

TESIS

**PENGARUH TERAPI OKSIGEN HIPERBARIK
TERHADAP PENURUNAN ANTIBODI ANTI
dsDNA, MDA, IL-6 DAN PENINGKATAN
TGF- β PADA MENCIT BALB/c
MODEL NEFRITIS LUPUS**



Oleh

Indri Dwi Murbani
NIM 011914153002

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN DASAR
JENJANG MAGISTER FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

TESIS

**PENGARUH TERAPI OKSIGEN HIPERBARIK
TERHADAP PENURUNAN ANTIBODI ANTI
dsDNA, MDA, IL-6 DAN PENINGKATAN
TGF- β PADA MENCIT BALB/c
MODEL NEFRITIS LUPUS**

Oleh

Indri Dwi Murbani
NIM 011914153002

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN DASAR
JENJANG MAGISTER FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

TESIS

**PENGARUH TERAPI OKSIGEN HIPERBARIK TERHADAP
PENURUNAN ANTIBODI ANTI dsDNA, MDA, IL-6 DAN
PENINGKATAN TGF- β PADA MENCIT BALB/c
MODEL NEFRITIS LUPUS**

Untuk Memenuhi Syarat Memperoleh Gelar Magister
Dalam Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar
Jenjang Magister (S2) Fakultas Kedokteran
Universitas Airlangga

Oleh

Indri Dwi Murbani
NIM 011914153002

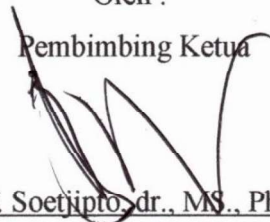
**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN DASAR
JENJANG MAGISTER FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

LEMBAR PENGESAHAN

TESIS INI TELAH DISETUJUI
PADA TANGGAL 30 JUNI 2022

Oleh :

Pembimbing Ketua


Prof. Soetjipto, dr., MS., Ph.D.
NIP. 195002171978031002

Pembimbing Kedua


Dr. Titut Harnanik, dr., M.Kes.
NRP. 13689/P

Mengetahui,

Koordinator Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar Jenjang Magister
Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga


Dr. Arifa Mustika, dr., M.Si.
NIP.197009151998022001

LEMBAR PENETAPAN PANITIA PENGUJI TESIS

Tesis ini telah diuji dan dinilai oleh Panitia Penguji Tesis
Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar Jenjang Magister
Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga
Pada tanggal 30 Juni 2022

PANITIA PENGUJI TESIS

Ketua : Prof. Dr. Bambang Purwanto, dr., M.Kes.

Anggota :

1. Prof. Soetjipto, dr., MS., Ph.D.
2. Dr. Sulistiawati, dr., M.Kes.
3. Dr. Titut Harnanik, dr., M.Kes.
4. Dr. Ni Komang Sri Dewi Untari, dr., M.Kes., Sp.N.

Ditetapkan dengan Surat Keputusan
Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga
Tentang Panitia Penguji

PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Indri Dwi Murbani
NIM : 011914153002
Program Studi : Magister Ilmu Kedokteran Dasar
Judul Tesis :

**“PENGARUH TERAPI OKSIGEN HIPERBARIK TERHADAP
PENURUNAN ANTIBODI ANTI dsDNA, MDA, IL-6, DAN PENINGKATAN
TGF- β dan PADA MENCIT BALB/c MODEL NEFRITIS LUPUS”**

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa Tesis saya ini adalah asli (hasil karya sendiri) bukan merupakan hasil peniruan atau penjiplakan (*Plagiarism*) dari karya orang lain. Tesis ini belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar akademik.

Dalam tesis ini tidak terdapat pendapat yang telah ditulis atau dipublikasikan orang lain, kecuali secara tertulis dengan jelas dicantumkan sebagai acuan dengan disebutkan nama pengarang dan dicantumkan didalam daftar pustaka. Demikian, pernyataan ini dibuat tanpa adanya paksaan dari pihak manapun, apabila pernyataan ini tidak benar, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan norma dan peraturan yang berlaku di Universitas Airlangga.

Surabaya, 14 Juni 2022



Indri Dwi Murbani
NIM 011914153002

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas karunia yang telah dilimpahkan sehingga tesis dengan judul “Pengaruh Terapi Oksigen Hiperbarik Terhadap Penurunan Antibodi Anti dsDNA, MDA, IL-6 dan Peningkatan TGF- β pada Mencit BALB/c Model Nefritis Lupus” dapat terselesaikan.

Tesis ini tidak mungkin dapat terselesaikan tanpa bantuan dari berbagai pihak, sehingga pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada semua pihak yang sudah bersedia membantu saya selama pendidikan dan penyelesaian tesis.

Penghargaan kami sampaikan kepada Prof. Soetjipto, dr., MS., Ph.D., selaku pembimbing ketua, yang selalu meluangkan waktu untuk memberi saran dan bimbingan dengan penuh kesabaran. Terimakasih karena telah membagikan ilmu dan pengetahuan selama penyusunan tesis.

Kepada Dr. Titut Harnanik, dr., M.Kes., selaku pembimbing kedua, saya sampaikan terimakasih atas segala arahan dan bimbingannya. Berkat dukungan beliau sehingga tesis ini dapat terselesaikan.

Terimakasih kami sampaikan kepada Dr. Sulistiawati, dr., M.Kes., selaku Wakil Dekan III dan sekaligus penguji, yang banyak memberi masukan dan ilmu yang berharga. Saran dan bimbingan beliau sangat membantu dalam penyusunan tesis ini.

Kepada Prof. Dr. Bambang Purwanto, dr., M.Kes., sebagai Ketua Minat Kedokteran Penyelaman dan Hiperbarik, sekaligus ketua tim penguji, saya sampaikan terimakasih karena senantiasa memberi masukan dan bimbingan.

Kepada Dr. Ni Komang Sri Dewi Untari, dr., M.Kes., Sp.N., selaku penguji yang mendukung dan membimbing selama penulisan tesis, saya ucapkan terimakasih. Berkat saran yang membangun sehingga tesis ini dapat terselesaikan.

Penghargaan dan terimakasih kami sampaikan kepada Dr. Arifa Mustika, dr., M.Si. selaku KPS Magister Ilmu Kedokteran Dasar Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga yang memberi kesempatan kepada kami untuk mengikuti pendidikan.

Kepada Prof. Dr. Budi Santoso, dr., Sp.OG(K)., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, saya ucapkan terimakasih karena telah memberikan kesempatan untuk belajar dan berkarya.

Terimakasih kami ucapkan kepada seluruh Staf Pengajar Magister Ilmu Kedokteran Dasar Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga atas wawasan keilmuan selama mengikuti pendidikan Magister. Ilmu yang telah diberikan sangat bermanfaat bagi saya dalam menyelesaikan pendidikan dan untuk mengembangkan ilmu kedokteran penyelaman dan hiperbarik.

Terimakasih juga saya sampaikan kepada ayahanda, ibunda serta suami dan kedua anak kami yang telah banyak memberikan bantuan dan doa, dorongan serta semangat. Berkat dukungannya, tesis ini dapat terselesaikan.

Penulis mohon maaf jika ada kesalahan ucapan, tulisan maupun tindakan. Semoga Allah SWT melimpahkan keberkahan kepada semua pihak atas segala amal yang telah diberikan kepada penulis selama penulisan tesis. Amin.

Surabaya, 14 Juni 2022

Penulis

Indri Dwi Murbani

RINGKASAN

Pengaruh Terapi Oksigen Hiperbarik Terhadap Penurunan Antibodi Anti dsDNA, MDA, IL-6 dan peningkatan TGF- β pada mencit BALB/c Model Nefritis Lupus

Indri Dwi Murbani

Nefritis lupus merupakan salah satu manifestasi lupus eritematosus sistemik (LES) yang paling serius. Nefritis lupus ditandai dengan gangguan fungsi ginjal dengan ekspresi sitokin proinflamasi dan glomerulonefritis yang menyebabkan proteinuria. Penyakit ini terjadi pada sekitar 50-60% dari pasien LES. Sekitar 60% pasien LES berkembang menjadi nefritis lupus dan 30% menjadi penyakit ginjal stadium akhir, yang merupakan penyebab utama morbiditas serta mortalitas. Terapi farmakologis hanya mengontrol aktivitas penyakit dan berpotensi menyebabkan risiko toksisitas yang signifikan. Upaya penelitian terus dilakukan untuk mengembangkan obat dengan target imunologis yang relevan, selektif dan efek samping minimal.

Peradangan menyebabkan ginjal menjadi lebih hipoksia pada nefritis lupus. Terapi Oksigen Hiperbarik (OHB) merupakan terapi dengan menghirup oksigen 100% pada tekanan atmosfer yang lebih dari 1 ATA dengan menggunakan *chamber*. Efek primer terapi OHB dengan memperbaiki kondisi hipoksia dengan meningkatkan pengantaran oksigen pada nefritis lupus.

Terapi OHB sebagai alternatif terapi untuk nefritis lupus belum banyak diteliti, terutama tentang pengaruh terapi OHB terhadap MDA, IL-6, TGF- β dan antibodi anti dsDNA pada mencit model nefritis lupus. Penelitian ini bertujuan untuk menilai kadar MDA, IL-6, TGF- β dan antibodi anti dsDNA pada pemberian terapi OHB terhadap mencit model nefritis lupus dengan menggunakan *Mus musculus* BALB/c betina yang diberi injeksi pristane. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat sebagai informasi ilmiah dan referensi untuk penelitian lebih lanjut tentang pengaruh terapi OHB pada nefritis lupus. Hipotesis pada penelitian ini adalah terapi OHB dapat menurunkan kadar antibodi anti dsDNA,

MDA dan IL-6 serta meningkatkan kadar TGF- β pada mencit *Mus musculus* model nefritis lupus.

Kriteria inklusi yang digunakan, yaitu sehat (berbulu putih, bergerak aktif dan tingkah laku normal), mempunyai bobot 25 sampai 30 gram, berusia 8-12 minggu dan tidak pernah dipergunakan sebagai hewan coba pada penelitian lain, dilakukan adaptasi hewan coba selama 7 hari sebelum penelitian. Air untuk minum dan makanan diberikan *ad libitum*. Kriteria eksklusi yang digunakan yaitu jika terdapat penurunan berat badan lebih dari 10% setelah 1 minggu adaptasi di laboratorium atau jika tikus sakit yang ditandai dengan penampakan rambut kusam, rontok, botak, aktivitas kurang atau tidak aktif dan tidak mau makan. Kriteria *drop out* jika mencit mati selama penelitian. Mencit model nefritis lupus diperoleh dengan injeksi pristane secara intraperitoneal, dosis tunggal 0,5 cc atau 0,783 g/mL untuk satu mencit.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan “*randomized post test only control group design*”. Mencit dibagi menjadi 3 kelompok yaitu kelompok 1 terdiri dari 8 sampel adalah kelompok kontrol negatif (kelompok mencit dengan injeksi NS), kelompok 2 terdiri dari 8 sampel dengan pemberian injeksi pristane ke hewan coba secara intraperitoneal, dosis tunggal 0,5 cc atau 0,783 g/mL untuk satu mencit tanpa pemberian terapi OHB sebagai kelompok kontrol positif, kelompok 3 terdiri dari 8 sampel adalah kelompok mencit dengan pemberian injeksi pristane ke hewan coba secara intraperitoneal, dosis tunggal 0,5 cc atau 0,783 g/mL untuk satu mencit diberi terapi OHB adalah kelompok perlakuan.

Terapi OHB diberikan dengan menggunakan “*animal chamber*”. Hewan coba pada kelompok 3 menghisap O₂ 100% pada tekanan 2,4 ATA 3 kali 30 menit dengan interval 2 kali 5 menit menghirup udara biasa (tiap sesi) selama 10 hari berturut-turut. Hewan coba diambil darah vena perifer setelah 30 menit pemberian perlakuan sesi terakhir melalui ekor kemudian dilakukan pemeriksaan ELISA untuk mengetahui kadar MDA, IL-6, TGF- β dan antibodi anti dsDNA kemudian dibandingkan kadarnya dari setiap kelompok. Kadar MDA, IL-6, TGF- β dan antibodi anti dsDNA setelah terapi HBO diukur dengan ELISA. Data yang diperoleh kemudian dianalisis secara statistik dengan menggunakan perangkat

lunak SPSS versi 24.0. Uji normalitas dengan uji *Kolmogorov-Smirnov*, dilanjutkan dengan uji *Lavene* untuk menguji homogenitas variasi data antar kelompok. Apabila data berdistribusi normal dan homogen, maka akan diteruskan dengan uji ANOVA dan LSD. Nilai $p < 0,05$ menunjukkan jika nilai statistik signifikan.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa rerata berat badan mencit pada penelitian tidak terdapat perubahan yang bermakna. Hasil pemeriksaan urin mencit yang dilakukan pada hari ke 60, mencit kelompok kontrol negatif yang mendapat injeksi NS menunjukkan hasil negatif, sedangkan pada mencit kelompok kontrol positif dan perlakuan yang mendapat injeksi pristane menunjukkan hasil positif dengan rata-rata $\geq +3$ ($\geq 500\text{mg/dl}$). Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Yan *et al.* tahun 2020, Li *et al.* tahun 2019, Bonomini *et al.* tahun 2019 dan Lin *et al.* tahun 2017 bahwa mencit model nefritis lupus sudah terbentuk 2 bulan setelah injeksi pristane. Nefritis lupus ditandai dengan terjadinya proteinuria (Li *et al.*, 2019; Almaani, Meara dan Rovin, 2017).

Rerata kadar antibodi anti dsDNA mencit model nefritis lupus yang mendapatkan terapi OHB pada kelompok perlakuan menurun dan berbeda secara bermakna ($p < 0,05$) jika dibandingkan dengan rerata antibodi anti dsDNA mencit model nefritis yang tidak mendapat terapi OHB pada kelompok kontrol positif. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Benkö *et al.* tahun 2019 yang menunjukkan bahwa terapi OHB dapat menurunkan antibodi anti dsDNA. Rerata kadar MDA kelompok perlakuan menurun dan berbeda secara bermakna ($p < 0,05$) jika dibandingkan dengan rerata MDA kelompok kontrol positif. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Uzun tahun 2019 yang membuktikan bahwa terapi OHB dapat mencegah peningkatan MDA. Rerata kadar IL-6 kelompok perlakuan menurun dan berbeda secara bermakna ($p < 0,05$) jika dibandingkan dengan rerata IL-6 kontrol positif. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Memar tahun 2019 yang menunjukkan bahwa terapi OHB memberikan efek seluler berupa penekanan terhadap sitokin proinflamasi seperti IL-6. Rerata kadar TGF- β kelompok perlakuan meningkat dan berbeda secara bermakna ($p > 0,05$) jika dibandingkan kontrol positif. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Song *et al.* tahun 2019 yang menunjukkan penggunaan terapi OHB dapat meningkatkan kadar TGF- β .

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian injeksi pristane pada hewan coba menyebabkan nefritis lupus yang ditandai dengan proteinuria. Proteinuria pada mencit model nefritis lupus sudah dapat terdeteksi pada 2 bulan setelah injeksi pristane. Pemberian injeksi pristane meningkatkan kadar antibodi anti dsDNA, MDA, IL-6 pada hewan model, tetapi menurunkan kadar TGF- β . Terapi OHB selama 10 kali pada hewan coba menurunkan antibodi anti dsDNA, MDA, IL-6 dan meningkatkan kadar TGF- β . Antibodi anti dsDNA merupakan *biomarker* spesifik untuk nefritis lupus (Rekvig, 2018), selain itu antibodi anti dsDNA berkontribusi terhadap kerusakan organ (Moulton *et al.*, 2017). IL-6 merupakan sitokin proinflamasi yang memfasilitasi respon adaptif Th2 dan Th17, aktivasi sel B serta produksi antibodi salah satunya anti dsDNA. TGF- β merupakan sitokin anti inflamasi yang terlibat dalam penyembuhan cedera jaringan pada nefritis lupus (Arriens *et al.*, 2017). Terjadi stres oksidatif pada nefritis lupus yang menyebabkan peroksidasi lipid membran sel sehingga terbentuk MDA (Lightfoot, Blanco dan Kaplan, 2017). Hasil ini menunjukkan bahwa pemberian terapi OHB dapat menurunkan aktivitas nefritis lupus yang ditandai dengan penurunan antibodi anti dsDNA, MDA, IL-6 dan peningkatan TGF- β , namun masih diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengevaluasi efektivitas penggunaan jangka panjang terapi OHB terhadap aktivitas nefritis lupus dengan *marker* yang lain.

SUMMARY

Effect of Hyperbaric Oxygen Therapy to Decreased Antibody Anti dsDNA, MDA, IL-6 and Increased TGF- β in Mice BALB/c Lupus Nephritis Model

Indri Dwi Murbani

Lupus nephritis is one of the most serious manifestations of systemic lupus erythematosus (SLE). Lupus nephritis is characterized by impaired renal function with proinflammatory cytokine expression and glomerulonephritis that causes proteinuria. It occurs in approximately 50-60% of SLE patients. Approximately 60% of SLE patients develop lupus nephritis and 30% develop end-stage renal disease, which is a major cause of morbidity and mortality. Pharmacological therapy is only to control disease activity and potentially pose a significant risk of toxicity. Research efforts are continuously being carried out to develop drugs with relevant immunological targets, selective and minimal side effects.

Inflammation causes the kidneys to become more hypoxic in lupus nephritis. Hyperbaric Oxygen (HBO) therapy is a therapy by inhaling 100% oxygen at atmospheric pressure more than 1 ATA using a chamber. The primary effect of HBO therapy is to improve hypoxic conditions by increasing oxygen delivery in lupus nephritis.

Hyperbaric Oxygen therapy as an alternative therapy for lupus nephritis has not been widely studied, especially research on the effect of HBO therapy on MDA, IL-6, TGF- β and anti dsDNA antibodies in mice models of lupus nephritis. This study aims to assess the levels of MDA, IL-6, TGF- and anti-dsDNA antibodies in the administration of HBO therapy to mice with lupus nephritis model using female *Mus musculus* BALB/c given pristane injection. This research is expected to provide benefits as scientific information and a reference for further research on the effect of HBO therapy on lupus nephritis. The hypothesis in this study is that HBO therapy can reduce levels of anti-dsDNA antibodies, MDA and IL-6 and increase levels of TGF- β in *Mus musculus* mice model of lupus nephritis.

The inclusion criteria were used healthy (white fur, active movement and normal behavior), weighed 25 to 30 grams, aged 8-12 weeks and had never been used as experimental animals in other studies. Experimental animals were adapted for 7 days before the study. Water for drinking and food is provided *ad libitum*. The exclusion criteria if there was a weight loss of more than 10% after 1 week of adaptation in the laboratory or if the rat was sick which was characterized by the appearance of dull hair, loss of hair, baldness, lack of activity or inactivity and unwillingness to eat. Drop out criteria if mice die during the study. Lupus nephritis model mice were obtained by intraperitoneal injection of pristane, a single dose of 0.5 cc or 0.783 g/mL for one mice.

This research is an experimental study with "*randomized post test only control group design*". The mice were divided into 3 groups, namely group 1 consisting of 8 samples was a negative control group (the group of mice with NS injection), group 2 consisted of 8 samples given intraperitoneal injection of pristane to experimental animals, a single dose of 0,5 cc or 0.783 g/mL for one mice without HBO therapy as a positive control group, group 3 consisting of 8 samples was a group of mice with intraperitoneal injection of pristane to experimental animals, a single dose of 0.5 cc or 0.783 g/mL for one mice and given HBO therapy is the treatment group.

Hyperbaric Oxygen therapy is given using an "animal chamber". Experimental animals in group 3 were given pressure of 2.4 ATA and inhaled 100% oxygen for 3 times 30 minutes with 2 times 5 minutes interval by breathing normal air (each session) for 10 consecutive days. Experimental animals were taken peripheral venous blood after 30 minutes of treatment in the last session through the tail and then performed ELISA examination to determine the levels of MDA, IL-6, TGF- β and anti dsDNA antibodies then compared the levels from each group. Levels of MDA, IL-6, TGF- β and anti dsDNA antibodies after HBO therapy were measured by ELISA. The data then analyzed statistically using SPSS software version 24.0. Normality test with *Kolmogorov-Smirnov test*, followed by *Lavene test* to test the homogeneity of data variation between groups. If the data is normally distributed and homogeneous, it will be continued with ANOVA and LSD tests. *p* value <0.05 indicates if the statistical value is significant.

The results showed that there was no significant change in the average body weight of the mice in the study. The results of the urine examination of mice which were carried out on day 60, mice in the negative control group that received NS injection showed negative results, while in the positive control group mice and the treatment which received pristane injection showed positive results with an average of +3 ($\geq 500\text{mg/dl}$). This is in accordance with previous research conducted by Yan *et al.* in 2020, Li *et al.* in 2019, Bonomini *et al.* in 2019 and Lin *et al.* in 2017 that lupus nephritis model mice were formed 2 months after pristane injection. Lupus nephritis is characterized by the occurrence of proteinuria (Li *et al.*, 2019; Almaani, Meara and Rovin, 2017).

The mean levels of anti dsDNA antibodies in lupus nephritis model mice that received HBO therapy in the treatment group decreased and differed significantly ($p<0.05$) when compared to the mean anti dsDNA antibody in nephrotic models of mice that did not receive HBO therapy in the positive control group. This is in line with the research conducted by Benkő *et al.* in 2019 which showed that HBO therapy can reduce anti-dsDNA antibodies. The mean MDA levels in the treatment group decreased and differed significantly ($p<0.05$) when compared to the mean MDA of the positive control group. This is in line with the research conducted by Uzun in 2019 which proved that HBO therapy can decrease MDA level. The mean level of IL-6 in the treatment group decreased and was significantly different ($p<0.05$) when compared to the mean IL-6 in the positive control group. This is in line with the research conducted by Memar *et al.* in 2019 which showed that HBO therapy had a cellular effect in the form of suppression of proinflammatory cytokines such as IL-6. The mean TGF- β level in the treatment group decreased and was significantly different ($p<0.05$) when compared to the TGF- β in the positive control group. This is in line with the research conducted by Song *et al.* in 2019 which showed the use of HBO therapy can increase TGF- β level.

The results of this study indicate that administration of pristane injection in experimental animals causes lupus nephritis which is characterized by proteinuria. Proteinuria in lupus nephritis model mice was detected 2 months after pristane injection. Administration of pristane injection increased levels of anti dsDNA antibodies, MDA, IL-6 in animal models, but decreased levels of TGF- β . HBO

therapy for 10 times in experimental animals decreased anti-dsDNA antibodies, MDA, IL-6 and increased TGF- β levels. Anti-dsDNA antibodies are specific biomarkers for lupus nephritis (Rekvig, 2018), in addition, anti-dsDNA antibodies contribute to organ damage (Moulton *et al.*, 2017). IL-6 is a proinflammatory cytokine that facilitates adaptive Th2 and Th17 responses, B cell activation and antibody production, one of which is anti-dsDNA. TGF- β is an anti-inflammatory cytokine that is involved in healing tissue injury in lupus nephritis (Arriens *et al.*, 2017). Oxidative stress occurs in lupus nephritis which causes cell membrane lipid peroxidation to form MDA (Lightfoot, Blanco and Kaplan, 2017). These results indicate that administration of HBO therapy can reduce lupus nephritis activity which is characterized by a decrease in anti-dsDNA antibodies, MDA, IL-6 and an increase in TGF- β , but further research is needed to evaluate the effectiveness of long-term use of HBO therapy on lupus nephritis activity with another marker.

ABSTRAK

Latar belakang: Nefritis lupus ditandai dengan gangguan fungsi ginjal dengan ekspresi sitokin proinflamasi. Terapi farmakologis memiliki risiko toksisitas. Terapi OHB meningkatkan sirkulasi mikro, memfasilitasi difusi oksigen dari pembuluh darah kapiler ke jaringan. Terapi OHB sebagai alternatif terapi untuk nefritis lupus belum banyak diteliti.

Tujuan: Penelitian ini bertujuan untuk menilai kadar MDA, IL-6, TGF- β dan antibodi anti dsDNA setelah terapi OHB pada mencit model nefritis lupus dengan menggunakan *Mus musculus* BALB/c betina yang diberi injeksi pristane. Hipotesis pada penelitian ini adalah terapi OHB dapat menurunkan kadar MDA, IL-6 dan antibodi anti dsDNA serta meningkatkan TGF- β pada mencit model nefritis lupus.

Metode: Penelitian eksperimental ini menggunakan “*randomized post test only control group design*”. Mencit dibagi menjadi 3 kelompok ($n = 8$, tiap kelompok), kelompok 1 adalah kontrol negatif (injeksi NS), kelompok 2 sebagai kontrol positif (injeksi pristane), kelompok 3 adalah perlakuan (injeksi pristane dan terapi OHB). Terapi OHB menggunakan “*animal chamber*” dengan menghisap O_2 100% pada tekanan 2,4 ATA 3 kali 30 menit dengan interval 2 kali 5 menit menghirup udara biasa (tiap sesi) selama 10 hari berturut-turut. Kadar kadar MDA, IL-6, TGF- β dan antibodi anti dsDNA setelah terapi OHB diperiksa dengan ELISA. Data dianalisis statistik dengan SPSS versi 24.0.

Hasil: Rerata kadar antibodi anti dsDNA, MDA dan IL-6 pada kelompok perlakuan lebih rendah dari kontrol positif dan berbeda bermakna ($p < 0,05$). Kadar TGF- β kelompok perlakuan lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol positif dan berbeda bermakna ($p < 0,05$).

Kesimpulan : Terapi OHB dapat menurunkan kadar antibodi anti dsDNA, MDA dan IL-6 serta meningkatkan TGF- β mencit model nefritis lupus yang diberi terapi OHB.

Kata kunci : terapi OHB, nefritis lupus, pristane.

ABSTRACT

Background: Lupus nephritis is characterized by impaired kidney function with proinflammatory cytokine expression. Recent therapy has a risk of toxicity. HBO therapy can improve microcirculation, facilitate the diffusion of oxygen from the capillaries to the tissues. HBO therapy as an alternative therapy for lupus nephritis has not been widely studied.

Objective: This study aimed to examine the levels of MDA, IL-6, TGF- β and anti-dsDNA antibodies after HBO therapy to lupus nephritis model using female BALB/c with pristane injection. The hypothesis is that HBO therapy can reduce MDA, IL-6 and anti-dsDNA antibodies and increase TGF- β in mice model of lupus nephritis.

Methods: This experimental study used "*randomized post test only control group design*". Mice were divided into 3 groups (n = 8 / group), group 1 was a negative control group (NS injection), group 2 was a positive control (pristane injection), group 3 was a treatment group (pristane injection and given HBO therapy). HBO therapy using "animal chamber" were given pressure of 2.4 ATA and inhaled 100% oxygen for 3 times 30 minutes with 2 times 5 minutes interval by breathing normal air (each session) for 10 consecutive days. The levels of MDA, IL-6, TGF- β and anti dsDNA antibodies were examined by ELISA and then analyzed with SPSS version 24.0.

Results: The mean levels of anti-dsDNA antibodies, MDA and IL-6 in the treatment group were lower than the positive controls and significantly different ($p < 0.05$). The levels of TGF- β in the treatment were higher than the positive controls and significantly different ($p < 0.05$).

Conclusion: HBO therapy can reduce levels of anti dsDNA antibodies, MDA and IL-6 and increase TGF- β in mice with lupus nephritis model given HBO therapy.

Keywords: HBO therapy, lupus nephritis, pristane.

DAFTAR ISI

Halaman Sampul Depan	i
Halaman Sampul Dalam	ii
Halaman Prasyarat Gelar.....	iii
Halaman Lembar Persetujuan	iv
Halaman Penetapan Panitia Penguji Tesis	v
Halaman Pernyataan.....	vi
Halaman Ucapan Terimakasih.....	vii
Halaman Ringkasan.....	ix
Halaman <i>Summary</i>	xiii
Halaman Abstrak.....	xvii
Halaman <i>Abstract</i>	xviii
Daftar Isi	xix
Daftar Tabel	xxiii
Daftar Gambar.....	xxiv
Daftar Lampiran.....	xxv
Daftar Singkatan dan Istilah.....	xxvi

BAB I PENDAHULUAN

1.1	Latar Belakang	1
1.2	Rumusan Masalah	5
1.3	Tujuan Penelitian	5
1.3.1	Tujuan umum	5
1.3.2	Tujuan khusus	5

1.4	Manfaat Penelitian	6
1.4.1	Manfaat teoritis	6
1.4.2	Manfaat praktis	6

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1	Nefritis Lupus	7
2.1.1	Definisi	7
2.1.2	Epidemiologi.....	7
2.1.3	Etiologi	8
2.1.4	Patogenesis	10
2.1.5	Manifestasi klinis	14
2.1.6	Diagnosis	17
2.2	Peran MDA pada Nefritis Lupus	20
2.3	Peran IL-6 pada Nefritis Lupus.....	21
2.4	Peran TGF- β pada Nefritis Lupus.....	23
2.5	Peran Antibodi Anti dsDNA pada Nefritis Lupus.....	24
2.6	Mencit Model Nefritis Lupus.....	26
2.7	Terapi Oksigen Hiperbarik (OHB) atau <i>Hyperbaric Oxygen</i> (HBO).....	29
2.6.1	Definisi	29
2.6.2	Metode administrasi.....	29
2.6.3	Mekanisme kerja.....	30
2.6.4	Indikasi	34
2.6.5	Kontraindikasi.....	35
2.6.6	Komplikasi/efek toksik	35
2.8	Terapi OHB dan Nefritis Lupus.....	35

BAB III KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1	Kerangka Konseptual	43
3.2	Penjelasan Kerangka Konseptual.....	44
3.3	Hipotesis Penelitian	45

BAB IV METODE PENELITIAN

4.1	Desain Penelitian	46
4.2	Populasi, Sampel, Besar Sampel dan Teknik Pengambilan Sampel	48
4.2.1	Populasi	48
4.2.2	Sampel.....	48
4.2.3	Besar sampel	50
4.3	Variabel Penelitian dan Definisi Operasional Variabel	51
4.3.1	Variabel penelitian.....	51
4.3.2	Definisi operasional.....	52
4.4	Lokasi dan Waktu Penelitian	54
4.4.1	Lokasi penelitian.....	54
4.4.2	Waktu penelitian.....	54
4.5	Bahan dan Instrumen Penelitian	55
4.5.1	Bahan penelitian.....	55
4.5.2	Instrumen penelitian.....	56
4.6	Prosedur Pengambilan dan Pengumpulan Data.....	56
4.6.1	Persiapan hewan coba model nefritis lupus.....	56
4.6.2	Membuat mencit model nefritis lupus.....	56
4.6.3	Perlakuan terapi OHB.....	57
4.6.4	Prosedur pengambilan sampel.....	58
4.6.5	Pembuatan sediaan ELISA dari serum hewan model nefritis lupus.....	59

4.6.6	Prosedur pengumpulan data.....	62
4.7	Pengolahan dan Analisis Data	63
4.8	Etik Penelitian.....	63
4.9	Kerangka Operasional Penelitian	64

BAB V HASIL DAN ANALISIS HASIL PENELITIAN

5.1	Karakteristik Subyek Penelitian.....	65
5.1.1	Berat badan mencit model.....	65
5.1.2	Hasil pemeriksaan urin mencit.....	66
5.2	Hasil Pemeriksaan ELISA.....	67
5.2.1	Kadar MDA.....	68
5.2.2	Kadar IL-6.....	69
5.2.3	Kadar TGF- β	69
5.2.4	Kadar antibodi anti dsDNA.....	70

BAB VI PEMBAHASAN

6.1	Karakteristik Mencit Model Nefritis Lupus.....	73
6.2	Efek Pemberian Terapi Oksigen Hiperbarik terhadap Kadar MDA.....	74
6.3	Efek Pemberian Terapi Oksigen Hiperbarik terhadap Kadar IL-6.....	76
6.4	Efek Pemberian Terapi Oksigen Hiperbarik terhadap Kadar TGF- β	78
6.5	Efek Pemberian Terapi Oksigen Hiperbarik terhadap Kadar Antibodi Anti dsDNA.....	80

BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN

7.1	Kesimpulan.....	85
7.2	Saran.....	85

DAFTAR PUSTAKA.....	86
----------------------------	-----------

LAMPIRAN.....	92
----------------------	-----------

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Prevalensi manifestasi klinik nefritis lupus.....	16
Tabel 2.2 Kriteria klasifikasi LES sejak tahun 1982.....	19
Tabel 2.3 Sensitivitas dan spesifisitas <i>biomarker</i> nefritis lupus.....	25
Tabel 2.4 Mencit model lupus.....	28
Tabel 2.5 Efek tekanan terhadap kadar O ₂	32
Tabel 2.6 Indikasi terapi OHB.....	34
Tabel 2.7 Kontraindikasi relatif.....	35
Tabel 2.8 Kontraindikasi absolut.....	35
Tabel 4.1 Jadwal penelitian.....	55
Tabel 5.1 Berat badan awal, setelah injeksi dan akhir mencit model.....	65
Tabel 5.2 Hasil pemeriksaan urinalisis.....	67
Tabel 5.3 Perbedaan rata-rata kadar MDA.....	68
Tabel 5.4 Perbedaan rata-rata kadar IL-6.....	69
Tabel 5.5 Perbedaan rata-rata kadar TGF- β	70
Tabel 5.6 Perbedaan rata-rata kadar antibodi anti dsDNA.....	71

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Patogenesis nefritis lupus.....	12
Gambar 2.2 Peran sel bawaan dalam patogenesis LES.....	24
Gambar 2.3 Pengantaran oksigen.....	33
Gambar 2.4 Jalur stres oksidatif pada LES.....	38
Gambar 3.1 Kerangka Konseptual.....	43
Gambar 4.1 Rancangan penelitian.....	46
Gambar 4.2 <i>Animal chamber</i>	57
Gambar 4.3 Satu sesi terapi OHB.....	58
Gambar 4.4 Pembuatan larutan standar.....	60
Gambar 4.5 Kerangka operasional penelitian.....	64
Gambar 5.1 Rata-rata berat badan mencit model.....	66
Gambar 5.2 Rata-rata kadar antibodi anti dsDNA, MDA, IL-6 dan TGF- β	72

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1 Sertifikat Kelaikan Etik.....	92
Lampiran 2 Foto Pelaksanaan Penelitian.....	93
Lampiran 3 Analisis Statistik Hasil Pemeriksaan Berat Badan Mencit.....	94
Lampiran 4 Hasil Pemeriksaan Urin Mencit.....	96
Lampiran 5 Analisis Statistik Hasil Pemeriksaan ELISA.....	97
Lampiran 6 Modul ELISA <i>Kit</i>	103

DAFTAR SINGKATAN DAN ISTILAH

ACL	: <i>acute cutaneous lupus</i>
ACR	: <i>American College of Rheumatology</i>
Ag	: antigen
ANA	: <i>anti-nuclear antibodies</i>
Anti-sm	: anti Smith
AQP-1	: <i>aquaporin-1</i>
ARA	: <i>American Rheumatism Association</i>
ATA	: <i>atmosphere absolute</i>
ATP	: <i>adenosine-triphosphate</i>
BAFF	: <i>B cell activator factor</i>
BILAG	: <i>British isles lupus assessment group</i>
BlyS	: <i>B lymphocyte stimulator</i>
C1q	: <i>component 1q</i>
CAT	: catalase
CD	: <i>cluster of differentiation</i>
cGAS	: <i>cyclic GMP-AMP synthase</i>
CN	: <i>copy number</i>
CRP	: <i>C-reactive protein</i>
DAMPs	: <i>damage-associated molecular patterns</i>
DC	: <i>dendritic cell</i>
DL	: <i>discoid lupus</i>
DMPA	: <i>depot medroxyprogesterone acetate</i>
DNase	: <i>deoxyribonuclease</i>
dsDNA	: <i>double-stranded deoxyribonucleic acid</i>
ECHM	: <i>European Committee of Hyperbaric Medicine</i>
ECLAM	: <i>European consensus lupus activity measurement</i>
ECM	: <i>extracellular matrix</i>
ELISA	: <i>enzyme-linked immnosorbent assay</i>
EM	: <i>electron microscopy</i>
ENA	: <i>extractable nuclear antigen</i>

EPCs	: <i>endothelial progenitor cells</i>
ESR	: <i>erythrocyte sedimentation rate</i>
ERK	: <i>extra cellular signal-regulated kinase</i>
EULAR	: <i>European League Against Rheumatism</i>
EXT1/EXT2	: <i>exostosin1/ exostosin2</i>
FCGR	: <i>Fc gamma receptor</i>
FOXO3a	: <i>forkhead box O3</i>
GBM	: <i>glomerular basement membrane</i>
GC	: <i>germinal centre</i>
GPx	: <i>glutathione peroxidase</i>
H ₂ O ₂	: <i>hidrogen peroksida</i>
H3K27	: <i>modifikasi epigenetik terhadap protein histon H3 dari DNA</i>
HIF	: <i>hypoxia-inducible factor</i>
HLA	: <i>human leukocyte antigen</i>
HMGB1	: <i>high mobility group box 1</i>
HO-1	: <i>heme oxygenase-1</i>
HRP	: <i>horseradish peroxide</i>
HSP	: <i>heat shock protein</i>
IF	: <i>immunofluorescence</i>
IFN1	: <i>type I interferon</i>
Ig	: <i>immunoglobulin</i>
IL	: <i>interleukin</i>
IRF	: <i>IFN regulatory factor</i>
ISGs	: <i>interferon-stimulated genes</i>
ISN	: <i>International Society of Nephrology</i>
ISN/RPS	: <i>International Society of Neurology/Renal Pathology Society</i>
ITGAM	: <i>integrin alpha M</i>
Keap1	: <i>Kelch-like erythroid cell derived protein</i>
LAKESLA	: <i>Lembaga Kesehatan Kelautan</i>
LL-37	: <i>antimicrobial peptide</i>
LM	: <i>light microscopy</i>
LN	: <i>lupus nephritis</i>

lpr	: <i>lymphoproliferation</i>
MAPK	: <i>mitogen activated protein kinase</i>
MDA	: <i>malondialdehyde</i>
MDA-5	: <i>melanoma differentiation-associated protein 5</i>
MHC	: <i>major histocompatibility complex</i>
MPO	: <i>myeloperoxidase</i>
MRL	: <i>Murphy Roths Large</i>
Myd88	: <i>myeloid differentiation primary response 88</i>
MZM	: <i>makrofag zona marginal</i>
NAD ⁺	: <i>nicotinamide adenine dinucleotide</i>
NADH	: <i>nicotinamide adenine dinucleotide hydrogen</i>
NADPH-	: <i>nicotinamide adenine dinucleotide phosphate</i>
NE	: <i>neutrophil elastase</i>
NETs	: <i>neutrophil extracellular traps</i>
NF- κ B	: <i>nuclear factor kappa beta</i>
NIH	: <i>National Institutes of Health</i>
NIK	: <i>NF-κB-inducing kinase</i>
NO	: <i>nitric oxide</i>
Nrf2	: <i>nuclear factor erythroid 2-related factor 2</i>
NS	: <i>normal saline</i>
NZW	: <i>New Zealand White mice</i>
O ₂	: <i>oksigen</i>
OFR	: <i>oxygen free radicals</i>
OHB	: <i>oksigen hiperbarik</i>
PAD4	: <i>enzim protein arginine deiminase 4</i>
pDCs	: <i>plasmacytoid Dendritic Cells</i>
PGA	: <i>physician global assessment</i>
PR3	: <i>proteinase 3</i>
RAGE	: <i>receptor for advanced glycation endproducts</i>
RIG1	: <i>retinoic acid inducible gene 1</i>
RNS	: <i>reactive nitrogen species</i>
ROS	: <i>reactive oxygen species</i>

RPS	: <i>Renal Pathology Society</i>
RSKI	: Rumah Sakit Khusus Infeksi
RUBT	: ruang udara bertekanan tinggi
SCLE	: <i>subacute cutaneous lupus erythematosus</i>
SD	: <i>standard deviation</i>
sIL-2R	: <i>soluble IL-2 receptor</i>
SIRT1	: <i>sirtuin 1</i>
SLAM	: <i>systemic lupus activity measure</i>
SLE/LES	: <i>systemic lupus erythematosus/lupus eritematosus sistemik</i>
SLEDAI	: <i>systemic lupus erythematosus disease activity indeks</i>
SLICC	: <i>systemic lupus international collaborating clinics</i>
SNP	: <i>single nucleotide polymorphism</i>
SOD	: <i>superoxide dismutase</i>
SPSS	: <i>statistical package for the social sciences</i>
STING	: <i>stimulator of interferon genes</i>
TcPO2	: <i>transcutaneous oxygen tension</i>
TGF	: <i>tumor growth factor</i>
Th	: <i>T helper</i>
TLR	: <i>toll-like receptor</i>
TMPD	: <i>tetramethylpentadecane</i>
TNF	: <i>tumor necrosis factor</i>
Treg	: <i>T regulator</i>
UHMS	: <i>Undersea and Hyperbaric Medical Society</i>
UV-B	: ultraviolet B
VEGF	: <i>vascular endothelial growth factor</i>