

**PERAN KADAR TRANSFORMING GROWTH FACTOR BETA-1  
(TGF- $\beta$ 1) TERHADAP DERAJAT KERUSAKAN KATUP MITRAL PADA  
ANAK DENGAN PENYAKIT JANTUNG REUMATIK**

**TESIS**



Oleh:

**Ratih Kusumawardani**

**158070900111004**

Pembimbing:

**dr. Renny Suwarniaty, Sp.A(K)**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS  
ILMU KESEHATAN ANAK  
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
RSU Dr. SAIFUL ANWAR MALANG**

**2019**



**DAFTAR ISI**

<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	i
<b>LEMBAR PERSETUJUAN TESIS</b> .....	ii
<b>IDENTITAS TIM PENGUJI</b> .....	iii
<b>PERNYATAAN ORISINALITAS TESIS</b> .....	iv
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	v
<b>RINGKASAN</b> .....	vii
<b>SUMMARY</b> .....	ix
<b>DAFTAR ISI</b> .....	x
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	1
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	1
<b>DAFTAR SINGKATAN</b> .....	3
<b>BAB 1 PENDAHULUAN</b> .....	3
1.1 Latar Belakang .....	4
1.2 Rumusan Masalah .....	4
1.2.1 Rumusan Sub Masalah .....	4
1.3 Tujuan Penelitian .....	4
1.3.1 Tujuan Umum .....	4
1.3.2 Tujuan Khusus .....	4
1.4 Manfaat Penelitian .....	5
1.4.1 Manfaat di bidang ilmiah dan penelitian .....	5
1.4.2 Manfaat di bidang klinis .....	5
<b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	5
2.1 Penyakit Jantung Reumatik .....	6
2.1.1 Definisi Penyakit Jantung Reumatik .....	8
2.1.2 Epidemiologi Penyakit Jantung Reumatik .....	11
2.1.3 Etiologi Penyakit Jantung Reumatik .....	11
2.1.4 Faktor Risiko Penyakit Jantung Reumatik .....	
2.1.5 Patogenesis Penyakit Jantung Reumatik .....	15
2.1.5.1 Respon Imun pada Penyakit Jantung Reumatik .....	20
2.1.5.2 Mekanisme Kerusakan Katup pada Penyakit Jantung Reumatik .....	26 30
2.1.6 Manifestasi Klinis Penyakit Jantung Reumatik .....	30

2.1.7	Diagnosis Penyakit Jantung Reumatik .....	30
2.1.8	Pemeriksaan Penunjang Penyakit Jantung Reumatik .....	31
2.1.8.1	Ekokardiografi .....	
2.1.8.2	Diagnosis Infeksi Streptococcus .....	34
2.2	<i>Transforming Growth Factor Beta 1 (TGF-β1)</i> .....	40
2.3	Peranan <i>Transforming growth factor-β (TGF-β1)</i> pada Penyakit Jantung Reumatik .....	43
2.4	Kerangka Teori .....	45
<b>BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN</b> .....		46
3.1	Kerangka Konsep Penelitian .....	46
3.2	Hipotesis Penelitian .....	46
<b>BAB 4 METODE PENELITIAN</b> .....		46
4.1	Jenis dan Rancangan Penelitian .....	46
4.2	Tempat dan Waktu Penelitian .....	47
4.3	Populasi dan Sampel Penelitian .....	47
4.3.1	Populasi .....	48
4.3.2	Sampel .....	48
4.4	Perhitungan Besar Sampel Penelitian .....	48
4.5	Kriteria Inklusi dan Eksklusi Penelitian .....	48
4.5.1	Kriteria Inklusi Sampel .....	49
4.5.2	Kriteria Inklusi Kontrol .....	50
4.5.3	Kriteria Eksklusi Sampel .....	50
4.5.4	Kriteria Eksklusi Kontrol .....	50
4.6	Variabel Penelitian .....	50
4.6.1	Variabel Bebas .....	51
4.6.2	Variabel Tergantung .....	53
4.7	Definisi Operasional Variabel .....	53
4.8	Bahan dan Alat .....	53
4.9	Prosedur Penelitian .....	53
4.9.1	Pengambilan Sampel Darah .....	54
4.9.2	Teknik <i>Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)</i> .....	54
4.9.2.1	Isolasi Serum .....	56
4.9.2.2	Preparasi Sampel .....	56
4.9.2.3	<i>Assay Procedure</i> .....	57

4.10 Pengumpulan Data .....	58
4.11 Analisis Data .....	58
4.12 Alur Penelitian .....	59
<b>BAB 5 HASIL PENELITIAN .....</b>	
5.1 Karakteristik Subjek Penelitian .....	60
5.2 Uji Normalitas .....	62
5.3 Perbandingan Kadar <i>Transforming Growth Factor Beta-1</i> (TGF- $\beta$ 1) .....	64
berdasarkan Derajat Regurgitasi Mitral .....	69
5.4 Korelasi Kadar TGF- $\beta$ 1 terhadap Derajat Regurgitasi Katup Mitral .....	71
<b>BAB 6 PEMBAHASAN .....</b>	76
<b>BAB 7 SIMPULAN DAN SARAN .....</b>	
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	
<b>LAMPIRAN .....</b>	



**DAFTAR TABEL**

**Tabel 2.1** Manifestasi Klinis Penyakit Jantung Reumatik ..... 25

**Tabel 2.2** Kriteria Jones untuk Diagnosis Demam Reumatik Akut ..... 26

**Tabel 2.3** Kriteria WHO tahun 2002-2003 untuk Diagnosis Demam Reumatik Akut dan Penyakit Jantung Reumatik (berdasarkan revisi kriteria Jones) ..... 28

**Tabel 2.4** Kriteria Jones Revisi 2015 ..... 29

**Tabel 5.1** Karakteristik Subjek Penelitian ..... 58

**Tabel 5.2** Perbandingan Rerata Kadar TGF-β1 berdasar Derajat Regurgitasi Katup Mitral ..... 60

**Tabel 5.3** Perbandingan Rerata Kadar TGF-β1 Pasien Demam Reumatik Akut dan Penyakit Jantung Reumati ..... 62



DAFTAR GAMBAR

**Gambar 2.1** Prevalensi dan tingkat mortalitas penyakit jantung reumatik di seluruh dunia ..... 6

**Gambar 2.2** Gambar skematis presentasi antigen Streptococcus dan aktivasi respon imun ..... 13

**Gambar 2.3** Patogenesis demam reumatik akut dan penyakit jantung reumatik ..... 15

**Gambar 2.4** Gambaran skematis infiltrasi jaringan jantung oleh sel T dan reaktivitas autoimun ..... 19

**Gambar 2.5** Model aktivasi *latent transforming growth factor-β1* (TGF-β1) oleh kontraksi myofibroblast ..... 32

**Gambar 2.6** Gen yang terlibat dalam perkembangan demam reumatik dan penyakit jantung reumatik ..... 36

**Gambar 2.7** Peran berbagai subset sel T dan sitokin pada patogenesis penyakit jantung reumatik ..... 37

**Gambar 2.8** Kerangka Teori ..... 40

**Gambar 2.9** Kerangka Konsep ..... 43

**Gambar 2.10** Alur Penelitian ..... 57

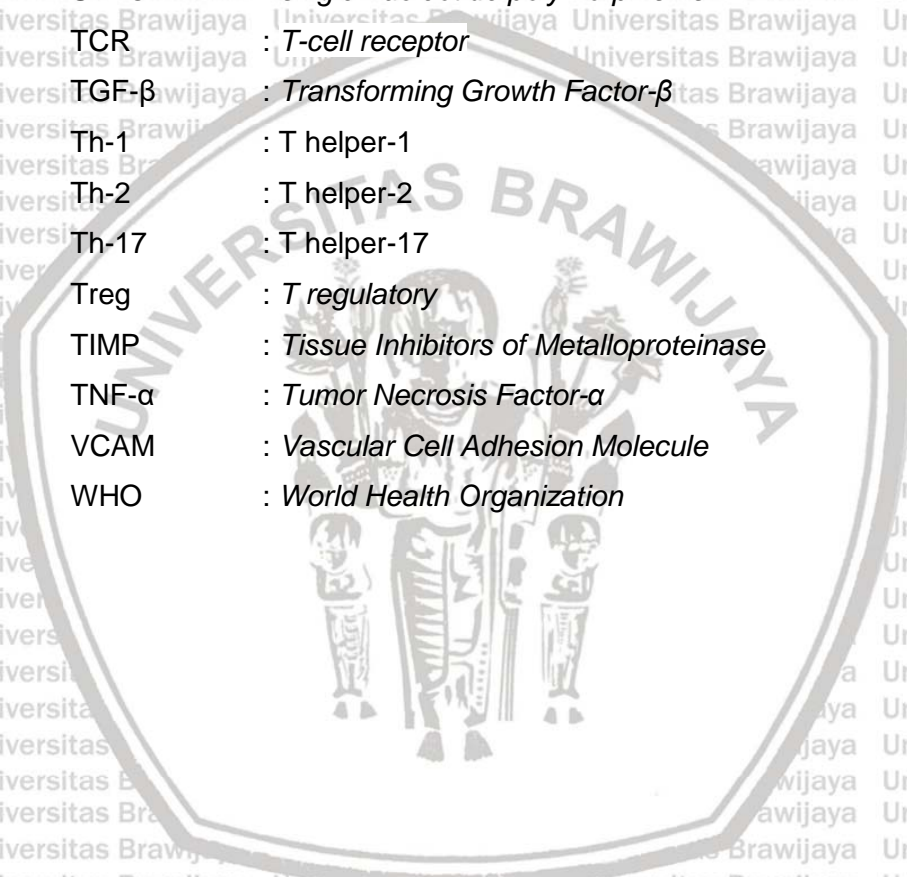
**Gambar 5.1** Rerata kadar TGF-β1 berdasarkan derajat regurgitasi katup mitral ..... 61

**DAFTAR SINGKATAN**

- ADNase-B : *Antideoxyribonuclease B*
- AHA : *American Heart Association*
- APC : *Antigen Presenting Cell*
- ARF : *Acute Rheumatic Fever*
- ASK : *Antistreptokinase Antibody*
- ASTO : *Antistreptolysin-O*
- CRP : *C-Reactive Protein*
- DC : *Dendritic cell*
- DRA : *Demam Reumatik Akut*
- ECM : *Extra Cellular Matrix*
- EKG : *Elektrokardiografi*
- GABHS : *Group A  $\beta$ -hemolytic Streptococcus*
- HLA : *Human Leucocyte Antigen*
- hs-CRP : *high-sensitivity C reactive Protein*
- ICAM : *Intercellular Cell Adhesion Molecule*
- IL-1 : *Interleukin-1*
- IL-2 : *Interleukin-2*
- IL-4 : *Interleukin-4*
- IL-6 : *Interleukin-6*
- IL-10 : *Interleukin-10*
- IL-17 : *Interleukin-17*
- IL-23 : *Interleukin-23*
- IFN- $\gamma$  : *Interferon- $\gamma$*
- MBL : *Mannose Binding Lectin*
- MHC : *Major Histocompatibility Complex*
- MMP : *Matrix Metalloproteinases*
- MR : *Mitral regurgitasi*
- NK : *Natural Killer*
- PICP : *Procollagen-type 1 carboxy-terminal propeptide*
- PIIICP : *Procollagen-type 3 carboxy-terminal propeptide*
- PINP : *Procollagen-type 1 amino-terminal propeptide*



- PIIINP : Procollagen-type 3 amino-terminal propeptide
- PJR : Penyakit Jantung Reumatik
- RF : *Rheumatic Fever*
- RHD : *Rheumatic Heart Disease*
- ROS : *Reactive Oxygen Species*
- SAVIC : *sheep aortic valve interstitial cell*
- SGA : Streptococcus grup A
- SNPs : *single-nucleotide polymorphisms*
- TCR : *T-cell receptor*
- TGF- $\beta$  : *Transforming Growth Factor- $\beta$*
- Th-1 : T helper-1
- Th-2 : T helper-2
- Th-17 : T helper-17
- Treg : *T regulatory*
- TIMP : *Tissue Inhibitors of Metalloproteinase*
- TNF- $\alpha$  : *Tumor Necrosis Factor- $\alpha$*
- VCAM : *Vascular Cell Adhesion Molecule*
- WHO : *World Health Organization*





## BAB 1

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Demam reumatik akut (DRA) dan penyakit jantung reumatik (PJR) merupakan masalah kesehatan masyarakat yang utama di negara berkembang, terutama pada anak usia 6-15 tahun dan merupakan penyebab kematian terbanyak akibat penyakit jantung didapat pada anak-anak dan orang dewasa di bawah 40 tahun. Jumlah morbiditas untuk PJR adalah 5,2 juta per tahun di seluruh dunia. Mortalitas global sebesar 5,5 per 100.000 populasi, dengan angka tertinggi 7,6 per 100.000 pada populasi di Asia Tenggara (WHO, 2004; Madiyono *et al.*, 2009; Scalzi *et al.*, 2010; Busari *et al.*, 2013).

Penyakit jantung reumatik terjadi pada 30-45% kasus DRA. Penyakit ini merupakan kondisi kronis yang ditandai dengan fibrosis pada katup jantung serta kerusakan otot jantung (Guilherme *et al.*, 2004; Guilherme *et al.*, 2007). Kelainan katup pada PJR yang paling sering pada anak adalah mitral regurgitasi atau insufisiensi. Pada kondisi yang berat, PJR dapat menimbulkan gagal jantung (Guilherme *et al.*, 2004; Madiyono *et al.*, 2009).

Penyakit jantung reumatik merupakan komplikasi serius demam reumatik yang tergantung dari faktor hospes yang dimediasi oleh respon inflamasi dan respon autoimun, dipicu oleh respon imun sebagai proteksi terhadap *Streptococcus pyogenes* (Guilherme *et al.*, 2013). Penelitian-penelitian sebelumnya telah menunjukkan bahwa PJR dimediasi oleh respon autoimun humoral dan seluler yang

terjadi sebagai konsekuensi sekuele jangka panjang akibat infeksi *Streptococcus*  $\beta$ -*hemolyticus* grup A. Berbagai penelitian sebelumnya juga menunjukkan bahwa sitokin merupakan regulator utama pada proses imun (Bright *et al.*, 2016).

*Transforming growth factor*- $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) adalah sitokin regulator dan peningkatan produksi TGF- $\beta$ 1 dapat menghambat penyakit autoimun dan inflamasi kronis. *Transforming growth factor*- $\beta$ 1 merupakan sitokin regulator utama pada perbaikan jaringan normal dan perkembangan fibrosis. *Transforming growth factor*- $\beta$ 1 memediasi respon inflamasi, menyebabkan produksi matriks ekstraseluler yang berlebihan, meningkatkan sintesa *tissue inhibitors of metalloproteinases* (TIMP), menurunkan sintesa protease, dan menginduksi diferensiasi myofibroblast (Hinz *et al.*, 2009).

Pada penelitian sebelumnya dengan cara biopsi katup pasien dengan PJR didapatkan bahwa ekspresi TGF- $\beta$ 1 mengalami peningkatan pada katup mitral. Ekspresi TGF- $\beta$ 1 yang lebih tinggi akan berkaitan dengan fibrosis katup, infiltrasi sel radang, diferensiasi fibroblas menjadi myofibroblas pada katup, kalsifikasi, dan perubahan pada matriks ekstraseluler pada katup PJR. *Transforming growth factor*- $\beta$ 1 mungkin berperan dalam fibrosis dan deformitas katup pada PJR sehingga TGF- $\beta$ 1 dapat menjadi target dalam pencegahan terjadinya disfungsi katup pada pasien yang menderita demam reumatik (Kim *et al.*, 2008).

Ekokardiografi merupakan baku emas untuk menentukan derajat keparahan keterlibatan katup pada PJR. Namun pemeriksaan ini masih belum tersedia secara luas, sehingga dikembangkan alternatif pemeriksaan lain yang dapat berperan sebagai prediktor derajat kerusakan katup pada penderita PJR. Salah satu metode

yang tengah dikembangkan adalah pemeriksaan biomarker remodelling dan inflamasi, seperti TGF- $\beta$ 1 (Vijayalakshmi *et al.*, 2008).

Hingga saat ini masih belum ada penelitian khusus mengenai keterkaitan antara kadar TGF- $\beta$ 1 tersirkulasi dengan derajat kerusakan katup mitral pada anak dengan penyakit jantung reumatik. Penelitian terdahulu dari Kim *et al.* (2008) meneliti mengenai kadar TGF- $\beta$ 1 pada jaringan katup yang diambil melalui biopsi saat operasi penggantian katup pada dewasa dengan PJR (Kim *et al.*, 2008). Pada anak jarang dilakukan operasi penggantian katup akibat PJR, sehingga sulit untuk dilakukan pemeriksaan kadar TGF- $\beta$ 1 pada jaringan katup. Oleh karena itu dikembangkan metode lain yang relatif tidak invasif yakni dengan pemeriksaan kadar TGF- $\beta$ 1 yang tersirkulasi di darah. Penelitian ini merupakan penelitian pertama mengenai pengaruh kadar TGF- $\beta$ 1 tersirkulasi terhadap derajat kerusakan katup mitral pada anak dengan PJR.

## 1.2. Rumusan masalah

Apakah peran kadar TGF- $\beta$ 1 terhadap derajat kerusakan katup mitral pada anak dengan PJR?

### 1.2.1 Rumusan Sub Masalah

1. Apakah kadar TGF- $\beta$ 1 pada anak dengan PJR (dengan kerusakan katup) lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol (DRA tanpa kerusakan katup)?
2. Apakah terdapat perbedaan kadar TGF- $\beta$ 1 antara regurgitasi katup mitral ringan, sedang, dan berat pada anak dengan PJR?

3. Apakah terdapat hubungan antara TGF- $\beta$ 1 dengan derajat regurgitasi katup mitral pada anak dengan PJR?

### **1.3 Tujuan penelitian**

#### **1.3.1 Tujuan umum**

Mengetahui peran kadar TGF- $\beta$ 1 terhadap derajat regurgitasi katup mitral pada anak dengan PJR.

#### **1.3.2 Tujuan khusus**

1. Mengetahui perbedaan kadar TGF- $\beta$ 1 pada anak dengan PJR (dengan kerusakan katup) dibandingkan dengan kelompok kontrol (DRA tanpa kerusakan katup).
2. Mengetahui perbedaan kadar TGF- $\beta$ 1 antara kelompok regurgitasi katup mitral ringan, sedang, dan berat pada anak dengan PJR.
3. Mengetahui hubungan antara TGF- $\beta$ 1 dengan derajat regurgitasi katup mitral pada anak dengan PJR.

### **1.4 Manfaat penelitian**

#### **1.4.1 Manfaat di bidang ilmiah dan penelitian**

1. Memperkuat teori mengenai peran TGF- $\beta$ 1 terhadap kerusakan katup mitral pada anak dengan PJR.
2. Memberikan informasi baru mengenai peran TGF- $\beta$ 1 terhadap derajat keparahan regurgitasi katup mitral pada anak dengan PJR.

#### 1.4.2 Manfaat di bidang klinis

1. Memberikan kandidat biomarker baru untuk memprediksi derajat keparahan regurgitasi katup mitral pada anak dengan PJR.
2. Membantu menentukan prognosis pasien anak dengan PJR.

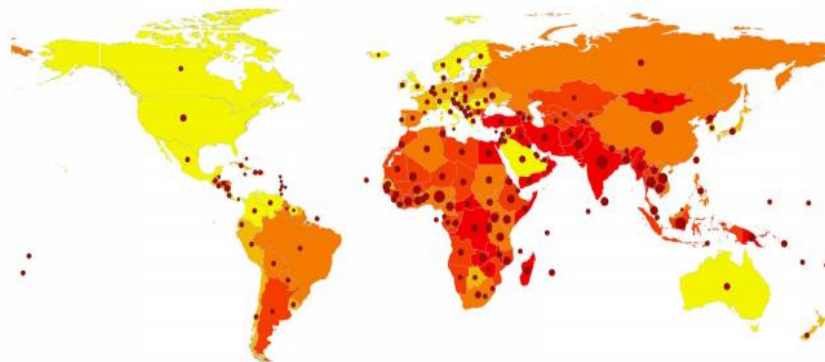
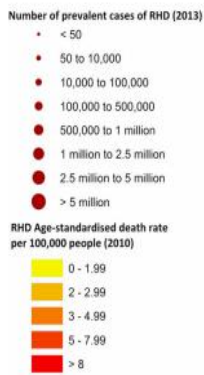


**BAB 2****TINJAUAN PUSTAKA****2.1 Penyakit Jantung Reumatik****2.1.1 Definisi Penyakit Jantung Reumatik**

Penyakit Jantung Reumatik adalah kelainan jantung yang terjadi sebagai akibat adanya gejala sisa (sekuele) dari demam reumatik akut, yang ditandai dengan terjadinya cacat pada katup jantung yang bersifat permanen. Demam reumatik (DR) adalah suatu penyakit yang diakibatkan oleh respons imunologis lambat yang umumnya terjadi 2-3 minggu setelah infeksi kuman *Streptococcus  $\beta$ -hemolyticus grup A* pada tenggorok (Underwood, 2000). Penyakit jantung reumatik merupakan penyebab kelainan katup yang terbanyak pada anak. Penyakit jantung reumatik ini dapat menimbulkan kerusakan katup yang menetap, terutama pada katup mitral dan aorta, sehingga akan menurunkan produktivitas dan kualitas hidup (Madiyono *et al.*, 2009).

**2.1.2 Epidemiologi Penyakit Jantung Reumatik**

Demam reumatik akut dan penyakit jantung reumatik masih merupakan masalah kesehatan utama di beberapa negara, terutama di negara berkembang. Lesi jantung yang diakibatkan kuman *Streptococcus  $\beta$ -hemolyticus grup A* pada demam reumatik terjadi pada 30-45% pasien. Insiden DRA di beberapa negara-negara berkembang melebihi 50 per 100.000 anak (Madiyono *et al.*, 2009).



**Gambar 2.1 Prevalensi dan tingkat mortalitas penyakit jantung reumatik di seluruh dunia.**

Diperkirakan terjadi 33 juta prevalensi kasus dan 275.000 kematian setiap tahunnya, dengan angka kematian terbanyak di negara dengan pendapatan rendah dan menengah  
 Dikutip dari: Zuhlke *et al.*, 2017.

Prevalensi PJR di seluruh dunia 15,6 juta kasus, dengan 282.000 kasus baru dan menyebabkan sekitar 233.000 kematian/tahun. Angka kejadian yang tinggi di negara berkembang berhubungan dengan sosial ekonomi yang rendah, pelayanan kesehatan yang kurang memadai, infeksi tenggorok yang tidak diobati atau penanganan yang lambat, lingkungan yang padat, industrialisasi, dan urbanisasi (Guilherme *et al.*, 2011).

Prevalensi PJR di Indonesia belum diketahui dengan pasti. Data terakhir mengenai prevalensi DRA di Indonesia untuk tahun 1981-1990 sebesar 0,3-0,8 diantara 1.000 anak usia sekolah (Siregar *et al.*, 2008). Dalam laporan WHO tahun 2014, angka mortalitas untuk PJR 0,5 per 100.000 penduduk di negara maju, 8,2 per 100.000 penduduk di negara berkembang, dan di daerah Asia Tenggara diperkirakan 7,6 per 100.000 penduduk (WHO, 2014).

### 2.1.3 Etiologi Penyakit Jantung Reumatik

Penyakit jantung reumatik merupakan reaksi autoimun (kekebalan tubuh) yang diawali oleh demam reumatik. Demam reumatik akut disebabkan oleh *Streptococcus  $\beta$ -hemolyticus grup A* strain tertentu yang bersifat reumatogenik dan adanya faktor predisposisi genetik. Kemungkinan individu atau seseorang menderita DRA setelah infeksi *Streptococcus  $\beta$ -hemolyticus grup A* di tenggorok sebesar 0,3-3%. Infeksi *Streptococcus  $\beta$ -hemolyticus grup A* pada tenggorok selalu mendahului terjadinya demam reumatik baik demam reumatik serangan pertama maupun demam reumatik serangan ulang (Bright *et al.*, 2016).

Dinding sel *Streptococcus* mengandung protein (antigen M, R, dan T), karbohidrat (spesifik untuk tiap grup), dan peptidoglikan. Pada *Streptococcus* grup A, terdapat juga fili yang tersusun dari sebagian besar protein M yang dilapisi *lipoteichoic acid*. Fili ini berperan penting dalam perlekatan *Streptococcus* ke sel epitel (Walker *et al.*, 2014).

*Streptococcus  $\beta$ -hemolyticus grup A* seperti *Streptococcus pyogenes* merupakan agen pencetus yang menyebabkan terjadinya DRA. Tidak semua serotipe *Streptococcus* grup A dapat menimbulkan demam reumatik. Serotipe tertentu *Streptococcus  $\beta$ -hemolyticus grup A*, misalnya serotipe M tipe 1, 3, 5, 6, 18, 24 lebih sering diisolasi dari penderita dengan DRA. Namun, karena serotipe tidak diketahui pada saat diagnosis klinis faringitis maka dianggap semua serotipe *Streptococcus* grup A mempunyai kemampuan menyebabkan demam reumatik (Walker *et al.*, 2016).



Protein M merupakan faktor virulensi utama dari *Streptococcus pyogenes*.

Apabila tidak ada antibodi spesifik tipe-M, organisme ini mampu bertahan terhadap proses fagositosis oleh polimorfonuklear. Protein M dan antigen pada dinding sel *Streptococcus* memiliki peranan penting dalam patogenesis demam reumatik (Walker *et al.*, 2016).

#### 2.1.4 Faktor Risiko Penyakit Jantung Reumatik

Hingga saat ini mekanisme terjadinya DRA masih belum diketahui dengan pasti. Berdasarkan berbagai penelitian, disepakati bahwa infeksi faring oleh *Streptococcus  $\beta$ -hemolyticus grup A* berhubungan dengan DRA dan tidak pernah terjadi akibat infeksi selain di faring (Cunningham, 2000; Madiyono *et al.*, 2009).

Diduga patofisiologi DRA merupakan kombinasi dari 3 faktor, yaitu organisme bakteri *Streptococcus  $\beta$ -hemolyticus grup A*, kerentanan pejamu, dan pengaruh lingkungan (Bryant *et al.*, 2009; Kumar & Tandon, 2013).

*Streptococcus  $\beta$ -hemolyticus grup A* akan menyerang sistem pernafasan bagian atas dan melekat pada jaringan faring. Adanya protein M menyebabkan organisme ini mampu menghambat fagositosis sehingga bakteri ini dapat bertahan pada faring selama 2 minggu, sampai antibodi spesifik terhadap *Streptococcus* selesai dibentuk (Seckeler & Hoke, 2011).

Protein M, faktor virulen yang terdapat pada dinding sel *Streptococcus*, secara imunologi memiliki kemiripan dengan struktur protein yang terdapat dalam tubuh manusia seperti miokardium (*miosin* dan *tropomiosin*), katup jantung (*laminin*), sinovial (*vimentin*), kulit (*keratin*) juga subtlamus dan nukleus

Univer kaudatus di otak (*lysogangliosides*). Adanya kemiripan pada struktur molekul inilah yang mendasari terjadinya respon autoimun pada demam reumatik. Kelainan respon imun ini didasarkan pada reaktivitas silang antara protein M *Streptococcus* dengan jaringan manusia yang akan mengaktivasi sel limfosit B dan T. Sel T yang telah teraktivasi akan menghasilkan sitokin dan antibodi spesifik yang secara langsung menyerang protein tubuh manusia yang mirip dengan antigen *Streptococcus*. Pada *chorea Sydenham*, ditemukan antibodi pada nukleus kaudatus otak yang lazim ditemukan terhadap antigen membran sel *Streptococcus*. Ditemukannya antibodi terhadap katup jantung yang mengalami reaksi silang dengan *N-acetylglucosamine*, karbohidrat dari *Streptococcus β-hemolyticus grup A*, membuktikan bahwa antibodi bertanggung jawab terhadap kerusakan katup jantung (Seckeler & Hoke, 2011).

Faktor genetik juga berperan terhadap kerentanan terjadinya demam reumatik, namun mekanisme yang pasti belum diketahui. Risiko terjadinya demam reumatik setelah faringitis oleh *Streptococcus*, pada mereka yang mempunyai kerentanan secara genetik, adalah sekitar 50% dibandingkan dengan mereka yang tidak rentan secara genetik. Telah diidentifikasi suatu alloantigen pada sel B dari 75% penderita demam reumatik, sedangkan hanya didapatkan 16% pada yang bukan penderita. Mekanisme reaksi silang antara *Streptococcus β-hemolyticus grup A* dan protein jaringan jantung terjadi pada pasien PJR dengan kerentanan genetik. Petanda genetik (*genetic marker*) pada penderita DRA dan PJR telah terbukti khususnya fokus studi pada *major histocompatibility complex* (MHC) dan utamanya polimorfisme *human leucocyte antigen* (HLA) class II pada alel tertentu yang berhubungan dengan DR dan PJR (Guilherme *et al.*, 2007). HLA-DR7 adalah alel

yang paling sering muncul dengan progresifitas lesi katup (Guilherme *et al.*, 2007).

Kekuatan korelasi alel HLA kelas II berkisar antara 2,3-13,6 kali terhadap kejadian DRA dan PJR yang mengindikasikan pentingnya identifikasi alel untuk memprediksi progresivitas destruksi katup (Guilherme *et al.*, 2007).

Umur merupakan faktor predisposisi penting dalam timbulnya DR. Penyakit ini sering mengenai anak berumur antara 5-15 tahun dengan puncak sekitar umur 8 tahun. Distribusi ini sesuai dengan insidens infeksi *Streptococcus β-hemolyticus* grup A pada anak usia sekolah. Prevalensi PJR di Indonesia sebesar 0,3-0,8 per 100.000 penduduk usia 5-15 tahun (Suprihati *et al.*, 2006). Tidak didapatkan perbedaan prevalensi demam reumatik pada anak perempuan maupun laki-laki. Namun kelainan katup sebagai gejala sisa PJR juga menunjukkan perbedaan jenis kelamin, yakni regurgitasi mitral lebih sering pada anak perempuan dan regurgitasi aorta pada anak laki-laki (Afif *et al.*, 2008).

Faktor lingkungan juga berhubungan erat terhadap perkembangan demam reumatik. Kebersihan lingkungan yang buruk, kepadatan tempat tinggal, sarana kesehatan yang kurang memadai juga pemberian antibiotik yang tidak adekuat pada pencegahan primer dan sekunder demam reumatik, meningkatkan insidensi penyakit ini (Riaz *et al.*, 2013).

Tingkat sosial ekonomi merupakan faktor penting dalam terjadinya DR. Golongan masyarakat dengan tingkat pendidikan dan pendapatan yang rendah merupakan golongan yang paling rawan (Rahmawaty *et al.*, 2012). Menurut penelitian Mbeza, masyarakat yang hidup dengan tingkat sosial ekonomi rendah memiliki risiko 2,68 kali menderita DR (RR=2,68) (Mbeza *et al.*, 2007). Perubahan

cuaca yang mendadak sering mengakibatkan insidens infeksi saluran nafas bagian atas meningkat, sehingga insidens DR juga meningkat (Sudoyo, 2006). Pada musim hujan kemungkinan terjadinya PJR 3,24 kali (RR 3,24) (Mbeza *et al.*, 2007).

## 2.1.5 Patogenesis Penyakit Jantung Reumatik

### 2.1.5.1 Respon Imun pada Penyakit Jantung Reumatik

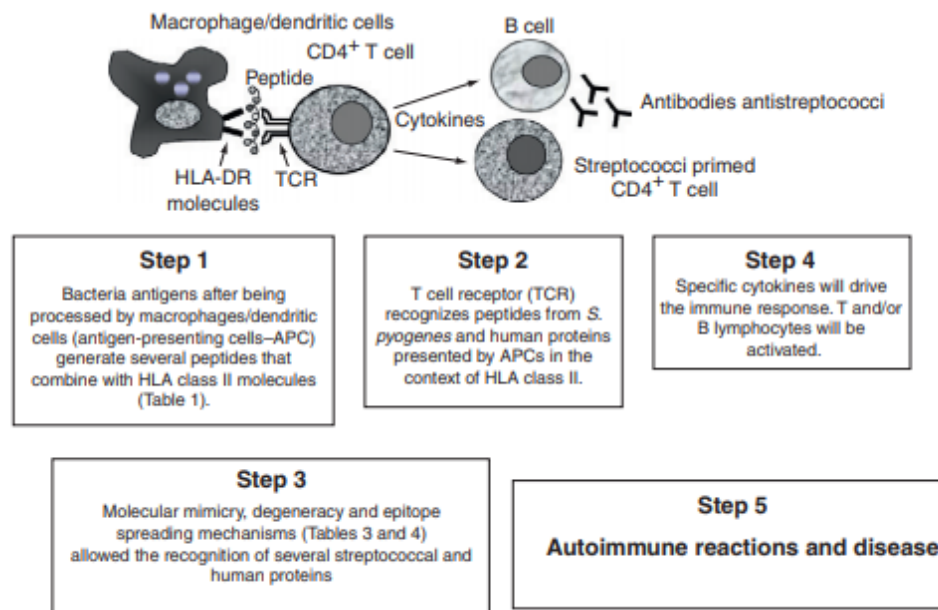
Patogenesis demam reumatik pada individu rentan, berkaitan dengan respon selular dan humoral autoimun terhadap jaringan, yang dipicu oleh respon terhadap *Streptococcus β-hemolyticus grup A*. Penyakit jantung reumatik terjadi pada 30-45% pasien demam reumatik. Pada pasien PJR, terjadi proses inflamasi yang persisten pada jaringan jantung, meski tidak ada agen infeksius. Hal ini diduga terjadi karena adanya sel T yang bereaksi silang akan memicu dan mempertahankan inflamasi di jantung, serta adanya ketidakseimbangan sitokin yang akan berkontribusi terhadap terjadinya pengulangan reaksi autoimun dan inflamasi pada lesi jantung pada pasien dengan PJR (Guilherme, 2004)

Guilherme *et al.* telah mengidentifikasi tiga regio immunodominan protein M *Streptococcus β-hemolyticus grup A* sebagai M5 (1-25), M5 (81-103), dan M5 (163-177). Ini menunjukkan bahwa protein ini lebih mudah dikenali oleh sel T perifer dan klon sel T intra lesi, dan menunjukkan reaksi silang dengan protein jantung. Adanya kemiripan struktural dan imunologi antara protein M *Streptococcus* dan myosin jantung merupakan faktor yang penting dalam perkembangan karditis reumatik.

Setelah stimulasi antigen, terjadi diferensiasi limfosit dan makrofag menjadi sel yang memproduksi sitokin. Limfosit yang terstimulasi akan menstimulasi makrofag melalui

kontak sel langsung atau dengan memproduksi berbagai sitokin. Sitokin seperti TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ , IL-10, IL-6, dan IFN- $\gamma$  merupakan sinyal penting yang mengikuti terjadinya infeksi dan memicu respon imun efektif pada individu. Sitokin memegang peran penting dalam memicu reaksi inflamasi dan imunologi pada DRA (Guilherme & Kalil, 2013).

Respon hospes terhadap infeksi *Streptococcus  $\beta$ -hemolyticus grup A* meliputi produksi antibodi tipe spesifik, opsonisasi, dan fagositosis. Saat memasuki jaringan hospes, *Streptococcus  $\beta$ -hemolyticus grup A* akan dieliminasi secara efektif oleh sistem imun melalui proses opsonisasi dengan antibodi spesifik dan komplemen, yang selanjutnya difagosit. Dalam hospes non-imun, protein M mengerahkan efek anti fagositiknya dengan mengganggu opsonisasi melalui jalur komplemen alternatif. Antigen *Streptococcus  $\beta$ -hemolyticus grup A* mempunyai struktur dan sifat yang mirip dengan jaringan pejamu, antara lain protein M, polisakarida, asam hialuronat, dan membran protoplasma. Antibodi yang terbentuk pada *Streptococcus  $\beta$ -hemolyticus grup A* memberikan reaksi silang dengan jaringan jantung, persendian, kulit, dan jaringan lainnya, yang selanjutnya mencetuskan reaksi inflamasi multi sistem (Cunningham, 2000; Guilherme & Kalil, 2009).



**Gambar 2.2** Gambar skematis presentasi antigen *Streptococcus* dan aktivasi respon imun.

Terdapat tahap-tahap penting yang terjadi selama respon imun adaptif. Terdapat empat tahap yang memicu terjadinya reaksi dan penyakit autoimun.

Dikutip dari: Guilherme *et al.*, 2011

Reaktivitas silang (*cross-reactivity*) terhadap antibodi juga ditemukan pada serum penderita DRA. Antibodi terhadap *N-acetyl-β-D-glucosamine carbohydrate* didapatkan pada dinding sel *Streptococcus β-hemolyticus grup A* dan jaringan katup jantung. Antibodi tersebut mempunyai reaktivitas silang dengan laminin, suatu matriks ekstraseluler dari protein yang mengelilingi miosit yang juga terdapat pada jaringan katup (Guilherme & Kalil, 2009).

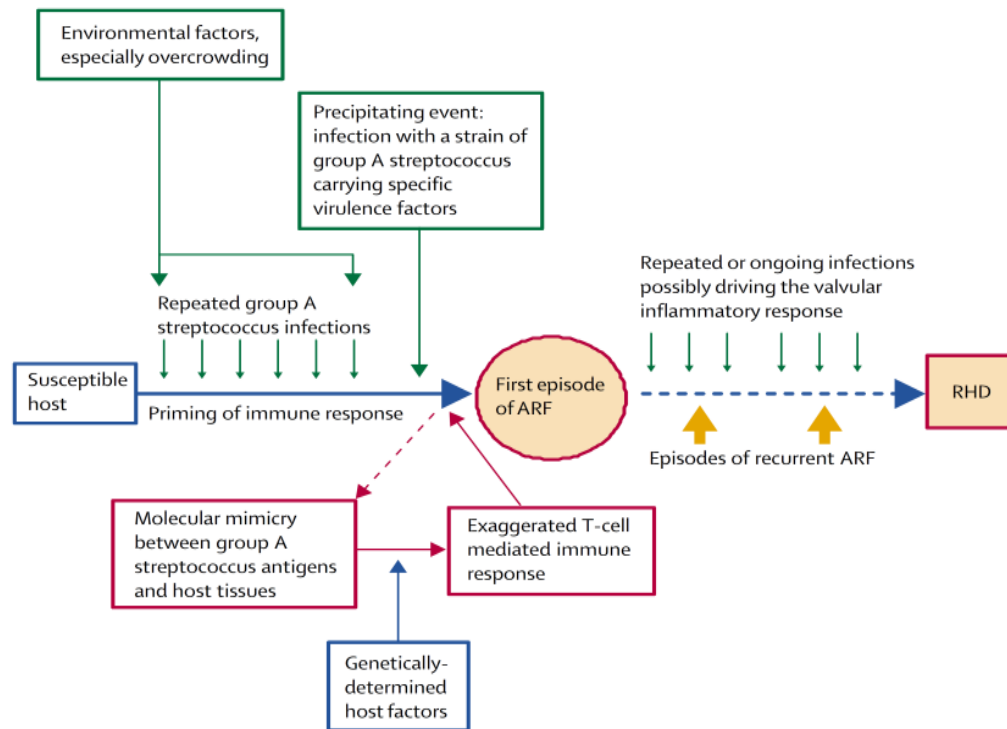
Patogen diproses oleh *antigen presenting cell* (APC)

(makrofag/monosit/dendritik sel-DC) setelah proses fagositosis. Beberapa peptida dihasilkan dan disajikan dalam kombinasi dengan molekul HLA ke sel T CD4+

sehingga mengaktifkan respon imun. Sel T perifer dan antibodi pasien PJR

mengenali peptida yang berasal dari protein M5 setelah terjadi infeksi. Selama proses inflamasi, antibodi *anti-S.pyogenes* dan sitokin inflamasi mendukung migrasi sel T primer ke jaringan jantung. Sel-sel T dalam jantung mengenali protein manusia, seperti miosin, vimentin, dan protein jaringan jantung lainnya sebagai antigen sehingga menyebabkan lesi autoimun (Guilherme & Kalil, 2013).

Patogenesis reumatik karditis pada fase inisiasi melibatkan dua fase, yaitu kerusakan antibodi dan inflamasi endotel, yang menyebabkan katup jantung rentan terhadap infiltrasi dan serangan sel T. Terdapat reaksi silang dan molekul mimikri antara myosin dan protein M. Antibodi yang terdapat pada pasien dapat mengenali miosin pada miokardium serta mengenali endotelium katup dan laminin. Antibodi monoklonal pada pasien reumatik karditis mengenali epitop laminin dan myosin jantung, bersifat sitotoksik untuk endotelium. Reaksi silang menginduksi serangan yang dimediasi sel T terhadap jaringan jantung dan katup. Ketika terjadi kerusakan dan inflamasi jaringan jantung, protein intraselular akan muncul untuk menginvasi sel imun. Respon imun Th1 akan berlanjut dengan memicu respon granulomatosa pada katup jantung (memicu perkembangan auto-antibodi terhadap komponen katup), menimbulkan inflamasi dan luka parut tambahan (Guilherme *et al.*, 2006; Veinot, 2006; Guilherme & Kalil, 2009).



**Gambar 2.3 Patogenesis demam reumatik akut dan penyakit jantung reumatik.**

Pada hospes, episodik DRA pertama terjadi setelah infeksi GABHS, faktor antigen kuman pada kerentanan genetik tertentu akan bereaksi silang dengan jaringan hospes sehingga mencetuskan respon imun. DRA awal memungkinkan terjadinya karditis ringan yang bermanifestasi subklinis dan tidak terdiagnosis, sehingga dengan demikian pasien tidak mendapatkan profilaksis untuk mencegah kekambuhan. Terutama pada kondisi sosial-ekonomi yang rendah, kekambuhan menyebabkan kerusakan jantung lanjut, menghasilkan penyakit jantung reumatik yang simptomatik.

Dikutip dari: Carapetis *et al.*, 2005

### 2.1.5.2 Mekanisme Kerusakan Katup pada Penyakit Jantung Reumatik

Lesi katup merupakan sekuele demam reumatik akut dan kondisi ini paling sering ditemukan pada katup mitral. Insufisiensi mitral merupakan lesi yang paling sering ditemukan pada masa anak dan remaja dengan PJR kronis (Guilherme *et al.*, 2013). Inflamasi pada jaringan katup menyebabkan edema pada korda tendinea dan daun katup. Lesi yang khas pada endokarditis adalah ditemukannya *MacCallumpatch*, yaitu daerah yang menebal di atrium kiri yang terletak di atas basis



daun mitral posterior. Gangguan penutupan katup awalnya terjadi akibat degenerasi hyalin yang membentuk veruka pada tepi katup. Lama kelamaan terjadi fibrosis dan kalsifikasi pada katup. Petanda patologi PJR yang dapat ditemui adalah adanya nodul *Aschoff* pada jaringan jantung. Apabila reaksi ini mengenai katup, maka akan tampak veruka atau nodul pada katup mitral disertai edema dan infiltrasi sel imunologis (Madiyono *et al.*, 2008).

Berbagai penyakit inflamasi, infeksi, dan degeneratif dapat merusak katup dan fungsinya. Katup biasanya terdiri dari membran fleksibel tipis, yang menutup erat untuk mencegah aliran darah balik. Ketika katup rusak, katup dapat menebal menyebabkan penyempitan dan menghambat aliran darah, suatu kondisi yang disebut sebagai stenosis katup. Penyakit yang merusak jaringan katup juga mungkin mengakibatkan aliran darah *retrograde*, yang disebut regurgitasi atau insufisiensi katup (Rubin & Strayer, 2011).

Gangguan yang disebabkan demam reumatik pada katup jantung dapat berupa kebocoran katup (insufisiensi) atau penyempitan katup (stenosis). Kedua kelainan ini akan menyebabkan gangguan aliran darah pada jantung. Pada keadaan stenosis, darah yang dipompa akan sulit melalui katup jantung yang menyempit. Sementara pada keadaan insufisiensi terjadi semacam kebocoran. Meskipun kuman penyakit ini bisa menyerang semua katup jantung, yang paling sering terjadi adalah kerusakan pada katup mitral. Jika pada stenosis katup mitral, darah tidak dapat dipompa ke luar secara leluasa dari bilik jantung kiri, pada insufisiensi katup mitral terjadi sebaliknya (Walker, 2004).

Katup jantung adalah struktur jaringan ikat yang berfungsi untuk mempertahankan aliran hemodinamik yang sesuai. Sel interstisial katup adalah sel terbanyak pada daun katup jantung, dan berperan dalam mempertahankan integritas struktural katup. Selain itu, daun katup jantung juga mengandung protein matriks ekstraseluler, terutama kolagen, elastin, glikosaminoglikans, yang bersama-sama membentuk struktur fleksibel yang mudah mengalami perubahan bentuk namun kuat menghadapi stress hemodinamik. Struktur katup dipertahankan oleh metabolisme matriks ekstraseluler yang tepat, yang dilakukan oleh sel interstisiel katup. Sel mesenkim berbentuk spindle menghasilkan komponen matriks ekstraseluler yang meliputi *collagen*, *fibronectin*, *chondroitin sulfate*, dan *prolyl-4-hydroxylase*. Sel ini juga menghasilkan enzim yang mendegradasi matriks ekstraseluler seperti *matrix metalloproteases* (MMPs) dan *cathespin D* (Walker, 2004).

Fibrosis dimulai oleh faktor yang memicu mekanisme perbaikan tubuh secara fisiologis, yakni respon inflamasi dan perbaikan jaringan ikat. Ketika mekanisme penyembuhan luka normal dan perbaikan mengalami deregulasi, terjadi fibrosis. Gambaran umum fibrosis adalah sekresi berlebihan dan remodelling matriks ekstraseluler yang tidak sesuai, yang didominasi oleh kolagen fibrous. Sel yang berperan dalam proses ini adalah myofibroblast, fenotip yang menggabungkan gambaran fibroblast yang memproduksi matriks ekstraseluler dan karakteristik sitoskeletal sel otot polos. Adanya aktivitas kontraktile yang kuat dari myofibroblast akan membentuk kontraktur pada jaringan ikat dan remodelling matriks ekstraseluler yang irreversibel, yang menyebabkan *fibrotic scar* yang kaku. Proses fibrosis ini

dapat terjadi di seluruh organ, termasuk katup jantung, sebagaimana pada PJR (Hinz, 2009).

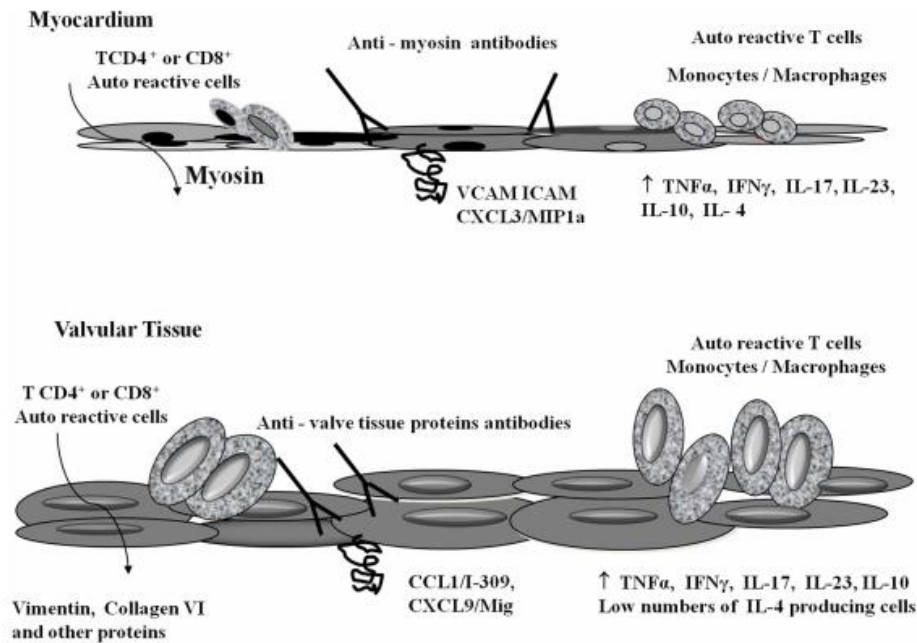
Lesi katup pada PJR dimediasi oleh reaksi inflamasi dan reaksi autoimun. Respon imun alami/ *innate* maupun didapat/ adaptif terlibat dalam perkembangan penyakit. Sistem imun alami merupakan tahap pertama pertahanan tubuh melawan infeksi *S.pyogenes* dengan mengaktivasi kaskade komplemen. Sistem komplemen merupakan bagian dari sistem imun alami dan terdiri dari berbagai protein, yang terlibat dalam kaskade proteolisis dan berujung pada eliminasi patogen yang menginvasi (Veinot, 2006).

Terjadi rekrutmen dan infiltrasi limfosit T ke dalam lapisan endotel katup yang mengalami inflamasi, yang lebih lanjut menimbulkan inflamasi, degenerasi, dan remodeling. Hasil yang ditimbulkan meliputi neovaskularisasi, inflamasi kronis, fusi komisura, kalsifikasi, dan penebalan serta pemendekan korda pada katup atrioventrikular (Veinot, 2006).

Lesi katup pada PJR merupakan hasil dari inflamasi kronis dan infiltrasi sel T CD4+ dan CD8+ ke dalam katup. Lesi akut yang berulang kebanyakan berkembang menjadi PJR, dengan deformitas katup merupakan sekuele reumatik kronis, dan kebanyakan menimbulkan regurgitasi atau stenosis katup mitral (Guilherme *et al.*, 2013).

Terdapat bukti kuat terjadinya inflamasi endotel katup pada karditis reumatik akut. Beberapa sel-sel inflamasi, seperti neutrofil, makrofag, serta limfosit T dan B, menginfiltrasi ke dalam miokardium dan katup. Sel sel tersebut masuk melalui miokardium dan katup melalui *upregulasi* ekspresi molekul adesi. *Upregulasi*

molekul adhesi akan menimbulkan infiltrasi sel T ke dalam katup avaskular. Katup mengalami infiltrasi oleh sel T spesifik protein M dan menimbulkan jaringan parut pada jaringan jantung. Pada akhirnya penyakit menjadi kronis pada katup, protein-protein dalam katup seperti laminin, vimentin, dan kolagen dipresentasikan pada sistem imun dan diperkirakan akan terjadi penyebaran epitop (Guilherme & Kalil, 2006). Pada PJR, infiltrasi sel T terjadi setelah ikatan antara antibodi reaksi silang terhadap permukaan endotel yang menimbulkan inflamasi dan jaringan parut pada katup (Guilherme *et al.*, 2004). Respon imun akan berlanjut untuk menimbulkan respon Th1 dalam katup dengan menimbulkan jaringan parut (Guilherme & Kalil, 2006).



**Gambar 2.4 Gambaran skematis infiltrasi jaringan jantung oleh sel T dan reaktivitas autoimun.**

Sel T yang reaktif terhadap Streptococcus akan menginfiltrasi jaringan miokard dan katup melalui integrin spesifik (VCAM, ICAM) dan kemokin (CCL1/I-309, CXCL3/MIP1 $\alpha$ , CXCL9/Mig). Pada miokard, sel T mengenali myosin jantung. Sedangkan pada katup, vimentin, collagen VI, dan protein lain merupakan target reaksi autoimun, yang kemudian

menyebabkan peningkatan sitokin-sitokin proinflamasi seperti TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-17, IL-23, dan IL-10.

Dikutip dari: Guilherme & Kalil, 2013

Matriks ekstraseluler terdiri dari sebuah jaringan *fibrillar collagen*, sebuah membran dasar, proteoglikan dan glikosaminoglikan serta molekul sinyal bioaktif.

Jaringan kolagen adalah sebuah struktur aktif metabolik yang memerlukan keseimbangan antara sintesis dan degradasinya untuk menentukan pergantian yang diperkirakan berlangsung antara 80-120 hari (Gonzales *et al.*, 2009). Pergantian kolagen diregulasi oleh fibroblas yang kemudian didiferensiasi menjadi myofibroblas (Wynn, 2008). Sel ini berespon terhadap faktor peregangan mekanik, autokrin dan parakrin yang dibentuk secara lokal (misal: peptida vasoaktif seperti angiotensin II dan *growth factor* seperti *transforming growth factor- $\beta$*  (TGF- $\beta$ ) atau *connective tissue growth factor*), dan hormon yang dikeluarkan ke sirkulasi (misal aldosteron).

Selain itu, beberapa sitokin pro inflamasi (misal TNF- $\alpha$ , IL-1, dan IL-6) yang disekresi oleh monosit dan makrofag juga mempengaruhi fungsi fibroblas dan myofibroblas (Guilherme & Kalil, 2013).

### 2.1.6 Manifestasi Klinis

Demam reumatik akut adalah reaksi autoimun lambat akibat inflamasi sistemik yang timbul 2-4 minggu setelah faringitis oleh infeksi *Streptococcus  $\beta$ -hemolyticus grup A*. Berbagai manifestasi DRA cenderung terjadi bersama-sama dan dapat dipandang sebagai sindrom, yaitu manifestasi ini terjadi pada pasien yang sama, pada saat yang sama atau dalam urutan yang berdekatan. Manifestasi klinis ini dapat dibagi menjadi manifestasi mayor dan manifestasi minor. Manifestasi klinis

mayor meliputi karditis (50–78%), artritis (35–88%), eritema marginatum (<6%), nodul subkutan (<1–13%), serta *chorea Sydenham* (2-19%). Sedangkan gejala minor yaitu artralgia, demam, pemanjangan PR interval pada EKG, dan peningkatan reaktan fase akut (Zuhlke *et al.*, 2017).

Manifestasi mayor terdiri dari artritis, karditis, korea, eritema marginatum, dan nodul subkutan. Artritis adalah gejala mayor yang sering ditemukan pada demam reumatik akut. Munculnya tiba-tiba dengan nyeri yang meningkat 12-24 jam yang diikuti dengan reaksi radang. Biasanya mengenai sendi-sendi besar seperti lutut, pergelangan kaki, siku, pergelangan tangan, dan berpindah-pindah. Sendi yang terkena menunjukkan gejala-gejala radang seperti bengkak, merah, panas sekitar sendi, nyeri, dan terjadi gangguan fungsi sendi. Kelainan pada tiap sendi akan menghilang sendiri tanpa pengobatan dalam beberapa hari sampai 1 minggu dan seluruh gejala sendi biasanya hilang dalam waktu 5 minggu, tanpa gejala sisa apapun (Zuhlke *et al.*, 2017).

Karditis merupakan komplikasi paling berat pada demam reumatik akut, dan menyebabkan mortalitas paling sering selama stadium akut penyakit. 30-45% pasien dengan karditis mengalami lesi pada katup jantung yang kemudian berlanjut menjadi PJR kronis. Pasien yang pada pemeriksaan awal tidak menunjukkan keterlibatan jantung harus terus dipantau dengan ketat untuk mendeteksi adanya karditis sampai 3 minggu berikutnya. Jika karditis tidak muncul dalam 2 sampai 3 minggu, maka selanjutnya karditis jarang muncul (WHO, 2004). Pada anak-anak, frekuensi karditis 30-60% terjadi pada serangan pertama dan seringkali kelainannya berupa pankarditis, yaitu inflamasi yang mengenai perikardium, epikardium, miokardium dan

endokardium. Pada DRA sering terjadi pankarditis yang ditandai dengan perikarditis, miokarditis dan endokarditis (Mishra, 2007).

Karditis merupakan faktor prognosis yang paling penting pada demam reumatik. Diagnosis karditis memerlukan 1 dari 4 kriteria berikut: bising jantung organik, perikarditis (*friction rub*, efusi perikardium, nyeri dada, perubahan elektrokardiografi (EKG), kardiomegali pada foto toraks, serta gagal jantung kongestif (WHO, 2004). Karditis harus dicurigai pada pasien yang memiliki murmur sistolik yang baru pada apeks karena regurgitasi mitral, dan atau murmur diastolik karena regurgitasi aorta, sedangkan pada individu dengan riwayat PJR sebelumnya, adanya perubahan karakter murmur atau adanya murmur baru yang signifikan mengindikasikan timbulnya karditis (Gupta *et al.*, 2010). Karditis dapat didiagnosis dan dikonfirmasi dengan ekokardiografi Doppler. Penggunaan ekokardiografi sebagai modalitas diagnostik memungkinkan konfirmasi PJR subklinis. Insufisiensi katup paling sering terjadi pada katup mitral (60%), dan jarang terjadi pada katup trikuspid maupun pulmonal (Viswanathan *et al.*, 2012).

*Chorea Sydenham* terjadi pada 13-34% kasus demam reumatik dan dua kali lebih sering pada perempuan. *Chorea Sydenham* merupakan gangguan sistim saraf pusat yang ditandai oleh gerakan tiba-tiba, tanpa tujuan, dan tidak teratur, seringkali disertai kelemahan otot dan emosi yang tidak stabil. Gerakan tanpa disadari akan ditemukan pada wajah dan anggota gerak tubuh. Gerakan ini akan menghilang pada saat tidur. Manifestasi ini mencerminkan keterlibatan proses radang pada susunan saraf pusat, ganglia basal, dan nukleus kaudatus di otak. Periode laten *chorea Sydenham* ini cukup lama, sekitar 3 minggu sampai 3 bulan sejak terjadinya demam

reumatik. Meskipun tanpa pengobatan, *chorea Sydenham* dapat menghilang dalam 1-2 minggu. Namun pada kasus berat, meskipun diobati, *chorea Sydenham* dapat bertahan 3-4 bulan bahkan sampai 2 tahun (Zuhlke *et al.*, 2017).

Eritema marginatum merupakan ruam khas pada demam reumatik yang terjadi kurang dari 10% kasus. Ruam ini tidak gatal, makular, berwarna merah jambu atau kemerahan dengan tepi eritema yang menjalar dari satu bagian ke bagian lain, mengelilingi kulit yang nampak normal. Lesi ini berdiameter sekitar 2,5 cm, dengan bagian tengah yang terlihat lebih pucat, muncul paling sering pada batang tubuh dan tungkai proksimal namun tidak melibatkan wajah (Zuhlke *et al.*, 2017).

Nodul subkutan jarang dijumpai, yakni kurang dari 5% kasus. Nodul terletak pada permukaan ekstensor sendi, terutama pada siku, ruas jari, lutus dan persendian kaki. Kadang juga ditemukan di kulit kepala dan diatas kolumna vertebralis. Ukuran nodul bervariasi antara 0,5 – 2 cm, tidak nyeri, padat dan dapat bebas digerakkan. Kulit yang menutupinya dapat bebas digerakkan dan pucat, tidak menunjukkan tanda peradangan. Nodul ini biasanya muncul pada karditis reumatik dan menghilang dalam 1-2 minggu (Zuhlke *et al.*, 2017).

Manifestasi klinis minor merupakan manifestasi yang kurang spesifik tetapi diperlukan untuk memperkuat diagnosis demam reumatik. Manifestasi klinis minor ini meliputi demam, artralgia, nyeri perut, dan epistaksis. Demam hampir selalu ada pada poliartritis reumatik. Kenaikan suhu jarang melebihi 39°C dan biasanya kembali normal dalam waktu 2 atau 3 minggu, walau tanpa pengobatan. Artralgia adalah nyeri sendi tanpa tanda objektif pada sendi, seperti nyeri, merah, hangat, yang terjadi selama beberapa hari atau minggu. Rasa sakit akan bertambah bila penderita



melakukan latihan fisik. Gejala lain adalah nyeri perut dan epistaksis, nyeri perut membuat penderita kelihatan pucat dan epistaksis berulang merupakan tanda subklinis demam reumatik. Para ahli lain menyatakan manifestasi klinis yang serupa umumnya dimulai dengan demam remiten yang tidak melebihi 39°C atau arthritis yang timbul setelah 2-3 minggu setelah infeksi. Demam dapat berlangsung berkali-kali dengan tanda umum berupa malaise, astenia, dan penurunan berat badan. Sakit persendian dapat berupa arthritis, yaitu nyeri persendian dengan tanda-tanda panas, merah, bengkak atau nyeri tekan, dan keterbatasan gerak. Arthritis pada DR dapat mengenai beberapa sendi secara bergantian. Manifestasi lain berupa pankarditis (endokarditis, miokarditis, dan perikarditis), nodul subkutan, eritema marginatum, korea, dan nyeri abdomen (Mansjoer *et al.*, 2000).

Gejala sisa terberat DRA adalah PJR kronis, terjadi pada individu yang rentan sebagai akibat berulangnya karditis reumatik atau akibat dari aliran darah balik yang merusak katup jantung dengan konsekuensinya terjadi penebalan, fibrosis, dan kalsifikasi katup jantung (Gibofsky & Zabriskie, 2001). Penyakit jantung reumatik terdiri dari insufisiensi atau regurgitasi katup mitral, stenosis katup mitral, regurgitasi aorta dan stenosis aorta. Manifestasi insufisiensi mitral sangat bergantung pada derajat lesi. Pada lesi ringan tidak didapatkan gejala, satu-satunya tanda adalah terdengarnya bising pansistolik di apeks. Pada lesi yang berat, gejalanya berupa anak tampak lemah, berat badan turun, pucat, palpitasi dan sesak saat beraktivitas (Madiyono *et al.*, 2009). Pada studi retrospektif skala besar, regurgitasi katup mitral sendiri atau kombinasi dengan lesi katup lainnya merupakan temuan diagnosis ekokardiografi terbanyak yakni pada 59,7% pasien. Penyakit

katup mitral campuran ditemukan pada 13,7% pasien, 23,7% memiliki campuran katup aorta dan mitral, 25% memiliki mitral stenosis murni dan 15,3% memiliki regurgitasi aorta murni (Gupta *et al.*, 2010).

**Tabel 2.1 Manifestasi klinis penyakit jantung reumatik**

Kriteria	Diagnosis
<b>Bukan PJR</b>	Tidak ada perubahan patologis regurgitasi mitral atau aorta, tetapi mungkin terdapat perubahan morfologi katup mitral atau aorta pada saat ekokardiografi.
<b>PJR ringan</b>	Adanya regurgitasi mitral atau aorta ringan secara klinis saat ekokardiografi, tanpa bukti klinis gagal jantung dan pembesaran ruang jantung pada saat ekokardiografi.
<b>PJR sedang</b>	Adanya lesi katup pada tingkat keparahan sedang secara klinis (misalnya pembesaran jantung ringan-sedang dan atau gagal jantung ringan-sedang) atau pada saat ekokardiografi. Regurgitasi mitral ringan, bersama dengan regurgitasi aorta ringan secara klinis atau pada ekokardiografi. Stenosis mitral atau aorta tingkat ringan atau sedang. Adanya lesi pada paru atau katup trikuspid yang berdampingan dengan sisi kiri pada lesi katup.
<b>PJR berat</b>	a. Adanya lesi katup dengan tingkat keparahan berat secara klinis (misalnya pembesaran jantung tingkat sedang hingga berat atau gagal jantung) atau pada ekokardiografi. b. Melakukan operasi jantung karena PJR pada masa akan datang atau sebelumnya.

Dikutip dari: Carepetis *et al.*, 2012

Gagal jantung kongestif dapat terjadi pada insufisiensi katup yang berat atau miokarditis. Temuan fisis gagal jantung meliputi takipnea, ortopnea, distensi vena jugularis, *rales*, hepatomegali, gallop, dan edema. Gejala sisa kelainan katup bergantung pada beratnya episode awal karditis dan pencegahan terhadap DRA (Madiyono *et al.*, 2009).

Meskipun manifestasi gejala DRA pada jantung merupakan gejala terpenting yang dapat mempengaruhi prognosis jangka panjang, namun dapat pula terjadi inflamasi secara umum di luar jantung, yaitu di kulit (eritema marginatum dan nodul subkutan), di persendian (arthritis), dan di otak (*chorea Sydenham*). Manifestasi di

luar jantung pada DRA tidak menyebabkan kerusakan yang permanen, sedangkan manifestasi pada jantung dapat menyebabkan kerusakan yang permanen (WHO, 2004).

### 2.1.7 Diagnosis Penyakit Jantung Reumatik

Diagnosis PJR merupakan diagnosis klinis yang ditegakkan setelah konfirmasi adanya demam reumatik. Kriteria Jones digunakan untuk diagnostik yang didasarkan pada manifestasi klinis dan penemuan laboratorium sesuai dengan kegunaan diagnostiknya. Manifestasi klinis demam reumatik dibagi menjadi kriteria mayor dan minor, berdasarkan pada prevalensi dan spesifisitas dari manifestasi klinis tersebut (Gewitz *et al.*, 2015).

**Tabel 2.2 Kriteria Jones untuk diagnosis demam reumatik akut**

Kriteria Mayor	Kriteria Minor
Karditis	Artralgia
Poliarthritis migrans	Demam
Chorea Sydenham	Pemanjangan PR interval (AV blok derajat 1)
Eritema marginatum	Peningkatan reaktan fase akut (CRP atau LED)
Nodul subkutan	Leukositosis

\* Disertai adanya bukti infeksi bakteri GABHS menggunakan kultur hapusan tenggorok atau *rapid antigen test* yang positif atau meningkatnya titer antibodi (*Antistreptolysine O* atau DNase B) atau adanya demam *scarlet* sebelumnya.

Dikutip dari: WHO, 2011

Bukti terjadinya faringitis oleh infeksi *Streptococcus β-hemolyticus grup A* sebelumnya diperlukan untuk menegakkan diagnosis demam reumatik. Diagnosis infeksi *Streptococcus β-hemolyticus grup A* selama infeksi akut biasanya dibuat dengan melakukan biakan usap tenggorok. Biakan ini akan negatif pada sekitar dua

pertiga pasien DRA, karena pembersihan organisme oleh mekanisme pertahanan tubuh pada periode laten. Analisis antibodi terhadap antigen *Streptococcus  $\beta$ -hemolyticus grup A* dalam serum pasien merupakan metode yang lebih dapat dipercaya untuk bukti adanya infeksi ini (Gewitz *et al.*, 2015).

Pada tahun 2003, WHO merekomendasikan untuk melanjutkan penggunaan kriteria Jones yang diperbaharui (tahun 1992) untuk demam reumatik serangan pertama dan serangan rekuren dengan atau tanpa penyakit jantung reumatik. Untuk serangan rekuren demam reumatik pada pasien yang sudah mengalami PJR, WHO merekomendasikan menggunakan minimal dua kriteria minor disertai adanya bukti infeksi *Streptococcus  $\beta$ -hemolyticus grup A* sebelumnya. Pada penderita dengan gejala *chorea Sydenham* dan gejala karditis yang terselubung, antibodi terhadap *Streptococcus  $\beta$ -hemolyticus grup A* (GABHS) mungkin telah kembali ke nilai normal, sehingga pada kedua kondisi tersebut kriteria ini dapat diabaikan (WHO, 2004; Madiyono *et al.*, 2009; Gupta *et al.*, 2010).

**Tabel 2.3 Kriteria WHO tahun 2002-2003 untuk diagnosis demam reumatik akut (DRA) dan penyakit jantung reumatik (PJR) (berdasarkan revisi kriteria Jones)**

Kriteria diagnosis	Kriteria
DRA serangan pertama <sup>a</sup>	2 gejala mayor atau ada 1 gejala mayor dan 2 minor, ditambah dengan adanya bukti infeksi <i>Streptococcus β-hemolyticus grup A</i>
DRA serangan rekuren pada pasien tanpa PJR <sup>b</sup>	2 gejala mayor atau ada 1 gejala mayor dan 2 minor, ditambah dengan adanya bukti infeksi <i>Streptococcus β-hemolyticus grup A</i>
DRA serangan rekuren dengan PJR	Ada 2 gejala minor, ditambah dengan adanya bukti infeksi <i>Streptococcus β-hemolyticus grup A</i>
Korea Sydenham, reumatik karditis dengan onset tersembunyi <sup>b</sup>	Tidak diperlukan gejala mayor lainnya maupun bukti infeksi bakteri <i>Streptococcus β-hemolyticus grup A</i>
PJR dengan lesi katup kronis (pasien datang pertama kali dengan stenosis mitral murni atau kombinasi dengan insufisiensi mitral dan atau gangguan katup aorta) <sup>d</sup>	Tidak memerlukan kriteria lain untuk mendiagnosis PJR

<sup>a</sup>Pasien dengan poliartritis (atau dengan hanya poliartralgia atau monoartritis) dan dengan beberapa manifestasi minor lainnya (3 atau lebih), bersama-sama dengan bukti baru terinfeksi GABHS. Beberapa kasus ini kemudian mungkin menjadi DRA. Perlu dipertimbangkan sebagai kasus "kemungkinan demam reumatik" (diagnosis lain telah disingkirkan) dan disarankan mendapat profilaksis sekunder. Pasien tersebut memerlukan *follow up* lanjutan dan pemeriksaan rutin jantung. Pendekatan pencegahan ini sangat cocok untuk pasien dalam kelompok usia yang rentan

<sup>b</sup> Infeksi endokarditis harus dieksklusi

<sup>c</sup> Beberapa pasien dengan serangan berulang dapat tidak memenuhi kriteria ini

<sup>d</sup> Penyakit jantung bawaan harus dieksklusi.

Dikutip dari: WHO, 2011

Sejak tahun 2015, AHA mengeluarkan revisi kriteria Jones dengan membedakan antara populasi berisiko rendah (*low risk*) dan populasi berisiko sedang hingga tinggi (*moderate to high risk*). Hal ini bertujuan untuk mencegah *over-diagnosis* pada populasi berisiko rendah dan memastikan tidak ada diagnosis yang terlewat pada populasi dengan risiko menengah-tinggi. Populasi berisiko rendah adalah populasi dengan insiden DRA < 2 dalam 100.000 anak sekolah per tahun

atau prevalensi PJR seluruh usia  $\leq 1$  per 1000 orang per tahun. Pasien DRA memiliki risiko tinggi mengalami DRA rekuren. Pada pasien dengan riwayat DRA / PJR, bukti infeksi Streptococcus sebelumnya, dan diagnosis lain dapat disingkirkan, harus didiagnosis sebagai DRA rekuren bila didapatkan 2 kriteria mayor atau 1 mayor dan 2 minor, atau 3 minor (Gewitz *et al.*, 2015).

**Tabel 2.4 Kriteria Jones revisi 2015**

	Risiko Rendah ( <i>low risk</i> )	Risiko Sedang sampai Tinggi ( <i>Moderate to High Risk</i> )*
<b>Kriteria mayor</b>	Karditis (klinis dan/atau subklinis) Artritis (poliartritis) <i>Chorea Sydenham</i> Eritema marginatum Nodul subkutan	Karditis (klinis dan/atau subklinis) Artritis (monoartritis, poliartritis, poliartralgia) <i>Chorea Sydenham</i> Eritema marginatum Nodul subkutan
<b>Kriteria minor</b>	Poliartralgia Demam ( $\geq 38,5^{\circ}\text{C}$ ) LED $\geq 60$ mm/jam dan/atau CRP $\geq 3$ mg/dl Pemanjangan PR interval	Monoartralgia Demam ( $\geq 38^{\circ}\text{C}$ ) LED $\geq 30$ mm/jam dan/atau CRP $\geq 3$ mg/dl Pemanjangan PR interval

Dikutip dari: AHA, 2015

Karditis subklinis adalah adanya keterlibatan katup namun tanpa disertai terdengarnya murmur. Ini merupakan salah satu manifestasi demam reumatik akut. Metaanalisis 23 penelitian dari 5 benua menunjukkan bahwa 16.8% pasien dengan DRA mengalami karditis subklinis dan hampir setengah populasi tersebut (44.7%) menunjukkan adanya penyakit katup yang progresif. Oleh karena itu, revisi kriteria Jones pada tahun 2015 menyatakan pentingnya ekokardiografi dalam mendiagnosis adanya karditis subklinis (Gewitz *et al.*, 2015).

## 2.1.8 Pemeriksaan Penunjang Penyakit Jantung Reumatik

### 2.1.8.1 Ekokardiografi

Dengan menggunakan *echo-Doppler 2D* dan *colour flow Doppler* dapat mencegah *over-diagnosis* adanya murmur fungsional sebagai penyakit katup jantung. Maka pemeriksaan ekokardiografi dalam diagnosis karditis reumatik dapat menunjang diagnosis. Ekokardiografi merupakan pemeriksaan yang lebih sensitif dan akurat untuk mendiagnosis adanya keterlibatan katup pada DRA (Vijayalakshmi *et al.*, 2008).

### 2.1.8.2 Diagnosis Infeksi *Streptococcus β-hemolyticus grup A*

Uji baku emas dalam mendeteksi organisme penyebab adalah dengan kultur *swab* tenggorok. Namun, hanya 11% pasien memiliki hasil kultur *swab* tenggorok positif terhadap *Streptococcus β-hemolyticus grup A*. Kebanyakan pemeriksaan yang dilakukan untuk menunjukkan infeksi *Streptococcus β-hemolyticus grup A* adalah pemeriksaan *antistreptolysin-O* (ASTO), dan *antideoxyribonuclease B* (ADNase-B). Titernya akan mencapai puncak 3-4 minggu setelah infeksi akut, dan bertahan hingga 2-3 bulan sebelum akhirnya menurun (Steer *et al.*, 2009).

Pada penderita yang belum diobati, biakan usapan faring sering positif bakteri *Streptococcus β-hemolyticus grup A*. Titer antistreptolisin-O (ASTO) akan meningkat. Kadar antibodi ini akan mencapai puncak sekitar satu bulan pascainfeksi dan menurun sampai normal setelah sekitar 2 tahun, kecuali pada insufisiensi mitral yang dapat bertahan selama beberapa tahun. Laju endap darah juga hampir selalu meningkat, begitu juga dengan protein C-reaktif (Steer *et al.*, 2009).

Rata-rata periode waktu sampai titer menjadi normal memerlukan waktu 4 bulan untuk ASTO dan 35 bulan untuk ADNase-B. Untuk menentukan infeksi *Streptococcus  $\beta$ -hemolyticus grup A*, diperlukan 3 pemeriksaan antibodi, yaitu ASTO, *antistreptokinase antibody* (ASK) dan ADNase-B dalam satu waktu. Bila 2 dari 3 titer tersebut positif maka dapat dibuat diagnosis adanya infeksi *Streptococcus  $\beta$ -hemolyticus grup A* yang baru saja terjadi, sedangkan bila hanya 1 dari 3 titer tersebut yang positif, maka kemungkinan merupakan infeksi *Streptococcus  $\beta$ -hemolyticus grup A* yang lama atau penyebab non spesifik (Gupta *et al.*, 2010). Pada suatu studi di India batas atas titer ASTO adalah 239 IU dan batas atas ADNase-B adalah 100 u/ml (Sethi *et al.*, 2003).

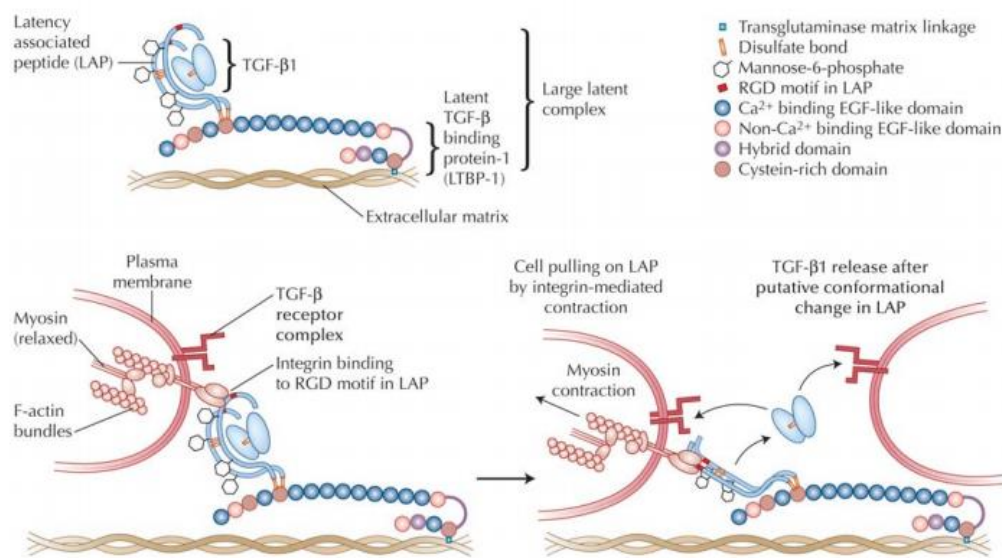
## 2.2 Transforming Growth Factor Beta 1 (TGF- $\beta$ 1)

*Transforming growth factor* beta adalah sitokin regulator yang bersifat profibrotik. Sitokin ini menstimulasi produksi protein matriks ekstraseluler pada berbagai sistem organ. Terdapat 3 isoform TGF- $\beta$ , yakni TGF- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 2 dan TGF- $\beta$ 3. *Transforming growth factor beta-1* diekspresikan di myofibroblast, sel otot polos vaskular, sel endothel, dan makrofag. Gen TGF- $\beta$ 1 pada manusia ditemukan pada kromosom 19, dan mengalami transkripsi dan translasi untuk membentuk propeptida 390 asam amino. Propeptida ini mengalami pembelahan intraselular, menghasilkan 2 subunit peptida 112 asam amino identik yang disatukan oleh ikatan disulfida (Hinz, 2009).

*Transforming growth factor beta-1* merupakan sitokin regulator pusat yang berperan dalam perbaikan jaringan normal dan perkembangan fibrosis.



*Transforming growth factor beta-1* memerantarai respon inflamasi, menyebabkan peningkatan produksi matriks ekstraseluler yang berlebihan, meningkatkan sintesis *tissue inhibitors of metalloproteinases* (TIMP), menurunkan sintesis protein, dan menginduksi diferensiasi myofibroblas. *Transforming growth factor beta-1 signaling* juga memungkinkan homeostasis jaringan dengan mengendalikan proliferasi sel epitel, sel endotel, sel imun, dan fibroblas (Hinz, 2009). *Transforming growth factor beta-1 signaling* akan mempengaruhi berbagai fungsi seluler, yakni inflamasi, deposisi matriks ekstraseluler, pengendalian pertumbuhan sel, proliferasi sel, diferensiasi sel, dan apoptosis. *Transforming growth factor beta-1* berperan penting dalam remodelling matriks dan meningkatkan sintesis kolagen. *Transforming growth factor beta-1* juga membantu diferensiasi myofibroblas dan stimulasi fibroblas, serta sel lain yang terlibat dalam perbaikan jaringan untuk berproliferasi dan mensintesis komponen maktriks ekstraseluler (Sun, 2015).



**Gambar 2.5 Model aktivasi latent TGF-β1 oleh kontraksi myofibroblast.**

TGF-β1 disekresi dalam bentuk kompleks laten, yang terdiri dari TGF-β1 yang berhubungan dengan latency associated peptide (LAP) dan latent TGF-β1-binding protein (LTBP-1). Domain kedua LTBP-1 yang kaya sistein berikatan dengan LAP melalui ikatan disulfida, dan domain ketiga pada N-terminus LTBP-1 berikatan dengan matriks ekstraseluler melalui transglutaminasi

Dikutip dari: Hinz, 2009.

Terdapat beberapa mekanisme aktivasi latent TGF-β1. Latent TGF-β1 diaktivasi dengan disosiasinya terhadap *latency associated peptide* (LAP) yang disintesis bersama TGF-β1. Sebagian besar sel mensekresi TGF-β1 sebagai bagian kompleks laten, yang terdiri dari TGF-β1, LAP, dan *latent TGF-β1 binding protein* (LTBP-1). *Latent TGF-β1 binding protein* merupakan anggota fibrillin yaitu protein matriks ekstraseluler dan berikatan dengan komponen matriks ekstraseluler lainnya, meliputi fibrillin-1, fibronectin, dan vitronectin, yang menjadi reservoir *latent TGF-β1* di matriks ekstraseluler. Aktivasi *latent TGF-β1* oleh disosiasinya dari LAP dibantu oleh berbagai mekanisme yang berbeda bergantung jenis dan fisiologi sel. Aktivasi *latent TGF-β1* dapat terjadi saat pembelahan proteolitik, melalui interaksi dengan

thrombospondin 1, dan dengan *mannose-6-phosphate receptor*. Integrin, merepresentasikan komponen transmembran adhesi sel-matriks ekstraseluler memiliki peran penting dalam mengaktivasi latent TGF- $\beta$ 1. Terdapat dua mekanisme utama integrin mengaktivasi faktor pertumbuhan. Mekanisme pertama adalah sensitif terhadap protease inhibitors, dan mekanisme kedua adalah independen terhadap proteolitik dan melibatkan kekuatan traksi sel yang ditransmisikan langsung ke kompleks laten melalui integrin (Hinz *et al.*, 2009).

Awalnya, TGF- $\beta$ 1 disekresi sebagai molekul inaktif secara biologi yang berikatan dengan peptida terkait. *Transforming growth factor beta-1* laten kemudian diaktivasi oleh interaksi antar sel, asidifikasi, dan pembelahan enzimatik. berperan sebagai immunosupresan kuat, menghambat proliferasi limfosit seiring keberadaan interleukin-2, yang memodulasi diferensiasi dan apoptosis sel T. *Transforming growth factor beta-1* dihasilkan pada daerah yang mengalami jejas, menstimulasi migrasi neutrofil, monosit, dan fibroblas ke daerah yang mengalami inflamasi. Hal ini akan meningkatkan ekspresi protein matriks ekstraseluler dari fibroblas. Adanya overekspresi TGF- $\beta$ 1 akan menyebabkan peningkatan sintesis protein matriks ekstraseluler sehingga menimbulkan terjadinya fibrosis (Kim *et al.*, 2008).

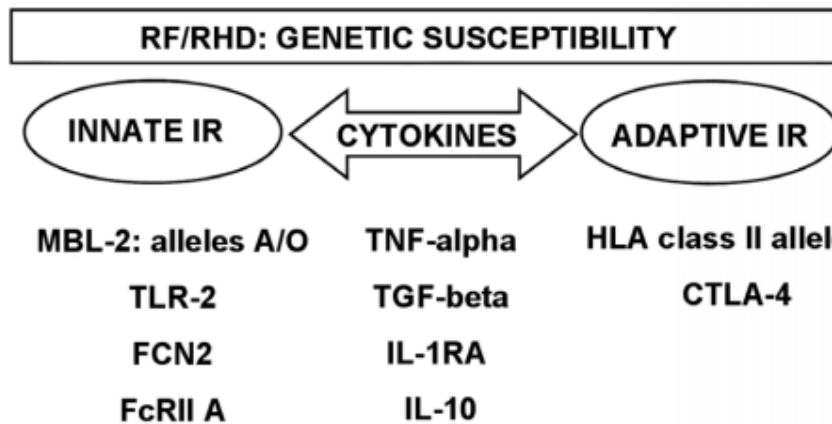
### 2.3 Peranan *Transforming growth factor- $\beta$ 1* pada Penyakit Jantung Reumatik

Katup jantung merupakan struktur jaringan ikat yang berperan penting dalam aliran hemodinamik. Sel interstisiel katup / *valvular interstitial cells* (VICs) merupakan sel yang paling banyak terdapat di katup jantung dan bertanggungjawab dalam mempertahankan integritas struktural katup. Selain itu, katup jantung terdiri dari

protein matriks ekstraseluler, terutama kolagen, elastin, dan glikosaminoglikan, yang membentuk struktur yang fleksibel dan mudah berubah bentuk, namun kuat terhadap stress hemodinamik. Pemeliharaan struktur katup membutuhkan fungsi sel interstisiel katup yang baik, sehingga terjadi metabolisme matriks ekstraseluler yang baik. Sel mesenkim berbentuk spindle mensekresi komponen matriks ekstraseluler yang meliputi kolagen, fibronektin, *chondroitin sulfate*, dan *prolyl-4-hydroxylase*. Sel ini juga mengekspresikan *ECM-degrading enzymes* seperti *matrix metalloproteinases* (MMPs) dan cathepsin D (Liu & Gotlieb, 2007).

Selain berperan dalam terjadinya katup yang sehat, sel interstisiel katup merupakan prekursor myofibroblast, sel seperti fibroblas yang memungkinkan remodelling jaringan dan penyembuhan luka, serta berperan patologis dalam terjadinya penyakit fibrotik. Dibandingkan dengan sel prekursornya (protomyofibroblasts), myofibroblasts teraktivasi memiliki tingkat sekresi matriks ekstraseluler dan sitokin yang lebih tinggi, kontraksi yang lebih tinggi, dan morfologi selata dengan serabut yang prominen. Secara histokimia, myofibroblas diidentifikasi dengan ekspresi *-smooth muscle actin* (-SMA). Selain itu, sel ini juga dapat mengekspresikan protein kontraktile lain, seperti isoform otot lurik *myosin heavy chain* (MyHC). Aktivasi myofibroblas diatur secara ketat oleh sitokin yang mengendalikan diferensiasi, proliferasi, kontraksi, sekresi matriks ekstraseluler dan migrasi ke tempat yang terluka, atau remodelling jaringan. Jaringan katup berespon terhadap jejas dengan cara yang mirip dengan jaringan lain, yakni dimulai dengan peningkatan kadar TGF- $\beta$ 1 (Walker *et al.*, 2004).

Katup terutama terdiri dari sel interstisiel yang mensekresi protein matriks ekstraseluler khas seperti kolagen. Sel ini merupakan prekursor terhadap myofibroblas yang dapat memproduksi protein matriks. Myofibroblas pada jaringan katup berhubungan dengan terjadinya fibrosis pada katup. *Transforming growth factor beta-1* berperan penting dalam menginduksi diferensiasi sel interstisiel katup menjadi myofibroblas. Konsentrasi TGF- $\beta$ 1 lokal pada katup jantung merupakan hal yang penting karena TGF- $\beta$ 1 menstimulasi langsung ekspresi protein matriks ekstraseluler dari sel interstisiel katup bahkan sebelum sel tersebut berdiferensiasi. Pada biopsi ventrikel pasien dengan stenosis dan regurgitasi aorta menunjukkan peningkatan kadar TGF- $\beta$ 1 1,5 hingga 2 kali lipat dibandingkan dengan kontrol, dan ini berkorelasi dengan deposisi kolagen yang lebih besar, disorganisasi matriks ekstraseluler dan kalsifikasi katup. Kerusakan awal pada katup jantung akan meningkatkan ekspresi TGF- $\beta$ 1 lokal. Adanya overekspresi dari TGF- $\beta$ 1 akan mengakibatkan perbaikan patologis pada area yang terkena. Ketidaksesuaian perbaikan terhadap kerusakan awal akan menyebabkan malfungsi katup yang progresif (Kim *et al.*, 2008).

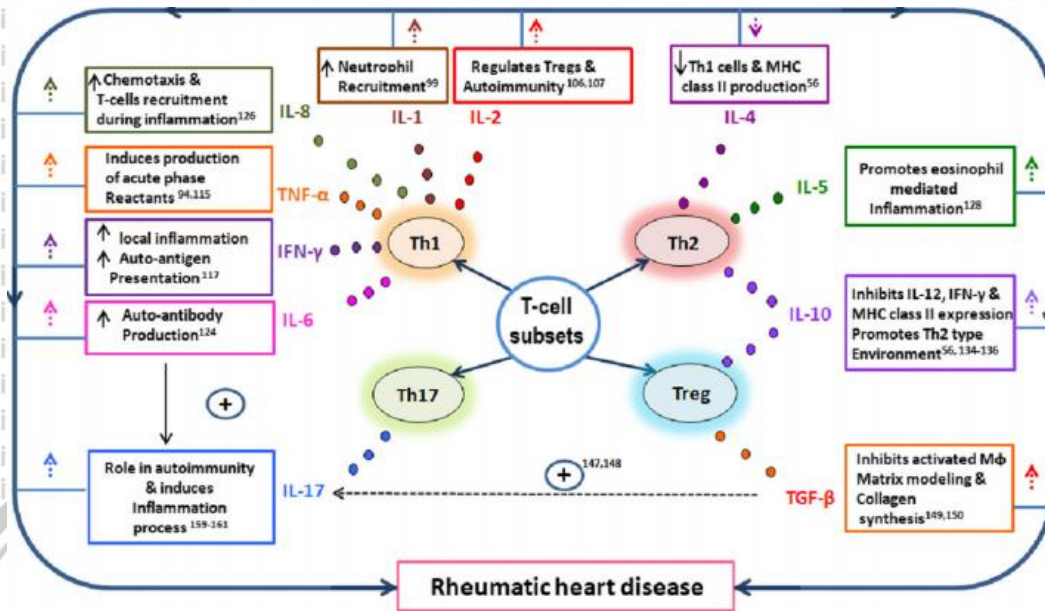


**Gambar 2.6** Gen yang terlibat dalam perkembangan demam reumatik dan penyakit jantung reumatik.

Beberapa gen mengendalikan respon imun innate dan/atau adaptif yang terlibat dalam perkembangan penyakit.

Dikutip dari: Kim *et al.*, 2008.

Sitokin berperan penting dalam aktivasi respon imunologi dan inflamasi pada demam reumatik. Hal ini ditunjukkan pada sel mononuklear darah perifer anak dengan demam reumatik yang memproduksi TNF- $\alpha$  lebih banyak dibandingkan kontrol sehat. Interleukin-6 dan TNF- $\alpha$  berperan pada demam reumatik fase akut dan berkorelasi kuat dengan *C-reactive protein*. Polimorfisme pada gen sitokin yang lain, misalnya TGF- $\beta$ 1, interleukin-1 receptor antagonist (IL1Ra), interleukin; juga diduga berperan dalam patogenesis penyakit (Kim *et al.*, 2008).



**Gambar 2.7 Peran berbagai subset sel T dan sitokin pada patogenesis penyakit jantung reumatik.**

Garis panah terputus-putus menggambarkan *up-regulation* dan *down-regulation* berbagai sitokin pada penyakit jantung reumatik. Sel Th17 memproduksi IL-17 yang berperan dalam autoimun dan peningkatan inflamasi pada penyakit jantung reumatik. TGF-β sebagai sitokin regulator akan mengalami *up-regulation* pada penyakit jantung reumatik dan mempengaruhi produksi IL-17.

Dikutip dari: Toor & Sharma, 2017

Sel Th1 memproduksi IL-1, IL-2, IL6, IL-8, TNF-α, dan IFN-γ. Seluruh sitokin ini mengalami peningkatan pada penyakit jantung reumatik. IL-1, IL-8, dan TNF-α menginduksi rekrutmen neutrofil dan peningkatan proses inflamasi yang menyebabkan eksaserbasi inflamasi pada katup jantung. IL-2 mengatur Treg dan IL-6 untuk meningkatkan produksi autoantibodi yang menyebabkan amplifikasi reaksi autoimun pada penyakit jantung reumatik. Sel Th17 memproduksi IL-17 yang berperan dalam autoimunitas dan meningkatkan inflamasi pada penyakit jantung reumatik. Sedangkan TGF-β sebagai sitokin regulator akan mengalami *up-regulation* pada penyakit jantung reumatik yang berkepanjangan (Toor & Sharma, 2017).

Deposisi matriks ekstraseluler proteoglikan dan kolagen berbeda bermakna pada penyakit jantung reumatik dan kontrol sehat. Pada katup sehat, proteoglikan didapatkan pada spongiosa dan kolagen didapatkan pada fibrosa. Pada penyakit jantung reumatik, proteoglikan terdeposit di stroma perivaskular atau pada area yang mengalami degenerasi myxoid, dan kolagen terdapat pada stroma yang menunjukkan proliferasi myofibroblastik atau fibrosis padat (Kim *et al.*, 2008).

*Transforming growth factor- $\beta$ 1* merupakan sitokin regulator utama pada perbaikan jaringan normal dan perkembangan fibrosis. *Transforming growth factor beta-1* memediasi respon inflamasi, menyebabkan produksi matriks ekstraseluler yang berlebihan, meningkatkan sintesa *tissue inhibitors of metalloproteinases* (TIMP), menurunkan sintesa protease, dan menginduksi diferensiasi myofibroblast. *Transforming growth factor beta-1* memegang peranan penting dalam remodelling matriks ekstraseluler dan meningkatkan sintesa kolagen (Liu & Gotlieb, 2008). Pada saat terjadi inflamasi, terjadi pengeluaran berbagai sitokin dan TGF- $\beta$ 1, menyebabkan terjadinya diferensiasi miofibroblast, dan menstimulasi fibroblast serta sel reparatif lainnya untuk berproliferasi dan mensintesa komponen matriks ekstraseluler. Pada kondisi normal, hal ini akan menyebabkan perbaikan sementara. Namun apabila kondisi inflamasi yang berulang, terjadi peningkatan produksi TGF- $\beta$ 1 secara berkepanjangan yang menyebabkan terjadinya fibrosis jaringan, sebagaimana pada pajanan *Streptococcus  $\beta$ -hemolyticus grup A* berulang yang menyebabkan terjadinya penyakit jantung reumatik (Kim *et al.*, 2008).

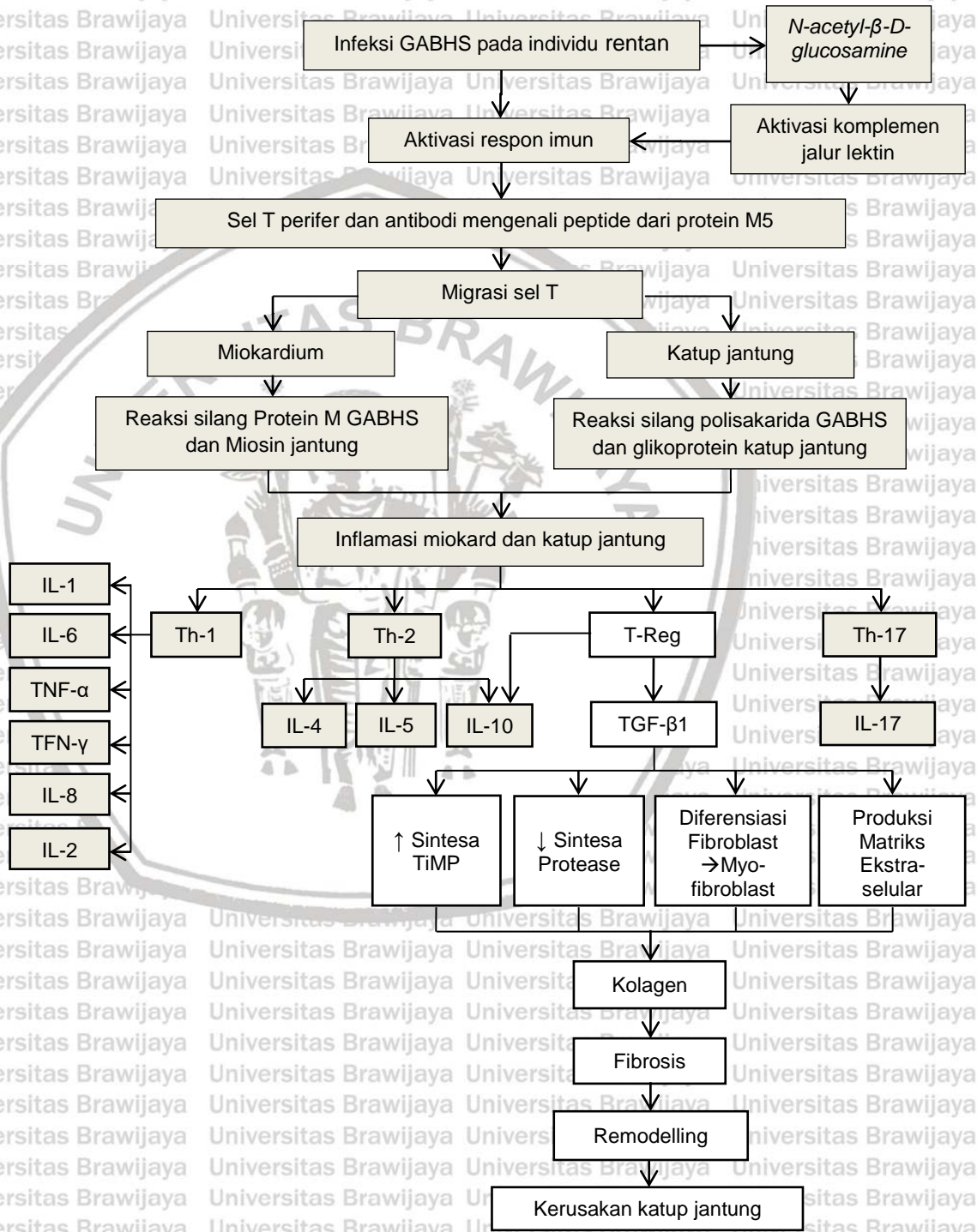
Tingginya ekspresi TGF- $\beta$ 1 pada katup penyakit jantung reumatik menunjukkan bahwa overproduksi TGF- $\beta$ 1 memegang peranan dalam fibrosis katup



pada penyakit jantung reumatik. Hal ini mendukung hipotesis bahwa fibrosis dan remodelling berlangsung dalam jangka panjang setelah serangan pertama. Terdapat beberapa penelitian sebelumnya yang menunjukkan adanya inflamasi persisten pada katup penyakit jantung reumatik (Walker *et al.*, 2004).

Ekspresi TGF- $\beta$ 1 berkorelasi dengan derajat infiltrat sel radang. Ekspresi TGF- $\beta$ 1 terutama didapatkan pada stroma perivaskular dimana sel radang menginfiltrasi. Hal ini sesuai dengan hipotesis sebelumnya bahwa terjadi proses inflamasi yang berkelanjutan dan produksi berlebihan TGF- $\beta$ 1 pada katup pejamu yang rentan yang menyebabkan fibrosis katup pada pasien dengan penyakit jantung reumatik. *Transforming growth factor beta-1* menginduksi diferensiasi fibroblas menjadi myofibroblas yang dapat memproduksi kolagen 2 kali lebih banyak dibandingkan prekursor fibroblas. Katup jantung normal terdiri dari kolagen, proteoglikan, dan elastin; dan sekitar 85% kolagen total pada jantung adalah kolagen tipe 1. Pada katup yang mengalami reumatik, jumlah total kolagen, proteoglikan, dan elastin meningkat secara signifikan. Namun beberapa penelitian menunjukkan bahwa proporsi deposisi kolagen meningkat dan deposisi proteoglikan menurun pada katup reumatik dibandingkan dengan kontrol. Hal ini diduga karena ekspresi TGF- $\beta$ 1 lebih terkait dengan konversi matriks ekstraseluler dari proteoglikan menjadi kolagen dibandingkan persentase kolagen maupun proteoglikan (Walker *et al.*, 2004).

## 2.4 Kerangka Teori



Penyakit Jantung Reumatik dan DRA merupakan penyakit yang disebabkan oleh respon imunologis yang terjadi setelah infeksi GABHS. Antigen GABHS mempunyai struktur dan sifat yang mirip dengan jaringan pejamu, antara lain protein M yang merupakan antigen utama GABHS yang mempunyai struktur mirip (homolog) dengan miosin jantung dan polisakarida GABHS dengan glikoprotein katup jantung yang sama-sama mengandung *N-asetyl-β-D-glucosamine*. Kemiripan struktur ini menyebabkan terjadinya reaksi silang antara GABHS dengan jaringan katup jantung (Walker *et al.*, 2004).

*N-acetyl-β-D-glucosamine* merupakan suatu karbohidrat streptokokus yang mengaktifkan komplemen jalur lektin. Aktivasi komplemen yang berlebihan akan menyebabkan kerusakan jaringan dan disfungsi endotel. Selain karbohidrat, beberapa peptida dihasilkan Streptokokus dan disajikan dalam kombinasi dengan molekul HLA ke sel T CD4+, mengaktifkan respon imun. Sel T perifer dan antibodi pasien PJR mengenali peptida berasal dari protein M5 setelah terjadi infeksi. Selama proses inflamasi, antibodi *anti-S.pyogenes* dan sitokin inflamasi mendukung migrasi sel T primer ke jaringan jantung. Sel-sel T dalam jantung mengenali protein manusia, seperti miosin, vimentin, laminin dan protein jaringan jantung lainnya, sebagai antigen sehingga menginduksi serangan yang dimediasi sel T terhadap miokard dan katup jantung (Guilherme *et al.*, 2007).

Pada individu dengan predisposisi genetik, reaksi inflamasi diperburuk sehingga menyebabkan produksi sitokin berlebih oleh monosit dan makrofag yang memicu aktivasi limfosit T dan B. Respon imun Th1 akan berlanjut dengan memicu respon *granulomatous* pada katup jantung (memicu perkembangan auto-antibodi

terhadap komponen katup), menimbulkan inflamasi dan luka parut tambahan. Ketika terjadi kerusakan dan inflamasi jaringan jantung, peradangan memicu produksi dari beberapa reaktan fase akut yang penting dalam terjadinya PJR. Adanya produksi beberapa reaktan fase akut ini akan memicu terjadinya remodelling pada katup jantung. Adanya proses inflamasi berulang akan menyebabkan terjadinya produksi reaktan fase akut yang berlebihan sehingga terjadi proses remodelling yang berlebihan (Guilherme & Kalil, 2009).

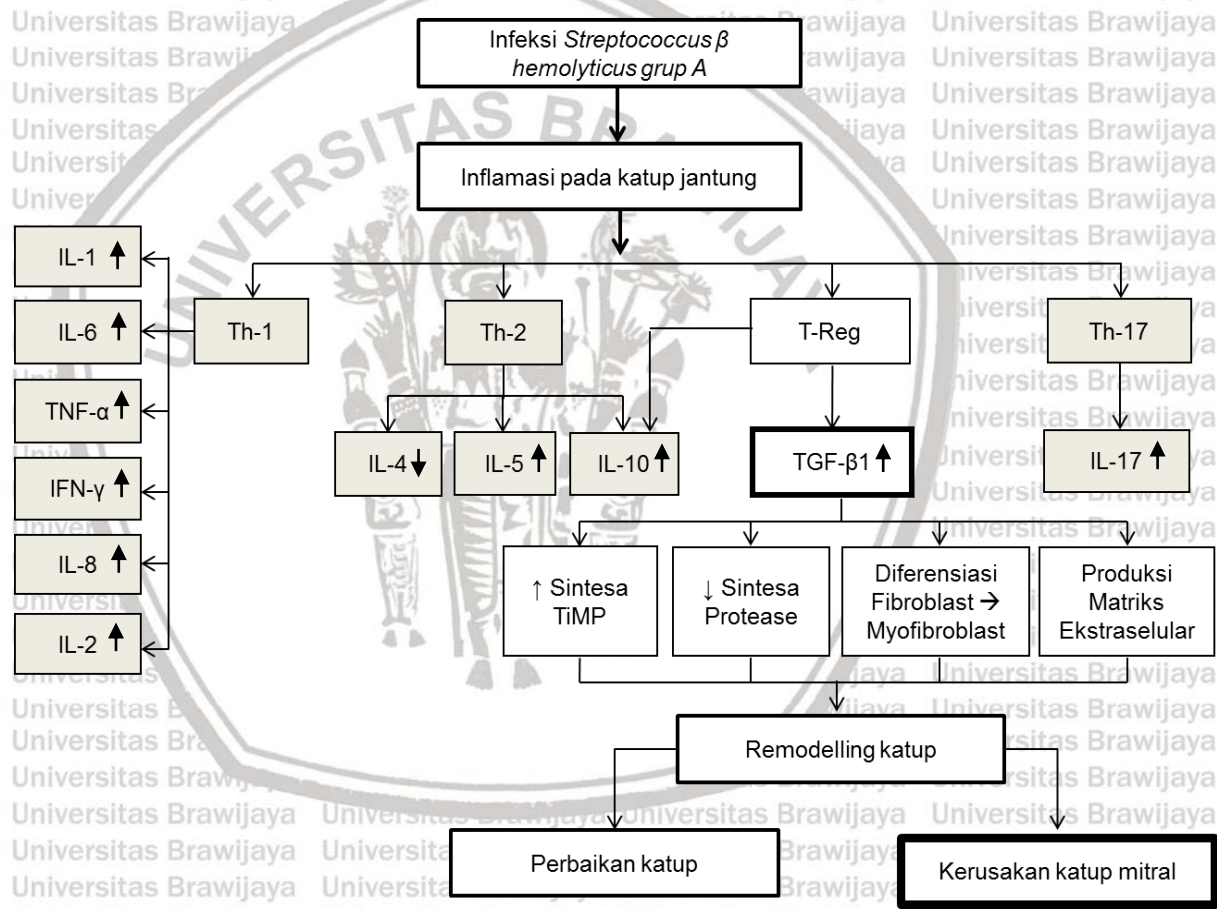
*Transforming growth factor beta-1* merupakan sitokin regulator utama pada perbaikan jaringan normal dan perkembangan fibrosis. *Transforming growth factor beta-1* memediasi respon inflamasi, menyebabkan produksi matriks ekstraseluler yang berlebihan, meningkatkan sintesa TIMP, menurunkan sintesa protease, dan menginduksi diferensiasi myofibroblast. *Transforming growth factor beta-1* memegang peranan penting dalam remodelling matriks ekstraseluler dan meningkatkan sintesa kolagen. Pada saat terjadi inflamasi, terjadi pengeluaran berbagai sitokin dan TGF- $\beta$ 1, menyebabkan terjadinya diferensiasi miofibroblast, dan menstimulasi fibroblast serta sel reparatif lainnya untuk berproliferasi dan mensintesa komponen matriks ekstraseluler (Walker *et al.*, 2004).

Pada kondisi normal, hal ini akan menyebabkan perbaikan sementara. Namun apabila kondisi inflamasi yang berulang, terjadi peningkatan produksi TGF- $\beta$ 1 secara berkepanjangan yang menyebabkan terjadinya fibrosis dan remodelling katup yang berkontribusi terhadap terjadinya kerusakan katup pada penyakit jantung reumatik (Liu & Gotlieb, 2008).

BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

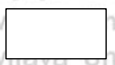
3.1 Kerangka konsep penelitian



Keterangan :



: Variabel yang diteliti



: Variabel yang tidak diteliti

Penyakit Jantung Reumatik dan DRA merupakan penyakit yang disebabkan oleh respon imunologis yang terjadi setelah infeksi GABHS. Antigen GABHS mempunyai struktur dan sifat yang mirip dengan jaringan pejamu, antara lain protein M yang merupakan antigen utama GABHS yang mempunyai struktur mirip (homolog) dengan miosin jantung dan polisakarida GABHS dengan glikoprotein katup jantung yang sama-sama mengandung *N-asetyl-β-D-glucosamine*. Kemiripan struktur ini menyebabkan terjadinya reaksi silang antara GABHS dengan jaringan katup jantung.

Pada individu dengan predisposisi genetik, reaksi inflamasi diperburuk sehingga menyebabkan produksi sitokin berlebih oleh monosit dan makrofag yang memicu aktivasi limfosit T dan B. Respon imun Th1 akan berlanjut dengan memicu respon *granulomatous* pada katup jantung (memicu perkembangan auto-antibodi terhadap komponen katup), menimbulkan inflamasi dan luka parut tambahan. Ketika terjadi kerusakan dan inflamasi jaringan jantung, peradangan memicu produksi dari beberapa reaktan fase akut yang penting dalam terjadinya PJR.

*Transforming growth factor beta-1* merupakan sitokin regulatori pusat yang berperan dalam perbaikan jaringan normal dan perkembangan s fibrosis.

*Transforming growth factor beta-1* memerantarai respon inflamasi, menyebabkan peningkatan produksi matriks ekstraseluler yang berlebihan, meningkatkan sintesis *tissue inhibitors of metalloproteinases*, menurunkan sintesis protein, dan menginduksi diferensiasi myofibroblas. *Transforming growth factor beta-1 signaling* juga memungkinkan homeostasis jaringan dengan mengendalikan proliferasi sel epitel, sel endotel, sel imun, dan fibroblas. *Transforming growth factor beta-1*

*signaling* akan mempengaruhi berbagai fungsi seluler, yakni inflamasi, deposisi matriks ekstraseluler, pengendalian pertumbuhan sel, proliferasi sel, diferensiasi sel, dan apoptosis. *Transforming growth factor beta-1* berperan penting dalam remodelling matriks dan meningkatkan sintesis kolagen. *Transforming growth factor beta-1* juga membantu diferensiasi myofibroblas dan stimulasi fibroblas, serta sel lain yang terlibat dalam perbaikan jaringan untuk berproliferasi dan mensintesis komponen matriks ekstraseluler.

Pada saat terjadi inflamasi, terjadi pengeluaran berbagai sitokin dan TGF- $\beta$ 1. Pada kondisi normal, hal ini akan menyebabkan perbaikan sementara. Namun apabila kondisi inflamasi yang berulang, terjadi peningkatan produksi TGF- $\beta$ 1 secara berkepanjangan yang menyebabkan terjadinya remodelling fibrosis jaringan, sebagaimana pada pajanan *Streptococcus  $\beta$ -hemolyticus grup A* berulang yang menyebabkan terjadinya penyakit jantung reumatik.

### 3.2 Hipotesis penelitian

#### a. Hipotesis 1 (H1)

Kadar TGF- $\beta$ 1 lebih tinggi pada anak dengan PJR (dengan kerusakan katup jantung) dibandingkan dengan kontrol (DRA tanpa kerusakan katup jantung)

#### b. Hipotesis 2 (H2)

Kadar TGF- $\beta$ 1 lebih tinggi pada anak dengan regurgitasi katup mitral berat dibandingkan sedang dan kadar TGF- $\beta$ 1 lebih tinggi pada anak dengan regurgitasi katup mitral sedang dibandingkan dengan ringan

c. Hipotesis 3 (H3)

Terdapat hubungan antara kadar TGF- $\beta$ 1 dengan derajat kerusakan katup mitral pada anak dengan PJR





## BAB 4

### METODE PENELITIAN

#### 4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah penelitian observasional analitik dengan pendekatan *cross sectional*, yakni variabel-variabel yang diukur pada subjek penelitian akan diobservasi dan dilakukan pengambilan data pada waktu yang bersamaan. Pada penelitian ini, terdapat tiga kelompok kasus, yaitu pasien PJR anak dengan regurgitasi katup mitral ringan, sedang, dan berat; serta satu kelompok kontrol, yaitu anak dengan demam reumatik tanpa kerusakan katup mitral.

#### 4.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Juli-Oktober 2019 di Poliklinik Anak Rumah Sakit Umum dr. Saiful Anwar Malang dan Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

#### 4.3 Populasi dan Sampel Penelitian

##### 4.3.1 Populasi

Populasi target penelitian ini adalah semua anak yang terdiagnosis demam reumatik akut (dengan dan tanpa kerusakan katup). Populasi terjangkau penelitian ini adalah pasien anak yang didiagnosis demam reumatik yang menjalani rawat jalan di Poliklinik Kardiologi Anak RSUD. Saiful Anwar Malang selama periode

penelitian. Sampel penelitian ini diambil dari populasi yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi.

#### 4.3.2 Sampel

Sampel penelitian adalah pasien anak yang terdiagnosis PJR dengan keterlibatan katup mitral dan menjalani rawat jalan di Poliklinik Kardiologi Anak RSSA Malang serta anak dengan demam reumatik tanpa kelainan katup mitral yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi sebagai kontrol selama periode penelitian.

Semua subjek penelitian telah setuju dan menandatangani *informed consent* penelitian.

#### 4.4 Perhitungan Besar Sampel Penelitian

Pada penelitian ini menggunakan rumus besar sampel sebagai berikut (Dahlan, 2010)

$$n = \left( \frac{Z\alpha + Z\beta}{0.5 \ln((1+r)/(1-r))} \right)^2 + 3$$

$n$  = jumlah sampel minimal

$\alpha$  = kesalahan tipe 1 ditetapkan 5%, hipotesis satu arah

$Z\alpha$  = nilai standar alpha 1,64

$\beta$  = kesalahan tipe 2 ditetapkan 10 %

$Z\beta$  = nilai standar beta 1,28

$r$  = koefisien korelasi minimal yang dianggap bermakna (Hafez, 2013).

Dengan demikian, hasil perhitungan jumlah sampel minimalnya adalah sebagai berikut :

$$n = \frac{(1,64 + 1,28)^2}{0,5 \ln \left( \frac{1 + 0,5}{1 - 0,5} \right)} + 3$$

$$n = 31,3 \text{ (dibulatkan menjadi 32)}$$

Berdasarkan rumus di atas, jumlah sampel minimal yang dibutuhkan adalah 32 pasien. Target jumlah sampel pada penelitian ini sebanyak 40 pasien. Pengambilan sampel pada studi ini dengan cara *consecutive sampling*.

#### 4.5 Kriteria Inklusi dan Eksklusi Penelitian

##### 4.5.1 Kriteria Inklusi Sampel

- a. Pasien yang didiagnosis PJR berdasarkan kriteria revisi Jones menurut AHA (2015) dengan penentuan keparahan regurgitasi katup mitral berdasarkan hasil ekokardiografi
- b. Berusia antara 5 sampai 18 tahun.
- c. Orang tua pasien mengizinkan anaknya diikutsertakan dalam penelitian setelah diberi penjelasan (*informed consent*).

##### 4.5.2 Kriteria Inklusi Kontrol

- a. Pasien yang didiagnosis DRA berdasarkan kriteria revisi Jones menurut AHA (2015) dengan tidak adanya kerusakan katup yang dibuktikan dengan pemeriksaan fisis dan hasil ekokardiografi
- b. Berusia antara 5 sampai 18 tahun.

- c. Orang tua pasien mengizinkan anaknya diikuti sertakan dalam penelitian setelah diberi penjelasan (*informed consent*).

#### 4.5.3 Kriteria Eksklusi Sampel

Sampel yang dieksklusi dalam penelitian ini adalah sampel yang selama penelitian :

- a. Sedang mengalami inflamasi maupun infeksi akut selain DRA atau PJR yang dibuktikan dengan anamnesis, pemeriksaan fisik dan pemeriksaan penunjang.
- b. Pasien yang mengalami penyakit autoimun lain, seperti diabetes mellitus, *systemic lupus erythematosus* (SLE), *multiple sclerosis*, *rheumatoid arthritis*, sindrom nefrotik, dan sindrom nefritik.
- c. Pasien yang mengalami penyakit hematologi seperti *thalassemia* dan *sickle cell anemia*.
- d. Pasien yang mengalami gangguan kardiovaskular yang disebabkan selain PJR, seperti kardiomiopati, gagal jantung, dan infark miokard akut (IMA).
- e. Pasien dengan gangguan fungsi ginjal.
- f. Pasien dengan hiperaldosteron primer dan sindrom cushing.
- g. Pasien meninggal dunia selama penelitian berlangsung.

#### 4.5.4 Kriteria Eksklusi Sampel

Sampel yang dieksklusi dalam penelitian ini adalah sampel yang selama penelitian :

- a. Sedang mengalami inflamasi maupun infeksi akut selain DRA atau PJR, yang dibuktikan dengan anamnesis, pemeriksaan fisik dan pemeriksaan penunjang.
- b. Pasien yang mengalami penyakit autoimun lain, seperti diabetes mellitus, *systemic lupus erythematosus* (SLE), *multiple sclerosis*, *rheumatoid arthritis*, sindrom nefrotik, dan sindrom nefritik.
- c. Pasien yang mengalami penyakit hematologi seperti *thalassemia* dan *sickle cell anemia*.
- d. Pasien yang mengalami gangguan kardiovaskular yang disebabkan selain PJR, seperti kardiomiopati, gagal jantung, dan infark miokard akut (IMA).
- e. Pasien dengan gangguan fungsi ginjal.
- f. Pasien dengan hiperaldosteron primer dan sindrom cushing.
- g. Pasien meninggal dunia selama penelitian berlangsung.

#### 4.6 Variabel Penelitian

##### 4.6.1 Variabel Bebas

- derajat keparahan regurgitasi katup mitral yaitu regurgitasi katup mitral ringan, sedang, berat, dan demam reumatik akut tanpa kelainan katup jantung.

#### 4.6.2 Variabel Tergantung

- kadar TGF- $\beta$ 1

#### 4.7 Definisi Operasional Variabel

##### a. Penyakit Jantung Reumatik

Penyakit jantung yang terjadi sebagai akibat gejala sisa (sekuele) dari DRA, yang ditandai dengan terjadinya cacat katup jantung, yang ditegakkan diagnosisnya berdasarkan kriteria revisi Jones berdasarkan AHA (2015).

Pasien PJR anak pada penelitian ini adalah anak usia 5-18 tahun.

##### b. Derajat keparahan regurgitasi katup mitral

Derajat yang menggambarkan tingkat kerusakan katup mitral pada PJR yang ditentukan berdasarkan hasil ekokardiografi menggunakan metode kuantitatif dan kualitatif yang dilakukan oleh dokter spesialis anak konsultan kardiologi.

Pada penelitian ini, klasifikasi lesi katup diperoleh dari hasil ekokardiografi pasien dari pemeriksaan 6 bulan terakhir. Pengukuran keparahan regurgitasi katup dilakukan pada katup mitral. Keparahannya regurgitasi katup diukur berdasarkan *colour flow jet area* mengacu pada kriteria WHF tahun 2012.

Derajat keparahan katup jantung memiliki skala data ordinal.

##### c. *Transforming growth factor beta-1*

Sitokin regulator utama pada perbaikan jaringan normal dan perkembangan fibrosis, yang diperiksa dari darah tepi dan dianalisis dengan teknik *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA). *Transforming growth factor beta-1* memiliki skala data rasio.

d. Demam Reumatik Akut

Anak usia 5-18 tahun dengan (DRA) yang ditandai dengan 2 gejala mayor atau ada 1 gejala mayor dan 2 minor berdasarkan kriteria Jones, ditambah dengan adanya bukti infeksi *Streptococcus  $\beta$ -hemolyticus grup A* (kultur hapusan tenggorok dan/atau meningkatnya titer antibodi (*Antistreptolysine* O)) tanpa disertai adanya kerusakan pada katup jantung.

#### 4.8 Bahan dan alat

1. Data identitas pasien
2. Alat dan bahan untuk pengambilan darah sampel :  
*Vacutainer*, tourniquet, kapas alkohol 70%, spuit 5 cc
3. alat dan bahan untuk pemeriksaan ekokardiografi
  - a. Mesin ekokardiografi
  - b. Alat tulis
  - c. Printer
4. Bahan untuk pemeriksaan TGF- $\beta$ 1
  - a. *Standar solution* (1200  $\mu$ g/ml)
  - b. *Pre-coated ELISA Plate*
  - c. Standar diluent
  - d. Streptavidin-HRP
  - e. *Stop solution*
  - f. *Substrate solution A*
  - g. *Substrate solution B*

h. *Wash buffer concentrate* (30x)

i. *Antibodi*

j. *User instruction*

k. *Plate sealer*

l. *Sampel darah*

#### 5. Alat untuk pemeriksaan TGF- $\beta$ 1

a. *ELISA reader*

b. *Inkubator*

c. *Mikropipet*

d. *Multi channel pipettes*

e. *Vortex*

f. *Deep freezer*

g. *Sentrifuge*

h. *Microplate reader*

i. *Tabung sentrifus 1,5 ml*

j. *Absorbent paper*

k. *Sumuran*

### 4.9 Prosedur Penelitian

#### 4.9.1 Pengambilan Sampel Darah

Pengambilan sampel darah tepi dilakukan di laboratorium Patologi Klinik (laboratorium sentral) RSSA oleh petugas laboratorium. Volume darah yang diambil



pada masing-masing sampel penelitian adalah 2 cc untuk pemeriksaan TGF- $\beta$ 1 dengan metode ELISA.

#### 4.9.2 Teknik *Enzyme-linked Immunosorbent Assay* (ELISA)

*Enzyme-linked Immunosorbent Assay* merupakan teknik biokimia yang banyak digunakan di bidang imunologi untuk mendeteksi adanya antibodi atau antigen pada suatu sampel. Teknik yang digunakan dalam penelitian ini adalah ELISA dengan teknik sandwich, digunakan untuk mendeteksi kadar suatu protein dengan mengendapkan antibodi pada *well plate*.

##### 4.9.2.1 Isolasi Serum

Darah dimasukkan dalam tabung vacutainer yang mengandung *serum separator tube* (SST) hingga terbentuk clotting, kemudian dilakukan sentrifugasi 1000 rpm selama 10 menit. Kemudian lapisan serum dipisahkan dan dimasukkan kedalam tabung penyimpanan, lalu disimpan pada suhu  $<-70^{\circ}\text{C}$  sampai digunakan.

Setelah jumlah sampel terpenuhi maka dilakukan pemeriksaan kadar TGF- $\beta$ 1 dengan metode ELISA.

##### 4.9.2.2 Preparasi Sampel

50 cc *wash buffer* dilarutkan dengan 950 cc *deionized water* untuk membuat 1 liter larutan. Apabila terbentuk kristal pada 20x *wash buffer*, pindahkan ke suhu ruangan dan vortex hingga terlarut. *Lyophilized human TGF- $\beta$  standard* ditambahkan dengan *assay buffer C* untuk membuat larutan stok standar 20 ng/ml, kemudian

larutan didiamkan selama 15-20 menit pada suhu ruangan, dan divorteks untuk mencampur dengan baik.

Untuk mengukur TGF- $\beta$ 1 total, sampel membutuhkan perlakuan khusus untuk mengaktifkan TGF- $\beta$ 1. 10 mikroliter serum/plasma ditambahkan ke *polypropylene microfuge tube*, kemudian ditambahkan 5 mikroliter *acidification solution*, lalu kocok, dan inkubasi selama 10 menit dalam suhu ruangan. Tambahkan 5 mikroliter *neutralization solution*, lalu kocok. Kemudian encerkan sampel serum/plasma dalam sample diluent berdasarkan konsentrasi sampel estimasi. Misalnya untuk pengenceran 50 kali sampel serum/plasma dengan volume akhir 250 mikroliter, maka encerkan 5 mikroliter sampel plasma/serum dalam 245 mikroliter sample diluent (faktor dilusi akhir 100).

#### 4.9.2.3 Assay Procedure

Semua reagen diletakkan di suhu ruangan sebelum digunakan. Sebaiknya semua standar dan sampel diduplikasi atau triplikasi. Kurva standar dibutuhkan untuk tiap pemeriksaan. Siapkan 500 mikroliter larutan standar 500 pg/ml dengan melarutkan 12,5 mikroliter larutan stok standar dalam 487,5 mikroliter *assay buffer*. C. Lakukan pengenceran 6 kali pengenceran larutan 500 pg/ml pada tabung terpisah menggunakan *assay buffer C* sebagai pelaut. Konsentrasi standar pada tabung adalah 500 pg/ml, 250 pg/ml, 125 pg/ml, 62,5 pg/ml, 31,3 pg/ml, 15,6 pg/ml, dan 7,8 pg/ml. *Assay buffer C* berperan sebagai standar nol (0 pg/ml).

Cuci plate 4 kali dengan sedikitnya 300 mikroliter 1x *wash buffer* tiap sumuran dan keringkan sisa buffer dengan menempelkan kertas isap dengan lembut.

Kemudian ditambahkan 50 mikroliter *assay buffer C* pada tiap sumuran. Kemudian ditambahkan 50 mikroliter larutan standar atau sampel pada sumuran yang sesuai.

Tutup plate dengan *plate sealer* dan inkubasi plate dalam suhu ruangan selama 2 jam sambil dikocok pada 200 rpm. Lalu isi plate dibuang dan dicuci sebanyak 4 kali

dengan 1x wash buffer. Kemudian ditambahkan 100 mikroliter larutan *human TGF- $\beta$  detection antibody* pada masing-masing sumuran kemudian ditutup dan diinkubasi

dalam suhu ruangan selama 1 jam sambil dikocok. Lalu isi plate dibuang dan dicuci sebanyak 4 kali dengan 1x wash buffer. Ditambahkan 100 mikroliter larutan avidin-

HRP D pada masing-masing sumuran, plate ditutup, kemudian diinkubasi pada suhu ruangan selama 30 menit sambil dikocok. Lalu isi plate dibuang dan dicuci 5 kali

dengan 1x wash buffer. Cuci sumuran dengan 1x wash buffer selama 30 detik sampai 1 menit tiap pencucian. 100 mikroliter larutan substrat F pada tiap sumuran

dan inkubasi selama 30 menit dalam gelap. Sumuran yang mengandung TGF- $\beta$ 1 akan berwarna biru dengan intensitas yang proporsional terhadap konsentrasinya.

Hentikan reaksi dengan menambahkan 100 mikroliter larutan stop pada tiap sumuran. Warna larutan akan berubah dari biru menjadi kuning. *Absorbance* dibaca

pada 450 nm dalam 30 menit.

#### 4.10 Pengumpulan Data

Data yang terkumpul ditabulasi dan dianalisis menggunakan software pembantu setelah semua sampel diperiksa di laboratorium. Hasil analisis software

diolah dan disajikan dalam bentuk grafik dan tabel untuk mempermudah pembacaannya. Tahap terakhir penelitian adalah penyusunan hasil analisis dan

pembahasan.

#### 4.11 Analisis Data

Data yang berhasil dikumpulkan dianalisis secara deskriptif dan analitik.

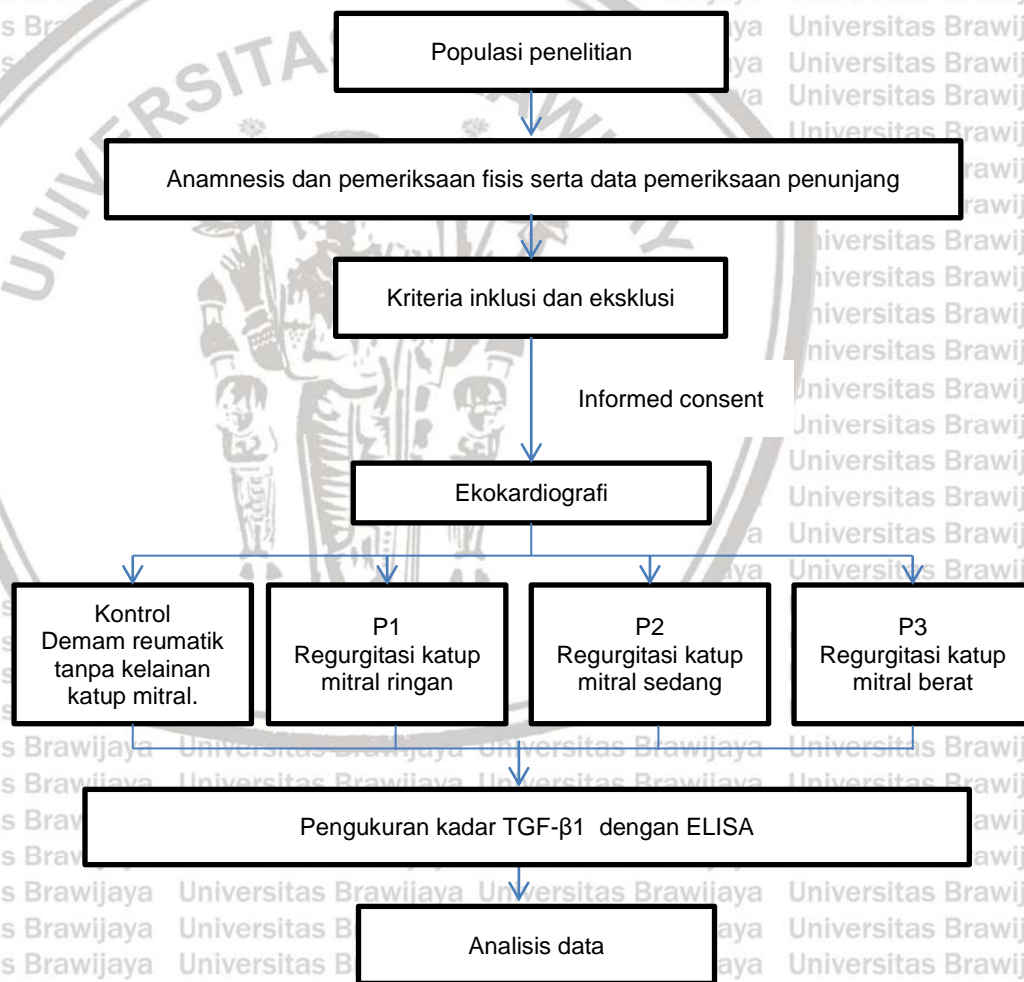
Analisis deskriptif dilakukan untuk menampilkan karakteristik responden, yakni jumlah setiap kelompok, rata-rata usia, dan jenis kelamin. Penyajian data dilakukan dalam bentuk grafik dan tabel. Tujuan utama penelitian adalah untuk mengetahui peran kadar TGF- $\beta$ 1 terhadap derajat keparahan regurgitasi katup mitral pada PJR anak. Responden dikelompokkan ke dalam 4 kelompok berdasarkan pemeriksaan ekokardiografi, yaitu kelompok regurgitasi katup mitral ringan, sedang, berat, dan kelompok demam reumatik akut tanpa keterlibatan katup jantung. Sumber data parameter yang diteliti, yakni kadar TGF- $\beta$ 1, memiliki skala data rasio.

Setelah data terkumpul, kemudian dilakukan uji normalitas untuk mengetahui data terdistribusi normal atau tidak. Uji normalitas yang digunakan pada penelitian ini menggunakan uji *Shapiro-Wilk* dikarenakan sampel kurang dari 50. Adapun interpretasi dari uji ini yaitu jika nilai signifikansi  $p > 0,05$  maka data terdistribusi normal dan sebaliknya bila nilai signifikansi  $p < 0,05$  maka data tidak terdistribusi normal. Selain uji normalitas, dilakukan pula uji homogenitas Levene. Bila didapatkan hasil  $p > 0,05$  maka dinyatakan data homogen. Apabila didapatkan distribusi data normal dan data homogen, maka dapat dilakukan uji beda dengan *One-way ANOVA* pada kelompok data parametrik. Namun, apabila didapatkan kelompok data non parametrik, maka dilakukan uji beda dengan *Kruskal-wallis*.

Apabila pada uji beda didapatkan perbedaan bermakna ( $p \leq 0,05$ ) maka dilakukan uji lanjutan dengan menggunakan uji *Post-hoc* untuk mengetahui perbedaan antar kelompok yang diuji. Selanjutnya untuk mengetahui hubungan

antara variabel data numerik dilakukan uji korelasi *Pearson* bila data terdistribusi normal atau dengan uji *Spearman* bila data tidak terdistribusi normal. Uji statistik dianggap bermakna apabila nilai  $p \leq 0,05$ . Analisis data secara analitik dilakukan dengan bantuan SPSS for Windows versi 20.0.

#### 4.12 Alur Penelitian



**BAB 5**  
**HASIL PENELITIAN**

**5.1 Karakteristik Subjek Penelitian**

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah penelitian observasional analitik dengan pendekatan *cross sectional*. Pengambilan sampel pada studi ini dengan cara *consecutive sampling* didapatkan sampel penelitian sebanyak 40 pasien yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Sampel penelitian ini terbagi atas 4 kelompok sampel penelitian yaitu kelompok regurgitasi mitral ringan, regurgitasi mitral sedang, regurgitasi mitral berat, serta kelompok DRA tanpa kelainan katup mitral yang akan dibandingkan kadar TGF- $\beta$ 1 pada masing-masing kelompok. Adapun karakteristik sampel penelitian terdapat pada tabel 5.1 sebagai berikut.

**Tabel 5.1 Karakteristik Subjek Penelitian**

<b>Karakteristik pasien</b>	<b>Jumlah (n=40)</b>
Jenis kelamin	
Laki-laki	19/40
Perempuan	21/40
Usia rerata (mean)	11,7
5-10 tahun	16/40
11-15 tahun	19/40
16-18 tahun	5/40
Derajat regurgitasi mitral	
Tanpa keterlibatan katup mitral	9/40
Regurgitasi mitral ringan	13/40
Regurgitasi mitral sedang	9/40
Regurgitasi mitral berat	9/40

Karakteristik sampel dengan rasio laki-laki berbanding perempuan 1:1,1 dengan usia rata-rata 11,7 tahun; dominasi paling banyak dengan regurgitasi mitral ringan (13/40)

Berdasarkan tabel 5.1 didapatkan informasi bahwa sampel pada penelitian ini lebih banyak pasien dengan jenis kelamin perempuan (21/40) dibanding laki-laki (19/40) dengan rerata usia sampel 11,7 tahun yang terdiri dari 16 sampel dengan rentang usia 5-10 tahun, 19 sampel dengan rentang usia 11-15 tahun, dan 5 sampel dengan rentang usia 16-18 tahun. Adapun karakteristik berdasarkan derajat regurgitasi mitral terdiri dari 9/40 pasien tanpa keterlibatan katup mitral, 13/40 dengan regurgitasi mitral ringan, 9/40 dengan regurgitasi mitral sedang, dan 9/40 dengan regurgitasi mitral berat.

## 5.2 Uji Normalitas

Untuk mengetahui data terdistribusi normal atau tidak, maka dilakukan uji normalitas. Uji normalitas yang digunakan pada penelitian ini menggunakan uji *Shapiro-Wilk* dikarenakan sampel kurang dari 50. Adapun interpretasi dari uji ini yaitu jika nilai signifikansi  $p > 0,05$  maka data terdistribusi normal dan sebaliknya bila nilai signifikansi  $p < 0,05$  maka data tidak terdistribusi normal. Pada penelitian ini hasil uji *Shapiro-Wilk* didapatkan signifikansi  $p > 0,05$  sehingga disimpulkan data terdistribusi normal.

Pasien dibagi berdasarkan derajat regurgitasi mitral menurut kriteria WHF 2012, yang terdiri dari tanpa keterlibatan katup mitral, regurgitasi mitral ringan, regurgitasi mitral sedang, dan regurgitasi mitral berat. Kemudian dilakukan uji beda untuk kadar TGF- $\beta$ 1 untuk tiap-tiap kelompok.

### 5.3 Perbandingan Kadar TGF-β1 berdasarkan Derajat Regurgitasi Mitral

Analisis perbandingan untuk kadar TGF-β1 pada masing-masing kelompok regurgitasi mitral dengan menggunakan uji ANOVA. Uji ANOVA adalah uji parametrik yang bertujuan untuk menentukan adakah perbedaan signifikan secara statistik antara dua atau lebih kelompok variabel independen pada variabel dependen yang berskala data numerik atau skala ordinal dimana data terdistribusi normal

Persyaratan untuk uji ANOVA adalah data yang digunakan bersifat homogen, sehingga dilakukan uji homogenitas Levene terlebih dahulu. Apabila didapatkan hasil  $p > 0.05$  maka dinyatakan data homogen. Pada penelitian ini didapatkan hasil uji homogenitas Levene  $p = 0.445$  sehingga dapat dilanjutkan dengan uji perbandingan menggunakan uji ANOVA.

**Tabel 5.2 Perbandingan Rerata Kadar TGF-β1 berdasarkan Derajat Regurgitasi Katup Mitral**

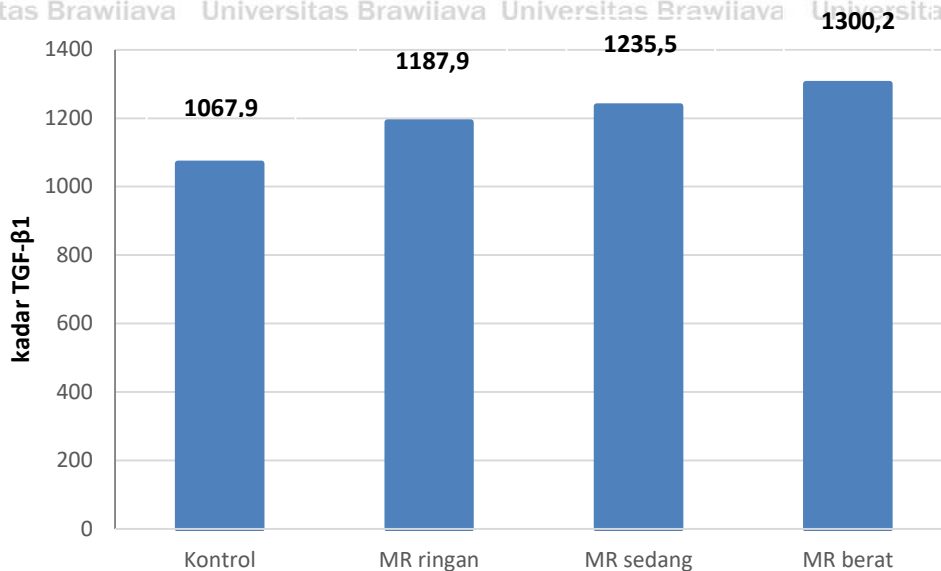
derajat regurgitasi mitral	(n=40)	Mean	Median	Standar deviasi	P Value
tanpa keterlibatan katup	9/40	1067,9	1062,2	65.76	0.000
regurgitasi mitral ringan	13/40	1187,9	1195	45.62	
regurgitasi mitral sedang	9/40	1235,5	1234	87.39	
regurgitasi mitral berat	9/40	1300,2	1289	58.98	

Dari hasil analisis data di atas (tabel 5.2) diketahui bahwa rerata kadar TGF-β1 kelompok tanpa keterlibatan katup sebesar 1067,9 pg/ml, regurgitasi mitral ringan sebesar 1187,9 pg/ml, regurgitasi mitral sedang sebesar 1235,5 pg/ml, dan regurgitasi mitral berat sebesar 1300,2 pg/ml. Secara statistik kadar TGF-β1 pada



tiap kelompok derajat regurgitasi mitral memiliki perbedaan yang signifikan dengan nilai  $p = 0.000$  ( $p < 0.005$ ).

$p=0.000$



**Gambar 5.1 Rerata kadar TGF-β1 berdasarkan derajat regurgitasi katup mitral**

Rerata kadar TGF-β1 paling tinggi terdapat pada kelompok regurgitasi mitral berat (1.3002 pg/ml), diikuti kelompok regurgitasi mitral sedang (1.2355 pg/ml), diikuti kelompok regurgitasi mitral ringan (1.1879 pg/ml), dan terendah pada kelompok tanpa keterlibatan katup (1.0679 pg/ml).

Dari hasil uji perbandingan ANOVA didapatkan kadar TGF-β1 pada tiap kelompok derajat regurgitasi mitral memiliki perbedaan yang signifikan dengan nilai  $p = 0.000$  ( $p < 0.005$ ). Karena didapatkan adanya perbedaan signifikan maka dilanjutkan dengan uji post hoc Tukey HSD untuk mengetahui perbandingan antar kelompok. Dinyatakan terdapat perbedaan signifikan bila didapatkan  $p < 0.05$ .

**Tabel 5.3 Perbandingan Rerata Kadar TGF-β1 Pasien Demam Reumatik Akut dan Penyakit Jantung Reumatik**

Kelompok		Nilai p	Keterangan
Demam reumatik akut tanpa keterlibatan katup	Regurgitasi katup mitral ringan	0.001	Berbeda
	Regurgitasi katup mitral sedang	0.000	Berbeda
	Regurgitasi katup mitral berat	0.000	Berbeda
Regurgitasi katup mitral ringan	Regurgitasi katup mitral sedang	0.334	Tidak berbeda
	Regurgitasi katup mitral berat	0.002	Berbeda
Regurgitasi katup mitral sedang	Regurgitasi katup mitral berat	0.161	Tidak berbeda

Dari hasil uji post hoc didapatkan adanya perbedaan signifikan pada kelompok DRA tanpa kerusakan katup dengan kelompok regurgitasi mitral ringan ( $p = 0.001$ ), regurgitasi mitral sedang ( $p = 0.000$ ), dan regurgitasi mitral berat ( $p = 0.000$ ). Didapatkan pula adanya perbedaan signifikan antara kelompok regurgitasi mitral ringan dengan kelompok regurgitasi mitral berat ( $p = 0.002$ ). Tidak didapatkan perbedaan signifikan antara kelompok regurgitasi mitral ringan dengan kelompok regurgitasi mitral sedang ( $p = 0.334$ ). Tidak didapatkan perbedaan signifikan pula antara kelompok regurgitasi mitral sedang dengan kelompok regurgitasi mitral berat ( $p = 0.161$ ).

#### 5.4 Korelasi Kadar TGF-β1 terhadap Derajat Regurgitasi Katup Mitral

Untuk mengetahui korelasi antara status kadar TGF-β1 terhadap derajat regurgitasi katup mitral digunakan uji *Spearman* dikarenakan skala data yang digunakan adalah data ordinal dan rasio. Berdasarkan uji tersebut menunjukkan

bahwa terdapat korelasi positif antara kadar TGF- $\beta$ 1 terhadap derajat regurgitasi katup mitral pada anak dengan dengan nilai signifikansi ( $p = 0.000$ ) dan koefisien korelasi ( $r = 0.821$ ). Sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat hubungan positif yang signifikan antara kadar TGF- $\beta$ 1 terhadap derajat regurgitasi katup mitral pada anak dengan tingkat korelasi sangat kuat ( $r = 0.75 - 0.99$ ). Korelasi positif sangat kuat ini memiliki arti bahwa semakin tinggi kadar TGF- $\beta$ 1 maka semakin berat pula derajat regurgitasi pada katup mitral.



## BAB 6

### PEMBAHASAN

Penelitian ini merupakan penelitian observasional analitik dengan pendekatan *cross sectional* yang bertujuan untuk mengetahui peran kadar TGF- $\beta$ 1 terhadap derajat regurgitasi katup mitral pada anak dengan PJR, yang terbagi dalam 3 kelompok yakni mitral regurgitasi (MR) ringan, MR sedang, MR berat; dan DRA tanpa kerusakan katup.

Berdasarkan distribusi jenis kelamin pada penelitian ini didapatkan prevalensi kasus PJR lebih tinggi pada perempuan (52,5%) dibanding laki-laki (47,5%). Rentang usia pada penelitian ini berkisar antara 5-18 tahun dan dikelompokkan menjadi 3 kelompok usia yaitu 5-10 tahun, 10-15 tahun, dan 16-18 tahun. Jumlah pasien DRA dan PJR terbanyak adalah kelompok usia 11-15 tahun (19/40), diikuti kelompok usia 5-10 tahun (16/40), dan kelompok usia 16-18 tahun (5/40), dengan rata-rata usia 11,7 tahun.

Hasil ini menunjukkan kesamaan dengan beberapa hasil penelitian sebelumnya. Pada penelitian Shresta *et al.* (2016) yang dilakukan di Nepal, didapatkan distribusi jenis kelamin pada penderita PJR lebih banyak pada perempuan (64,2%) dibandingkan laki-laki (35,8%), dengan usia rata-rata 11 tahun (Shresta *et al.*, 2016). Penelitian di Indonesia oleh Hasnul *et al.* (2015) juga didapatkan distribusi jenis kelamin yang hampir sama, yakni lebih banyak pada perempuan (57,41%) dibandingkan laki-laki (42,59%), dengan distribusi tertinggi pada kelompok usia 11-20 tahun (50%) (Hasnul *et al.*, 2015).

Pada penelitian ini didapatkan 9/40 subjek tidak memiliki keterlibatan katup mitral, 13/40 dengan regurgitasi mitral ringan, 9/40 dengan regurgitasi mitral sedang, dan 9/40 dengan regurgitasi mitral berat. Pada penelitian ini didapatkan rerata kadar TGF- $\beta$ 1 pada kelompok tanpa keterlibatan katup sebesar 1067,9 pg/ml, regurgitasi mitral ringan sebesar 1187,9 pg/ml, regurgitasi mitral sedang sebesar 1235,5 pg/ml, dan regurgitasi mitral berat sebesar 1300,2 pg/ml. Secara statistik kadar TGF- $\beta$ 1 pada tiap kelompok derajat regurgitasi mitral memiliki perbedaan yang signifikan dengan nilai. Terdapat pola yang meningkat secara signifikan seiring peningkatan derajat kerusakan katup mitral dengan tingkat korelasi positif yang kuat ( $p = 0.000$ ,  $r = 0.821$ ). Hal ini menggambarkan bahwa semakin berat derajat kerusakan katup mitral pada PJR didapatkan kadar TGF- $\beta$ 1 yang makin meningkat.

Hasil penelitian ini menunjukkan kemiripan dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Kim *et al.* di Korea (2008) dimana didapatkan ekspresi TGF- $\beta$ 1 yang tinggi pada 70% katup mitral yang mengalami penyakit reumatik, sedangkan pada kelompok kontrol (tanpa kelainan reumatik) hanya didapatkan 20% yang memiliki ekspresi TGF- $\beta$ 1 yang tinggi. Penelitian tersebut menunjukkan adanya korelasi antara peningkatan kadar ekspresi TGF- $\beta$ 1 pada katup jantung reumatik dengan proliferasi myofibroblas, fibrosis, inflamasi, dan kalsifikasi katup (Kim *et al.*, 2008, Howell & Butcher, 2012).

*Transforming growth factor beta-1* adalah bagian dari kelompok sitokin TGF- $\beta$  yang mengatur diferensiasi sel punca mesenkim dalam beberapa proses, misalnya aktivasi myofibroblas. Jaringan katup jantung, sebagaimana jaringan lain, berespon terhadap jejas dimana respon penyembuhan diawali dengan peningkatan

kadar TGF- $\beta$ 1. *Transforming growth factor beta-1* memegang peran paling utama dalam remodelling dan patologi pada katup jantung. Peningkatan kadar TGF- $\beta$ 1 akan berkorelasi dengan peningkatan produksi matriks pada lokasi yang mengalami fibrosis patologis, dimana myofibroblas teraktivasi dan memproduksi komponen matriks ekstraseluler dalam jumlah besar (Goumans & Dijke, 2017).

Penelitian Jian *et al.* (2003) menunjukkan cuspid stenosis aorta yang mengalami kalsifikasi mengandung matriks ekstraseluler yang secara kualitatif mengandung kadar TGF- $\beta$ 1 lebih tinggi dibanding cuspid yang tidak mengalami kalsifikasi. Penelitian ini juga menunjukkan bahwa TGF- $\beta$ 1 memediasi kalsifikasi sel interstisiel katup aorta pada kultur sel *sheep aortic valve interstitial cell* (SAVIC) melalui mekanisme apoptosis (Jian *et al.*, 2003). Penelitian ini menunjukkan hasil yang hampir sama dengan penelitian Jocelyn *et al.* (2007) bahwa TGF- $\beta$ 1 menyebabkan kalsifikasi pada SAVIC karena terjadinya peningkatan apoptosis dan peningkatan *matrix metalloproteinase-9* (MMP-9). Penelitian Jocelyn *et al.* ini menunjukkan pada immunostaining didapatkan TGF- $\beta$ 1 di antara sel interstisiel, sel radang, dan deposit kalsifikasi pada cuspid stenosis aorta yang mengalami kalsifikasi (Jocelyn *et al.*, 2007).

Pada PJR didapatkan fibrosis dan distorsi pada katup. Terdapat beberapa bukti yang menunjukkan bahwa overproduksi dari TGF- $\beta$ 1 memiliki peranan dalam terjadinya fibrosis dan disfungsi katup jantung. TGF- $\beta$ 1 meningkatkan produksi kolagen melalui 2 mekanisme, yakni aktivasi kolagen *type 1 gene promoter* melalui *second messenger* (SMAD protein) dan stimulasi translasi faktor profibrotik lain

seperti *connective tissue growth factor* dan MMP, terutama MMP-2 yang memfasilitasi motilitas dan migrasi fibroblas jantung (Chou *et al.*, 2004).

Pada hasil uji perbedaan penelitian ini didapatkan kadar TGF- $\beta$ 1 yang berbeda secara signifikan antara kelompok DRA tanpa kerusakan katup dengan semua kelompok regurgitasi mitral (ringan, sedang, dan berat) dan antara kelompok regurgitasi mitral ringan dengan regurgitasi mitral berat. Sedangkan kadar TGF- $\beta$ 1 antara kelompok regurgitasi mitral ringan dengan regurgitasi mitral sedang, dan regurgitasi mitral sedang dengan regurgitasi mitral berat tidak berbeda secara signifikan. Meski demikian didapatkan pola yang meningkat dari kadar TGF- $\beta$ 1 pada kelompok regurgitasi mitral ringan, sedang, dan berat. Adanya perbedaan yang tidak signifikan kadar TGF- $\beta$ 1 antara kelompok regurgitasi mitral ringan dan sedang, serta regurgitasi mitral sedang dan berat ini membutuhkan penelitian lebih lanjut yang dilakukan secara multisenter dengan jumlah sampel lebih besar karena hingga saat ini masih belum ada penelitian mengenai kadar TGF- $\beta$ 1 tersirkulasi terhadap derajat kerusakan katup jantung.

Pada penelitian ini didapatkan korelasi positif kuat antara kadar TGF- $\beta$ 1 dengan derajat keparahan regurgitasi mitral. Hal ini menggambarkan semakin berat derajat regurgitasi katup mitral maka kadar TGF- $\beta$ 1 akan semakin meningkat.

Penelitian ini memiliki kemiripan dengan penelitian Walker *et al.* (2004) di Colorado yang menunjukkan konsentrasi TGF- $\beta$ 1 akan mempengaruhi diferensiasi dan kontraktilitas myofibroblas. *Transforming growth factor beta-1* memediasi diferensiasi sel interstisiel katup menjadi myofibroblas aktif secara *in vitro* dengan pola peningkatan bergantung dosis (*dose-dependent*). Konsentrasi TGF- $\beta$ 1 akan

mengalami peningkatan pada lokasi katup yang mengalami jejas. Adanya peningkatan kadar TGF- $\beta$ 1 ini akan menyebabkan peningkatan produksi matriks pada daerah yang mengalami fibrosis patologis, sehingga terjadi perubahan patologis pada arsitektur katup dan kerusakan pada katup (Walker *et al.*, 2004).

Terdapat beberapa keterbatasan pada penelitian ini, di antaranya adalah pada penelitian ini kadar TGF- $\beta$ 1 yang diukur adalah kadar tersirkulasi di aliran darah sehingga mungkin tidak menggambarkan kadar yang sebenarnya pada jantung. Terdapat berbagai penanda inflamasi lain seperti TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , dan berbagai interleukin, misalnya IL-17; serta berbagai penanda remodelling, seperti PICP, PIIICP, PINP, PIIINP, MMP-1, TIMP-1; yang juga dapat mempengaruhi derajat regurgitasi katup mitral pada anak dengan PJR. Pada penelitian ini juga tidak dianalisis mengenai beberapa faktor yang mungkin mempengaruhi derajat kerusakan katup mitral, misalnya status gizi, lama pemberian terapi, jenis terapi yang diberikan, dan derajat regurgitasi katup mitral sebelum pemberian terapi.

Keterbatasan penting lain dari studi *cross-sectional*, seperti pada penelitian ini, adalah ketidakmampuan untuk menilai temporalitas atau hubungan sebab-akibat.

Oleh karena itu diperlukan uji coba terkontrol acak (*randomized control trial*) yang dirancang dengan baik untuk memperjelas hubungan antara kadar TGF- $\beta$ 1 dan derajat kerusakan katup mitral pada anak dengan PJR.



## BAB 7

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 7.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian ini dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

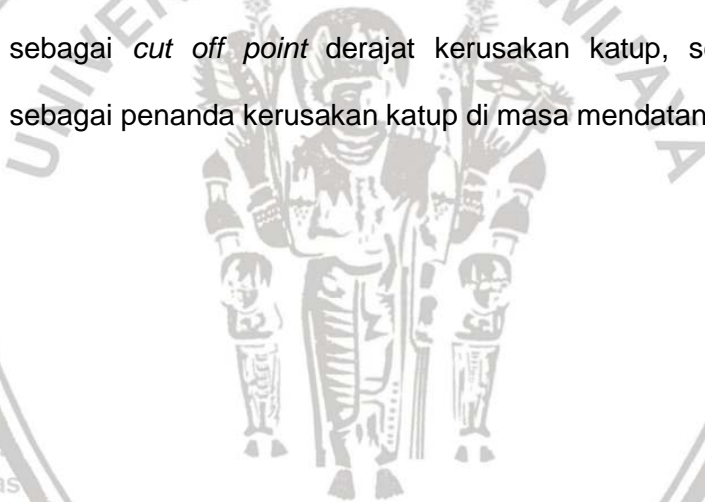
1. Terdapat kadar TGF- $\beta$ 1 yang lebih tinggi secara signifikan pada anak dengan PJR (dengan kerusakan katup) dibandingkan dengan DRA (tanpa kerusakan katup).
2. Terdapat pola peningkatan kadar TGF- $\beta$ 1 seiring derajat kerusakan katup mitral pada anak dengan PJR. Didapatkan kadar TGF- $\beta$ 1 yang lebih tinggi pada anak dengan regurgitasi katup mitral berat dibandingkan regurgitasi katup mitral sedang dan kadar TGF- $\beta$ 1 yang lebih tinggi pada anak dengan regurgitasi katup mitral sedang dibandingkan dengan regurgitasi katup mitral ringan.
3. Terdapat korelasi kuat positif antara kadar TGF- $\beta$ 1 dengan derajat kerusakan katup mitral pada anak dengan PJR. Semakin tinggi derajat kerusakan katup, makin tinggi kadar TGF- $\beta$ 1.

#### 7.2 Saran

1. Apabila memungkinkan dapat dilakukan penelitian serupa dengan cara pemeriksaan kadar TGF- $\beta$ 1 pada biopsi katup jantung,
2. Perlu dilakukan penelitian mengenai penanda inflamasi lain (TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , dan berbagai interleukin, misalnya IL-17) serta penanda remodelling lain (PICP, PIIICP, PINP, PIIINP, MMP-1, TIMP-1) yang juga berperan terhadap derajat

regurgitasi katup mitral pada anak dengan PJR, dan hubungannya dengan kadar TGF- $\beta$ 1.

3. Perlu dilakukan penelitian yang sama dengan memperhatikan faktor yang terkait dengan kerusakan katup, misalnya lama pemberian terapi, status gizi, pemberian terapi anti remodelling, serta derajat kerusakan katup sebelum pemberian terapi.
4. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut secara multisenter dengan jumlah sampel diperbanyak untuk menentukan kadar serum TGF- $\beta$ 1 yang dapat digunakan sebagai *cut off point* derajat kerusakan katup, sehingga dapat digunakan sebagai penanda kerusakan katup di masa mendatang.



## DAFTAR PUSTAKA

Artola R.T., Mihos C.G., Santana O. 2011. The immunology of mitral valve stenosis. *Int J Infereron Cytokine Mediator Res.* 3:1-8.

Banerjee T., Mukherjee S., Ghosh S. 2014. Clinical Significance of Markers of Collagen Metabolism in Rheumatic Mitral Valve Disease. *PLoS ONE* 9(3): e90527.

Bas HD, Baser K, Yavuz E, Bolayir HA, Yaman B, Unlu S. 2014. A shift in the balance of regulatory T and T helper 17 cells in rheumatic heart disease. *J Investig Med.* 62(1):78-83.

Bright P.D., Mayosi B.M., Martin W.J. 2016. An immunological perspective on rheumatic heart disease pathogenesis: more questions than answers. *Heart.* 102(19):1527-32.

Bryant PA, Browne RR, Carapetis JR, Curtis N. 2009. Some of the people, some of the time: susceptibility to acute rheumatic fever. *Circulation.* 119:742–53.

Busari O, Opadijo G, Fasae A. 2013. Acute Rheumatic Fever: A Public Health Concern in Resource-Poor Settings. *Archives Medical Review Journal.* 22(2) :153-169.

Carapetis J.R., McDonald, M., Wilson, N.J. 2005. Acute rheumatic fever. *Lancet,* 336: 155–168.

Carapetis J.R., Steer A.C., Mulholland E.K., Weber M. 2005. The Global Burden of Group A Streptococcal Diseases. *Lancet Infect Dis.* 5: 685–694.

Carapetis J. R., Beaton A. C.M.W., Guilherme L. 2016. Acute rheumatic fever and rheumatic heart disease. *Nature Reviews Cardiology,* 2 January, 1-24.

Chakko S., Bisno A.L. 2001. Acute rheumatic fever. *Hurst The HeartMc Graw-Hill.* New York. 2(10) : 1657-65.

Chou HT, Chen CH, Tsai CH, Tsai FJ. 2004. Association between transforming growth factor-beta1 gene C-509T and T869C polymorphisms and rheumatic heart disease. *Am Heart J.* 148(1):181-6.

Col-Araz N, Pehlivan S, Baspinar O, Oguzkan-Balci S, Sever T, Balat A. 2012. Role of cytokine gene (IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ , IL-6, and IL-10) polymorphisms in

pathogenesis of acute rheumatic fever in Turkish children. *Eur J Pediatr.* 171(7): 1103-8.

Cunningham, M.W. 2003. Autoimmunity and molecular mimicry in the pathogenesis of post-streptococcal heart disease. *Front Biosci.* 8: 533–543.

Gewitz M.H., Baltimore R.S., Tani L.Y. 2015. Revision of the Jones criteria for the diagnosis of acute rheumatic fever in the era of doppler echocardiography : A scientific statement from the American Heart Association. *Circulation.* 1-13.

Goumans M.J., Dijke P. 2017. TGF- $\beta$  Signaling in Control of Cardiovascular Function. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 1-39.

Guilherme, L., Cury, P., Demarchi, L.M.F., et al.. 2003. Rheumatic heart disease : pro inflammatory cytokines play a role in the progression and maintenance of valvular lesions. *The American Journal of Pathology.* 165(5): 1583-1591.

Guilherme, L., Kalil, J., 2004. Rheumatic fever: How streptococcal throat infection triggers and autoimmune disease. *Infection and Autoimmunity.* 4: 321–330.

Guilherme, L., Kalil, J., Cunningham, M. 2006. Molecular mimicry in the Autoimmune pathogenesis of rheumatic heart disease. *Autoimmunity.* 39(1) : 31–39.

Guilherme, L., Fae, K.C., Oshiro, S.E et al.. 2007. T cell response in rheumatic fever : crossreactivity between streptococcal M protein peptides and heart tissue proteins. *Current Protein & Peptide science.* 8(1) : 39-44.

Guilherme, L., Kalil, J. 2009. Rheumatic fever and rheumatic heart disease: cellular mechanism leading autoimmune reactivity and disease. *J Clin Immunol.* S3:001

Guilherme, L., Kalil, J., 2010. Rheumatic fever and rheumatic heart disease: Cellular mechanisms leading autoimmune reactivity and disease. *Journal Clinical Immunology.* 30: 17–23.

Guilherme, L., Kohler, K.F., Kalil, J. 2012. Rheumatic heart disease : Genes, inflammation and autoimmunity. *Rheumatol Curr Res;* S4: 1-5.

Guilherme, L., Kalil, J. 2013. Rheumatic heart disease: molecules involved in valve tissue inflammation leading to the autoimmune process and anti-S.

- pyogenes vaccine. *Frontiers in Immunology. Immunotherapies and Vaccines.* 352:1-6
- Gupta, P., Chatterjee, S., Agarwal, A.K., et al. 2010. Rheumatic fever : A appraisal. *JIACM.* 11(2): 99-106.
- Hasnul M, Najirman, Yanwirasti. 2015. Karakteristik Pasien Penyakit Jantung Rematik yang Dirawat Inap di RSUP Dr. M. Djamil Padang. *Jurnal Kesehatan Andalas.* 4(3): 894-900.
- Hinz B. 2009. Tissue stiffness, latent TGF-beta1 activation, and mechanical signal transduction: implications for the pathogenesis and treatment of fibrosis. *Curr Rheumatol.* 11(2): 120-6.
- Howell EJ, Butcher JT. 2012. Valvular heart diseases in the developing world: Developmental biology takes center stage. *J Heart Valve Dis.* 21(2): 234–240.
- Jian B, Narula N, Li QY, Mohler ER, Levy RJ. 2003. Progression of aortic valve stenosis: TGF-beta1 is present in calcified aortic valve cusps and promotes aortic valve interstitial cell calcification via apoptosis. *Ann Thorac Surg.* 75(2):457-65.
- Jocelyn NCG, Connolly JM, Sorichillo E, Narula NR, Rapoport S, Mohler ER, Gorman JH, Gorman RC, Levy RJ. 2007. Transforming Growth Factor-β1 Mechanisms in Aortic Valve Calcification: Increased Alkaline Phosphatase and Related Events. *The Annals of Thoracic Surg.* 83(3): 946-53.
- Kim L, Kim DK, Yang WI, et al. 2008. Overexpression of Transforming Growth Factor-β1 in the Valvular Fibrosis of Chronic Rheumatic Heart Disease. *Journal of Korean Medical Science.* 23(1):41-48.
- Kumar RK, Tandon R. 2013. Rheumatic fever and rheumatic heart disease: the last 50 years. *Indian J Med Res.* 137:pp.643-658
- Lis Y, Burleigh MC, Parker DJ, Child AH, Hogg J, Davies MJ. 1987. Biochemical characterization of individual normal, floppy and rheumatic human mitral valves. *Biochem J.* 244:597–603.
- Lopez, B., Gonzales, A., Diez, J. 2010. Circulating biomarkers of collagen metabolism in cardiac disease. *Circulation.* 121:1645-1654.

- Madiyono, B., Sukardi, R., Kuswiyanto, R.B. 2009. Demam reumatik dan penyakit jantung reumatik pada anak. Management of Pediatric Heart Diseases for Practitioners : From Early Detection to Intervention. Departemen Ilmu Kesehatan Anak FKUI-RSCM. 95-114.
- Miossec P, Korn T, Kuchroo VK. 2009. Interleukin-17 and type 17 helper T cells. *The New England Journal of Medicine*. 361(9): 888–98.
- Mishra, T.K. 2007. Acute rheumatic fever and rheumatic heart disease: current scenario. *JACM*. 8: 324-30.
- Onishi R.M., Gaffen S.L. 2010. Interleukin-17 and its target genes: mechanisms of interleukin-17 function in disease. *Immunology*. 129(3): 311–321.
- Rahmawaty NK, Iskandar B, Albar H, Daud D. 2012. Faktor risiko serangan berulang demam reumatik/penyakit jantung reumatik. *Sari Pediatri*. 14(3):179-84.
- Riaz BK, Selim S, Karim MN, Chowdhury KN, Chowdhury SH, Rahman MR. 2013. Risk Factors of Rheumatic Heart Disease in Bangladesh: A Case-Control Study. *J Health Popul Nutr*. 31(1): 70–77.
- Roberts, S., Kosanke, S., Terrence, D.S., Jankelow, D., Duran, C.M., Cunningham, M.W. 2001. Pathogenic mechanisms in rheumatic carditis: focus on valvular endothelium. *The Journal of Infectious Diseases*. 183(3):507–11.
- Rubin, R., Strayer, D.S. 2011. Rubin's Pathology: Clinicopathologic Foundations of Medicine Sixth Edition. Chapter Acquired valvular and endocardial disease. *Lippincott William & Wilkins*. p113-143.
- Seckeler, M.D., Hoke TR. 2011. The worldwide epidemiology of acute rheumatic fever and rheumatic heart disease. *Clin Epidemiol*. 3: 67–84.
- Steer AC, Jenney AW, Kado J, et al.. 2009. Prospective surveillance of streptococcal sore throat in a tropical country. *Pediatr Infect Dis J*. 28:477–82
- Smith MT, Zurynski Y, Lester-Smith D, Elliott E, Carapetis J. 2012. Rheumatic fever: identification, management and secondary prevention. *Australian Family Physician*. 41:31-35.
- Shrestha NR, Karki P, Mahto R. 2016. Prevalence of Subclinical Rheumatic Heart Disease in Eastern Nepal: A School-Based Cross-sectional Study. *JAMA Cardiol*. 2016;1(1):89-96.

- Toor, D., Vohra, H. 2012. Immune responsiveness during disease progression from acute rheumatic fever to chronic rheumatic heart disease. *Microbes and Infection*. 14(12): 1111-1117.
- Toor D, Sharma N. 2018. T cell subsets: an integral component in pathogenesis of rheumatic heart disease. *Immunologic Research*. Volume 66, Issue 1, pp 18–30
- Vijayalakshmi, I.B., Vishnuprabvu, R.O., Chitra, N., Rajasri, R., Anuradha, T.V. 2008. The efficacy of echocardiographic criterions for the diagnosis of carditis in acute rheumatic fever. *Cardiol Young*. 18(6):586-92.
- Veinot JP. 2006. Pathology of inflammatory native valvular heart disease. *Cardiovascular Pathology*. 15(5):243–251
- Viswanathan, A.J., Vijayalakshmi, I.B.2012. Acute rheumatic fever. *Indian Journal of Rheumatology*. 7(1) : 36–43.
- Walker GA, Masters KS, Shah DN, Anseth KS, Leinwand LA. 2004. Valvular myofibroblast activation by transforming growth factor-beta: implications for pathological extracellular matrix remodeling in heart valve disease. *Circ Res*. 95:253–260
- Wang B, Dileepan T, Briscoe S, Hyland KA, Kang J, Khoruts A, Cleary PP. 2010. Induction of TGF-beta1 and TGF-beta1-dependent predominant Th17 differentiation by group A streptococcal infection. *Proc Natl Acad Sci USA*. 107(13):5937-42.
- Watkins, D.A., Johnson, C.O., Colquhoun, S.M., Karthikeyan, G., Beaton, A., Bukhman, G et al.. 2017. Global, regional, and national burden of rheumatic heart disease. *New England Journal of Medicine*. 377(8) : 713-722.
- Wen Y, Zeng Z, Gui C, Li L, Li W. 2015. Changes in the expression of Th17 cell-associated cytokines in the development of rheumatic heart disease. *Cardiovasc Pathol*: 24(6):382-7
- WHO. 2011. Rheumatic fever and rheumatic heart disease. Report of a WHO study group. Geneva. World Health Organization, Technical Report Series, No.923.

Zuhlke, L., Engel, M.E., Karthikeyan, G., et al.: 2014. Characteristics, complications, and gaps in evidence-based interventions in rheumatic heart disease : The global rheumatic heart disease registry (The REMEDY study). *European Heart Journal*. 36 : 1-9.


Zuhlke L, Beaton A, Engel ME, Hugo-Hamman CT, Karthikeyan G, Katzenellenbogen JM. 2017. Group A Streptococcus, Acute Rheumatic Fever and Rheumatic Heart Disease: Epidemiology and Clinical Considerations. *Curr Treat Options Cardio Med*. 19: 15





Lampiran 1

**RUMAH SAKIT UMUM DAERAH Dr SAIFUL ANWAR MALANG**  
 Jl. Jaks Agung Suprpto No.2 Malang  
**KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN**  
 TERAKREDITASI KARS VERSI 2012 TINGKAT PARIPURNA



24 Februari 2015 s.d. 23 Februari 2018  
 Jl. Jaks Agung Suprpto No 2 MALANG 65111  
 Telp. ( 0341 ) 362101, Faks. ( 0341 ) 369384  
 E-mail : staf-rsu-drsaifulanwar@jatimprov.go.id  
 Website : www.rsusaMalanwar.jatimprov.go.id

---

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK  
 PELAKSANAAN PENELITIAN**

**("ETHICAL CLEARANCE")**

**No: 400/136/K.3/302 /2018**

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

**JUDUL : PERAN BIOMARKER INFALAMASI, REMODELLING, SERTA PEMBERIAN  
 ANGIOTENSIN CONVERTING ENZYME (ACE) INHIBITOR DAN BENZIL BENZATHIN  
 PENICILLIN TERHADAP DERAJAT KEPARAHAN REGURGITASI KATUP MITRAL  
 PADA PENYAKIT JANTUNG REUMATIK (PJR) ANAK**

**PENELITI UTAMA : dr. Renny Suwarnlaty,Sp.A(K)**  
**PENELITI ANGGOTA : dr. Erna Irawati**  
 dr. Taufiq Ridlo Makhmud  
 dr. Bambang Kusbandono  
 dr. Ratih Kusumawardani  
 dr. Faris Wahyu Nugroho  
 dr. Citra Tarannita


**UNIT / LEMBAGA / TEMPAT PENELITIAN**

**RSUD Dr Saiful Anwar Malang**

**DINYATAKAN LAIK ETIK**

**MALANG, 20 Juli 2018**

**KETUA TIM KOMISI ETIK PENELITIAN**



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



## Lampiran 2

## PENJELASAN UNTUK MENGIKUTI PENELITIAN

1. Saya adalah dokter yang mengambil pendidikan dokter spesialis Anak Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya dengan ini meminta anda untuk berpartisipasi dengan sukarela dalam penelitian yang berjudul Peran Kadar Transforming Growth Factor Beta-1 (TGF- $\beta$ 1) terhadap Derajat Kerusakan Katup Mitral pada Anak dengan Penyakit Jantung Reumatik
2. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui tentang peran kadar Transforming Growth Factor Beta-1 (TGF- $\beta$ 1) terhadap derajat kerusakan katup mitral pada anak dengan penyakit jantung reumatik.
3. Dapat memberi manfaat memberikan kandidat biomarker baru untuk memprediksi derajat keparahan regurgitasi katup mitral pada anak dengan PJR. Penelitian ini akan berlangsung selama 4 bulan dan sampel berupa serum darah vena penderita PJR stabil yang akan diambil dengan cara pengambilan darah vena perifer menggunakan jarum suntik. Derajat keparahan katup pada penderita PJR diperiksa menggunakan ekokardiografi
4. Prosedur pengambilan sampel dengan cara pengambilan darah vena tepi menggunakan jarum suntik sejumlah 2 cc, cara ini mungkin menyebabkan rasa nyeri dan kemungkinan infeksi pada tempat tusukan tetapi tidak perlu khawatir karena pengambilan sampel dilakukan sesuai prosedur yang ditetapkan dan apabila ada efek samping maka akan dilakukan terapi yang sesuai, semua biaya perawatan yang dikarenakan sebagai akibat dari tindakan penelitian akan ditanggung oleh peneliti
5. Subyek penelitian akan mendapatkan tanda terima kasih dari peneliti meskipun tidak terjadi komplikasi akibat pemeriksaan penelitian
6. Keuntungan yang akan anda peroleh dalam keikutsertaan adalah dapat mengetahui derajat keparahan penyakit dan prognosis dari penyakit,
7. Anda boleh tidak mengikuti penelitian ini sama sekali, dan tidak akan mempengaruhi pelayanan rumah sakit terhadap anda
8. Nama dan jati diri anda akan tetap dirahasiakan

9. Keputusan ini dibuat pasien setelah menerima penjelasan dari peneliti

Peneliti

dr. Ratih Kusumawardani



PERNYATAAN PERSETUJUAN UNTUK BERPARTISIPASI DALAM PENELITIAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini menyatakan bahwa:

1. Saya telah mengerti tentang apa yang tercantum dalam lembar persetujuan diatas dan telah dijelaskan oleh peneliti
2. Dengan ini saya menyatakan bahwa secara sukarela bersedia/ tidak bersedia \*) untuk ikut serta menjadi salah satu subjek penelitian yang berjudul "Peran Kadar Transforming Growth Factor Beta-1 (TGF-β1) terhadap Derajat Kerusakan Katup Mitral pada Anak dengan Penyakit Jantung Reumatik "

Malang, Juli 2019

Peneliti

Yang membuat pernyataan

(dr, Ratih Kusumawardani)

(.....)

Saksi 1

Saksi 2

(.....)

(.....)

\*) Coret salah satu



Lampiran 3

Data Sampel Penelitian

No.	KS	JK	Usia	OD1	OD2	Rerata OD	Kons. Tot TGF-β1 Sample (pg/mL)
1	R1	P	17	3,4065	3,4089	3,4077	1195,3333
2	R2	L	9	3,4634	3,3466	3,4050	1094,3333
3	R3	P	13	3,325	3,2454	3,2852	1149,9630
4	R4	L	10	4,2675	3,9774	4,1225	1160,0556
5	R5	L	14	3,336	3,3251	3,3306	1166,7593
6	R6	P	15	4,2886	4,2130	4,2508	1207,5926
7	R7	P	12	3,889	4,0107	3,9499	1196,1296
8	R8	L	17	3,3175	3,3795	3,3485	1173,4074
9	R9	L	9	3,4065	3,5979	3,5022	1230,3333
10	R10	P	15	3,4312	3,1791	3,3052	1157,3519
11	R11	L	7	3,656	3,5976	3,6268	1276,4815
12	R12	P	6	3,5686	3,2897	3,4292	1203,2778
13	R13	P	17	3,4525	3,5660	3,5093	1232,9444
1	S1	L	10	3,6865	3,6982	3,6924	1300,7593
2	S2	L	13	3,5466	3,4773	3,5120	1233,9444
3	S3	L	10	3,8915	3,8913	3,8914	1374,4815
4	S4	P	12	3,3221	3,4382	3,3802	1285,1296
5	S5	L	13	3,2156	3,0200	3,1178	1187,9630
6	S6	P	9	3,054	3,0178	3,0359	1057,6296
7	S7	L	10	3,3644	3,5132	3,4388	1206,8519
8	S8	P	12	3,4203	3,5483	3,4843	1223,7037
9	S9	L	13	3,4757	3,6337	3,5547	1249,7778
1	B1	P	12	3,5088	3,3423	3,4256	1301,9444
2	B2	P	13	2,8501	2,8216	2,8359	1283,5370
3	B3	L	12	3,2304	3,2781	3,2543	1238,5000
4	B4	P	12	3,1002	3,1457	3,1230	1289,8704
5	B5	L	11	3,4219	3,4325	3,4272	1302,5556
6	B6	L	13	3,2068	3,2069	3,2069	1220,9444
7	B7	P	9	3,3903	3,3301	3,3602	1377,7407
8	B8	P	10	3,4435	3,3018	3,3727	1282,3519
9	B9	P	13	4,287	4,2016	4,2443	1405,1852

Data Kelompok Kontrol

No.	KS	JK	Usia	OD1	OD2	Rerata OD	Kons. Tot TGF- $\beta$ 1 Sample (pg/mL)
1	N1	P	9	3,4936	3,3795	3,4366	1006,0185
2	N2	L	9	3,1909	3,1542	3,1726	1108,2407
3	N3	L	16	3,6231	3,4631	3,5431	1045,4815
4	N4	P	13	3,656	3,5205	3,5883	1062,2037
5	N5	P	8	3,8696	3,7914	3,8305	1151,9259
6	N6	P	18	3,224	3,1878	3,2059	1120,5926
7	N7	L	8	4,5896	4,3124	4,4510	981,7407
8	N8	P	11	3,3576	3,4417	3,3997	992,3519
9	N9	L	9	3,2383	3,2944	3,2664	1142,9815



Lampiran 4

Hasil Analisis Statistik  
Deskriptif Demografi

Jenis Kelamin

	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid Perempuan	21	52.5	52.5	52.5
Laki-Laki	19	47.5	47.5	100.0
Total	40	100.0	100.0	

Kategori Usia

	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid 5-10 tahun	16	40.0	40.0	40.0
11-15 tahun	19	47.5	47.5	87.5
16-18 tahun	5	12.5	12.5	100.0
Total	40	100.0	100.0	

Derajat Kerusakan Katup

Case Processing Summary

	derajat MR	Cases					
		Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
kadar TGFb1	0	9	100.0%	0	.0%	9	100.0%
	1	13	100.0%	0	.0%	13	100.0%
	2	9	100.0%	0	.0%	9	100.0%
	3	9	100.0%	0	.0%	9	100.0%



Descriptives

derajat MR		Statistic	Std. Error
kadar TGFb1	0	Mean	1.0679E3
		95% Confidence Interval for Mean	1.0174E3
		Lower Bound	1.1184E3
		Upper Bound	1.0680E3
		5% Trimmed Mean	1.0622E3
		Median	4.325E3
		Variance	6.5761E1
		Std. Deviation	9.8174E2
		Minimum	1.1519E3
		Maximum	1.7019E2
		Range	1.3260E2
		Interquartile Range	-.054
		Skewness	.717
		Kurtosis	1.400
1		Mean	1.1879E3
		95% Confidence Interval for Mean	1.1604E3
		Lower Bound	1.2155E3
		Upper Bound	1.1882E3
		5% Trimmed Mean	1.1953E3
		Median	2.082E3
		Variance	4.5627E1
		Std. Deviation	1.0943E3
		Minimum	1.2765E3
		Maximum	1.8215E2
		Range	60.2592
		Interquartile Range	-.071
		Skewness	.616
		Kurtosis	1.191
2		Mean	1.2355E3
		95% Confidence Interval for Mean	1.1684E3
		Lower Bound	1.3027E3
		Upper Bound	1.2377E3
		5% Trimmed Mean	1.2339E3
		Median	7.638E3
		Variance	8.7393E1
		Std. Deviation	1.0576E3
		Minimum	1.3745E3
		Maximum	3.1685E2
		Range	95.5370
		Interquartile Range	-.647
		Skewness	.717
		Kurtosis	1.400
3		Mean	1.3002E3
		95% Confidence Interval for Mean	1.2549E3
		Lower Bound	1.3456E3
		Upper Bound	1.2988E3
		5% Trimmed Mean	1.2898E3
		Median	3.479E3
		Variance	5.8985E1
		Std. Deviation	1.2209E3
		Minimum	1.4052E3
		Maximum	1.8424E2
		Range	79.7222
		Interquartile Range	.683
		Skewness	.717
		Kurtosis	1.400



### Uji Normalitas

Tests of Normality

derajat MR	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
kadar TGFb1 0	.174	9	.200 <sup>*</sup>	.913	9	.336
1	.125	13	.200 <sup>*</sup>	.976	13	.954
2	.182	9	.200 <sup>*</sup>	.951	9	.704
3	.262	9	.074	.912	9	.333

a. Lilliefors Significance Correction

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

### Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.912	3	36	.445

### Perbandingan Kadar TGF-β1 antar Kelompok

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	260362.896	3	86787.632	21.037	.000
Within Groups	148515.221	36	4125.423		
Total	408878.117	39			

**Post Hoc**

**Multiple Comparisons**

kadar TGFb1  
Tukey HSD

(I) derajat at MR	(J) derajat at MR	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
0	1	-1.200486E2'	2.7851E1	.001	-195.059714	-45.037482
	2	-1.676337E2'	3.0278E1	.000	-249.179436	-86.088075
	3	-2.323436E2'	3.0278E1	.000	-313.889303	-150.797942
1	0	120.0485983'	2.7851E1	.001	45.037482	195.059714
	2	-47.5851573	2.7851E1	.334	-122.596273	27.425959
	3	-1.122950E2'	2.7851E1	.002	-187.306140	-37.283908
2	0	167.6337556'	3.0278E1	.000	86.088075	249.179436
	1	47.5851573	2.7851E1	.334	-27.425959	122.596273
	3	-64.7098667	3.0278E1	.161	-146.255547	16.835814
3	0	232.3436222'	3.0278E1	.000	150.797942	313.889303
	1	112.2950239'	2.7851E1	.002	37.283908	187.306140
	2	64.7098667	3.0278E1	.161	-16.835814	146.255547

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

**Hubungan TGF-β1 dengan Derajat Regurgitasi Katup Mitral**

**Correlations**

			derajat MR	kadar TGFb1
Spearman's rho	derajat MR	Correlation Coefficient	1.000	.821**
		Sig. (2-tailed)	.	.000
		N	40	40
	kadar TGFb1	Correlation Coefficient	.821**	1.000
		Sig. (2-tailed)	.000	.
		N	40	40

\*\* . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).