

DISERTASI

PERAN INTERLEUKIN (IL)-12 PADA PENGALIHAN RESPONS IMUN TH2 KE TH1 PADA DERMATITIS ATOPIK

Studi *in vitro* paparan tungau debu rumah (TDR) dan IL-12
pada kultur limfosit penderita dermatitis atopik

Dis

K 11/04

KOR

P



411.1
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SUKABAYA

HARIJONO KARIOSENTONO

PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2003

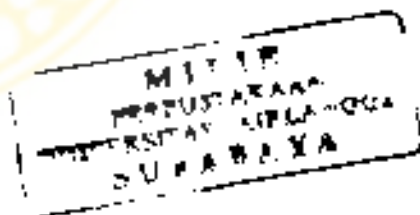
**PERAN INTERLEUKIN (IL)-12 PADA PENGALIHAN RESPONS IMUN
TH2 KE TH1 PADA DERMATITIS ATOPIK**

**Studi *in vitro* paparan tungau debu rumah (TDR) dan IL-12
pada kultur limfosit penderita dermatitis atopik**

Drs
K 11/0A
K-DR
P

DISERTASI

Untuk memperoleh Gelar Doktor
dalam Program Studi Ilmu Kedokteran
Pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga
Telah dipertahankan di hadapan
Panitia Ujian Doktor Terbuka
Pada hari : Selasa
Tanggal : 22 April 2003
Pukul 10.00 WIB



Oleh :

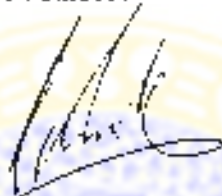
HARIJONO KARIOSENTONO

NIM. 099712377 D

Lembar Pengesahan

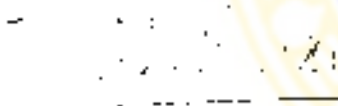
DISERTASI INI TELAH DISETUJUI
TANGGAL : 3 JUNI 2003

Promotor



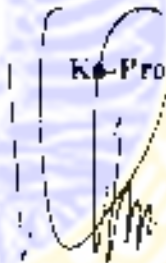
Prof. Dr. Putu Gede Konthen, dr., SpPD KAL

Ko-Promotor I



Dr. Soedigdo Adi, dr., SpKK

Ko-Promotor II



Prof. Dr. Suhartono Taat Putra, dr., M.S.

Telah dinilai pada ujian Doktor Tahap II (Terbuka)
tanggal 22 April 2005

Panitia Ujian Tahap II (Terbuka)

Ketua : Prof. Dr. H. Moh. Amin, dr., SpP

Anggota : 1. Prof. Dr. Putu Gede Konthen, dr., SpPD KAI,

2. Dr. Soedigdo Adi, dr., SpKK

3. Prof. Dr. Suhartono Taat Putra, dr., M.S.

4. Prof. Dr. JB. Suparyatmo, dr., SpPK(K)

5. Prof. Jusuf Barakbah, dr., SpKK

6. Prof. Dr. Umar Kasan, dr., SpBS

7. Dr. Istiati, drg, SU

8. Dr. Soebianto Martosudarmo, dr., SpA

9. Prof. Dr. Indropo Agusni, dr., SpKK

*karya ini saya persembahkan kepada:
almartum bapak dan mimik yang tercinta.,
istri, anak-anakku dan cucuku yang aku sayangi.*



Dan kamu tidak dapat menghendaki, kecuali jika Allah menghendaki, Tuhan semesta alam (Q.S. Al-Takwîr, 29)

*Sesungguhnya disamping kesulitan itu ada kemudahan.
:Maka apabila engkau sudah selesai, kerjakanlah pekerjaan lain. Dan hanya kepada Tuhanmu (sajalah) kamu berharap (Q.S. Alam Nasyrah, 6-8)*

UCAPAN TERIMA KASIH

Segala puji dan syukur saya panjatkan kehadirat Allah Yang Maha Pemurah lagi Maha Penyayang, karena dengan perkenan-Nya dan atas segala limpahan taufik dan hidayah-Nya, saya mendapat kekuatan dan petunjuk untuk menyelesaikan penulisan dan penulisan disertasi ini. Banyak tantangan dan hambatan saya alami dalam menyelesaikan disertasi ini, namun berkat bantuan, bimbingan, saran serta dorongan dari berbagai pihak, tantangan dan hambatan tersebut dapat diatasi. Untuk itu dengan segala kerendahan hati, perkenankan saya mengemukakan terimakasih yang tulus dan tak terhingga kepada yang terhormat:

Prof. Dr. Putu Gede Konthen, dr., SpPD., KAI, atas kesediaan beliau menjadi Promotor, ditengah kesibukan yang begitu padat, beliau masih berkenan meluangkan waktu untuk membimbing, memberi petunjuk dan dengan penuh perhatian serta kesabaran mendorong saya untuk dapat segera menyelesaikan disertasi ini. Beliau pula yang menumbuhkan rasa percaya diri dan semangat, dalam menggeluti perkembangan ilmu pengetahuan yang saya tekuni selama pendidikan di Program Pasca Sarjana S3 Universitas Airlangga sehingga selesainya penulisan disertasi ini.

Dr. Sudigdo Adi, dr., SpKK atas kesediaan beliau sebagai Ko-Promotor I, walaupun dengan jarak yang jauh dan Bandung, namun beliau selalu dengan penuh perhatian memberi bimbingan, inspirasi dan mengembangkan wawasan saya terutama dibidang penyakit kulit, khususnya dalam bidang Imuno-dermatologi.

Prof. Dr. Suhartono Taat Putra, dr., M.S. atas kesediaannya sebagai sebagai Ko Promotor II, disela sela kesibukan beliau yang padat, masih sempat meluangkan waktu untuk memberi petunjuk, bimbingan untuk memecahkan masalah yang timbul serta memberi arah dan cara membahas dalam penyelesaian penelitian disertasi ini.

Pada kesempatan ini perkenankan saya menyampaikan rasa terimakasih yang sebesarnya kepada

Rektor Universitas Airlangga Prof. Dr. Med Puruhito, dr., SpBJP dan mantan Rektor Prof. H. Soedarto, dr.,DTM&H, PhD yang telah menerima dan memberi kesempatan kepada saya untuk dapat mengikuti program pendidikan doktor di Program Pascasarjana Universitas Airlangga sehingga saya dapat menyelesaikan program doktor.

Direktur Program Pascasarjana Universitas Airlangga, Prof. Dr. Muhammad Amin, dr., SpP (K) dan mantan Direktur Prof. Dr. Soedjono Tirtowidardjo, dr., Sp.THT beserta seluruh staf pimpinan, atas kesempatan yang diberikan kepada saya menjadi mahasiswa program doktor, sampai selesai.

Prof. Dr. Julati Hood Alsagaff, dr., SpPA, FIAC, Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran S3 Pascasarjana Universitas Airlangga, atas segala perhatian dan dukungannya dalam membantu memperlancar proses akademik selama mengikuti pendidikan program doktor di Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

Rektor Universitas Sebelas Maret Surakarta Dr. M. Syamsul Hadi, dr., SpS, dan mantan rektor Prof. Harris Moedjiman, MSc, PhD yang telah membenkan ijin dan kesempatan serta bantuan kepada saya untuk mengikuti pendidikan program pascasarjana S3 Universitas Airlangga Surabaya sehingga dapat menyelesaikan program doktor ini.

Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta Dr. A.A. Soebianto, dr., M.S. serta mantan dekan Admad: Soeroso, dr., SpM., MARS yang telah

memberi ijin dan kesempatan serta dorongan untuk mengikuti pendidikan program doktor di Universitas Airlangga hingga selesai

Direktur RSUD. Dr Moewardi Surakarta. H Sarjana, dr., MMR serta mantan direktur Mohammad Soedjoko. dr , MMR atas ijin dan kesempatan yang diberikan untuk mengikuti Program Pascasarjana S3 di Universitas Airlangga, serta ijin menggunakan fasilitas rumah sakit dalam rangka melakukan penelitian disertasi.

Ucapan terimakasih yang sedalamnya juga saya sampaikan kepada staf pengajar Program Pascasarjana Universitas Airlangga pada semester I hingga III tahun 1997/1998 yaitu Prof. H Bambang Rahmo Setokoesoemo. dr . Prof. Dr. Josep Glinka, SVD., Prof. Dr Koento Wibisono Siswomhardjo. Prof. Eddy Pranowo. dr.MPH . Prof Purnomo Suryohusodo. dr . Prof. Dr. Nour Rachman. dr (Alm), Prof.Dr. R. Moeliono Notosoedirdjo. dr . SpKJ.MPH., Prof. Dr. Putno Soeparto, dr.,SpA(K), Prof. Dr. Thomas Kardjito. dr. SpP., Prof. Dr. Putu Gede Konthen. dr . SpPD ,KAI., Fuad Amiyani, dr., MPH , PhD., Prof. Dr M Zainuddin. Apt. Siti Panani. dr . MSc.,MS. PhD . Widodo J Pudji Rahardjo, dr MS MPH Dr PH , Prof. Dr. Suhartono Taat Putra, dr . MS., Dr. F.M. Judajana. dr SpPK . Koentoro. dr . MPH, Dr Ph , Prof. Soetandyo Wignyosoebroto, MPA . Prof. Dr Hardyanto Soehono. dr SpKK . Prof. Dr. Marsetyawan, dr . yang telah memberikan kuliah, diskusi, arahan dan asupan berbagai ilmu pengetahuan dalam rangka pengembangan kematangan dan pendewasaan berpikir serta bertindak sebagai ilmuwan sejati

Terima kasih saya sampaikan kepada Prof. Dr. Noerhaji S. dr , DTM&H. selaku Kepala Laboratorium Ilmu Hayati Universitas Gajah Mada Yogyakarta yang telah memberi ijin dan kesempatan saya untuk melaksanakan penelitian serta menggunakan segala fasilitas yang ada di LIH Universitas Gajah Mada Yogyakarta, juga kepada Prof. Dr. Hardyanto Soehono. dr SpKK . yang berkenan sebagai penanggung jawab dan konsultan laboratorium LIH Universitas Gajah Mada Yogyakarta saya mengucapkan terimakasih. Tidak lupa kepada sdr. Tri Yuliani sebagai teknisi di Lab Ilmu Hayati Yogyakarta yang telah membantu dengan penuh perhatian dan kesabaran dalam mengerjakan tugas tugas laboratorium selama melaksanakan penelitian ini.

Perkenalkan pula saya mengucapkan terimakasih kepada para penilai persiapan naskah disertasi tahap informal dan formal, yaitu Dr. F.M. Judajana, dr. SpPK., Dr. Indropo Agusni. dr SpKK., Koentoro. dr . MPH, Dr Ph., Dr. Ambar Moedigdo, dr., SpPA . Prof. Soegeng Soekanto, dr MS SpPA. PhD , Dr I Ketut Sudiana, Drs Mkes , Prof. Dr. Suhartono Taat Putra, dr . MS . Dr. Sudigdo Adi. dr SpKK., dan Prof.Dr. Putu Gede Konthen. dr SpPD KAI. sebagai promotor yang telah mengkoordinasikan semua masukan serta koreksi untuk perbaikan naskah disertasi ini, hingga selesai dan berlangsung lancar

Terimakasih pula saya tujukan kepada Widodo J Pudji Rahardjo, dr.,MS, MPH.Dr.PH , dan Koentoro. dr.MPH. Dr Ph serta Abdul Khalik, AMS atas kesediaan sebagai konsultan metode penelitian dan statistik yang dengan sabar dan terus menerus memberikan arahan sampai pada akhir penulisan disertasi ini.

Kepada Laboratorium Klinik Prodia Cabang Surakarta beserta stafnya yang telah membantu melaksanakan pengambilan dan pemeriksaan darah sebagai kelengkapan data penelitian, saya ucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya

Penghargaan dan terimakasih saya sampaikan kepada para penderita dan mahasiswa FKUNS yang saat penelitian dikerjakan bekerja di Bag IP Kulit & Kelamin,

yang dengan sadar dan sukarela telah menyatakan persetujuannya untuk berperan serta sebagai sampel dalam penelitian ini

Secara khusus saya menyampaikan terimakasih kepada rekan dan sejawat di Laboratorium SMF Kulit & Kelamin Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret RSUD Dr. Muwardi Surakarta, yaitu Indah Yulianto, dr., SpKK., Moerbono Muehtar, dr. SpKK., M. Gudadi Hadifukito, dr. SpKK., Niken Indrastuti, dr. SpKK., Prasetyadi Mawardi, dr. SpKK. yang telah banyak membantu berbagai tugas dan memahami kesibukan saya selama mengikuti pendidikan program doktor di Program Pascasarjana Universitas Airlangga. Demikian pula kepada staf paramedik dan semua karyawan di Lab. SMF Kulit & Kelamin yang selalu siap membantu untuk lancarnya tugas-tugas saya sehingga memberikan suasana kekeluargaan.

Terimakasih yang tulus pula saya sampaikan kepada teman-teman sejawat sesama mahasiswa S3 Program Pascasarjana Universitas Airlangga angkatan tahun 1997-1998 terutama dari Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta atas kerjasama dan saling mendorong selama menempuh pendidikan

Kepada keluarga dan handai taulan dan semua pihak yang telah membantu secara langsung ataupun tak langsung, serta memberikan doanya, terutama kepada keluarga Dr. Sunaryati Sudigdoadi, dr. SpMK., di Bandung yang telah memberi kesempatan didalam menyelesaikan penulisan disertasi ini, saya mengucapkan terimakasih, semoga Allah SWT juga yang akan memberikan balasan atas segala kebaikan yang telah saya terima.

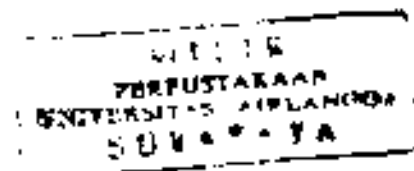
Kepada almarhum orang tua saya, bapak Kariosentono dan *ummah* Sri Manganti yang telah memelihara, membesarkan dan mendidik saya dengan penuh kasih sayang, dengan rasa cinta dan hormat, saya berdoa semoga Allah SWT mengampuni semua dosa, dan selalu melimpahkan kasih sayang-Nya sebagaimana kedua beliau telah memberikan kasih sayang pada saat membesarkan dan mendidik saya

Terimakasih pula kepada semua kakak saya yang dengan penuh harap dan doa agar saya dapat menyelesaikan program doktor ini. Khususnya kepada Yu Ortha dan Mas Nyoto yang telah banyak membantu untuk lancarnya tugas saya selama pendidikan,

Kepada kedua anakku, Nur Rahmat Multanto, dr. serta istri Erlika dan Dewi Nur Rohmawati dan suaminya Bayu D. Siswanto, S.Ked. saya sampaikan rasa terimakasih yang tiada terhingga atas segala pengertian kalian, yang mengerti dan memahami kesibukan ayahmu selama ini. Demikian pula keempat cucu saya tercinta, Salsa, Destia, Arkhan dan Tsaqifah Nurul'ani, semoga kelak anak-anak dan cucuku, kalian menjadi manusia cerdas-pandai yang ber-akhlak mulia, berbakti kepada kedua orang tua dan berguna bagi agama, nusa dan bangsa.

Terakhir kepada istri tersayang, Sri Nuryati, saya sampaikan dari lubuk hati yang paling dalam terimakasih atas segala kesabaran, kepedulian dan dukungan serta doamu selama ini, dalam mengikuti dan menyertai saya sejak dari awal hingga akhirnya saya dapat menyelesaikan pendidikan program doktor ini. Semoga Allah selalu memberkahi mu dengan ketabahan dan kesehatan didalam mendidik anak dan cucu kita.

Akhirnya saya berdoa kehadiran Allah SWT, semoga selalu memberi rida-Nya atas segala yang saya lakukan serta selalu memberi petunjuk jalan yang benar, kemudahan, kebahagiaan, keselamatan dan kemuliaan kepada saya sekeluarga dalam menjalani kehidupan ini. Semoga apa yang telah saya persembahkan dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan pada khususnya dan untuk kemaslahatan umat manusia pada umumnya. *Amen Ya Robbul Alamin.*



RINGKASAN

Sampai saat ini diagnosis dermatitis atopik (DA) masih berdasarkan klinis, antara lain menggunakan kriteria Hanifin-Rajka, karena tidak ada satu tanda yang patognomonik (Sampson & Hanifin, 1991) maupun tes laboratorium yang dipakai sebagai petanda diagnostik (Leung, 1992). Etiologi maupun patogenesis DA masih belum jelas sehingga pengobatannya sampai sekarang belum memuaskan. Kemajuan dibidang biologi sel dan imunologi telah mendorong penyelidikan lebih lanjut tentang patogenesis. Pada DA diketahui telah terjadi respons imun abnormal yaitu respons Th2 pada stadium akut saat kekambuhan dan beralih menjadi respon Th1 pada keadaan kronis. Jejaring sitokin yang berperan pada respons Th1 dan Th2 telah banyak diteliti, namun pada DA masih dalam perdebatan, khususnya pengaruh interleukin (IL-12) pada pengalihan respons Th2 ke Th1. Penelitian ini bertujuan untuk mengungkap peran IL-12 pada pengalihan respons imun Th2 ke respons Th1 pada DA.

Jenis penelitian adalah penelitian eksperimental *in-vitro* dengan desain *post test only control group*. Teknik pengambilan sampel dengan cara *convenient sampling* dari populasi penderita DA yang berobat di poliklinik Kulit & Kelamin Rumah Sakit Umum Daerah Dr. Muwardi Surakarta. Subjek penelitian terdiri dari 18 penderita DA dan 12 kontrol yang diambil dari mahasiswa Fak. Kedokteran UNS yang sehat dan beberapa penderita penyakit kulit non atopik (NDA). Kedua kelompok di *matching* dalam hal jenis kelamin dan usia, dan dilakukan pengambilan darah tepi untuk isolasi limfosit dengan metode *ficoll gradients centrifugation*. Kultur limfosit pada media standart RPMI 1640 dengan diberi tiga perlakuan yaitu kultur tanpa paparan (TP), dipapar tungau debu rumah (TDR) dan dipapar TDR ditambah IL12 (T). Semua sampel dilakukan uji tusuk dengan alergen TDR, diukur kadar IgE total serta IgE Spesifik terhadap *Dermatophagoides pteronyssinus*. Kadar IL-4 dan IFN- γ sebagai gambaran respons imun Th2 dan Th1 diukur dari supernatan kultur menggunakan Elisa kit untuk IL-4 dan IFN- γ (R & D System-UK) dan hasil dihitung dan dibaca memakai *Elisa reader* dengan satuan OD (*Optical Density*). Analisis statistik menggunakan *multiple analysis of variance (manova)*.

Hasil penelitian menunjukkan paparan TDR pada kultur limfosit DA terdapat peningkatan kadar IL-4 (0.2168 OD) dibanding kultur TP (0.1193OD) ($p < 0.05$), sedang sekresi IFN- γ pada kelompok kasus yang dipapar T (0.2580 OD) tidak berbeda ($p > 0.05$) dibanding TP (0.2255 OD). Pada kelompok kontrol NDA terdapat beda baik IL-4 maupun IFN- γ pada tanpa paparan dibanding dengan paparan TDR maupun T ($p < 0.05$). Hal ini menunjukkan pada kontrol sekresi IFN- γ meningkat bermakna setelah penambahan IL-12, berarti IL-12 dapat menyebabkan respons Th1, namun tidak terjadi pada kelompok DA. Kadar IL-4, IFN- γ maupun delta keduanya, baik keadaan tanpa maupun dengan paparan pada DA dibanding kontrol tidak ada perbedaan. Berdasar hasil tersebut dilakukan analisis *cluster* untuk membuat pengelompokan baru berdasar kadar IL-4 dan IFN- γ , dan didapat tiga kelompok klaster. Klaster pertama terdiri 11 kasus dengan kadar rata rata IL-4 adalah 0.1214 OD, klaster kedua 7 kasus dengan kadar 0.1555 dan ketiga 12 kasus dengan kadar 0.1180 OD. Tidak ada perbedaan pada kadar IL-4, sedang kadar IFN- γ pada ketiga klaster adalah 0.1128 OD, 0.2092 OD dan 0.2917 OD, dan ada perbedaan bermakna ($p < 0.05$) pada TP, IFN- γ maupun perbedaan selisih

(delta) antara TP dengan paparan TDR dan T1. Analisis kluster ini menyokong bahwa klasifikasi berdasar kadar sitokin lebih dapat membedakan perbedaan respons imun antara DA dan NDA, dan ini terlihat dari diagnosis klinis tidak berkorelasi dengan parameter imunologik. Analisis diskriminan diantara tiga kelompok kluster mendapatkan bahwa variabel IFN- γ sebagai diskriminator yang dapat membedakan perbedaan respons imun.

Kesimpulan yang didapat adalah IL-12 tidak cukup mampu untuk menstimulasi pengalihan respons dari Th2 ke Th1 pada penderita DA. Klasifikasi klinis berdasar patofisiologik tidak dapat membedakan beda respons imun, dan IFN- γ merupakan variabel pembeda (*discriminator*) diantara ketiga kelompok kluster, oleh karena itu klasifikasi DA berdasar Hanifin Rajka perlu ditambah variabel IFN- γ sebagai salah satu indikator diagnosis. Berdasar kesimpulan disarankan beberapa hal sebagai berikut. perlu upaya untuk eliminasi tungau debu rumah dari lingkungan penderita dermatitis atopik guna mengurangi terjadinya kekambuhan, sedang pemakaian IL-12 sebagai terapi tidak mempunyai dasar kuat. Selain itu perlu penelitian lebih lanjut untuk mengetahui mekanisme lain sebagai penyebab respon Th1 pada DA kronis dan perlu penelitian lebih lanjut di bidang dermatitis atopik, terutama dalam strategi tatalaksananya, untuk memperoleh pengobatan dengan imunoterapi yang tepat.

Kata kunci: *dermatitis atopik, tungau debu rumah, IL-12, IL-4, IFN- γ*



ABSTRACT

Background: Since the diagnosis of Atopic Dermatitis was based on the clinical findings, and former clinical criteria has been proposed by Haniffin & Rajka (1980), there was still some difficulties to have a linkage between clinical signs and etiology. The etiology of AD was still in debates, in that connection either the pathogenesis still obscure or great difficulties in managing the disease. The raise of knowledge in the fields of cellular biology and immunology leads us to explore the pathogenesis. There is strong evidence that the disease was caused by imbalance of the lymphocytes functions, but it is still some controversial. The cytokines net work in the T helper-1(Th-1) and Thelper-2 (Th-2) cooperation has been widely studied, but not in AD cases especially in the relation of the switching from Th-2 to Th-1 mechanism under influence of IL-12. The purpose of the study is to investigate the role of IL-12 in switching process from Th-2 to Th-1 in AD by measuring the secretion IFN- γ and IL-4 from culture of lymphocytes among AD patients.

Method: The study design is *in-vitro* study, and the experimental design is *post test only control group*. The sampling method used is *convenience sampling*. The subjects are 18 patients from the Dermato-Venereology Clinic of Dr Muwardi General Hospital Surakarta, diagnose based on Hanifin Rajka criteria. The control consists of 12 healthy medical students and non atopic dermatitis (NAD) skin diseases patients who voluntary became members of the study. Both of cases and control group matching for sex and age and peripheral blood collected for lymphocyte isolation by ficoll gradients centrifugation and lymphocyte cultur in medium RPMI 1640, with 3 treatments: unchallenge, house dust mite (HDM) challenge and HDM combined with IL-12 challenge. All subjects and control performing skin prick test with HDM allergen, measuring of the level of IgE total and IgE specific HDM extracts obtained from Indrayana Laboratory (Indonesia). Elisa kit for human IL-4 and human IFN- γ , obtained from R&D system(UK) Lot. number: 205389 for IL-4 and 205761 for IFN- γ . The value read in Elisa reader and calculated in optical density (OD). Statistical analysis by multiple analysis of variance (*anova*).

Results: The secretion of IL-4 among AD after exposed with HDM are higher (0.2168 OD) than among AD unexposed culture (0.1193 OD), while the secretion of IFN- γ among AD exposed by HDM combined with IL-12 (0.2580 OD) show slight increase from unexposed culture (0.2253 OD) but not significant ($p > 0.05$). In the control group the secretion of IL-4 of unexpose culture is 0.1299 OD while IFN- γ is 0.1791 OD. After stimulation by the HDM show increase (IL-4 = 0.2050 OD and IFN- γ = 0.2628 OD) either stimulation by HDM and combined with IL-12 (IL-4 is 0.2008 OD while IFN- γ is 0.2820 OD). Both are significantly different ($p < 0.05$). The result showed that among the control group the IL-12 stimulate Th-1 response, but not among AD. The level of IL-4, IFN- γ and delta of both are not significantly different among AD compared to control either in the unchallenged or challenged cultur. Cluster analysis was performed and showed there was 3 groups according to their cytokine secretion level among our subjects and during the clustering we obey the clinical diagnosis. The first cluster group consist of 11 cases and the mean level of IL-4 is 0.1219 OD, the second consists of 7 cases and 0.1355 OD and the last consists of 12 cases and 0.1180 OD. Among this groups the level of IL-4 are not different significantly. While grouping on the base of

mean level of IFN- γ are as follow the first group 0.1128 OD the second is 0.2092 OD and the last 0.2917. These results were shown that the secretion of IFN- γ among the groups is different ($p < 0.05$) This cluster analysis support the theory of immunologic classification among AD are better and must be based on cytokine secretion or immunopathobiologic paradigm and the most important thing is the clinical diagnose among our patients are not correlated with immunologic parameters. Analysis of discriminant among the cluster groups showed that IFN- γ as a discriminator factor.

Conclusion: IL-12 is not powerful enough to stimulate the switching response from Th-2 to Th-1 in AD patients Clinical diagnose of AD are not related with immunologic parameters and IFN- γ as a discriminator variable among the cluster group. Based on the conclusion we suggest that the elimination of allergen (HDM) among AD patients is a good reason to prevent clinical exacerbation among them and IL-12 used as therapy in AD is not reasonable enough. More study should be done to find the other immunotherapy for AD and to explore the mechanism of Th1 response in chronic stage of AD.

Key words

Atopic Dermatitis, House Dust Mite allergen, IL-12, IL-4, IFN- γ .



DAFTAR ISI

	Halaman
SAMPUL DALAM	i
PRASYARAT GELAR	ii
LEMBAR PENGESAHAN.....	iii
PENETAPAN PANITIA.....	iv
UCAPAN TERIMA KASIH.....	vi
RINGKASAN.....	ix
ABSTRACT	xi
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR TABEL.....	xvii
DAFTAR GAMBAR.....	xix
DAFTAR LAMPIRAN.....	xxi
DAFTAR SINGKATAN	xxiii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang Masalah.....	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian	6
1.3.1 Tujuan umum	6
1.3.2 Tujuan khusus.....	6
1.4 Manfaat Penelitian	6
1.4.1 Manfaat teoritis	6
1.4.2 Manfaat praktis	7
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1 Definisi dan sejarah Dermatitis Atopik	8
2.2 Dermatitis Atopik dan kondisi atopi	13
2.2.1 Perjalanan penyakit atopi	13
2.2.2 Faktor resiko penyakit atopi	15

2.3	Epidemiologi Dermatitis Atopik	18
2.4	Diagnosis	21
2.4.1	Gambaran klinis Dermatitis Atopik	23
2.4.2	Imunoglobulin E dalam serum	28
2.4.3	Imunoglobulin G.....	30
2.4.4	Penilaian derajat keparahan penyakit DA	30
2.4.5	Uji Kulit : uji tusuk (<i>skin prick test</i>)	33
2.4.6	Uji Kulit : uji tempel (<i>patch test</i>)	34
2.4.7	Gambaran histo-patologi DA.....	35
2.5	Patogenesis	35
2.5.1	Sistem imun kulit.....	37
2.5.2	Imunopatogenesis.....	39
2.5.3	Peran alergen pada DA.....	42
2.6	Gambaran imunopatologi DA	46
2.7	Paradigma Th1-Th2 pada penyakit atopi	54
2.8	Peran sitokin pada Dermatitis Atopik	56
2.8.1	Interleukin -4.....	59
2.8.2	Interleukin -5	60
2.8.3	Interleukin -13.....	61
2.8.4	Interferon-gamma	62
2.5.5	Interleukin-12.....	63
2.9	Pengobatan.....	67
2.9.1	Pengobatan terhadap gejala	67
2.9.2	Identifikasi dan eliminasi factor pemicu kekambuhan	69
2.9.3	Mempertahankan kelembaban kulit	70
2.9.4	Pengobatan masih dalam penelitian	70
BAB 3	KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS	73
3.1	Kerangka Konsep.....	73
3.2	Hipotesis	74

BAB 4 METODE PENELITIAN	
4.1	Jenis dan Rancangan Penelitian 76
4.2	Populasi dan Sampel Penelitian 76
4.2.1	Kriteria Inklusi 77
4.2.2	Kriteria Eksklusi 78
4.2.3	Besar Sampel dan teknik pengumpulan Sampel 78
4.2.4	Etik Penelitian 78
4.3	Variabel penelitian 79
4.3.1	Klasifikasi variable penelitian 79
4.3.2	Definisi operasional variabel penelitian. 79
4.5	Instrumen Penelitian 80
4.5.1	Bahan Penelitian 80
4.5.2	Alat Penelitian 81
4.6	Prosedur Pengumpulan dan Pengukuran Data 82
4.6.1	Pengumpulan dan Pengukuran Data Pokok 83
4.6.2	Pengumpulan Data tambahan (klinik dan laboratorium) 84
4.7	Teknik Analisis Data 85
4.7.1	Pengolahan Data 85
4.7.2	Analisis Data 86
4.8	Etika Penelitian 86
4.9	Kerangka operasional penelitian 87
 BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS 89	
5.1	Waktu,Subjek dan Tempat Penelitian 89
5.2	Data Respons imun pada kultur limfosit 89
5.2.1	Kadar standar IL-4 dan IFN-gamma 90
5.2.2	Rerata kadar IL-4 dan IFN-gamma pada kultur limfosit 91
5.3	Analisis Data 92
5.3.1	Uji homogenitas dan normalitas data 92
5.3.2	Uji beda respons imun 93

1. Manova kelompok kasus DA	93
2. manova kelompok kontrol NDA	95
3. Manova kelompok DA dan NDA	96
4. Manova delta pada DA dan NDA	97
5.3.3 Analisis <i>cluster</i>	98
1. Monova IL-4 dan IFN-gamma pada kelompok klaster	99
2. Manova delta pada kelompok klaster	102
3. Manova pada masing-masing klaster	105
4. Analisis Diskriminan Kelompok klaster	105
5.4 Pola perubahan Respons Imun	105
5.5 Data Klinis dan Laboratorium	109
5.5.1 Distribusi sample berdasar Umur	109
5.5.2 Distribusi sample berdasar Jenis Kelamin	110
5.5.3 Distribusi berdasar Derajat Penyakit	112
5.5.4 Distribusi berdasar kadar IgG Total	113
5.5.4 Distribusi berdasar kadar IgG Spesifik	114
5.5.6 Uji Kult.	115
BAB 6 PEMBAHASAN	118
6.1 Perbedaan Respons Imun pada kultur limfosit DA dan NDA	119
6.2 Data Klinis dan Laboratorium kelompok DA dan NDA	131
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN	134
7.1 Kesimpulan	134
7.2 Saran	135
DAFTAR PUSTAKA	136
LAMPIRAN	150

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 : Perubahan gaya hidup dan lingkungan setelah PD II dinegara Industri Barat	21
Tabel 2.2 : Provokator gatal pada DA.	24
Tabel 2.3 : Macam dan fungsi elemen seluler dalam kulit pada sistim imun	39
Tabel 2.4 : Kelainan regulasi system imun pada dermatitis Atopik.	51
Tabel 2.5 : Sel - sel yang memproduksi dan sekresi IL-12.	66
Tabel 5.1 : Kadar standart IL-4.	90
Tabel 5.2 : Kadar standart IFN- γ	90
Tabel 5.3 : Rerata kadar IFN- γ dan IL-4 pada kultur limfosit	91
Tabel 5.4 : Rerata kadar IFN- γ dan IL-4 kelompok kasus (DA) pada berbagai perlakuan.	93
Tabel 5.5 : Rerata kadar IFN- γ dan IL-4 kelompok kontrol (NDA) pada berbagai perlakuan.	95
Tabel 5.6 : Rerata delta IFN- γ dan IL-4 pada berbagai paparan.	98
Tabel 5.7 : Rerata kadar TP. IFN- γ dan TP. IL-4 dan pada kelompok klaster.	99
Tabel 5.8 : Rerata kadar IFN- γ dan IL-4 paparan TD pada kelompok klaster.	101
Tabel 5.9 : Rerata kadar IFN- γ dan IL-4 paparan TI pada kelompok klaster.	102
Tabel 5.10 : Rerata delta pada klaster dengan paparan TD dan TI.	103
Tabel 5.11 : Pola respons imun variable IFN- γ tanpa paparan pada kelompok klaster.	106
Tabel 5.12 : Pola perubahan respons imun variable IFN- γ dengan paparan TD pada kelompok klaster.	107
Tabel 5.13 : Pola perubahan respons imun variable IFN- γ dengan paparan TI pada kelompok klaster.	107
Tabel 5.14 : Perbandingan usia pada kelompok kasus dan kontrol	110
Tabel 5.15 : Sebaran subjek penelitian berdasar jenis kelamin	111
Tabel 5.16 : Rerata kadar IL-4 dan IFN- γ terhadap jenis kelamin.	111

Tabel 5.17 : Sebaran penderita DA berdasar derajat penyakit.....	112
Tabel 5.18 : Perbandingan kadar IgE total dalam serum DA dan NDA ..	113
Tabel 5.19 : Sebaran kasus dan kontrol berdasar pengelompokan IgE Total..	114
Tabel 5.20 : Perbandingan kadar IgE spesifik thd <i>Der pier</i> pada DA dan NDA.....	115
Tabel 5.21 : Reaktivitas uji tusuk menggunakan alergen TDR.	116
Tabel 5.22 : Hubungan variable imunoglobulin dan reaktivitas uji tusuk .	117
Tabel 6.1 : Hubungan respons imun dengan derajat penyakit .	123



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 : Klasifikasi penyakit atopi	12
Gambar 2.2 : Perjalanan alami penyakit atopi pada anak.....	14
Gambar 2.3 : Hubungan antara gatal dengan lesi kulit pada DA.....	26
Gambar 2.4 : Immunopatogenesis DA.gambaran skematis.....	50
Gambar 2.5 : Model patogenesis pada asma dan dermatitis atopik.....	58
Gambar 5.1 : Grafik rerata kadar IFN- γ dan IL-4 pada kasus & kontrol..	92
Gambar 5.2 : Grafik var. IFN- γ dan IL-4 pada kelompok DA tanpa paparan dan dengan berbagai paparan.	95
Gambar 5.3 : Grafik var IFN- γ dan IL-4 pada NDA tanpa paparan dan dengan berbagai paparan..	95
Gambar 5.4 : Grafik rerata IFN- γ pada kelompok DA dan NDA.....	97
Gambar 5.5 : Grafik rerata IL-4 pada kelompok DA dan NDA.....	97
Gambar 5.6 : Grafik rerata IFN- γ pada kelompok klaster tanpa dan dengan paparan..	100
Gambar 5.7 : Grafik rerata IL-4 pada kelompok klaster tanpa dan dengan paparan .. .	101
Gambar 5.8 : Grafik rerata perubahan kadar IFN- γ pada klaster setelah paparan.	103
Gambar 5.9 : Grafik rerata perubahan kadar IL-4 pada klaster setelah paparan.....	104
Gambar 5.10 : Grafik pola IFN- γ tanpa paparan pada kelompok klaster .	108
Gambar 5.11 : Grafik pola delta IFN- γ dengan paparan TI pada kelompok klaster	108

Gambar 5.12 : Grafik Pola delta JFN- γ dengan paparan TD dibanding TI Pada kelompok klaster	109
Gambar 5.13 : Grafik diagram balok variabel umur pada DA dan NDA	110
Gambar 5.14 : Grafik diagram balok rerata Ig E Total pada DA dan NDA	113
Gambar 5.15 : Grafik diagram rerata Ig E spesifik pada DA dan NDA	115
Gambar 5.16 : Grafik diagram balok reaktifitas uji tusuk terhadap variabel Ig	117



DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1 : Surat persetujuan RSUD Dr. Moewardi Surakarta
- Lampiran 2 : Surat Ijin Penelitian dari Laboratorium Ilmu Hayati Yogyakarta
- Lampiran 3 : Surat keterangan Kelainan Etik Penelitian
- Lampiran 4 : Formulir Persetujuan Penelitian
- Lampiran 5 : Formulir Persetujuan Tindakan Medis
- Lampiran 6 : Lampiran Tabel
 Table 1 : Kriteria diagnostik DA dari Hanifin & Rajka
 Table 2 : Gradasi keparahan penyakit pada Dermatitis Atopik
 Table 3 : Komposisi subjek penelitian(kelompok kasus & kontrol)
- Lampiran 7 : Prosedur Pemeriksaan Laboratorium
- Lampiran 8 : Status Penderita Dermatitis Atopik
- Lampiran 9 : Data penelitian kelompok kasus DA dan kontrol NDA
- Lampiran 10 : Uji IIDN (*Identicality, Independency & Normality*)
- Lampiran 11 : *Manova* IFN- γ dan IL-4 pada DA tanpa dan dengan paparan
- Lampiran 12 : *Manova* IFN- γ dan IL-4 pada NDA tanpa dan dengan paparan
- Lampiran 13 : *Manova* IFN- γ dan IL-4 pada DA dan NDA tanpa paparan
- Lampiran 14 : *Manova* IFN- γ dan IL-4 pada DA dan NDA, dengan paparan TD
- Lampiran 15 : *Manova* IFN- γ dan IL-4 pada DA dan NDA dengan paparan TI
- Lampiran 16 : *Manova* delta IFN- γ dan IL-4 pada DA dan NDA, dengan Paparan TD
- Lampiran 17 : *Manova* delta IFN- γ dan IL-4 pada DA dan NDA, dengan paparan TI
- Lampiran 18 : Analisis klaster berdasar kadar IFN- γ dan IL-4 pada tanpa paparan
- Lampiran 19 : Data subjek penelitian setelah analisis klaster
- Lampiran 20 : *Manova* IFN- γ dan IL-4 pada kelompok klaster, tanpa paparan

Lampiran	21 :	<i>Manova</i> IFN- γ dan IL-4 pada kelompok klaster dengan paparan TD
Lampiran	22	<i>Manova</i> IFN- γ dan IL-4 pada kelompok klaster dengan paparan T1
Lampiran	23	<i>Manova</i> delta pada paparan TD pada kelompok klaster
Lampiran	24 :	<i>Manova</i> delta pada paparan T1 pada kelompok klaster
Lampiran	25	<i>Manova</i> IFN- γ dan IL-4 pada kelompok klaster 1
Lampiran	26	<i>Manova</i> IFN- γ dan IL-4 pada kelompok klaster 2
Lampiran	27	<i>Manova</i> IFN- γ dan IL-4 pada kelompok klaster 3
Lampiran	28 :	Analisis diskriminan delta karena paparan TD pada kelompok klaster
Lampiran	30 :	Analisis diskriminan delta karena paparan T1 pada kelompok klaster
Lampiran	31	Oneway <i>Anova</i> pola IFN- γ tanpa paparan
Lampiran	32 :	Oneway <i>Anova</i> pola perubahan IFN- γ dengan paparan TD
Lampiran	33	Oneway <i>Anova</i> pola perubahan IFN- γ dengan paparan T1
Lampiran	34	Oneway <i>Anova</i> Variabel umur
Lampiran	35	<i>Manova</i> variable jenis kelamin
Lampiran	36	Oneway <i>Anova</i> variabel imunoglobulin (Ig) pada DA dan NDA
Lampiran	37	Oneway <i>Anova</i> variabel imunoglobulin terhadap reaktivitas uji tusuk
Lampiran	38	<i>Anova</i> variabel respons imun dengan skor derajat penyakit
Lampiran	39 :	Foto-foto penderita dan peralatan yang digunakan pada penelitian

DAFTAR SINGKATAN

DA	- Dermatitis atopik
NDA	- Non-Dermatitis atopik
TDR	- Tungau Debu Rumah
SP1	<i>Skin Prick test</i>
IL-12	Interleukin-12
IL-4	- Interleukin-4
IFN- γ	- Interferon-gamma
Th2	= Sel T <i>Helper</i> 2
Th1	- Sel T <i>Helper</i> 1
TP	- Kultur tanpa paparan
TD	= Paparan tungau debu rumah pada kultur limfosit
TI	Paparan tungau debu rumah ditambah IL-12 pada kultur limfosit
DD	Harga delta antara tanpa paparan dengan paparan tungau debu rumah
DTI	- Harga delta antara tanpa paparan dengan paparan TDR ditambah IL-12
PDD	= Pola delta akibat paparan tungau debu rumah
PDTI	Pola delta akibat paparan tungau debu rumah ditambah IL-12
LC	- Sel Langerhans kulit
MC	= Sel Mast

Catatan:

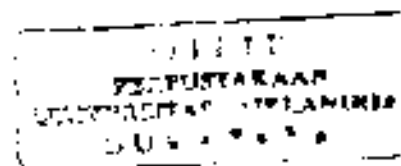
-Singkatan ini hanya berlaku untuk naskah disertasi ini

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Dermatitis atopik (DA) adalah penyakit kulit inflamasi kronis yang sering kambuh, dan dapat mengenai semua golongan usia terutama anak. Pada penyakit ini terjadi gangguan regulasi sistem imun, yaitu ke tidak seimbangan respons Th1-Th2; terlihat pada stadium akut menunjukkan dominasi respons Th2, dan pada stadium kronis respons Th1 lebih menonjol (Thepen, 1996, Grewe, 1998, Sudigdoadi, 1999; Kanek, 2001, Lewis, 2002). Sampai sekarang penyebab DA belum diketahui jelas dan pemahaman tentang faktor yang dominan pada setiap tahap dalam patogenesis penyakit, belum tuntas. Diagnosis DA harus ditegakkan berdasar pada kumpulan gejala klinis *sign and symptoms* karena tidak ada satu pun gejala yang patognomonik (Sampson & Hanifin, 1996). Dasar diagnosis DA yang digunakan adalah menurut kriteria Hanifin & Rajka, yang dibuat pada tahun 1980. Klasifikasi DA dibedakan menjadi dua tipe yaitu DA tipe ekstrinsik dan intrinsik ditetapkan berdasar respons imun terhadap alergen, yang ditunjukkan dengan peningkatan IgE total, atau adanya IgE spesifik dan uji kulit positif (Sudigdo Adi, 1995, Wuthrich, 1999). Klasifikasi tersebut belum dapat membedakan respons imun Th2 dominan pada DA akut saat kambuh atau respons Th1 pada stadium kronis. Pengobatan DA sampai saat ini masih belum memuaskan, walaupun berbagai macam terapi diberikan namun penggunaan obat jangka lama dapat menimbulkan efek samping yang merugikan penderita (Chang & Steven, 2002). Penelitian yang telah dilakukan antara lain penggunaan IL-12, sebagai sitokin yang dapat mendorong respons imun Th1 (Callard & Gearing, 1994) untuk pengobatan DA dicoba pada binatang, namun



hasilnya masih kontroversi (Stirling & Chung, 2000; Matsumoto, 2001). Pemberian *recombinant human IFN- γ* pada DA untuk waktu lama (Schneider, 1998; Steven, 1998) juga pernah dilakukan. Berbagai penelitian yang dilakukan tersebut, baru membuktikan teori gangguan sistem imun memberi kontribusi paling besar pada patogenesis DA, namun mekanisme khususnya jejaring kerja sitokin yang mempengaruhi pengalihan respons imun Th2 ke Th1 sampai sekarang masih diperdebatkan.

Prevalensi DA terutama di negara maju pada dekade terakhir ini semakin meningkat (Oranye, 1995; Rothe & Grant-Kels, 1996; Diepgen, 2000). Di Swedia penelitian prevalensi DA di antara anak sekolah pada tahun 1979 sebesar 7%, namun setelah 12 tahun menjadi 18% (Rothe & Grant-Kels, 1996). Di UK estimasi bervariasi, pada anak kurang dari 4 tahun adalah 16% (Ring, 2000). Pada studi epidemiologis, ternyata insidens DA lebih tinggi dari 25 tahun yang lalu, saat ini angka yang mendekati akurat adalah 20% (Beltrani, 1996). Di Indonesia belum ada laporan lengkap tentang prevalensi DA, hanya beberapa data lokal seperti Bandung (Sudigdo Adi, 1995); Jakarta (Si Aisah, 1997) dan Surakarta (Harijono, 2002). DA merupakan penyakit dengan penyebab multifaktorial, seperti genetik sebagai latar belakang (Bonini, 1977; Elhot & Forest, 2002) dan faktor lingkungan. Di lingkungan hidup (*environments*) terdapat bermacam hahan asing atau alergen sebagai pemicu kekambuhan, antara lain alergen hirup (*aeroallergen*) dan salah satunya yang umum dan telah lama dikenal adalah tungau debu rumah (TDR) (Platt-Mills, 1983; Norris, 1988; Nanda Dewi, 1993; Tan, 1996). Kekambuhan DA yang berulang dan berlangsung kronis, secara umum dapat berdampak mengurangi produktivitas dan berpengaruh pada kehidupan sosial ekonomi penderita. Pengobatan DA kambuh yang

masih kontroversi ini, bila tidak dicari jalan keluar akan menuju penggunaan obat yang kurang rasional sehingga kesembuhan kurang memuaskan bahkan menuju keadaan kronis yang lebih parah dan bila hal ini berlangsung terus, prevalensi dan keparahan DA akan semakin meningkat

Konsep awal atopi menurut Coca dan Cooke adalah kondisi alergi atau hipersensitif dengan manifestasi klinis asma dan hay fever, terhadap bahan dari lingkungan yang cenderung familier atau herediter (Coca & Cooke, 1923). Pada tahun 1933 istilah DA baru diusulkan oleh Wise & Sulzberger, namun belum dapat menjelaskan mekanisme hubungan antara inflamasi kulit dengan kondisi atopi. Penemuan IgE pada tahun 1966 (Ishizaka, 1967) dan kemudian kriteria diagnosis Hamlin & Rajka (1980) merupakan tonggak penting pada pemahaman DA. Klasifikasi DA selanjutnya berdasar atas respons imun terhadap faktor eksternal yang mempengaruhi kekambuhan (Sudigdo Adi, 1995; Wuthrich, 1999), namun demikian belum ada klasifikasi DA berdasar perbedaan respons seluler terhadap paparan alergen dengan mengukur kadar sitokin sebagai produk sel T penderita DA. Penelitian untuk mencari pengobatan DA telah banyak dilakukan, antara lain dengan imunoterapi, didasarkan pada DA terjadi kelainan respons imun berupa Th2 dominan, sehingga dicoba untuk menurunkan respons Th2 dan mengalihkan ke Th1 (Stirling & Chung, 2000), dengan pemberian *recombinant human* IFN- γ atau IL-12 pada kultur limfosit DA, namun hal ini masih merupakan kontroversi (Liu, 1995; Matsumoto, 2001). Pendapat lain beranggapan pada DA terjadi kelainan sistem imun yang tidak sama dengan respons imun fisiologi seperti pada orang normal, terbukti IL-12 tidak mampu memperbaiki aspek klinis pada tikus yang dibuat menderita DA (Matsumoto, 2001). Hal ini menyokong penelitian Kondo dkk yang membuktikan terjadi kelainan

pada reseptor IL-12 penderita DA (Kondo, 2000). Sejauh ini perbedaan pendapat tentang pengalihan respons Th2 ke Th1 pada DA masih belum terselesaikan

Berdasarkan masalah tersebut di atas, dipandang perlu melakukan suatu penelitian menggunakan paradigma imunopatobiologi dengan konsep bahwa sel yang mengalami stres akan memberikan respons abnormal. Manifestasi klinis suatu kelainan biologis terjadi karena sel yang terkena stres terus menerus, akan menimbulkan jejas atau *injury* (Putra, 1997). Pada DA paparan alergen merupakan stres bagi sel T sebagai *immunocompetent cells*, sehingga terjadi respons abnormal. Penelitian dilakukan dengan membuat kultur limfosit penderita DA yang diberi paparan alergen TDR, sebagai DA yang kambuh, dan dengan kontrol sebagai pembanding, untuk mengetahui perbedaan respons imun kedua kelompok. Penambahan IL-12 pada kultur bersama paparan TDR untuk mengetahui peran IL-12 pada pengalihan respons imun dari Th2 ke Th1 pada DA yang kambuh. Pengelompokan sampel berdasar kliniko-patofisiologis, dengan kriteria Hanifin-Rajka, mungkin tidak dapat memisahkan perbedaan respons imun pada DA dan NDA, sehingga dapat terjadi penderita DA yang belum ada gejala klinis di diagnosis sebagai NDA atau sebaliknya. Bila ini terjadi perlu dilakukan langkah pengelompokan baru pada sampel (*clustering*), berdasar kadar sitokin sebagai produk respons imun menggunakan analisis kluster

Kerangka konseptual penelitian dapat digambarkan bahwa paparan alergen TDR pada penderita DA *in vivo*, di tangkap *Langerhans cell* (LC) kulit dan di presentasikan ke sel *Tnaive* di kelenjar limfe, sehingga terjadi aktivasi sel T, dan mendorong diferensiasi menjadi sel Th2 yang kemudian migrasi ke kulit. Selanjutnya sel Th2 mengeluarkan IL-4, IL-13 yang menginduksi sel B untuk memproduksi IgE,

dan IL-5 yang mengaktifkan eosinofil. Immunoglobulin (Ig)-E yang diproduksi, menempel pada permukaan mast cell (MC) sehingga MC menjadi sensitif dan juga pada LC (Bruijnzeel-Koomen, 1983, Sudigdo Adi, 1995). **Kekambuhan DA akut** terjadi pada paparan TDR ulang, menyebabkan degranulasi MC dan keluar mediator sehingga terjadi reaksi tipe 1 yang diikuti penarikan eosinofil dan sel inflamasi ke daerah tersebut sehingga terjadi inflamasi lokal (Ramirez, 2002). Rangsangan alergen terus menerus berpotensi untuk *diferensiasi* sel Th ke sel Th1, dengan peningkatan produksi IFN- γ , secara klinis sebagai **DA kronis**. Model kerangka konsep *in vivo* seperti diatas akan diambil sebagai acuan dalam penelitian secara *in vitro* dengan memberikan IL-12 pada kultur limfosit penderita DA bersama TDR dan diteliti pengaruhnya pada pengalihan respons imun dari Th2 ke Th1. Atas dasar pemikiran tersebut diharapkan masalah penelitian ini dapat dituntaskan.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah ada perbedaan kadar IL-4 dan IFN- γ , pada kultur limfosit penderita DA yang mendapat paparan **TD** (TDR) dibanding tanpa paparan, dan kultur limfosit DA yang dipapar **TI** (TDR-IL-12) dibanding kultur tanpa paparan?
2. Apakah ada perbedaan kadar IL-4 dan IFN- γ , pada kultur limfosit kontrol (NDA) yang mendapat paparan **TD** dibanding tanpa paparan, dan kultur limfosit NDA yang dipapar **TI** dibanding kultur tanpa paparan?
3. Apakah ada perbedaan kadar IL-4 dan IFN- γ , pada kultur limfosit penderita DA yang mendapat paparan **TD** dibanding kultur limfosit kontrol yang dipapar **TD**, dan kultur DA yang dipapar **TI** dibanding kultur limfosit kontrol yang dipapar **TI**?

4. Apakah ada perbedaan kadar IL-4 dan IFN- γ pada kultur limfosit DA yang mendapat paparan TD dibanding kultur limfosit DA yang dipapar TI?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan umum

Menjelaskan peran IL-12 pada pengalihan respons imun Th2 pada penderita DA yang kambuh ke respons Th1

1.3.2 Tujuan khusus

1. Membuktikan paparan baik TD maupun TI pada kultur limfosit penderita DA menyebabkan perbedaan respons imun, yang diukur dari kadar IL-4 dan IFN- γ , dibanding kultur tanpa paparan.
2. Membuktikan paparan baik TD maupun TI pada kultur limfosit NDA menyebabkan perbedaan respons imun, yang diukur dari kadar IL-4 dan IFN- γ dibanding kultur tanpa paparan.
3. Membuktikan paparan baik TD maupun TI pada kultur limfosit penderita DA menyebabkan perbedaan respons imun dibanding kultur limfosit kontrol (NDA)
4. Membuktikan ada perbedaan respons imun pada kultur limfosit DA yang dipapar TD dibanding kultur limfosit DA dengan paparan TI
5. Membuat pola diskriminan untuk menjelaskan peran IL-12 pada mekanisme pengalihan respons imun Th2 ke Th1 pada penderita DA yang kambuh.

1.4 Manfaat

1.4.1 Manfaat teoritis

Mendapatkan konsep baru dalam *immunopatogenesis* DA tentang peran IL-12 pada pengalihan respons imun Th2 ke Th1, sekaligus mengetahui peran TDR pada tingkat sel dan molekuler dengan menggunakan populasi setempat.

1.4.2 Manfaat praktis

1. dapat digunakan dalam strategi tatalaksana DA, yaitu dipertukan usaha eliminasi tungau debu rumah (TDR) di lingkungan penderita DA dalam rangka mencegah terjadinya kekambuhan dan usaha penggunaan IL-12 sebagai pengobatan DA kurang mempunyai dasar rasional, sehingga tidak perlu dilanjutkan.
2. mendorong penelitian lebih lanjut dengan menggunakan klasifikasi DA, tidak hanya berdasar klinis, namun perlu ditambahkan kadar sitokin yang dapat membedakan perbedaan respons imun dngan kontrol (NDA).

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Definisi dan sejarah dermatitis atopik

Dermatitis atopik (DA) merupakan peradangan kulit dengan etiologi yang tidak diketahui, biasanya timbul mula-mula pada masa bayi atau anak, selanjutnya dapat terjadi pada usia dewasa dan berhubungan dengan keadaan atopi (Hanifin, 1996). Tanda utama dari penyakit ini adalah rasa gatal, serta predileksi lesi yang sangat khas tergantung periode umur penderita.

Terminologi DA berasal dari kata dermatitis yang artinya inflamasi kulit dan atopi. Istilah Atopi di temukan pertama kali oleh Coca dan Cooke (1923), yang dimaksud adalah suatu penyakit aneh (*a strange disease*), yang secara umum menerangkan respon yang menyimpang atau abnormal, bersifat hereditas, dan terjadi pada sebagian kecil kelompok manusia. Konsep awal atopi mengandung arti bahwa atopi adalah suatu kondisi yang cenderung timbul alergi terhadap makanan atau bahan iritan dengan manifestasi klinis sebagai eksema, asma atopi dan hay fever, serta didasari oleh pola pewarisan atau hereditas (Coca dan Cooke, 1923; Arnold, 1990; Champion & Parish, 1992; Jones & Sampson, 1996). Hal ini berbeda dengan istilah yang diperkenalkan sejak awal 1900-an yaitu anafilaksis (*anaphylaxis*) yang artinya tak ada perlindungan, maupun kata *alergi* yang berarti reaksi yang berubah (Wuthrich, 1999).

Sejarah dermatitis atopik mungkin diawali saat Robert Willan pada tahun 1808 pertama kali menguraikan kelainan kulit gatal, yang disebut sebagai keadaan

mirip **prurigo**. Pada tahun 1884 Hebra memperhatikan lesi kulit pada daerah fleksural yang disebut sebagai *prurigo rash*, mendahului rasa gatal, namun banyak yang berpendapat bahwa rasa gatal yang mendahului terjadinya kelainan kulit, seperti dikemukakan oleh Jaquet (1904): “*an itch that erupts*” (Beltrani, 1996). Istilah *neurodermatitis disseminata* yang dikemukakan oleh Brocq & Jaquet pada tahun 1891 menunjukkan adanya hubungan penyakit itu dengan dasar emosi. Besnier di tahun 1892 menyatakan bahwa ada hubungan antara timbulnya rasa gatal, dengan asma, hay fever dan gangguan gastrointestinal. Gambaran penyakit kulit seperti diterangkan oleh para ahli tersebut akhirnya disimpulkan sebagai kelainan yang diduga dapat diwariskan, bersifat familial, ada predisposisi konstitusi dan disebut sebagai *prurigo diathesique* atau prurigo Besnier (Leung, 1992; Hanifin, 1996; Beltrani, 1996; Jones & Sampson, 1996).

Pada tahun 1923 Coca dan Coke memperkenalkan istilah atopi pertama kali, dan setelah itu baru pada tahun 1933 Wize & Sulzberger mengusulkan nama *dermatitis atopik* untuk mengganti nama *neurodermatitis disseminata*, untuk kelainan kulit yang mempunyai sifat-sifat seperti diatas dan mempunyai hubungan erat dengan penyakit atopi lain. Istilah tersebut selanjutnya dapat diterima sampai saat ini oleh karena dapat menerangkan baik gambaran eksem basah seperti yang sering terjadi pada DA tipe bayi maupun lesi kronik dengan likenifikasi, yang umum pada anak DA dan dewasa (Sulzberger & Vaughn, 1934).

Dermatitis atopik sebenarnya merupakan penyakit kulit yang telah lama dikenal, dengan berbagai sinonim seperti eksema, *atopic eczema*, eksema alergi, *prurigo like condition*, eksema infantil, eksema fleksural, *disseminated*

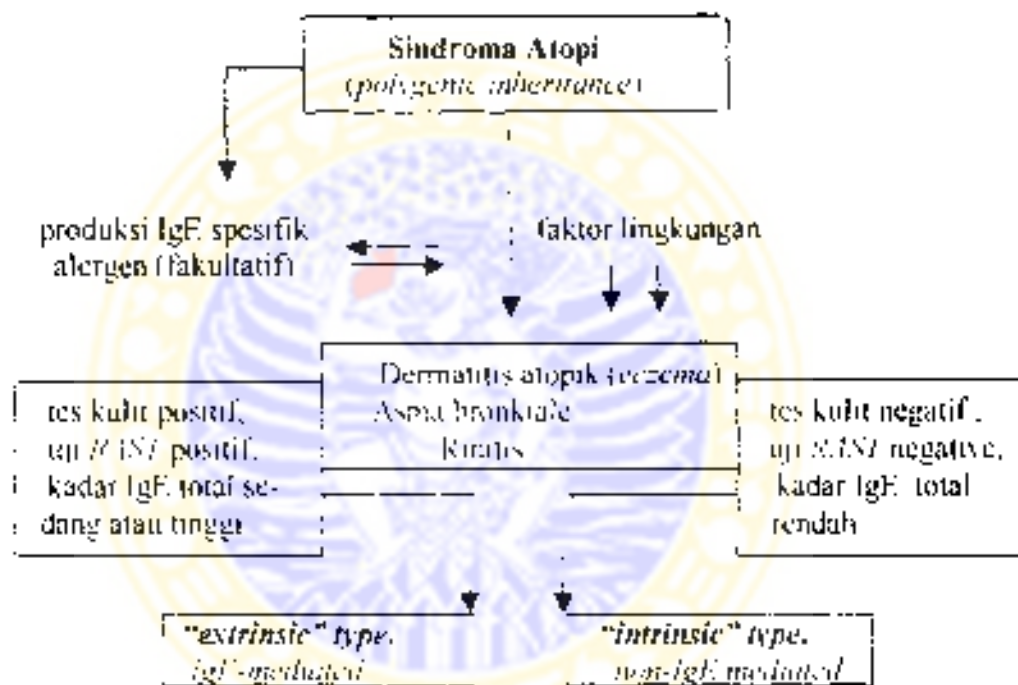
neurodermatitis dan *Besnier's prurigo dothustique*, lichen Vidal dan sebagainya (Arnold dkk 1990; Leung, 1992; Beltrani, 1996; Leung dkk. 1996). Ring (1985) menduga bahwa kaisar Roma, Augustus juga menderita penyakit ini dan merupakan sejarah DA yang paling awal ditulis orang (Hanifin, 1996). Identifikasi zatanti IgE pada tahun 1966 (Ishizaka, 1967) merupakan temuan paling penting dibidang imunologi dan kemudian kriteria Hanifin & Rajka (1980) yang dibuat untuk diagnosis DA, merupakan hal penting pula untuk memahami dan membedakan DA dengan keadaan non-DA.

Istilah eksema di masyarakat sudah dikenal luas, sering diartikan sebagai penyakit kulit gatal, disertai ujud kelainan kemerahan (eritema), papulo-vesikel, erosiif dan basah (eksudatif), keadaan ini merupakan tanda gejala inflamasi akut. Lesi kulit kadang kadang disertai pula edema dan bila mengering terjadi lesi yang berkrustae. Kata eksema ini telah lama dikenal, sejak zaman sebelum Maschi, yaitu 543 AD, berasal dari bahasa Yunani *eksein* yang berarti mendidih atau buih (Arnold, 1990; Hanifin, 1996). Istilah tersebut dimaksudkan untuk menggambarkan penyakit yang beragam ujud kelainan kulitnya seperti air mendidih. Penggunaan istilah eksema untuk DA saat ini tidak dianjurkan oleh karena terminologi tersebut bersifat non-spesifik, artinya dapat digunakan untuk berbagai bentuk dermatitis lain seperti eksema sebore, eksema numular dan sebagainya. Istilah eksema juga tidak dapat menerangkan lesi pada fase kronis, yang biasanya ditandai dengan ujud kelainan kulit kering, menebal, terlihat likenifikasi dan hiperpigmentasi. Lesi kulit fase kronis ini sering terjadi pada DA tipe anak serta dewasa.

Pada keadaan atopi terjadi suatu keadaan hipersensitifitas atau alergi yang disebabkan oleh karena faktor eksternal dan didapatkan suatu zat yang bereaksi terhadap faktor eksternal, didalam serum Zat tersebut kini dikenal sebagai imunoglobulin E (IgE), sehingga atopi diartikan sebagai suatu hipersensitifitas tipe I melalui perantaraan IgE. Berdasar pengertian tersebut maka DA dapat diartikan sebagai suatu peradangan kulit spesifik, yang berhubungan dengan keadaan atopi (Ring, 1991), atau dengan kata lain dermatitis disebabkan oleh karena adanya mekanisme hipersensitifitas tipe I yang melibatkan IgE. Wuthrich menyatakan bahwa DA lebih condong suatu penyakit atopik, bukan alergi, bila dibanding asma dan rinitis yang merupakan penyakit atopik dan sekaligus alergi. Ini disebabkan karena gejala DA lebih banyak bukan karena paparan alergen saja yang menimbulkan gejala (Wuthrich, 1999; Wuthrich & Grendelmeier, 2002), tapi juga karena respons imun abnormal, seperti respons Th1 yang dominan pada DA kronis menyebabkan hipertrofi kulit (Spergel, 1999).

Definisi DA pada penelitian yang akan dilakukan ini, adalah suatu inflamasi kulit dengan latar belakang kondisi atopi pada penderitanya, dengan gejala klinis sesuai kriteria Hanifin & Rajka (Wize & Sulzberger, 1933; Bruynzeel-Koomen, 1994; Sudigdoadi, 1997). Definisi ini walaupun menyandarkan kepada rumusan awal tentang kata atopi, namun demikian pada keadaan sehari-hari dijumpai beberapa kasus dermatitis dengan gejala klinis mirip DA namun tidak menunjukkan korelasi dengan IgE. Keadaan ini oleh Sudigdoadi disebut sebagai *DA non-immunologik*, disamping bentuk *DA immunologik* yang biasa didapatkan, yaitu yang disertai peningkatan kadar IgE (Sudigdoadi, 1995). Hal ini sesuai dengan klasifikasi penyakit

atopi seperti DA, asma bronkiale dan rinitis yang dibuat oleh Wuthrich pada tahun 1999. Wuthrich membagi 2 bentuk yaitu tipe ekstrinsik, dengan perantara IgE (*igE mediated*) dan tipe intrinsik atau *non-igE mediated* (Wuthrich, 1999). Klasifikasi penyakit atopi ini berdasar hasil uji kulit dan pemeriksaan laboratorium, baik IgE total maupun IgE spesifik (gambar 2.1).



Gambar 2.1: klasifikasi penyakit atopi (Wuthrich,1999)

Gambar diatas sesuai dengan konsep DA yang disetujui saat ini yaitu suatu peradangan kulit yang diturunkan secara genetik dengan gangguan respon imunitas terhadap bahan eksternal (dari lingkungan) dan memberikan reaksi peradangan



kronek (Bruynzeel-Koomen dkk, 1994), dengan peningkatan kadar IgE Total sebagai hal yang fakultatif

2.2. Dermatitis atopik dan kondisi atopi

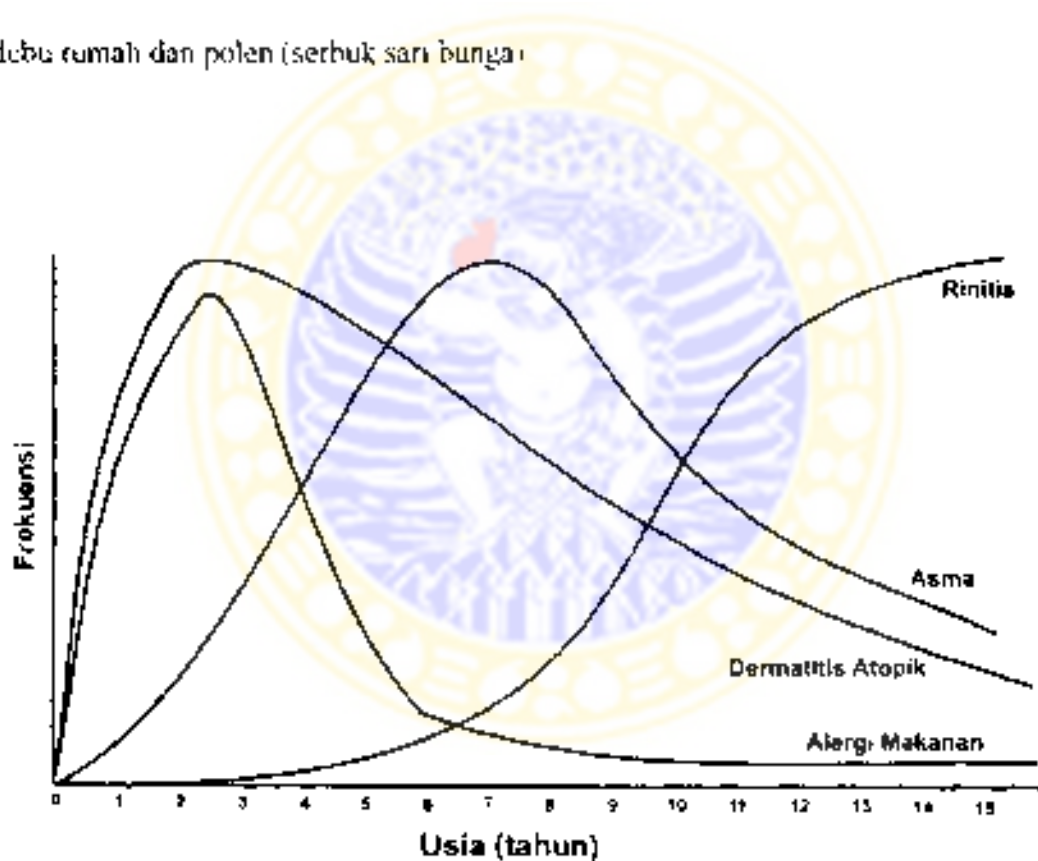
DA merupakan peradangan spesifik pada kulit orang *atopi* yang bereaksi abnormal terhadap alergen lingkungan dan diikuti dengan timbulnya lesi *eksematosa* (Rajka, 1986, Rajka, 1989). Diagnosis ditegakkan menggunakan kumpulan berbagai gejala klinis karena belum ada satupun gejala yang patognomonik (Sampson & Hanifin, 1991). Diagnosis DA sejak dahulu merupakan hal yang mudah apabila bersandar pada kliniko-morfologik, walaupun demikian semua kriteria diagnosis sebelum kriteria Rajka (1975) belum mencerminkan hubungan kausalistik antara dermatitis dengan atopi. Ketidakjelasan hubungan etiopatogenesis tersebut menyebabkan sampai saat ini kriteria menurut Rajka dan Hanifin (1980) masih merupakan pegangan baku.

Kondisi atopi menurut konsep awal oleh Coca dan Cooke diartikan sebagai fenomena hipersensitivitas terhadap bahan dari lingkungan, terjadi pada manusia dan cenderung bersifat familial (Ring, 1991). Berdasar definisi atopi ini pada mulanya, yang termasuk hanya rinitis alergi dan asma bronkial (Wuthrich & Grendelmeier, 2002). Baru setelah Wise & Sulzberger menerangkan istilah dermatitis atopik maka DA dianggap sebagai penyakit atopik pada kulit

2.2.1 Perjalanan penyakit atopik

Perjalanan alami penyakit atopik pada seseorang diawali pada usia dini (masa bayi) dan berlanjut ke masa anak sampai dewasa dengan periode remisi

diantaranya. Pada tahun pertama manifestasi atopik yang paling sering adalah DA disertai atau tanpa alergi makanan, yang dapat menetap sampai usia 3 – 4 tahun (Laan, 1999). Usia lebih dari enam tahun biasanya timbul asma dan lebih dari lima belas tahun umumnya akan menderita rinitis (lihat gambar 2.2). Sensitisasi alergi pada anak dibawah 4 tahun terutama karena makanan sedang pada usia lebih dan enam umumnya alergen hirupan sebagai penyebab. Makanan yang paling sering adalah kacang, susu sapi dan telur; sedang alergen hirupan yang utama adalah tungau debu rumah dan polen (serbuk sari bunga).



Gambar 2.2 : Perjalanan Alami Penyakit Atopi pada Anak (dimodifikasi dari ref. Laan,1999).

2.2.2 Faktor resiko timbulnya penyakit atopi

Gejala klinis penyakit atopik yang terjadi baik pada saat bayi ataupun anak dan remaja bahkan pada masa dewasa ditentukan oleh adanya faktor resiko. Faktor resiko utama adalah keturunan atau faktor genetik yang akan berinteraksi dengan lingkungan sehingga menyebabkan terjadinya ekspresi atopik pada seseorang.

a. Faktor genetik

Penelitian yang dilakukan sebagian besar ahli menyatakan bahwa faktor genetik akan menentukan seseorang akan menderita penyakit atopik atau tidak (Bonini 1997, Lian 1999, Jones 2000). Faktor genetik erat kaitannya dengan imunopatogenesis penyakit alergi (Bonini, 1997) sedang faktor non-genetik berperan mempengaruhi ekspresi penyakit atau menentukan spesifitas terhadap sesuatu jenis alergen. Beberapa studi keluarga menunjukkan bahwa bila kedua orang tua menderita penyakit atopik yang sama, misalnya DA maka kemungkinan anak mendapat dermatitis atopik atau dengan fenotipe sama adalah 70%; sedang bila kedua orang tua menderita atopi dengan fenotipe berbeda, 30 % anak akan menderita atopi pula (Oranye, 1995).

Pada awalnya DA sebagai penyakit genetik diduga pola pewarisannya dengan model *simple autosomal dominant inheritance*, namun beberapa ahli tidak sependapat oleh karena ternyata diketahui adanya interaksi kompleks diantara multigen yang akan menyebabkan manifestasi DA (Rothe & Grant Kels 1996; Beltrani 1996). Gen yang mengontrol terjadinya DA maupun penyakit atopi lain merupakan gen yang mempunyai kerentanan terhadap alergi dan terletak pada lebih dari satu lokus genetik (Bonini, 1997). Identifikasi calon (*candidate*) gen

yang reman terhadap alergi penting agar kita dapat memfokuskan analisis hubungan (*linkage*) dalam pemetaan gen pada regio kromosom tertentu. Beberapa lokus genetik pada kromosom diketahui mengandung gen atau calon gen yang produknya berperan dalam patogenesis DA atau penyakit alergi yang lain. Lokus genetik tersebut antara lain terletak pada kromosom sebagai berikut (Bonini, 1997, Elliot & Forest, 2002):

1. Kromosom 6p 21.3, merupakan kompleks gen HLA kelas II yang berperan pada proses pengenalan antigen. Gen HLA kelas II memproduksi protein membran yang terlibat dalam presentasi peptida antigen pada sel T CD4⁺
2. Kromosom 14q11, lokus yang menyandi reseptor sel T (TCR) subunit α sedang sub unit β disandi oleh kromosom 7q35
3. Kromosom 5q 31 – 33, adalah lokus yang menyandi berbagai sitokin yang diproduksi sel Th2 seperti IL-4, IL-13, IL-5, IL-3 dan IL-10. Selain itu kelompok gen pada lokus ini menyandi pula reseptor untuk pertumbuhan, diferensiasi dan *survival* dari makrofag
4. Kromosom 11q 12 – 13, gen yang menyandi reseptor IgE dengan afinitas kuat yaitu Fc ϵ R1 pada permukaan sel mast (Folster-Holst 1998)

b. Faktor lingkungan

Lingkungan mempengaruhi terjadinya penyakit atopik termasuk DA sebenarnya telah mulai sejak masa kehamilan dan terus terjadi setelah bayi lahir, neonatus sampai masa anak (Laan, 1999, Jones, 2000). Beberapa faktor yang

mendukung, antara lain didapatkan kadar IgE yang meningkat pada darah umbilikus dan ini dapat sebagai peranda spesifik akan terjadinya penyakit atopik dikemudian hari (Meneghini & Bonifazi, 1985).

Resiko terjadinya penyakit atopik pada bayi dari ibu atopi lebih besar dari pada dari ayah yang menderita atopi, menunjukkan pula kehamilan merupakan masa penting, yang menentukan perkembangan penyakit atopik selanjutnya. Selain itu diketahui pula bahwa paparan pada janin terjadi akibat pola makan ibu (hamil), kemungkinan juga alergen inhalasi; dan sistem imun fetus mampu untuk mulai merespon secara spesifik terhadap antigen (Jones, 2000). Fetus mampu memproduksi IgE sejak minggu ke XI masa kehamilan dan di sintesis oleh *foetal liver*, yang dilanjutkan sepuluh minggu kemudian di *foetal lung* dan limpa (Jones, 2000).

Pengaruh lingkungan dapat dihedakan menjadi dua kategori yaitu protektif dan kausatif, selain itu ada pula faktor lingkungan lain yang berpotensi dapat berinteraksi dan waktu terjadi pengaruh lingkungan (Asher, 2000). Termasuk pengaruh lingkungan yang *protektif* adalah

1. Diet (terutama sayuran, buah buahan, anti oksidan, *oily fish* , diet adekuat selama kehamilan dan pemberian ASI).
2. Paparan mikroba termasuk mikrobiota usus dan dari binatang ternak
3. Faktor sosial-ekonomi (kemudahan mendapatkan perawatan atau konsultasi medis)
4. Infeksi termasuk TB dan infeksi saluran napas pada awal kanak-kanak).

Pengaruh lingkungan bersitat *katamati* adalah

1. Lingkungan yang banyak asap rokok baik pada masa prenatal, bayi ataupun kanak-kanak dan merokok aktif pada masa anak dan dewasa muda
2. Faktor sosio-ekonomi (pola hidup makmur seperti sistem pemanas ruang sentral, untuk negara-negara dengan iklim dingin, mengisolasi diri)
3. Diet (terutama banyak mengandung asam lemak, diet ibu selama kehamilan)
4. Paparan alergen (tungau debu rumah, bulu binatang anjing, kucing, tikus, kecoa dan alergen makanan).

Faktor lain seperti imunitasi, *exercise* dan cuaca, peranannya pada penyakit atopik masih dalam penelitian, demikian pula waktu terjadinya pengaruh lingkungan, seperti paparan *in utero* atau paparan pada awal atau lanjut masa anak dan dewasa menentukan pula terjadinya respons alergi.

2.3 Epidemiologi dermatitis atopik

Dermatitis atopik merupakan penyakit kulit yang sering ditemukan diberbagai negara, terutama pada masa bayi, anak ataupun dewasa muda. Rajka (1989) melaporkan 60% penderita DA menyatakan timbulnya penyakit pada usia dibawah 1 tahun dan 30% terjadi pada umur 1-5 tahun. Walaupun usia awitan DA dapat terjadi pada usia dewasa, namun jarang dan bila terjadi seringkali diagnosis diketirakan dengan penyakit lain.

Survei nasional di Amerika tahun 1977 menunjukkan DA terjadi pada 7 orang diantara 1000 penduduk, sedang pada anak lebih tinggi yaitu 24 anak setiap 1000 (Leung, 1992). Tahun 1988 angka kejadian DA di Amerika Serikat adalah 1,9

3%-5% (Bernhusei-Broadbent & Sampson, 1988) dan laporan terakhir tahun 1994 menjadi 10%-15% (Sampson, 1994). Di Netherland, tercatat 370 (00) kasus DA dan penyakit ini menduduki posisi ke empat dari sepuluh penyakit kronis terbanyak (Bruinzeel-Koomen, 1994). Kompetensi dan ketrampilan pemeriksa penting dalam pencatatan insiden DA karena tidak ada satu tes laboratorium yang spesifik untuk diagnosis DA (Hanslin, 1996).

Di Indonesia sampai saat ini belum ada angka kejadian DA yang pasti, sebagai gambaran. Sri Aisyah tahun 1995 mengumpulkan angka kejadian DA dari 10 Rumah Sakit pendidikan kedokteran yang ada di Indonesia dari bulan Oktober 1994 sampai September 1995 dan tercatat total 3237 kasus (Aisyah S, 1995). Beberapa data lokal seperti di poliklinik Penyakit Kulit & Kelamin FK-UNPAD RSUD Hasan Sadikin, insidens DA pada tahun 1985 sampai 1989 berkisar antara 0,94% sampai 1,49% (Sudigdoadi, 1995), sedangkan tahun 1996 tercatat 1,65 %. Catatan medik pada poliklinik kulit & kelamin RSUD Dr Muwardi Surakarta, menunjukkan insiden DA selama tahun 1996 sampai 1998 adalah 2,58% sampai 4,75% (Elarjono, data belum dipublikasi).

Saat ini terdapat kecenderungan prevalensi DA terutama dinegara negara maju (Barat) terus meningkat serupa dengan kejadian asma (Oranye, 1995; Williams, 1999; Diepgen, 2000). Satu studi prevalensi DA pada anak oleh William dkk.(1994) menunjukkan adanya korelasi dengan meningkatnya klas sosio-ekonomi (Diepgen, 2000). Selama dekade terakhir ini prevalensi telah meningkat dari angka 3-5% menjadi hampir 10-20% dan penyebab kenaikan tersebut belum jelas (Oranye, 1995). Polutan dari lingkungan seperti meningkatnya paparan dengan aeroalergen,

asap rokok, alergen makanan dan seringnya pemakaian sabun diduga sebagai penyebab terjadinya kekeringan kulit.

Rasio laki laki dibanding wanita yang menderita DA pada semua usia adalah 1,2 : 1 dan tidak ada perbedaan ras yang signifikan. Orang orang Kaukasia lebih sering terkena (Leung, 1992), namun demikian beberapa laporan menunjukkan hal yang sebaliknya. Sebagai contoh Sladden dkk pada 1991 menemukan 17,3% orang Asia menderita DA, sedang non Asia = 4,1%. Penelitian *cross sectional* pada 693 anak sekolah dasar di London menunjukkan prevalensi =16,3% pada anak kulit hitam Karibia, 8,8% anak Asia, 8,7% kulit putih dan 4,7% pada anak kulit hitam Afrika (dikutip dari Rothe & Grant-Kells, 1996).

Faktor iklim dan lokasi atau geografi juga mempengaruhi perbedaan insiden; penelitian yang dilakukan oleh Rothe & Grant-Kells (1996) mendapatkan bahwa DA banyak dijumpai dibelahan bumi utara seperti di Swedia dan Norwegia (Rothe & Grant-Kells, 1996). Adanya perubahan pola hidup, yang dikenal sebagai *Western life-style*, yang terjadi pada masyarakat Eropa setelah perang dunia II dipercaya pula sebagai pemicu peningkatan prevalensi DA (Diepgen, 2000; William, 2000). Beberapa faktor lain seperti terjadinya urbanisasi, dll, bentuk bangunan dan rumah kediaman penderita, yang mengalami perubahan perubahan dapat sebagai faktor resiko terjadinya dermatitis atopik (Diepgen, 2000) (tabel 2.1). Pola hidup masyarakat maju seperti diatas telah terjadi pula disini, sehingga kemungkinan peningkatan prevalensi DA di Indonesia perlu di antisipasi.

Tabel 2.1. Perubahan gaya hidup dan lingkungan setelah Perang Dunia II di negara industri Barat.*

Faktor	Perubahan
Urbanisasi	paparan polusi udara tinggi. perubahan kebiasaan kebiasaan utama
<i>Lifestyle</i>	waktu tersita kebanyakan didalam bangunan. banyak mengadakan perjalanan dan terpapar lingkungan baru, keluarga kecil, income tinggi, banyak kendaraan dan binatang piaraan, sedikit resiko infeksi
Diet	konsumsi makanan bermacam macam (kebanyakan baru), bahan pengawet dan bahan tambahan makanan baru, makanan buatan pabrik, makanan terserap lama, manipulasi genetik tidak ada variasi makanan musiman
Bangunan & rumah	material bangunan baru, kedatangan yang luas namun terisolasi, bahan kimia baru di rumah, meningkatkan kelembaban dalam rumah.

*U dikutip dan dimodifikasi dari Diepgen, 2006

2.4 Diagnosis

Pada awalnya diagnosis dermatitis atopik berdasarkan berbagai fenomena klinis yang menonjol, terutama gejala gatal. Rajka menyatakan bahwa diagnosis dermatitis atopik tidak dapat dibuat tanpa ada riwayat gatal (Beltrani, 1996). Haniffin dan Rajka (1980) mengajukan kriteria diagnosis untuk DA yang sampai sekarang masih banyak digunakan (Hurwitz, 1993; Rothe & Grant-Kels, 1996; Leung, 1996).

Kriteria tersebut dapat dilihat lampiran tabel 1 dan beberapa kriteria diagnosis lain kemudian menyusul, seperti kriteria Svenssons, atau kriteria berdasar manifestasi klinis oleh William dkk (1994). Kriteria William dkk. lebih bertujuan untuk digunakan dalam suatu survei epidemiologis oleh dokter *non-dermatologist* dalam studi berbasis populasi (*population-based studies*). Kriteria diagnosis yang lain adalah kriteria Lillehammer (1994) berdasar pada adanya perbedaan gejala klinis pada setiap fase timbulnya DA, yaitu fase bayi, fase anak dan fase dewasa (Witthrich & Grendelmeier, 2002). Kriteria ini membagi pada setiap fase DA untuk dasar diagnosis menjadi 4 bagian yaitu gejala klinis, anamnesis, pemeriksaan laboratorium dan lama menderita.

Hubungan antara gatal dengan DA telah lama diakui oleh para klinisi dan gatal ini merupakan gejala primer yang akan mempengaruhi timbulnya kelainan morfologi atau ujud kelainan kulit sebagai gejala sekunder (Rajka, 1986; Belfrani, 1996). Hubungan gatal dengan terajanya ujud kelainan kulit dapat dilihat pada gambar 2.3.

Pemeriksaan penunjang diagnosis, antara lain digunakan uji alergi pada kulit (*skin test*) untuk mengetahui adanya hubungan dengan faktor alergi, dan pemeriksaan laboratorium untuk konfirmasi diagnosis DA. *Skin test* yang sering dilakukan pada penderita DA adalah uji tusuk (*skin prick test*), untuk melihat respons humoral yang merupakan reaksi tipe I, sedangkan uji tempel (*patch test*) untuk melihat respons tipe IV atau respons seluler pada penderita DA (Tanaka, 1989; Nanda Dewi, 1993; Sudigdo adi, 1995; Fabrizi, 1999). Uji tusuk dilakukan dengan

menggunakan alergen inhalasi maupun makanan guna menentukan kemungkinan jenis alergen lingkungan sebagai penyebab dan reaktivitas kulit.

Pemeriksaan laboratorium yang penting adalah penentuan kadar IgE total didalam serum penderita DA (Rajka, 1989) untuk menentukan bentuk atau tipe DA ekstrinsik atau intrinsik. Pemeriksaan IgE spesifik dengan metode *RAST* (*radioallergosorbent test*) digunakan untuk mengetahui adanya IgE spesifik terhadap alergen tertentu dalam serum (Siti Boedina, 1996).

2.4.1 Gambaran klinis DA

Gejala klinis DA secara umum adalah gatal, kulit kering dan timbulnya lesi kulit eksematosa (*eksematous inflammation*) yang berjalan kronik dan residif. Kelainan morfologi kulit pada DA yang sering dijumpai, mirip dermatitis yang lain dan merupakan kumpulan atau kombinasi dari lesi nonspesifik yang erat hubungannya dengan gatal seperti prurigo, likemifikasi dan lesi eksematosa. Beberapa gejala klinis yang penting adalah:

a. Gatal

Rasa gatal atau pruritus merupakan salah satu tanda dari kriteria major Hanifin & Rajka disamping tanda yang lain yaitu adanya riwayat atopi, perjalanan klinis kronis kambuhan dan morfologi kelainan kulit & predileksi yang khas. Gatal dapat terasa sangat intens, siang ataupun malam hari sehingga mengganggu aktifitas penderita. Garukan dapat berakibat memberikan tanda bekas garukan (*scratch marks*), yang akan diikuti oleh timbulnya kelainan sekunder berupa papula, erosi atau ekskoriasi dan selanjutnya bila proses menjadi kronis akan terjadi likemifikasi (Hanifin, 1992). Gatal atau *pruritus* adalah sensasi yang tidak

menyebabkan dan menyebabkan keinginan untuk menggaruk. Rasa ini timbul oleh terangsangnya reseptor gatal oleh suatu stimulus, dan reseptor ini merupakan elemen yang sama dengan reseptor nyeri superfisial (Greaves, 1993). Reseptor gatal terletak pada ujung saraf yang tidak bermielin (*unmyelinated nerve fibers*) pada kelompok C, terletak di dekat *dermo-epidermal junction* (Greaves, 1993, Beltrani, 1996). Kadang kadang rasa gatal dapat mengganggu karena penderita selalu menggaruk dan apabila dialami terus menerus disertai rasa gatal yang sangat, dapat menyebabkan penderitaan dan kurang percaya diri. Nilai ambang terhadap rangsangan gatal pada penderita DA rendah dibanding dengan orang normal (Rajka, 1986) dan beberapa *provokator* gatal yang sering pada penderita DA dapat dilihat pada tabel 2.2 (Beltrani, 1996):

Tabel 2.2. *Provokator* gatal pada DA *

Cuaca panas dan keringat	96%
Wool	90%
Stres emosi	80%
Makanan tertentu	49%
Alkohol	44%
Demam	36%

* dikutip dari Beltrani, 1996

Selain itu bahan dari luar atau agen mikrobal dapat pula sebagai pemicu timbulnya gatal. Rangsangan atau faktor faktor yang dapat memicu terjadinya gatal dapat berupa (Beltrani, 1996):

1. Bahan iritan seperti wool, sabun, desinfektans, asap rokok, kulit kering (=xerosis)
2. Alergen inhalan seperti tungau debu, polen, jamur, serpih kulit manusia .
3. Agen mikrobial seperti *stafidokokus aureus*, *pyrospora yeast*, infeksi virus, kandida albikan, spesies *trikofiton*
4. Makanan tertentu, hormon, stres psikis, keringat, cuaca dan kontakian dapat pula sebagai faktor pemicu gatal pada DA

b. Prurigo

Prurigo adalah papul papul kecil yang khas, berbentuk kubah, disertai vesikel pada puncaknya, biasanya terasa sangat gatal sehingga menyebabkan ekskoriasi dan erosi akibat garukan dengan didapatkan krusta bila vesikel mengering. Papula disebut *prurigo papules*, dan bersamaan dengan timbulnya vesikel (*papulovesikel*) serta eritema, merupakan gambaran lesi eksematous yang khas. Lesi kulit yang sangat basah (*weeping*) dan berkrusta sering didapatkan pada kelainan yang lanjut (Leung, 1996).

c. Likenifikasi

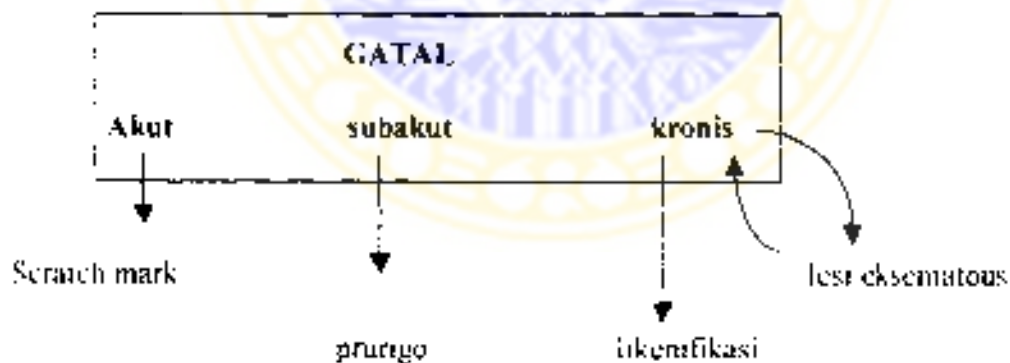
Likenifikasi merupakan kelainan kulit berupa plakat berbatas kurang jelas dengan gambaran galur kulit tampak menonjol, biasanya berwarna keabuan atau kecoklatan dan kulit terlihat menebal (Rajka, 1986). Kulit didaerah likenifikasi yang semakin tebal, akan semakin terasa gatal (Beltrani, 1996). Pada setiap penyakit kulit kronis biasanya didapatkan gambaran likenifikasi, namun umumnya terjadi pada DA. Likenifikasi merupakan respon dermo-epidermal terhadap garukan yang persisten (Rajka, 1986), menyebabkan keratinosit

mengalami *pruritus* sehingga mengeluarkan sitokin antara lain GM-CSF yang akan merangsang kulit sehingga terjadi penehalan (Ramirez, 2002)

d Lesi eksematosa

Ujud kelainan kulit atau *effloresensi* yang dapat diamati pada lesi eksematosa berupa eritema, papel papel berskuama, disertai rasa gatal sangat dan vesikel diatas dasar kulit yang eritematous, bisa dilihat jelas. Vesikel yang pecah akan menyebabkan lesi *ekstendantif* (basahi dengan adanya ekskoriasi dan serum yang mengering akan menjadi krusta

Hubungan antara gatal dengan timbulnya pola kelainan morfologis yang berbeda beda pada DA seperti prurigo papules, ekskoriasi, likenifikasi dan lesi eksematosa dapat digambarkan seperti pada gambar 2.3. Gatal sebagai fenomena primer berkorelasi erat dengan terjadinya suatu ujud kelainan kulit yang merupakan gejala sekunder pada DA (Rajka, 1996)



Gambar 2.3 : Hubungan antara gatal dengan lesi kulit pada dermatitis atopik.

Sebagian besar kasus DA dimulai pada umur antara 2 sampai 6 bulan walaupun usia awitan ini dapat terjadi pada setiap usia didalam kehidupan penderita. Gejala DA yang terjadi pada masa bayi, dikenai dengan tipe infan (*infantile type*), biasanya dimulai pada wajah kemudian menyebar kebagian tubuh yang lain, terutama daerah ekstensor. Lesi kulit terdiri dari papul papul edematous yang menggerombol, terasa sangat gatal sehingga tampak basah, eksudatif akibat garukan dan berkrustae, sering pula terjadi infeksi sekunder. Penyakit berjalan kronis dengan kekambuhan dan pada kurang dari setengah kasus, kelainan biasanya akan menyembuh setelah usia 18 bulan dan sisanya akan berlanjut menjadi bentuk anak (Champion dan Parish, 1992).

DA pada anak atau tipe anak (*childhood types*) berjalan kronis dan akan berlanjut sampai usia sekolah dengan predileksi pada lipatan siku, lipatan lutut, leher bagian samping, pergelangan tangan dan pergelangan kaki. Jari jari tangan sering terkena dengan lesi yang eksudatif dan kadang kadang terjadi kelainan kuku. Lesi eritema dan papul edematous seperti pada fase bayi cenderung menjadi kering, dan sering terjadi likenifikasi. Beberapa kasus likenifikasi tidak terjadi sampai anak usia sekolah dan terlihat lesi campuran antara papul likenifikasi dan eksematosa dengan vesikel berbentuk *diskoid*, biasanya pada daerah ekstensor. Lesi berupa vesikel vesikel akut biasanya menunjukkan adanya infeksi sekunder oleh bakteri atau virus yang dapat *general* atau setempat. Tanda dan Dennie-Morgan berupa lipatan kulit dibawah kelopak mata bawah sering ditemukan (Champion dan Parish, 1992). Perubahan pigmen kulit menjadi hiperpigmentasi, bisa timbul dengan berlanjutnya lesi, kadang hipopigmentasi bahkan depigmentasi (Leung, 1992).

Pada tipe dewasa (*adult type*), lesi mirip pada anak usia lanjut (8-12 tahun) dengan lichenifikasi terutama pada daerah lipat lipat kulit dan tangan. Selama masa puber gejala psikologis dapat memberikan efek negatif terhadap penyakit, demikian pula gejala atopik pada saluran nafas khususnya asma (Rajka, 1986). Pada wanita usia sekitar 20 tahun sering terjadi dermatitis pada tangan (*hand dermatitis*) yang kadang kadang sebagai tanda awal dari DA. Sering pula timbul lesi setempat pada *nipple* atau daerah *verruca* dari bibir pada masa remaja dan wanita usia muda. Pada akhir usia dua puluhan kebanyakan kasus DA cenderung mengalami remisi, dan penyebabnya masih merupakan hal yang belum diketahui (Rajka, 1986). Selain gejala utama yang telah diterangkan terdapat pula gejala-gejala lain yang tidak selalu terdapat, dikenal sebagai kriteria minor seperti pada kriteria diagnosis dari Hanifin-Rajka (lampiran tabel 1).

2.4.2 Immunoglobulin (Ig) E dalam serum

Imunoglobulin (Ig) E merupakan mediator pada reaksi hipersensitiv tipe I dan peningkatan IgE total dalam serum serta reaktivitas IgE spesifik terhadap beberapa alergen merupakan petanda reaksi tipe I seperti pada penyakit atopi termasuk DA. Telah lama diketahui pada 60-80% penderita DA disertai peningkatan kadar IgE total dalam serum (Ishizaka, 1967; Juhlin, 1969; Jones, 1975; Brujazeel-Koomen, 1986). Penemuan zatanti *reagin* dalam sera penderita DA, pertama kali oleh Ishizaka dkk sebagai klas tersendiri. Zatanti ini kemudian diidentifikasi sebagai IgE, dan penemuan IgE merupakan sumbangan yang berarti untuk penelitian dibidang imunologi selanjutnya. Demikian pula adanya IgE spesifik terhadap alergen lingkungan, terutama aeroalergen seperti tungau debu rumah,

merupakan temuan sangat berguna dalam memperjelas patogenesis DA (Brujnzeel-Koomen, CAF, 1988; Brujnzeel-Koomen, vanWichen & Spry, 1988). Penemuan ini membuka pintu kepada aplikasi cabang ilmu lain seperti molekuler biologi dan teknik imunopatologi untuk mempelajari terjadinya reaksi alergi pada jaringan. Walaupun demikian peningkatan kadar IgE bukan syarat mutlak untuk menegakkan diagnosis DA (Johnsons, 1974; Werfel & Kapp, 1999).

Kadar IgE total yang tinggi pada DA tidak berhubungan dengan gejala klinis ataupun adanya riwayat penyakit atopi lainnya yang menyertai (Juhlin, 1969), namun beberapa peneliti lain menyatakan bahwa DA disertai penyakit atopi pada saluran nafas (ARD=*atopic respiratory disease*) mempunyai kadar IgE total jauh diatas normal dibanding bila menderita DA saja (Jones, 1975; Champion & Parish, 1992; Leung, 1992). Penelitian Harijono pada 15 penderita DA mendapatkan hasil tidak didapatkan korelasi positif antara kadar IgE total dengan jumlah eosinofil darah maupun derajat penyakit (Harijono, 2000).

Pada DA molekul IgE melekat dengan afinitas kuat pada permukaan sel Langerhans, melalui *FcεR1* dan bila terjadi paparan alergen secara efisien ditangkap dan diproses didalam LC, kemudian dipresentasikan pada sel T (Brujnzeel-Koomen, CA). 1986; Bieher, 1989; Sudigdo Asdi, 1995). Beberapa sel lain juga mempunyai reseptor untuk IgE seperti sel mast, basofil, eosinofil, sel B dan T, platelet dan monosit (Brujnzeel-Koomen, CAF, 1986; Corry & Kheradmand, 1999). Interaksi IgE dipermukaan sel dengan alergen yang spesifik akan merangsang pengeluaran

produk toksik dan mediator lain dari sel tersebut, sehingga menyebabkan timbulnya gejala gejala DA.

2.4.3 Immunoglobulin G (IgG).

Respons humoral segera setelah paparan alergen tungau debu rumah pada penderita DA selain menunjukkan adanya respons IgE yang spesifik, juga didapatkan pula immunoglobulin dari subklas IgG4 terhadap *Der. pteromyssinus*, dan diikuti dengan produksi sitokin Th2 (Tame, 1996, Kimata, 1999). Namun pada stadium kronis DA menunjukkan respons imun Th1 yang lebih dominan dengan produksi IFN-gamma meningkat (Thepen, 1996, Grewe, 1998; Kanek, 2001). Pada respons imun Th1 ini, peningkatan kadar IFN-gamma akan diikuti dengan induksi pada sel B untuk IgG2-*switch*, sehingga respons antibodi yang timbul adalah IgG2 sebagai pertahanan terhadap patogen intra sel (Servet-Delprat, 1996, Corry & Kheradmand, 1999).

2.4.4 Penilaian derajat keparahan penyakit

Derajat keparahan atau berat ringan penyakit DA pada seseorang, dapat di nilai dengan menggunakan parameter yang menggambarkan proses inflamasi alergi yang terjadi pada DA. Parameter derajat keparahan penyakit tersebut dapat dilihat secara klinis, oleh karena sampai saat ini belum ada parameter laboratorium yang disepakati para ahli.

Rajka dan Langeland pada tahun 1989 mengusulkan derajat keparahan penyakit dermatitis atopik yang sampai sekarang masih banyak digunakan karena praktis, dapat ditentukan dengan skala konsultasi (Rajka dan Langeland, 1989) (lampiran tabel 2). Penentuan derajat keparahan dermatitis atopik (*the severity of*

atopic dermatitis) menurut Rajka dan Langeland berdasarkan atas tiga parameter, yaitu .

1. luas lesi kulit yang diukur dengan "rule of nine",
2. perjalanan penyakit, ditentukan berdasar anamnesis berapa lama mengalami remisi dalam satu tahun:
 - bila lebih dari 3 bulan skor =1
 - bila remisi kurang dari 3 bulan skor =2
 - bila sepanjang tahun tidak pernah remisi .. skor =3
3. intensitas penyakit, ditentukan berdasarkan gangguan tidur penderita yang diakibatkan oleh rasa gatal yang timbul. Adanya gangguan tidur pada malam hari oleh karena gejala gatal.
 - bila kadang kadang mengganggu. skor =1
 - bila terus menerus mengganggu tidur. skor =3

Dengan menjumlahkan skor yang didapat dari ketiga parameter tersebut dikategorikan dalam derajat keparahan penyakit sehingga didapatkan derajat keparahan DA sebagai berikut (lampiran tabel 21)

- derajat ringan , bila skor = 3 sampai 4,
- derajat sedang bila skor = 4.5 sampai 7.5
- derajat berat bila skor = 8 sampai 9

The European Task Force on Atopic Dermatitis (1993) menggunakan sistem skoring pula berdasarkan 3 parameter yaitu, pertama luas lesi/penyakit (*extent*), kedua

intensitas dan yang ketiga adalah gejala subyektif. Indeks ini dikenai dengan istilah **SCORAD Index**. (Stalder & Taiebb, 1991)

Luas lesi (dengan simbol A) dihitung berdasar *rule of nine*, sedang intensitas (simbol B) dinilai pada lesi yang representatif dan gejala subyektik (simbol C) diukur dengan VAS (*visual analog scale*). Lesi yang representatif (B) diukur dengan melihat bentuk ugud kelainan kulit yaitu eritema, edema papel, *orange*-krustasi, ekskoriasi, likenifikasi dan *verruca* kutis diluar lesi. VAS dihitung dengan nilai rerata gangguan tidur selama 3 hari setiap malam. Gangguan tidur oleh karena gatal dinilai dengan skor 0 sampai sepuluh (10). Angka nol (0) bila tidak ada gejala gatal dan tak ada gangguan tidur, sedang nilai 10 bila terdapat gejala sangat gatal dan terjadi gangguan tidur selama 3 malam. Nilai diantaranya merupakan gradasi keluhan gatal dan gangguan tidur dari penderita selama 3 malam berturut turut. SCORAD didapat dengan memakai rumus $= A \cdot 5 + 7B \cdot 2 + C$. Pada penelitian ini digunakan SCORAD Index untuk menentukan derajat keparahan penyakit. (lihat lampiran 8)

Beberapa peneliti melaporkan hasil penelitian laboratorium yang masih kontroversi tentang hubungan kadar molekul adhesi dengan aktivitas penyakit DA. Penelitian Kowalczik (1995) menyatakan bahwa kadar *intercellular adhesion molekul 1* (ICAM-1) dan *endothelial leucocyte adhesion molecule-1* (ELAM-1) dalam serum bukan sebagai peranda yang baik untuk aktifitas penyakit secara aktual pada eksema atopik yang berat. Koide dkk. (1997) menyimpulkan adanya korelasi positif antara aktifitas penyakit dengan perubahan kadar ELAM-1 dan *vascular cell adhesion molecule 1* (VCAM-1). Kadar ELAM-1 merupakan parameter klinik yang sensitif

dalam monitor perjalanan atau aktivitas penyakit DA (Koide, 1997; Wolkerstorfer, 1998).

Eksresi VCAM-1 dan ICAM-1 pada pemeriksaan *immunostaining* dari biopsi kulit penderita dermatitis atopik menunjukkan peningkatan yang signifikan dari pada orang normal (Jung, 1996). Penelitian lain, pengukuran kadar reseptor IL-2 (IL-2R), ICAM-1 dan ECP (*eosinophil cationic protein*) dalam serum sebagai marka inflamasi berguna untuk monitoring aktivitas penyakit DA anak (Wuthrich, 1995; Halmerhauer, 1997). Banyak laporan penelitian yang menghubungkan derajat keparahan dengan parameter laboratorium, namun demikian sampai saat ini belum ada yang diterima secara menyeluruh oleh kalangan ahli dermatologi.

2.4.5 Uji kulit : uji tusuk = *prick test*

Uji tusuk adalah tes *in vivo* dilakukan pada kulit penderita yang diduga alergi terhadap satu atau beberapa alergen tertentu. Uji ini terbukti mempunyai korelasi yang baik dengan bahan yang diduga sebagai penyebab alergi pada penderita, namun demikian hasil negatif terhadap suatu alergen tidak menyingkirkan kemungkinan seseorang alergi terhadap bahan alergen tersebut (Hanifin, 1996; Sakim, 1996). Hal ini oleh karena hasil tes negatif palsu mungkin dapat disebabkan beberapa hal seperti penderita mendapat pengobatan antihistamin atau steroid dalam waktu 96 jam terakhir, bahan kadaluarsa atau rusak. Demikian pula sebaliknya secara klinis hasil positif terhadap suatu alergen, tidak selalu penderita alergi terhadap bahan alergen tersebut, atau masih toleran terhadap bahan tersebut. Hal ini dapat disebabkan oleh karena alergi terhadap bahan penambahnya (pengawet, pewarna dsb), bukan ekstrak alergennya (Champion & Parish, 1992; Benitez, 2002). Hasil uji

kulit positif juga tidak dapat mengidentifikasi organ sasaran yang mengalami inflamasi alergi.

Tujuan melakukan uji kulit pada penderita DA adalah sebagai penunjang diagnosis dan dapat dipakai untuk mendeteksi adanya reagin atau IgE spesifik yang terikat pada permukaan sel mast didalam kulit penderita.

2.4.6 Uji tempel

Uji tempel pada dermatitis atopik dikenal dengan istilah *atopic patch test* (APT) merupakan suatu uji kulit secara epikutan dengan menggunakan alergen yang diketahui dapat menyebabkan reaksi yang diperantarai antibodi IgE. Uji ini digunakan untuk meng-evaluasi terjadinya suatu lesi eksematosa oleh karena paparan alergen melalui kulit (Darsow and Ring, 2000).

Uji atau tes tempel telah lama dikenal sebagai tes yang digunakan untuk mengidentifikasi dermatitis kontak alergi walaupun demikian penggunaannya untuk dermatitis atopik baru pertama kali dilakukan oleh Mitchel dkk pada tahun 1982 (dikutip dari Wheatley & Platts-Mills, 2000). Uji tempel memberikan respons positif sebesar 15–100% tergantung metode yang dipakai seperti abrasi kulit sebelumnya, penutup alergen (*tape stripping*) dan pemakaian *sodium lauryl sulfate* untuk meningkatkan penetrasi alergen (Darsow & Ring, 2000). Di Indonesia dilakukan APT pertama kali oleh Sudigdoadi (Sudigdo Adi, 1995) dan diikuti oleh banyak peneliti dibelakangnya.

Pada kulit yang menunjukkan respons positif dengan ekstrak tungau debu rumah (TDR) bila dilakukan biopsi, terdapat infiltrasi sel basofil, eosinofil dan limfosit CD4+. Dibanding dengan biopsi pada lesi DA tampak infiltrasi yang

dominan adalah limfosit CD4⁺, sedangkan basofil dan eosinofil sedikit. Perbedaan ini hanya karena stadium terjadinya lesi (Wheatly & Platts-Mills, 2000). APF dikatakan berkorelasi positif dengan peningkatan kadar IgE total, dan derajat penyakit (Darsow & Ring, 2000). Limfosit CD4⁺ pada DA dikenal sebagai limfosit spesifik alergen dan mempunyai profil sebagai Th2.

2.4.7 Gambaran histopatologi DA

Tanda khas setiap lesi *eksematosa* dengan pemeriksaan histopatologis adalah eksudat serous interseluler (*spongiosis*) disertai pembentukan vesikula, parakeratosis pada stratum korneum dan sekukan sel radang mononuklear perivaskuler di daerah dermis bagian superfisial (Burgdorf, 1984, Arnold, 1990). Epidermis terlihat mengalami hiperplasia dan infiltrasi terutama limfosit yang tersebar pada dermis.

Pada lesi DA akut didapatkan infiltrasi perivenule sel radang terutama limfosit dan beberapa monosit serta sedikit eosinofil, basofil dan neutrofil pada dermis. Sel mast dapat ditemukan dalam jumlah normal dan dalam stadium degranulasi yang berbeda (Boguniewicz & Leung, 2000).

Lesi DA kronis ditandai oleh hiperkeratosis dan diskematosis sel sel epidermis dan didapatkan sekukan limfosit serta sel Langerhans lebih menonjol baik di epidermis maupun di perivaskuler dermis (Leung dkk, 1992). Infiltrasi dermis terutama oleh monosit:makrofag serta mast sel jumlahnya meningkat tapi tidak mengalami degranulasi.

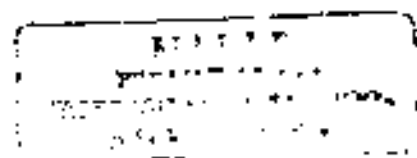
2.5 Patogenesis

Dermatitis atopik merupakan penyakit kulit inflamasi yang sampai sekarang belum diketahui etiologi dan patogenesisnya belum jelas. Faktor yang terlibat

didalam patogenesis sangat kompleks seperti faktor genetik, farmakologi, lingkungan dan psikis, walau demikian sudah sejak lama para ahli memusatkan perhatian pada gangguan fisiologi dan imunologi (Leung & Hamid, 1996). Gangguan fisiologi seperti kelenjar lemak permukaan kulit dapat menyebabkan kulit menjadi kering, *xerosis* dan gatal. Nilai ambang rangsang rasa gatal yang rendah, reaktivitas kulit yang abnormal dan lambatnya respons kolinerjik merupakan gangguan fisiologi yang lainnya (Leung & Hamid, 1996) Peranan neuropeptida pada patogenesis DA akhir akhir ini banyak pula mendapat perhatian (Claudy, 1996; Scholzen, 1998).

Pendapat yang banyak diterima saat ini adalah DA merupakan penyakit inflamasi kulit yang berdasarkan mekanisme *atopi*, paralel dengan asma dan rinitis atopi (Bellanti, 1979; Rouf, Brostoff & Maie, 1993; Terr, 1994). Teori imunologik untuk menjelaskan patogenesis DA berdasarkan bahwa kulit merupakan organ yang tidak saja sebagai sasaran atau target tetapi juga mampu mengawali (inisiasi) respon imun, sesuai dengan konsep sistem imun pada kulit (Bos & Kapsenberg 1986; Bos, Das and Kapsenberg, 1990).

Berbagai bukti dan hasil penelitian menunjukkan bahwa mekanisme imunologi atau respon imun memberi kontribusi pada terjadinya lesi DA. Hasil pemeriksaan imunologis menunjukkan DA juga konsisten sebagai penyakit alergi (Yamamoto, 1997). Hal itu terbukti dengan meningkatnya produksi IL-5, dan menurunnya sintesis IL-2 dari sel mononuklear darah perifer anak yang menderita DA, artinya keadaan ini mencerminkan adanya suatu aktivasi eosinofil dan IgE dalam serum yang tinggi pada DA (Yamamoto, 1997).



Gangguan respon imun baik humoral maupun selular pada penderita DA telah dibuktikan dengan percobaan uji tusuk yang memberikan reaksi segera (Norris, Schofield & Camp, 1988) ataupun uji tempel menggunakan alergen tungau debu rumah (Brujnzeel-Koomen, 1989. Sager, 1992). Berdasarkan penelitian dengan uji tempel tersebut akhirnya dapat dijelaskan timbulnya lesi kulit pada DA yang menyerupai lesi dermatitis kontak alergi merupakan hasil interaksi antara berbagai sel imunokompeten di jaringan kulit.

2.5.1 Sistem imun kulit

Kulit merupakan organ tubuh yang penting, terletak paling luar dan membatasi antara lingkungan luar (*milieu exterior*) dengan kehidupan didalam (*milieu interior*). Fungsi utama kulit adalah untuk pertahanan tubuh yang tidak saja bersifat fisis-mekanis tetapi juga dapat mengadakan sintesa berbagai substansi biologis (Bos & Kapsenberg, 1986).

Sistem pertahanan imunologis kulit pertama kali ditulis oleh Kondo pada thn 1927 yang menerangkan tentang limfosit intraepidermal dan kemudian Streilein (1978) menyebutnya sebagai *skin-associated lymphoid tissue* atau **SALT** (dikutip dari Bos & Kapsenberg, 1986). Komponen SALT terdiri dari sel Langerhans, keratinosit, limfosit-T yang mempunyai epidermotrofik (*skin homing T cells*) dan kelenjar limfe perifer di kulit termasuk sel endotel vaskuler yang mampu menangkap limfosit yang beredar.

Fungsi kulit sebagai organ imunologik spesifik dapat dibuktikan dengan terjadinya proses maturasi sel imunokompeten, pengenalan antigen dan tempat terjadinya respons imun disamping sebagai organ sasaran dan sumber autoantigen

(Bos, 1990) Sel imunokompeten di kulit mempunyai hubungan erat dengan sistem imun didalam tubuh secara keseluruhan, oleh karena itu paparan antigen terutama pada orang yang mempunyai kecenderungan atopik dapat menimbulkan respon hipersensitif atau alergi yang dimulai pada kulit dan diperantarai IgE (Tjokronegoro A, 1991).

Sel lain yang ikut berperan serta pada sistem imun kulit adalah mastosit, makrofag jaringan, granulosit, sel indeterminate atau sel dendritik (sel bertaju) yang ada didalam epidermis, sel veiled (sel bercadar) yang berada didalam saluran aferen limfe, sel sel endotel vaskuler dan sel endotel limfatik aferen kulit (Bos & Kapsenberg, 1986) Sel tersebut dikenal sebagai sel efektor oleh karena dapat berfungsi langsung sebagai mediator respon imun ataupun mampu mem-produksi sitokin pro-inflamatorik dalam merespons rangsangan dari luar. Komponen seluler ini dapat digolongkan menjadi 2 macam yaitu sel yang tinggal di kulit (*resident*) dan yang di-rekrut dari darah tepi pada saat terjadi reaksi inflamasi akibat rangsang dari luar. Macam sel dalam kulit yang terlibat dalam respons imun beserta fungsinya dapat dilihat pada tabel 2.3.

Tabel 2.3. Macam dan fungsi elemen seluler dalam kulit pada sistem imun *

Macam sel	Fungsi
I. Sel residen dalam kulit:	
-Keratinsit	memproduksi IL-1 sebagai respon thd. injuri
-Limfosit intra epidermal	produksi sitokin
- <i>Dendritic cells</i> (sel Langerhans)	efek sitotoksik dg. perantara sel memproses dan presentasi antigen produksi sitokin
-Makrofag dermis	transport antigen ke kelenjar limfe fagositosis
-Fibroblas	memproses dan presentasi antigen produksi sitokin
-Sel mast	produksi sitokin produksi <i>keratinocytes growth factor</i> produksi/mengeluarkan mediator anafilaksis
-Sel endotel	produksi kemokin mengatur lalu lintas leukosit (<i>leukocyte trafficking</i>); produksi/presentasi selektin, kemokin, reseptor integrin dsb.
II. Sel pengembara (<i>trafficking through skin</i>):	
-Granulosit Neutrofil	fagositosis degradasi patogen
Eosinofil	produksi/mengeluarkan mediator inflamasi
-Limfosit	produksi/mengeluarkan sitokin
-Monosit	produksi sitokin efek sitotoksik dg. perantara sel efek imunoregulasi supresi
-Sel dendrit dalam darah	memproses dan presentasi antigen produksi sitokin

* dikutip dari Fuhlbrigge & Kupper, 2000

2.5.2 Imunopatogenesis

Kajian dan penemuan dibidang imunologi membuktikan bahwa DA dapat di terangkan dengan menggunakan berbagai fakta imunologik. Teori imunologis yang menjelaskan patogenesis DA didukung oleh beberapa bukti antara lain .

Perubahan variabel imunitas humoral

- kenaikan kadar IgE pada sekitar 80% kasus DA (Terr, 1993; Leung & Hamid, 1996)
- uji kulit positif dan lebih dari 85% terhadap berbagai alergen (Brujnzeel-Koomen, 1989, Tanaka, 1989)
- sering disertai dengan penyakit atopi yang lain seperti asma dan rinitis (Leung, 1992)
- pada pemeriksaan imunopatologi ditemukan pada membrana sel dari sel Langerhans sebagai penyaji antigen, didapatkan IgE spesifik (Brujnzeel-Koomen, 1989, Sudigdoadi, 1995).

Perubahan variabel imunologi seluler

- meningkatnya kerentanan terhadap infeksi virus maupun dermatofita,
- menurunnya kepekaan terhadap alergen kontak dan
- menurunnya transformasi limfosit dengan rangsangan mitogen
- menurunnya aktifitas fungsi sel sitotoksik monosit dan kemotaksis dari neutrofil menurut (Leiferman & Gleich, 1996)

Gangguan respon imun humoral pada penderita DA mulai diketahui sejak (Ishizaka dkk (1967) berhasil menemukan imunoglobulin yang berbeda dengan imunoglobulin lain dengan sifat sitotrofik yang dinamakan imunoglobulin E (IgE). Petanda atopi yang disepakati adalah peningkatan IgE dalam serum penderita, sehingga reaksi hipersensitivitas yang terjadi erat hubungannya dengan kadar IgE.

Disamping keadaan atopi, beberapa keadaan lain dapat juga mempengaruhi produksi IgE misalnya infestasi parasit pada usus (Ishizaka, 1967; Gleich, 1971).

Sanggahan terhadap teori imunologik berdasarkan adanya beberapa kasus DA dengan kadar IgE total normal dan tidak didapatkan IgE spesifik, terutama pada penderita yang tidak disertai alergi saluran nafas. Hal ini menegaskan bahwa peningkatan kadar IgE spesifik bukan suatu persaratan dalam patogenesis penyakit ini (lihat gambar 2.1). Sebagai contoh penderita sindroma *Wiskot-Aldrich* pada bayi didapatkan lesi mirip gambaran klinik DA, padahal pada saat itu kadar IgE belum menunjukkan peningkatan, hingga peran IgE diragukan (dikutip dari Sudigdoadi 1995, Jones & Sampson 1996). Saat ini dikenal DA tipe intrinsik, yang ditandai fenotipe sebagai DA dengan kriteria Hanifin Rajka, namun kadar IgE Total normal, dan tidak didapatkan reaktivitas IgE Spesifik terhadap alergen eksternal.

Konsep imunopatogenesis memberikan dasar bahwa respon imun berperan penting pada terjadinya lesi DA pada kulit. Spektrum kelainan imunologik pada DA sangat lebar sehingga penyakit ini tidak mudah diklasifikasikan secara tegas sebagai hipersensitifitas tipe cepat dengan perantaraan IgE atau merupakan kelainan berdasar respon imun seluler (hipersensitifitas tipe lambat). Tanaka dkk (1989) menyebut DA sebagai *IgE mediated delayed type of hypersensitivity* (Tanaka, 1989). Lesi kulit DA secara klinis dan histologis mirip dan tidak dapat dibedakan dengan lesi pada dermatitis kontak alergik yang merupakan penyakit kulit berdasar reaksi alergi tipe lambat atau *delayed type of hypersensitivity* = *DTH* (Grewe, 1994; Grewe, 1998).

2.5.3 Peran alergen pada DA

Paparan alergen berperan penting pada proses terjadinya lesi kulit DA (Kolmer & Platts Mills, 2000). Berbagai alergen dapat masuk tubuh melalui berbagai cara seperti hirupan, pada *inhalant (aero) allergens*, makanan (*food allergens*) atau infeksi oleh berbagai mikroorganisme seperti bakteri dan yeast.

a. alergen inhalan:

Penelitian tentang penyebab kekambuhan DA, mula mula banyak di tujukan pada bahan makanan, namun Walker(1918) melaporkan beberapa kasus dengan eksema yang ada hubungannya dengan paparan serpihan kulit binatang (*animal dander*) dan serbuk sari tumbuhan (dikutip dari Jones & Sampson,1996). Perhatian peneliti sejak itu banyak ditujukan pada alergen dari lingkungan yang masuk melalui udara,yang disebut alergen hirup. Beberapa alergen hirup yang biasa terlibat pada kejadian DA (Jones & Sampson, 1996) adalah:

1. golongan serbuk sari tumbuhan (*pollen*), seperti serbuk dari sejenis pohon (*tree pollen*), dari rumput rumputan (*grass pollen*) dan dari semak semak (*weed pollen*)
2. tungau debu rumah (*house dust mite*)
3. jamur
4. serpihan kulit binatang (*animal dander*) seperti kucing, anjing
5. kecoa

Alergen inhalan yang paling penting adalah tungau debu rumah (TDR) karena peranannya dalam patogenesis DA jelas, telah banyak diteliti (Platt-Mills, 1983. Norris, Schofield & Camp. 1988. Sager,1992; Nanda Dewi,1993;

Warugawa dkk. 1996; Tan dkk. 1996) dan pada penelitian ini dipakai sebagai salah satu variabel bebas.

Spesies TDR yang sering menyebabkan alergi adalah *Dermato-phagoides pteromyssinus* dan *D. farinæ*, keduanya dapat ditemukan dalam jumlah banyak didalam rumah dan bisa sebagai alergen yang poten di berbagai tempat didunia. Kedua spesies terutama didapatkan di daerah iklim panas dan lembab (Al-Frayh, 1997), sehingga sangat masuk akal apabila TDR dianggap juga sebagai alergen utama di Indonesia, yang beriklim tropis dengan kelembaban tinggi. Tungau ini sangat kecil dengan panjang 250-300 mikron, dan habitat yang paling disukai adalah di tempat tidur, terutama yang hangat dan lembab seperti bagan dalam alas kasur (sprei) atau *mattress*. Kotoran (*fecal pellets*) dan serpihan kulit yang dilepas tungau dapat berfungsi sebagai alergen dari tungau (Lyon, 1991).

Laporan pertama tentang peranan TDR pada DA dikemukakan oleh Rost (1932) tentang penderita eksim yang mengalami kesembuhan setelah tinggal di lingkungan bebas debu rumah, kemudian Tuft (1949) menjelaskan kebanyakan penderita DA memperlihatkan kemajuan setelah pindah dari rumah yang semula dia tinggal (Kolmer & Platt-Mills, 2000). Penelitian buta ganda tentang peranan tungau debu rumah (TDR) pada DA dengan memakai alergen *Der. pteromyssinus* (*Dpt*), menunjukkan sepertiga penderita DA yang positif uji tusuk dengan TDR, memperlihatkan reaksi lokal lambat yang jelas dan moderat setelah diberi tantangan TDR yang ditempel pada kulit penderita (Norris, Schofield & Camp, 1988). Tan (1996) menggunakan cara *double blind placebo challenge (DBPC)*

selama 6 bulan membuktikan hipotesis bahwa DA akan membaik bila sejumlah alergen TDR didalam rumah dikurangi (Tan, 1996).

Percobaan uji tempel menggunakan *Der p* sebagai alergen dan kemudian dari lesi kulit yang positif setelah tes, dapat dibuktikan adanya infiltrasi sel T spesifik alergen TDR pada lesi uji tempel. Selain itu dengan pengamatan secara imunokimia didapatkan pula produk IL-4 oleh sel T yang dapat meningkatkan sintesis IgE. Peningkatan produksi IL-4 ini dapat dibuktikan dengan memberikan stimulasi *Der p* dan IL-2 pada limfosit yang diisolasi dari lesi kulit pada uji tempel tersebut (Sager, 1993).

b. Alergen makanan

Makanan dapat berperan sebagai alergen pada DA, dan sebagai unsur utama yang menimbulkan reaksi hipersensitifitas adalah *glkoprotein* yang terdapat didalamnya (Suteja, 2000). Gejala paling sering mengenai saluran pencernaan, diikuti gangguan kulit sebagai eksema dan gangguan saluran nafas.

Alergi terhadap makanan merupakan faktor patogenik yang paling penting pada DA bayi dan anak sedangkan pada usia dewasa lebih sering oleh karena alergen inhalan (Tuft, dikutip dari Jones & Sampson, 1996). Reaksi menyimpang (*adverse reaction*) akibat makanan pada kulit dapat melalui mekanisme imunologik ataupun non-immunologik, yang disebabkan oleh unsur karsiawi berkaitan dengan sifat farmakologi bahan makanan. Mekanisme imunologik dapat terjadi melalui reaksi tipe I dengan perantaraan IgE, umumnya terjadi segera, namun dapat pula melalui reaksi oleh karena kompleks imun atau hipersensitifitas tipe lambat (Beltrani, 1999).

Insiden DA pada bayi, oleh karena alergi makanan (5 – 10 %) lebih tinggi dari pada penderita yang lebih dewasa, 1 - 5 % (Beltrani, 1999). Secara klinis dermatitis yang terjadi biasanya general, sangat gatal dan tidak menunjukkan kemajuan dengan pengobatan yang biasa. Makanan yang sering sebagai faktor pemicu kekambuhan DA adalah susu, telur, kacang, kedele (*soybeans*), ikan laut, kerang (*shellfish*) dan gandum (Jones & Sampson, 1996). Namun demikian makanan mungkin sebagai salah satu saja dari faktor pemicu yang multipel pada DA. Sampson (1992) mendapatkan hanya sepertiga dari penderita positif tes kulit dengan alergen makanan berkorelasi dengan mereka yang positif dengan tes provokasi makanan, sedangkan penderita dengan uji tusuk atau *RAST* positif dilaporkan 51 – 96 % dari semua penderita DA (dikutip dari Beltrani, 1999).

Pemeriksaan dengan uji tusuk atau *RAST* spesifik makanan atau keduanya pada DA dapat memberikan informasi prediksi positif yang akurat (Jones & Sampson, 1996). Hasil negatif dapat menyingkirkan alergi makanan sedang hasil positif harus dipastikan dengan tes yang lebih obyektif yaitu *double blind placebo control food challenge (DBPCFC)* sebagai standar emas untuk diagnosis alergi makanan.

c. Mikroorganisme

Kolonisasi *Staphylococcus aureus* meningkat pada kulit penderita dermatitis ataupun kulit yang tampak normal pada penderita DA dibanding kontrol orang normal (Jones & Sampson, 1996). Kuman ini dapat melepas eksotoksin sebagai superantigen (SAg) yang terlibat dalam patogenesis DA melalui peningkatan frekuensi migrasi dan aktivasi sel T memori pada lesi DA.

(Streckland dkk 1999) Eksotoksin B dan *Staphylococcus aureus* (SEB) sebagai superantigen akan mengaktifkan sel Langerhans kulit, sel T dan keratinosit untuk mengeluarkan mediator inflamasi sehingga terjadi kaskade inflamasi pada kulit (Leung, 2002). Keratinosit akan memproduksi sitokin pro-inflamatorik seperti IL-1 dan TNF- α yang menyebabkan peningkatan ekspresi molekul adesi pada sel endotel sehingga terjadi infiltrasi sel radang. Presentasi SAg akan menyebabkan aktivasi sel T dan berdiferensiasi sebagai sel Th2 yang memproduksi IL-4, selanjutnya akan mendorong sel B memproduksi IgE. Penurunan *barrier* kulit pada DA tampaknya menyebabkan tempat masuk berbagai patogen dan organisma sehingga dapat berhubungan dengan sistem imun kulit melalui komponen sel sel imun yang berada di kulit seperti limfosit, keratinosit, sel mast, basofil, sel Langerhans sehingga terjadi lesi eksematosa.

Mikroorganisme lain yang berperan pada patogenesis DA adalah spesies *staphylococcus* yang lain, *Pyrosporum ovale orbiculare*, *kanetida albikan* dan *spetex trikufion* (Jones & Sampson, 1996). *Pyrosporum ovale* sebagai alergen biasanya didapatkan terutama pada penderita DA tipe anak usia 6 sampai 12 tahun atau dewasa dengan distribusi lesi di kepala dan leher.

2.6 Gambaran imunopatologi DA

Pemeriksaan imuno sitokimiawi spesimen dari biopsi kulit dari lesi DA akut atau kronis ditandai dengan banyaknya infiltrasi sel limfosit T, dan marka CD4+ yang mengekspresikan CD45RO serta makropage aktif (Bruinjeel Koomen, 1993;

Hamid, 1996; Kawaguchi 1997; Herz dkk,2002). Hampir semua sel T yang menginfiltrasi ke kulit menunjukkan ekspresi yang tinggi (LA (*cutaneous lymphocyte antigen*) yang berfungsi sebagai *skin homing receptor* (Leung & Hamid, 1996, Boguniewicz & Leung, 2000)

Pada DA kronis juga tampak menonjol adalah sel Th₁ dengan marka CD3+ dan sebagian kecil CD8- dan sel dendritik (Thepen dkk.1996). Hal ini membuktikan bahwa sel limfosit T penolong (*Helper Th*) berperan dalam terjadinya DA. Jumlah sel T CD4+ yang meningkat diikuti penurunan jumlah sel T sitotoksik (CD8+) didalam darah perifer, namun stres psikologis dapat menyebabkan peningkatan kembali CD8+ sel T dibanding orang normal (Werfel & Kapp,2002). Sel lain yang dapat diamati pada lesi kulit DA adalah sel Langerhans yang terdapat didalam dermis dan epidermis terutama pada bentuk kronis, dan mengekspresikan CD1b, CD36 dan HLA-DR. Sel ini bersama makrofag yang juga menginfiltrasi kulit, mempunyai reseptor untuk IgE (Fcε 1 dan Fcε 2) pada permukaan membrannya (Bruijnzeel-Koomen, 1989; Sudigdo Adt, 1995). Eosinofil aktif dalam jumlah banyak terlihat pada DA kronis dari pada DA akut, disamping adanya deposisi granula protein *major basic protein (MBP)* pada dermis bagian atas (Leiferman, Ackerman & Sampson, 1985).

Peranan sel T pada mekanisme terjadinya inflamasi alergi pada DA sangat penting sehingga Bruijnzeel-Koomen (1997) menyebut DA sebagai kelainan kulit dengan perantaraan sel T (*T-cell mediated disease*). Sebagai bukti, transplantasi sumsum tulang dari donor atopik ke resipien non-atopi dapat menyebabkan gejala

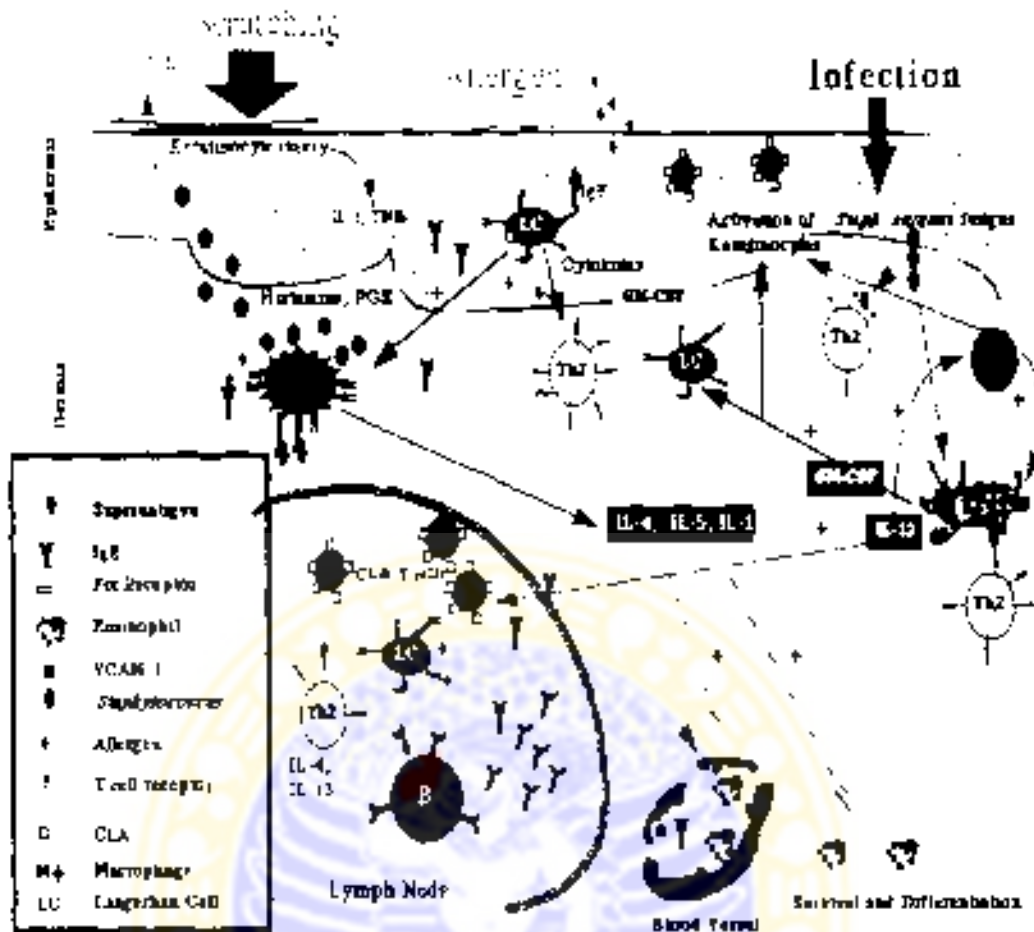
atopik dan uji kulit positif (Boguniewicz dan Leung, 2000). Pada penderita DA dalam sirkulasi darah didapatkan peningkatan jumlah sel T aktif dan meningkatnya kadar *L*-selektin serta *secretory* IL-2 sebagai petanda aktivasi yang berkorelasi dengan derajat keparahan penyakit (Werfel & Kapp, 2002). Sel T aktif didalam darah perifer ini mengekspresikan molekul CLA (*cutaneous lymphocyte-associated antigen*) yang merupakan *skin homing receptor* dan akan ber migrasi ke kulit.

Peran sel T pada patogenesis DA terlihat dengan masa hidup (*survival*) sel yang makin lama, berarti kematian sel terprogram atau apoptosis sel T yang dipicu oleh Fas dan Fas *ligand* sebagai reseptor kematian sel. tertunda dan ini dapat menyebabkan *myri* pada jaringan (Akdis, 2002). Penelitian menunjukkan bahwa sel T (CLA+) yang menginfiltrasi kulit pada DA tidak menunjukkan tanda adanya apoptosis (Akdis, 2001). Hambatan apoptosis dapat dipengaruhi oleh sitokin IL-2, IL-4 dan IL-15 serta protein dan matriks ekstraseluler (*extracellular matrix*= ECM) seperti fibronektin, laminin dan kolagen IV (Akdis, 2002). Kontak langsung sel T yang mengekspresikan molekul permukaan CLA- dengan keratinosit sebaliknya dapat menginduksi apoptosis keratinosit. Sel T akan mengeluarkan IFN-gamma, merangsang keratinosit (KC) mengekspresikan Fas, yang akan berikatan dengan Fas *ligand* yang diekspresikan sel T sendiri sehingga terjadi rangsangan apoptosis KC dan ini dapat ditunjukkan pada lesi eksematosa maupun lesi kulit setelah uji tempel pada DA (Trumann, 2001; Akdis, 2002). Kedua peristiwa ini dapat disimpulkan pada patogenesis DA terjadi disregulasi apoptosis sel T dan KC.

Presentasi antigen ke sel T, memicu terjadinya siklus imuno-kimawi dalam jaringan, antara lain sekresi mediator, yang menimbulkan peradangan, secara klinis

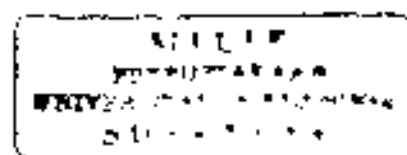
tampak sebagai lesi DA. Penyajian antigen oleh sel Langerhan (LC) dapat terjadi karena pada permukaan LC terdapat molekul IgE yang berfungsi menangkap alergen. Immunoglobulin E (IgE) pada permukaan LC ini ternyata sangat efisien dalam menyajikan alergen pada sel T dan sel T yang menerima alergen akan berproliferasi serta berdeferensiasi menjadi sel Th2 yang aktif. Sel Th2 aktif akan mengeluarkan sitokin IL-4 dan IL-13 yang akan memacu sel B untuk memproduksi IgE dan IL-5 yang mengaktifkan eosinofil. Gambaran imunopatogenesis DA secara skematis terlihat pada gambar 2.4

Pada DA kronik, LC akan mengeluarkan IL-1, IL-6 dan TNF yang berfungsi menarik limfosit aktif ketempat peradangan dan mengatur ekspresi *E-selectin* pada endotel vaskuler. Ekspresi *E-selectin* ini diketahui memegang peran penting pada pengaturan sel T CD4 untuk bermigrasi ke kulit (*skin homing cells*). Paparan berulang alergen pada penderita atopi yang telah *sensitized* akan menyebabkan keluarnya histamin dari sel mast yang mengalami degranulasi sehingga menimbulkan rasa gatal yang mendorong penderita menggaruk dan terjadi *injury* pada KC, berakibat KC mengeluarkan sitokin pro-inflamatorik seperti IL-1 dan TNF- α . Peran mikroorganisma stafidokokus aureus terlihat dengan aktivasi sel Th2 oleh paparan makrofag yang mempresentasi eksposin yang dikeluarkan oleh staph. aureus sebagai *super antigen* (Leung, 2002)



Gambar 2.4 : Imuno-patogenesis DA, gambaran skematis (diambil dari ref. Spergel & Schneider, 1997).

Nelaman fungsi regulasi imun pada DA sangat kompleks, sehingga gambaran secara umum keamanat tersebut dapat dilihat pada tabel 2.4 di bawah ini



Tabel 2.4 Kelainan regulasi sistem imun pada Dermatitis Atopik*

-
- Jumlah sel T dengan marka permukaan CLA⁺ meningkat
 - Sekresi IL-4, IL-5 dan IL-13 oleh sel Th2 meningkat
 - Sekresi IFN- γ oleh sel Th1 menurun
 - Kadar *E-selectin* yang larut meningkat
 - Kadar *eosinophil cationic protein* dalam serum meningkat
 - Sintesis IgE meningkat
 - IgE spesifik terhadap berbagai alergen termasuk makanan, aeroalergen, mikroorganisma, enterotoxins meningkat
 - Ekspresi CD23 pada sel B dan monosit meningkat
 - Pelepasan histamine oleh basophil meningkat
 - Gangguan respons *delayed-type hypersensitivity*
 - Jumlah dan fungsi sel T CD8 supresor atau sitotoksik menurun
 - Kadar reseptor IL-2 larut meningkat
 - Peningkatan kadar *monocyte chemoattractant protein-1* dan meningkatnya IL-10 dan PGE₂
-

* dikutip dari Boguniewicz & Leung (2000).

Beberapa penelitian penting yang menyokong terjadinya kelainan fungsi respon imun dapat disebutkan sebagai berikut :

1. Pada pemeriksaan imunohistokimia, hampir semua sel T yang menginfiltasi ke kulit menunjukkan ekspresi yang tinggi dari CLA (*cutaneous lymphocyte-associated antigen*) yang berfungsi sebagai *skin homing receptor* (Leung & Hamid, 1996; Boguniewicz & Leung, 2000)
2. Kulit penderita DA merupakan lingkungan yang sesuai untuk sekresi sitokin dengan profil Th2, seperti IL-4, IL-5 dan IL-10 (Gutgesell dkk.1994). Peningkatan sekresi IL-5 oleh sel Th2 dalam darah perifer pada anak yang

pendrita DA mencerminkan aktivasi eosinofil dan kadar IgE tinggi (Yamamoto, 1997). Vowel dkk (1995) menunjukkan dengan metode *reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR)* adanya ekspresi IL-4 & IL-5 mRNA pada lesi kulit penderita atopi setelah difakukan uji tempel dengan alergen polen, artinya sitokin tersebut berperan didalam akumulasi dan aktivasi eosinofil selama reaksi alergi fase lambat

3. Sel T pada penderita atopi telah diketahui memproduksi sedikit IFN- γ , menurunnya sekresi IFN- γ oleh Th1 terutama pada DA anak, disebabkan karena jumlah sel yang memproduksi berkurang ataupun jumlah IFN- γ yang diproduksi memang berkurang (Campbell,1997). Tetapi Grewe dkk (1994) dapat menunjukkan bahwa ekspresi IFN- γ yang meningkat pada DA kronik, dan menyimpulkan bahwa ekspresi sitokin Th2 terjadi pada inisiasi penyakit dan ekspresi sitokin Th1 dapat terjadi kemudian pada fase lanjut
4. Spergel dkk (1999) menyokong bahwa didapatkan ekspresi sitokin IL-4, IL-5 maupun IFN- γ pada lesi DA. Penelitiannya pada binatang coba, menyimpulkan peran IL-4 dan IL-5 sebagai sitokin Th2 penting untuk infiltrasi sel radang terutama eosinofil, sedang IL-5 dan IFN- γ (sitokin Th1) penting untuk hipertrofi kulit pada DA kronis.
5. *E-selectin* adalah molekul adhesi yang terekspresi pada sel endotel aktif, berfungsi dalam lafultas sel radang menuju tempat inflamasi. Molekul ini dapat berikatan dengan liganinya yaitu ESL-1 (*E-selectin ligand-1*) atau CLA (Bochner & Beck, 2000). Bentuk larut dari *E-selectin* dapat dideteksi dalam berbagai cairan biologis

pada penderita DA (Gearing & Newman, 1993) artinya terjadi peningkatan ekspresi *E-selectin* pada sel endotel aktif. Kadar ELAM-1 (*endothelial leucocyte adhesion molecule-1*) dan ICAM-1 (*intercellular adhesion molecule-1*) yang larut didapatkan pula meningkat pada DA berat (Kowalziak dkk, 1995). Peningkatan kadar ECP atau *eosinophil cationic protein*, dalam serum pada DA, juga terjadi dan dapat diukur untuk menggambarkan korelasi dengan aktifitas penyakit (Kapp, 1991; Halmerbauer, 1996; Miyasato, 1996):

6. Peningkatan sintesis IgE biasanya berhubungan dengan penyakit atopi atau penyakit lain seperti infeksi cacemg dan otoimun. Namun pada non-atopi peningkatan tersebut tidak disertai dengan peninggian kadar IgE spesifik terhadap alergen (Bonini, 1997). Pada atopi peninggian kadar IgE menggambarkan abnormalitas ekspresi IL-4 dan IL-13 sehingga menyebabkan polarisasi sitokin Th2. Interleukin (IL)-4 merupakan sitokin yang dapat menghambat sintesis IFN- γ sehingga pada fase awal kadar IFN- γ menurun.
7. Penurunan kadar IFN- γ juga disebabkan oleh karena meningkatnya aktifitas enzim *phosphodiesterase* (PDE) dan monosit yang mengakibatkan keluarnya prostaglandin E₂ (PGE₂) dan menghambat produksi IFN- γ (Bogumiewicz & Leung, 2000).
8. Peningkatan ekspresi CD23 pada sel B (dan monosit) merupakan salah satu parameter imunologik pada DA khususnya tipe ekstrinsik (Werfel & Kapp, 1999). CD23 adalah molekul membran pada sel B yang berfungsi sebagai reseptor untuk IgE dengan afinitas rendah (Fee R, 11).

- Respons imun pada DA bersifat bifasik, DA pada stadium akut memberi gambaran respons Th2, seperti peningkatan kadar IL-4, IgE meningkat, eosinofilia, sedangkan pada stadium kronis menjadi respons imun Th1 yang menonjol dengan gejala klinis penebalan kulit disertai likenifikasi (Thepen, 1996; Grewy, 1998, Sudigdoadi, 1999).

2.7 Paradigma Th2-Th1 pada penyakit atopik

Peran sel *T helper* sangat penting dalam proses inflamasi yang terjadi pada DA, oleh karena sel ini memegang kendali terjadinya respon imun. Ada tiga sub-populasi sel *Helper* yaitu Th-1, Th-2 dan Th-0. Ketiga subset ini dibedakan atas dasar sekresi sitokin yang diproduksinya pada saat ia menerima paparan antigen dari sel penyaji antigen. Di dalam proses terjadinya lesi DA, telah diketahui bahwa peranan Th-1 dan Th-2 memberikan efek yang berbeda, dan anehnya kedua sel *T helper* itu bekerja secara bergantian dan menimbulkan efek *bifasik* (Grewy, 1998; Sudigdo Adi, 1999).

Pada tahun 1997 Romagnani menulis tentang polarisasi sel Th1:Th2 dalam konteks yang berhubungan dengan patofisiologi penyakit. Penyakit atopik menunjukkan fenomena hipersensitivitas yang ditandai dengan respons imun Th2 lebih dominan terhadap satu atau beberapa alergen lingkungan, oleh karena itu disebut *Th2 disease*, artinya produksi sitokin Th2 berlebihan (*Th2 excess*). Beberapa penemuan yang mendukung konsep ini antara lain (Romagnani, 1997):

1. Sel Th2 terakumulasi pada organ target penderita alergi
2. Tantangan alergen dapat menyebabkan aktivisasi dan rekrutmen sel Th2 spesifik

3. Th2 dengan marka CD 30⁺ yang reaktif terhadap alergen berada dalam sirkulasi darah penderita atopi selama paparan alergen musiman
4. Sel TCD4⁺ darah umbilikus (*cord blood lymphocytes*) dari neonatus dengan orang tua atopi memproduksi IL-4 lebih tinggi dari orang tua non atopi.

Pada penderita atopi termasuk DA, terjadi respon imun Th2 terhadap rangsangan alergen lingkungan, oleh karena adanya perubahan genetik yang menyandi produksi IL-4 berlebihan, atau berkurangnya regulasi sitokin yang menghambat produksinya yaitu IL-12 dan IFN- γ atau keduanya. Diferensiasi sel *Helper* menjadi sel Th1 atau Th2 ditentukan oleh faktor genetik dan kondisi lingkungan, terutama sitokin tipe apa yang mempengaruhi *microenvironment* didalam sel Th *naive*. Perubahan Th *naive* menjadi Th2 dirangsang IL-4, yang sejak awal telah diproduksi oleh sel Th *naive* sendiri dalam jumlah kecil, beraksi *otokrin* (Romagnani, 1997). Interleukin (IL-6 yang diproduksi sel penyaji antigen diduga juga dapat mendorong polarisasi kearah Th2, sedangkan pengaruh sitokin IL-12 dan IFN- γ lebih sesuai untuk diferensiasi ke Th1 (Romagnani, 1997). Pengaruh IL-10 dan prostaglandine E2(PGE2) yang dikeluarkan monosit penderita DA mendorong pula ke Th2 (Sawai, 1995). Prostaglandin E2 (PGE2) diduga bekerja menghambat produksi IL-12 oleh *dendritic cells* dan IFN- γ oleh sel T (Romagnani, 1997).

Suatu studi epidemiologi di Jepang menunjukkan menurunnya infeksi *tuberculosis* dan penyakit infeksi lain pada anak memberi kontribusi meningkatnya prevalensi dan derajat keparahan penyakit atopi pada dekade terakhir ini terutama di

negara-negara maju. Hal ini dikarenakan berkurangnya produksi sitokin yang menghambat respon Th2 yaitu sitokin yang berperan dalam penyakit infeksi (Romagnani, 1997; Laan, 2000).

Dengan pemahaman paradigma Th1 dan Th2 dibidang penyakit alergi ataupun infeksi, akan dapat lebih memberikan penjelasan patogenesis penyakit. Pada penyakit atopi termasuk DA telah banyak kemajuan dalam memahami patogenesis walaupun belum jelas benar hubungan kausalistik antara terjadinya penyakit dengan faktor atopi. Kemajuan didalam penelitian yang dilakukan, akan memberikan prospek atau berguna untuk strategi tatalaksana, misalnya dapat digunakan sebagai dasar imunoterapi pada penyakit atopik derajat berat atau *recalcitrant*.

2.8 Peran sitokin pada dermatitis atopik

Sitokin secara umum adalah protein yang disekresi oleh sel darah putih dan berbagai macam sel lain dari tubuh, mempunyai aksi *pleiotropik* yang meliputi efek pada sel sistem imun serta dapat memodulasi respon inflamasi (Vilcek, 1998). Sitokin dapat berperan sebagai perantara pada sebagian besar fase *efektor* imunitas natural dan imunitas adaptif (Marselawati, 2000), selain itu juga berpengaruh pada proses penyembuhan luka (*wound healing*), *hematopoiesis* dan banyak proses biologi lain (Oppenheim, 1994).

Produksi sitokin bersifat temporer dalam waktu pendek, beberapa jam sampai hari, terjadi oleh karena induksi dari suatu stimulus dan radius aksinya biasanya pendek, pada sel itu sendiri (*autokrin*) atau pada sel-sel yang dekat (*parakrin*). Sebagian besar merupakan *polipeptida* atau *glikoprotein* dengan berat

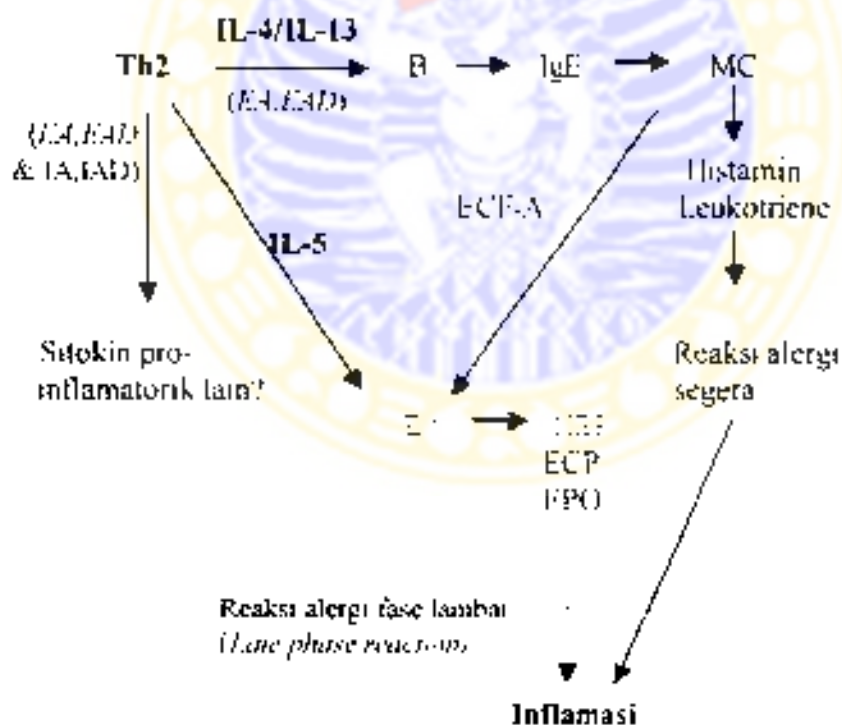
molekul rendah antara 6000 – 60.000, bersifat sangat poten, dapat beraksi pada konsentrasi 10^{-7} sampai 10^{-12} (Oppenheim, 1994). Ciri-ciri umum sitokin adalah sebagai berikut (Vileek, 1998; Marsetyawan, 2000):

1. *pleiotropic*, diproduksi oleh berbagai sel yang berbeda dan berefek pada bermacam macam sel
2. sitokin mempengaruhi sintesis (memacu atau menekan) sitokin lain dan mempengaruhi pula aksi dari sitokin lain (sinergi atau antagonis)
3. inisiasi kerja sitokin melalui pengikatan dengan reseptor spesifik pada permukaan sel target
4. *redundant*, efek berbeda beda yang berasal dari satu jenis sitokin dimiliki pula oleh sitokin sitokin lain
5. reseptor sitokin memiliki afinitas sangat tinggi terhadap ligannya, oleh karena itu dalam kadar yang sangat kecil sudah mampu memberikan efek biologis

Sitokin memiliki bermacam nama seperti interleukin (IL), interferon (IFN), *colony stimulating factor* (CSF), *tumor necrosis factor* (TNF), *growth factor* dan *chemokines* (*chemotactic cytokines*). Sitokin diproduksi terutama oleh sel T, namun sel lain seperti makrofag, monosit, eosinofil, sel endotel, keratinosit dan beberapa lainnya seperti fibroblas, astrosit dan sebagainya dapat pula menghasilkannya (Bharat, 1995).

Sel T penolong (*Th*) dalam memproduksi sitokin, berdeferensiasi menjadi dua subset berdasar profil sitokin yang dikeluarkan, yaitu *Th1* dan *Th2*. Dikenal pula akhir akhir ini adanya subset *Th3* (Romagnani, 1997). Sel *Th* disebut *Th1* bila memproduksi sitokin IFN- γ , IL-2 dan TNF- β dan *Th2* bila mengeluarkan IL-4, IL-5,

IL-10 dan IL-13. Sel T yang memproduksi dalam jumlah banyak *transforming growth faktor- β* (TGF- β) disebut sel Th3 (Mosmann and Sad,1996). Perbedaan pola sitokin ini berhubungan dengan fungsi spesifik yaitu sel Th1 terlihat didalam reaksi hipersensitifitas lambat (*ITTH*) atau imunitas seluler sedangkan Th2 penting untuk terjadinya respon antibodi atau imunitas humoral, terutama dalam sintesis IgE (Romagnani 1997). Pada patogenesis DA maupun asma atopik sel Th2 mempunyai peran sentral didalam menginduksi respon IgE dan rekrutmen eosinofil terutama pada DA atau asma bentuk ekstrinsik, hal ini dapat dilihat seperti pada gambar 2.5 seperti pada gambar dibawah ini.



Gambar 2.5 : Model patogenesis pada asma dan dermatitis atopik (Wutbrich, 1999)

- Keterangan:*
- EA = *Extrinsic asthma*
 - EAD = *Extrinsic atopic dermatitis*
 - IA = *Intrinsic asthma*
 - IAD = *Intrinsic atopic dermatitis*
 - ECF-A = *eosinophil chemotactic factor of anaphylaxis*
 - MBP = *major basic protein*
 - ECP = *eosinophil cationic protein*
 - EPO = *eosinophil peroxidase*
 - MC = *mast cell*
 - Eo = *eosinophils*
 - B = *B cells*

Ekspresi sitokin pada lesi DA merefleksikan latar belakang inflamasi yang terjadi (Boguniewicz & Leung, 2000) dan beberapa sitokin yang banyak terlibat didalam terjadinya inflamasi pada patogenesis DA akan dibahas, antara lain IL-4, IL-5, IL-13 dan IFN- γ , sedangkan IL-12 masih belum jelas benar perannya.

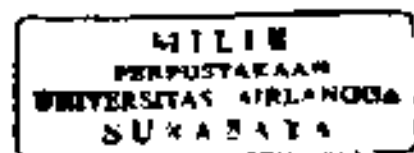
2.8.1 Interleukin (IL)-4

Interleukin (IL)-4 pertama kali diidentifikasi pada tahun 1982 dalam hubungan dengan kemampuannya menginduksi sel B kecil yang aktif untuk berproliferasi dan mensekresi IgG. sitokin ini diproduksi oleh sel T aktif, sel mast dan basofil (Chomarat, 1998) Interleukin (IL)-4 mempunyai fungsi memacu pertumbuhan dan diferensiasi sel B, sel T, sel mast dan selain itu juga berefek pada makrofag, sel NK, eosinofil, basofil, fibroblas, sel endotel dan berbagai tumor pada manusia (Hilman & Hass, 1994) Beberapa studi *in vivo* pada binatang menunjukkan efek anti tumor dan IL-4, sehingga IL-4 mempunyai prospek untuk pengobatan tumor di masa depan. Pada beberapa penyakit inflamasi dengan profil *Th1 excess* mengalami perbaikan pula dengan pemberian IL-4 (Chomarat, 1998).

Pada DA, IL-4 berperan sebagai *switch factor* produksi IgE oleh sel B dan dapat menghambat produksi IFN- γ oleh sel T aktif sehingga menyebabkan respon imun Th2 lebih dominan. Interleukin-4 juga mampu meningkatkan aktifitas sel sitotoksik spesifik antigen terhadap *allogenic stimulator cells* (Chomarat, 1998). Kimura dkk.(1998) membuktikan bahwa pada DA bayi dan anak, produksi IL-4 pada kultur sel mononuklear darah tepi (*peripheral blood mononuclear cells* /*PBMC*) lebih tinggi dari pada kontrol subyek non-atopi yang di stimulasi dengan TDR (Kimura, Tsuruta & Yoshida, 1998). Sel T yang diisolasi dari kulit penderita DA ternyata lebih berpolarisasi kearah Th2 dengan sekresi IL-4, IL-5 dan IL-10 lebih banyak dari sel T yang diisolasi dari darah penderita yang sama setelah dipapar antigen TDR (Gutgessel, 1994). Ini menunjukkan bahwa kulit penderita DA merupakan lingkungan yang unik dan sesuai untuk terjadinya respon imun dengan profil Th2. *PBMC* penderita DA tipe anak memproduksi IL-4 secara signifikan lebih banyak pula sebagai respon dari rangsangan *Staphylococcus*. Hal ini menunjukkan secara *in vitro* terjadi respon imun selular terhadap *Staphylococcus* sebagai alergen yang poten untuk terjadinya inflamasi (Campbell & Kamp, 1997).

2.8.2 Interleukin (IL)- 5

Sitokin ini diproduksi oleh sel T, dan bersama IL-4 pada percobaan *in vitro* pada mencit semula IL-5 dinyatakan sebagai faktor pertumbuhan sel B. (Sanderson, 1998; Siti Boedina, 1996) Pada tahun 1983 Metcalf dkk. menunjukkan bahwa IL-5 merupakan satu satunya *eosinophile haemopoietic growth factors* pada manusia yang dapat beraksi silang pada mencit (dikutip dari Sanderson, 1998). Interleukin



(IL-5 selain diproduksi oleh sel T, juga disekresi oleh eosinofil yang beraksi *autokrin* untuk aktivasi, diferensiasi dan memperpanjang masa hidup eosinofil pada kejadian inflamasi (Weller, 1997).

Pada DA terjadi infiltrasi eosinofil dan sel radang lain dalam dermis dan epidermis dari lesi kulit yang menunjukkan peran IL-5. Aktivasi eosinofil sebagai penyebab terjadi kerusakan jaringan akibat keluarnya granula protein eosinofil seperti *MBP major basic protein, ECP eosinophil cationic protein, EDN eosinophil derived neurotoxin* dan *EPO eosinophil peroxidase* (Kapp, 1991; Bruynzeel PL, 1993). Hal ini dapat memberikan harapan di masa depan untuk penggunaan obat antialergi generasi baru dengan IL-5 sebagai target pada penyakit alergi kronis (Sanderson, 1998). Interleukin-5 juga dapat beresik pada basofil sehingga menyebabkan pelepasan histamin dan leukotrien, serta pada sel B dengan menginduksi produksi antibodi IgA dan IgM (Sanderson, 1998; Siti Boedina, 1996).

2.8.3 Interleukin (IL) – 13

Interleukin (IL)-13 merupakan sitokin dengan aktifitas sebagai imunomodulator penting, terutama efeknya pada sel B dalam memproduksi IgE dan peranannya pada respon alergi (Maleki & de Vries, 1998). Interleukin (IL)-13 yang di sekresi sel T aktif, juga dapat menghambat produksi sitokin pro-inflamasi seperti IL-1 β , IL-6, TNF- α dan IL-8 oleh monosit (Callard & Gearing, 1994). Efek IL-13 pada sel B sedikit kurang poten, tidak bersifat sinergistik dan tumpang tindih dengan IL-4, namun IL-13 lebih awal dan lebih banyak diproduksi oleh sel *Th1ve* oleh karena itu berperan didalam mengawali produksi IgE. Sitokin ini berbeda

dengan IL-4, tidak mendorong diferensiasi ke respon imun Th2 (Malefyt & de Vries, 1998). Interleukin-13 selain diproduksi oleh sel Th2 CD4⁺ juga oleh Th0, sel T CD8⁺ dan berbeda dengan IL-4, dalam jumlah sedikit diproduksi juga oleh sel T *naive* dan Th1

2.8.4 Interferon (IFN) - γ

Interferon- γ adalah sitokin yang terlibat didalam regulasi respon imun dan inflamasi, antara lain menyebabkan aktivasi, pertumbuhan dan diferensiasi dari sel T, sel B, makrofag, sel NK dan lain lain seperti sel endotel serta fibroblas (Callard & Gearing, 1994). Sitokin ini juga mempunyai efek antiviral dan anti proliferatif lemah yang dapat berpotensiasi dengan efek antiviral dan anti-tumor dari IFN α/β . Interferon-gamma (IFN- γ) disekresi oleh sel T CD4⁺, CD8⁺ dan sel NK, dan disebut juga sebagai interferon tipe I atau *T-cell interferon* (Callard & Gearing, 1994). Sifat penting dari IFN- γ adalah (Marsetyawan, 2000):

- 1) aktivator yang potensial dari *jugosite mononuclear cells*, sebagai *MAF* (*macrophages activating factors*).
- 2) meningkatkan ekspresi molekul *MHC* kelas I & II.
- 3) memacu langsung diferensiasi sel T dan sel B.
- 4) mengaktifkan sel NK, neutrofil dan sel endotel vaskular sehingga daya adesi terhadap sel T CD4⁺ meningkat

Pada DA produksi IFN- γ oleh sel *Thelper* rendah, disebabkan oleh karena respon imun Th1 berkurang pada tingkat sel T prekursor (Jung, 1999) dan tampaknya

defisiensi IFN- γ ini bergantung pada aktifitas penyakit (Jung, 1999). Produksi IgE yang distimulasi oleh IL-4 dapat disupresi oleh IFN- γ dan oleh beberapa peneliti dipakai sebagai dasar pengobatan DA menggunakan rekombinan IFN- γ yang berasal dari manusia dengan hasil cukup aman untuk pemakaian jangka lama dan cukup efektif (Schneider, 1998; Steven, 1998). Percobaan oleh Ellis dkk (1999) menunjukkan hasil yang berbeda yaitu pengobatan IFN- γ rekombinan yang berasal dari manusia secara subkutan tidak menyebabkan menurunnya kadar IgE yang tinggi pada penderita DA (Ellis, 1999). Efek IFN- γ pada DA berdasar atau melalui dua cara yaitu.

1. mekanisme yang menyebabkan normalisasi kelainan imunologik pada dermatitis atopik dan
- 2 mekanisme yang menyebabkan berkurangnya sel radang dalam sirkulasi.

2.8.5 Interleukin (IL) – 12

IL-12 adalah satu satunya sitokin *heterodimer* yang mempunyai dua rantai yaitu p35 dan p40, sitokin ini penting didalam mekanisme pertahanan melawan patogen intra sel (Callard & Gearing, 1994). Interleukin-12 semula diidentifikasi pada tahun 1986 dan setelah itu penelitian penelitian difokuskan pada efek imunomodulator dari aksi pleiotrofiknya, terutama kemampuan untuk meningkatkan respon imun Th1 yang menyebabkan IL-12 dikenal dan digunakan sebagai terapi terhadap penyakit infeksi dan neoplasia (Storkus, 1998)

Interleukin-12 mampu menginduksi produksi IFN- γ oleh sel T dan sel NK, meningkatkan aktifitas sel NK dan *ADCC* (*antibody dependent cell mediated*

cytotoxicity serta menstimulasi proliferasi dan diferensiasi kearah subset Th1 (Callard & Gearing, 1994). Interleukin-12 diproduksi oleh makrofag atau monosit dan sel B, namun demikian sejumlah sel juga dapat sebagai sumber IL-12 seperti pada tabel 2.5. Pada percobaan laboratorium, IL-12 sendiri atau bersama dengan IL-2 dosis rendah mampu mendorong ekspansi dan memperlama masa hidup sel T dan sel NK yang belum aktif (Trinchieri, dikutip dari Storkus, 1998). IL-12 juga dapat meningkatkan reaktifitas sitolisis dan proliferasi sel NK.

Akhir-akhir ini beberapa penelitian menunjukkan peranan IL-12 (dan IL-13) di dalam paradigma Th₁ dan Th₂ pada DA (Hamid, 1996; Taha, 1998). Aktivitas biologis IL-12 menstimulasi sel Th₁ sehingga meningkatkan produksi IFN- γ serta menghambat produksi IgE, oleh karena itu IL-12 merupakan sitokin dengan profil Th₁, sedang IL-13 diproduksi terutama oleh sel Th₂. Dengan teknik *hibridisasi in situ*, Hamid dkk (1996) memeriksa ekspresi IL-12 & IL-13 mRNA dari lesi kulit penderita DA akut, kronis maupun non-lesi (kulit yang tak ada kelainan pada penderita DA). Ternyata didapatkan ekspresi IL-13 mRNA yang lebih menonjol pada DA akut, kronis maupun non-lesi dari pada kontrol (orang sehat), sedangkan IL-12 mRNA lebih tinggi ekspresinya pada DA kronis dibanding DA akut dan non-lesi. Peningkatan produksi IL-12 secara lokal oleh sel dendritik dan makrofag bertanggung jawab terhadap peningkatan kadar IFN- γ pada lesi kronis dan menyokong teori bahwa IL-12 berperan penting pada terjadinya inflamasi DA (Yawalkar, 2000).

Penelitian Kondo dkk (2000) menunjukkan terjadinya mutasi pada reseptor IL-12 pada rantai β_2 (IL-12R β_2) yang berakibat penurunan produksi IFN- γ (Kondo, 2000). Hal ini didukung penelitian Matsumoto dkk. pada binatang coba yang mendapatkan penurunan produksi IFN- γ oleh karena sensitivitas terhadap IL-12 berkurang (Matsumoto, 2001) dan ternyata IL-12 tak mampu memperbaiki keadaan klinis dari tikus yang menderita dermatitis atopik.

Reseptor IL-12 merupakan molekul yang ada hanya di permukaan sel NK (*natural killer*) dan sel T aktif, dan terdiri dari dua rantai yaitu IL-12R β_1 dan IL-12R β_2 (Storkus, 1998). Reseptor IL-12R β_1 akan berikatan dengan rantai p40 sedangkan IL-12R β_2 berikatan dengan rantai p35 dari molekul IL-12. Rangsangan dari IL-12 akan diterima oleh reseptor nya dan sebagai perantara untuk signal intra sel, dilakukan oleh IL-12R β_2 . Reseptor IL-12 rantai β_2 berisi tiga (3) residu tirosin yang akan meneruskan signal melalui aktivasi STAT4 (*signal transducers and activators of transcription 4*) dan JAK2 (*Janus-activated kinases 2*) menuju nukleus dari sel T yang kemudian terjadi transkripsi DNA sehingga terjadi sintesis IFN- γ (Kondo,2000).

Tabel 2.5 Sel sel yang memproduksi dan sekresi IL-12*

Sel	Stimulus
-Sel dendritik	anti-CD40, sel T plus antigen, partikel bakteri, produk produk bakteri
-makrofag	anti-CD40, LPS, IFN- γ , poli I:C, HIV gp120, bakteri dan produk2 bakteri
-Langerhans	kultur <i>in vitro</i>
- <i>IL-12</i> -transformed B-cells	LPS plus IFN- γ , phorbol ester, SAC
-Neutrofil	LPS
-Keratinosit	radiasi ultraviolet B, phorbol ester, kultur <i>in vitro</i>
-Microglia	LPS
-Astrosit	LPS

* dikutip dari Storkus, Tahara & Lotze, 1998

keterangan: LPS = lipopolysaccharide SAC = *Staphylococcus aureus* Cowan A strain, poly I, C = polyinosinic acid : polycytidylic acid

Produksi IL-12 dapat pula oleh eosinofil, sel yang banyak direkrut pada fase awal DA, sehingga banyak terlihat pada *late phase reaction* atau reaksi fase lambat (Grewe, 1998) Interleukin (IL)-12 dapat pula menyebabkan diferensiasi dan maturasi sel Th menjadi Th₁. Peran IL-12 pada DA ini yang dapat mengakhiri pola sitokin Th₂ dan secara bersamaan beralih atau memulai pola sitokin Th₁, masih belum diketahui pasti dan perlu dibuktikan.

2.9 Pengobatan DA

DA merupakan penyakit kulit inflamasi oleh karena gangguan fungsi regulasi sistem imun berdasar konsep imunologis (Bruijnzeel-Koomen, 1989; Leung & Hamid, 1996; Grewe, 1998; Boguniewicz & Leung, 2000). Penelitian para ahli menunjukkan respons imun DA stadium akut adalah respons Th2, dengan produksi sitokin IL-4, IL-5 dan IL-13 serta kenaikan IgE, sedang pada stadium kronis beralih ke respons imun Th1, dengan produksi IFN- γ yang menonjol (Thepen, 1996; Sudigdo Adi, 1999; Kanek, 2001). Berdasar hal tersebut pengobatan DA mengacu pada kelainan dasar sistem imun yang terjadi untuk mendapatkan hasil yang optimal.

Sampai saat ini pengobatan DA masih bersifat simptomatik, oleh karena etiologinya belum diketahui dan pemahaman patogenesis belum terungkap secara runtus. Pengobatan DA pada prinsipnya dapat dilakukan dengan beberapa cara:

2.9.1 Pengobatan terhadap gejala

1. Antihistamin digunakan sebagai antipruritus yang cukup memuaskan untuk terapi simptomatis DA maupun penyakit atopik lain. Obat ini bekerja sebagai antagonis terhadap reseptor histamin baik H₁, H₂ maupun reseptor H₃. Antihistamin sistemik berdasar efek sedasinya, diklasifikasi sebagai generasi pertama, generasi kedua atau non-sedative antihistamin dan generasi ketiga. (Aberer, 2002)

Generasi pertama dapat menembus sawar darah otak sehingga mempunyai efek sedasi, dan sebagai contoh adalah klorfeniramin, difenhidramin, hidrokisizin, prometasin, perilamin dan tripolidin. Antihistamin generasi pertama sekarang

sudah tidak lagi digunakan secara rutin untuk berbagai penyakit alergi, kecuali hidoksizin masih dipakai untuk urtikaria kronik dan dermatitis atopik.

Generasi kedua yang tersedia antara lain meliputi akrivastin, azelastin, loratadin, ketotifen, oksatomid dan terfenadin. Antihistamin ini memiliki afinitas dan selektivitas pada reseptor H1 lebih tinggi daripada generasi sebelumnya.

Generasi ketiga adalah antagonis terhadap reseptor H1 dan ada dua preparat yang merupakan parameter kelompok ini yaitu setimzin dan fexofenadin. Keduanya dikatakan mempunyai efek antiinflamasi dengan menghambat ekspresi molekul adhesi pada sel endotel pembuluh darah sehingga mengurangi migrasi sel radang menuju ke tempat inflamasi.

2. Kortikosteroid : topikal kortikosteroid telah banyak digunakan sebagai pengobatan DA oleh karena dapat mengurangi inflamasi dan pruritus, selain itu mempunyai efek antimitotik. Obat ini dapat digunakan untuk DA fase akut maupun kronis (Boguniewicz, 2002) dan berdasar potensi anti inflamasi serta anti mitotiknya, digolongkan menjadi empat golongan yaitu steroid potensi lemah, sedang, kuat dan sangat kuat. Perumbangan pemakaian steroid topikal untuk pengobatan DA adalah jenis lesi kulit, akut atau kronis, predileksi lesi dan usia penderita. Penggunaan kortikosteroid topikal selama 9-10 hari dapat menurunkan ekspresi IL-12 p40 mRNA pada DA kronis (Yawalakar, 2000).

Pemberian kortikosteroid sebagai anti inflamasi dan immunosupresi secara sistemik, dilakukan bila pengobatan topikal tidak memberikan hasil dan pada lesi DA kronis dan derajat berat (Aberer & Wolf, 2002). Cara kerja steroid sistemik ini melalui beberapa mekanisme antara lain menghambat sintesis sejumlah

sitokin proinflamatorik seperti IL-1, IL-2, IL-6 dan TNF- α serta protease melalui efeknya pada transkripsi, menghambat beberapa mediator inflamasi seperti siklooksigenase-2, menekan pematangan sel di sumsum tulang yang akan masuk darah perifer sehingga terjadi eosinopenia, monositopenia dan limfositopenia, terutama sel T. Apoptosis limfosit didorong sehingga sel T aktif terhadap paparan alergen berkurang (Aberer & Wolf, 2002)

2.9.2 Identifikasi dan eliminasi faktor pemicu kekambuhan

Penderita DA mempunyai nilai ambang rendah dalam merespons berbagai bahan iritan, oleh karena itu dianjurkan menghindari agar tidak terjadi proses inflamasi yang disebabkan bahan iritan (Boguniewicz, 2002). Bahan seperti sabun, detergen, bahan kimia, rokok, pakaian kasar, suhu yang ekstrem dan terlalu lembab harus dihindari dan pemakaian sabun harus *mild* dan pH netral. Pemakaian krim tabir surya perlu untuk mencegah paparan sinar matahari yang berlebihan. Alergen yang telah terbukti sebagai pemicu kambuh harus dihindari seperti alergen makanan, tungau debu rumah, bulu binatang, serbuk sari bunga (polen) dan sebagainya (Boguniewicz, 2002).

Faktor pemicu lain adalah infeksi bakteri terutama *S.aureus* dan jamur. Kombinasi pengobatan topikal steroid dengan antibiotik dapat diberikan untuk mengurangi derajat keparahan penyakit (Boguniewicz, 2002).

Edukasi pada penderita maupun keluarganya perlu dilakukan untuk mengurangi stress akibat penyakitnya, yang dapat menyebabkan kekambuhan (Koblenzer, 2002)

2.9.3 Mempertahankan kelembaban kulit

Telah lama diketahui bahwa kekeringan kulit pada DA terjadi oleh karena peningkatan *transepidermal water loss (TEWL)*, yang dapat menyebabkan timbulnya rasa gatal sebagai gejala utama DA. Untuk menjaga kulit agar tidak terlalu kering dilakukan *Hydration* yang bertujuan untuk membantu keberhasilan pengobatan, antara lain dengan membasahi daerah yang terkena dengan air hangat selama 15-20 menit (Boguniewicz, 2002). Pemberian emolien sebagai pelembab kulit bersama tindakan *hydration* akan dapat membantu pemulihan dan menjaga *barrier stratum korneum* terhadap rangsangan bahan iritan dari luar.

Pengobatan untuk kasus DA yang parah atau derajat berat yang sulit disembuhkan (*refractory*) perlu perhatian khusus dan bila perlu dirujuk ke rumah sakit untuk dilakukan cara pengobatan khusus seperti *wet wraps*. Dengan cara membalut seluruh tubuh setelah diben steroid topikal yang diencerkan untuk membuat kulit merasa dingin, bertujuan meningkatkan penetrasi topikal steroid yang diberikan, juga dapat sebagai barrier terhadap trauma garukan.

Pengobatan lain adalah dengan fototerapi menggunakan UVA dosis tinggi pada DA akut dan berat serta UVB atau kombinasi untuk DA kronis dan moderate (Krutmann & Morita, 2002).

2.9.4 Pengobatan yang masih dalam penelitian

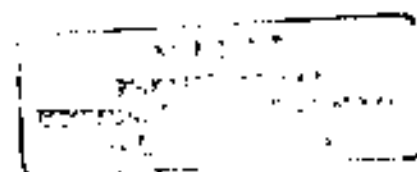
Pengobatan yang ideal untuk DA adalah pengobatan yang ditujukan memperbaiki gangguan regulasi sistem imun. Konsep yang banyak diterima saat ini adalah pengalihan dominasi respons imun Th2 ke Th1 pada masa awal kehidupan anak dapat menyebabkan maturasi sistem imun (Bieber, 2002). Namun pemberian

imunoterapi yang konvensional untuk mengalihkan respons imun, kurang efektif dan dapat menyebabkan resiko terjadi *adverse effects* (Lewis, 2002). Beberapa obat sebagai *immunomodulator* telah diteliti dan dicoba dengan hasil yang masih bervariasi.

- a. Interferon-gamma: pemakaian jangka panjang *rekombinant* interferon-gamma ($rIFN-\gamma$) dikatakan aman efektif untuk pengobatan DA derajat berat (Stevens, 1998; Schneider, 1998; Chang, 2002). Walaupun mekanisme pasti menyebabkan perbaikan klinis masih belum jelas, obat ini dapat dipertimbangkan sebagai pengobatan DA dimasa datang, oleh karena menyebabkan penurunan kadar IgE dan IL-4 sehingga terjadi keseimbangan sistem imun serta dapat mereduksi sel sel inflamasi dalam sirkulasi (Ellis, 1999; Liu, 1999; Chang, 2002).
- b. Siklosporin A (CsA) merupakan immunosupresan yang poten, bekerja langsung pada sel T dengan menekan transkripsi sitokin Th2 seperti IL-4 dan IL-5, sehingga terjadi penurunan eosinofili darah (Farrell, 2001; Aberer, 2002). Penelitian Farrell dkk. membuktikan terjadinya perbaikan dominasi Th2 pada penderita DA dibanding kontrol, dengan menurunnya frekuensi sel CD4+ dan CD8+ yang memproduksi IL5, IL-E3 dan IL-4
- c. Topikal makrolid : saat ini dari golongan obat ini, *takrolimus* dan *pimekrolimus*, suatu derivat askomisin banyak diteliti sebagai immunomodulator (Rico & Lawrence, 2002; Reuamo, 2002). Takrolimus dikatakan dapat menghambat produksi sitokin oleh sel T aktif dan menurunkan ekspresi Fc ϵ R pada sel dendritik kulit sebagai APC (Rico & Lawrence, 2002).

d) IL-12. pemakaian sitokin ini pada DA masih merupakan kontroversi dan terbatas pada binatang coba menggunakan tikus *Mus mus* atau pada kultur sel mononuklear darah tepi (PBMC). Rekombinan human IL-12 (rhIL-12) pada kultur PBMC penderita atopik dapat menyebabkan antagonis terhadap efek rhIL-4 pada sintesis IgE (Liu, 1999). Pada binatang coba yang dibuat menderita dermatitis atopik, pengobatan dengan IL-12 ataupun IFN- γ dan IL-18, dua kali seminggu dapat menghambat peningkatan IgE dan IL-4 dalam serum serta dermatitisnya (Habu, 2001). Peneliti lain mendapatkan bahwa IL-12 tidak mampu memperbaiki aspek klinis inflamasi kulit dari binatang coba tikus yang dibuat menderita dermatitis, dan menyebabkan eksaserbasi lesi kulit serta peningkatan kadar IgE (Matsumoto, 2001).

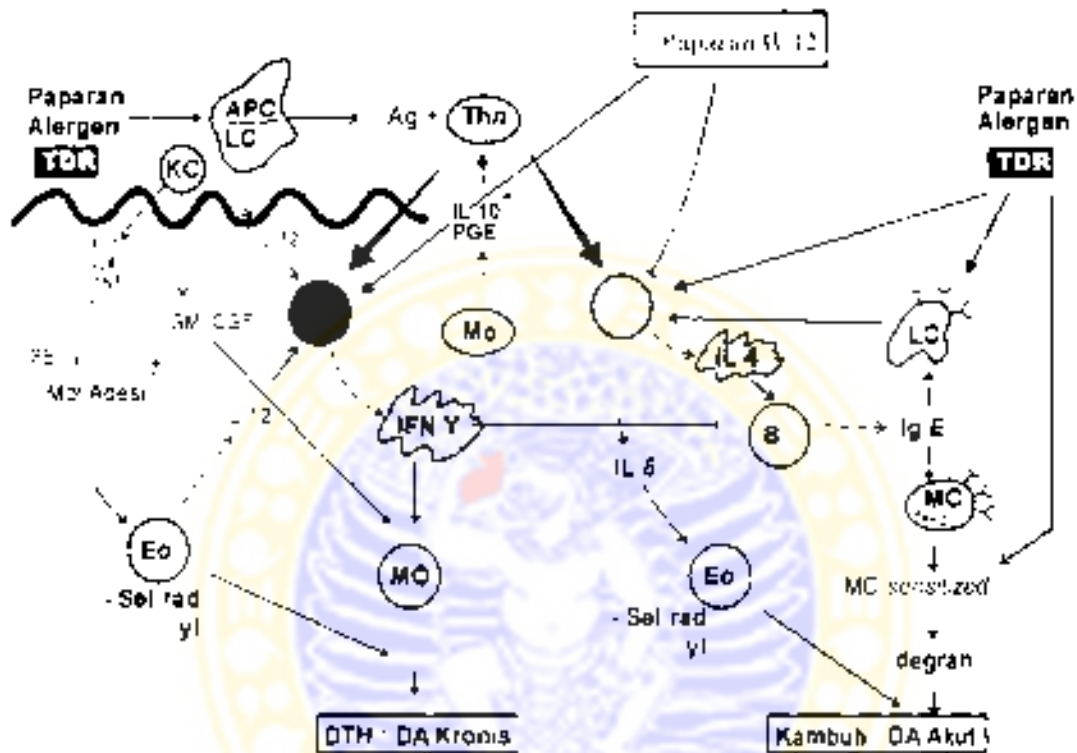
Pengobatan dimasa depan tampaknya akan melangkah pada usaha usaha penelitian untuk eksplorasi kelainan gen dan protein yang diproduksi, sebagai penyebab reaksi inflamasi pada DA. Rekayasa dan perbaikan kelainan gen diharapkan dapat memperbaiki terjadinya inflamasi pada DA sehingga tercapai kesembuhan yang optimal (Bieber, 2002).



BAB 3

KERANGKA KONSEP & HIPOTESIS

3.1 Kerangka Konsep



Keterangan :

- diferensiasi
- - - -> induksi
- sekresi
- |— hambatan
- IFN-γ dan IL-4 variabel yang diukur
- TDR dan IL-12 variabel untuk paparan (variabel bebas)

- APC = antigen presenting cell
- LC = Langerhans cell
- KC = keratinosit
- Eo = eosinofil
- Mo = makrosit
- SE = sel endotel
- Mo = makrofag
- DTH = delayed type of hypersensitivity
- Th1 = sel T helper naive
- MC = mast cell

Penjelasan Kerangka Konseptual

Paparan alergen (TDR) *in vivo*, pertama kali ditangkap oleh *Langerhans cell* (LC) kulit penderita DA, untuk dipresentasikan ke sel *T naive* yang ada di kelenjar limfe sehingga terjadi aktivasi sel T, dan akan ber diferensiasi menjadi sel Th2. Sel Th2 akan menuju ke kulit, mengeluarkan IL-4, IL-13 yang menginduksi sel B untuk memproduksi IgE, dan IL-5 yang mengaktifkan eosinofil. Immunoglobulin (Ig) E menempel pada permukaan *mast cell* (MC) dan juga pada LC. Pada paparan ulang, alergen ditangkap di permukaan MC melalui IgE, terjadi degranulasi MC sehingga mediator keluar, terjadi reaksi tipe 1. Eosinofil dan sel inflamasi lain ditarik ke daerah tersebut sehingga terjadi inflamasi sebagai kekambuhan DA akut. Alergen yang ditangkap LC, dipresentasi ke sel Th2 dan terjadi respons imun Th2 yang dominan, dengan sekresi terutama IL-4. Paparan alergen terus menerus dan lama menyebabkan diferensiasi sel T menjadi Th1 yang menyebabkan peningkatan sekresi IFN- γ . Sel keratinosit (KC) akan mengeluarkan sitokin proinflamasi akibat garukan di kulit, demikian pula meningkatnya IFN- γ akan mengaktifkan makrofag sehingga terjadi reaksi tipe lambat tipe IV sebagai dermatitis atopik kronis.

Paparan TDR pada kultur limfosit (*in-vitro*) menyebabkan respons imun menjadi Th2 dominan, sedangkan penambahan IL-12 pada kultur yang mendapat paparan TDR menyebabkan perubahan respons, dan ini memperlihatkan peran IL-12 didalam pengalihan respons imun Th2 pada DA kambuh ke respons Th1.

3.2 Hipotesis

1. Terdapat peningkatan kadar IL-4 pada kultur limfosit penderita DA yang di papar alergen TDR(TD) dibanding kultur tanpa paparan, namun tidak ada perbedaan kadar IFN- γ pada paparan TDR+IL-12 (T1) dibanding kultur limfosit DA tanpa paparan.

- 2 Terdapat peningkatan kadar IL-4 dan IFN- γ pada kultur limfosit kontrol (NDA) yang dipapar baik alergen TD maupun paparan TI dibanding kultur NDA tanpa paparan
- 3 Terdapat perbedaan kadar IFN- γ pada kultur limfosit penderita DA, yang dipapar baik TD maupun TI, dibanding kultur limfosit kontrol (NDA) yang dipapar TD maupun TI.
- 4 Terdapat perbedaan kadar IL-4 dan IFN- γ pada kultur limfosit penderita DA yang dipapar TD, dibanding kultur yang dipapar TI.



BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental *in vitro*, menggunakan kultur limfosit penderita dermatitis atopik (DA) yang diperlakukan dengan berbagai perlakuan yaitu tanpa paparan (TP), paparan tungau debu rumah atau TDR (TD) dan paparan TDR ditambah IL-12 (TE), dibandingkan kultur limfosit kelompok kontrol yang diperlakukan sama. Pertimbangan menggunakan jenis penelitian ini, limfosit penderita DA sebagai *memory competent cells* mempunyai sifat atau perilaku berbeda dibanding limfosit orang yang tidak mempunyai riwayat atopik, baik pada keadaan tanpa paparan maupun dalam hal responsifitasnya terhadap paparan alergen. Ini dapat diamati dari pengukuran kadar IL-4 dan IFN- γ yang diproduksi limfosit dalam kultur baik dalam keadaan TP maupun dengan paparan TD atau TE yang diambil dari kelompok kasus penderita DA dibanding kelompok kontrol, non-DA. Rancangan penelitian adalah *post test only control group design* (Campbell dan Stanley, 1963)

4.2 Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi penelitian adalah penderita dermatitis atopik (DA), diagnosis ditegakkan berdasar pemeriksaan klinis dengan kriteria Hanifin-Rajka. Subjek penelitian diambil dari penderita yang datang berobat di poliklinik penyakit kulit & kelamin Rumah Sakit Umum Daerah (RSUD) Dr. Muwardi, Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret (FK UNS) Surakarta. Kelompok kasus adalah penderita

DA yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi dan bersedia mengikuti penelitian dengan menanda tangani formulir kesediaan secara sukarela (*informed consent*). Kelompok kontrol adalah kelompok orang sehat yang diambil dari mahasiswa FK.UNS atau penderita penyakit kulit bukan dermatitis atopik dari poliklinik penyakit kulit & kelamin RSUD.Dr. Muwardi FK UNS Surakarta.

Dari populasi ini akan dilakukan pengambilan sampel dengan cara *convenience sampling* (Nachmias, D dan Nachmias,C,1987). Pemilihan sampel penelitian dari populasi ditetapkan dengan kriteria inklusi dan eksklusi.

4.2.1 Kriteria inklusi untuk kelompok kasus sebagai berikut:

- 1 penderita laki laki atau wanita dengan usia antara 6 – 40 tahun
- 2 penderita dermatitis atopik (DA) yang jelas, diagnosis ditegakkan berdasar kriteria Hanufin & Rajka (1980)
- 3 bersedia mengikuti penelitian, dengan mengisi dan menanda tangani formulir kesediaan (*informed consent*)

Untuk kelompok kontrol, non-dermatitis atopik, sebagai berikut

- 1 mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret (FK.UNS) yang sehat, laki laki atau perempuan
- 2 penderita penyakit kulit selain atau bukan DA, usia antara 6 sampai 40 tahun
- 3 tidak mempunyai riwayat atopi pada diri ataupun keluarganya
- 4 bersedia mengikuti penelitian, dengan mengisi dan menanda tangani formulir kesediaan (*informed consent*)

4.2.2 Kriteria eksklusi sampel penelitian adalah sebagai berikut

1. penderita DA yang telah mendapat pengobatan kortikosteroid topikal maupun sistemik sebelum penelitian, dalam waktu 1 minggu atau kurang
2. penderita DA yang disertai infeksi parasit atau penyakit sistemik
3. penderita DA disertai gangguan sistem imun yang lain

4.2.3 Besar sampel dan Teknik Pengambilan Sampel

Penentuan besar sampel dalam penelitian ini dipertimbangkan sesuai dengan jenis penelitian dan ciri populasi. Dengan cara pengambilan sampel secara *convenience* maka selama 4 bulan periode pengumpulan data, dan poliklinik penyakit kulit & kelamin RSUD Dr.Muwardi, didapatkan jumlah kunjungan sebesar 2839 penderita. Dari sejumlah tersebut penderita yang datang dengan diagnosis klinis DA sebanyak 75 penderita, dan yang memenuhi kriteria inklusi direkrut untuk menjadi subjek penelitian, sebagai kelompok kasus. Dengan seleksi berdasar kriteria inklusi, diperoleh sebanyak 18 penderita, sedang kelompok kontrol dari orang sehat (mahasiswa FK UNS Surakarta) dan penderita non-DA diperoleh 12 orang.

4.3 Etik Penelitian

Etik penelitian dilakukan sesuai dengan kaidah yang berlaku dan *Ethical clearance* diperoleh dari Komite Etik Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret, Rumah Sakit Umum Daerah Dr.Muwardi Surakarta, dapat dilihat pada lampiran 2

4.4 Variabel Penelitian

4.4.1 Klasifikasi variabel penelitian

Variabel penelitian digolongkan dalam variabel bebas (*independent variable*), variabel terikat atau tergantung (*dependent variable*) dan variabel kendali (*control variable*), adalah sebagai berikut

1. variabel bebas terdiri dari tungau debu rumah (TDR) dan interleukin (IL)-12
2. variabel tergantung terdiri dari interferon gamma (IFN- γ) dan interleukin (IL)-4
3. variabel kendali jenis kelamin, usia dan riwayat atopi

4.4.2 Definisi Operasional

1. **Dermatitis atopik (DA)** adalah penyakit kulit inflamasi kronis (biasanya lebih dari 3 bulan) dengan keluhan utama gatal sangat dan bersifat kambuhan. Memenuhi kriteria diagnostik dari Rajka & Hanifin dan pada pemeriksaan klinis terlihat lesi kulit *polimorfi* berupa *makulo-papula eritematous* disertai erosi bekas garukan dan basah (stadium akut) ataupun berbentuk likenifikasi (kronis). Predileksi lesi terdapat di daerah fleksural lutut atau siku, tangan dan pergelangan tangan atau kaki dan punggung kaki serta tungkai bawah. Pemeriksaan laboratorium biasanya disertai hipereosinofilia dan peningkatan kadar IgE total, atau didapatkan IgE spesifik terhadap tungau debu rumah. Uji kulit dengan uji tusuk terhadap alergen tungau biasanya positif
2. **Respons imun** pada penelitian ini adalah reaksi tubuh yang merupakan mekanisme pertahanan terhadap benda asing (TDR), dilakukan oleh limfosit

sebagai sel imunokompeten. Perilaku sel ini dapat dilihat dengan mengukur kadar sitokin IL-4 (respons Th2) dan IFN- γ (respons Th1) yang diproduksi sel tersebut.

3. **Tungau debu rumah(TDR)** adalah ekstrak alergen dari tungau yang terdapat didalam debu rumah. Pada penelitian ini TDR diperoleh dari instalasi klinik Asma & Alergi Indrayana Jakarta, digunakan dengan konsentrasi 50 μ g/ml.
4. **Interleukin (IL)-12** adalah sitokin dengan *heterodimer* molekul yang terdiri dari dua sub unit yaitu p35 dan p40. Bentuk IL-12 recombinan yang diambil dari manusia (*rh* IL-12) pada penelitian ini diperoleh dari Sigma dengan *unit size* = 5 μ g.
5. **Interferon gamma (IFN- γ)** adalah sitokin *pleiotropik* yang pada penelitian ini kadarnya dapat diukur dari supernatan kultur limfosit dengan metoda ELISA, memakai kit *Elisa Quantikine human IFN- γ* yang dibeli dari R & D System (UK).
6. **Interleukin (IL)-4** : adalah sitokin *pleiotropik* yang yang pada penelitian ini kadarnya dapat diukur dari supernatan kultur limfosit dengan metoda ELISA memakai kit *Elisa Quantikine human IL-4* dibeli dari R & D System (UK).

4.5 Instrumen Penelitian

4.5.1 Bahan Penelitian

1. Darah perifer dan serum darah yang diperoleh dari sampel baik kelompok kasus DA dan kontrol NDA

2. Larutan *Ficoll-hypaque*, larutan Hank's BSS (balance salt solution), digunakan untuk isolasi limfosit dengan metode *Ficoll gradient sentrifugasi*
3. RPMI 1640 medium (Sigma), *human calf serum* 20%, 2nML-Glutamine antibiotik (pen-strep) dan fungzone (Gibco) sebagai media kultur limfosit.

4.5.2 Alat Penelitian

1. *Vacutainer* untuk pengambilan sampel darah secara langsung pada kelompok kasus maupun kontrol di Lab.Klinik Prodia Surakarta
2. Rak dan tabung reaksi beserta penutup dari karet dengan ukuran 7 ml untuk tempat sampel darah sebelum di *centrifuge* dan 3 ml untuk tempat serum darah setelah di *centrifuge*
3. *Centrifuge* digunakan untuk tempat pemusungan sampel darah sehingga serum darah diperoleh dengan kecepatan 3000rpm selama 10-15 menit
4. Lemari es (*Freezer*) dengan suhu minus 20 derajat Celsius jika sampel dibekukan (stabilitas 60 hari) atau suhu 2-8 derajat Celsius sebagai penyimpanan serum darah, yang harus cepat diperiksa dalam beberapa hari
5. Boks berisi es untuk tempat tabung reaksi atau *vacutainer* berheparin berisi darah perifer yang dikirim ke Lab Ilmu Hayati Universitas Gajah Mada Yogyakarta untuk dilakukan isolasi limfosit
6. *Vacutainer* tanpa antikoagulan berisi darah untuk diambil serum guna pemeriksaan IgE total dengan metode *Microparticle Enzyme Immunoassay (MEIA)* dan IgE spesifik dengan metode *Radiallergisorbent test (RAST)*. Untuk pemeriksaan eosinofil sebagian darah dimasukkan dalam *vacutainer* dengan ditambah EDTA.

- 7 *Centrifuge refrigerator* 3 K12 (B.Braun Biotech. International) dan tabung sentrifus 15 ml untuk pemusingan darah pada waktu isolasi limfosit
- 8 Mikropipet (Socorex), pipet transfer Sigma, multichanel pipet (Eppendorf) merupakan alat lain yang digunakan untuk isolasi limfosit
- 9 Balok hitung untuk menghitung jumlah limfosit setelah di isolasi
- 10 Inkubator 37⁰ celcius dengan CO₂ untuk peneraman limfosit
- 11 *Plate* steril berisi sumuran (*well*) digunakan untuk kultur limfosit
12. Kit Elisa *Quantikine Human IL-4 & IFN-gamma* (R & D System) untuk mengukur kadar sitokin IL-4 dan IFN-gamma dengan metode Elisa. Masing masing kit berisi reagensia IL-4/IFN- γ Microplate, IL-4/IFN- γ Conjugate, IL-4/IFN- γ Standard, Assay Diluent RD1-52 RD1-51, Calibrator Diluent RD6-9 RD6-21, Wash Buffer Concentrate, Color Reagent A, Color Reagent B, Stop Solution dan Plate Covers.
- 13 Alat lain yang digunakan untuk mengukur kadar sitokin adalah tabung *polypropylene*, tabung *ependorf*, *yellow tips & blue tips* (Boehringer Mannheim)
- 14 Elisa *reader* alat untuk membaca hasil pengukuran kadar sitokin dengan satuan OD (*Optical Density*)

4.6 Prosedur Pengumpulan dan Pengukuran Data

Prosedur pengumpulan dan pengukuran data dilakukan sejak awal proses penelitian dengan mengacu pada rancangan atau disain penelitian

4.6.1 Pengumpulan dan Pengukuran data pokok

Pertama kali dilakukan pengambilan darah di laboratorium Prodia Surakarta. Setelah pengambilan, darah dalam *vacutainer* ber heparin secepatnya (patung lambat 12 jam) dikirim ke Laboratorium Ilmu Hayati Universitas Gajah Mada Yogyakarta, menggunakan *box* berisi es sebagai tempat penyimpanan selama perjalanan. Setelah sampai di laborartorium Ilmu Hayati Universitas Gajah Mada Yogyakarta dilakukan pemeriksaan

1. Isolasi limfosit

Isolasi limfosit dilakukan dengan metoda *Ficoll gradient sentrifugasi*. Teknik atau prosedur laboratorium untuk isolasi limfosit ini dapat dilihat pada lampiran 6 tentang protokol untuk melakukan isolasi limfosit. Isolat limfosit yang diperoleh dipergunakan untuk keperluan kultur. Kultur limfosit dikerjakan dengan mengeramkan selama 5 hari untuk paparan allergen TDR maupun TDR (II,-12). Pada hari ke 6 kultur dipanen dengan mengambil supernatan dari kultur.

2. Pengukuran kadar IFN- γ dengan metoda ELISA

Pengukuran kadar IFN- γ dan supernatan yang diperoleh setelah kultur limfosit dieramkan, menggunakan Elisa Kit yang dibeli dari *Quantikine Human IFN-gamma R&D System UK*. Prosedur laboratorium untuk pengukuran IFN- γ dapat dilihat di lampiran 6 tentang protokol melakukan pengukuran kadar sitokin.

3 Pengukuran IL-4 dengan metoda ELISA

Pengukuran kadar IL-4 juga menggunakan Elisa Kit yang dibeli dari *Quantikine Human IL-4(R&D System UK)*. Prosedur laboratorium pengukuran kadar IL-4 sama dengan pengukuran kadar IFN- γ , dapat dilihat pada lampiran 6.

4.6.2 Pengumpulan data tambahan klinis dan laboratorium

Pemeriksaan klinis dilakukan untuk menegakkan diagnosis DA, berdasarkan kriteria Hanifin & Rajka (lampiran tabel 1). Diagnosis DA dibuat apabila didapatkan paling sedikit tiga kriteria major dan tiga atau lebih kriteria minor (Rothe & Grant-Kels, 1996). Setelah diagnosis ditegakkan, pada kelompok kasus ditetapkan derajat berat penyakit berdasar perhitungan dengan SCORAD Index (lampiran 7). Pada kelompok kasus dan kontrol dilakukan uji tusuk (*skin prick test*) dengan alergen tungau debu rumah dan pemeriksaan laboratorium.

1. Uji Tusuk

Uji tusuk dilakukan dengan menggunakan alergen TDR, dengan cara pada lengan bawah bagian volar kanan atau kiri dibersihkan lebih dahulu dengan cairan alkohol 70%, kemudian ditetesi dengan cairan alergen ekstrak tungau debu rumah, larutan histamin sebagai kontrol positif dan larutan coca sebagai kontrol negatif. Dilakukan penusukan ringan kulit menggunakan jarum nomor 26G sampai epidermis pada tempat tetesan cairan, dan ditunggu selama kurang lebih 30 menit. Apabila pada tempat tusukan terjadi kemerahan disertai edema atau *wheal* (bentol), seperti yang terjadi pada tempat yang ditetesi larutan histamin maka uji dikatakan positif. Diameter bentol diukur dan apabila *extema* disertai edem ukuran kurang dari 2 mm

hasil positif satu (-), bila ukuran 2-4 mm, positif dua (++) dan ukuran lebih dari 4 mm, hasil positif tiga (+++)

Pemeriksaan klinis dan uji tusuk dilakakukan di Poliklinik penyakit kulit & kelamin RSUD.Dr.Muwardi FK UINS Surakarta. Latar belakang penderita maupun kontrol dicatat antara lain usia, jenis kelamin, alamat, pekerjaan, usia awitan penyakit, riwayat kekambuhan, riwayat keluarga dan sebagainya.

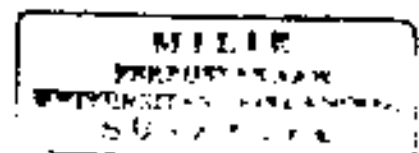
2. Pemeriksaan Laboratorium

Pengambilan darah perifer atau darah vena dari kelompok kasus dan kontrol sebanyak 5 cc dengan *vacutainer* ber-heparin untuk kultur limfosit, juga diambil 5 cc darah dengan *vacutainer* tanpa antikoagulan untuk diambil serumnya guna pemeriksaan IgE total dan IgE spesifik. Pemeriksaan eosinofil menggunakan *vacutainer* dengan EDTA. Eosinofil darah dihitung dengan metode Dungey (lampiran 6), IgE total dengan metoda *Microparticulate Enzyme Immunoassay (MIEA)* dikerjakan di Lab.Klinik Prodia Cabang Surakarta, dan pemeriksaan IgE spesifik terhadap tungau debu rumah (*Dermatophagoides pteronyssinus*) dengan metode *RAST (Radio Allergy Sorbent Test)* dengan sampel darah dikirim ke Jakarta untuk dikerjakan di Laboratorium Biolsa Jakarta.

Gambaran darah tepi yaitu kadar Hb, hitung leukosit, hitung jenis dan LED serta feses diperiksa pula untuk menyingkirkan adanya penyakit sistemik dan infeksi parasit

4.7 Teknik Analisis Data

4.7.1 Pengolahan Data



Data yang diperoleh, dilakukan pengolahan data kuantitatif secara manual dan komputer dengan program SPSS release 10, serta disajikan dalam bentuk tabel frekwensi dan tabel silang.

4.7.2 Analisis Data

Berdasarkan data yang diperoleh, dilakukan tahapan analisis data meliputi analisis statistik deskriptif dan analisis inferensial. Analisis statistik deskriptif untuk uji homogenitas sampel pada variabel umur, jenis kelamin, derajat penyakit, kadar IgE total dan IgE spesifik dengan distribusi frekwensi, diagram, rerata dan standar deviasi. Analisis statistik inferensial dilakukan dengan memperhatikan rumusan masalah, tujuan dan hipotesis, untuk uji homogenitas dan normalitas data, serta uji beda sebagai berikut.

1. Uji homogenitas dan normalitas data dari hasil kultur limfosit, dengan uji *identically, independency* dan *normality (IIDV)* untuk membuktikan normalitas data. Uji ini untuk mengetahui apakah data mempunyai variasi yang sama (*identic*), tidak terpengaruh pengamatan data sebelumnya (*independence*) dan distribusinya normal, dengan menggunakan *time sequence plot, estimated autocorrelation* dan *normal probability plot* (Lampiran 5).
2. Uji beda untuk membuktikan perbedaan kadar IFN- γ dan IL-4 pada masing-masing kelompok perlakuan, di antara kasus dan kontrol, maupun perbedaan antara kelompok kasus DA dibanding kontrol NDA. Juga dilakukan analisis *delta* yaitu selisih kadar IFN- γ dan IL-4 tanpa paparan dengan berbagai paparan, untuk

... yang berbeda-beda pada waktu paparan, dengan menggunakan analisis multivariat atau *manova (multiple analysis of variance)*.

Apabila tidak didapatkan beda yang bermakna, dilakukan analisis *cluster* sebagai usaha pengelompokan baru dari subjek penelitian berdasar kadar IFN- γ dan IL-4 tanpa paparan. Perbedaan signifikan secara statistik di ambil pada nilai $p < 0,05$.

4.8 Kerangka Operasional

Kerangka operasional penelitian dapat digambarkan dengan bagan atau alur sebagai berikut dibawah ini.



BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS

5.1 Waktu, Subjek dan Tempat penelitian

Dalam periode 9 bulan dari Februari sampai November 2001, telah dilakukan penelitian yang melibatkan 30 subjek penelitian, terdiri 18 penderita dermatitis atopik (DA) sebagai kelompok kasus dan 12 orang kontrol (non dermatitis atopik=NDA). Kelompok kontrol terdiri 8 orang sehat dan 4 penderita penyakit kulit selain DA, yang semuanya tidak mempunyai riwayat atopik yaitu 2 penderita akne vulgaris, seorang tinea kruris dan kandidiasis 1 orang (lampiran tabel 3)

Penelitian dilaksanakan di Poliklinik Penyakit Kulit & Kelamin Fakultas Kedokteran UNS, RSUD Dr. Muwardi Surakarta. Pemeriksaan laboratorium dilakukan di laboratorium klinik Prodia Surakarta dan Laboratorium Ilmu Hayati Universitas Gajah Mada Yogyakarta.

5.2 Data Respons Imun Limfosit pada kultur

Pada kultur limfosit diberikan perlakuan dengan berbagai cara yaitu tanpa paparan (TP=*control*), paparan dengan tungau debu rumah (TD) dan paparan dengan TD ditambah IL-12 (TI) diberikan untuk melihat respons imun yang terjadi pada limfosit penderita DA maupun kontrol NDA. Paparan TD, dengan konsentrasi 50µg/ml, untuk mengetahui respons imun penderita DA seperti pada saat kambuh karena TD. Paparan TI, untuk mengetahui respons imun limfosit pada saat kambuh (karena TD), dan diberi penambahan IL-12

Setelah limfosit dieramkan selama 5 hari, diukur produksi IL-4 dan IFN- γ dari supernatan kultur dengan metode *ELISA* (lihat lampiran 7), menggambarkan terjadinya respons imun

5.2.1 Kadar standart IL-4 dan IFN- γ

Kadar standart IL-4 dan IFN- γ ditentukan lebih dulu (lampiran 7) dan didapatkan data seperti terlihat pada tabel 5.1 dan 5.2

Tabel 5.1 Kadar standart IL-4

	pg/ml	Standart IL-4 (OD)
I	1000 =	1.373
II	500 =	0.834
III	250 =	0.541
IV	125 =	0.356
V	62.5 =	0.255
VI	31.25 =	0.172

Tabel 5.2. Kadar standart IFN- γ

	pg/ml	Standart IL-4 (OD)
I	500 =	1.614
II	250 =	0.959
III	125 =	0.668
IV	62.5 =	0.481
V	31.25 =	0.370
VI	15.6 =	0.324

5.2.2 Rerata kadar IFN- γ dan IL-4 pada kultur limfosit

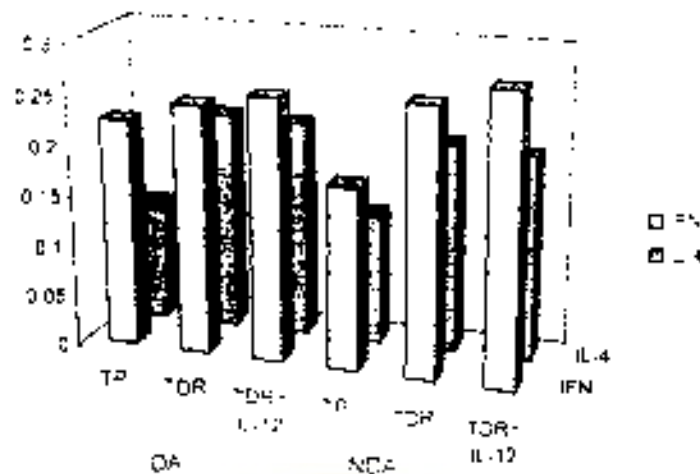
Rerata kadar IFN- γ dan IL-4 pada keadaan baik tanpa paparan maupun dengan beberapa paparan terlihat pada tabel 5.3

Tabel 5.3 Rerata kadar IFN- γ dan IL-4 pada DA dan NDA

	Rerata kadar pada DA (OD) dengan perlakuan			Rerata kadar pada NDA (OD) dengan perlakuan		
	Cont (TP)	TD	T1	Cont (TP)	TD	T1
IFN- γ	0,2253	0,2452	0,2580	0,1791	0,2628	0,2820
IL-4	0,1193	0,2168	0,2142	0,1299	0,2050	0,2008

Keterangan:

- OD = optical density
- Cont (TP) = control atau tanpa paparan
- TD = paparan dengan tungau debu rumah (TDR)
- T1 = paparan dengan TDR + IL-12



Gambar 5. 1: Grafik rerata kadar IFN- γ dan IL-4 pada kelompok kasus & kontrol

5.3 Analisis data

5.3.1 Uji homogenitas dan normalitas data

Uji homogenitas dan normalitas data yang diperoleh dari hasil kultur limfosit menggunakan uji IIDN (*Identity, Independency dan Normality*) Uji ini untuk mengetahui data yang dihasilkan mempunyai variasi yang hampir sama (*Identical*), tidak terpengaruh pengamatan data sebelumnya (*Independency*) dan distribusinya normal (*Normality*), dilakukan dengan *Time Sequence Plot, Estimated Auto correlation* dan *Normal Probability Plot*.

Hasil yang didapat ternyata data identik, independen dan terdistribusi normal seperti terlihat pada gambar grafik (lampiran 10). Dari hasil uji IIDN ini, data yang dihasilkan memenuhi syarat untuk dilakukan analisis statistik selanjutnya, yaitu uji beda, untuk meneliti perbedaan respons imun pada kelompok kasus dan kontrol.

5.3.2 Uji beda respons imun

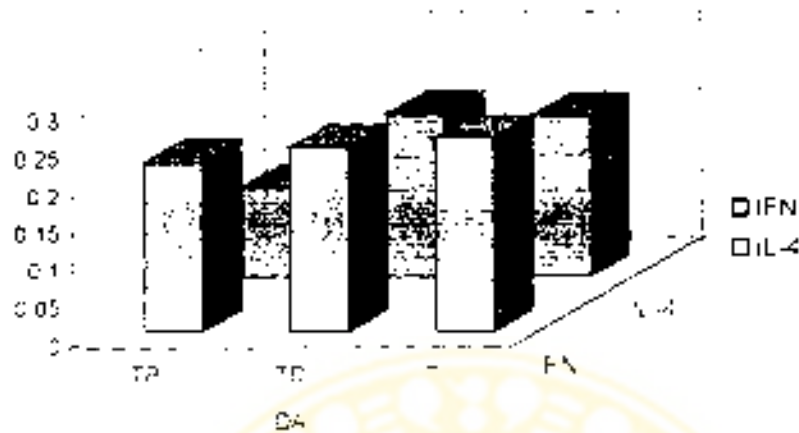
Data hasil pemeriksaan kadar IL-4 dan IFN- γ pada kelompok kasus dan kontrol dilakukan uji statistik untuk mengetahui perbedaan respons imun baik didalam kelompok DA dan NDA dengan berbagai perlakuan, maupun perbedaan antara kedua kelompok. Pada kultur limfosit terjadi interaksi antar sel sehingga untuk melakukan analisis variabel IL-4 dan IFN- γ , digunakan *Manova (multiple analysis of variant)*. Tahapan uji statistik yang dilakukan adalah sebagai berikut:

1. Manova pada kelompok kasus DA

Rerata kadar IFN- γ dan IL-4 dari kultur limfosit penderita DA dengan beberapa perlakuan baik tanpa maupun dengan papanan, terlihat pada tabel 5.4 (lampiran II). Gambar grafik rerata kadar IFN- γ dan IL-4 pada kelompok kasus terlihat pada gambar 5.2.

Tabel 5.4 Rerata kadar IFN- γ dan IL-4 pada kelompok kasus (DA) pada berbagai perlakuan

variabel	TP		TD		TI	
	Rerata (OD)	SD	Rerata (OD)	SD	Rerata (OD)	SD
IFN- γ	0.2253	0.0772	0.2452	0.0401	0.2580	0.0551
IL-4	0.1186	0.0097	0.2127	0.0347	0.2133	0.0382



Gambar 5.2 : Grafik variabel IFN- γ dan IL-4 pada kelompok DA tanpa paparan dan dengan berbagai paparan.

Uji multivariat dengan metoda *Wilks' Lambda*, rerata kadar IFN- γ dan IL-4 pada kelompok DA, didapatkan F hitung = 20,205 dan nilai $sig. = 0,00$. Jadi terdapat perbedaan, pada variabel IL-4 ($p = 0,00$) TP dibanding dengan paparan, sedang pada variabel IFN- γ tidak ada perbedaan ($p = 0,26$) (lampiran III).

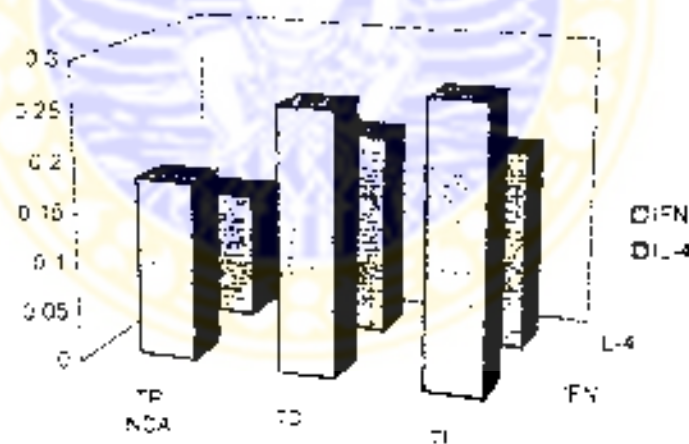
Uji secara sendiri sendiri atau *post hoc test* untuk membandingkan perbedaan IL-4 antara TP dibanding dengan yang mendapat paparan, ternyata terdapat perbedaan kadar IL-4 antara TP dengan paparan TD ($p = 0,000$) maupun TP dengan paparan TI ($p = 0,000$). Pada variabel IFN- γ tidak didapatkan beda antara TP dengan paparan TD maupun TP dengan TI ($p = 0,12$).

2. Manova pada kelompok kontrol (NDA)

Rerata kadar IFN- γ dan IL-4 dari kultur limfosit kelompok kontrol atau NDA pada beberapa perlakuan tidak sebandar. TP maugun dengan paparan TD dan TI terlihat pada tabel 5.5 (lampiran 12).

Tabel 5.5 Rerata kadar IFN- γ dan IL-4 pada kelompok kontrol (NDA) pada berbagai perlakuan

variabel	TP		TD		TI	
	Rerata(OD)	SD	Rerata(OD)	SD	Rerata(OD)	SD
IFN- γ	0.1791	0.0894	0.2628	0.0945	0.2820	0.1067
IL-4	0.1299	0.0286	0.2050	0.0251	0.2008	0.0115



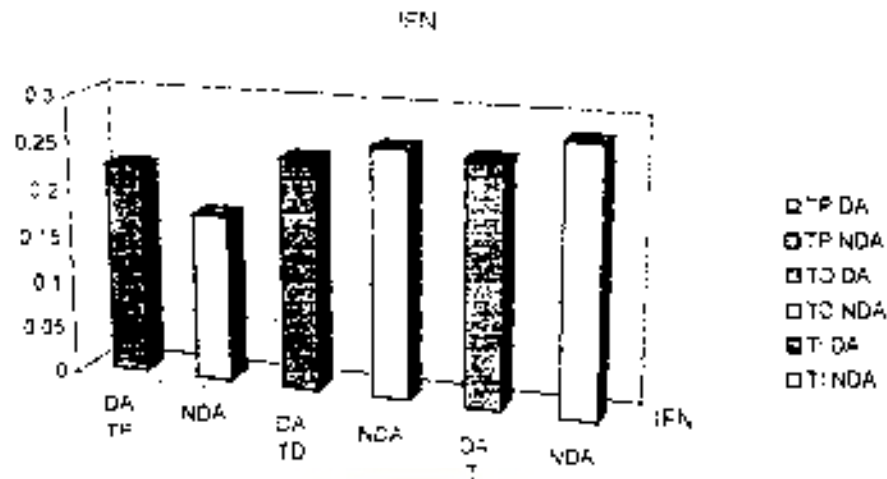
Gambar 5.3 : Grafik variabel IFN- γ dan IL-4 pada NDA tanpa paparan dan dengan berbagai paparan.

Uji multivariat dengan metoda *Wilk's Lambda* pada rerata kadar IFN- γ dan IL-4 kelompok NDA, didapatkan F hitung =15.347 dan nilai *sig.* = 0.000. Jadi **terdapat perbedaan** baik pada variabel IFN- γ (p -0.032) maupun variabel IL-4 (p 0.000), TP dibanding dengan berbagai paparan (lampiran 12). Membandingkan perbedaan kadar IFN- γ dan IL-4 antara tanpa paparan dengan yang mendapat paparan secara sendiri, dilakukan *post hoc test*. Hasil uji secara sendiri mendapatkan perbedaan kadar IFN- γ antara TP dengan paparan TD (p 0.042), dan TP dengan T1 (p 0.017). Pada variabel IL-4 juga didapatkan ada beda antara TP baik dengan TD (p 0.000) maupun TP dengan T1 (p 0.000).

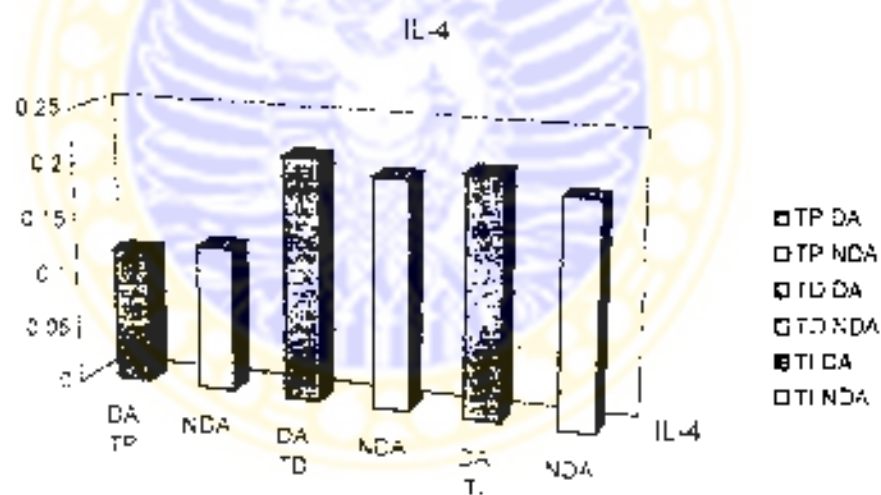
3 Manova antara kelompok kasus (DA) dan kontrol (NDA)

Uji multivariat dengan metoda *Wilk's Lambda*, variabel TP IFN- γ dan TP IL-4 antara kelompok kasus (DA) dan kontrol NDA, didapatkan hasil F hitung = 2.060 dan nilai *sign.* = 0.147 (lampiran 13). Jadi **tidak ada beda** (p 0.05) IL-4 dan IFN- γ tanpa paparan pada DA dibanding NDA.

Pada paparan TD, didapatkan F hitung= 0.694 dan nilai *sig.* = 0.508 (lampiran 14), sedangkan paparan T1, didapatkan F hitung= 1.084 dan nilai *sig.* = 0.353 (lampiran 15), berarti juga tidak didapatkan beda DA dibanding NDA pada keadaan paparan (p 0.05). Jadi kelompok kasus dan kontrol merupakan kelompok yang tak berbeda atau homogen, baik pada keadaan tanpa paparan maupun dengan berbagai paparan (gambar 5.4 dan 5.5).



Gambar 5.4 : Grafik rerata IFN- γ pada kelompok DA dan NDA



Gambar 5.5 : Grafik rerata IL-4 pada kelompok DA dan NDA

4. Manova delta pada DA dan kontrol NDA

Analisis delta dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui perubahan respons imun akibat pemberian paparan. Nilai delta merupakan selisih kadar IFN- γ atau IL-4

antara paparan baik TD maupun TI dengan tanpa paparan (TP), dan ini dapat dilihat pada tabel delta masing masing variabel (tabel 5.6) atau pada lampiran 16 dan 17.

Tabel 5.6 Rerata delta kadar IFN- γ dan IL-4 (OD) pada berbagai paparan

variabel	DA dengan paparan		NDA dengan paparan	
	TDR (DTD)	TDR-IL-12 (DTI)	TDR (DTD)	TDR-IL-12 (DTI)
D.IFN-G	0.0198	0.0327	0.0837	0.1029
D.IL-4	0.0975	0.0949	0.0751	0.0709

Keterangan:

- D.IFN- γ = rerata delta kadar IFN- γ
- D.IL-4 = rerata delta kadar IL-4
- DTD = rerata delta antara TP dengan paparan TD
- DTI = rerata delta antara TP dengan paparan TI

Uji multivariat pada variabel delta IFN- γ dan IL-4 dengan metoda *Wilks's Lambda* mendapatkan hasil pada paparan TD, F hitung = 2.449 dan nilai sig. 0.105 (lampiran 16), sedang untuk paparan TI, F hitung= 2.699 dan nilai sig. 0.085 (lampiran 17). Jadi tidak terdapat perbedaan perubahan respons imun (delta), dengan paparan TD ataupun TI antara kelompok kasus DA dibanding kontrol NDA, artinya kedua kelompok tersebut betul homogen.

5.3.3 Analisis cluster

Uji *manova* tidak dapat membedakan perbedaan kadar IFN- γ dan IL-4 pada DA dibanding NDA, begitu pula tidak ada perbedaan nilai delta antara kelompok kasus dibanding kontrol, oleh karena itu dilakukan analisis *cluster* untuk membuat pengelompokan baru agar dapat dilakukan uji beda pada kelompok baru hasil

clustering Analisis *cluster* berdasar kadar IL-4 dan IFN- γ tanpa paparan pada kelompok kasus dan kontrol, didapatkan pengelompokan baru yaitu (lampiran 18) :

2. klaster 2 (n=7), terdiri 3 kasus DA dan 4 kontrol NDA
3. klaster 3 (n=12), terdiri 10 orang DA dan 2 kontrol NDA.

Data kelompok penderita DA dan kontrol NDA berdasar hasil pemeriksaan klinis dan laboratorium pada pengelompokan baru berdasar *clustering* terlihat pada lampiran 19. Langkah langkah analisis multivariat selanjutnya dilakukan sebagai berikut:

1. Manova rerata kadar IFN- γ dan IL-4 pada kelompok klaster

Analisis multivariat IFN- γ dan IL-4 tanpa paparan dengan metoda *Wilk's Lambda* pada ke 3 klaster, mendapatkan hasil F hitung = 30.470 dan nilai *sig.* = 0,000 (lampiran 20). Jadi terdapat perbedaan pada variabel TP.IFN-G (*p* = 0,000), sedang variabel TP.IL-4 tidak berbeda (tabel 5.7).

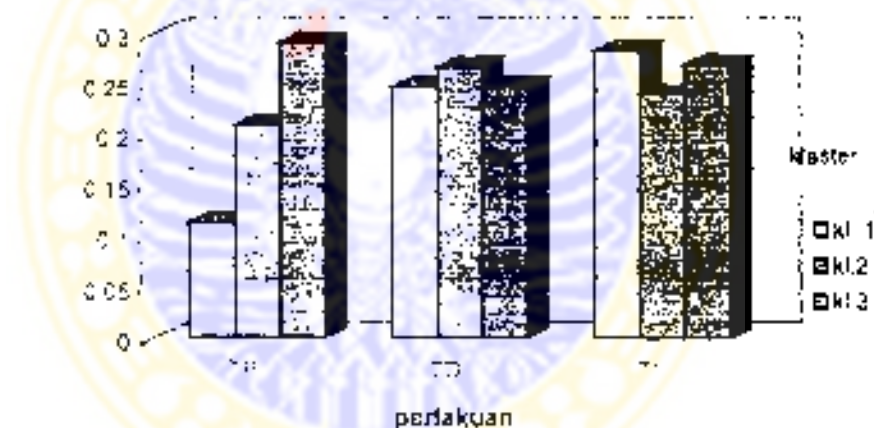
Tabel 5.7 Rerata kadar IFN- γ dan IL-4 tanpa paparan pada kelompok klaster

Variabel	Kel. klaster	N	Mean	Std. Deviation	Sig.
TP.IFN-G	1	11	0.1128	0.0067	0,000
	2	7	0.2092	0.0294	
	3	12	0.2917	0.0371	
TP.IL-4	1	11	0.1319	0.0063	0,171
	2	7	0.1355	0.0367	
	3	12	0.1180	0.0118	

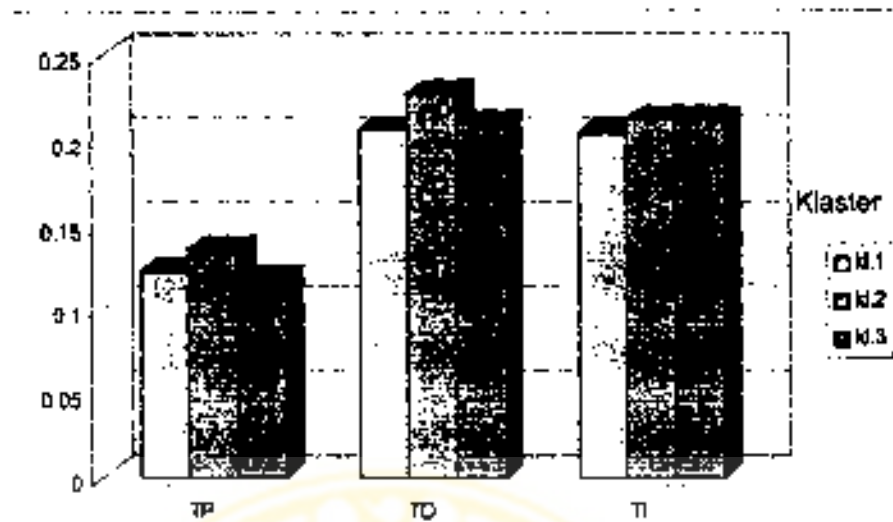


Uji multivariat IFN- γ dan IL-4 dengan paparan TD pada ketiga klaster dengan metoda Wilk's Lambda memberikan hasil F hitung=0.6102 dan $sig.$ 0.656 (lampiran 21) dan paparan TI, menunjukkan F hitung=0.451 dan $sig.$ 0.771 (lampiran 22). Jadi pada **paparan TD maupun TI tidak didapatkan beda yang bermakna ($p > 0.05$)** diantara ketiga klaster.

Tabel 5.8 menunjukkan rerata IFN- γ & IL-4 pada paparan TD dan tabel 5.9 dengan paparan TI. Grafik rerata kadar IFN- γ pada ketiga kelompok klaster terlihat pada gambar 5.6 baik pada TP maupun pada paparan, sedangkan IL-4 pada gambar 5.7.



Gambar 5.6 : Grafik rerata kadar IFN- γ pada kelompok klaster tanpa dan dengan paparan
Catatan: Ada beda pada TP IFN- γ , namun tak ada beda kadar IFN- γ pada paparan diantara ketiga klaster



Catatan: Tak ada beda TP, IL-4 maupun pada paparan ($p > 0,05$) diantara ketiga klaster

Tabel 5.8 Rerata IFN- γ & IL-4 paparan TD pada kelompok klaster

Variabel	Rerata kadar IFN- γ dan IL-4 dengan paparan TD Pada kelompok					
	Klaster 1 (n=11)		klaster 2 (n=7)		klaster 3 (n=12)	
	rerata	SD	rerata	SD	rerata	SD
TD IFN γ	0.2469	0.0963	0.2674	0.0372	0.2483	0.0472
TD IL-4	0.2058	0.0321	0.2271	0.0275	0.2090	0.0353

Wilk's Lambda : p = .656

Tabel 5.9 Rerata kadar IFN- γ & IL-4 paparan TI pada kelompok klaster

Variabel	Rerata kadar IFN- γ dan IL-4 dgn paparan TI					
	Pada kelompok					
	klaster 1 (n=11)		klaster 2 (n=7)		Klaster 3 (n=12)	
	rerata	SD	rerata	SD	rerata	SD
TI.IFN γ	0.2838	0.111	0.2390	0.037	0.2695	0.059
TI.IL-4	0.2040	0.025	0.2122	0.016	0.2113	0.041

Wilk's Lambda, p = .771

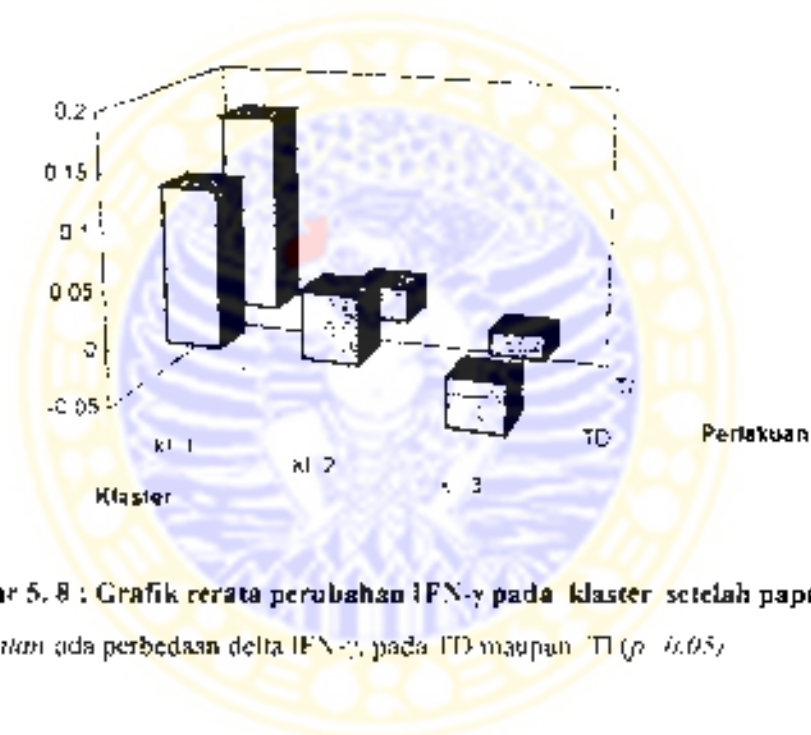
2. Manova delta kelompok klaster

Analisis multivariat IFN- γ dan IL-4 pada kelompok klaster TP menunjukkan ada perbedaan pada variabel TP IFN- γ (lampiran 20), namun pada TD dan TI tidak berbeda (lampiran 21 & 22), maka dihuung delta kedua variabel. Analisis multivariat delta IFN- γ dan IL-4 pada kelompok klaster terlihat pada tabel 5.10 dan dengan metoda *Wilk's Lambda*, pada delta setelah paparan TD, F hitung = 6.117 dan sig. = 0.000 (lampiran 23). Sedang paparan TI, F hitung = 6.893 dan sig. = 0.000 (lampiran 24).

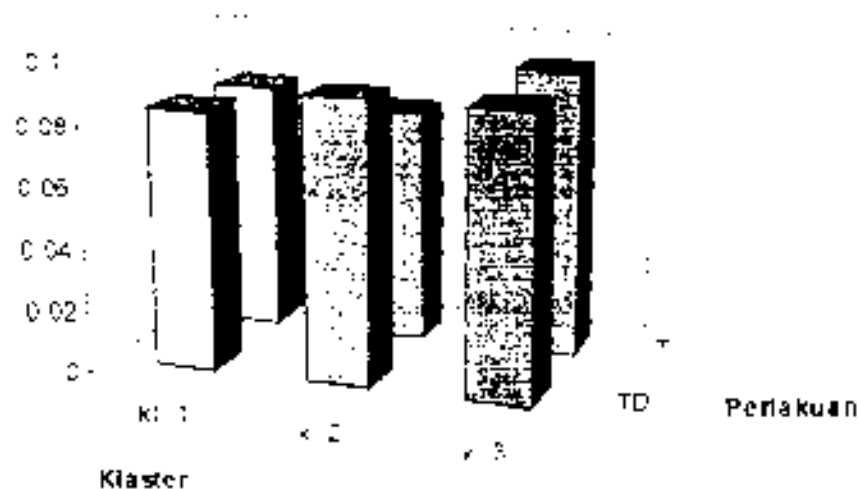
Jadi pada kedua paparan terdapat perbedaan ($p < 0.05$) delta diantara ketiga kelompok klaster. Menggunakan tes secara sendiri terdapat perbedaan pada delta IFN- γ ($p < 0.05$), sedangkan pada delta variabel IL-4 tak ada beda ($p > 0.05$) (gambar 5.9, lampiran 23 & 24), artinya paparan TD maupun TI menyebabkan perbedaan perubahan respons imun pada ketiga kelompok klaster, yang dapat dilihat dari perbedaan delta kadar IFN- γ (gambar 5.8).

Tabel 5.10 Rerata delta pada klaster dengan paparan TD dan TI

Var	Kel klaster	TD		TI	
		rerata	Std.Dev	rerata	Std.Dev
Delta	1	0.1341	0.0940	0.1710	0.1120
IFN- γ	2	0.0583	0.0380	0.0297	0.0155
(D,IFN γ)	3	-0.043	0.0744	-0.022	0.0648
Delta	1	0.0830	0.0309	0.0821	0.0243
IL-4	2	0.0916	0.0505	0.0767	0.0432
(D,IL4)	3	0.0910	0.0380	0.0933	0.0457

Gambar 5.8 : Grafik rerata perubahan IFN- γ pada klaster setelah paparan

(catatan ada perbedaan delta IFN- γ pada TD maupun TI ($p < 0.05$))



Gambar 5.9:Grafik rerata perubahan IL-4 klaster stlh paparan

catatan: tak ada perbedaan delta IL-4 pada paparan TD maupun TL ($p > 0,05$)

3. Manova pada masing masing klaster

Analisis multivariat variabel IFN- γ dan IL-4 tanpa maupun dengan paparan pada ketiga kelompok klaster menunjukkan hasil, pada klaster 1 dan 2 yang mewakili NDA, terdapat beda ($p < 0,000$) baik IFN- γ maupun IL-4 diantara perlakuan (lampiran 25 dan 26). Pada klaster 3 (DA) dengan analisis multivariat ada beda ($p < 0,000$), namun pada analisis secara sendiri perbedaan pada variabel IL-4 saja ($p < 0,000$), sedang IFN- γ tak berbeda ($p > 0,05$) (lampiran 27).

Menggunakan *post hoc test* pada klaster 3, pada variabel IFN- γ tak ada beda antara TP dibanding TD, TP dibanding TL maupun TD dibanding TL. Pada variabel IL-4 terdapat beda antara tanpa paparan (TP) dibanding paparan TD dan TL, tapi tak ada beda paparan TD dibanding TL. Jadi tampaknya penambahan IL-12 tidak menyebabkan perbedaan pada kadar IL-4 maupun IFN- γ .

4. Analisis Diskriminan pada Kelompok Klaster

Analisis diskriminan dilakukan untuk mendapatkan variabel mana yang paling berperan (*diskriminator*) diantara semua variabel yang diperiksa, atau untuk mencari variabel yang dapat membedakan antar kelompok (variabel pembeda). Hasil analisis diskriminan pada variabel IFN- γ dan IL-4 pada ketiga kelompok klaster tanpa paparan, didapatkan variabel IFN- γ sebagai variabel pembeda dengan kekuatan pembeda atau kelompok yang diklasifikasi secara benar sebesar 100,0% (lampiran 28).

Analisis diskriminan selanjutnya dilakukan pada delta IFN- γ dan IL-4. Pada paparan T0 analisis diskriminan mendapatkan variabel D1D-IFN-G dengan kekuatan pembeda atau kelompok yang diklasifikasi secara benar sebesar 66,7% (lampiran 29). Paparan T1 mendapatkan D1I-IFN-G sebagai variabel pembeda dengan kekuatan pembeda atau kelompok yang diklasifikasi secara benar sebesar 76,7% (lampiran 30).

5.4 Pola Perubahan Respons Imun

Hasil analisis diskriminan selain diperoleh variabel pembeda, juga didapatkan *Fisher's linear discriminant functions*. Hasil dari uji *manova*, analisis diskriminan kelompok klaster dan relasi kontinuitas (*coefficients linear fisher*) setiap diskriminator yang saling berinteraksi dibuat pola perubahan respons imun. Pola diskriminan diperoleh dari nilai *Fisher linear functions* dikalikan dengan data asli, maka didapat besaran pola yang merupakan besaran kontribusi fungsi variabel pembeda. Pola merupakan nilai abstrak untuk menggambarkan aktivitas biologis dari

variabel pembeda yaitu IFN- γ . Pola IFN- γ tanpa paparan dari ketiga kelompok klaster yaitu klaster 1 ($n=11$), klaster 2 ($n=7$) dan klaster 3 ($n=12$), dengan uji *Anova* diperoleh hasil ada beda pola IFN- γ tanpa paparan (P.TPIFNG) diantara ke tiga klaster ($p=0,000$) (lampiran 31). Pola perubahan respons imun akibat paparan TD dan TI dari ketiga kelompok klaster juga didapati beda ($p=0,000$) seperti terlihat pada lampiran 32 dan 33.

Tabel 5.11 menunjukkan pola variabel IFN- γ tanpa paparan dan tabel 5.12 dan tabel 5.13 menunjukkan pola dengan paparan TD dan paparan TI pada ke tiga kelompok klaster. Gambar 5.10 menunjukkan grafik pola IFN- γ tanpa paparan, sedangkan grafik pola delta IFN- γ dengan paparan TI terlihat pada gambar 5.11 dan gambar 5.12 menunjukkan pola delta IFN- γ paparan TD dibanding paparan TI.

Tabel 5.11 Pola respns imun variabel IFN- γ tanpa paparan pada kelompok klaster

	Kelompok Klaster	Rerata	Std. deviation	Sig.
P.TPIFNG	1	16,52	6,9821	,000
	2	56,86	7,9829	
	3	113,1	14,3992	

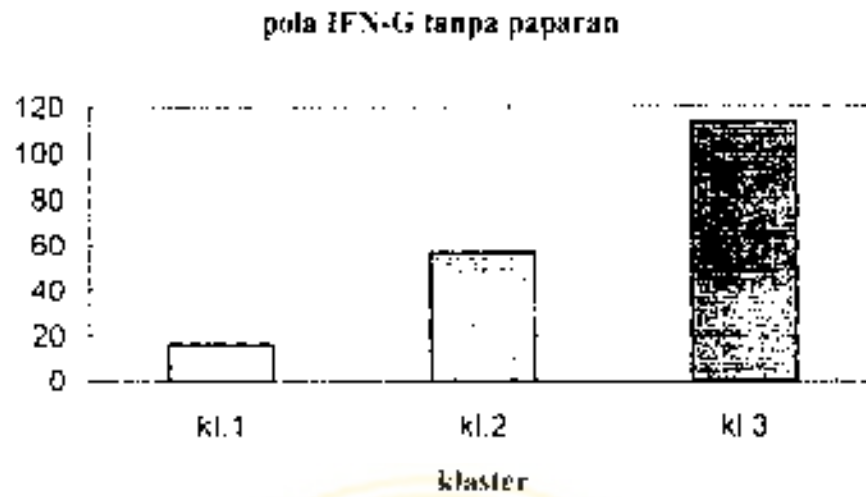
Tabel 5.12 Pola perubahan respons imun variabel IFN- γ dengan paparan TD pada kelompok klaster

	Kelompok Klaster	Rerata	Std. deviation	Sig.
P.DTD IFN-G	1	3.0743	2.1559	.000
	2	0.5780	0.3775	
	3	0.3223	0.5521	

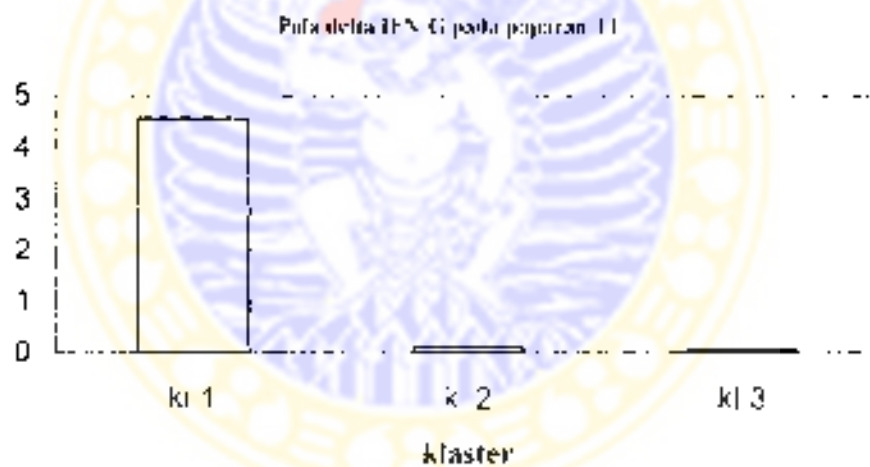
Tabel 5.13 Pola perubahan respons imun variabel IFN- γ dengan paparan TI pada kelompok klaster

Variabel	Kelompok Klaster	Rerata	Std. deviation	Sig.
P.DTI IFN-G	1	4.5585	2.9864	.000
	2	0.1376	0.072	
	3	0.077	0.2241	

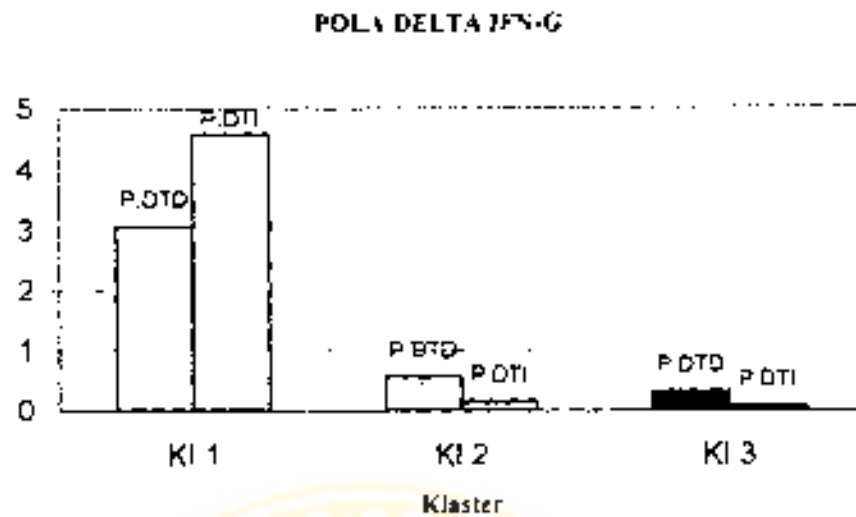
Gambar 5.10 menunjukkan pola variabel IFN- γ pada TP, sedangkan pola delta dengan paparan TI pada gambar 5.11



Gambar 5.10 : Grafik pola IFN- γ tanpa paparan pada kelompok klaster



Gambar 5.11: Grafik pola delta IFN- γ dengan paparan T3 pada kelompok klaster



Gambar 5.12: Grafik pola delta IFN- γ dengan paparan TD dibanding TI pada kelompok klaster

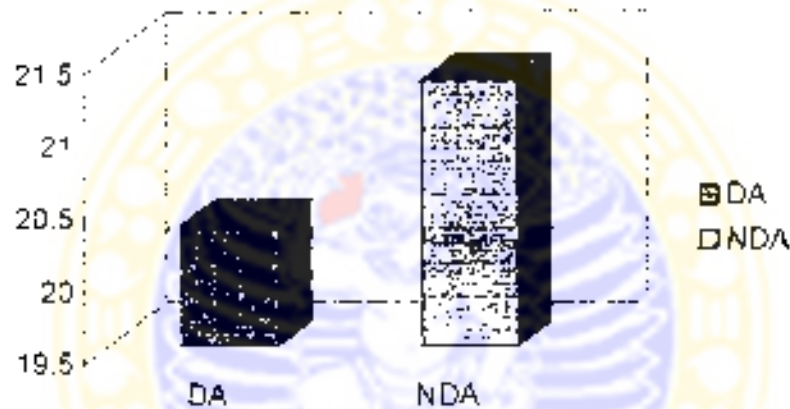
5.5 Data Klinis dan Laboratorium

5.5.1 Distribusi sampel berdasar umur

Distribusi sampel berdasar umur, pada kelompok kasus berusia antara 6 sampai 38 tahun (rerata 20,33 thn.) dan kelompok kontrol, 8 sampai 30 tahun (rerata 21,33 tahun) (tabel 5.14). Uji homogenitas variabel umur menggunakan *Anova* menunjukkan tidak ada perbedaan usia ($p < 0,05$) diantara kelompok DA dan NDA (lampiran 34). Gambar grafik diagram balok rerata DA dan NDA pada variabel umur terlihat pada gambar 5.33

Tabel 5.14 Perbandingan usia pada kelompok kasus dan kontrol

Nilai	DA (thn)	NDA (thn)	Uji Statistik
Rentang	6 - 38	8 - 39	$p = 0,31$
Rerata (<i>mean</i>)	20,33	21,33	<i>t</i> -test dua arah
Simpang baku	8,77	5,79	arah



Gambar 5.13 : Grafik diagram balok variabel umur pada DA dan NDA

5.5.2 Distribusi sampel berdasar jenis kelamin

Distribusi sampel berdasar jenis kelamin, pada 38 penderita DA sebagai kelompok kasus terdiri dari 5 laki laki dan 13 perempuan, sedang 17 orang kelompok kontrol NDA, terdiri dari 5 laki laki dan 7 perempuan. Sebaran sampel berdasar jenis kelamin tampak pada tabel 5.15

Tabel 5.15 Sebaran subjek penelitian berdasar jenis kelamin

Jenis kelamin	DA (%)	NDA (%)	Jumlah
Laki laki	5 (27,78)	5 (41,66)	10
Perempuan	13 (72,22)	7 (58,33)	20
Jumlah	18 (100)	12 (100)	30

Uji homogenitas sampel untuk variabel jenis kelamin, diantara kelompok kasus dan kontrol, dengan uji *multivariate* pada variabel yang diteliti (kadar IL-4 dan IFN- γ). Hasil analisis mendapatkan *F hitung* 0,410 dan nilai *sig* 0,668 berarti **tidak ada perbedaan ($p > 0,05$) jenis kelamin terhadap variabel kadar sitokin yang diperiksa (lampiran 35).**

Tabel 5.16 memperlihatkan rerata variabel kadar IL-4 dan IFN- γ pada jenis kelamin diantara subjek penelitian, kelompok kasus dan kontrol ($n=30$).

Tabel 5.16 Rerata kadar IL-4 dan IFN- γ terhadap jenis kelamin

variabel	Jenis kelamin	Rerata (OD)	Simpang baku	N
TP-IFN- γ	Perempuan	0,2082	0,0882	20
	Laki laki	0,2043	0,0794	10
	Total	0,2069	0,0840	30
TP-IL-4	Perempuan	0,1232	0,0082	20
	Laki laki	0,1283	0,0330	10
	Total	0,1235	0,0198	30

5.5.3 Distribusi berdasar derajat penyakit

Derajat penyakit pada kelompok kasus ditentukan dengan menggunakan SCORAD INDEX (Stalder & Tereb, 1991). Sistem *skoring* dengan cara ini berdasarkan 3 parameter yaitu A) luas lesi penyakit yang dihitung berdasar *rule of nine*, B) *intensity*, dinilai pada lesi yang representatif dan C) gejala subyektif, diukur dengan adanya gejala gatal dan gangguan tidur selama 3 hari terakhir setiap malam. Lesi yang representatif diukur dengan melihat bentuk ujud kelainan kulit yaitu eritema, edema, papel, *eczema*, krustasi, likenifikasi dan *xerosis* diluar lesi. Skor diperoleh dengan rumus $= A \cdot 5 + 7(B \cdot 2) + C$ (lampiran 8).

Sebaran penderita DA berdasar derajat penyakit menunjukkan sebagian besar kelompok kasus, yaitu 13 penderita (72,22%) menderita DA derajat sedang, selebihnya 3 orang dengan DA derajat berat dan 2 penderita lagi menderita DA derajat ringan (tabel 5.17).

Tabel 5.17 Sebaran penderita DA berdasar derajat penyakit

Derajat penyakit	SCORAD-INDEX (skor rata2)	Jumlah (%)
Ringan	18 - 26 (22,5)	2 (11,1%)
Sedang	31 - 40 (35)	13 (72,22%)
Berat	48 - 58 (53,5)	3 (16,66%)
Jumlah		18 (100%)

Keterangan: Derajat penyakit berdasar SCORAD INDEX

- Skor < 30 DA derajat ringan (R)
- 30 – 40 DA derajat sedang (S) dan
- > 40 DA derajat berat (B)

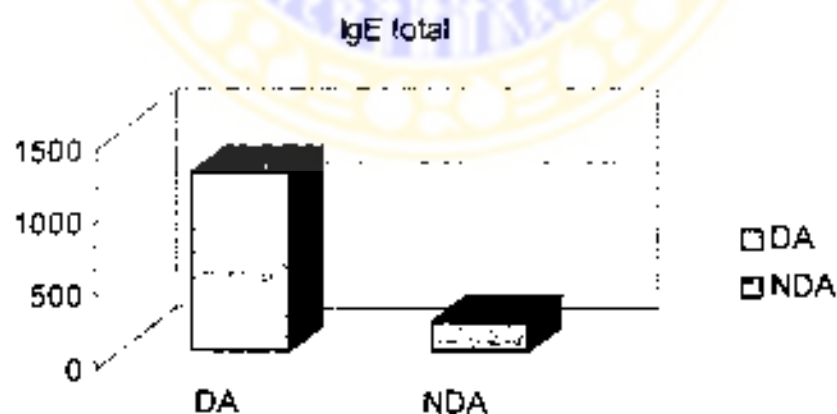
5.5.4 Distribusi berdasar kadar IgE total

Kadar IgE total pada kelompok kasus bervariasi antara 16,2 sampai 6702 IU/ml, dengan rerata 1231,64 IU/ml, sedang pada kontrol 61 – 836,6 IU/ml, rerata 216,14 IU/ml (tabel 5.18). Dengan *anova* satu arah, tidak ada beda pada kadar IgE total ($p = 0,120$) terhadap kelompok DA dan NDA (lampiran 36).

Tabel 5.18 Perbandingan kadar IgE Total dalam serum pada DA dan NDA

Nilai	Kadar IgE Total (IU/ml)		Uji Statistik
	DA	NDA	
Rentang	16,2 - 6702	61 - 836,6	
Rerata	1231,64	216,14	$p = 0,120$
Std. Dev	2169,322	253,429	(<i>anova</i>)
Std. error	511,314	73,158	

Gambar 5.13 menunjukkan grafik diagram balok rerata kadar IgE total pada kelompok kasus DA dan NDA.



Gambar 5.14 : Grafik diagram balok rerata Ig E total pada DA & NDA

Pengelompokan kadar IgE total berdasar nilai rujukan normal. (kadar IgE total normal adalah $< =120$ IU/ml) mendapatkan hasil kadar IgE yang menunjukkan diatas angka normal sebesar 83,32% penderita DA, sedang pada kontrol 33,3% (tabel 5.19).

Tabel 5.19 Sebaran kasus dan kontrol berdasar pengelompokan kadar IgE total

Kadar IgE total (IU/ml)	Jumlah (%)	
	DA	NDA
< 120	3 (16,66)	8 (66,66)
121 - 220	3 (16,66)	2 (16,66)
221 - 320	-	-
> 320	12 (66,66)	2 (16,66)
Jumlah	18 (100)	12 (100)

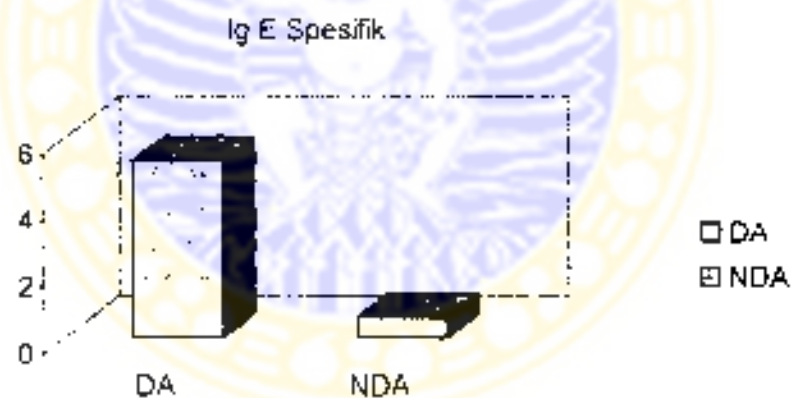
5.5.5 Distribusi berdasar kadar IgE spesifik

Pemeriksaan IgE spesifik dengan metode *Radio Allergen Sorbent Test (RAST)* terhadap *Dermatophagoides pteronyssinus* atau tungau didapatkan 8 penderita dari kelompok kasus (44,44%) menunjukkan reaktivitas dengan berbagai tingkat alergi, dan pada NDA hanya seorang (8,33%) yang bereaksi positif (lampiran 9). Perbandingan kadar IgE spesifik terhadap *Dor. pter* pada kelompok kasus DA dan kontrol NDA dengan analisis statistik *Anova* didapatkan **tidak ada perbedaan bermakna kadar IgE spesifik ($p > 0,05$)** pada kelompok kasus dan kelompok kontrol (tabel 5.20, lampiran 36).

Gambar 5.15 memperlihatkan grafik diagram balok rerata IgE spesifik (RAST) pada DA dan NDA

Tabel 5.20 Perbandingan kadar IgE Spesifik thd. *Der pter* pada DA & NDA

Nilai	Kadar IgE Spesifik (Prn/ml)		Uji Statistik
	DA	NDA	
Rentang	0,0 - 26,4	0,0 - 7,45	$p < 0,05\%$
Rerata mean	5,3128	0,6208	<i>(manova)</i>
Std.Dev	9,6671	2,1506	
Std.Error	2,27686	0,6298	



Gambar 5.15: grafik diagram rerata Ig E spesifik pada DA & NDA

5.5.6 Uji kulit

Uji kulit pada penelitian ini menggunakan uji tusuk (*skin prick test* - SPT). Uji ini menggunakan ekstrak TDR sebagai alergen dengan konsentrasi = 0,20 mg/ml,

(no 197-01, *exp.date*:4-1-02) dan larutan histamin 1mg/ml sebagai kontrol positif serta larutan *casein* sebagai kontrol negatif. Ekstrak TDR, larutan kontrol positif dan kontrol negatif didapat dari instalasi Farmasi RSUD Dr Soetomo Surabaya. Hasil positif ditunjukkan dengan kemerahan disertai *wheal* yang terjadi dua puluh menit setelah ditusuk pada tempat yang telah ditelesi alergen atau larutan kontrol positif.

Didapatkan hasil pada kelompok kasus 88,8% (16 orang) memberi reaksi positif dengan berbagai tingkat positif yaitu 8 kasus dengan hasil positif satu (+), 5 dengan positif dua (++) dan 3 kasus positif 3 (+++). Hasil negatif didapatkan pada 2 kasus (lihat lampiran 9). Pada kelompok kontrol (NDA) hanya 2 orang (16,66%) yang memberi reaksi positif satu (+) (tabel 5.21).

Tabel 5.21 Reaktivitas uji tusuk menggunakan alergen TDR

Reaktivitas	Jumlah	
	DA (%)	NDA (%)
Uji tusuk		
Positif	16 (88,8)	2 (16,66)
+	8	2
++	4	-
+++	3	-
Negatif	2 (11,2)	10 (83,34)
Jumlah	18 (100)	12 (100)

Hubungan tingkat reaktivitas uji tusuk dengan parameter imunologi yaitu kadar IgE total dan IgE spesifik terhadap TDR (*IgE-casein*) dapat dilihat pada tabel 5.22

BAB 6

PEMBAHASAN

Masalah penyakit kulit di masyarakat, khususnya yang bersifat kronis dan kambuhan seperti dermatitis atopik (DA), bukan merupakan masalah kesehatan semata tetapi dapat berimbas pada kondisi sosial ekonomi dan kualitas hidup penderita (Tan,1995; Larsen, 2000). Sebagai sumber daya manusia, penderita DA yang sering kambuh akan terganggu aktivitasnya sehingga tidak dapat atau kurang berproduksi dengan baik. Mereka yang sering kambuh, sulit bekerja baik oleh karena faktor kondisi penyakitnya yang sangat gatal, sehingga sering menggaruk, maupun secara psikologis merasa malu. Resiko terjadinya iritasi kulit pada penderita DA ini akan meningkat (Subaryo,1998), sehingga penderita DA mendapat kesulitan bila terpapar bahan yang basah, terlalu kering atau bersifat kaustik. Oleh karena perjalanan penyakit kronik-residif maka risikonya terjadi kekambuhan yang berulang. Kekambuhan berulang terus menerus menyebabkan penyakitnya lebih berat, sehingga mungkin dapat terjadi cacat fisik. Menurut *American Medical Association* di Amerika, DA dapat menyebabkan 15% kecacatan (*impairment*) dari semua penderita (AMA, 1985).

Kekambuhan DA sulit dicegah karena banyak faktor yang dapat mempengaruhinya, antara lain berbagai macam alergen, yang banyak ditemukan di lingkungan hidup. Salah satu alergen penting dan banyak diketemukan dinegara dengan iklim tropis dengan kelembaban tinggi seperti Indonesia adalah tungau debu rumah (TDR). Peran TDR pada patogenesis DA sampai sekarang masih kontroversi,

namun berbagai penelitian telah menunjukkan bukti adanya hubungan TDR dengan kekambuhan DA (Platts-Mills et al. 1983, Norris, 1988; Nanda Dewi, 1993; Tupker et al. 1996; Jung, 1997). Aplikasi ekstrak TDR sebagai alergen epikutan dapat menyebabkan terjadinya dermatitis atau lesi eksematosa (Norris et al, 1988; Wakugawa et al, 1996; Jung et al 1997). Uji tempel menggunakan alergen TDR pada penderita DA juga dapat menimbulkan lesi mirip gambaran klinis DA (Sudigdo Adi, 1995; Laan, 1999). Atas dasar penelitian terdahulu, maka penggunaan TDR dalam penelitian ini sangat beralasan.

Perbedaan respons imun pada kultur limfosit pada DA dan NDA

Pada saat penderita DA kambuh akibat paparan alergen, terjadi respons imun limfosit yang abnormal, berbeda dengan respons penderita DA dalam keadaan tidak ada paparan atau pada orang sehat. Perbedaan respons imun antara DA tanpa paparan, dibanding respons pada saat paparan serta dibanding kontrol inilah yang diteliti pada penelitian ini.

Paparan alergen TDR (TD) memberi gambaran respons imun penderita DA pada saat klinis mengalami kekambuhan. Paparan TDR ditambah dengan IL-12 (TI) dilakukan dengan tujuan untuk melihat pengaruh IL-12 pada penderita DA kambuh oleh karena paparan TDR. Peningkatan kadar sitokin IL-4, menunjukkan aktifitas Th-2, atau terjadi respons imun Th2 yang lebih dominan dibandingkan aktifitas Th-1 (Romagnani, 1997). Peningkatan kadar IFN- γ dari kultur berarti terjadi respons imun Th1 yang dominan. Kadar sitokin diukur dari supernatan kultur limfosit dengan teknik pengukuran seperti pada lampiran 6 (prosedur pemeriksaan). Pembacaan kadar

IL-4 dan IFN- γ dalam satuan OD (*optical density*) dengan *Elisa reader*, dan nilai rerata kadar terlihat pada tabel 5.3. Tabel 5.1 dan 5.2 menunjukkan kadar standart IL-4 dan IFN- γ dalam *picogram* per mililiter (*pg ml*) dengan interpolasi dalam satuan OD. Kadar sitokin dalam satuan OD masih merupakan data kualitatif sehingga diperlukan *quality control* untuk menetapkan dalam data kuantitatif.

Penelitian ini menggunakan analisis statistik multivariat, mengingat perubahan respons imun merupakan perubahan biologis dari limfosit pada kultur akibat dipapar alergen atau alergen ditambah IL-12. Didalam kultur terjadi interaksi antar sel sehingga semua variabel yang dipenksa yaitu IL-4 dan IFN- γ saling terkait. Variabel tersebut berasal dari kerangka konseptual penelitian. Uji multivariat dapat membuktikan perbedaan respons imun dari limfosit pada kultur akibat pemberian TD atau TI. Bila uji menunjukkan ada beda maka perbedaan respons imun didasarkan atas suatu proses yang melibatkan semua variabel yang saling berinteraksi satu dengan yang lain.

Pada kelompok kasus (DA), analisis multivariat tidak ada perbedaan variabel TP:IFN- γ dibanding dengan paparan TD maupun TI, sedang ada perbedaan variabel TP:IL-4, dibanding baik paparan TD maupun TI (lampiran 15). Terlihat pada tabel 5.4 menunjukkan paparan TD maupun TI menyebabkan peningkatan kadar IL-4 yang signifikan ($p < 0.05$), sedang kadar IFN- γ tak berbeda ($p > 0.05$) (gambar 5.2) dibanding respons imun pada TP. Hal ini menyokong pendapat bahwa DA dengan paparan TD, sesuai dengan keadaan kambuh, menunjukkan respons imun Th2 dominan, yaitu pada stadium akut ditandai dengan respons imun Th2,

ditunjukkan peningkatan kadar IL-4 (Thepen, 1996; Grewe, 1998; Sudigdoadi, 1999; Kanek, 2001). Paparan TI pada kelompok kasus, tidak menyebabkan peningkatan bermakna kadar IFN- γ berarti pengaruh IL-12 tidak mampu meningkatkan kadar IFN- γ . Hasil ini mendukung pendapat ada *defect* produksi IFN- γ pada DA, sesuai dengan penelitian terdahulu (Jung, 1999; Campbell, 1999). Berkurangnya produksi IFN- γ diduga pula oleh karena imunitas seluler terhadap *S.aureus* pada DA, menurun sehingga terjadi kegagalan dalam eradikasi kuman, berakibat kuman menetap di kulit. Kolonisasi kuman di kulit akan menginduksi sel T mengeluarkan mediator pro-inflamasi (Campbell & Kemp, 1999). Respon dari meningkatnya kadar IL-4 dan IL-10 pada DA dapat juga berakibat berkurangnya kadar IFN- γ (Lester, dkk. 1995).

Jadi hipotesis pertama yaitu terdapat peningkatan kadar IL-4 pada kultur limfosit DA yang dipapar TD dibanding pada kultur tanpa paparan, dan tidak ada beda kadar IFN- γ pada kultur limfosit DA yang dipapar TI dibanding kultur tanpa paparan terbukti.

Pada kelompok kontrol seperti terlihat pada tabel 5.5 diperoleh hasil ada perbedaan TP.IFN- γ maupun TP.IL-4 dibanding paparan TD maupun TI (lanjutan lampiran 16). Hal ini menunjukkan paparan TD maupun TI menunjukkan ada beda baik variabel IL-4 maupun IFN- γ dibanding kultur TP (gambar 5.3). Hipotesis kedua yaitu terdapat perbedaan kadar IL-4 dan IFN- γ pada kultur limfosit kontrol yang dipapar TD dan TI dibanding kultur tanpa paparan terbukti. Penambahan IL-12 seperti pada paparan TI, menyebabkan peningkatan signifikan kadar IFN- γ ,

menunjukkan pada kondisi NDA atau orang normal (imunofisiologi). IL-12 mampu mendorong respons imun ke respons Th1

Analisis multivariat pada kedua kelompok DA dan kontrol NDA untuk mencari perbedaan respons imun kedua kelompok, menunjukkan tidak ada beda baik pada tanpa paparan, dengan paparan maupun delta kedua kelompok (lampiran 17, 18, 19,20,21). Tabel 5.6 terlihat kadar delta IL-4 dan IFN- γ paparan TD dan TE yang menunjukkan tak ada beda pada kelompok kasus dan kontrol ($p > 0.05$). Dari hasil analisis, ditarik kesimpulan bahwa uji beda pada kelompok kasus DA dibanding kontrol NDA baik TP, dengan paparan, maupun delta, menunjukkan tak ada perbedaan kadar IFN- γ dan IL-4, sehingga dapat dikatakan kedua kelompok homogen. Jadi pembagian kelompok DA dan NDA yang dilakukan sejak awal penelitian berdasar kriteria klinis patofisiologis, menggunakan kriteria Hanifin & Rajka, tidak dapat membedakan perbedaan respons imun pada kedua kelompok.

Hasil uji multivariat seperti tersebut menunjukkan bahwa gejala klinis tidak sejatu sesuai dengan respons imun, ini dapat dibuktikan pada tabel 6.1 yaitu hubungan respons imun (diukur dari kadar IFN- γ dan IL-4) dengan derajat penyakit. Analisis dengan *anova* memperlihatkan tidak ada beda baik pada TP, IFN- γ ($p = 0.160$) maupun TP, IL-4 ($p = 0.533$) dengan derajat penyakit diukur dengan Scord index, yang mencerminkan gradasi keparahan penyakit secara klinis (lampiran 38)

Tabel 6.1 Hubungan respons imun dengan derajat penyakit

variabel	Kriteria klinis dan derajat penyakit							
	NDA (n=12)		DA Ringan (n=2)		DA Sedang (n=13)		DA Berat (n=3)	
	Rerata	SD	Rerata	SD	Rerata	SD	Rerata	SD
TP IFN- γ	0.1797	0.089	0.3215	0.026	0.2120	0.071	0.2193	0.084
TP IL-4	0.1292	0.029	0.1240	0.011	0.1396	0.099	0.1150	0.010

Salah satu tujuan penelitian adalah untuk mengetahui perbedaan respons imun akibat paparan TD maupun TI, pada DA dibanding kontrol NDA. Hasil uji beda menggunakan *Manova* baik pada TP, maupun pada paparan TD dan TI, tidak ada beda ($p > 0,05$) (lampiran 14,15,16, gambar 5.8, 5.9), berarti kedua kelompok, DA dan NDA pada penelitian ini secara statistik homogen. Analisis selanjutnya adalah *manova* delta untuk mengetahui perubahan respons imun akibat paparan. Delta adalah selisih kadar IL-4 atau IFN- γ antara IP dengan kadar pada paparan. Analisis multivariat didapatkan baik DTD, maupun DTI tak ada beda ($p > 0,05$), artinya dengan paparan TD maupun TI, tak ada beda perubahan respons imun antara DA dibanding kontrol (lampiran 19, 20) Jadi kedua kelompok memang betul homogen. Dermatitis atopik adalah penyakit kelainan sistem imun, maka mungkin kelainan respons imun sejak awal telah terjadi, walaupun gejala klinis belum tampak, sebaliknya mungkin penderita dengan gejala klinis mirip DA, namun respons imun sama dengan orang sehat (NDA). Untuk dapat membedakan perbedaan respons imun dan perbedaan perubahan respons imun akibat paparan (delta) pada kasus DA dengan NDA, maka parameter imunologis yaitu kadar IL-4 dan IFN- γ perlu dipakai

sebagai dasar pengelompokan. Dengan perkataan lain, perlu digunakan paradigma imunopatobiologi, berkonsep sel yang mengalami stres. Paradigma imunopatobiologi adalah model berpikir berdasar atas perubahan biologis yang tidak lazim atau menyimpang seperti perubahan pada DA, yang berhubungan dengan gangguan atau kelainan sistem imun. Kelainan sistem imun ini dapat sebagai proses maupun penyebab dari perubahan biologis tersebut (Putra, 1997).

Atas dasar diatas, pada penelitian ini dilakukan pengelompokan baru dengan cara *clustering* (*analisis cluster*) berdasar respons imun yang diukur dari kadar IFN- γ dan IL-4 tanpa paparan, pada semua sampel yaitu kelompok kasus dan kontrol. Hasil pengelompokan baru, ternyata kelompok klaster 1 dan 2 terdiri lebih dari setengah (54.5% dan 57.1%) klinis adalah NDA, sehingga kelompok klaster ini dapat dianggap mewakili kelompok NDA. Klaster 3 terdiri sebagian besar (83.3 %) kasus DA, sehingga klaster 3 dapat dianggap sebagai kelompok kasus DA, walaupun 2 orang tidak ditemukan gejala klinis DA namun respons imun keduanya dianggap sama dengan DA, sehingga secara imunopatobiologi adalah kelompok DA.

Tabel 5.7 memperlihatkan rerata IL-4 dan IFN- γ tanpa paparan pada ke tiga kelompok klaster. Menggunakan uji *manova* didapatkan ada perbedaan ($p < 0.000$) pada IFN- γ tanpa paparan namun tak ada beda pada paparan (lampiran 24, gambar 5.6), artinya setelah dilakukan klaster, terdapat perbedaan respons imun diantara kelompok klaster. Hal ini membuktikan dengan pengelompokan berdasar kadar sitokin sebagai produk respons imun, dapat membedakan secara bermakna, sedangkan klasifikasi berdasar klinis atau patofisiologi penyakit belum dapat

menggambarkan perbedaan respons imun antara DA dan kontrol. Tabel 5.8 dan 5.9 menunjukkan tak ada beda rerata IL-4 dan IFN- γ baik pada paparan TD maupun TI.

Analisis lebih lanjut adalah manova delta, dengan tujuan untuk mengetahui perbedaan perubahan respons imun akibat paparan pada kelompok klaster. Hasil analisis ada beda ($p < 0.05$) pada delta akibat paparan TD dan TI (lampiran 27, 28). Tabel 5.10 menunjukkan rerata delta IL-4 dan IFN- γ pada ketiga klaster dengan paparan TD maupun TI.

Analisis secara sendiri perbedaan pada DTD (IFN- γ ($p < 0.000$)) dan DTI (IFN- γ ($p < 0.000$)); namun tak ada beda pada DTD IL-4 ($p > 0.884$) maupun DTI IL-4 ($p > 0.631$). Artinya paparan TD dan TI, menyebabkan perbedaan perubahan respons imun pada kadar IFN- γ , tidak pada IL-4 di antara ketiga klaster. Berdasar hasil diatas maka dapat di tarik kesimpulan bahwa :

1. Klasifikasi berdasar imunopatobiologis lebih dapat melihat perbedaan respons imun pada kasus DA dibanding kontrol, dan perbedaan pada kadar IFN- γ , sehingga kriteria Hanifin & Rajka, perlu ditambah dengan variabel IFN- γ sebagai salah satu indikator diagnosis DA untuk membedakan dengan NDA. Penambahan variabel IFN- γ beralasan, karena DA merupakan kondisi dengan gangguan respons imun, sehingga yang paling tepat untuk membedakan dengan kondisi non-atopi adalah perbedaan respons imun.
2. Paparan TD maupun TI menyebabkan perubahan kadar IFN- γ yang berbeda diantara ketiga kelompok klaster terlihat dengan perbedaan DTD IFN- γ dan DTI IFN- γ , namun tidak beda pada kadar IL-4. Hipotesis ketiga menyatakan

terdapat perbedaan kadar IFN- γ pada kultur limfosit penderita DA yang dipapar TD maupun TI dibanding kontrol (NDA) dengan paparan yang sama. Pada penelitian ini terbukti, namun setelah dilakukan analisis kluster lebih dahulu dan perbedaan pada delta IFN- γ .

Untuk mendapatkan variabel mana yang membedakan respons imun, dilakukan analisis diskriminan antar ketiga kelompok kluster. Analisis mendapatkan pada keadaan tanpa paparan IFN- γ sebagai variabel pembeda atau *discriminator* ketiga kluster, dengan kekuatan pembeda sebesar 100,0% (lampiran 31). Ini berarti variabel IFN- γ adalah variabel yang dapat menyebabkan perbedaan bermakna pada ketiga kluster. Analisis selanjutnya adalah mencari variabel pembeda delta, mendapatkan DTD_IFN- γ dan DTE_IFN- γ sebagai variabel pembeda dengan masing-masing kekuatan pembeda atau kelompok kasus yang diklasifikasikan secara benar adalah 66,7% (lampiran 32) dan 76,7% (lampiran 33). Sebagai kesimpulan adalah variabel IFN- γ merupakan variabel yang betul dapat membedakan perbedaan respons imun maupun perbedaan perubahan respons imun pada ke-tiga kelompok kluster.

Kerangka konsep penelitian menunjukkan paparan TDR sebagai alergen yang umum pada DA menyebabkan kekambuhan akut, dengan respons imun Th2 lebih *dominan*. Bila penyakit menjadi kronis, respons imun yang menonjol adalah respons Th1. Paparan TDR ditambah IL-12 pada kluster 3, yang dianggap DA, menyebabkan perubahan respons imun yaitu **penurunan kadar IFN- γ** dilihat dari rerata DTE IFN- γ adalah minus 0,022 (tabel 5.10, gambar 5.8). Jadi penambahan IL-12 pada DA tidak

cukup kuat meningkatkan kadar IFN- γ , malah terjadi penurunan produksi. Hal ini sesuai dengan penelitian Kondo, dkk (2000) yang menyatakan bahwa terjadi penurunan produksi IFN- γ setelah pemberian IL-12 oleh karena terjadi mutasi pada reseptor IL-12 rantai rantai $\beta 2$ (*IL-12R β 2*) sehingga paparan IL-12 tidak mampu meningkatkan produksi IFN- γ seperti pada keadaan imunofisiologi. Apakah hal ini terjadi pada kasus yang diteliti ini, masih perlu penelitian lanjutan yang secara khusus meneliti mutasi reseptor tersebut.

Perbedaan respons imun akibat penambahan IL-12, dapat diketahui dengan melakukan uji beda pada masing masing kelompok klaster. Menggunakan *manova* pada kelompok klaster 3 yang dianggap kelompok kasus (DA) ternyata ada beda antara tanpa paparan dibanding dengan paparan (lampiran 31), namun dilihat secara sendiri (*post hoc test*) perbedaan pada variabel IL-4, yaitu antara TP.IL-4 dibanding TD, dan TP dibanding TI, sedang tak ada perbedaan baik TP.IL-4 dibanding paparan TD ($p = 0,077$) dan dibanding paparan TI ($p = 0,361$), maupun paparan TD dibanding TI (lanjutan lampuiran 31). Jadi penambahan IL-12 pada DA kembali oleh karena paparan TDR tidak menyebabkan perbedaan respons imun

Pada kelompok klaster 1 dan 2 (dianggap NDA) dianalisis secara sendiri (*post hoc test*) juga tidak didapatkan perbedaan paparan TD dibanding paparan TI, walaupun paparan TD maupun TI menyebabkan peningkatan bermakna kadar IL-4 maupun IFN- γ ($p = 0,0000$) dibanding keadaan tanpa paparan (lampiran 29 dan 30). Hasil analisis multivariat pada kelompok klaster diatas dapat di artikan bahwa.

1. Pengaruh penambahan IL-12 pada kelompok DA (klaster 3) tak menyebabkan beda pada produksi IFN- γ maupun IL-4, sedang pada NDA (klaster 1 dan 2) baik IL-4 maupun IFN- γ juga tidak terjadi perbedaan
2. **Hipotesis keempat** yaitu terdapat perbedaan respons imun (IL-4 dan IFN- γ) pada kultur limfosit DA yang dipapar TD dibanding paparan TI, **tidak terbukti.**

Berbagai penelitian yang telah dilaksanakan tentang pemakaian IL-12 pada DA sampai saat ini masih dalam tahap uji coba pada binatang maupun pada kultur sel mononuklear darah tepi (*PBMC*) yang dipapar IL-12 (Liu, 1999, Matsumoto, 2001; Habu, 2001). Kesimpulan yang didapat masih kontroversi. Matsumoto dkk (2001) menunjukkan pemberian IL-12 pada tikus *strain M.Mga* yang dibuat menderita lesi mirip dermatitis atopik, tidak dapat memperbaiki keadaan klinis, oleh karena sel Th1 yang memproduksi sedikit IFN- γ , kurang sensitif terhadap rangsangan IL-12. Hasil ini disokong penelitian Kondo dkk (2000) tentang terjadi mutasi reseptor IL-12 pada DA, akibat kelainan genetik yang bersifat *polymorfisme*, dan mutasi dapat terjadi pada beberapa gena seperti pada gen *Fc ϵ R1* dan *IL-4R α* (Kondo, 2000). Penelitian Habu dkk dengan binatang coba yang sama menunjukkan sebaliknya, yaitu pemberian baik IL-12, IFN- γ ataupun IL-18 dapat menghambat peningkatan kadar IgE, IL-4 dalam serum dan dermatitisnya, sedangkan secara *in vitro* dapat menurunkan produksi IL-4 (Habu, 2001).

Pada penelitian ini perbedaan respons imun akibat penambahan IL-12 pada kelompok klaster 3 (DA), dapat dilihat dan perbedaan kadar IFN- γ maupun IL-4.

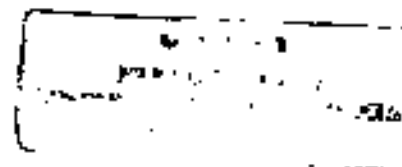
Paparan TD menyebabkan penurunan kadar IFN- γ (TD:IFNG = 0.2483) dibanding TP:IFN-G (~ 0.2917), sedang bila ditambah IL-12 (TI:IFN-G= 0.2695) terjadi **penurunan** dibanding TP, walaupun tidak bermakna (lampiran 31, gambar 5.6). Pada kelompok klaster 1 dan 2 (NDA) terjadi **peningkatan** IFN-G yang bermakna (lampiran 29 dan 30, gambar 5.6). Hal ini berarti pemberian IL-12 pada DA menyebabkan produksi IFN- γ lebih sedikit dibanding NDA, dan justru terjadi penurunan. Penurunan produksi IFN- γ pada penderita DA tertentu dapat terjadi pula setelah rangsangan antigen stafilokokus yaitu *NP-tase* dan *p⁷⁰*, yang diduga disebabkan berkurangnya (*impaired*) kemampuan untuk mengeliminasi kolonisasi stafilokokus aureus yang biasa ditemukan pada penderita DA (Jahreis, 2000).

Pada analisis diskriminan selain diperoleh variabel pembeda, didapatkan juga nilai *fisher's linear discriminant functions*. Hasil *manova*, analisis diskriminan dan nilai kontribusi (*coefficent linear fisher*) dari setiap variabel yang saling berinteraksi dibuat **pola perbedaan respons imun**. Pola diperoleh bila *Fisher linear functions* dikalikan dengan data asli, maka didapat besaran pola yang merupakan **besaran kontribusi fungsi variabel pembeda**, merupakan nilai abstrak untuk menggambarkan aktivitas biologis dari variabel pembeda yaitu IFN- γ . Tabel 5.11 menunjukkan pola TP:IFN-G pada klaster 3 (dianggap DA) mempunyai nilai yang tinggi (=113.1) (lampiran 35, gambar 5.10), sedang pola delta pada paparan TI, rendah (~0.077), seperti terlihat pada tabel 5.13 (lampiran 37, gambar 5.11). Hasil ini menunjukkan kontribusi atau peran variabel IFN- γ pada DA kambuh yang diberi IL-12 (TI) sangat kecil dibanding tanpa paparan. Tabel 5.13 menunjukkan klaster 1

(dianggap NDA), pola perubahan IFN- γ pada paparan T1 (P.DT1.IFNG) lebih besar (-4 5585) dibanding klaster 3 (gambar 5.12). sehingga dapat disimpulkan bahwa IL-12 berperan kecil pada perubahan respons imun ke Th1 pada DA yang kambuh. Hal ini ditunjukkan dengan pola IFN- γ yang sangat kecil pada klaster 3.

Berdasar atas hasil tersebut, IL-12 tidak berperan pada pengalihan respons imun ke Th1, oleh karena pola kontribusi IFN- γ pada perbedaan respons imun akibat penambahan IL-12 pada DA (kelompok klaster 3) lebih kecil dibanding kontrol (kelompok klaster 1 dan 2). Pada kerangka konseptual penelitian, rangsangan alergen terus menerus dan berlangsung lama, menyebabkan APC mensekresi IL-12, demikian pula eosinofil (Grewé, 1998). Keadaan ini secara kronis akan menginduksi kearah respons imun Th1 dengan peningkatan IFN- γ , namun pada penelitian ini terbukti paparan IL-12 pada DA tidak dapat meningkatkan kadar IFN- γ . Kadar IFN- γ yang meningkat pada DA kronis mungkin disebabkan mekanisme lain seperti pengaruh sitokin IL-6, IL-10 dan sehingga mampu mengaktifkan sel mononuklear termasuk makrofag jaringan, yang berperan penting untuk terjadinya hipersensitivitas kulit pada DA kronis sebagai bentuk reaksi hipersensitivitas tipe lambat (Spergel, 1999).

Penambahan IL-12 bersama TDR pada kultur limfosit DA ternyata tidak berperan dalam perubahan respons imun menuju respons Th1, terlihat dengan kontribusi IFN- γ yang rendah. Jadi sebagai temuan penelitian ini adalah bahwa IL-12 pada saat DA kambuh tidak ber peran dalam proses pengalihan respons imun Th2 ke Th1, sehingga penggunaan IL-12 sebagai imunoterapi pada DA tidak berarti.



Data klinis dan laboratorium kelompok DA dan NDA

Pada penelitian ini selain diperoleh kesimpulan tentang perbedaan respons imun antara DA dan NDA, setelah lebih dahulu dilakukan analisis klaster, diperoleh pula data hasil uji tusuk, pemeriksaan kadar IgE total dan IgE Spesifik

Tabel 5.14 menunjukkan tidak ada perbedaan dalam usia pada kelompok kasus (DA) dan kontrol (NDA), demikian pula tak ada beda jenis kelamin terhadap variabel yang diperiksa pada kedua kelompok (tabel 5.16). Tabel 5.15 menunjukkan sebaran subjek penelitian berdasar jenis kelamin, yang memperlihatkan pada penelitian ini jumlah penderita DA perempuan lebih banyak (72,2%) dibanding laki laki (27,8%). Ini agak berbeda dengan data di kepustakaan yang menyatakan rasio perempuan dibanding laki laki penderita DA adalah 1,2 : 1 (Leung, 1992), mungkin populasi di Surakarta yang datang berobat di RSUD Dr. Muwardi kebanyakan perempuan, sedang laki laki bekerja pada pagi hari sehingga apabila tidak memerlukan sekali jarang yang berobat pagi hari.

Kadar IgE Total dalam serum penderita DA dan kontrol terlihat pada table 5.18. Sebagai perbandingan hasil penelitian Juhlin dan kawan-kawan (1967) mendapatkan harga IgE total dalam serum penderita DA yang diambil dari Upsala - Swedia, sebesar 2733 ng/ml atau setara 1138,75 IU/ml. (Juhlin, et al, 1967). Harga ini tidak jauh berbeda dengan rerata IgE total pada penelitian ini yang dilakukan pada penderita DA berasal dari kota Surakarta-Indonesia dan sekitarnya, yakni 1231,64 IU/ml. Peningkatan kadar IgE Total dalam serum dapat disebabkan oleh beberapa keadaan seperti infeksi parasit, penderita penyakit alergi, penyakit atopi lain dan sebagainya (Ront, 1993; Terr, 1994). Penderita DA disertai sindrom atopik

lain seperti asma atau rinitis alergik, peningkatan kadar IgE total biasanya lebih tinggi dari penderita DA saja (Ring, 1991)

Kelompok kasus yang bereaksi positif terhadap TDR dengan pemeriksaan IgE spesifik menggunakan metode *RAST* sebanyak 7 penderita (43,75 %) dengan berbagai tingkat alergi, sedangkan pada kelompok kontrol satu orang (8,33%). Seorang dari kelompok kontrol yang termasuk orang sehat mempunyai IgE spesifik terhadap TDR dengan kadar dalam serum 7,45 Pru/ml. Hal ini dapat terjadi karena pada orang sehat tersebut tidak mempunyai predileksi spesifik, artinya menderita alergi TDR tetapi tidak ada manifestasi pada kulit ataupun pada saluran nafas. Tabel 5.20 menunjukkan kadar rerata IgE spesifik pada kelompok DA adalah 5,3128 Pru/ml., sedang pada NDA 0,6208 Pru/ml. Ini berarti pada kelompok DA rerata tingkat alergi terhadap alergen *Der.ppr* lebih tinggi dibanding NDA walaupun tidak berbeda secara signifikan ($p > 0,111$).

Pada tabel 5.21 hasil uji tusuk kelompok kasus, 16 penderita (88,8%) menunjukkan reaktifitas dengan alergen TDR dan 11,2 % tidak. Pada kelompok kontrol 16,66 % bereaksi positif dan 83,34 % memberikan reaksi negatif. Uji kulit sering digunakan untuk mengetahui reaksi hipersensitifitas tipe I (Salim, 1996). Hasil positif uji tusuk terhadap alergen makanan pada penderita DA anak tidak selalu berimplikasi bahwa makanan tersebut sebagai penyebab gejala klinis alergi, sebaliknya pada anak yang toleran terhadap suatu makanan kadang-kadang uji tusuk dapat memberikan hasil positif disertai kadar IgE spesifik yang tinggi dalam serum. (Benitez, M. 2002). Analisis statistik reaktifitas uji tusuk terhadap variabel imunologis tampak pada tabel 5.22. Ternyata ada beda ($p < 0,05$) antara tingkat

BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

1. DA yang mengalami kekambuhan, terlihat dari paparan TDR pada kultur limfosit penderita DA, menunjukkan respons imun Th2 yang dominan, sedangkan paparan TDR ditambah IL-12 tidak dapat mengubah respons imun kearah dominasi Th1, jadi pemberian IL-12 pada DA yang kambuh tidak mampu berperan pada pengalihan respons imun Th2 ke respons Th1.
2. Pada kultur limfosit kelompok kontrol non-DA yang dipapar TDR ditambah IL-12 dapat menyebabkan perubahan respons imun kearah Th2 maupun Th1.
3. Klasifikasi atau pengelompokan subjek penelitian berdasar kadar sitokin IFN- γ dan IL-4, lebih sensitif dari pada klasifikasi berdasar kliniko-patofisiologis sebagai DA dan NDA oleh karena dapat menggambarkan perbedaan respons imun pada keadaan tanpa paparan, maupun perbedaan perubahan respons akibat paparan.
4. Interferon (IFN)- γ merupakan sitokin pembeda atau *diskriminator*, yang berperan besar membedakan perbedaan respons imun pada kelompok kasus dan kontrol setelah lebih dahulu dilakukan analisis kluster.

7.2 Saran

1. Paparan alergen tungau debu rumah (TDR) perlu diperhatikan pada setiap kasus dermatitis atopik yang mengalami *eksaserbasi* atau kekambuhan.
2. Didalam strategi tatalaksana DA, diperlukan usaha eliminasi TDR dari lingkungan penderita DA, guna mengurangi terjadinya kekambuhan.
3. Untuk dapat mengetahui perbedaan respons imun antara DA dibanding kontrol NDA, perlu melakukan analisis klaster berdasar kadar sitokin IFN- γ dan IL-4.
4. Perlu penelitian lebih lanjut untuk mengetahui faktor atau mekanisme lain seperti peran sitokin selain IL-12 yang dapat menyebabkan terjadinya respons imun Th1 pada DA kronis.
5. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut pada dermatitis atopik, terutama dalam strategi tatalaksana, baik untuk pencegahan kekambuhan maupun untuk pengobatan yang tepat berdasar mekanisme dengan konsep imunopatobiologi.

DAFTAR PUSTAKA

- Aberer, W and Wolff, K. 2002. *Systemic Pharmacotherapy*. In Bieber and Leung (eds) *Atopic Dermatitis*, Merck Dekker, Inc. New York-Basel. pp 589-607
- Akdis, C.A et al, 1999. *Role of T Cells and Cytokines in the Intrinsic Form of Atopic Dermatitis*. In Wuthrich, B (ed), *The Atopy Syndrome in the Third Millenium*. *Curr Probl Dermatol*, Basel, Karger, 28:37 – 44.
- Akdis, M; Trautmann, A; Klunker, S et al. 2001. *Cytokine network und dysregulated apoptosis in Atopic Dermatitis*. *Acta Odontol Scand*. 59 (3): 178-82.
- Akdis, M; Trautmann, A; Blaser, K and Akdis, C.A. 2002 *Mechanisms of Allergic Skin Inflammation*. In Bieber and Leung (eds) *Atopic Dermatitis*, Merck Dekker, Inc. New York-Basel. pp 145- 161
- Al -Frayh AS; Hasnain SM; Gad-El-Rab MO; Schwartz B; Mobairek KA and Al-Sedairy ST. 1997 *House Dust Mite Allergens in Saudi Arabia: Regional, Variations and Immune response*. *Ann Saudi Med* :17(2): 156 - 60
- American Medical Association, 1985. *Evaluation of Permanent Impairment, The Skin*. AMA, third printing pp 203-213
- Arnold HL, Odom RB; James. 1990. *Atopic Dermatitis; Eczema; Non-Infectious immunodeficiency disorders*. In Andrew's disease of the skin, eighth ed. WB Saunders Co pp 68 – 88.
- Arjatmo T. 1991 *Aspek imunologi kulit dan pertumbuhan tumor*. *Med Dermatol Venereol Indon*, 18 : 32 – 37
- Asher, I; Dajli, E; Holgate, ST. *Genetic and Environmental Influences in Allergy*. *Eur J Allergy and Clin Immunol* , SpecialReport, 55: 1074 – 75.
- Bellanti, J. 1979. *Immunology*, second ed. Philadelphia, WB Saunders Co.
- Beltrani, VS. 1996. *The Clinical Manifestation of Atopic Dermatitis*. In (Leung DYM ed) *From Pathogenesis to Treatment*, Texas, RG Landes Co and Chapman & Hall pp 1 – 40
- Beltrani VS. 1999. *Cutaneous Manifestations of Hypersensitivity and Adverse Reactions to Food*. in (Frieri M and Kettelhut B. eds), *Food Hypersensitivity and Adverse Reactions*, Marsel Dekker, Inc. New York-Basel. Pp 219 – 50.

- Bharat BA and Puri RK, 1995. *Cytokines Network*. In (Bharat & Puri, eds) *Human Cytokines. Their Role in Disease and Therapy*, Blackwell Science, Inc. pp 3 –26.
- Bieber and Leung, 2002. *Future Perspectives in Atopic Dermatitis*. In Bieber and Leung(eds)*Atopic Dermatitis*, Marcel Dekker,Inc.New York-Basel.pp 609 – 613.
- Bochner BS and Beck LA. 2000. *Adhesion Molecules and Their Role in Allergic Skin Diseases*. In (Leung & Greaves, eds) *Allergic Skin Diseases*, printed in the USA, Marcel Dekker pp 87 - 112
- Boguniewicz M and Leung DYM. 2000. *Atopic Dermatitis*. In ((Leung & Greaves, eds) *Allergic Skin Diseases*, printed in the USA, Marcel Dekker pp 125 – 170
- Bonini RA. 1997. *Susceptibility genes for allergy and asthma*. *Allergy*, 52: 256 – 273
- Bos JD, and Kapsenberg ML 1986 *The skin immune system. Its cellular constituents and their interactions*, *Immunology Today*, 7: 235 - 239.
- Bos. JD, Das, PK and Kapsenberg. ML. 1990) *The Skin Immune System*. In Bos,JD (ed). *Skin Immune System*. CRC Press, Inc. pp 3-8.
- Bruijnzeel-Koomen,CAFM, van Wichen. DF. Foonstra,J et al. 1986 *The Presence of IgE Molecules on Epidermal Langerhans Cells in Patients with Atopic Dermatitis*, *Arch Dermatol Res*, 278: 199-205.
- Bruijnzeel PLB, Kuijper PHM; Kapp A et al 1993 *The involvement of eosinophils in the patch test reaction to aeroallergens in atopic dermatitis: its relevance for the pathogenesis of Atopic Dermatitis*, *Clin & Exp Allergy*, 23: 97 – 109.
- Bruijnzeel CAFM, Van Reijssen FC, Dubois GR et al. 1994. *Pathomechanisms in Atopic Dermatitis*, In (van Bronswijk, de la Faille and Bruijnzeel-Koomen, eds) *Eczema and the Environment, on the 75th Anniversary of Dermatology at Utrecht University, The Netherlands, Depart Dermatol Utrecht Univ*. pp 61 – 72 .
- Bruijnzeel-Koomen CAFM, Mudde GC and Bruijnzeel PLB,1989. *New Aspect in the Pathogenesis of Atopic Dermatitis*. *Acta Derm Venereol (Stockh) Suppl*, 144, 58 - 63
- Bruijnzeel-Koomen, CAFM, Bruijnzeel, PLB 1988 *A Role for IgE in Patch Test Reaction to Inhalant Allergens in Patients with Atopic Dermatitis*. *Allergy* 43 (Suppl 5) 5 - 21

- Bruijnzeel-Koomen, CAFM, van Wiehen, DF, Spry, CJF. 1988. Participation of Eosinophils in Patch Test Reaction to Inhalant Allergens in Patients with Atopic Dermatitis, *Brit J Dermatol*, 118: 229 – 38.
- Burgdorf WHC; Nasemann TH, Janner M and Schutte B. 1984. *Dermatitis, acute spongiotic and chronic dermatitis*. In *Dermatopathology*, Springer – Verlag Inc. pp 68 – 72
- Callard R and Gearing A. 1994. *The Cytokine Facts Book*, Academic Press Limited London NW1 7DX.
- Campbell, DE; Fryga AS; Bol, S et al 1999. *Intracellular interferon-gamma (IFN-gamma) production in normal children with atopic dermatitis*. *Clin Exp Immunol*, 115(3): 377- 82.
- Cambell DE; Kemp AS. 1997. *Proliferation and production of interferon-gamma (IFN-gamma) and IL-4 in response to Staphylococcus aureus and staphylococcal superantigen in childhood atopic dermatitis*. *Clin Exp Immunol*, 107(2): 392 –7.
- Campbell, DT dan Stanley JC. 1963. *Experimental and Quasi Experimental Designs for Research*. Rand Mc Nally College Publish. Coy. Chicago
- Champion RH and Pansh WE. 1992. *Atopic Dermatitis*. In (Rook, Wilkinson and Ebling eds) *Text book of Dermatology*. 5th ed Blackwell Scientific Publ. pp 589 - 610.
- Chomarat P; Rybak ME and Banchereau J. 1998. *Interleukin 4*. In (Thomson A. cd) *The Cytokine Handbook*, 3rd ed Academic Press Limited pp 133 - 149
- Chang, TT; Stevens, SR, 2002. *Atopic Dermatitis : The Role of Recombinant Interferon-gamma Therapy*. *Am J Clin Dermatol* ; 3(3) 175-83.
- Claudy, A; 1996. *Neuromediators in dermatology*. *Pathol Biol (Paris)* Dec 44:10 888 - 894.
- Coca, AF and Cooke, RA. 1923. *A Classification of the Phenomenon of Hypersensitiveness*. *J Immunol* 8: 163-182
- Corry, D B. and Kherandmand, F. 1999. *induction and regulation of the IgE response*. *Nature, Supplemento*, 402 : B18 - B23

- Darsow, U and Ring, J. 2000. *The Atopy Patch Test: Its Role in the Evaluation and Management of Atopic Eczema*. In (Leung & Greaves, eds) *Allergic Skin Diseases*, printed in the USA, Marcel Dekker. Pp 435-447
- Diepgen, TL. 2000. *Is the prevalence of atopic dermatitis increasing?* In Williams, HC (ed) *Atopic Dermatitis*. Cambridge University Press, pp 96-112.
- Elliott, K and Forrest, S. 2002 *Genetic of Atopic Dermatitis*. In Bieber and Leung (eds) *Atopic Dermatitis*, Merckell Dekker, Inc. New York-Besel. pp 81-109.
- Ellis CN, Stevens SR; Blok BK; Taylor RS; Cooper KD. 1999. *Interferon- γ therapy reduced blood leucocyte levels in patients with atopic dermatitis: correlation with clinical improvement*. *Clin Immunol* 92 (1): 49 -55.
- Fabrizi G; Romano A. Vullaggio P et al. 1999. *Heterogeneity of atopic dermatitis defined by the immune response to inhalant and food allergens*. *European journal of dermatology*, 9(5):380-4.
- Farrell AM, Antrobus P; Simpson D et al. 2001. *A rapid flow cytometric assay to detect CD4⁺ and CD8⁺ T-helper (Th)1, Th1 and Th2 cells in whole blood and its application to study cytokine levels in atopic dermatitis before and after cyclosporin therapy*. *Br J Dermatol*. 144(1): 24-33.
- Folster-Holst R, et al. 1998. *Linkage between atopy and the IgE high-affinity receptor gene at 11q13 in atopic dermatitis families*. *Hum Genet*, 102:236 - 239.
- Fujimura T; Yamanashi R; Masuzawa M et al. 1997. *Conversion of the CD4⁺ T cell profile from T(H2)-dominant type to T(H1)-dominant type after varicella-zoster virus infection in atopic dermatitis*. *J Allergy Clin Immunol*, 100(2): 274 - 82.
- Fuhlbrigge RC & Kupper TS. 2000. *Molecular Mechanisms of Allergic Skin Responses*, in (Leung & Greaves, eds), *Allergic Skin Disease*. Marcel Dekker, Inc. pp 29 - 52
- Gearing AJH & Newmann W. 1993 *Circulating adhesion molecules in disease*. *Immunology Today* 14 506 -- 12
- Grewe M et al. 1998. *A role for Th1 and Th2 cells in the immunopathogenesis of atopic dermatitis*. *Immunology today*. 10. 359 - 361

- Cirewe M; Gyufko K; Schopf E; Krutmann J. 1994. *Lexional expression of Interferon- γ in atopic eczema*, Lancet . 343. 25 – 26.
- Cirewe M; Walther S; Gyufko K; Czech W; Schopf E; Krutmann J. 1995. *Analysis of the cytokine pattern expressed in situ in inhalant allergen patch test reaction of atopic dermatitis patients*. J Invest Dermatol : 105 (3): 407 – 10.
- Circaves MW, 1993. *Pathophysiology and Clinical Aspect of Pruritus*. In (Fitzpatrick et al eds) , Dermatology in General Medicine, fourth ed. Mc Graw Hill Inc. A Blakiston Publ. pp 413 – 442.
- Gutgesell C; Yssel H; Scheel D; Gierdes J; Neumann C. 1994. *IL-10 secretion of allergen-specific skin-derived T cells correlates positively with that of the Th2 cytokines IL-4 and IL-5*, Exp Dermatol : 3(6):304 – 13.
- Habu Y, Seki S, Takayama E et al. 2001. *The mechanism of a defective IFN-gamma response to bacterial toxins in an atopic dermatitis model, N^o Nga mice, and the therapeutic effect of IFN-gamma,IL-12, or IL-18 on dermatitis* J Immunol ; 166(9):5439-47
- Hamid Q, Naseer T, Minshall EM et al. 1996. *In vivo expression of IL-12 and IL-13 in atopic dermatitis*. J Allergy Clin Immunol . 98: 225 – 231.
- Hanftin JM. 1996. *Atopic Dermatitis*. In (Moschella SL and Hurley HJ eds) Dermatology, third ed WB Saunders pp 441 – 464.
- Halmcrbauer,G; Friescher,T and Kolfer D. 1997. *Monitoring of disease activity b measurement of inflammatory marker in atopic dermatitis*. Allergy 52: 765-769
- Harijono, K. 2000. *Hubungan kadar igf: total dalam serum dengan eosinofil darah dan derajat penyakit pada penderita Dermatitis atopik*. Maj Dermatol-Venereol. Indon. 27(3): 100- 104
- Harijono, K. 2002. *Studi prevalensi dermatitis atopik di Rumah Sakit Umum Daerah Dr. Mawardi Surakarta* (belum dipublikasi)
- Hillman GG and Haas GP. 1995. *Role of Cytokines in Lymphocytes Functions*. In (Bharat & Puri, eds) Human Cytokines. Their Role in Disease and Therapy, Blackwell Science. Inc pp 37 – 54

- Ishizaka, K, Ishizaka, T and Hornbrook, M. 1967 *Allergen binding Activity of γ F, γ G and γ A antibodies in sera from atopic patients* J Immunol, 98: 490-501.
- Jahreis, A; Beckhennrich, P and Haustein, U.F. 2000 *Effects of two novel cationic staphylococcal proteins (NP-tase and p70) and enterotoxin B on IgE synthesis and interleukin-4 and interferon- γ production in patients with atopic dermatitis*, British J Dermatol 142: 680-87.
- Jones SM & Sampson HA, 1996 *The Role of Allergen in Atopic Dermatitis*. In (Leung DYM ed) *Atopic Dermatitis: From Pathogenesis to Treatment*, Texas, RG Landes Co. and Chapman & Hall pp 41 – 65.
- Jones, CA, Holloway, JA and Warner, JO. 2000. *Review article: Does atopic disease start in foetal life?* Allergy . 55 2-10
- Jones, H.E; Inouye, JC; McGerity, JL and Lewis, C. 1975. *Atopic disease and serum immunoglobulin-E*. British Journal of Dermatology, 92.17.
- Johnson E; Iron JS; Paterson R and Roberts M. 1974. *Serum IgE concentration in atopic dermatitis*. Allergy Clin Immunol 54: 94 - 9
- Juhtin I; Johansson SGO; Bennich HV; Hogman C and Thyresson N. 1969. *Immunoglobulin E in Dermatoses*. Arch Derm 100: 12 – 16.
- Jung K; Linse F; Heller R et al. 1996 *Adhesion molecules in atopic dermatitis: VCAM-1 and ICAM-1 expression is increased in healthy-appearing skin*, Allergy 51(7):452-60
- Jung T; Moessner R; Dieckhoff K; Heidrich S & Neumann C. 1999. *Mechanisms of deficient interferon-gamma production in atopic diseases*. Clin Exp Allergy 29 (7) 912 – 9
- Jung T; Witzak K; Dieckhoff K; Zachmann K; Heidrich S; Aversa G; Neumann C. 1999. *IFN-gamma is only partially restored by co-stimulation with IL-12, IL-2, IL-15, IL-18 or engagement of CD28*. Clin Exp Allergy 29(2): 207 – 16.
- Kanek, R; Maisu T; Iwatsuki K. 2001. *Biphasic cytokine expression by cell clones from patients with atopic dermatitis with different incubation periods and strengths of stimuli*. Fukushima J Med Sci: 47(2):51-62

- Kapp A; Czech W; Krutmann J. Schopf E. 1991. *Eosinophil cationic protein in sera of patients with atopic dermatitis*, *J Am Acad Dermatol* ;24 (4): 555 – 8.
- Kamura M, Tsuruta S. and Yoshida T. 1998. *Unique profile of IL-4 and IFN- γ production by peripheral blood mononuclear cells in infants with atopic dermatitis*. *J Allergy Clin Immunol*; 102: 238 - 44.
- Kowalziak L; Kleinheinz A; Neuber K. Weichenhal M, Kohler I and Rung J. 1995. *Elevated Serum Levels of Soluble Adhesion Molecules ICAM-1 and ELAM-1 in Patients with Severe Atopic Eczema and Influence of UVA 1 Treatment*, *Dermatol* . 190: 14 - 8
- Kolmer H and Platts-Mills,2000. *The Role of Inhalant allergens in Atopic Dermatitis*. In (Williams HC ed.) *Atopic Dermatitis*, Cambridge Univ Press. pp 185 - 92.
- Korde M; Furukawa F; Tokura Y; Shirahama S; Takigawa M. 1997. *Evaluation of soluble cell adhesion molecules in Atopic Dermatitis*, *J Dermatol* ,24 (2): 88 – 93.
- Kondo N; Matsui E; Kaneko H et al. 2000. *Role of IL-12 Receptor β 2 Mutations in the Development of Atopy*, *Symposium Antecedents of Allergic Disease—Early Life Events*. *Allergy & Clinical Immunology International Supplement 1*: 92-94.
- Krutmann, JT and Morina, A 2002 *Phototherapy for Atopic Dermatitis*. In In Bieber and Leung (eds) *Atopic Dermatitis*. Merceel Dekker, Inc. New York-Besel. pp 501- 517.
- Larsen FS. 2000 *Epidemiology and Socioeconomic Impact of Allergic Skin Diseases*. In (Leung & Greaves, eds) *Allergic Skin Diseases*. printed in the USA. Marcel Dekker pp 1 - 20
- Laan MP; Baert MRM. Astrid E.C.M et al. 1998. *Differential mRNA expression and production of interleukin-4 and interferon-gamma in stimulated peripheral blood mononuclear cells of house-dust mite-allergic patients*. *European Cytokine Network* . 75-84
- Laan M. 1999 *Analysis of T cell differentiation during the development of atopy in children*. Thesis, Erasmus Universiteit Rotterdam

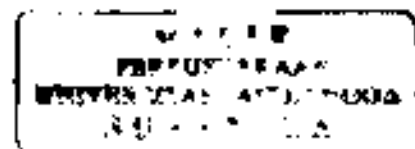
- Leiferman KM & Gleich GJ. 1996. *The Role of Eosinophils in Atopic Dermatitis*. In (Leung DYM, ed) , *Atopic Dermatitis From Pathogenesis to Treatment*, Texas, RG Landes CO and Chapman & Hall pp 145 – 183.
- Leiferman KM, Ackerman SJ, Sampson HA et al. 1985. *Dermal Deposition of Eosinophil-Granule Major Basic Protein in Atopic Dermatitis. Comparison with Onchocerciasis*. *J Immunol* 135(5):282-5
- Lester, MR; Hofer, MF; Gately, M; Trumble, A dan Leung, DY, 1995. *Down regulating effects of IL-4 and IL-10 on The IFN-gamma response in atopic dermatitis*, *J Immunol* 154(11): 6174 – 81
- Leung DYM, Rhodes AR; Geha RS; Schneider I, Ring J. 1992. *Atopic Dermatitis (atopic eczema)*. In (Fitzpatrick et al eds) *Dermatology in General Medicine*, fourth ed. Mc Graw Hill pp 1543 – 1560.
- Leung DYM & Hamid Q. 1996. *the Immunology of Atopic Dermatitis*. In (Leung DYM ed). *Atopic Dermatitis From Pathogenesis to Treatment*. Texas, RG Landes Co and Chapman & Hall pp 143-144
- Lewis D. 2002. *Allergy immunotherapy and inhibition of Th2 immune responses: a sufficient strategy?*. *Curr Opin Immunol*. 14(5):644
- Liu M; Zheng S; Wang X et al. 1999. *Regulatory roles of IL-12, IL-4 and IFN-gamma on IgE synthesis in atopic patients*, *Chin Med J*, 112(6): 550-3
- Lyon WF. 1991. *House Dust Mites*. Ohio State University Extension Fact Sheet, Kenny Road Columbus, OH 43210 – 1000
- Malefyt, R W & de Vries JE. 1998. *Interleukin 13*. In (Thomson A. ed) *The Cytokine Handbook*, 3rd ed Academic Press Limited. pp 427 -42
- Marsetyawan, HNES. 2000. *Sitokin*, Kuliah Defisiensi Biomol & Immunologi, TPPD Fak. Kedokteran Universitas Gajah Mada
- Matsumoto M, Itakura A; Tanaka A et al. 2001. *Inability of IL-12 to down-regulate IgE synthesis due to defective production of IFN-gamma in atopic NC/Nga mice*. *Immunol*, 167(10): 5955-62

- Moodycliffe AM & Ullrich SE. 1995. *Role of cytokines in the regulation of hypersensitivity responses*. In (Aggarwal B & Puri R eds), **Human Cytokines Their role in Disease and Therapy**. Blackwell Science Inc. pp 131 - 52.
- McDyer, JF; Wu CY and Seder, RA. 1998 *The regulation of IL-12: Its role in infectious, autoimmune, and allergic diseases*, *J Allergy Clin Immunol*, 102 (1) 11- 8.
- Mosmann, TR and Sad S. 1996. *Immunology Today*, vol.17 (3): 138 - 47.
- Nachmias, D dan Nachmias, C. 1987. *Research methods in the social sciences*, St Martin's Press New York 3 rd edit. hal 185.
- Nanda Dewi, RW. 1995. *Tungau debu Rumah sebagai Faktor Pencetus Eksogen pada penderita Dermatitis Atopik di RSI DR Hasan Sadikin Bandung*. Penelitian Karya Ilmiah Akhir untuk Dokter Spesialis I.I.P Kulst & Kelamin, Univ.Pajajaran Bandung
- Norris PG; Schofield O and Camp RDR. 1988. *A study of the role of house dust mite in Atopic Dermatitis*, *Br J Dermatol* 118, 435 -40
- Oppenheim JJ, Ruscetti FW & Faltnock C. 1994 *Cytokines*. In (Stites,Terr, Parslow eds) *Basic Clinical Immunology* . eighth ed Prentice Hall International Inc. pp 105 - 123
- Oranje AP. 1995 *Development of childhood eczema and its classification*, *Pediatr Allergy Immunol*, 6 (Suppl 7): 33 - 35
- Platts-Mills TAE, Mitchell EB; Rowntree S, Chapman MD and Wilkins SR. 1983. *The role of dust mite allergens in atopic dermatitis*, *ChnExpDermatol* 8: 233 - 47
- Putra, ST. 1997 *Patofisiologi tingkat sel*, dalam Putra, Suharto & Soewandojo (eds) *Patofisiologi Kedokteran*. cetakan I GRAMIK FK Unair. Hal 1-42.
- Rajka G. 1989 *On Definition and Framework of Atopic Dermatitis* . *Acta Derm Venereol (Stockh)* Suppl 144: 15 - 19
- Rajka G and Langeland T. 1989 *Grading of the Severity of Atopic Dermatitis*, *Acta dermato-venereol*, Suppl 144 : 13 - 14

- Ramirez, HM; Kang, K; Seth, R et al 2002. *Cellular aspects of Atopic Dermatitis: Overview*. In Bieber and Leung (eds) *Atopic Dermatitis*, Merrell Dekker, Inc. New York-Besel. pp 217-230.
- Reinamo, S 2002. *Topical Macrolide Immunomodulators for therapy of Atopic Dermatitis*. In Bieber and Leung (eds) *Atopic Dermatitis*, Merrell Dekker, Inc. New York-Besel. pp 541 - 565.
- Rico MJ & Lawrence I. 2002. *Tracrolimus ointment for the treatment of atopic dermatitis: clinical and pharmacologic effects*, *Allergy Asthma Proc.* 23 (3) : 191-7.
- Ring, J. 1991. *Atopy: Condition, Disease or Syndrome?* In Ruzicka, T, Ring and Przybilla (eds). Springer-Verlag Berlin pp 1-8
- Rothe MJ & Grant-Kels JM, 1996. *Atopic Dermatitis : An update*. *J Amer Acad Dermatol.* 25(1). 1 - 13.
- Rott A.; Brostoff J; Male, D. 1993. *Hypersensitivity- type I*, in *Immunology*, third edition, Mosby- Year Book Europe Ltd Printed in Hongkong. pp 19,1 - 19,4
- Romagnani S. 1997. *The Th1 Th2 paradigm*, *Immunology Today* 18, No 6 : 263 -266.
- Sager N, Feldmann A; Schiffling G, Kreitsch P and Nuemann C. 1992. *Howe dust mite-specific T cells in the skin of subject with Atopic Dermatitis: Frequency and lymphokine profile in the allergen patch test*, *J Allergy Clin Immunology*, 89: 803-10
- Salim EM, 1996. *Tes Kulit*, *Pharos Bulletin* No. 1, hal. 19 -- 21
- Sampson HA & Hanifin J, 1991. *Atopic Dermatitis* In (Jordan RE, ed) *Immunologic Diseases of the skin*, first ed California Appleton & Lange, pp 229 - 238.
- Sanderson CJ. 1998. *Interleukin 5*. In (Thomson A. ed) *The Cytokine Handbook*, 3rd ed Academic Press Limited. pp 175 - 96
- Sawai T, Ikai K, Uehara M. 1995. *Elevate cyclic adenosine monophosphate phosphodiesterase activity in peripheral blood mononuclear leucocytes from children with atopic dermatitis*. *Br J Dermatol* 132: 1: 22-4

- Schneider LC, Baz Z, Zarcone C and Zurakowski D. 1998. *Long-term therapy with recombinant interferon- gamma (IFN- γ) for atopic dermatitis*, *Ann Allergy Asthma Immunol*, 80, 263 - 8
- Scholzen T; Armstrong CA, Bunnet NW, Luger TA; Olerud JE; Ansel JC 1998. *Neuropeptides in the skin: interaction between the neuroendocrine and the skin immune systems*, *Exp Dermatol* , 7 (2-3): 81- 96.
- Siti Aisyah B. 1997 *Dermatitis atopik pada anak*, dalam (Sudigdoadi dkk eds) *Dermatitis Atopik*, Naskah Lengkap temu ilmiah hal 65 - 85
- Siti Hoedina K. 1996 *Imunologi: Diagnosis dan Prosedur Laboratorium*, edisi ketiga Balai Penerbit FKUI Jakarta. Hal 38 -44
- Spergel JM; Mizoguchi E, Oettgen H, Bhan AK and Geha RS.1999 *Role of Th1 and Th2 cytokines in a murine model of allergic dermatitis*, *J Clin Invest*, 103 (8) : 1103 - 11
- Spergel JM& Schneider LC. 1997 *Atopic Dermatitis*, *The Internet Journ of Asthma, Allergy and Immunology*, vol1, No1 <http://www.ispub.com/journals/IJAAI/Vol1NEAD.htm>
- Stalder JF & Tacheb, A (koord) *European Task Force on Atopic Dermatiis*, 1993. *Severity Scoring of Atopic Dermatitis. The SCORAD Index*, *Dermatology* 186: 23 -31
- Stevens SR; Hanifin JM; Hamilton T, Tolle SJ, Cooper KD. 1998. *Long-term effectiveness and safety of recombinant human interferon- gamma therapy for atopic dermatitis despite unchanged serum igf levels*, *Arch Dermatol*, 134 (7): 799 -804
- Strickland J; Hauk PJ; Trumble AE, Picker LJ & Leung DY. 1999. *Evidence for superantigen involvement in skin homing of T cells in atopic dermatitis*, *J Invest Dermatol* 112.2 249 - 53.
- Strling, RG ; Chung, KF. 2000 *Future treatments of allergic diseases and asthma*. *Br Med Bull*, 56 (4): 1037 - 53
- Subarno, RW. 1999 *Prediksi klinis Dermatitis Kontak-Tangan pada pekerja dengan kondisi Diatesis Atopi- Kulit*, Disertasi-Program Pasca sarjana Uin, Indonesia
- Sudigdoadi 1995 *Molekul Igf pada sel langerhans epidermal sebagai penanda diagnosis Dermatitis atopik*. Disertasi . Universitas Pajajaran , Bandung Indonesia

- Sudigdoadi. 2000 *Dermatitis Atopik : Paradigma Baru Patogenesis Dermatitis Atopik dengan Menggunakan Data Lokal*. Dalam (Sudigdoadi dkk, eds) Buku Makalah Lengkap Kursus Imuno-dermatologi I . penerbit KSID, Bandung, hal. 153 – 170.
- Sudigdoadi. 1999. *Pola T' helper-1 dan Theiper-2 pada Lesi Kulit Penderita Dermatitis Atopik*. MDVI vol 26 no 3 127 - 135
- Sulzberger, MB and Vaughn, WR. 1954 *Experiments in Silk Hypersensitivity and the Inhalation of Allergen in Atopic Dermatitis (Neuro Dermatitis Disseminata)*. *Allergy*, 5: 554 - 580
- Sutedja F. 2000 *Alergi makanan: Diagnosis dan Penatalaksanaannya, dalam* (Sudigdoadi dkk. eds) Buku Makalah Lengkap Kursus Imuno-dermatologi I . Kelompok Studi Dermatologi, Bandung. Hal 283 - 300.
- Sventivanyi A. 1968. *The β adrenergic Theory of the Atopic Abnormality in Bronchial Asthma*. *J Allergy*. 42 : 203 - 32.
- Svensson, A; Edman B, and Moller. H. 1985 *A Diagnosis Tool for Atopic Dermatitis based on Clinical Criteria*. *Acta Derm Venereol (Stockh)*; Suppl 114: 9 - 23.
- Taha RA, Leung DYM, Ghaffar O, Bogumiewicz M and Hamid Q. 1998. *In vivo expression of cytokine receptor mRNA in atopic dermatitis*. *J Allergy Clin Immunol* 102 245 - 250.
- Tanaka Y; Tanaka M; Anan S and Yoshida H. 1989. *Immunohistochemical Studies on Dust Mite Antigen in Positive Reaction Site of Patch Test*. *Acta Derm Venereol (Stockh)* 1989;Suppl 144 7 - 9
- Tan BB; Weald D; Strickland I and Friedmann PS,1996 *Double-Blind Controlled Trial of Effect of House-dust- mite Allergen Avoidance on Atopic Dermatitis*. *Lancet*:15- 18
- Terr A E. 1994. *The Atopic Diseases*. In (Sites, Terr and Parslow eds.) *Basic Clinical Immunology*, eighth ed. Prentice- Hall Intern. Inc pp 327 - 346.
- Thepen T et al ,1996 *Biphasic response against aeroallergen in atopic dermatitis showing a switch from an initial TH2 response to a TH1 response in situ: An immunocytochemical study*. *J Allergy Clin Immunol*. 97: 828 - 837.



- Frautmann A, Akdis M, Schmid - Gerndelmeiner P et al. 2001. *Targeting keratinocyte apoptosis in the treatment of atopic dermatitis and allergic contact dermatitis*. J Allergy Clin Immunol, 108(5): 839-46.
- Tupker RA; De Monchy JGR, Coenraads PJ et al. 1996. induction of atopic dermatitis by inhalation of house dust mite. Allergy and Clinical Immunology, 97: 1064-70.
- Vittek J. 1998 *The Cytokines: An Overview* In (Thomson A ed) The Cytokine Handbook, 3rd ed Academic Press Limited pp 1 -20
- Vignola AM; Gjomarkaj M; Arnoux B et al 1998. *Updates on cells and cytokines. Monocytes*. J Allergy Clin Immunol. 101: 149-52.
- Vowels BR; Rook AH; Cassin M and Zweiman B 1995. *Expression of IL-4 and IL-5 mRNA infeksi developing cutaneous late phase reaction*. J Allergy Clin Immunol 96(1): 92 - 96
- Wakugawa M; Nakagawa HIV; Yamada N and Tamaki K. 1996. *Chronologic Analysis of Eosinophil Granule Protein Deposition and Cell Adhesion Molecule Expression in Mite- Allergen Induced Dermatitis in Atopic Subjects*. Int Arch Allergy Immunol. 111(suppl) 5 - 11
- Weller PF 1997 *Update on Cells and Cytokines, Human Eosinophils*. J Allergy Clin Immunol, 100: 283 - 287.
- Werfel T; Morita A; Grewe M. Renz H. Wahn U, Krutmann J, Kapp A. 1996. *Allergen specificity of skin-infiltrating T cells is not restricted to a type-2 cytokine pattern in chronic skin lesions of atopic*. J Invest Dermatol, 107(6): 871 - 6.
- Werfel,T and Kapp,A. 1999. *What do we know about the Etiopathology of the Intrinsic Type of Atopic Dermatitis?* In Wuthrich, B (ed), The Atopy Syndrome in the Third Millenium. Curt Probi Dermatol, Basel, Karger, 28, 29 - 36
- Werfel,T and Kapp,A. 2002. *T Cells in Atopic Dermatitis*. In Bieber and Leung (eds) Atopic Dermatitis, Merrell Dekker, inc New York-Basel, pp 241-266
- Wheatley, LM and Platts-Mills, T A E 2000 *Role of Inhalant Allergens in Atopic Dermatitis*. In Leung and Greaves (eds) Allergic skin disease, Marcel-Dekker, Inc. New York-Basel Pp423-434

- Williams, HC. 2000. *What is atopic dermatitis and how should it be defined in epidemiological studies?* In Williams HC (ed) *Atopic Dermatitis*, Cambridge University Press, pp 3 -24.
- Wollenberg, A and Bieber, T. 2002. *Antigen Presenting Cells*. In Bieber and Leung (eds) *Atopic Dermatitis*, Merceel Dekker, Inc. New York-Besel, pp 267-283
- Wolkerstorfer A, Laan MP, Savellkoui HF et al. 1998. *Soluble E-selectin, other markers of inflammation and disease severity in children with atopic dermatitis*, *Br J Dermatol*, 138 (3): 431 – 5.
- Wuthrich B, 1999. *What is Atopy? Condition, Disease or a Syndrome?* In Wuthrich, B (ed). *The Atopy Syndrome in the Third Millenium*. *Curr Probl Dermatol*, Basel, Karger, 28:1-8.
- Wuthrich, B and Grendelmeier, PS 2002. *Definition and Diagnosis of Intrinsic Versus Extrinsic Atopic Dermatitis*. In Bieber and Leung (eds) *Atopic Dermatitis*, Merceel Dekker, Inc. New York-Besel, pp 1-20
- Yamamoto S, Hamasaki Y, Ishii E, Ichimaru T and Miyasaki S. 1997 *Unbalanced production of interleukin-5 and interleukin-2 in children with atopic dermatitis*, *Ann Allergy Asthma Immunol*, 78: 517 – 23
- Yawalkar N, Karlen S, Engli F et al. 2000 *Down regulation of IL-12 by topical corticosteroids in chronic atopic dermatitis*, *J Allergy Clin Immunol*, 106 (5): 941-7.

Lampiran 1

PEMERINTAH PROPANSI JAWA TENGAH
RSUD DR. MOEWARDI

Jl. Kdi. Sularto 132 phone 634634 fax 637412 Surakarta

SURAT KETERANGAN

Nomor: 045/1963/2001

Berdasarkan surat permohonan izin penelitian Mahasiswa Program Studi S-3 Ilmu Kedokteran FK UNA-R Surabaya an Dr. Harjono Kariosentono So KK tanggal 14 Februari 2001 dengan judul "Peran Interleukin (IL)-12 dalam Proses Pengalihan Respons Imun Dengan Profil Sitokin Th₂ ke Respon Th₁ pada Dermatitis".

Dengan ini menerangkan kami Menyetujui penelitian tersebut dilaksanakan di RSUD Dr. Moewardi Surakarta

Demikian surat keterangan ini dibuat, untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya

Surakarta, 31 Mei 2001

PEMERINTAH PROPANSI JAWA TENGAH
RSUD DR. MOEWARDI SURAKARTA
SUDJOKO MMR

Pembina Utama Muda

N.P. 140 052 362



DEPARTEMEN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS GADJAH MADA
LABORATORIUM ILMU HAYATI
Sekip Utara Jl. Kaliurang Km. 4 Telp. 902532 YOGYAKARTA 55281

Yogyakarta, 11 Nopember 2000

No : UGM/LIH/ 1841 /M.05/07
Lampiran : -
Hal : Ijin Penelitian

Kepada
Yth : Dekan
Fakultas Kedokteran
Universitas Sebelas Maret
Surakarta

Dengan hormat,

Menjawab surat Saudara Nomor 2252/J27.1.17.1/KP/2000 tanggal 30 Oktober 2000 perihal permohonan ijin penelitian mahasiswa :

Nama : dr. HARIJONO KARIOSENTONO, Sp.KK.
N I P : 130 517 181
Judul Penelitian : Peranan IL 12 pada Sekresi IFN- γ Kultur Limfosit Penderita Dermatitis Atopik.

pada prinsipnya dapat kami setujui sesuai dengan peraturan yang berlaku, adapun dalam pelaksanaannya yang bertanggungjawab di LIH Prof. Dr. Hardyanto S. SpKK dan sebagai teknisinya Sdr. Tri Yuliaty.

Atas perhatian dan kerjasamanya kami ucapkan terima kasih.



Lab. Ilmu Hayati

Prof. Dr. Noerhafati S., DTM&H
NIP. 130160525

Tembusan :

1. Prof. Dr. Hardyanto S, SpKK
2. dr. HARIJONO KARIOSENTONO, Sp. KK.
3. Sdr. Tri Yuliaty

Lampiran 3


SURAT KETERANGAN
KELAIKAN ETIK PENELITIAN

No.

Tanggal 2 Januari 2001.

Panitia Komite Etik Rumah Sakit Umum Daerah Dr. Moewardi Surakarta menerangkan bahwa

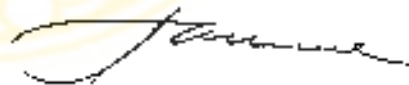
- Penelitian dengan judul : "Peran Interleukin IL-12 dalam proses pengalihan respons imun dengan profil Th-2 ke respons Th-1 pada penderita Dermatitis atopik. Studi *in vitro* kultur limfosit."
 - Nama peneliti
Harijono Kariosentono, dr, SpKK
- dinyatakan laik etik.



Panitia Komite Etik
RSUD Dr. Moewardi
Surakarta



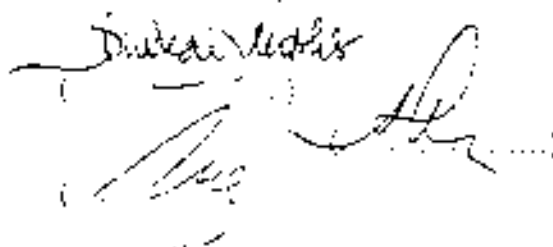
Dr. H. Zainal Arifin Adnan, SpPD
Ketua



Dr. Samuel Ngahu, SpB.
Sekretaris

Anggota

- dr. H. Tribudi Wiryanto
- dr. H. Marthunus Yudin
- dr. Mardiatmi



Lampiran 4

FORMULIR PERSETUJUAN

Dengan ini saya :

- Nama :
- Umur :
- Jenis kelamin :
- Etnis :
- Pekerjaan :
- Alamat :
- No. KTP :

Setelah mendapatkan keterangan secukupnya serta menyadari manfaat dan resiko penelitian yang berjudul :

"Peran Interteukin IL-12 dalam proses pengalihan respons imun dengan profil sitokin Th-2 ke respons Th-1 pada penderita Dermatitis atopik"

Dengan sukarela menyatakan menyetujui diikut sertakan dalam penelitian diatas dengan catatan apabila suatu waktu dirugikan dalam bentuk apapun, berhak membatalkan persetujuan ini.

Surakarta,2001

Peserta Penelitian,

(.....)

Penanggung jawab
Penelitian

Saksi

(.....)

(.....)

PERSETUJUAN TINDAKAN MEDIS

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama :
 Umur/keiamin :
 Alamat :
 Bukti diri /KTP :

Dengan ini menyatakan dengan sesungguhnya telah memberikan PERSETUJUAN untuk dilakukan tindakan medis berupa anamnesis, pemeriksaan fisik, pengambilan darah untuk laboratorium serta pemeriksaan/tes kulit : uji tusuk (skin prick test) terhadap diri saya sendiri/istri/suami/anak/ayah/ibu/saudara saya :

Nama :
 Umur/kelamin :
 Alamat :
 Dirawat di :
 Bukti diri/KTP :
 Nomor rekam medis :

Yang tujuan, sifat dan perlunya tindakan medis tersebut diatas, serta resiko yang dapat ditimbulkannya telah cukup dijelaskan oleh dokter dan telah saya mengerti sepenuhnya.

Demikian pernyataan persetujuan ini saya buat dengan penuh kesadaran dan telah saya mengerti sepenuhnya.

Surakarta, 2001

Saksi I
 pernyataan

Saksi II

Dokter

Yang membuat

(.....)

(.....)

(.....)

(.....)

Lampiran 6

Lampiran tabel



Tabel 1. Kriteria Diagnostik dermatitis atopik dari Hanifin dan Rajka *

<p>Kriteria major</p> <p>pruritus</p> <p>morfologi dan distribusi yang khas</p> <p>dewasa . lipatan mengalami likenifikasi atau likenifikasi linear</p> <p>anak dan bayi; mengenai daerah muka dan bagian ekstensor</p> <p>dermatitis khronis atau kambuhan</p> <p>riwayat atopi pada diri atau keluarga</p> <p>Kriteria minor</p> <p>xerosis</p> <p>ikhtiosis/ keratosis pilaris/ palmar hiperlinear</p> <p>reaktivitas uji kulit tipe I</p> <p>peningkatan kadar IgE dalam serum</p> <p>usia awitan dini</p> <p>cenderung mudah terkena infeksi kulit (<i>Staphylococcus aureus</i>, herpes simplex) / gangguan imunitas selular (<i>cell-mediated immunity</i>)</p> <p>kecenderungan untuk menderita dermatitis pada tangan / kaki</p> <p>eksema pada puting susu (<i>nipple</i>)</p> <p>konjungtivitis</p> <p>tanda dari <i>Dennie-Morgan</i></p> <p>keratokonus</p> <p>katarak subkapsular anterior</p> <p>warna gelap dibawah mata (<i>infra orbital darkening</i>)</p> <p>wajah pucat/ muka merah</p> <p><i>Pityriasis alba</i></p> <p>lipatan pada leher bagian anterior</p> <p>gatal saat berkeringat</p> <p>Intoleran terhadap wool and bahan larut minyak</p> <p><i>perifollicular accentuation</i></p> <p>intoleran makanan</p> <p>pejalanan penyakit dipengaruhi faktor lingkungan emosi</p> <p>demographisme putih/ <i>delayed blanch</i></p>

*dikutip dan dimodifikasi dari Rothe dan Grant-Kels .1996.

Keterangan: untuk menegakkan diagnosis dermatitis atopik harus ada paling sedikit 3 kriteria major dan 3 atau lebih kriteria minor.

Tabel 2 Gradasi keparahan penyakit pada Dermatitis Atopik **

Kriteria		
1. Luas lesi :		
a. fase anak dan dewasa		
kurang dari 9% luas permukaan tubuh		= 1
lebih dari 9% tapi kurang 36% luas permukaan tubuh		= 2
lebih dari 36 % luas permukaan tubuh		= 3
b fase bayi		
kurang dari 18% luas permukaan tubuh		= 1
lebih dari 18% tapi kurang dari 54% luas permukaan tubuh		= 2
lebih dari 54% luas permukaan tubuh		= 3
2. Perjalanan penyakit :		
remisi setiap tahun lebih dari 3 bulan *		= 1
remisi setiap tahun kurang dari 3 bulan*		= 2
terus menerus sakit		= 3
3. Intensitas :		
gatal ringan, gangguan tidur malam hanya kadang kadang		= 1
gatal sedang, gangguan tidur malam lebih dari biasa tapi tidak terus menerus		= 2
gatal yang sangat, terus menerus mengganggu tidur malam		= 3
Jumlah Skor :		
skore total	keparahan penyakit	
3 - 4	ringan	
4,5 - 7,5	sedang	
8 - 9	berat	

bila meragukan, skor 1,5 atau 2,5 dapat digunakan

* pada bayi atau bila onset kurang dari 1 tahun sebelum *grading* disesuaikan

** dikutip dan dimodifikasi dari kepubst Rajka & Langeland (1989)

Tabel 3. Komposisi subjek penelitian (kelompok kasus dan kontrol).

Diagnosis	Kelompok kasus	Kelompok kontrol
Dermatitis atopik (DA)	18	
Kontrol (NDA):		
Akne vulgaris		2
Tinea kruris		1
Kandidiasis		1
Orang sehat		8
Jumlah	18	12

Lampiran 7

Prosedur pemeriksaan laboratorium

1. **Protokol untuk melakukan isolasi limfosit dengan metoda *Ficoll histopaque density gradient***, adalah sebagai berikut

Setelah sampai di Laboratorium Ilmu Hayati UGM sampel darah diperlakukan sebagai berikut:

1. encerkan 5 ml. darah berhepana dengan larutan Hank's BSS (*balance salt solution*) dengan perbandingan 1 : 1 dalam tabung 50 ml, campur baik baik
2. ambil 5 ml. Larutan *Ficoll Hypaque* dengan pipet transfer dan masukkan ke dasar tabung yang berisi campuran darah dan lar. Hank's secara pelan
3. putar selama 15 menit pada 1800 rpm (300 g), memakai sentrifus J-GB (Beckmann)
4. setelah pemutaran buang cairan atas pada tabung sampai \pm 1.5 cm diatas lingkaran atau cincin putih (mengandung limfosit), kemudian pindahkan limfosit ke tabung lain dengan cara diambil dengan pipet transfer pada *pellet* atau lingkaran putih tersebut dan dipindahkan ke tabung lain
5. tambahkan larutan Hank's BSS kedalam tabung berisi limfosit sampai 15 ml dan campur baik baik
6. putar 10 menit pada 1400 rpm kemudian buang *supernatant*
7. resuspensi *pellet* dengan cairan sisa dan tambahkan larutan Hank's BSS sampai 15 ml, kemudian campur dengan membolak balik tabung
8. putar lagi selama 10 menit pada 1400 rpm kemudian buang *supernatant*

9. resuspensi *pellet* dalam 1 ml larutan RPMI, tambahkan 15% human serum
10. hitung jumlah sel yang ada dengan bilik hitung
11. masukkan ke dalam sumuran (*well*) dari plate steril, 50 μ l (=10⁵) suspensi sel dan tambahkan pada masing masing *well*, 50 μ g/ml suspensi antigen TDR (metoda Kimura), dan TDR + IL-12 serta tanpa penambahan apa apa pada *well* yang lain (tanpa paparan)
12. Eramkan sel selama 5 hari, dalam inkubator 37^o C dengan CO₂ 5%
13. Pada hari ke 3 dan ke 6 mulai di panen dengan mengambil supernatant dari setiap *well* untuk pengukuran kadar sitokin.

II. Protokol untuk melakukan mengukur kadar sitokin adalah sebagai berikut:

a. Pengukuran kadar IFN- γ dengan metoda Elisa.

Bawa semua reagent dan sampel pada temperatur kamar sebelum digunakan.

Laksanakan langkah langkah sebagai berikut:

1. siapkan semua reagent dan buat larutan standart dengan cara

6 tabung *polypropylene* diisi masing masing dengan 500 μ l. Calibrator Diluent RD6-21, sementara itu tambahkan 5.6 ml Calibrator Diluent RD6-21 pada IFN- γ standart sehingga terbentuk larutan standart IFN- γ dengan konsentrasi 1000 pg/mL

Ambil 500 μ L dari larutan standart dan masukkan kedalam tabung *polypropylene* pertama yang telah disiapkan. campur hati hati

Ambil 500 μ L dari tabung pertama masukkan ke tabung *polypropylene* kedua, campur hati hati.



Selanjutnya dilakukan secara serial sampai tabung ke enam sehingga akan diperoleh larutan standart IFN- γ masing masing 200 pg/mL, 200 pg/mL,

125 pg/mL, 62.5 pg/mL, 31,2 dan 15,6 pg/mL

2. bersihkan akses strip mikroplate dari bingkai plate, kembalikan ke *foil pouch* dan tutup kembali
3. tambahkan 100 μ L larutan RDI-51 ke setiap well
4. tambahkan masing masing 100 μ L larutan standart dari tabung *polypropylene* kedalam 6 well dan juga tambahkan 100 μ L sampel per well, kocok secara perlahan selama 15 menit. Tutup dengan strip adhesive dan inkubasikan selama 2 jam pada temperatur kamar
5. aspirasi tiap well dan cuci dengan *washing solution* diulangi 3 kali sampai total 4 kali. Cuci dengan mengisi tiap well dengan buffer pencuci (400 μ L), gunakan botol penyemprot *multi channel* pipet, *dispenser* atau *washer*. Setelah pencucian terakhir bersihkan sisa buffer pencuci. Kemudian balikkan plate diatas kertas *tissue*
6. tambahkan 200 μ L konjugate IFN- γ pada tiap well. Tutup dengan strip adhesive yang baru. Inkubasi selama 2 jam pada temperatur kamar.
7. sementara itu buat campuran substrat A dan substrat B dengan mencampurkan keduanya dalam volume yang sama. Campuran larutan substrat ini dibuat 15 menit sebelum digunakan
8. setelah inkubasi 2 jam, ulangi aspirasi pencucian seperti pada step 5
9. tambahkan 200 μ L larutan substrat pada tiap well, inkubasi 30 menit pada temperatur kamar. Hindarkan sinar lampu secara langsung pada plate

10. tambahkan 50 μ L larutan penyetop pada trap well. Ketuk-ketuk plate secara perlahan untuk mencampur
11. periksa OD tiap well menggunakan mikroplate reader di set 450 nm dan diulangi pembacaan 30 menit kemudian. Bila ada panjang gelombang koreksi pada 540 nm atau 570 nm.

b. Pengukuran kadar IL-4 dengan metoda Elisa.

Cara pemeriksaan sama dengan pengukuran kadar IFN- γ hanya disini menggunakan *Elisa Kit* untuk IL-4, dari R & D System

III. Penghitungan eosinofil darah.

Prinsip : cairan pengencer akan memberi warna pada granula eosinofil

Reagen :

Larutan eosin yellow 2 %	5ml
Aceton	5 ml
Aquadest ad	100 ml

Stabil beberapa minggu dalam lemari es, kocok sebelum dipakai

Prosedur: Hisap darah sampai tanda "1", hapus kelebihan darah yang melekat.

Pada ujung pipet, kemudian hisap larutan pengencer sampai tanda "1".

Kocok selama 15-30 detik pakai vibrator, isikan kedalam kamar

hitung. Biarkan selama 15 menit dalam cawan petri tertutup yang berisi

sepotong kertas saring basah di lemari es. Hitung jumlah eosinofil

dalam seluruh bidang yang dibagi (9 kotak)

$$\text{Jumlah eosinofil dalam } 10^7 \text{ ul darah} = \frac{X \times 10 \times 10^9}{9}$$

Angka normal : 0.08 - 0.36 10^7 ul darah

STATUS DERMATITIS ATOPIK

* Identitas Pasien

- Nama :
- Tanggal Lahir :
- Jenis Kelamin :
- Usia (thn) :
- Alamat :
- Telepon :

* Tanggal Pemeriksaan

ANAMNESIS (yang harus ditanyakan)	
1. Keluhan utama dan keluhan tambahan ; gatal (kualitas dan kuantitas)	
2. Awitan (usianya > 2 tahun).	
3. Lama sakit dan perjalanan penyakit kronik residif (beberapa kali kambuh dalam setiap 3 bulan).	
4. Lokasi : pipi, dahi, dan skalp (pada fase infantil), fleksural, dan ekstensor (pada fase anak dan dewasa).	
5. Faktor yang berpengaruh atau pencetus : alergen hirup, alergen makanan, kelembaban, perubahan suhu yang tiba-tiba, gangguan emosi, dan faktor lain-lain (misalnya : pekerjaan, hobi, kebiasaan sehari-hari, pemakaian sabun, pewangi/pelembut, kosmetik, dll).	
6. Kulit kering diluar lesi.	
7. Riwayat atopi pada pasien DA dan keluarganya (buat pedigree sampai 3 generasi).	

GAMBAR PEDIGREE (MINIMAL 3 GENERASI) :

PEMERIKSAAN FISIK

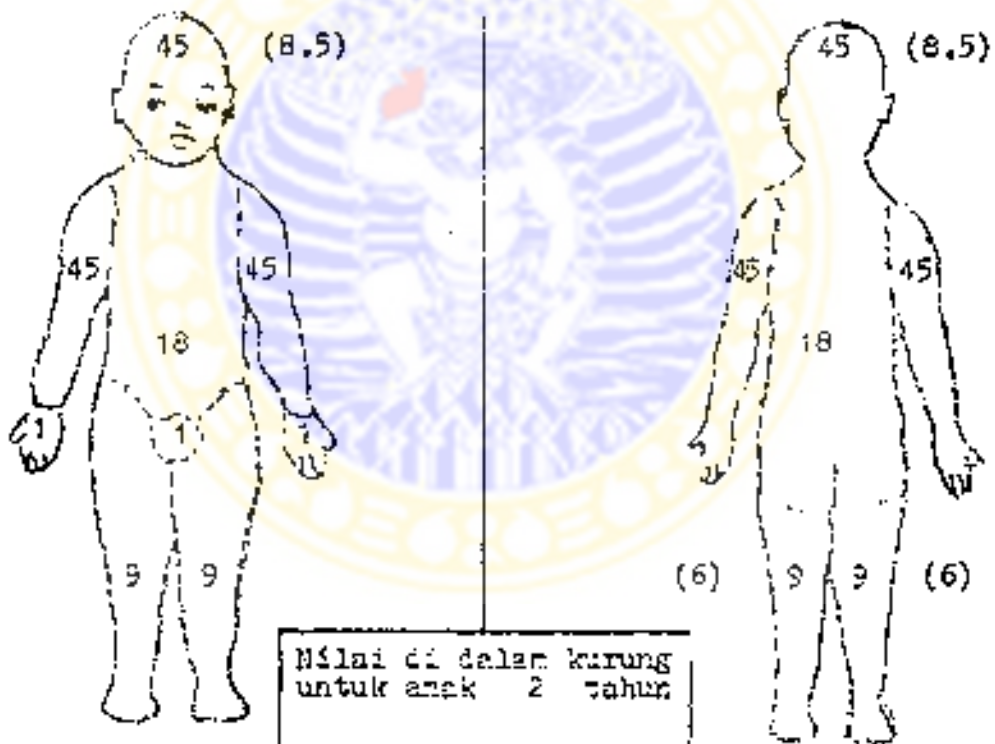
1. Umum :

- a. Keadaan umum : kesadaran, tekanan darah, frekuensi nadi, napas, berat badan, tinggi badan, dan status gizi.
- b. Organ lain : (dicantumkan sesuai dengan kelainan yang didapatkan yang berhubungan dengan DK).

2. Dermatologi :

a. Lokasi (sebutkan sesuai gambar) :

- b. Distribusi :
- Simetris
 - Bilateral
 - Unilateral
 - Generalisata
 - Universalis



Lokasi yang terkena diarsir, luas lesi dalam persentase (%).

A. LUAS LESI %

B. INTENSITAS

C. Gejala Subyektif
gatal + gangguan tidur

(B dinilai berdasarkan lesi yang

KRITERIA	INTENSITAS	KETERANGAN INTENSITAS LESI	SCORAD
Eritema		0 = tidak ada	$A/5 + B/2 + C$ <div style="border: 1px solid black; width: 100px; height: 50px; margin: 5px auto;"></div>
Edema/Papul		1 = ringan	
Cozing/Krustasi		2 = sedang	
Ekskoriasi		3 = berat	
Likenifikasi			
Xerosis kutis			

* dinilai pada daerah di luar lesi

Visual analog scale
(rerata selama 5 hari/
skala berturut-turut

Gatal	<input type="checkbox"/>	0	—————>	10
Gangguan tidur	<input type="checkbox"/>	0	—————>	10

PENGOBATAN :

CATATAN

3. Kriteria minor yang didapatkan (jika ada beri tanda X)

1. Xerosis	<input type="checkbox"/>	1. Garis Dennie-Morgan	<input type="checkbox"/>
2. Fisura periaurikular	<input type="checkbox"/>	2. Tanda Hertog	<input type="checkbox"/>
3. Hiperlinearitas palmaris	<input type="checkbox"/>	3. Hiperpigmentasi sekitar orbita	<input type="checkbox"/>
4. Keratosis pilaris	<input type="checkbox"/>	4. Katarak/keratokonus	<input type="checkbox"/>
5. Ige reaktif (kadar IgE RAST)	<input type="checkbox"/>	5. Kepecatan/kemerahan di wajah	<input type="checkbox"/>
6. Keilitis	<input type="checkbox"/>	6. Lingua geographica	<input type="checkbox"/>
7. Dermatitis di skalp	<input type="checkbox"/>	7. Kemudahan mendapat infeksi (bakteri, virus, jamur)	<input type="checkbox"/>
8. Papul hiperkeratosis	<input type="checkbox"/>	8. Awitan dini	<input type="checkbox"/>
9. Pitiriasis alba	<input type="checkbox"/>	9. Gangguan erosi	<input type="checkbox"/>
10. White dermographism	<input type="checkbox"/>	10. Lain-lain	<input type="checkbox"/>
11. Uji kulit (tipe I) positif	<input type="checkbox"/>		

DIAGNOSIS

- DA : 1. Fase
2. Stadium
3. Tanpa/dengan komplikasi/rekalsitran
4. Derajat

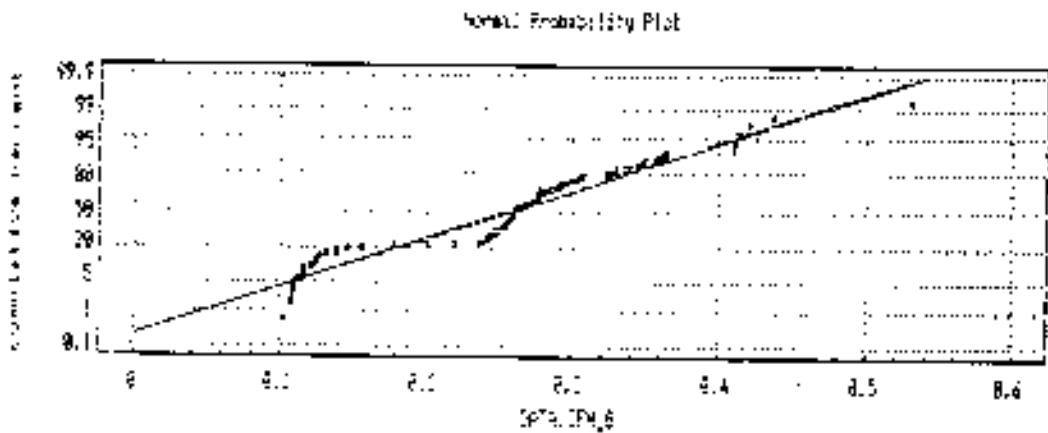
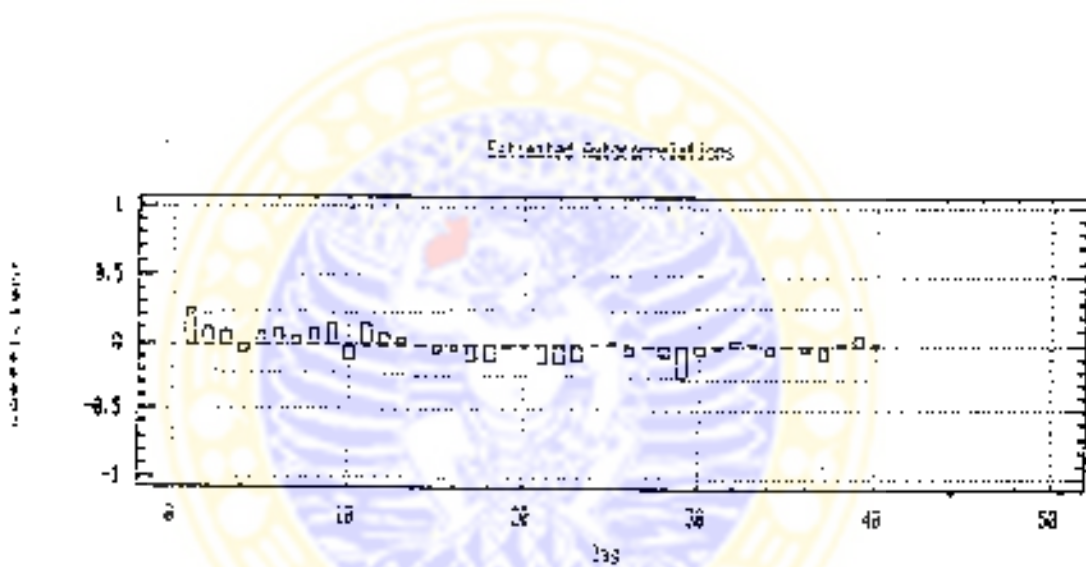
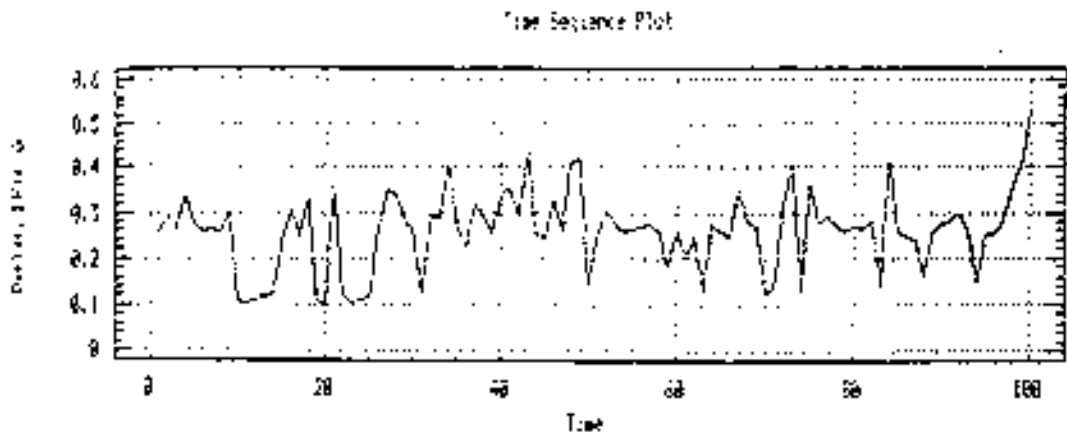
PEMERIKSAAN PENUNJANG

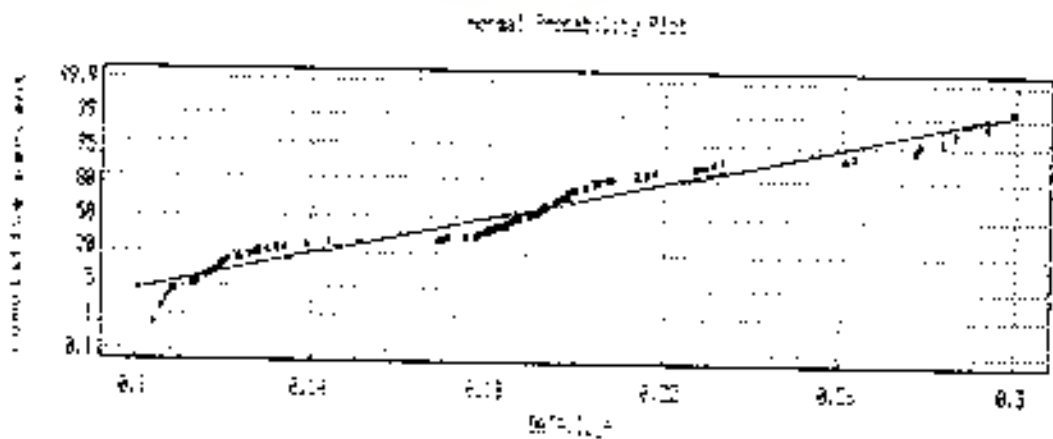
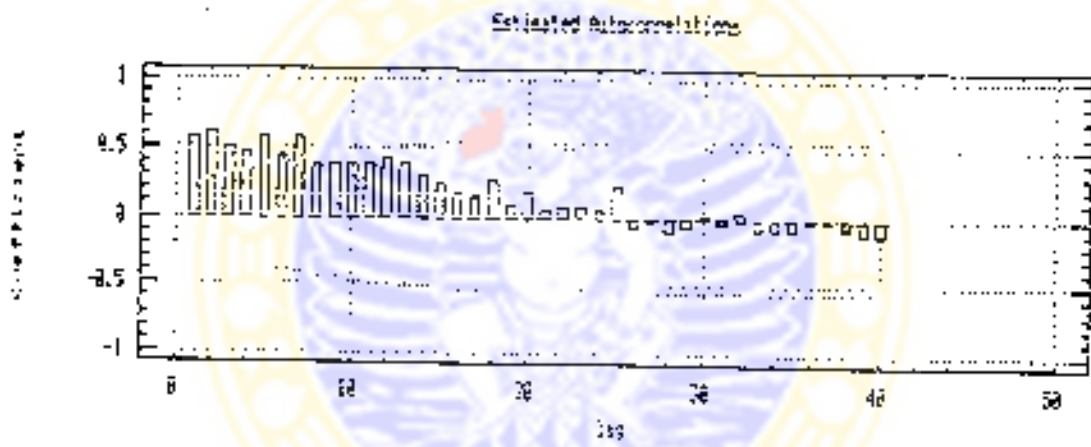
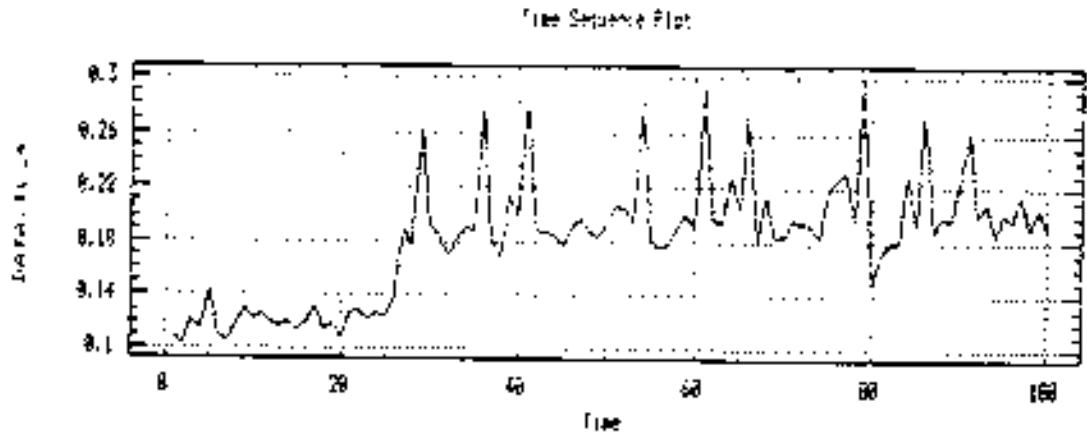
1. Pemeriksaan laboratorium rutin : darah tepi, urin, tinja, eosinofil total, dan IgE total Hasil :
2. Pemeriksaan lainnya (sesuai kriteria yang dipakai, atau atas indikasi misalnya infeksi sekunder, pada kasus rekalsitran), bila mana perlu dirujuk ke dokter spesialis kulit anak atau rumah sakit rujukan.

Jenis Pemeriksaan Penunjang	Hasil
a. Uji Kulit (tipe I) b. IgE RAST / CAP c. Uji Eliminasi & Provokasi d. Pemeriksaan lain sesuai indikasi : a hitung limfosit, neutrofil, makrofag, uji fungsi C.M.I, imunopatologi kulit : IgE pada sel targetans	

Dokter Pemeriksa :

Lampiran 10





General Linear Model (Kel. DA)

Between-Subjects Factors

	Value Label	N
GROUP	TP	18
	TDR	18
	TRD+L12	18

Descriptive Statistics

	GROUP	Mean	Std. Deviation	N
IFN_G	TP	22539	7.72E-02	18
	TDR	24522	4.01E-02	18
	TRD+L12	25806	5.51E-02	18
	Total	24289	5.89E-02	54
L_d	TP	.11933	9.78E-03	18
	TDR	.21823	3.74E-02	18
	TRD+L12	.21422	3.82E-02	18
	Total	.18346	5.52E-02	54

Multivariate Tests^a

Effect		Value	F	Num. of Df	Error Df	Sig.	Eta Squared	Noncent. Paramet. et	Observed Power ^d
Intercept	Pillai's Trace	.981	1311.82 ^b	3.000	50.0	.00	.981	2823.249	1.000
	Wilks' Lambda	.019	1311.82 ^b	3.000	50.0	.00	.991	2823.249	1.000
	Hotelling's Trace	52.485	1311.82 ^b	3.000	50.0	.00	.981	2823.249	1.000
	Roy's Largest Root	52.485	1311.82 ^b	3.000	50.0	.00	.981	2823.249	1.000
GROUP	Pillai's Trace	.730	13.741 ^c	4.000	182	.00	.350	54.962	1.000
	Wilks' Lambda	.308	20.205 ^c	4.000	180	.00	.447	80.813	1.000
	Hotelling's Trace	2.249	27.551 ^c	4.000	188.0	.00	.529	110.205	1.000
	Roy's Largest Root	2.240	27.121 ^c	2.000	51.0	.00	.691	114.242	1.000

a. Computed using alpha = .05

b. Exact statistic

c. The statistic is an upper bound on F that yields a lower bound on the significance level

d. Design: Intercept+GROUP

Tests of Between-Subjects Effects

Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Eta Squared	Noncent. Param.	Corrected Power ^a
Corrected Model	FN_G L_4	9.75E-03 ^b 1.11 ^c	2 2	.005 .255	1.379 58.375	.251 .000	.051 .555	2.759 112.755	.283 1.000
Intercept	FN_G L_4	3.185 1.618	1 1	3.185 1.618	901.320 1644.656	.000 .000	.946 .973	901.320 1644.656	1.000 1.000
GROUP	FN_G L_4	9.75E-03 .11 ^c	2 2	.005 .055	1.379 58.375	.251 .000	.051 .555	2.759 112.755	.283 1.000
Error	FN_G L_4	.190 5.03E-02	51 51	.004 .001					
Total	FN_G L_4	3.378 1.979	53 53						
Corrected Total	FN_G L_4	.190 1.61	53 53						

a. Computed using alpha = .05

b. R Squared = .051 (Adjusted R Squared = .014)

c. R Squared = .555 (Adjusted R Squared = .575)

Post Hoc Tests

GROUP

Multiple Comparisons

.52

Dependent Variable	I GROUP	J GROUP	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
FN_G	TR	TR	-.000E+00	.000	.000	-.000E+00	.000E+00
		TRD+L12	-.038E-02	.000	.000	-.072E-02	-.004E-03
	TRD	TR	1.488E-02	.000	.000	2.00E-02	5.96E-02
		TRD+L12	-.135E-02	.000	.000	-.538E-02	2.70E-02
	TRD+L12	TR	3.275E-02	.000	.000	7.18E-03	7.25E-02
		TRD	1.288E-02	.000	.000	-.27E-02	5.28E-02
L_4	TR	TR	-.055E-02	.000	.000	-.11881	-.76E-02
		TRD+L12	-.055E-02	.000	.000	-.11589	-.74E-02
	TRD	TR	9.78E-03	.000	.000	7.58E-02	.11851
		TRD+L12	2.47E-03	.000	.000	4.8E-02	2.36E-02
	TRD+L12	TR	9.46E-02	.000	.000	7.39E-02	1.589
		TRD	-.035E-02	.000	.000	-.24E-02	-.84E-02

Based on observed means. The error term is Error.

. The mean difference is significant at the .05 level.

General Linear Model (kel. NDA)

Between-Subjects Factors

	Value Label	N
GROUP	1 TP	12
	3 TDR	12
	4 TRD+L12	12

Descriptive Statistics

	GROUP	Mean	Std. Deviation	N
FUNG	TP	.17917	.894E-02	12
	TDR	.25283	.945E-02	12
	TRD+L12	.28208	.10603	12
	Total	.24196	.10441	36
LUL	TP	.12992	.236E-02	12
	TDR	.20500	.231E-02	12
	TRD+L12	.20083	.115E-02	12
	Total	.17858	.411E-02	36

Multivariate Tests^a

Effect		Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.	Eta Squared	Noncent. Parameter	Observed Power ^b
Intercept	Pillai's Trace	.987	1214.19 ^c	2.000	32.0	.00	.987	2428.26	1.000
	Wilks' Lambda	.013	1214.19 ^c	2.000	32.0	.00	.987	2428.26	1.000
	Hotelling's Trace	75.883	1214.19 ^c	2.000	32.0	.00	.987	2428.26	1.000
	Roy's Largest Root	75.883	1214.19 ^c	2.000	32.0	.00	.987	2428.26	1.000
GROUP	Pillai's Trace	.747	9.843	4.000	86.0	.00	.574	38.384	1.000
	Wilks' Lambda	.261	15.347 ^d	4.000	84.0	.00	.490	61.388	1.000
	Hotelling's Trace	2.808	21.780	4.000	82.0	.00	.584	87.039	1.000
	Roy's Largest Root	2.797	28.147 ^d	2.000	83.0	.00	.737	92.294	1.000

a. Computed using alpha = .05

b. Exact statistic

c. The statistic is an upper bound on F that yields a lower bound on the significance level.

d. Design Intercept+GROUP

Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	Sig.	Eta Squared	Percent Parameter	Observed Power ^a
Corrected Model	IFN_G IL_4	7.19E-02 ^b 4.27E-02 ^c	2 2	.036 .021	.032 .000	.168 .724	7.657 36.433	.854 1.000
Intercept	IFN_G IL_4	2.097 1.148	1 1	2.097 1.148	.000 .000	.871 .598	223.487 2322.04	1.000 1.000
GROUP	IFN_G IL_4	7.19E-02 4.27E-02	2 2	.036 .021	.032 .000	.168 .724	7.657 36.433	.854 1.000
Error	IFN_G IL_4	.310 1.63E-02	33 33	.009 .000				
Total	IFN_G IL_4	2.479 1.207	35 36					
Corrected Total	IFN_G IL_4	.382 5.91E-02	35 35					

a. Computed using alpha = .05

b. R Squared = .168 (Adjusted R Squared = .139)

c. R Squared = .724 (Adjusted R Squared = .707)

Post Hoc Tests

GROUP

Multiple Comparisons

LSD

Dependent Variable	I GROUP	J GROUP	Mean Difference (I-J)	Sig.	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
IFN_G	TP	TDR	-.84E-02 [*]	.040	.042	-.18413	-.32E-03
		TRD+IL12	-.10393 [*]	.040	.014	-.18338	-.22E-02
	TDR	TP	8.37E-03 [*]	.040	.042	3.21E-03	.18413
		TRD+IL12	-.16E-02	.040	.630	-1.0E-01	5.12E-02
	TRD+IL12	TP	.10297 [*]	.040	.014	2.25E-02	.18338
		TDR	1.83E-03	.040	.630	-6.1E-02	9.97E-02
IL_4	TP	TDR	-.75E-02 [*]	.009	.000	-.94E-02	-.57E-02
		TRD+IL12	-.71E-02 [*]	.009	.000	-.99E-02	-.52E-02
	TDR	TP	7.51E-03 [*]	.009	.000	5.88E-02	9.36E-02
		TRD+IL12	4.17E-03	.009	.649	-.14E-02	2.26E-02
	TRD+IL12	TP	7.09E-02 [*]	.009	.000	5.24E-02	8.94E-02
		TDR	-.10E-03	.009	.649	-2.3E-02	1.45E-02

Based on observed means. The error term is Error

*. The mean difference is significant at the .05 level

Lampiran 13

General Linear Model

Descriptive Statistics

	KEL	Mean	Std. Deviation	N
TP.IFN_G	DA	.22539	7.72E-02	18
	NDA	.17917	8.94E-02	12
	Total	.20690	8.40E-02	30
TP.IL_4	DA	.11939	9.78E-03	18
	NDA	.12892	2.86E-02	12
	Total	.12557	1.98E-02	30

Multivariate Tests^a

Effect		Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.	Noncent. Parameter	Observed Power ^b
Intercept	Pillai's Trace	.980	667.800 ^c	2.000	27.000	.000	1335.801	1.000
	Wilks' Lambda	.020	667.800 ^c	2.000	27.000	.000	1335.801	1.000
	Hotelling's Trace	49.467	667.800 ^c	2.000	27.000	.000	1335.801	1.000
	Roy's Largest Root	49.467	667.800 ^c	2.000	27.000	.000	1335.801	1.000
KEL	Pillai's Trace	.132	2.060 ^c	2.000	27.000	.147	4.120	.386
	Wilks' Lambda	.968	2.060 ^c	2.000	27.000	.147	4.120	.386
	Hotelling's Trace	.153	2.060 ^c	2.000	27.000	.147	4.120	.386
	Roy's Largest Root	.153	2.060 ^c	2.000	27.000	.147	4.120	.386

a. Computed using alpha = .05

b. Exact statistic

c. Design: Intercept+KEL

Tests of Between-Subjects Effects

Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Noncent. Parameter	Observed Power ^a
Corrected Model	TP.IFN_G	1.54E-02 ^b	1	1.54E-02	2.278	.143	2.278	.308
	TP.IL_4	8.06E-04 ^c	1	8.06E-04	2.129	.156	2.129	.291
Intercept	TP.IFN_G	1.178	1	1.178	174.379	.000	174.379	1.000
	TP.IL_4	.447	1	.447	1181.01	.000	1181.010	1.000
KEL	TP.IFN_G	1.54E-02	1	1.54E-02	2.278	.143	2.278	.308
	TP.IL_4	8.06E-04	1	8.06E-04	2.129	.156	2.129	.291
Error	TP.IFN_G	.189	28	6.76E-03				
	TP.IL_4	1.08E-02	28	3.79E-04				
Total	TP.IFN_G	1.489	30					
	TP.IL_4	.489	30					
Corrected Total	TP.IFN_G	.205	29					
	TP.IL_4	1.14E-02	29					

a. Computed using alpha = .05

b. R Squared = .075 (Adjusted R Squared = .042)

c. R Squared = .071 (Adjusted R Squared = .037)

Lampiran 14

General Linear Model

Descriptive Statistics

	KEL	Mean	Std. Deviation	N
TD.IFN_G	DA	.24522	4.01E-02	18
	NDA	.26283	9.45E-02	12
	Total	.25227	6.64E-02	30
TD.IL_4	DA	.21683	3.74E-02	18
	NDA	.20500	2.31E-02	12
	Total	.21210	3.26E-02	30

Multivariate Tests^a

Effect		Value	F	Hypoth. error df	Error df	Sig.	Noncent. Parameter	Observed Power ^b
Intercept	Pillai's Trace	.563	786.66 ^c	2.000	27.000	.000	1573.763	1.000
	Wilks' Lambda	.017	786.66 ^b	2.000	27.000	.000	1573.763	1.000
	Hotelling's Trace	58.288	786.66 ^b	2.000	27.000	.000	1573.763	1.000
	Roy's Largest Root	58.288	786.66 ^b	2.000	27.000	.000	1573.763	1.000
KEL	Pillai's Trace	.049	.694 ^a	2.000	27.000	.508	1.389	.155
	Wilks' Lambda	.951	.694 ^b	2.000	27.000	.508	1.389	.155
	Hotelling's Trace	.051	.694 ^b	2.000	27.000	.508	1.389	.155
	Roy's Largest Root	.051	.694 ^b	2.000	27.000	.508	1.389	.155

a. Computed using alpha = .05

b. Exact statistic

c. Design: Intercept+KEL

Tests of Between-Subjects Effects

Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Noncent. Parameter	Observed Power ^a
Corrected Model	TD.IFN_G	2.23E-03 ^b	1	2.23E-03	.498	.486	.498	.105
	TD.IL_4	1.01E-03 ^c	1	1.01E-03	.951	.338	.951	.156
Intercept	TD.IFN_G	1.858	1	1.858	414.536	.000	414.536	1.000
	TD.IL_4	1.281	1	1.281	1208.326	.000	1208.326	1.000
KEL	TD.IFN_G	2.23E-03	1	2.23E-03	.498	.486	.498	.105
	TD.IL_4	1.01E-03	1	1.01E-03	.951	.338	.951	.156
Error	TD.IFN_G	.126	28	4.48E-03				
	TD.IL_4	2.97E-02	28	1.06E-03				
Total	TD.IFN_G	2.037	30					
	TD.IL_4	1.380	30					
Corrected Total	TD.IFN_G	.128	29					
Total	TD.IL_4	3.07E-02	29					

a. Computed using alpha = .05

b. R Squared = .017 (Adjusted R Squared = -.016)

c. R Squared = .033 (Adjusted R Squared = -.002)

Lampiran 15

General Linear Model

Descriptive Statistics

	KEL	Mean	Std. Deviation	N
TIFN_G	DA	25806	5.51E-02	18
	NDA	28208	.10803	12
	Total	26767	7.86E-02	30
TIL_4	DA	21422	3.82E-02	18
	NDA	20083	1.15E-02	12
	Total	20887	3.08E-02	30

Multivariate Tests^a

Effect		Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.	Noncent. Parameter	Observed Power ^b
Intercept	Pillai's Trace	.982	743.59 ^b	2.000	27.000	.000	1487.181	1.000
	Wilks' Lambda	.018	743.59 ^b	2.000	27.000	.000	1487.181	1.000
	Hotelling's Trace	55.081	743.59 ^b	2.000	27.000	.000	1487.181	1.000
	Roy's Largest Root	55.081	743.59 ^b	2.000	27.000	.000	1487.181	1.000
KEL	Pillai's Trace	.074	1.084 ^b	2.000	27.000	.353	2.187	.220
	Wilks' Lambda	.928	1.084 ^b	2.000	27.000	.353	2.187	.220
	Hotelling's Trace	.080	1.084 ^b	2.000	27.000	.353	2.187	.220
	Roy's Largest Root	.080	1.084 ^b	2.000	27.000	.353	2.187	.220

a. Computed using alpha = .05

b. Exact statistic

c. Design: Intercept+KEL

Tests of Between-Subjects Effects

Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Noncent. Parameter	Observed Power ^a
Corrected Model	TIFN_G	4.16E-03 ^b	1	4.16E-03	.664	.422	.664	.123
	TIL_4	1.29E-03 ^c	1	1.29E-03	1.375	.251	1.375	.205
Intercept	TIFN_G	2.101	1	2.101	335.739	.000	335.739	1.000
	TIL_4	1.240	1	1.240	1321.794	.000	1321.794	1.000
KEL	TIFN_G	4.16E-03	1	4.16E-03	.664	.422	.664	.123
	TIL_4	1.29E-03	1	1.29E-03	1.375	.251	1.375	.205
Error	TIFN_G	.175	28	6.26E-03				
	TIL_4	2.83E-02	28	9.38E-04				
Total	TIFN_G	2.329	30					
	TIL_4	1.335	30					
Corrected Total	TIFN_G	.179	29					
	TIL_4	2.78E-02	29					

a. Computed using alpha = .05

b. R Squared = .023 (Adjusted R Squared = -.012)

c. R Squared = .047 (Adjusted R Squared = .013)

General Linear Model

Descriptive Statistics

	KEL	Mean	Std. Deviation	N
DTI_IFNG	DA	3.27E-02	7.39E-02	18
	NDA	.1029	.1560	12
	Total	6.08E-02	.1168	30
DTI_IL4	DA	9.49E-02	4.04E-02	18
	NDA	7.09E-02	2.94E-02	12
	Total	8.53E-02	3.78E-02	30

Multivariate Tests^a

Effect		Value	F	Hypothesis of	Error df	Sig.	Noncent. Parameter	Observed Power ^b
Intercept	Pillai's Trace	.853	78.530 ^b	2.000	27.00	.000	157.060	1.000
	Wilks' Lambda	.147	78.530 ^b	2.000	27.00	.000	157.060	1.000
	Hotelling's Trace	5.817	78.530 ^b	2.000	27.00	.000	157.060	1.000
	Roy's Largest Root	5.817	78.530 ^b	2.000	27.00	.000	157.060	1.000
KEL	Pillai's Trace	.167	2.699 ^b	2.000	27.00	.085	5.399	.489
	Wilks' Lambda	.833	2.699 ^b	2.000	27.00	.085	5.399	.489
	Hotelling's Trace	.200	2.699 ^b	2.000	27.00	.085	5.399	.489
	Roy's Largest Root	.200	2.699 ^b	2.000	27.00	.085	5.399	.489

a. Computed using alpha = .05

b. Exact statistic

c. Design: Intercept>KEL

Tests of Between-Subjects Effects

Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Noncent. Parameter	Observed Power ^a
Corrected Model	DTI_IFNG	3.55E-02 ^b	1	3.55E-02	2.759	.108	2.759	.361
	DTI_IL4	4.14E-03 ^c	1	4.14E-03	3.105	.089	3.105	.398
Intercept	DTI_IFNG	.132	1	.132	10.277	.003	10.277	.972
	DTI_IL4	.198	1	.198	149.528	.000	149.528	1.000
KEL	DTI_IFNG	3.55E-02	1	3.55E-02	2.759	.108	2.759	.361
	DTI_IL4	4.14E-03	1	4.14E-03	3.105	.089	3.105	.398
Error	DTI_IFNG	.381	28	1.29E-02				
	DTI_IL4	3.73E-02	28	1.33E-03				
Total	DTI_IFNG	.507	30					
	DTI_IL4	.280	30					
Corrected Total	DTI_IFNG	.396	29					
	DTI_IL4	4.15E-02	29					

a. Computed using alpha = .05

b. R Squared = .090 (Adjusted R Squared = .057)

c. R Squared = .100 (Adjusted R Squared = .068)

Quick Cluster

Iteration History^a

Iteration	Change in Cluster Centers		
	1	2	3
1	2.55E-02	8.65E-02	7.29E-02
2	1.04E-02	1.37E-02	.000
3	.000	.000	.000

^a Convergence achieved due to no or small distance change. The maximum distance by which any center has changed is .000. The current iteration is 3. The minimum distance between initial centers is .133.

ANOVA

	Cluster		Error		#	Sig.
	Mean Square	df	Mean Square	df		
TP1RN_G	9.19E-02	2	7.70E-04	27	19.306	.000
TP1L_4	7.00E-04	2	3.71E-04	27	1.628	.171

The F tests should be used only for descriptive purposes because the clusters have been chosen to maximize the differences among cases in different clusters. The observed significance levels are not corrected for this and thus cannot be interpreted as tests of the hypothesis that the cluster means are equal.

Number of Cases in each Cluster

Cluster	1	11.000
	2	7.000
	3	12.000
Valid		30.000
Missing		.000

ables

	DA		NDA	
	Cluster	Number of Case Count	Cluster	Number of Case Count
1		5		5
2		3		1
3		10		1

no	sex	umur	q ₁	length	lipidan	ipn _{2d}	ipn _{2c}	ipn _{2e}	ipn _{2f}	ip ₁	ip ₂	ip ₃	ip ₄	ip ₅	ip ₆	ip ₇	ip ₈	ip ₉	ip ₁₀	ip ₁₁	ip ₁₂	ip ₁₃	ip ₁₄	ip ₁₅	ip ₁₆	ip ₁₇	ip ₁₈	ip ₁₉	ip ₂₀	ip ₂₁	ip ₂₂	ip ₂₃	ip ₂₄	ip ₂₅	ip ₂₆	ip ₂₇	ip ₂₈	ip ₂₉	ip ₃₀	ip ₃₁	ip ₃₂	ip ₃₃	ip ₃₄	ip ₃₅	ip ₃₆	ip ₃₇	ip ₃₈	ip ₃₉	ip ₄₀	ip ₄₁	ip ₄₂	ip ₄₃	ip ₄₄	ip ₄₅	ip ₄₆	ip ₄₇	ip ₄₈	ip ₄₉	ip ₅₀	ip ₅₁	ip ₅₂	ip ₅₃	ip ₅₄	ip ₅₅	ip ₅₆	ip ₅₇	ip ₅₈	ip ₅₉	ip ₆₀	ip ₆₁	ip ₆₂	ip ₆₃	ip ₆₄	ip ₆₅	ip ₆₆	ip ₆₇	ip ₆₈	ip ₆₉	ip ₇₀	ip ₇₁	ip ₇₂	ip ₇₃	ip ₇₄	ip ₇₅	ip ₇₆	ip ₇₇	ip ₇₈	ip ₇₉	ip ₈₀	ip ₈₁	ip ₈₂	ip ₈₃	ip ₈₄	ip ₈₅	ip ₈₆	ip ₈₇	ip ₈₈	ip ₈₉	ip ₉₀	ip ₉₁	ip ₉₂	ip ₉₃	ip ₉₄	ip ₉₅	ip ₉₆	ip ₉₇	ip ₉₈	ip ₉₉	ip ₁₀₀
1	1	25	120.0	1	.00	.00	8.000	36.00	2	.108	.296	.170	.340	.207	.584	.277	.273	.129.00																																																																																											
2	1	24	130.0	2	.00	.00	4.958	59.00	3	.104	.281	.190	.348	.205	.302	.203	.290	130.00																																																																																											
3	1	38	128.1	1	.00	.00	2.988	36.00	2	.121	.361	.178	.345	.198	.272	.198	.206	128.10																																																																																											
4	1	19	110.20	2	.00	.00	.000	26.00	1	.116	.330	.260	.304	.200	.229	.259	.259	110.20																																																																																											
5	1	14	670.2	3	10.75	4.00	3.354	40.00	2	.144	.376	.190	.387	.181	.360	.151	.270	670.20																																																																																											
6	1	37	208.0	2	.00	.00	2.959	30.00	2	.108	.287	.188	.325	.175	.286	.171	.263	208.00																																																																																											
7	1	30	514.0	1	4.36	3.00	.000	37.00	2	.106	.280	.170	.300	.178	.276	.180	.278	514.00																																																																																											
8	1	21	728.4	3	4.48	3.00	3.946	40.00	3	.117	.299	.182	.307	.181	.287	.179	.140	728.40																																																																																											
9	1	18	79.00	1	.68	1.00	6.831	18.00	1	.100	.304	.192	.412	.202	.178	.231	.411	79.00																																																																																											
10	1	24	175.0	1	.00	.00	3.245	50.00	3	.124	.308	.189	.276	.191	.309	.180	.254	175.00																																																																																											
11	1	10	429.6	3	20.90	4.00	3.026	32.50	2	.127	.402	.276	.240	.280	.204	.277	.244	429.60																																																																																											
12	1	22	581.0	1	.00	.00	.000	29.00	2	.120	.312	.180	.320	.197	.244	.187	.241	581.00																																																																																											
13	1	8	206.0	0	.37	1.00	.000	40.00	2	.118	.305	.189	.292	.196	.128	.198	.158	206.00																																																																																											
14	1	28	80.20	1	.00	.00	4.106	31.00	2	.115	.321	.214	.249	.228	.275	.180	.264	80.20																																																																																											
15	1	18	1425	1	.00	.00	.000	31.00	2	.114	.292	.186	.309	.204	.298	.224	.278	1425.00																																																																																											
16	1	13	1035	3	26.40	4.00	4.384	30.00	2	.159	.305	.285	.355	.277	.242	.281	.276	1035.00																																																																																											
17	1	18	740.0	2	40.70	3.00	5.090	40.00	2	.122	.320	.198	.287	.248	.238	.213	.238	740.00																																																																																											
18	1	8	249.0	0	.00	.00	6.010	20.00	2	.127	.248	.180	.268	.261	.247	.220	.249	249.00																																																																																											
19	2	24	375.1	0	.00	.00	4.090	.00	1.34	.134	.243	.190	.280	.180	.349	.200	.265	375.10																																																																																											
20	2	24	87.40	0	.00	.00	3.214	.00	.113	.300	.197	.257	.184	.281	.201	.208	.255	87.40																																																																																											
21	2	28	113.2	0	.00	.00	3.621	.00	.117	.118	.185	.267	.184	.367	.180	.148	.113.20																																																																																												
22	2	25	84.80	1	3.45	3.00	2.332	.00	.107	.102	.177	.267	.185	.124	.200	.250	.94.80																																																																																												
23	2	15	71.40	0	.00	.00	.000	.00	.128	.384	.192	.305	.198	.132	.198	.249	.71.40																																																																																												
24	2	8	84.80	0	.00	.00	5.345	.00	.130	.125	.197	.254	.185	.323	.214	.277	.84.80																																																																																												
25	2	18	207.0	0	.00	.00	3.179	.00	.123	.108	.180	.414	.192	.410	.192	.368	.207.00																																																																																												
26	2	20	89.00	0	.00	.00	.000	.00	.128	.100	.184	.400	.184	.126	.204	.411	.98.00																																																																																												
27	2	19	635.6	1	.00	.00	3.872	.00	.128	.118	.195	.138	.218	.382	.182	.501	.635.60																																																																																												
28	2	27	647.4	0	.00	.00	3.430	.00	.122	.176	.188	.288	.248	.280	.225	.188	.647.40																																																																																												
29	2	30	61.00	0	.00	.00	4.280	.00	.112	.182	.178	.304	.241	.388	.188	.200	.61.00																																																																																												
30	2	22	83.40	0	.00	.00	2.808	.00	.217	.170	.197	.389	.217	.252	.284	.217	.83.40																																																																																												



1	01	00	00	00	00	00	00
2	05	00	00	00	00	00	00
3	05	00	00	00	00	00	00
4	08	00	00	00	00	00	00
5	01	00	00	00	00	00	00
6	00	00	00	00	00	00	00
7	04	00	00	00	00	00	00
8	00	00	00	00	00	00	00
9	11	00	00	00	00	00	00
10	07	00	00	00	00	00	00
11	11	00	00	00	00	00	00
12	21	00	00	00	00	00	00
13	08	00	00	00	00	00	00
14	13	00	00	00	00	00	00
15	00	00	00	00	00	00	00
16	05	00	00	00	00	00	00
17	03	00	00	00	00	00	00
18	07	00	00	00	00	00	00
19	05	00	00	00	00	00	00
20	11	00	00	00	00	00	00
21	04	00	00	00	00	00	00
22	02	00	00	00	00	00	00
23	02	00	00	00	00	00	00
24	13	00	00	00	00	00	00
25	01	00	00	00	00	00	00
26	01	00	00	00	00	00	00
27	02	00	00	00	00	00	00
28	12	00	00	00	00	00	00
29	12	00	00	00	00	00	00
30	13	00	00	00	00	00	00

General Linear Model

Descriptive Statistics

	Cluster Number of	Mean	Std. Deviation	N
TPFN_G	1	11282	6.71E-03	11
	2	20928	2.94E-02	7
	3	29175	3.71E-02	12
	Total	20590	8.40E-02	30
TPIL_4	1	12151	6.39E-03	11
	2	19557	3.87E-02	7
	3	11908	1.18E-02	12
	Total	12357	1.93E-02	30

Multivariate Tests^a

Effect		Value	F	hypothesis df	Error df	Sig.	Noncent. Parameter	Observed Power ^b
Intercept	Pillai's Trace	.991	1445.04 ^c	2.000	28.000	.000	2890.08	1.000
	Wilks' Lambda	.009	1445.04 ^c	2.000	28.000	.000	2890.08	1.000
	Hotelling's Trace	111.2	1445.04 ^c	2.000	28.000	.000	2890.08	1.000
	Roy's Largest Root	111.2	1445.04 ^c	2.000	28.000	.000	2890.08	1.000
QCL_2	Pillai's Trace	1.016	13.942	4.000	52.000	.000	55.767	1.000
	Wilks' Lambda	.089	30.470 ^c	4.000	52.000	.000	121.879	1.000
	Hotelling's Trace	9.001	56.258	4.000	50.000	.000	225.030	1.000
	Roy's Largest Root	6.888	119.720 ^c	2.000	27.000	.000	239.440	1.000

^a Computed using alpha = .05

^b Exact statistic

^c The statistic is an upper bound on F then it is a lower bound on the significance level.

^d Design: Intercept-QCL_2

Tests of Between-Subjects Effects

Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Noncent. Parameter	Observed Power ^a
Corrected Model	TPFN_G	.184 ^b	2	9.19E-02	119.31	.000	238.617	1.000
	TPIL_4	1.400E-03 ^c	2	7.00E-04	1.898	.171	3.775	.358
Intercept	TPFN_G	1.188	1	1.188	1542.7	.000	1542.735	1.000
	TPIL_4	.445	1	.445	1199.8	.000	1199.595	1.000
QCL_2	TPFN_G	.184	2	9.19E-02	119.31	.000	238.617	1.000
	TPIL_4	1.400E-03	2	7.00E-04	1.898	.171	3.775	.358
Error	TPFN_G	2.050E-02	27	7.59E-04				
	TPIL_4	1.001E-02	27	3.71E-04				
Total	TPFN_G	1.289	30					
	TPIL_4	.469	30					
Corrected Total	TPFN_G	.205	29					
	TPIL_4	1.141E-02	29					

^a Computed using alpha = .05

^b R Squared = .898 (Adjusted R Squared = .897)

^c R Squared = .121 (Adjusted R Squared = .120)

General Linear Model

Descriptive Statistics

	Cluster Number of	Mean	Std. Deviation	N
TDIFN_G	1	24681	9.63E-02	11
	2	26743	3.72E-02	7
	3	24833	4.72E-02	12
	Total	25227	6.64E-02	30
TDIL_4	1	20582	3.21E-02	11
	2	22714	2.75E-02	7
	3	30908	3.63E-02	12
	Total	31210	3.25E-02	30

Multivariate Tests^d

Effect		Value	F	hypothesis df	Error df	Sig.	Noncent. Parameter	Observed Power ^e
Intercept	Pillai's Trace	.985	829.78 ^b	2.000	26.000	.000	1859.564	1.000
	Wilks' Lambda	.015	829.78 ^b	2.000	26.000	.000	1858.564	1.000
	Hotelling's Trace	63.829	829.78 ^b	2.000	26.000	.000	1659.564	1.000
	Roy's Largest Root	63.829	829.78 ^b	2.000	26.000	.000	1859.564	1.000
QCL_2	Pillai's Trace	.088	.62 ^c	4.000	54.000	.650	2.483	.191
	Wilks' Lambda	.912	.612 ^c	4.000	52.000	.658	2.449	.188
	Hotelling's Trace	.095	.603	4.000	50.000	.653	2.410	.185
	Roy's Largest Root	.095	.603 ^c	2.000	37.000	.359	2.599	.257

a. Computed using alpha = .05

b. Exact statistic

c. The statistic is an upper bound on F that yields a lower bound on the significance level.

d. Design: Intercept+QCL_2

Tests of Between-Subjects Effects

Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Noncent. Parameter	Observed Power ^e
Corrected Model	TDIFN_G	2.11E-03 ^a	2	1.06E-03	.227	.799	.454	.082
	TDIL_4	2.13E-03 ^a	2	1.06E-03	1.005	.379	2.010	.207
Intercept	TDIFN_G	1.834	1	1.834	394.157	.000	394.157	1.000
	TDIL_4	1.300	1	1.300	1228.56	.000	1228.562	1.000
QCL_2	TDIFN_G	2.11E-03	2	1.06E-03	.227	.799	.454	.082
	TDIL_4	2.13E-03	2	1.06E-03	1.005	.379	2.010	.207
Error	TDIFN_G	.126	27	4.65E-03				
	TDIL_4	2.86E-02	27	1.06E-03				
Total	TDIFN_G	2.037	30					
	TDIL_4	1.330	30					
Corrected Total	TDIFN_G	.128	29					
	TDIL_4	3.07E-02	29					

a. Computed using alpha = .05

b. R Squared = .017; Adjusted R Squared = -.033

c. R Squared = .009; Adjusted R Squared = .000

General Linear Model

Descriptive Statistics

	Cluster Number of	Mean	Std. Deviation	
T1 FN_G	1	25582	71133	11
	2	23900	3725-02	1
	3	26959	690E-02	12
	Total	25757	7.65E-02	30
T2 L_4	1	20400	2.65E-02	11
	2	21229	1.69E-02	1
	3	21133	4.15E-02	12
	Total	20887	3.08E-02	30

Multivariate Tests^a

Effect		Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.	Percent Parameter	Observed Power ^b
Intercept	Pillai's Trace	.982	1.653	3E-07	25.0	.000	1399.394	1.000
	Wilks' Lambda	.018	1.653	3E-07	25.0	.000	1399.394	1.000
	Hotelling's Trace	53.30	1.653	3E-07	25.0	.000	1399.394	1.000
	Roy's Largest Root	53.30	1.653	3E-07	25.0	.000	1399.394	1.000
DCC_2	Pillai's Trace	.068	.422	4.000	54.0	.793	1.850	.151
	Wilks' Lambda	.934	.422	4.000	52.0	.771	1.605	.147
	Hotelling's Trace	.070	.440	4.000	60.0	.779	1.758	.144
	Roy's Largest Root	.069	.288	2.000	27.0	.409	1.777	.187

a. Computed using alpha = .05

b. Exact statistic

c. The statistic is an upper bound on F that yields a lower bound on the significance level

d. Design: Intercept > DCC_2

Tests of Between-Subjects Effects

Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Percent Parameter	Observed Power ^a
Corrected Model	T1 FN_G	8.57E-03 ^a	2	4.33E-03	.655	.51	1.371	.153
	T2 L_4	4.15E-04 ^b	2	2.08E-04	.217	.81	.413	.079
Intercept	T1 FN_G	1.980	1	1.980	313.248	.00	313.248	1.000
	T2 L_4	1.042	1	1.042	1035.347	.00	1035.347	1.000
DCC_2	T1 FN_G	8.67E-03	2	4.33E-03	.655	.51	1.371	.153
	T2 L_4	4.15E-04	2	2.08E-04	.217	.81	.413	.079
Error	T1 FN_G	.071	27	2.60E-03				
	T2 L_4	2.72E-02	27	1.01E-03				
Total	T1 FN_G	2.528	53					
	T2 L_4	1.368	50					
Corrected Total	T1 FN_G	.109	29					
	T2 L_4	3.18E-02	29					

a. Computed using alpha = .05

b. R Squared = .043; Adjusted R Squared = .000

c. R Squared = .110; Adjusted R Squared = .059

General Linear Model

Descriptive Statistics

	Cluster Number of	Mean	Std. Deviation	N
DTD_FNG	1	.1321	9.40E-02	11
	2	5.81E-02	3.30E-02	7
	3	-4.3E-02	7.44E-02	12
	Total	4.54E-02	.1283	30
DTD_IL4	1	8.39E-02	3.09E-02	11
	2	9.16E-02	5.06E-02	7
	3	9.10E-02	3.80E-02	12
	Total	8.85E-02	3.78E-02	30

Multivariate Tests^a

Effect		Value	F	Hyposis sis of	Error of	Sig.	Percent Paramete r	Observed Power ^b
Intercept	Pillai's Trace	.664	82.9119 ^c	2.000	26.000	.000	195.822	1.000
	Wilks' Lambda	.136	82.9119 ^c	2.000	26.000	.000	165.822	1.000
	Hotelling's Trace	5.378	82.9119 ^c	2.000	26.000	.000	185.822	1.000
	Roy's Largest Root	5.378	82.9119 ^c	2.000	26.000	.000	165.822	1.000
GGL_2	Pillai's Trace	.639	4.992	4.000	54.000	.002	19.926	.946
	Wilks' Lambda	.462	6.117 ^d	4.000	52.000	.000	24.468	.979
	Hotelling's Trace	1.158	7.245	4.000	50.000	.000	26.981	.992
	Roy's Largest Root	1.158	15.511 ^e	2.000	27.000	.000	31.223	.998

a. Computed using alpha = .05

b. Exact statistic

c. The statistic is an upper bound on F that yields a lower bound on the significance level.

d. Design: Intercept+GGL_2

Tests of Between-Subjects Effects

Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Percent Parameter	Observed Power ^a
Corrected Model	DTD_FNG	.182 ^b	2	9.12E-02	15.587	.000	31.174	.998
	DTD_IL4	3.728E-04 ^c	2	1.86E-04	.124	.684	.247	.067
Intercept	DTD_FNG	5.984E-02	1	5.98E-02	11.942	.002	11.942	.915
	DTD_IL4	.224	1	.224	149.5	.000	149.500	1.000
GGL_2	DTD_FNG	.182	2	9.12E-02	15.587	.000	31.174	.998
	DTD_IL4	3.728E-04	2	1.86E-04	.124	.684	.247	.067
Error	DTD_FNG	.158	27	5.8E-03				
	DTD_IL4	4.372E-02	27	1.61E-03				
Total	DTD_FNG	.402	31					
	DTD_IL4	.376	31					
Corrected Total	DTD_FNG	.340	29					
	DTD_IL4	4.109E-02	29					

a. Computed using alpha = .05

b. R Squared = .636 (Adjusted R Squared = .601)

c. R Squared = .009 (Adjusted R Squared = -.064)

General Linear Model

Descriptive Statistics^a

	Cluster Number of	Mean	Std. Deviation	N
DTI_IFNG	1	.1710	.1120	11
	2	2.97E-02	1.55E-02	7
	3	-2.2E-02	6.46E-02	12
	Total	6.08E-02	.1189	30
DTI_L4	1	8.21E-02	2.43E-02	11
	2	7.67E-02	4.32E-02	7
	3	9.33E-02	4.57E-02	12
	Total	8.53E-02	3.78E-02	30

Multivariate Tests^b

Effect		Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.	Noncent. Parameter	Observed Power ^c
Intercept	Pillai's Trace	.856	77.303 ^d	2.000	26.000	.000	154.607	1.000
	Wilks' Lambda	.144	77.303 ^d	2.000	26.000	.000	154.607	1.000
	Hotelling's Trace	5.946	77.303 ^d	2.000	26.000	.000	154.607	1.000
	Roy's Largest Root	5.946	77.303 ^d	2.000	26.000	.000	154.607	1.000
QCL_2	Pillai's Trace	.586	5.595	4.000	54.000	.001	22.381	.968
	Wilks' Lambda	.427	6.893 ^d	4.000	52.000	.000	27.574	.990
	Hotelling's Trace	1.311	8.194	4.000	50.000	.000	32.777	.997
	Roy's Largest Root	1.287	17.378 ^c	2.000	27.000	.000	34.757	.999

a. Computed using alpha = .05

b. Exact statistic

c. The statistic is an upper bound on F that yields a lower bound on the significance level.

d. Design: Intercept+QCL_2

Tests of Between-Subjects Effects

Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Noncent. Parameter	Observed Power ^a
Corrected Model	DTI_IFNG	.223 ^b	2	.111	17.378	.000	34.757	.999
	DTI_L4	1.388E-03 ^c	2	6.94E-04	.468	.831	.935	.118
Intercept	DTI_IFNG	.101	1	.101	15.873	.000	15.873	.968
	DTI_L4	.200	1	.200	135.020	.000	135.020	1.000
QCL_2	DTI_IFNG	.223	2	.111	17.378	.000	34.757	.999
	DTI_L4	1.388E-03	2	6.94E-04	.468	.831	.935	.118
Error	DTI_IFNG	.173	27	6.41E-03				
	DTI_L4	4.006E-02	27	1.48E-03				
Total	DTI_IFNG	.507	30					
	DTI_L4	.260	30					
Corrected Total	DTI_IFNG	.396	29					
	DTI_L4	4.145E-02	29					

a. Computed using alpha = .05

b. R Squared = .533 (Adjusted R Squared = .511)

c. R Squared = .033 (Adjusted R Squared = -.038)

Lampiran 25 : Kluster 1

General Linear Model

Between-Subjects Factors

GROUP	Value Label
1	TP
2	TDR
3	TDR+L12

Descriptive Statistics

GROUP	Mean	Std. Deviation	N
TP	11282	371E-03	11
TDR	24691	9.63E-02	11
TDR+L12	28382	11139	11
Total	21452	11117	33
TP	12191	935E-03	11
TDR	20581	521E-02	11
TDR+L12	20400	255E-02	11
Total	17791	450E-02	33

Multivariate Tests^a

Effect	Value	F	Mean Squares	Error df	Sig.	Noncent. Parameter	Case-wise Power ^b	
Intercept	Pillai's Trace	988	987.950 ^c	3.000	29.0	.000	1975.904	1.000
	Wilks' Lambda	.014	987.950 ^c	3.000	29.0	.000	1975.904	1.000
	Hotelling's Trace	88.135	987.950 ^c	3.000	29.0	.000	1975.904	1.000
	Roy's Largest Root	88.135	987.950 ^c	3.000	29.0	.000	1975.904	1.000
GROUP	Pillai's Trace	.922	10.455	4.000	30.0	.000	11.974	1.000
	Wilks' Lambda	.202	10.702 ^c	4.000	55.0	.000	70.969	1.000
	Hotelling's Trace	3.824	26.781	4.000	55.0	.000	107.075	1.000
	Roy's Largest Root	3.760	58.945 ^d	3.000	30.0	.000	113.769	1.000

a. Computed using alpha = .05

b. Exact statistic

c. The statistic is an upper bound on F (that is, it is a lower bound on the significance level)

d. Design Intercept=GROUP

Tests of Between-Subjects Effects

Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared	Observed Power
Corrected Model	IFN_3	.173 ^a	2	8E-02	10.295	.00	.24557	.992
	IL_4	5.05E-02 ^a	2	2E-02	44.005	.00	.68011	1.000
Total	IFN_3	.519	1	.519	209.590	.00	.209590	1.000
	IL_4	1.037	1	1.037	408.386	.00	.181540	1.000
SPORUP	IFN_3	.173	2	8E-02	10.295	.00	.24557	.991
	IL_4	5.05E-02	2	2E-02	44.005	.00	.68011	1.000
Error	IFN_3	.247	30	8E-03				
	IL_4	1.72E-02	30	6E-04				
Total	IFN_3	1.919	33					
	IL_4	1.104	33					
Corrected Total	IFN_3	.398	32					
	IL_4	8.76E-02	32					

a. Computed using alpha = .05

b. R Squared = .450 (Adjusted R Squared = .411)

c. R Squared = .749 (Adjusted R Squared = .709)

Post Hoc Tests

GROUP

Multiple Comparisons

LSD

Dependent Variable	IFN_3	IL_4	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
IFN_3	SPORUP	SPORUP	-.03002 ^a	.016	.00	-.04502	-.01502
		SPORUP+IL_4	-.04502 ^a	.016	.00	-.06002	-.03002
	SPORUP+IFN_3	SPORUP	.03002 ^a	.016	.00	0.01502	.04502
		SPORUP+IL_4	-.03002 ^a	.016	.00	-.04502	-.01502
	SPORUP+IL_4	SPORUP	.04502 ^a	.016	.00	0.03002	.06002
		SPORUP+IL_4	-.04502 ^a	.016	.00	-.06002	-.03002
IL_4	SPORUP	SPORUP	-.03002 ^a	.016	.00	-.04502	-.01502
		SPORUP+IL_4	-.04502 ^a	.016	.00	-.06002	-.03002
	SPORUP+IFN_3	SPORUP	.03002 ^a	.016	.00	0.01502	.04502
		SPORUP+IL_4	-.03002 ^a	.016	.00	-.04502	-.01502
	SPORUP+IL_4	SPORUP	.04502 ^a	.016	.00	0.03002	.06002
		SPORUP+IL_4	-.04502 ^a	.016	.00	-.06002	-.03002

Based on unadjusted means. The dependent is Error

a. The mean difference is significant at the .05 level.

Lampiran 26 : Klaster 2

General Linear Model

Between-Subjects Factors

GROUP	Value Label	N
GROUP	10	1
	11	1
	12	1
	13	1

Descriptive Statistics

GROUP	Mean	Std. Deviation	N
GROUP	10	2.94E-02	1
	11	3.72E-02	1
	12	3.72E-02	1
	13	4.10E-02	1
GROUP	10	3.57E-02	1
	11	2.75E-02	1
	12	1.89E-02	1
	13	4.01E-02	1

Multivariate Tests^a

Effect	Value	F	Approx. Sig.	Exact Sig.	Sig.	Percent Parameter	Observed Power ^b
Intercept	Wald's Trace	994	1469.627 ^c	0.000	0.000	2933.254	1.000
	Wilk's Lambda	106	1469.627 ^c	0.000	0.000	2933.254	1.000
	Hotelling's Trace	122.542	1469.627 ^c	0.000	0.000	2933.254	1.000
	Pillai's Largest Root	122.542	1469.627 ^c	0.000	0.000	2933.254	1.000
GROUP	Wald's Trace	660	9.607	<0.001	0.000	26.627	.984
	Wilk's Lambda	168	14.388 ^d	<0.001	0.000	45.420	1.000
	Hotelling's Trace	427.6	17.280	<0.001	0.000	66.356	1.000
	Pillai's Largest Root	428.0	66.356	0.000	0.000	75.131	1.000

a. Computed using alpha = .05

b. Exact statistic

c. The statistic is above/below/on the boundary of the observed power at the significance level

d. Design intercept = GROUP

Tests of Between-Subjects Effects

Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Parameter	Observed Power ^a
Corrected Model	FN_G	1.19E-02 ^a	2	5.92E-03	4.839	.020	.9775	.731
	L_4	3.38E-02	2	1.69E-02	21.245	.000	42.490	1.000
Intercept	FN_G	.195	1	.195	987.299	.000	987.299	1.000
	L_4	.771	1	.771	969.439	.000	969.439	1.000
GROUP	FN_G	1.19E-02	2	5.92E-03	4.839	.020	.9775	.731
	L_4	3.38E-02	2	1.69E-02	21.245	.000	42.490	1.000
Error	FN_G	2.18E-02	18	1.21E-03				
	L_4	1.43E-02	18	7.95E-04				
Total	FN_G	1.229	21					
	L_4	.820	21					
Corrected Total	FN_G	3.38E-02	20					
	L_4	4.81E-02	20					

a. Computed using alpha = .05

b. R Squared = .352 (Adjusted R Squared = .280)

c. F Squared = .702 (Adjusted R Squared = .369)

Post Hoc Tests

GROUP

Multiple Comparisons

LSD

Dependent Variable	GROUP	IN GROUP	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval		
						Lower Bound	Upper Bound	
FN_G	TOP	TOP	-.53E-02	.019	.008	-.97E-02	-.19E-02	
		TOP+L12	-.30E-02	.019	.109	-.69E-02	9.36E-03	
	MID	TOP	5.67E-02	.019	.005	1.91E-02	9.72E-02	
		TOP+L12	1.62E-02	.019	.142	-.11E-02	6.78E-02	
	BOTTOM	TOP	2.97E-02	.019	.129	-.94E-03	6.96E-02	
		TOP	4.29E-02	.019	.104	-.66E-02	1.06E-02	
	L_4	TOP	TOP	-.80E-02	.019	.000	-.12305	-.60E-02
			TOP+L12	1.17E-02	.019	.011	-.10839	4.5E-02
MID		TOP	9.19E-02	.019	.000	6.99E-02	1.3935	
		TOP+L12	1.69E-02	.019	.309	-.17E-02	4.56E-02	
BOTTOM		TOP	1.87E-02	.019	.100	4.50E-02	1.0839	
		TOP	1.59E-02	.019	.356	-.47E-02	1.58E-02	

Based on observed means. The error term is Error.

. The mean difference is significant at the .05 level.

Lampiran 27 : Kluster 3

General Linear Model

Between-Subjects Factors

	Value Label	N
GROUP	TP	12
	TDR	12
	TDR+IL12	12

Descriptive Statistics

	GROUP	Mean	Std. Deviation	N
FN_G	TP	25175	3.71E-02	12
	TDR	24833	4.72E-02	12
	TDR+IL12	25956	5.60E-02	12
	Total	25956	5.05E-02	36
L12	TP	11806	1.18E-02	12
	TDR	20906	3.53E-02	12
	TDR+IL12	21133	4.16E-02	12
	Total	17360	5.40E-02	36

Multivariate Tests^a

Effect		Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.	Noncent. Parameter	Observed Power ^b
Intercept	Pillai's Trace	.963	928.707 ^a	3.000	32.000	.000	1657.413	1.000
	Wilks' Lambda	.017	928.707 ^a	3.000	32.000	.000	1657.413	1.000
	Hotelling's Trace	58.044	928.707 ^a	3.000	32.000	.000	1657.413	1.000
	Roys' Largest Root	58.044	928.707 ^a	3.000	32.000	.000	1657.413	1.000
	GROUP	Pillai's Trace	.730	9.489	4.000	68.000	.000	37.956
	Wilks' Lambda	.292	13.605 ^b	4.000	68.000	.000	54.419	1.000
	Hotelling's Trace	2.347	19.191	4.000	68.000	.000	72.784	1.000
	Roys' Largest Root	2.974	39.185 ^c	3.000	68.000	.000	78.970	1.000

a. Computed using alpha = .05

b. Exact statistic

c. The statistic is an upper bound on F that yields a lower bound on the significance level

d. Design Intercept=GROUP

Handwritten signature and date: Harijono Kariosentono, 2023/05/23

Tests of Between-Subjects Effects

Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared	Observed Power
Correction Model	Th2	11.737 ^a	1	11.737	2.561	.114	.1737	.449
Corrected Total	Th2	45.900	24	1.9125			.65581	1.000
Total	Th2	47.637	25				.65753	1.000
Corrected Total	Th2	45.900	24				.65581	1.000
Total	Th2	47.637	25				.65753	1.000
Corrected Total	Th2	45.900	24				.65581	1.000

* Computed using alpha = .05
 a. R Squared = .127, Adjusted R Squared = .074,
 Total Squared = .655, Adjusted Total Squared = .605

Post Hoc Tests

GROUP

Multiple Comparisons

.05

Department	Group	Mean	Standard Error	95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
A	1	1.9125	.0833	1.7458	2.0800
	2	1.9125	.0833	1.7458	2.0800
B	1	1.9125	.0833	1.7458	2.0800
	2	1.9125	.0833	1.7458	2.0800
C	1	1.9125	.0833	1.7458	2.0800
	2	1.9125	.0833	1.7458	2.0800
D	1	1.9125	.0833	1.7458	2.0800
	2	1.9125	.0833	1.7458	2.0800

Based on observed means. The dependent variable is Th2.
 a. The null hypothesis is significant at the .05 level.

Discriminant

Analysis Case Processing Summary

Unweighted Cases		N	Percent
Valid		30	100,0
Excluded	Missing on out-of-range group codes	0	0
	At least one missing discriminating variable	0	0
	Both missing on out-of-range group codes and at least one missing discriminating variable	0	0
	Total	0	0
Total		30	100,0

Group Statistics

Cluster	Number of Case		Sig.		a. Discriminant Function	
			Mean	Deviation	Unweighted	Weighted
1	TD FN1_G	11032	3,71E-10	11	11,000	
	TD L_4	12191	5,33E-09	11	11,000	
2	TD FN1_G	20829	1,94E-09	7	7,000	
	TD L_4	12557	2,07E-09	7	7,000	
3	TD FN1_G	29176	3,71E-10	10	10,000	
	TD L_4	11808	1,12E-09	10	10,000	
Total	TD FN1_G	20890	3,10E-09	30	30,000	
	TD L_4	12337	1,93E-09	30	30,000	

Tests of Equality of Group Means

	Tests	F	Sig.	DF	Sig.
TD FN1_G	102	119,805	.000	27	.000
TD L_4	87	1,585	.212	27	.653

Pooled Within-Groups Matrices

	TD FN1_G	TD L_4
Deviation	1,014	1,057
	1,057	1,014

Analysis 1

Stepwise Statistics

Variables Entered/Removed^a

Step	Entered	Statistical	DF	Sig.	F
1	TD FN1_G	1,014	27	.000	119,805

Prior Probabilities for Groups

Cluster Number of Case	Prior	Cases Used in Analysis	
		Unweighted	Weighted
1	.333	11	11.000
2	.333	7	7.000
3	.333	12	12.000
Total	1.000	30	30.000

Classification Function Coefficients

	Cluster Number of Case		
	1	2	3
DISP_EG_3	105.465	271.704	373.753
Constant	-3.361	-22.530	-58.351

Function used is discriminant functions

Classification Results^{a,b}

	Cluster Number of Case	Predicted Group Membership			Total
		1	2	3	
Original Count	1	11	0	0	11
	2	0	7	0	7
	3	0	0	12	12
Original %	1	100	0	0	100
	2	0	100	0	100
	3	0	0	100	100
Cross-validated Count	1	11	0	0	11
	2	0	7	0	7
	3	0	0	12	12
Cross-validated %	1	100	0	0	100
	2	0	100	0	100
	3	0	0	100	100

a. Cross-validation is done only for those cases in the analysis. In cross-validation, each case is classified by the functions derived from all cases other than the case.

b. 100.0% of original grouped cases correctly classified.

c. 100.0% of cross-validated grouped cases correctly classified.

Discriminant

Analysis Case Processing Summary

Unweighted Cases		N	Percent
Valid		30	100.0
Excluded	Missing on out-of-range group codes	0	0
	At least one missing discriminating variable	0	0
	Both missing on out-of-range group codes and at least one missing discriminating variable	0	0
	Total	0	0
Total		30	100.0

Group Statistics

Cluster	Number of Case	Std. Deviation		Valid (Listwise)	
		Mean	Deviation	Unweighted	Weighted
1	DTD_FMG	1.301	8.47E-02	11	11.000
	DTD_IL4	8.39E-02	8.09E-02	11	11.000
2	DTD_FMG	8.61E-02	8.61E-02	7	7.000
	DTD_IL4	9.16E-02	8.25E-02	7	7.000
3	DTD_FMG	4.23E-02	7.44E-02	12	12.000
	DTD_IL4	9.10E-02	3.82E-02	12	12.000
Total	DTD_FMG	4.54E-02	1.03E-01	30	30.000
	DTD_IL4	8.88E-02	9.73E-02	30	30.000

Tests of Equality of Group Means

	Wilks	F	df1	df2	Sig.
DTD_FMG	.454	18.587	1	27	.000
DTD_IL4	.997	.124	1	27	.734

Pooled Within-Groups Matrices

		DTD_FMG	DTD_IL4
Correlation	DTD_FMG	1.000	-.009
	DTD_IL4	-.009	1.000

Analysis 1

Stepwise Statistics

Variables Entered/Removed^{a,b,c,d}

Step	Variables in the Model				
	Entered	Statistics	df	Sum of Squares	df
1	DTD_IL4	1.124	1	1.124	1
2	DTD_FMG	18.587	1	18.587	1

Classification Statistics

Classification Processing Summary

Processed		30
Excluded	Missing or out-of-range group codes	0
	At least one missing discriminating variable	0
Used in Output		30

Prior Probabilities for Groups

Cluster Number of Case	Prior	Cases Used in Analysis	
		Unweighted	Weighted
1	.333	11	11.000
2	.333	7	7.000
3	.333	12	12.000
Total	1.000	30	30.000

Classification Function Coefficients

	Cluster Number of Case		
	1	2	3
STD_FNG	22.927	9.941	-7.424
(Constant)	-2.638	-1.388	-1.283

Fisher's linear discriminant functions

Classification Results^{a,c}

Original	Count	Cluster Number of True	Predicted Group Membership			Total
			1	2	3	
Grouped		1	11	0	0	11
		2	0	7	0	7
		3	0	1	11	12
%		1	33.3%	0.0%	0.0%	100.0%
		2	0.0%	66.7%	0.0%	100.0%
		3	0.0%	8.3%	91.7%	100.0%
Cross-validated ^d	Count	1	11	0	0	11
		2	0	7	0	7
		3	0	1	11	12
%		1	33.3%	0.0%	0.0%	100.0%
		2	0.0%	66.7%	0.0%	100.0%
		3	0.0%	8.3%	91.7%	100.0%

a. Cross-validated data only for those cases in the analysis. In cross-validation, each case is classified by the functions derived from all cases other than that case.

b. 77.8% of original grouped cases correctly classified.

c. 65.7% of cross-validated grouped cases correctly classified.

Discriminant

Analysis Case Processing Summary

Unweighted Cases		N	Percent
Valid		37	100.0
Excluded	Missing on discriminant function variable	0	.0
	At least one missing discriminant variable	0	0
	Both missing on discriminant function variables and at least one missing discriminant variable	0	.0
	Total	0	0
Total		37	100.0

Group Statistics

Cluster	Number of Cases	Mean		Std. Deviation	
		Year	Duration	Unweighted	Weighted
1	OT_F13	2013.00	1.00000	1.0	1.00000
	OT_L4	2013.00	1.00000	1.0	1.00000
2	OT_F13	2013.00	1.00000	1.0	1.00000
	OT_L4	2013.00	1.00000	1.0	1.00000
3	OT_F13	2013.00	1.00000	1.0	1.00000
	OT_L4	2013.00	1.00000	1.0	1.00000
Total	OT_F13	2013.00	1.00000	3.0	3.00000
	OT_L4	2013.00	1.00000	3.0	3.00000

Tests of Equality of Group Means

	Year	F	df	df	Sig.
OT_F13	43	1.375	1	35	.255
OT_L4	937	4.69	1	35	.034

Pooled Within-Groups Matrices

	OT_F13	OT_L4
Covariance	1.000	-.000
	-.000	1.000

Analysis 1

Stepwise Statistics

Step	Entered	Statistical	Variables Entered/Removed ^a		
			Model	Statistics	Sig.
1	OT_F13	43			

Prior Probabilities for Groups

Cluster Number of Case	Prior	Cases Used in Analysis	
		Unweighted	Weighted
1	.333	11	11.000
2	.333	7	7.000
3	.333	12	12.000
Total	1.000	30	30.000

Classification Function Coefficients

	Cluster Number of Case		
	1	2	3
DISCRING	25.658	-4.932	-3.155
Constant	-3.375	11.167	11.137

Fisher's linear discriminant functions

Classification Results^{a,b}

Original Group	Cluster Number of	Predicted Group Membership			Total
		1	2	3	
Original Group 1	Correct	11	0	0	11
	Wrong	0	0	0	0
Original Group 2	Correct	0	7	0	7
	Wrong	0	0	0	0
Original Group 3	Correct	0	0	12	12
	Wrong	0	0	0	0
	Total	11	7	12	30

a. Cross-validation is done only for those cases in the analysis. In cross-validation, each case is classified by the functions derived from all cases other than that case.

b. 100% of original grouped cases correctly classified.

c. 100% of cross-validated grouped cases correctly classified.

Lampiran 31

Oneway

Descriptives

	Cluster	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
	1	14	14.930	2.817	2.861	15.9540	17.1838	12.9	18.3
	2	7	58.429	7.8816	3.0173	49.1803	61.2467	47.9	69.0
	3	10	113.1	14.9990	4.1587	103.281	122.919	99.9	141
	Total	31	64.35	20.2173	3.5708	58.1855	71.1013	14.9	141

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
	Between Groups	24704.98	2	12352.49	273.287	.000
	Within Groups	2021.141	28	72.183		
	Total	26726.12	30			

2) Lowry

Diagram 32

Kategori	Substansi	Pre		Post		Min	Max
		Mean	SD	Mean	SD		
Kontrol	Control	10000	10000	10000	10000	0	10000
	Control	10000	10000	10000	10000	0	10000
	Control	10000	10000	10000	10000	0	10000
Total		30000	30000	30000	30000	0	10000

ANOVA

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	10000	2	5000	1000	.000
Within Groups	10000	27	370		
Total	20000	29			

Lampiran 33

Oneway

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
				Lower Bound	Upper Bound		
Cluster Number of Case	11	4.5556	1.8889	2.6667	6.4444	0	11
	7	1.7143	1.1153	0.5714	2.8571	0	7
	12	2.7500	1.0417	1.6667	3.8333	0	12
Total	30	2.7500	1.6155	1.6667	3.8333	0	12

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	13.556	2	6.778	21.937	.000
Within Groups	55.756	27	2.065		
Total	69.312	29			

Handwritten signature and date stamp.

Lampiran 34

Oneway

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
JKUP R	15	20.33	3.77	1.07	15.97	24.70	6	38
	12	21.33	3.79	1.07	17.56	25.01	8	30
Total	30	20.73	3.60	1.05	17.55	23.58	6	38

ANOVA

			Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
JKUP	Between Groups	(Combined)	7.200	1	7.200	.120	.731
		Unweighted	7.200	1	7.200	.120	.731
		Weighted	7.200	1	7.200	.120	.731
	Within Groups		1576.887	28	56.317		
	Total		1584.087	29			

General Linear Model

Between-Subjects Factors

Year	Devisi	N
2013	Perempuan	20
2013	Laki-laki	20
2014	Perempuan	20
2014	Laki-laki	20

Descriptive Statistics

Year	Devisi	Mean	Std. Deviation	N
2013	Perempuan	35820	83020.00	20
	Laki-laki	35820	73420.00	20
	Total	35820	8020.00	40
2014	Perempuan	35820	83020.00	20
	Laki-laki	35820	73420.00	20
	Total	35820	8020.00	40

Multivariate Tests^a

Effect	Value	F	Approx. Sig.	Error Sum of Squares	Error Df	Sig.	Noncent. Parameter	Observed Power
Corrected Model	Wilk's Lambda	1.000	.000	1251352	1000	.000	1251352	1.000
	Pillai's Trace	1.000	.000	1251352	1000	.000	1251352	1.000
	Hotelling's Trace	1.000	.000	1251352	1000	.000	1251352	1.000
	Roy's Largest Root	1.000	.000	1251352	1000	.000	1251352	1.000
Total	Wilk's Lambda	1.000	.000	1251352	1000	.000	1251352	1.000
	Pillai's Trace	1.000	.000	1251352	1000	.000	1251352	1.000
	Hotelling's Trace	1.000	.000	1251352	1000	.000	1251352	1.000
	Roy's Largest Root	1.000	.000	1251352	1000	.000	1251352	1.000

a. Computed using alpha = .05
 b. Exact statistic
 c. Design intercept = 994

Tests of Between-Subjects Effects

Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial η^2	Observed Power
Corrected Model	TPIFN_G TPIL_G	1.01E-04 ^a 3.36E-04 ^b	1	1.01E-04 3.36E-04	0.12 .00	.93 .96	.04 .650	.051 .145
Intercept	TPIFN_G TPIL_G	1134 415	1	1134 415	155 .57	.00 .45	155.32 ^c 1.049185	1.000 1.000
SE ^d	TPIFN_G TPIL_G	1.01E-04 3.36E-04	1	1.01E-04 3.36E-04	0.12 .00	.93 .96	.04 .650	.051 .145
Error	TPIFN_G TPIL_G	204 1.11E-02	28	7.3E-03 4.0E-04				
Total	TPIFN_G TPIL_G	1439 469	30					
Corrected Total	TPIFN_G TPIL_G	205 1.14E-02	29					

a. Computed using alpha = .05

b. R Squared = .000 (Adjusted R Squared = -.155)

c. R Squared = .029 (Adjusted R Squared = -.006)

Tests of Between-Subjects Effects

Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared	Observed Power
Corrected Model	keasaban	9.487 ^a	1	9.487	3.827	.057	.3927	.462
	keasaban	268.229	1	268.229	9.412	.003	.3402	.429
	keasaban	7425193	1	7425193	25774	.000	.3578	.341
Residual	keasaban	15.181	1	15.181	6.388	.007	.3388	.786
	keasaban	869.461	1	869.461	4.927	.036	.4927	.573
	keasaban	1425177	1	1425177	8.138	.002	.3258	.598
Total	keasaban	9.487	1	9.487	3.827	.057	.3927	.462
	keasaban	268.229	1	268.229	9.412	.003	.3402	.429
	keasaban	7425193	1	7425193	25774	.000	.3578	.341
Total	keasaban	60.281	1	60.281				
	keasaban	268.229	1	268.229				
	keasaban	6.111	1	6.111				
Total	keasaban	60.281	1	60.281				
	keasaban	268.229	1	268.229				
	keasaban	6.111	1	6.111				
Corrected Total	keasaban	24.711	1	24.711				
	keasaban	268.229	1	268.229				
	keasaban	869.461	1	869.461				

- a. R Squared = .05, Adjusted R Squared = .03
- b. R Squared = .13, Adjusted R Squared = .10
- c. R Squared = .06, Adjusted R Squared = .03
- d. R Squared = .11, Adjusted R Squared = .07

General Linear Model

Between-Subjects Factors

	Value Label	N
KEL	DA	18
	NDA	12

Descriptive Statistics

	KEL	Mean	Std. Deviation	N
Keas gefast faktor	DA	1.3333	1.73205	18
	NDA	2500	3332	12
	Total	9000	1.5391	30
GERAST	DA	5.7222	11.2994	18
	NDA	6208	2.1308	12
	Total	4.0833	9.0327	30
SEL_FOT	DA	1231.667	2169.522	18
	NDA	219.1667	283.4299	12
	Total	825.4167	1745.151	30

Multivariate Tests^a

Effect		Value	F	Sig.	Partial Eta Squared	Power	Observed Power ^b
Intercept	Pill's Trace	1.77	33.189	<.001	.497	.989	.989
	Wilks' Lambda	.703	33.189	<.001	.497	.989	.989
	Hotelling's Trace	38.1	33.189	<.001	.497	.989	.989
	Pedya's Largest Root	38.1	33.189	<.001	.497	.989	.989
	Total						
KEL	Pill's Trace	.037	1.3713	.254	.193	.412	.321
	Wilks' Lambda	.963	1.3713	.254	.193	.412	.321
	Hotelling's Trace	.109	1.3713	.254	.193	.412	.321
	Pedya's Largest Root	.109	1.3713	.254	.193	.412	.321
	Total						

- a. Calculated Lagrange = 33
- b. Exact statistic
- c. Design: Intercept, KEL

Oneway

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
				Lower Bound	Upper Bound		
IGE_TOT TUSUK	Negatif	187.50	173.0738	81.5342	301.47	81.0	647
	Positif 1	514.90	615.7811	145.933	883.87	25.0	1425
	Positif 2	423.90	652.8075	-814.85	1462.8	16.2	1396
	Positif 3	3905.2	3640.526	-1887.7	9698.0	500	7384
	Total	30	825.44	1743.291	174.484	1476.4	16.2
IGERAS TUSUK	Negatif	3.1E-02	1.068	-4.5E-02	9.9E-02	.00	.37
	Positif 1	1.2470	2.5590	-.5907	3.0847	.00	7.45
	Positif 2	2.6750	5.3500	-5.8379	11.1879	.00	10.7
	Positif 3	19.8850	11.3700	1.9522	37.8178	4.49	29.9
	Total	30	3.4360	7.8742	-.4857	8.3783	.00

ANOVA

			Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
IGE_TOT	Between Groups	(Combined)	4.4E+07	3	1.5E+07	8.787	.000
		Linear Term	3.6E+07	1	3.6E+07	21.654	.000
		Weighted	2.9E+07	1	2.9E+07	17.429	.000
		Deviation	1.5E+07	2	7517400	4.466	.022
	Within Groups	4.4E+07	26	1683175			
Total			8.6E+07	29			
IGERAS	Between Groups	(Combined)	1271.854	3	423.885	20.935	.000
		Linear Term	1110.400	1	1110.400	54.842	.000
		Weighted	895.667	1	895.667	44.296	.000
		Deviation	374.787	2	187.393	9.255	.001
	Within Groups	593.430	26	20.247			
Total			1765.284	29			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

LSD

Dependent Variable	I	J	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
GE_T05	Negatif	Positif 1	-323.4000	555.502	.565	-1465.25	818.4499
		Positif 2	-232.4000	749.038	.759	-1772.07	1307.270
		Positif 3	-3713.65*	749.038	.000	-5253.32	-2173.98
	Positif 1	Negatif	323.4000	555.502	.565	-818.4499	1465.250
		Positif 2	91.0000	767.536	.907	-1488.69	1689.692
		Positif 3	-3380.25*	767.536	.000	-4987.94	-1812.56
	Positif 2	Negatif	232.4000	749.038	.759	-1307.27	1772.070
		Positif 1	-91.0000	767.536	.907	-1688.69	1488.692
		Positif 3	-3481.25*	917.381	.001	-5366.95	-1595.55
	Positif 3	Negatif	3713.6500*	749.038	.000	2173.980	5253.320
		Positif 1	3390.2500*	767.536	.000	1812.558	4967.942
		Positif 2	3481.2500*	917.381	.001	1595.547	5366.953
IGERAST	Negatif	Positif 1	-1.2162	1.827	.533	-5.1785	2.7441
		Positif 2	-2.6442	2.598	.318	-7.9842	2.6959
		Positif 3	-19.8542*	2.598	.000	-25.1942	-14.5141
	Positif 1	Negatif	1.2162	1.827	.533	-2.7441	5.1766
		Positif 2	-1.4280	2.662	.596	-6.8999	4.0438
		Positif 3	-18.6380*	2.662	.000	-24.1099	-13.1661
	Positif 2	Negatif	2.6442	2.598	.318	-2.6959	7.9842
		Positif 1	1.4280	2.662	.596	-4.0438	6.8999
		Positif 3	-17.2100*	3.182	.000	-23.7502	-10.6698
	Positif 3	Negatif	19.8542*	2.598	.000	14.5141	25.1942
		Positif 1	18.6380*	2.662	.000	13.1661	24.1099
		Positif 2	17.2100*	3.182	.000	10.6698	23.7502

* The mean difference is significant at the .05 level.

Multiple Comparisons

.50

Dependent Variable	(I) Skor derajat penyakit	(J) Skor derajat penyakit	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
TPFN_6	0	Ringan	.14233*	.061	.029	-.26864	-.18E-02
		Sedang	-.33E-02	.032	.317	-.99E-02	3.34E-02
		Berat	-.40E-02	.052	.446	-.14892	6.56E-02
	Ringan	0	.14233*	.061	.029	1.60E-02	.26864
		Sedang	.10850	.051	.085	-.15E-02	.23511
		Berat	.10217	.073	.176	-.49E-02	.25314
	Sedang	0	3.28E-02	.032	.317	-.33E-02	9.90E-02
		Ringan	-.10950	.061	.085	-.23511	1.61E-02
		Berat	-.73E-03	.052	.888	-.11326	9.88E-02
	Berat	0	4.02E-02	.052	.446	-.67E-02	.14892
		Ringan	-.10217	.073	.176	-.25314	4.88E-02
		Sedang	7.33E-03	.052	.888	-.99E-02	.11326
TPIL_4	0	Ringan	5.92E-03	.015	.703	-.26E-02	3.75E-02
		Sedang	1.03E-02	.008	.212	-.62E-03	2.68E-02
		Berat	1.49E-02	.013	.261	-.12E-02	4.16E-02
	Ringan	0	-.59E-03	.015	.703	-.37E-02	2.56E-02
		Sedang	4.38E-03	.015	.776	-.27E-02	3.58E-02
		Berat	9.00E-03	.018	.528	-.29E-02	4.57E-02
	Sedang	0	-.10E-02	.008	.212	-.27E-02	6.24E-03
		Ringan	-.44E-03	.015	.776	-.36E-02	2.70E-02
		Berat	4.62E-03	.013	.723	-.22E-02	3.11E-02
	Berat	0	-.15E-02	.013	.261	-.42E-02	1.18E-02
		Ringan	-.90E-03	.018	.628	-.47E-02	2.87E-02
		Sedang	-.46E-03	.013	.723	-.31E-02	2.19E-02

* The mean difference is significant at the .05 level.

Descriptives

			N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
							Lower Bound	Upper Bound		
TPIFN_G	Scor	0	12	.17917	8.9E-02	3.E-02	.12238	.23595	.102	.364
	derajat	Ringan	2	.32150	2.5E-02	2.E-02	9.8E-02	.54388	.304	.339
	penyakit	Sedang	13	.21200	7.1E-02	2.E-02	.18891	.25508	.107	.308
		Berat	3	.21935	9.7E-02	6.E-02	-.2.E-02	.48021	.109	.291
		Total	30	.20890	8.4E-02	2.E-02	.17654	.23826	.102	.364
TPIL_4	Scor	0	12	.12882	2.9E-02	8.E-03	.11178	.14808	.107	.217
	derajat	Ringan	2	.12400	1.1E-02	8.E-03	2.2E-02	.22565	.116	.132
	penyakit	Sedang	13	.11982	3.9E-03	3.E-03	.11361	.12562	.108	.144
		Berat	3	.11500	1.9E-02	6.E-03	9.0E-02	.14021	.104	.124
		Total	30	.12357	2.0E-02	4.E-03	.11616	.13097	.104	.217

ANOVA

			Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
TPIFN_G	Between Groups	(Combined)	3.63E-02	3	1.21E-02	1.859	.160
		Linear Term	2.80E-05	1	2.80E-05	.004	.948
		Unweighted	8.34E-03	1	8.34E-03	.880	.351
		Weighted	3.00E-02	2	1.50E-02	2.314	.119
		Deviation	.168	26	6.47E-03		
	Within Groups						
	Total		.205	29			
TPIL_4	Between Groups	(Combined)	9.07E-04	3	3.02E-04	.749	.533
		Linear Term	5.58E-04	1	5.58E-04	1.381	.251
		Unweighted	9.06E-04	1	9.06E-04	2.242	.148
		Weighted	1.74E-06	2	8.72E-07	.002	.988
		Deviation	1.05E-02	26	4.04E-04		
	Within Groups						
	Total		1.14E-02	29			

Post Hoc Tests

Lampiran 39



Foto 1 Lesi kulit penderita DA kronis pada daerah fleksor ekstremitas atas



Foto 2 : Lesi hiperpigmentasi pada tungkai bawah



Foto 3 - Lesi tidak teridentifikasi (kronis) pada tungkai bawah penderita DA



Foto 4 : Perangkat untuk uji tusak : alergen TDR, debu rumah, larutan Histamin, larutan Coca dan jarum No. 26G



Foto 5 : Ruang steril untuk mengerjakan proses isolasi limfosit



Foto 6 : Darah tepi yang dilakukan isolasi limfosit.
Tampak "Cincin Putih" di atas darah yang telah diencerkan dengan larutan Hank's dan ditambahkan dengan larutan Ficoll





Foto 7 : *Centrifuge refrigeratur 3 K1213. Braun Biotech. Internasional)* untuk pemusingan darah pada proses isolasi limfosit



Foto 8 : Tempat pengeraman (kultur) limfosit setelah diisolasi dari darah perifer

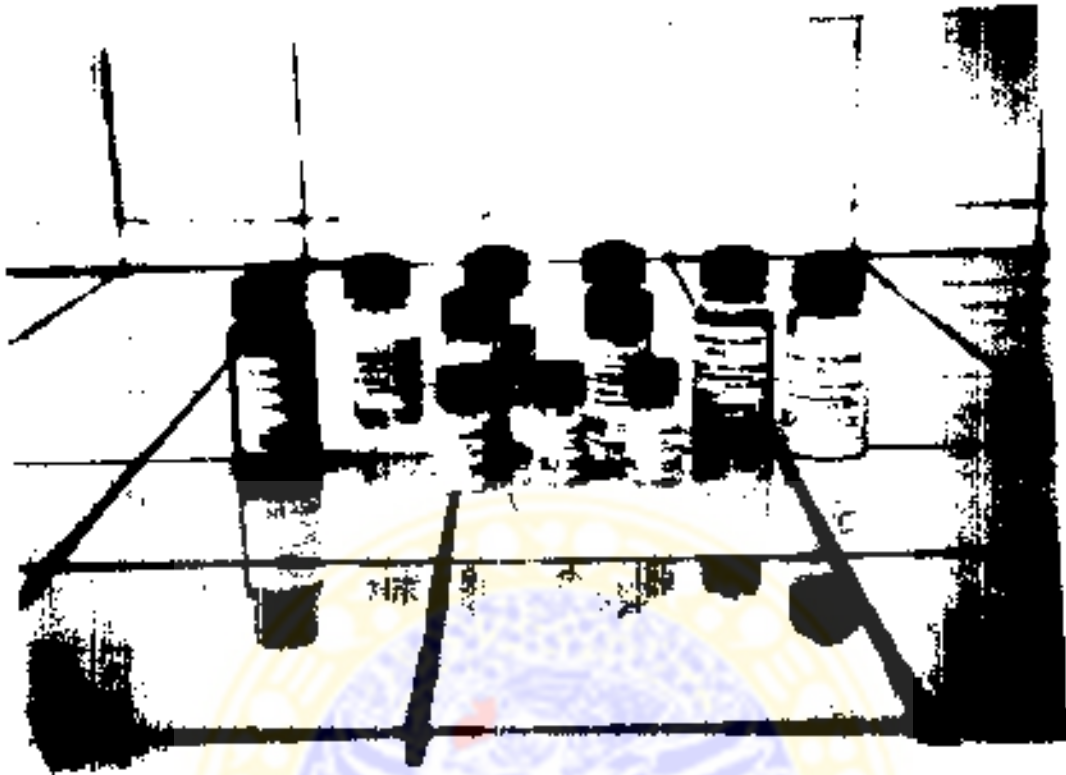


Foto 9. Kit Elisa *Quantikine human IL-4 IFN- γ* (R & D System) terdiri dari beberapa reagensia dalam masing-masing botol kecil.



Foto 10. Elisa Rader alat untuk membaca hasil pengukuran kadar IL-4 dan IFN- γ .