	-	3(15)
9	-	-	2(10)	-	2(10)
10	-	-	1(5)	-	1(5)



Berat Molekul Protein Sesuai Dengan Hasil Pemeriksaan SDS-PAGE

Berat molekul protein (kDa)	Kelompok sehat n (%)	Kelompok NL n (%)
100-91	-	3 (3,2)
90-81	-	-
80-71	2(20)	12(12,9)
70-61	18(90)	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	-	-

Diagram Berat Molekul Protein Urine



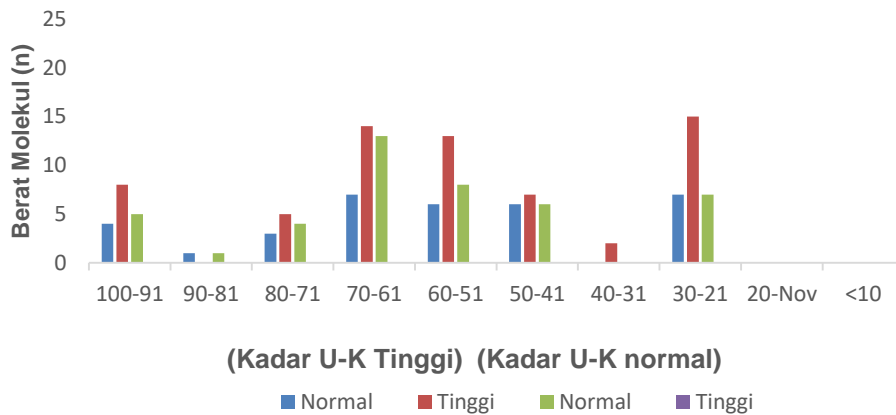
**Berat Molekul Protein Sesuai Dengan Hasil Pemeriksaan SDS-PAGE**

Berat molekul protein (kDa)	Kelompok sehat	Derajat Kronisitas NL		Kelas Histo PA NL	
		Rendah	Tinggi	Ringan (kelas I dan II)	Berat ( kelas III, IV & V)
100-91	-	2(8,3)	10(13,8)	1(5,2)	11(15)
90-81	2 (10)	-	1(1,4)	-	-
80-71	-	2(8,3)	8(11,1)	2(10,4)	10(13,6)
70-61	17(85)	9(37,5)	11(15,2)	8(42,1)	12(16,4)
60-51	-	5(20,8)	11(15,2)	4(21)	12(16,4)
50-41	1(5)	4(16,6)	9(12,5)	4(21)	4(5,4)
40-31	-	-	2(2,8)	-	2(2,7)
30-21	-	2(8,3)	20(27,2)	-	22(30,1)
20-11	-	-	-	-	-
<10	-	-	-	-	-

Berat molekul protein (kDa)	Kadar ureum serum		Kadar kreatinin serum	
	Normal	Tinggi	Normal	Tinggi
100-91	4(11,8)	8(12,5)	5(11,4)	7(12,9)
90-81	1(2,9)	-	1(2,3)	-
80-71	3(8,3)	5(7,8)	4(9,1)	4(7,4)
70-61	7(20,6)	14(21,8)	13(29,5)	8(14,8)
60-51	6(17,6)	13(20,3)	8(18,2)	11(20,4)
50-41	6(17,6)	7(10,9)	6(13,6)	7(12,9)
40-31	-	2(3,1)	-	2(3,7)
30-21	7(20,6)	15(23,4)	7(15,9)	15(27,8)
20-11	-	-	-	-
<10	-	-	-	-

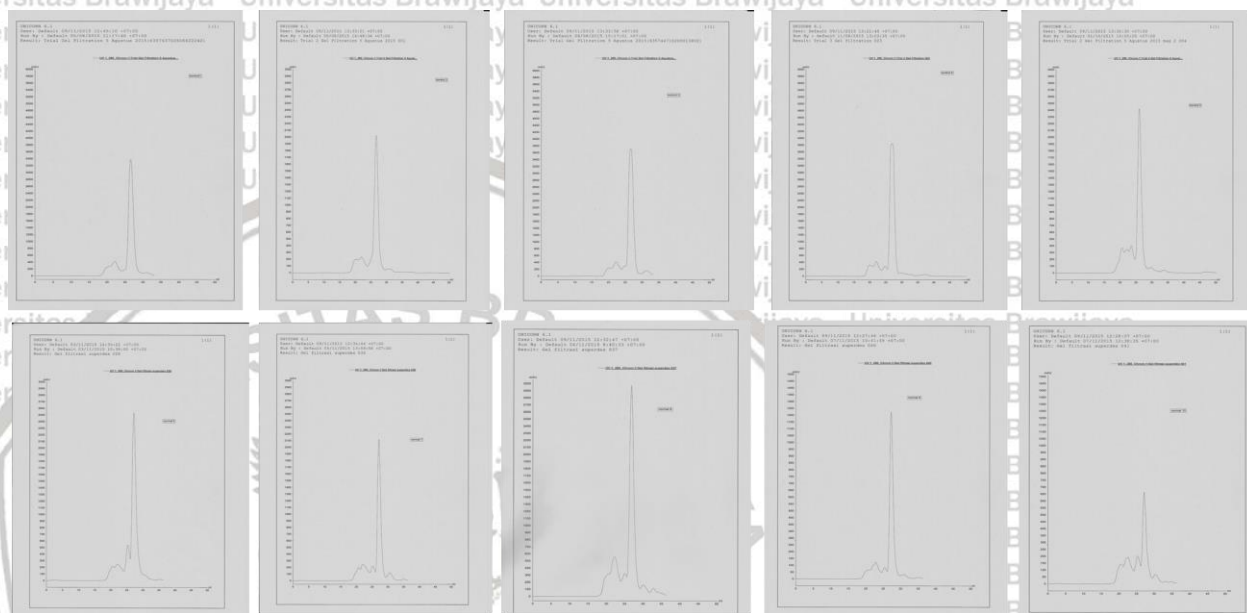


### Perbandingan Protein Spesifik Urin Pada Nefritis Lupus Dengan Kadar Ureum-Kreatinin Tinggi dan Normal

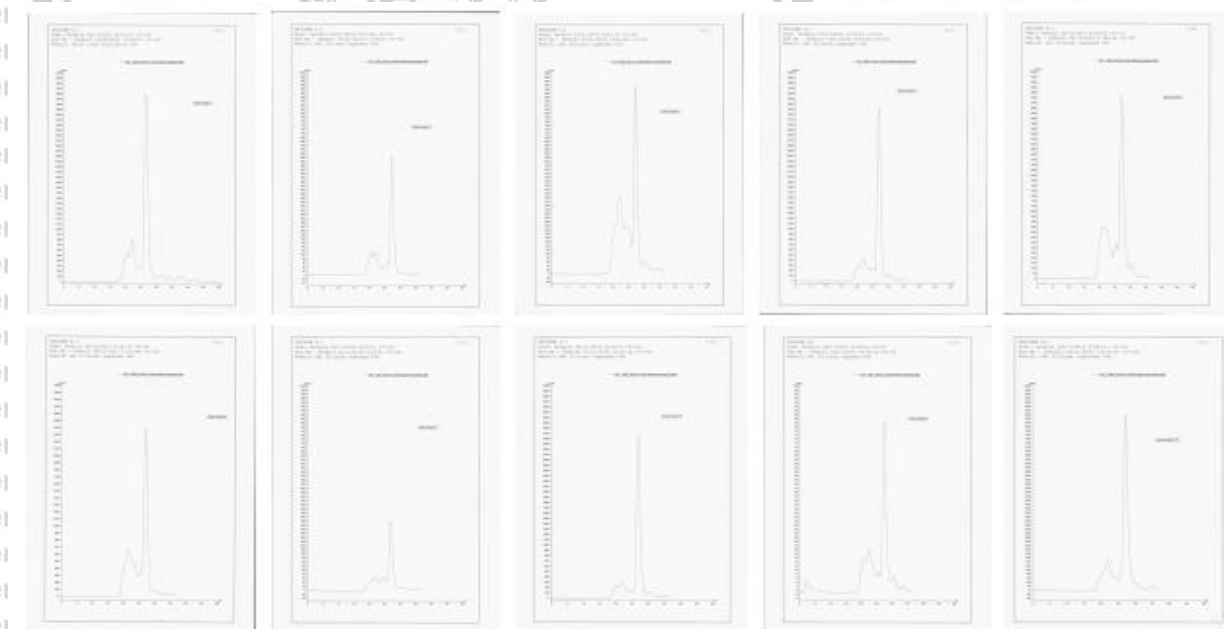


LAMPIRAN 9

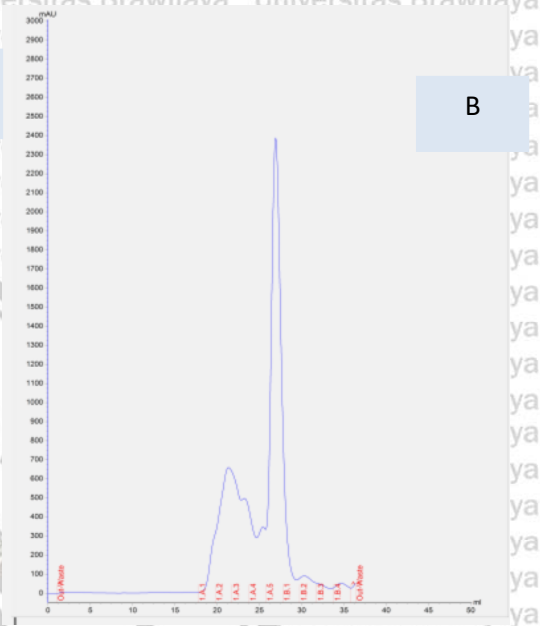
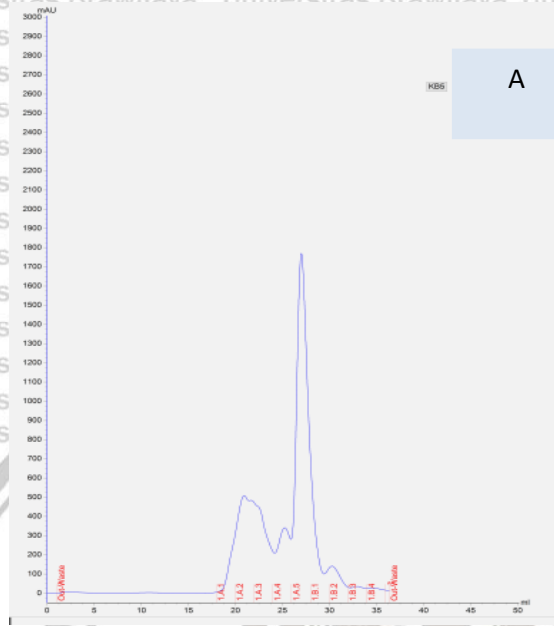
DOKUMENTASI HASIL KROMATOGRAFI NORMAL



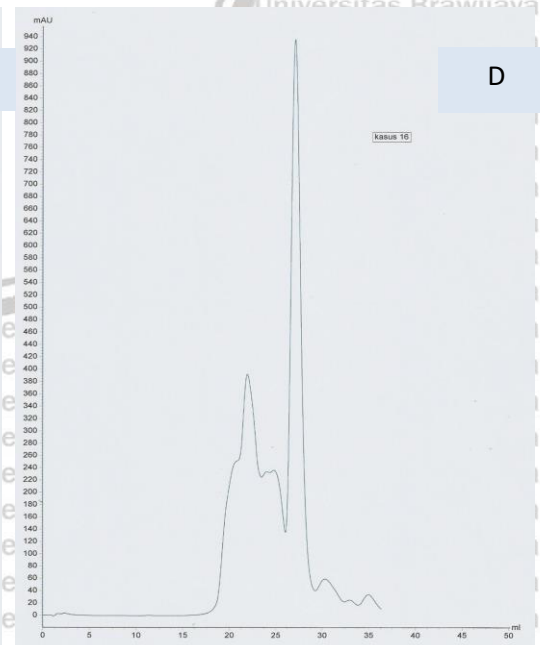
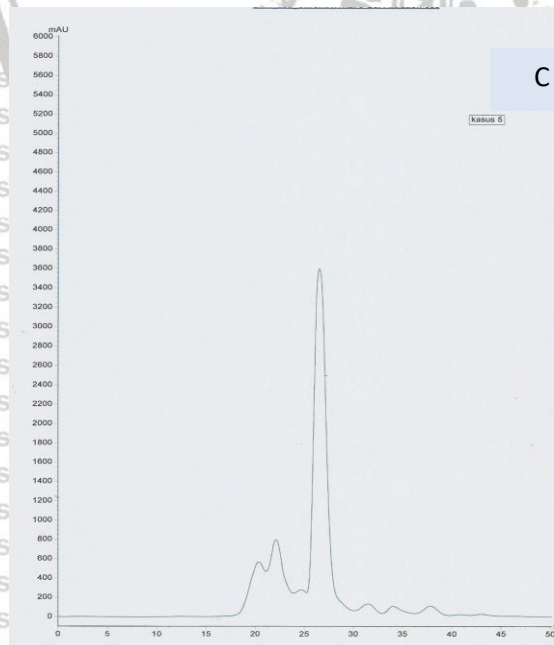
DOKUMENTASI HASIL KROMATOGRAFI KASUS BIOPSI







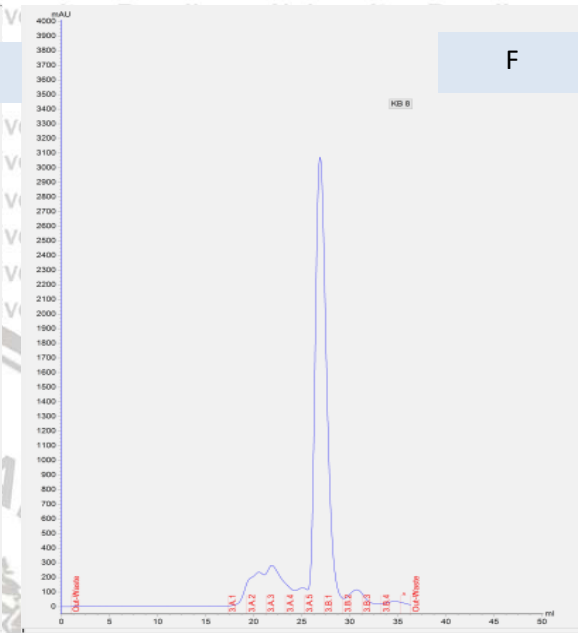
Gambar A. Kromatogram Kasus Biopsi 1 (KB1) NL kelas IV/AC  
Gambar B. Kromatogram Kasus Biopsi 3 (KB3) NL kelas III/A



Gambar C. Kromatogram Kasus Biopsi 5 (KB5) NL kelas IV/AC  
Gambar D. Kromatogram Kasus Biopsi 6 (KB6) NL kelas III/A



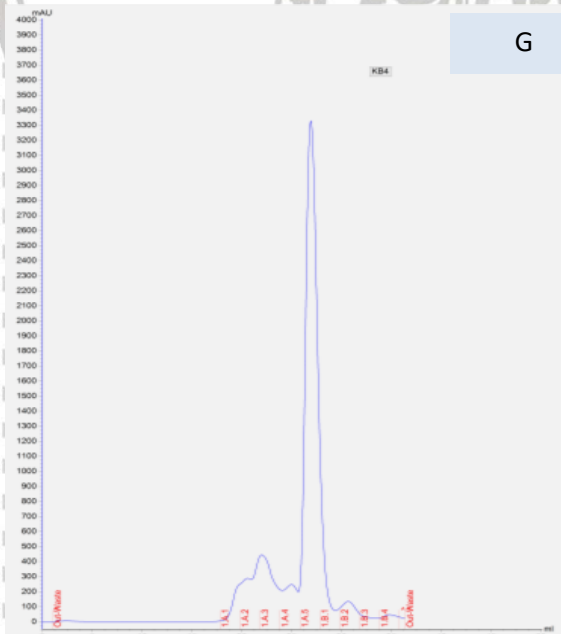
E



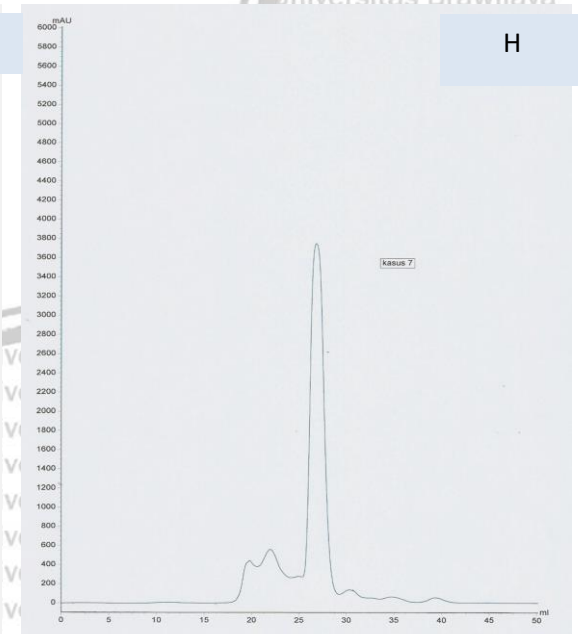
F

Gambar E. Kromatogram Kasus Biopsi 9 (KB9) NL kelas I

Gambar F. Kromatogram Kasus Biopsi 8 (KB8) NL kelas II



G



H

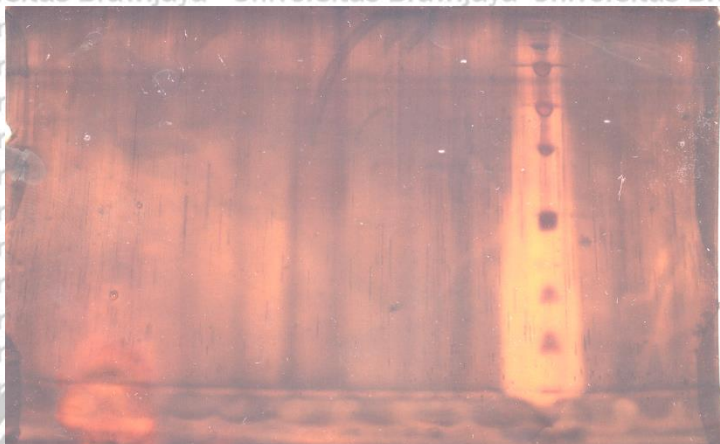
Gambar G. Kromatogram Kasus Biopsi 11 (KB11) NL kelas III(A)

Gambar H. Kromatogram Kasus Biopsi 16 (KB16) NL kelas IV (A/C)



**LAMPIRAN 10**

**HASIL SDS-PAGE PADA KONTROL NORMAL**



**sumur 11**

Marker (kDa)	a	b	rf =a/b	log Berat molekul 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 1 /N3/ Alfiani**

pita	a	b	rf	log BM	BM
pita1	1.85	5.83	0.317324	1.841511149	69.42424

**sumur 2/ N9/ Febi**

pita	a	b	rf	log BM	BM
pita1	1.8	5.98	0.301003	1.862635452	72.88455

**sumur 3/ N6/ Lia**

pita	a	b	rf	log BM	BM
pita1	1.71	5.83	0.29331	1.867277873	68.66783

**sumur 4/ N13/ Yuyun**

pita	a	b	rf	log BM	BM
Pita1	2.18	6.98	0.312321	1.850627507	70.89694

**sumur 5/ N18/ Lina**

pita	a	b	rf	log BM	BM



pita1	1.43	5.95	0.240336	2.005376471	69.2457
-------	------	------	----------	-------------	---------

**sumur 6/N17/Ria**

pita	a	b	rf	log BM	BM
Pita1	2.32	5.95	0.389916	1.852505882	70.20424

**sumur 7/N19/ Eveline**

pita	a	b	rf	log BM	BM
pita1	11.69	26.76	0.436846	1.844453	68.89616

**sumur 8/N4/ Fitriyah**

pita	a	b	rf	log BM	BM
Pita1	1.83	6.48	0.359568	1.895168	68.55398

**sumur 9/ N14 / Rima**

pita	a	b	rf	log BM	BM
pita1	1.85	5.72	0.323427	1.834963287	68.38538

**sumur 10/N2/Rosi**

pita	a	b	rf	log BM	BM
pita1	1.85	5.83	0.317324	1.841511149	69.42424

**sumur 11/N1/Dani**

pita	a	b	rf	log BM	BM
pita1	1.79	5.72	0.312937	1.846218531	70.18084

**sumur 12/N20/Mufida**

pita	a	b	rf	log BM	BM
pita3	1.99	5.98	0.332776	1.828924749	67.44112

**sumur 13/ N16/ Rindang**

pita	a	b	rf	log BM	BM
Pita1	2.18	6.98	0.312321	1.850627507	70.89694

**sumur 14/N12/Safa**

pita	a	b	rf	log BM	BM
Pita1	2.32	5.95	0.389916	1.852505882	70.20424

**Sumur 15 /N7/Luki**

pita	a	b	rf	log BM	BM
Pita1	12.22	26.76	0.456652	1.821261	66.26144

**Sumur 16 /N8/Arya**

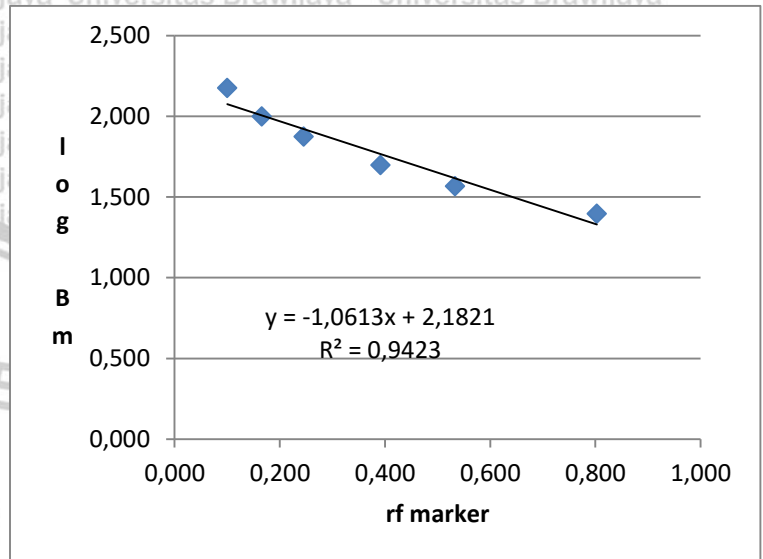
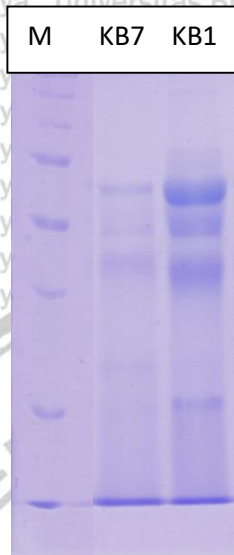
pita	a	b	rf	log BM	BM
pita1	11.79	26.76	0.440583	1.840077	69.19542

**Sumur 17 /N7/Luki**

pita	a	b	rf	log BM	BM
Pita1	1.99	5.98	0.332776	1.828924749	67.44112



**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**

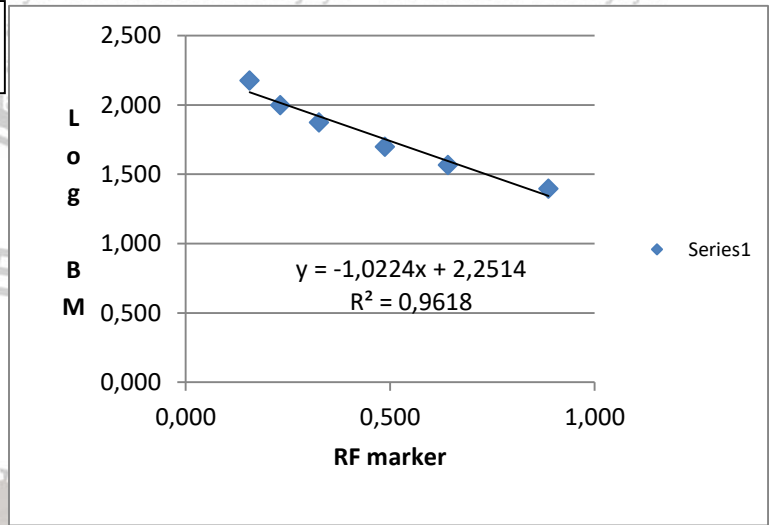
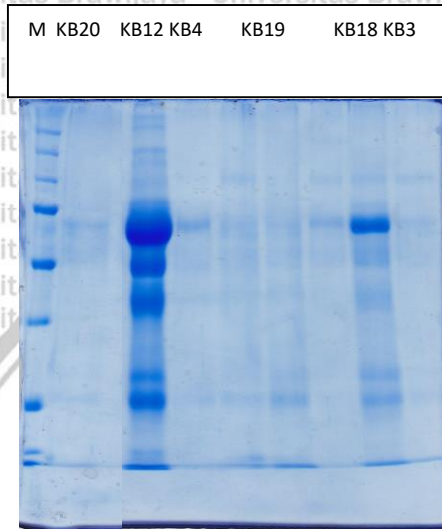
pita	a	b	rf	log BM	BM
pita1	1.88	5.98	0.314381	1.848441472	70.54098
pita2	2.39	5.98	0.399666	1.757954849	57.27365
pita3	2.88	5.98	0.481605	1.671016722	46.88314
Pita4	4.17	5.98	0.697324	1.442138796	27.67826

**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

**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) / Ignatus**

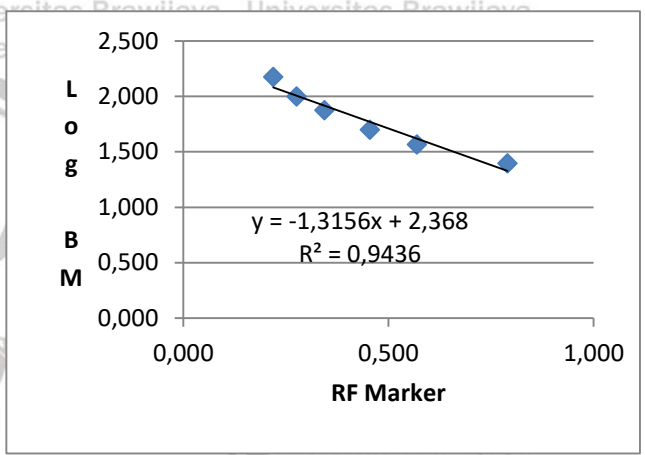
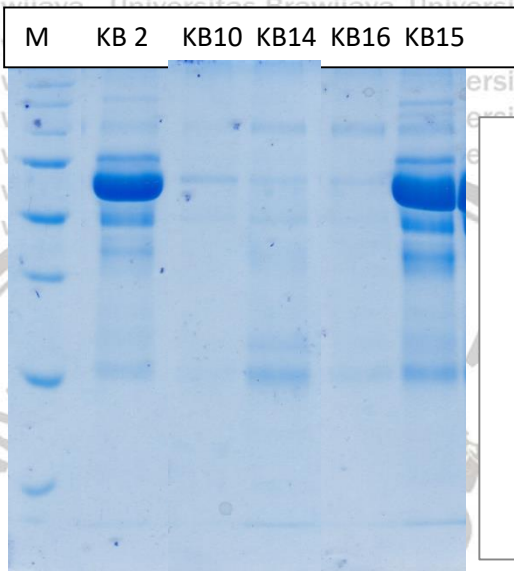
Pita	a	b	rf	log BM	BM
pita1	1.45	5.95	0.243697	2.001941176	100.448
pita2	1.92	5.95	0.322689	1.921211765	73.40878
pita3	2.26	5.95	0.379832	1.862811765	62.91414
Pita4	2.82	5.95	0.47395	1.766623529	58.42834
Pita5	3.54	5.95	0.594958	1.642952941	43.9494
Pita6	4.74	5.95	0.796639	1.436835294	27.34232
Pita7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

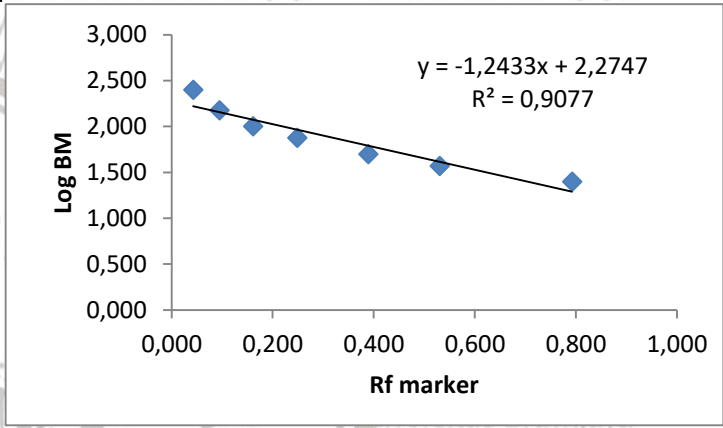
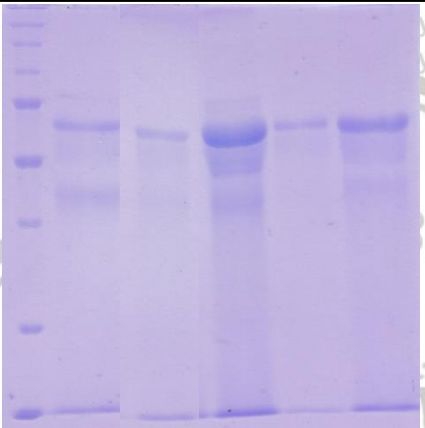
Pita	a	b	rf	log BM	BM
pita1	1.73	6.48	0.266975	2.016927	103.9747
pita2	2.38	6.48	0.367284	1.885022	76.73997
pita3	4.96	6.48	0.765432	1.361457	22.98565

**sumur 9 ( KB 15) / Siti Khotijah**

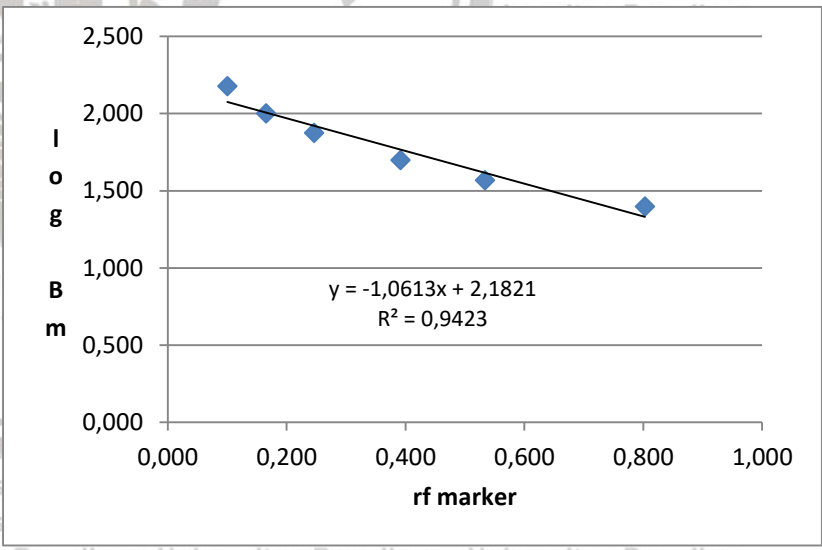
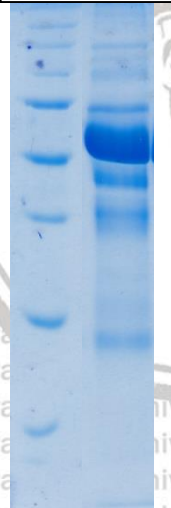
Pita	a	b	rf	log BM	BM
pita1	1.73	6.48	0.266975	2.016927	103.9747
pita2	2.07	6.48	0.319444	1.947931	88.70142
pita3	2.68	6.48	0.41358	1.824142	66.70248
Pita4	2.98	6.48	0.459877	1.763262	57.97788
Pita5	3.53	6.48	0.544753	1.65165	44.83836
Pita6	4.52	6.48	0.697531	1.450747	28.23234
Pita7	4.97	6.48	0.766975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

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

M KB9 KB8 KB5 KB13 KB6



M KB17





**HASIL SDS-PAGE dan PERHITUNGAN BERAT MOLEKUL PROTEIN PADA KASUS NL 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





## LAMPIRAN 11

### Data Pasien Nefritis Lupus

No	Kode	Nama	Umur	Kelas Biopsi	Kreatinin serum	Ureum serum	Urinalisis					
							Proteinuria	Hematuria	Mikros Ery/lpb	leukosituria	Mikros leko/lpb	Silinder
1	KB1	S.H	55	IV (A/C)	2,17	101,70	1+	-	0	-	1 sd 2	-
2	KB2	D.C	38	IV (A/C)	3,33	120,60	2+	3+	51,2	2+	73,2	0,92
3	KB3	U.T	19	III (A)	1,17	50,40	2+	2+	28,2	-	1,4	-
4	KB4	L.S	25	IV (A/C)&V	0,73	37,20	2+	1+	9,2	-	4,7	1,07
5	KB5	N.A	18	II	0,83	22,90	1+	-	1 sd 2	-	1 sd 2	-
6	KB6	NS	34	II	0,68	30,60	-	trace	21,3	3+	1003,6	0,46
7	KB7	N.N.I	25	IV (A/C)	2,25	55,10	-	trace	3,9	-	10,4	0,15
8	KB8	SR	33	II	0,70	31,90	-	-	8,6	-	8,7	1,84
9	KB9	M.A	26	I	0,68	24,60	-	-	2,3	-	11,5	1,38
10	KB10	S.W	28	III (A/C)	1,48	84,10	3+	3+	29,9	1+	16,5	Granular 1 sd 2
11	KB11	HA	21	III (A/C)	2,39	50,30	3+	Trace	2	Trace	8	Leuko 1
12	KB12	RP	28	III (A)	1,07	47,70	3+	1+	4,8	Trace	7,2	-
13	KB13	R.K	25	II	0,72	18,60	-	-	0	1+	4 sd 6	-
14	KB14	D.F	18	III (A/C)	0,76	16,40	Trace	-	0,5	Trace	9	-
15	KB15	D.A	23	III (A/C)	1,29	77,20	3+	2+	8,1	Trace	8,4	-
16	KB16	S.K	27	IV (A/C)	0,47	16,70	-	-	1,6	-	0,4	-
17	KB17	HM	28	II	0,77	91,70	-	-	0	-	0	-
18	KB18	O.A	21	III (A/C)	1,40	85,90	3+	3+	22	1+	30	1

19	KB19	FI	31	IV (A)	5,06	99,30	trace	0	Trace	0	-
20	KB20	A.A	18	IV (A)	0,76	58,10	2+	1,7	2+	44,4	-

No	Kode	Umur	Kromatografi		SDS PAGE	
			Peak I	Σ peak	Berat Molekul	Σ Band
1	KB1	55	800	7	120,77,67,57,44,28,22	7
2	KB2	38	600	7	104,78,69,59,49,28,23	7
3	KB3	19	400	7	101,64,57,23	4
4	KB4	25	500	6	73,56,45,24	4
5	KB5	18	500	6	69,59,49	3
6	KB6	34	680	7	66,45	2
7	KB7	25	600	7	70,57,46,27	4
8	KB8	33	300	7	69,47	2
9	KB9	26	400	5	72,60,58	3
10	KB10	28	720	7	117,73,66,54,42,37,33,27,21	9
11	KB11	21	800	8	106,66,22	3
12	KB12	28	1800	10	125,104,89,73,66,54,42,27,22	9
13	KB13	25	650	6	68,45	2
14	KB14	18	3000	8	106,68,60,29,22	5
15	KB15	23	400	9	103,78,66,57,44,28,22	3
16	KB16	27	420	8	103,66,22	7
17	KB17	28	450	6	91,77,70,69,66,62,59	2
18	KB18	21	450	7	100,73,62,58,43,27,22	7
19	KB19	31	300	5	74,57,47,27,22	5
20	KB20	18	1400	9	65,60,63	3



### Data Pasien Normal

No	Kode	Nama	Jenis Kelamin	Umur	Urinalisa			Kromatografi		SDS PAGE	
					Proteinuria	Hematuria	leukosituria	Peak pertama	jumlah peak	Berat Molekul	jumlah Band
1	N1	Dani	P	33	-	-	-	250	5	70	1
2	N2	Rosi	P	32	-	-	-	150	6	69	1
3	N3	Alfiani	P	24	-	-	-	200	7	69	1
4	N4	Fitriyah	P	31	-	-	-	200	6	68	1
5	N5	Tsabita	P	23	-	-	-	300	6	67	1
6	N6	Lia	P	34	-	-	-	200	6	68	1
7	N7	Luki	P	31	-	-	-	50	6	66	1
8	N8	Arya	P	19	-	-	-	60	6	69	1
9	N9	Febi	P	19	-	-	-	200	6	72	1
10	N10	Yeni	P	20	-	-	-	100	6	67	1
11	N11	Lisa	P	20	-	-	-	40	6	68	-
12	N12	Safa	P	38	-	-	-	80	6	70	1
13	N13	Yuyun	P	30	-	-	-	250	6	70	1
14	N14	Rima	P	31	-	-	-	180	6	68	1
15	N15	Asih	P	21	-	-	-	200	6	72	1
16	N16	Rindang	P	19	-	-	-	50	6	70	1
17	N17	Ria	P	20	-	-	-	180	6	70	1
18	N18	Lina	P	38	-	-	-	200	6	69	1
19	N19	eveline	P	22	-	-	-	200	6	68	1
20	N20	Mufida	P	24	-	-	-	300	7	67	1

Lampiran 12: SPSS: Kontrol Sehat

Descriptive Statistics

	N	Range	Minimum	Maximum	Mean		Std. Deviation	Variance	Skewness		Kurtosis	
	Statistic	Statistic	Statistic	Statistic	Statistic	Std. Error	Statistic	Statistic	Statistic	Std. Error	Statistic	Std. Error
Umur	20	19	19	38	26,45	1,484	6,637	44,050	,385	,512	-1,343	,992
proteinuria	0											
leukosituria	0											
hematuria	0											
Valid N (listwise)	0											

proteinuria

	Frequency	Percent
Missing System	20	100,0

leukosituria

	Frequency	Percent
Missing System	20	100,0

hematuria

	Frequency	Percent
Missing System	20	100,0

jumlah peak

	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid 5	1	5,0	5,0	5,0
6	17	85,0	85,0	90,0
7	2	10,0	10,0	100,0
Total	20	100,0	100,0	



## Kelompok Nefritis Lupus

### Descriptive Statistics

	N	Range	Minimum	Maximum	Mean		Std. Deviation	Variance	Skewness		Kurtosis	
	Statistic	Statistic	Statistic	Statistic	Statistic	Std. Error	Statistic	Statistic	Statistic	Std. Error	Statistic	Std. Error
Umur	20	37	18	55	27,05	1,931	8,636	74,576	1,859	,512	4,979	,992
Proteinuria	20	4	0	4	1,90	,376	1,683	2,832	,027	,512	-1,777	,992
leuko dipstik	20	4	0	4	1,05	,276	1,234	1,524	1,015	,512	,134	,992
Leukosituria	20	1003,60	,00	1003,60	62,3700	49,69820	222,25710	49398,220	4,426	,512	19,700	,992
Hematuria	20	51,20	,00	51,20	9,9650	3,05554	13,66479	186,727	1,833	,512	3,219	,992
Ureum	20	104,20	16,40	120,60	56,0500	7,22831	32,32596	1044,968	,462	,512	-1,002	,992
kreatinin	20	4,59	,47	5,06	1,4355	,25348	1,13358	1,285	2,093	,512	4,778	,992
Valid N (listwise)	20											

### Descriptives

		Statistic	Std. Error
proteinuria	Mean	1,90	,376
	95% Confidence Interval for Mean		
	Lower Bound	1,11	
	Upper Bound	2,69	
	5% Trimmed Mean	1,89	
	Median	2,00	
	Variance	2,832	
	Std. Deviation	1,683	
	Minimum	0	
	Maximum	4	
	Range	4	
	Interquartile Range	4	
	Skewness	,027	,512

	Kurtosis		-1,777	,992
leuko dipstik	Mean		1,05	,276
	95% Confidence Interval for	Lower Bound	,47	
		Upper Bound	1,63	
	5% Trimmed Mean		,94	
	Median		1,00	
	Variance		1,524	
	Std. Deviation		1,234	
	Minimum		0	
	Maximum		4	
	Range		4	
	Interquartile Range		2	
	Skewness		1,015	,512
	Kurtosis		,134	,992
	leukosituria	Mean		62,3700
95% Confidence Interval for		Lower Bound	-41,6495	
		Upper Bound	166,3895	
5% Trimmed Mean			13,5444	
Median			8,2000	
Variance			49398,220	
Std. Deviation			222,25710	
Minimum			,00	
Maximum			1003,60	
Range			1003,60	
Interquartile Range			13,25	
Skewness			4,426	,512
Kurtosis			19,700	,992



hematuria	Mean		9,9650	3,05554
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	3,5697	
		Upper Bound	16,3603	
	5% Trimmed Mean		8,2278	
	Median		3,1000	
	Variance		186,727	
	Std. Deviation		13,66479	
	Minimum		,00	
	Maximum		51,20	
	Range		51,20	
	Interquartile Range		16,65	
	Skewness		1,833	,512
	Kurtosis		3,219	,992

#### Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	Df	Sig.
proteinuria	,221	20	,012	,820	20	,002
leuko dipstik	,253	20	,002	,816	20	,002
leukosituria	,432	20	,000	,289	20	,000
hematuria	,272	20	,000	,736	20	,000

a. Lilliefors Significance Correction

## Ureum

### Case Processing Summary

		Cases					
		Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
kelompok ureum							
jumlah peak	normal	9	100,0%	0	0,0%	9	100,0%
	meningkat	11	100,0%	0	0,0%	11	100,0%

### Descriptives

kelompok ureum		Statistic	Std. Error	
jumlah peak	normal	Mean	7,00	
		95% Confidence Interval for Lower Bound	5,85	
		Mean Upper Bound	8,15	
		5% Trimmed Mean	6,94	
		Median	7,00	
		Variance	2,250	
		Std. Deviation	1,500	
		Minimum	5	
		Maximum	10	
		Range	5	
		Interquartile Range	2	
		Skewness	,857	,717
		Kurtosis	,825	1,400
meningkat	Mean	7,36	,388	
		Lower Bound	6,50	



95% Confidence Interval for Mean	Upper Bound	8,23	
5% Trimmed Mean		7,40	
Median		7,00	
Variance		1,655	
Std. Deviation		1,286	
Minimum		5	
Maximum		9	
Range		4	
Interquartile Range		2	
Skewness		-,148	,661
Kurtosis		-,387	1,279

**Tests of Normality**

	kelompok ureum	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
jumlah peak	normal	.192	9	.200*	.928	9	.447
	meningkat	.248	11	.058	.887	11	.128

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

a. Lilliefors Significance Correction

## Kreatinin

### Case Processing Summary

		Cases					
		Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
	kelompok kreatinin						
jumlah peak	normal	11	100,0%	0	0,0%	11	100,0%
	meningkat	9	100,0%	0	0,0%	9	100,0%

### Descriptives

		kelompok kreatinin		Statistic	Std. Error
jumlah peak	normal	Mean		7,09	,456
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	6,07	
			Upper Bound	8,11	
		5% Trimmed Mean		7,05	
		Median		7,00	
		Variance		2,291	
		Std. Deviation		1,514	
		Minimum		5	
		Maximum		10	
		Range		5	
		Interquartile Range		2	
		Skewness		,661	,661
		Kurtosis		-,288	1,279
meningkat	Mean			7,33	,408
		Lower Bound		6,39	



95% Confidence Interval for Mean	Upper Bound	8,27	
5% Trimmed Mean		7,37	
Median		7,00	
Variance		1,500	
Std. Deviation		1,225	
Minimum		5	
Maximum		9	
Range		4	
Interquartile Range		2	
Skewness		-,292	,717
Kurtosis		,825	1,400

#### Tests of Normality

		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
jumlah peak	normal	,219	11	,146	,925	11	,361
	meningkat	,282	9	,038	,854	9	,083

a. Lilliefors Significance Correction

#### T-Test

### Group Statistics

	kelompok ureum	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
proteinuria	normal	9	1,11	1,537	,512
	meningkat	11	2,55	1,572	,474
leuko dipstik	normal	9	,89	1,364	,455
	meningkat	11	1,18	1,168	,352
leukosituria	normal	9	117,0111	332,48902	110,82967
	meningkat	11	17,6636	23,06184	6,95341
hematuria	normal	9	5,5889	6,76673	2,25558
	meningkat	11	13,5455	16,93555	5,10626

### Ranks

	kelompok ureum	N	Mean Rank	Sum of Ranks
proteinuria	normal	9	7,83	70,50
	meningkat	11	12,68	139,50
	Total	20		
leukosituria	normal	9	10,28	92,50
	meningkat	11	10,68	117,50
	Total	20		
hematuria	normal	9	9,56	86,00
	meningkat	11	11,27	124,00
	Total	20		
jumlah peak	normal	9	9,44	85,00
	meningkat	11	11,36	125,00
	Total	20		



Test Statistics<sup>a</sup>

	proteinuria	leuko dipstik	leukosituria	hematuria	jumlah peak
Mann-Whitney U	25,500	40,000	47,500	41,000	40,000
Wilcoxon W	70,500	85,000	92,500	86,000	85,000
Z	-1,887	-,765	-,152	-,648	-,743
Asymp. Sig. (2-tailed)	,059	,444	,879	,517	,457
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,067 <sup>b</sup>	,503 <sup>b</sup>	,882 <sup>b</sup>	,552 <sup>b</sup>	,503 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: kelompok ureum

b. Not corrected for ties.

Ranks

kelompok kreatinin	N	Mean Rank	Sum of Ranks
proteinuria	normal	8,46	101,50
	meningkat	13,56	108,50
	Total	20	
leukosituria	normal	9,67	116,00
	meningkat	11,75	94,00
	Total	20	
hematuria	normal	9,33	112,00
	meningkat	12,25	98,00
	Total	20	
jumlah peak	normal	9,79	117,50
	meningkat	11,56	92,50
	Total	20	

Test Statistics<sup>a</sup>

	proteinuria	leuko dipstik	leukosituria	hematuria	jumlah peak
Mann-Whitney U	23,500	35,500	38,000	34,000	39,500
Wilcoxon W	101,500	113,500	116,000	112,000	117,500
Z	-1,956	-1,022	-,772	-1,083	-,675
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050	,307	,440	,279	,500
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,057 <sup>b</sup>	,343 <sup>b</sup>	,473 <sup>b</sup>	,305 <sup>b</sup>	,521 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: kelompok kreatinin

b. Not corrected for ties.

