

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Penyakit autoimun adalah kelompok penyakit yang terjadi akibat hilangnya toleransi imunologis terhadap antigen diri (*self-antigen*), sehingga sistem imun secara keliru mengenali jaringan tubuh sendiri sebagai benda asing dan membentuk respons imun patologis yang dapat berupa produksi autoantibodi yang akhirnya menyebabkan peradangan kronis, kerusakan jaringan, dan disfungsi organ. Etiologi dari penyakit autoimun belum diketahui pasti, namun melibatkan interaksi antara faktor genetik, lingkungan, hormonal, dan gangguan regulasi sistem imun. Predisposisi genetik meningkatkan kerentanan individu terhadap terjadinya kegagalan toleransi imun. Faktor lingkungan seperti infeksi, obat-obatan, atau paparan tertentu dapat bertindak sebagai pencetus aktivasi sistem imun abnormal pada individu yang rentan. Selain itu, faktor hormonal, khususnya estrogen, turut berperan dalam tingginya prevalensi penyakit autoimun pada perempuan. Patomekanisme pada penyakit autoimun, terjadi gangguan mekanisme toleransi imun sentral dan perifer memungkinkan sel T dan sel B berproliferasi secara reaktif. Aktivasi sel-sel ini, yang menyebabkan pembentukan autoantibodi, aktivasi sel T efektor, serta pelepasan sitokin proinflamasi. Respons imun yang berlangsung secara persisten menimbulkan peradangan kronis, kerusakan jaringan, dan pada akhirnya gangguan fungsi organ. (Abbas, Abul K, et al, 2023)

Imunoglobulin G (IgG) berperan sentral dalam patogenesis penyakit autoimun karena sebagian besar autoantibodi termasuk dalam kelas IgG. IgG autoantibodi terbentuk akibat aktivasi sel B dan berikatan dengan *self antigen* sehingga memicu kerusakan jaringan melalui aktivasi sistem komplemen, interaksi dengan reseptor Fcγ pada sel efektor, serta pembentukan dan deposisi kompleks imun. Selain itu, beberapa IgG autoantibodi bersifat fungsional dengan mengubah aktivitas reseptor target. Oleh karena itu, IgG autoantibodi memiliki nilai penting sebagai mediator penyakit sekaligus penanda diagnostik dan aktivitas penyakit autoimun. (Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S, 2022)

C-reactive protein (CRP) merupakan protein fase akut yang disintesis di hati sebagai respons terhadap sitokin proinflamasi, terutama interleukin-6, pada proses inflamasi penyakit autoimun. Peningkatan kadar CRP mencerminkan aktivitas inflamasi sistemik dan bermanfaat sebagai penanda aktivitas penyakit serta respons terapi, khususnya pada penyakit autoimun yang bersifat inflamatorik

seperti pada myelitis. (Ansar W. Ghosh S, 2020). Tes CRP dapat digunakan untuk membantu menemukan atau memantau peradangan pada kondisi akut atau kronis, termasuk infeksi dari bakteri atau virus, penyakit radang usus, gangguan pada usus yang meliputi penyakit *Crohn* dan kolitis ulserativa, gangguan autoimun, seperti lupus, rheumatoid arthritis, dan vaskulitis, penyakit paru-paru, seperti asma. (Nehring SM, et al, 2022). Kadar CRP dapat sangat bervariasi tergantung pada kondisi mendasar yang menyebabkan peradangan. Umumnya, tingkat CRP kurang dari 10 mg/L dianggap normal, kadar CRP antara 10 dan 100 mg/L menunjukkan peradangan ringan hingga sedang, sedangkan kadar di atas 100 mg/L menunjukkan peradangan parah. (Enocsson, et al 2020)

Therapeutic Plasma Exchange (TPE) merupakan prosedur untuk menghilangkan antibodi yang bersirkulasi, kompleks imun, dan racun dari darah. (Tolba, SAR. et al. 2020) *Therapeutic Plasma Exchange* direkomendasikan oleh *American Society for Apheresis* (ASFA) sebagai pengobatan lini kedua untuk *Multiple Sclerosis* (MS) saat mengalami kekambuhan akut yang tidak merespons terapi kortikosteroid. Studi tahun 2021 melaporkan TPE untuk 36 pasien dengan *Multiple Sclerosis* progresif sekunder atau primer aktif yang kurang memiliki respon baik atau tidak berespon sama sekali terhadap pengobatan steroid. Mereka diterapi dengan lima rangkaian TPE dalam rentang waktu dua minggu, diikuti dengan satu pengobatan terapi pertukaran plasma per bulan untuk tahun berikutnya. (Stoian, et al, 2021). TPE juga diindikasikan terutama pada kondisi autoimun berat atau mengancam jiwa, atau bila respons terhadap terapi imunosupresif konvensional tidak adekuat. Tindakan ini bersifat terapi adjuvan dan memberikan perbaikan klinis sementara, sehingga umumnya dikombinasikan dengan terapi imunosupresif untuk mencegah re-sintesis autoantibodi. (Schwartz J, et al, 2016)

Penelitian tentang kandungan IgG dan CRP pada plasma produk buangan TPE serta faktor-faktor yang mempengaruhi di Indonesia khususnya di Makassar sepanjang pengetahuan peneliti belum pernah dilakukan, sehingga peneliti tertarik melakukan penelitian mengenai hal ini.

1.2 Rumusan Masalah

Bagaimana perubahan kadar Imunoglobulin-G (IgG) dan kadar CRP pada plasma produk buangan TPE pada pasien autoimun yang menjalani *Therapeutic Plasma Exchange* (TPE) dan faktor-faktor apa saja yang dapat mempengaruhinya dengan menganalisis kadar IgG dan kadar CRP plasma produk buangan pasca TPE 1 dibandingkan pasca TPE 2 dan pasca TPE 3?

1.3 Hipotesis

- a. Terjadi perubahan kadar Immunoglobulin-G (IgG) dan kadar CRP plasma produk buangan TPE pada pasien autoimun yang menjalani Therapeutic Plasma Exchange pasca terapi pertama dibandingkan pasca terapi kedua.
- b. Terjadi perubahan kadar Immunoglobulin-G (IgG) dan kadar CRP plasma produk buangan TPE pada pasien autoimun yang menjalani Therapeutic Plasma Exchange pasca terapi pertama dibandingkan pasca terapi ketiga.
- c. Terjadi perubahan kadar Immunoglobulin-G (IgG) dan kadar CRP plasma produk buangan TPE pada pasien autoimun yang menjalani Therapeutic Plasma Exchange pasca terapi kedua dibandingkan pasca terapi ketiga.
- d. Perubahan kadar Immunoglobulin-G (IgG) dan kadar CRP plasma produk buangan TPE pasca Therapeutic Plasma Exchange pertama, kedua, dan ketiga dipengaruhi oleh usia, jenis kelamin, obesitas, diagnosis dan konsumsi obat.

1.4 Tujuan Penelitian

1.4.1 Tujuan Umum

Diketuinya perubahan kadar kadar Immunoglobulin-G (IgG) dan kadar CRP plasma produk buangan TPE dan faktor-faktor yang mempengaruhinya pada pasien autoimun yang menjalani Therapeutic Plasma Exchange (TPE) dengan menganalisis kadar plasma produk buangan pasca TPE1 dibandingkan pasca TPE2 dan pasca TPE3.

1.4.2 Tujuan Khusus

- a. Diketuinya perubahan kadar IgG plasma produk buangan TPE pada pasien autoimun yang menjalani Therapeutic Plasma Exchange pasca terapi pertama dibandingkan pasca terapi kedua
- b. Diketuinya perubahan kadar IgG plasma produk buangan TPE pada pasien autoimun yang menjalani Therapeutic Plasma Exchange pasca terapi pertama dibandingkan pasca terapi ketiga.
- c. Diketuinya perubahan kadar IgG plasma produk buangan TPE pasca terapi kedua dibandingkan pasca terapi ketiga.
- d. Diketuinya perubahan kadar CRP plasma produk buangan TPE pada pasien autoimun yang menjalani Therapeutic Plasma Exchange pasca terapi pertama dibandingkan pasca terapi kedua.
- e. Diketuinya perubahan kadar CRP plasma produk buangan TPE

- pada pasien autoimun yang menjalani Therapeutic Plasma Exchange pasca terapi pertama dibandingkan pasca terapi ketiga.
- f. Diketuainya perubahan kadar CRP plasma produk buangan TPE pasca terapi kedua dibandingkan pasca terapi ketiga.
 - g. Diketuainya faktor-faktor yang berhubungan dengan kadar IgG plasma produk buangan pasca TPE1 dan perubahan kadar IgG plasma produk buangan pada pasien autoimun pasca Therapeutic Plasma Exchange pasca TPE2 dan pasca TPE3.
 - h. Diketuainya faktor-faktor yang berhubungan dengan kadar CRP plasma produk buangan pasca TPE1 dan perubahan kadar CRP plasma produk buangan pada pasien autoimun pasca Therapeutic Plasma Exchange pasca TPE2 dan pasca TPE3.

1.5 Manfaat Penelitian

1.5.1 Manfaat Teoritis

Penelitian ini memberikan data penting tentang *kinetika eliminasi IgG* dan CRP dari sirkulasi selama TPE. Hal ini membantu para ilmuwan memahami model matematis seberapa cepat autoantibodi dan penanda inflamasi dipindahkan dari tubuh oleh prosedur ekstrakorporeal.

1.5.2 Manfaat Aplikatif

Hasil analisis (kadar IgG dan CRP yang terbuang) dapat menjadi indikator kuantitatif seberapa efektif prosedur TPE dalam menghilangkan targetnya (misalnya, autoantibodi pada penyakit autoimun).

1.6 Tinjauan Pustaka

1.6.1 Penyakit Autoimun

Penyakit autoimun adalah kelompok penyakit yang terjadi akibat hilangnya toleransi imunologis terhadap antigen diri (*self-antigen*), sehingga sistem imun secara keliru mengenali jaringan tubuh sendiri sebagai benda asing dan membentuk respons imun patologis yang dapat berupa produksi autoantibodi yang pada akhirnya menyebabkan peradangan kronis, kerusakan jaringan, dan disfungsi organ. Etiologi dari penyakit autoimun belum diketahui pasti, namun melibatkan interaksi antara faktor genetik, lingkungan, hormonal, dan gangguan regulasi sistem imun. Predisposisi genetik meningkatkan kerentanan individu terhadap terjadinya kegagalan toleransi imun. Faktor lingkungan seperti infeksi, obat-obatan, obesitas atau paparan tertentu dapat bertindak sebagai pencetus aktivasi sistem imun abnormal pada individu yang rentan. Selain itu, faktor hormonal, khususnya estrogen, turut berperan dalam tingginya prevalensi penyakit autoimun pada perempuan. Secara patomekanisme pada penyakit

autoimun terjadi gangguan mekanisme toleransi imun sentral dan perifer memungkinkan sel T dan sel B berproliferasi secara reaktif. Aktivasi sel-sel ini, yang menyebabkan pembentukan autoantibodi, aktivasi sel T efektor, serta pelepasan sitokin proinflamasi. Respons imun yang berlangsung secara persisten menimbulkan peradangan kronis, kerusakan jaringan, dan pada akhirnya gangguan fungsi organ. (Abbas, Abul K, et al, 2023).

Etiologi dari penyakit autoimun walaupun belum diketahui secara pasti namun terbukti dipengaruhi oleh genetik, usia, jenis kelamin dan obesitas. Obesitas berperan sebagai faktor risiko independen dalam terjadinya dan progresivitas penyakit autoimun melalui induksi inflamasi kronis derajat rendah dan gangguan regulasi sistem imun. Jaringan adiposa yang mengalami hipertrofi meningkatkan infiltrasi sel imun, terutama makrofag proinflamasi, serta sekresi adipokin seperti leptin yang mendorong aktivasi sel T efektor dan menurunkan fungsi sel T regulator, sehingga mengganggu toleransi imun. Keadaan ini menciptakan lingkungan imunologis yang mendukung aktivasi limfosit autoreaktif dan mempercepat timbulnya autoimunitas. Secara epidemiologis, obesitas dikaitkan dengan peningkatan risiko berbagai penyakit autoimun, termasuk rheumatoid arthritis, multiple sclerosis, dan psoriasis. Selain itu, obesitas juga diketahui memperburuk aktivitas penyakit dan menurunkan respons terhadap terapi imunomodulator pada pasien autoimun. (Frasca D, Blomberg B, 2020)

1.6.2 *Therapeutic Plasma Exchange*

Therapeutic Plasma Exchange pertama kali digunakan pada tahun 1914 oleh Able, Rowntree, dan Turner. Mereka menjelaskan TPE sebagai prosedur, darah dikeluarkan dari tubuh lalu dipisahkan menjadi sel dan plasma, kemudian plasmanya dibuang sedangkan selnya dikembalikan bersama cairan pengganti. *Therapeutic plasma exchange* (TPE) adalah suatu proses yang dijalankan oleh perangkat otomatis yaitu seluruh darah diambil dari seorang pasien dan dipisahkan menjadi komponennya (sel darah merah (RBC), sel darah putih (WBC), trombosit (PLT), dan plasma di luar tubuh; yang memungkinkan plasma (yang seharusnya mengandung zat atau zat-zat yang menyebabkan penyakit) untuk dihilangkan, sementara yang lainnya dikembalikan ke subjek dengan penggunaan cairan pengganti. (Pham HP, et al, 2020)

Metode TPE yang disukai di seluruh dunia sebagian besar dengan teknologi berbasis sentrifugasi otomatis. Namun, di rumah sakit tertentu pada pasien yang menjalani hemodialisis, TPE dilakukan dengan menggunakan pemisahan plasma membran. TPE yang menggunakan sentrifugasi, plasma yang disaring dibuang, dan sel darah merah serta cairan pengganti (plasma donor atau koloid) dikembalikan. Pemisahan plasma membran memungkinkan pembuangan

makromolekul yang tidak diinginkan secara selektif.(Bruce C. McLeod, 2020)

Therapeutic Plasma Exchange untuk keperluan terapeutik digunakan pertama kali pada tahun 1952, sebagai usaha mengatasi hiperviskositas pada penderita Myeloma Multiple (MM). Pengobatan TPE untuk MM adalah pengobatan yang paling umum digunakan, namun terapi pertukaran plasma juga digunakan dalam kasus penolakan transplantasi organ padat dan untuk berbagai penyakit lain. Beberapa contoh penyakit yang tergolong dalam keempat kategori ASFA tidak berubah dari yang digunakan sejak lama dan dapat dilihat pada Tabel 1.(Smith L.C, et al 2022).

Tabel 1. Definisi kategori untuk TPE.(Smith L.C, et al 2022)

Kategori	Deskripsi
I	<i>Therapeutic Plasma Exchange</i> adalah standar dan dapat diterima, baik sebagai terapi primer atau sebagai tambahan lini pertama untuk terapi awal lainnya.
II	<i>Therapeutic Plasma Exchange</i> umumnya diterima dalam peran suportif atau sebagai terapi lini kedua, daripada terapi lini pertama.
III	<i>Therapeutic Plasma Exchange</i> tidak secara jelas ditunjukkan berdasarkan bukti yang tidak cukup, hasil yang bertentangan, atau ketidakmampuan untuk mendokumentasikan rasio risiko-manfaat yang menguntungkan. Pengambilan keputusan harus bersifat individual.
IV	<i>Therapeutic Plasma Exchange</i> telah terbukti kurang efektif atau berbahaya. Aplikasi klinis harus dilakukan hanya di bawah protokol penelitian yang disetujui.

Terapi TPE semakin banyak membantu klinisi dalam manajemen berbagai penyakit. Prinsip kerja TPE adalah proses pengeluaran plasma darah pasien yang mengandung zat berbahaya, seperti antibodi patologis dan kompleks imun, dengan menggunakan mesin aferesis. Komponen darah akan dipisahkan dengan metode sentrifugasi. Proses tersebut memisahkan sel darah merah, sel darah putih, dan trombosit dari plasma, membuang plasma yang mengandung zat patologis, dan kemudian mengembalikan sel-sel darah bersama cairan pengganti seperti FFP atau albumin ke dalam tubuh pasien. Hal ini secara efektif membersihkan zat penyebab penyakit dari tubuh dan mendukung proses pemulihan, terutama dalam kasus autoimun dan gangguan sistem imun. Tindakan TPE juga memiliki beberapa kontraindikasi sebagai berikut :

- a. Tidak tersedianya akses jalur sentral atau jalur perifer dengan lubang besar pada pasien.

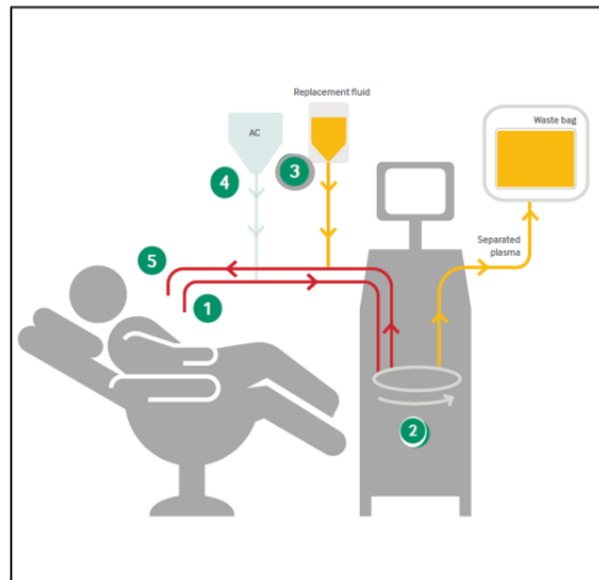
- b. Terjadinya ketidakstabilan hemodinamik dan atau adanya septikemia, dinilai dari hasil pemeriksaan klinis dan laboratorium.
- c. Terdapat alergi terhadap plasma beku segar, koloid atau albumin pengganti
- d. Terdapat alergi terhadap heparin
- e. Hipokalsemia (membatasi penggunaan sitrat sebagai antikoagulan selama prosedur) yang merupakan kontraindikasi relatif
- f. Penggunaan inhibitor enzim pengubah angiotensin (ACE) dalam 24 jam terakhir yang merupakan kontraindikasi relative.

Terapi ini memerlukan akses dari vena femoralis atau jugularis untuk memungkinkan aliran darah yang cukup. Cairan diberikan untuk menggantikan plasma yang dikeluarkan dari pasien, yaitu pertukaran langsung & tidak akan menambah volume darah pasien. Volume cairan yang biasanya ditukar dalam setiap pertukaran plasma terapeutik adalah 100–150% volume plasma pasien, cairan ini diganti dengan larutan albumin 4,5 atau 5,0%, namun, beberapa tindakan mengganti 25–50% volume penggantian dengan 0,9% larutan garam isotonik. Pertukaran volume plasma satu kali menghilangkan sekitar 55 – 65% faktor patologis, pertukaran kedua akan menghilangkan 20 – 25% faktor patologis berikutnya.(CMcG, Anne H. 2020).

Produsen mesin TPE terbanyak adalah dengan berbasis sentrifugasi. Teknik lain dalam melakukan TPE menggunakan filter membran semipermeabel dengan mesin hemodialisis standar. Penggunaan untuk teknik ini, akses vena sentral wajib digunakan karena kebutuhan laju aliran darah yang lebih tinggi dari 100 mL/menit hingga 150 mL/menit. Filtrasi plasma menggunakan pompa hemodialisis, sedangkan pemisahan plasma menggunakan sentrifugal sel. Terdapat dua teknologi berbasis membran yang tersedia saat ini; serat berongga dan pelat paralel. Metode alternatif untuk menghilangkan antibodi adalah immunoabsorpsi. Dalam hal ini plasma dilewatkan ke kolom penyerap untuk menghilangkan antibodi, kemudian dikembalikan ke pasien dapat dilihat pada Gambar 1.(Mangunatmadja I, et al. 2020).

Komplikasi serius dari TPE tidak terlalu sering terjadi. Hal paling sering terjadi adalah reaksi anafilaktik yang merupakan reaksi alergi parah di seluruh tubuh dan biasanya disebabkan oleh cairan pengganti plasma. Inilah salah satu alasan mengapa TPE harus dilakukan di rumah sakit dan terpantau oleh penanggungjawab tim medis.(Lu J, et al, 2020)

Potensi risiko lain dari TPE meliputi: perdarahan, irama jantung tidak teratur, hipotensi, kram perut, kesemutan di anggota badan dan kadang kejang. *Therapeutic Plasma Exchange* sangat jarang dapat menyebabkan kematian, hal ini hanya terjadi pada 0,03% hingga 0,05% kasus. Mayoritas kematian disebabkan oleh komplikasi pernapasan atau jantung.(Lu J, et al, 2020)



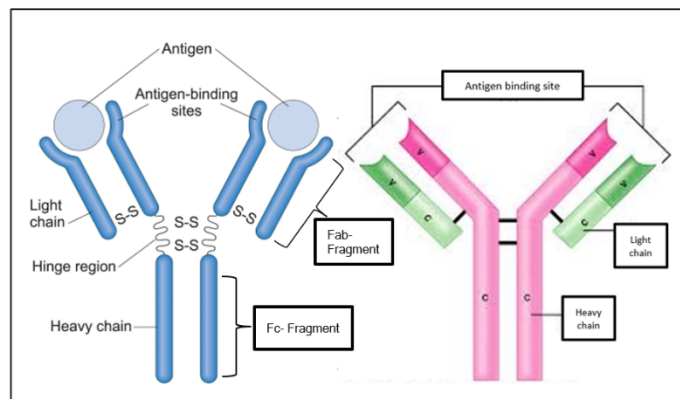
Gambar 1. Tahapan prosedur TPE.(Stachowiak J, 2024)

Seluruh prosedur TPE memakan waktu antara dua dan tiga jam untuk diselesaikan. Tidak ada jumlah spesifik yang direkomendasikan untuk prosedur terapi pertukaran plasma, namun kebanyakan klinisi melakukan antara tiga sampai tujuh kali tindakan, tergantung pada kebutuhan dan kondisi fisik pasien.(Stachowiak J, 2024).

Keberhasilan *therapeutic plasma exchange* (TPE) dinilai secara komprehensif melalui parameter klinis, laboratorium, dan evaluasi fungsi organ, sesuai dengan penyakit yang mendasari. Indikator utama adalah perbaikan gejala klinis, yang mencerminkan respons terhadap eliminasi faktor patogen dalam plasma, meskipun onset perbaikan dapat bervariasi antar penyakit. Secara laboratorium, keberhasilan TPE ditandai dengan penurunan kadar autoantibodi, kompleks imun, atau imunoglobulin patogen, serta perbaikan parameter fungsi organ yang terdampak, seperti fungsi ginjal atau hati. Pada penyakit autoimun dengan keterlibatan neurologis, evaluasi neurologis serial meliputi kekuatan otot, refleks, dan fungsi sensorik digunakan untuk menilai respons terapi. Secara keseluruhan, efektivitas TPE ditentukan melalui integrasi temuan klinis, hasil pemeriksaan laboratorium, dan evaluasi fisik oleh dokter yang merawat untuk menentukan keberlanjutan atau kebutuhan sesi TPE tambahan. (Pham HP, Schwartz J, 2020)

1.6.3 Immunoglobulin

Molekul hemoglobin terdiri dari empat rantai polipeptida globin (Gambar 2). Antibodi (Ab) atau imunoglobulin (Ig) adalah protein yang dihasilkan oleh sistem imun dan penting untuk pencegahan serta perlawanan infeksi oleh substansi asing seperti bakteri, virus, parasit, dan zat patogen lainnya. Antibodi merupakan glikoprotein yang berikatan khusus dengan substansi atau molekul asing yang disebut antigen (Ag). Struktur dasar antibodi terdiri dari dua rantai berat (*heavy chain*) dan 2 rantai ringan (*light chain*) yang identik serta dihubungkan bersama oleh ikatan disulfide (S-S) dapat dilihat pada Gambar 2. (Aliviameita A, Puspitasari, 2020).



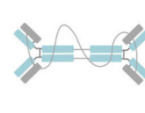
Gambar 2. Imunoglobulin. (Aliviameita A, Puspitasari, 2020)

Imunoglobulin terdiri dari lima jenis (IgG, IgA, IgM, IgD, dan IgE) yang berbeda dalam urutan asam amino dan jumlah domain di area konstan pada rantai berat. Ada dua isotype rantai ringan yang berbeda (λ dan κ). Imunoglobulin-G (IgG) merupakan jenis utama imunoglobulin dalam serum normal. Kelima jenis imunoglobulin ini dinamakan berdasarkan rantai berat penyusunnya. Imunoglobulin G memiliki rantai berat γ , imunoglobulin M memiliki rantai berat μ , imunoglobulin A memiliki rantai berat α , imunoglobulin D memiliki rantai berat δ , imunoglobulin E memiliki rantai berat ϵ . Di bidang transfusi darah banyak melibatkan IgG dan IgM karena berhubungan dengan pemeriksaan pre transfusi, yaitu pemeriksaan sebelum dilakukan transfusi darah. Ciri dari jenis-jenis Imunoglobulin dijelaskan pada Tabel 2 (Aliviameita A, Puspitasari, 2020).

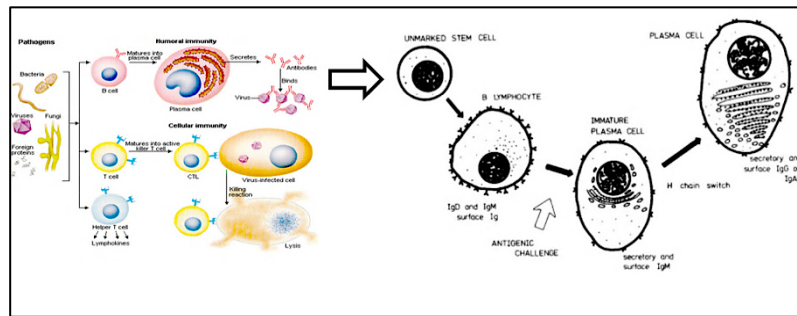
Imunoglobulin G terdapat hingga 80% dalam serum manusia dewasa normal. Struktur IgG berbentuk monomer, dan merupakan imunoglobulin utama yang dibentuk atas rangsangan antigen yang masuk ke dalam tubuh. IgG dapat menembus plasenta dan masuk ke dalam sistem peredaran darah janin sehingga IgG dari ibu dapat melindungi bayi dari infeksi. IgG paling mudah berdifusi ke dalam jaringan ekstrasvaskular dan melakukan aktivitas sebagai antibodi di jaringan. IgG juga dapat melapisi mikroorganisme sehingga mudah difagositosis,

serta dapat menetralkan toksin dan virus. IgG mempunyai *half life* selama 23 hari di dalam darah. (Aliviameita A, Puspitasari, 2020).

Tabel 2. Ringkasan tentang Imunoglobulin. (Mahfudloh L. 2021)

	IgG	IgM	IgA	IgD	IgE
					
Struktur	Monomer	Pentamer	Dimer	Monomer	Monomer
Persentase (serum)	80%	5-10%	10-15%	0.2%	0.002%
Lokasi	Darah, limfe, lumen usus	Permukaan Limfosit B	Diproduksi di lamina propria dan dijumpai dalam produk sekresi (saliva, ASI, air mata)	Hanya di permukaan Limfosit B	Terikat pada permukaan basofil
Fungsi	Fagositosis, menetralkan antigen	Antibodi pertama yang diproduksi sebagai respon imun inisial	Melindungi permukaan mukosa dengan mencegah terjadinya proteolisis	Berfungsi sebagai reseptor untuk antigen yang memicu aktivasi sel B	Ikut serta dalam reaksi alergi dan melisis cacing parasit

Imunoglobulin disintesis oleh limfosit B dan sel plasma yang terjadi setelah kontak dengan antigen dengan tingkat sintesis setinggi 2000 molekul per detik per limfosit B tunggal. (Nydegger UE, 2020) Limfosit B berperan dalam sistem imun spesifik humoral yang akan menghasilkan antibodi. Antibodi dapat ditemukan di serum darah, berasal dari sel B yang mengalami proliferasi dan berdiferensiasi menjadi sel plasma kemudian menghasilkan antibodi atau bisa disebut dengan Imunoglobulin dapat dilihat pada Gambar 3.



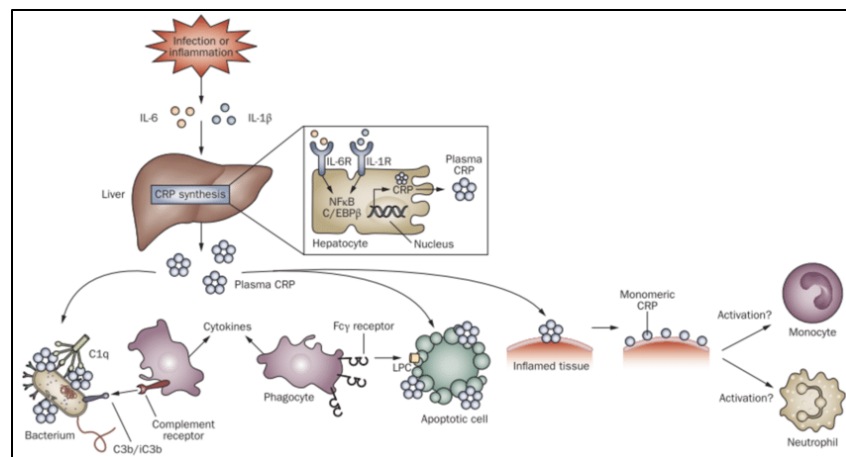
Gambar 3. Sintesis Immunoglobulin.(Nydegger UE, 2020)

Fungsi utama antibodi sebagai pertahanan terhadap infeksi ekstraselular, virus dan bakteri serta menetralkan toksinnya. Satu sel B memiliki reseptor yang spesifik untuk tiap-tiap molekul antigen dan dapat dideteksi melalui metode tertentu melalui marker seperti CD19, CD21 dan MHC-II.(Ghani MI, 2022) Enam sampai tujuh hari setelah pemaparan, dalam serum mulai dapat dideteksi IgG, sedangkan IgM mulai berkurang sebelum kadar IgG mencapai puncaknya 10 – 14 hari setelah pemaparan antigen. Bila pemaparan antigen terjadi dua kali, terjadi respon imun sekunder yang sering juga disebut respon *booster*. Sifat pengikatan antigen-antibodi juga berubah dengan waktu yaitu afinitas antibodi terhadap antigen makin lama makin besar dan kompleks Ag-Ab yang terjadi juga makin stabil. Namun demikian, Ab yang terbentuk juga makin poliklonal sehingga makin kurang spesifik yang berarti makin besar kemungkinan terjadi reaksi silang.(Wibowo, 2023)

1.6.4. C-Reactive Protein

C-reactive protein (CRP) merupakan protein yang kadarnya pada serum dapat meningkat, tidak hanya pada respon inflamasi akut, melainkan juga pada respon inflamasi kronik. Kadar CRP dapat merefleksikan kadar inflamasi yang terjadi, dan secara kuat berhubungan dengan berbagai penyakit.(Abullais SS, et al. 2023) Kadar CRP dapat meningkat pada beberapa penyakit seperti angina pectoris, perokok, usia lanjut, dan pasien dengan penyakit metabolik.(Ansar, 2020) *C-reactive protein* (CRP) merupakan protein pentamerik berbentuk cincin yang ditemukan dalam plasma darah, dengan konsentrasi meningkat dalam sirkulasi sebagai respon terhadap peradangan. *C-reactive protein* adalah anggota keluarga pentraxins kecil. Polipeptida yang dikodekan oleh gen ini memiliki 224 asam amino. Protein lengkap, terdiri dari lima monomer, memiliki massa total sekitar 120.000 Da. Ketika berada dalam sirkulasi, CRP berkumpul menjadi struktur pentamerik stabil dengan bentuk discoid.(Ansar, 2020)

C-reactive protein termasuk dalam keluarga protein pentraxin dan diekspresikan oleh hepatosit sebagai respons dan meningkat setelah sekresi interleukin-6 (IL-6) dan pada tingkat lebih rendah oleh IL-1 β dan faktor nekrosis tumor tingkat α 31 oleh makrofag dan sel T. Peran fisiologisnya adalah mengikat lisofosfatidilkolin yang diekspresikan pada permukaan sel mati atau rusak (dan beberapa jenis bakteri) untuk mengaktifkan sistem komplemen melalui C1q. CRP yang bersirkulasi mengopsonisasi bakteri dan sel-sel yang mati memfasilitasi penghancuran mereka dengan fagositosis yang dimediasi komplemen. Beredarnya CRP memudahkan disosiasi CRP pentamerik menjadi subunit monomer lalu mendorong adhesi monosit ke endothelial serta mencetuskan keadaan pro inflamasi yang dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Sintesis *C-Reactive Protein* (CRP). (Buerke M, et al. 2022)

Fungsi dari CRP selain sebagai protein fase akut ketika peradangan dan mengaktifkan sistem komplemen, CRP juga merupakan komponen penting dari sistem kekebalan tubuh. *C-Reactive Protein* pentamerik mengaktifkan interaksi leukosit-endotel dalam keadaan proinflamasi dan mengopsonisasi bakteri serta sel-sel yang mati, sehingga memungkinkan terjadinya pembersihan oleh fagosit melalui sistem komplemen. (Bastian, Sari I, Pratama FP. 2022)

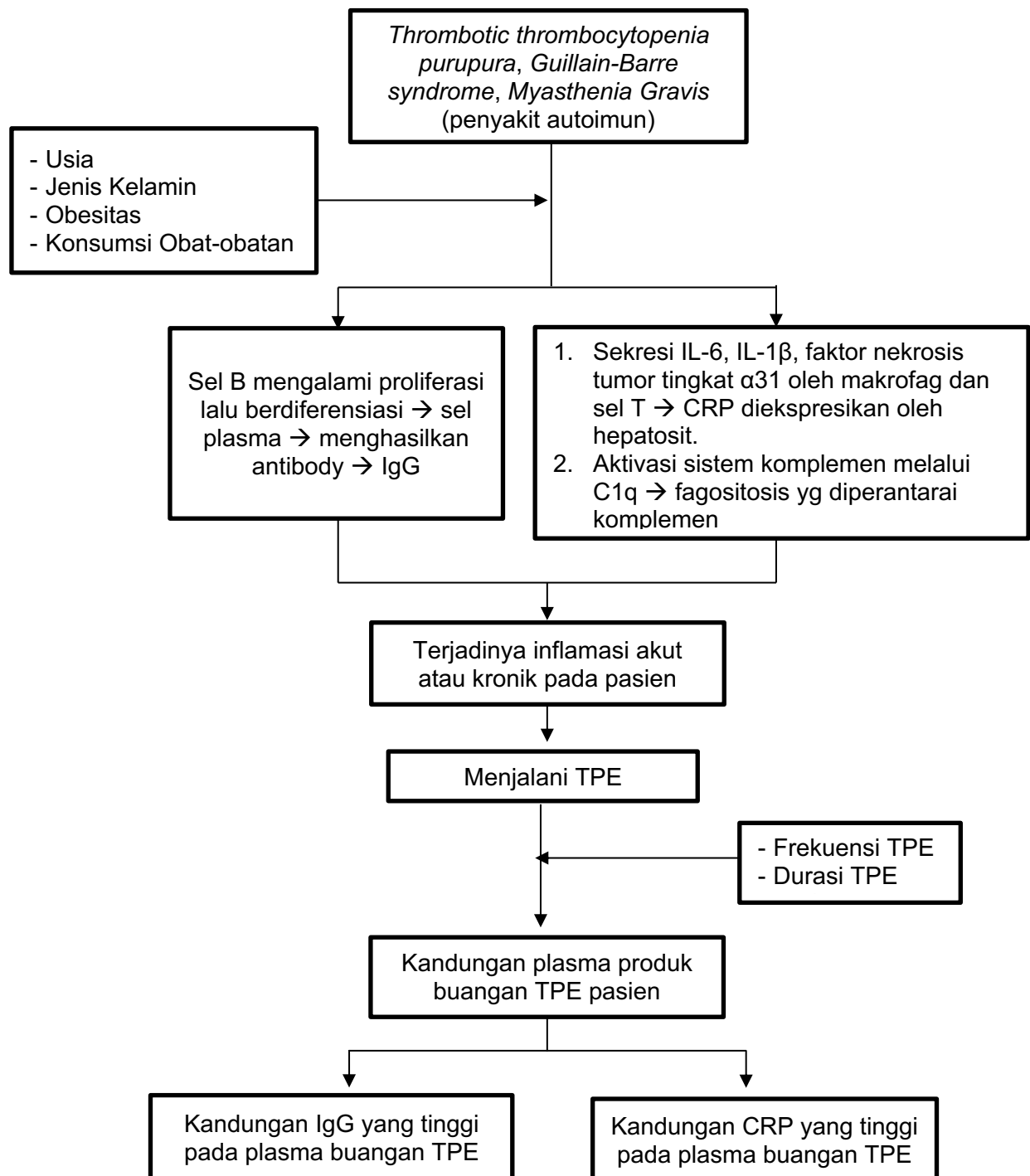
Nilai normal kadar CRP pada orang normal biasanya 0,3 – 1 mg/L. Pembentukan CRP akan meningkat dalam 4 sampai 6 jam setelah terjadi peradangan, jumlahnya bahkan berlipat dua dalam 8 jam setelah peradangan. Konsentrasi puncak akan tercapai dalam 36 jam sampai 50 jam setelah inflamasi. Kadar CRP bisa meningkat 10.000 kali lipat dari kurang dari 50 μ g/L menjadi lebih dari 500 mg/L saat terjadi stimulus. Kadar CRP akan terus meningkat seiring dengan proses inflamasi yang akan mengakibatkan kerusakan jaringan. (Ansar, 2020)

C-Reactive Protein digunakan terutama sebagai penanda peradangan. Selain gagal hati, ada beberapa faktor yang diketahui mengganggu produksi CRP. Interferon alfa menghambat produksi CRP dari sel-sel hati yang mungkin menjelaskan rendahnya kadar CRP yang ditemukan selama infeksi virus dibandingkan dengan infeksi bakteri.(Enocsson H, et al. 2020) Kadar CRP dapat diukur menggunakan prinsip *Enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA), imunoturbidimetri dan nefelometri. Batas CRP yang menunjukkan penyakit akibat bakteri dan non-bakteri dapat bervariasi disebabkan adanya penyakit penyerta seperti malaria, HIV, dan malnutrisi, serta tahap timbulnya penyakit. Nilai CRP adalah sebagai berikut:(Ding Z, et al. 2023)

- a. Rendah: tingkat *High-sensitivity C-reactive protein* (hs-CRP) di bawah 1,0 mg/L
- b. Rata-rata: antara 1,0 dan 3,0 mg/L
- c. Tinggi: kadar >3,0 mg/L

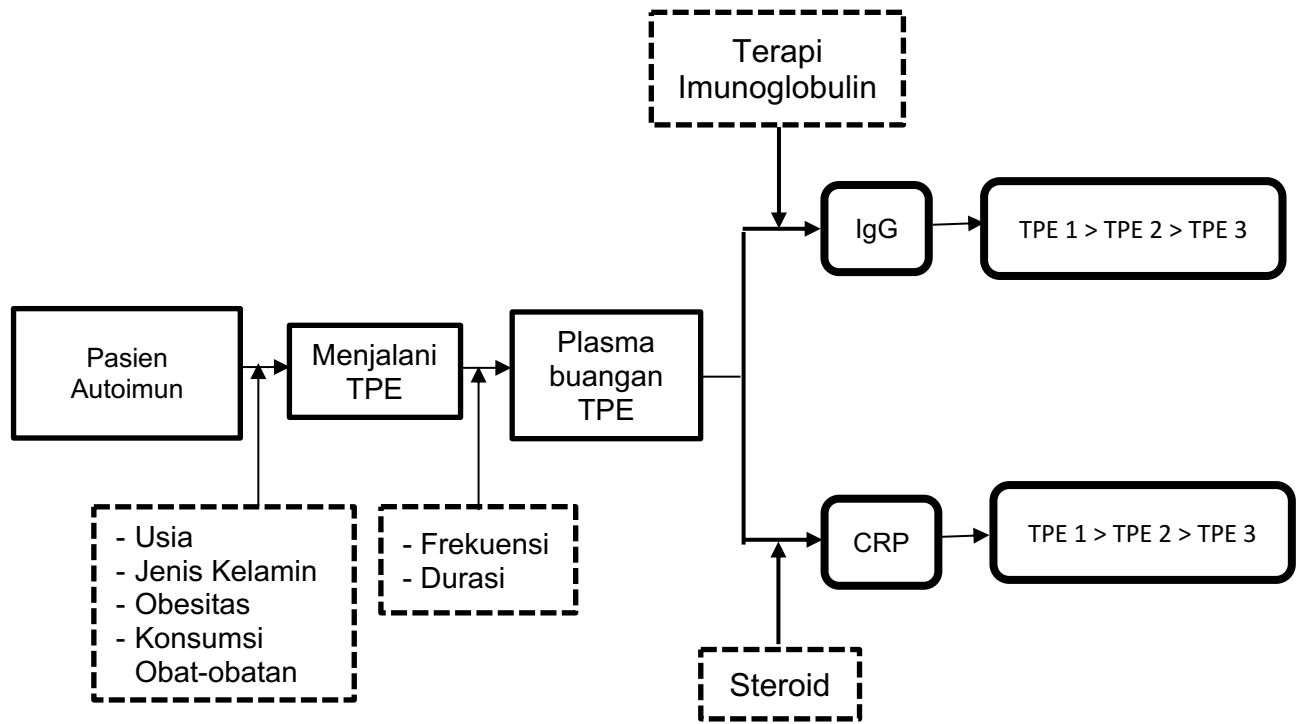
Kadar normalnya meningkat seiring bertambahnya usia. Kadar yang lebih tinggi ditemukan pada wanita hamil lanjut, peradangan ringan dan infeksi virus (10–40 mg/L), peradangan aktif, infeksi bakteri (40–200 mg/L), infeksi bakteri parah dan luka bakar (>200 mg/L).(Ding Z, et al. 2023).

1.7 Kerangka Teori

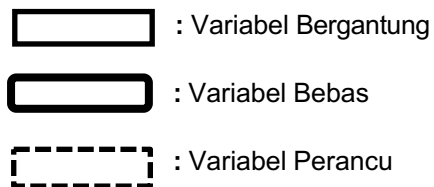


Gambar 5. Kerangka Teori

1.8 Kerangka Konsep



Gambar 6. Kerangka Konsep



Keterangan :

- TPE; Therapeutic Plasma Exchange
- CRP; C-Reactive Protein
- IgG; Immunoglobulin-G

BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Unit Pengelola Darah Rumah Sakit Wahidin Sudirohusodo Makassar untuk pengambilan sampel dan data penelitian dan Hasanuddin University Medical Research Center (HUM-RC) untuk pemeriksaan specimen. Waktu penelitian dimulai bulan Maret 2025 sampai Oktober 2025.

2.2 Bahan dan Alat

Penelitian ini menggunakan berbagai alat dan bahan untuk mendukung proses pengumpulan dan analisis data. Alat yang digunakan menggunakan metode ELISA. Perlengkapan pengambilan darah pada kantung buangan TPE seperti tabung vakutainer.

2.3 Metode Penelitian

2.3.1 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian kohort dengan pendekatan studi *cross sectional* yang bertujuan untuk menganalisis perubahan kadar IgG dan CRP pada plasma produk buangan post TPE satu, dua dan tiga.

2.3.2 Populasi dan Sampel Penelitian

Semua plasma produk buangan dari pasien yang telah dilakukan TPE di rawat inap RS Wahidin Sudirohusodo. Sampel penelitian adalah semua populasi yang terjangkau yang memenuhi kriteria penelitian. Pengumpulan sampel dilakukan dengan cara *consecutive sampling* yaitu semua pasien yang memenuhi kriteria penelitian dimasukkan dalam sampel penelitian sampai besar sampel yang diperlukan terpenuhi.

2.3.3 Kriteria Inklusi

Kriteria inklusi :

1. Semua pasien autoimun yang menjalani TPE dengan tanda vital yang stabil.
2. Pasien yang memberikan persetujuan untuk menjalani penelitian ini dengan tanda tangan informed consent

2.3.4 Kriteria Eksklusi

Kriteria eksklusi :

1. Pasien autoimun yang menjalani TPE kurang dari 3 siklus
2. Spesimen hemolitik, ikterik, atau lipemik yang tidak dapat dilakukan pengambilan spesimen ulang.

2.3.5 Perkiraan Besar Sampel

Perhitungan besar sampel minimal dalam penelitian ini menggunakan rumus berikut:

$$n = \left\lceil \frac{(Z_{\alpha} + Z_{\beta}) \cdot S^2}{X_1 - X_2} \right\rceil$$

Keterangan:

- n = ukuran sampel minimal
- Z_{α} = nilai z untuk taraf signifikansi (uji dua sisi), biasanya: untuk 0,05 = 1,96
- Z_{β} = nilai z untuk kekuatan uji ($1 - \beta$), biasanya: untuk power 80% = 0,84
- S = simpangan baku
- $X_1 - X_2$ = selisih rerata kadar IgG dan CRP

$$n = \left\lceil \frac{(Z_{\alpha} + Z_{\beta}) \cdot S^2}{X_1 - X_2} \right\rceil$$

$$n = \left\lceil \frac{(1,96 + 0,84) \cdot 1,5^2}{1} \right\rceil$$

$$n = [2,8 \cdot 1,5^2] = (4,2)^2 = 17,64 \approx 18$$

Berdasarkan perhitungan tersebut, jumlah sampel minimal yang diperlukan adalah 18 subjek. Mengingat desain penelitian ini adalah pra–pasca (paired design / within-subject), maka ukuran sampel cenderung lebih kecil dibanding desain independen. Namun demikian, untuk mengantisipasi potensi *drop-out*, disarankan penambahan sebesar 10–20%. Dengan asumsi *drop-out* sebesar 20%, maka penyesuaian jumlah sampel menjadi:

$$n_{final} = \frac{18}{1 - 0,20} = \frac{18}{0,80} = 22,5 \approx 23 \text{ orang}$$

Berdasarkan asumsi di atas, maka minimal 23 subjek dengan power 80%, dan taraf signifikansi $\alpha = 0,05$.

2.3.6 Analisis Data

Rencana analisis data dalam penelitian ini dilakukan melalui beberapa tahap. Pertama, seluruh data yang diperoleh dari formulir dan hasil laboratorium akan dikoding

dan dimasukkan ke dalam perangkat lunak pengolahan statistik, yaitu SPSS versi 25.0. Sebelum dilakukan analisis inferensial, data diuji distribusinya menggunakan uji normalitas *Shapiro wilk* untuk menentukan apakah data berdistribusi normal atau tidak. Untuk data numerik seperti kadar IgG dan CRP plasma, dianalisis menggunakan uji non-parametrik *Wilcoxon signed-rank test* untuk melihat perbedaan rerata TPE 1, TPE 2 dan TPE 3. Nilai $p < 0,05$ akan dianggap bermakna secara statistik dalam penelitian ini. Setelah itu dilakukan uji menggunakan *Mc Nemart Test* untuk menilai tabulasi silang perubahan nilai Kadar IgG dan CRP plasma produk buangan TPE terhadap TPE 1-TPE2.

2.3.7 Izin Studi dan Kelayakan Etik

Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan dari Komite Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin-Rumah Sakit Universitas Hasanuddin- Rumah Sakit Wahidin Sudirohusodo (KEPK FKUH-RSUH-RSWS) dengan nomor 22/UN4.6.5.31/PP36/ 2025

2.4 Pelaksanaan Penelitian

2.4.1 Cara Kerja Penelitian

Skrining dan Rekrutmen Subjek

- a. Penelitian dilakukan pada orang dewasa yang memenuhi kriteria inklusi dan bersedia menjalani prosedur penelitian
- b. Identitas dicatat saat pasien pertama kali masuk yang memenuhi kriteria inklusi kemudian diberikan penjelasan lengkap mengenai tujuan penelitian kepada pasien dan keluarga, jika setuju selanjutnya informed consent diisi dan ditanda tangan
- c. Plasma hasil TPE pasien diambil lalu diperiksa kadar Antibodi IgG dan CRP
- d. Pemeriksaan kadar Antibodi IgG dan CRP dilakukan di Unit Penelitian *Hasanuddin University Medical Research Center (HUM-RC)* dengan kit ELISA.

2.4.2 Prosedur Pemeriksaan

2.4.2.1 Pemeriksaan Kadar Antibodi IgG

A. Tahap Pra-Analitik

1. **Persiapan Pasien:** Tidak perlu persiapan khusus pada pasien.
2. **Persiapan Sampel:** Sampel yang digunakan adalah sampel plasma produk hasil buangan TPE. Kumpulkan plasma dari kantong buangan TPE yang sudah menggunakan sitrat sebagai antikoagulan. Kemudian diletakkan pada suhu 2°C - 8°C selama 30 menit setelah pengumpulan. Kumpulkan supernatan untuk dilakukan pengujian tersebut. Sampel yang akan digunakan dalam waktu seminggu dapat disimpan pada suhu 2°C - 8°C, jika tidak sampel harus disimpan pada suhu -20°C dalam waktu 3 bulan atau suhu - 80°C dalam waktu 6 bulan.

3. Alat dan bahan :

Alat :

- a. Air suling
- b. Kertas saring
- c. Pipet dan ujung pipet sekali pakai
- d. Tabung sampel
- e. Pembaca ELISA mampu mengukur absorbansi pada 450 nm
- f. Inkubator
- g. *96 well microtiter plates*
- h. *Microtiter plate reader*

- i. Alat sentrifus

Bahan :

- a. Spesimen serum
- b. *Biotinylated Detection Ab working solution*
- c. Wash solution
- d. Stop solution
- e. Chromogen solution A
- f. Chromogen solution B
- g. *HRP-Conjugate Reagent*
- h. *Closure plate membrane*

B. Tahap Analitik

I. Prinsip Test

Pemeriksaan ini menggunakan metode sandwich Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA). Antibodi spesifik untuk Human IgG dilapiskan sebelumnya ke pelat 96-sumur. Antibodi terkonjugasi biotin digunakan sebagai antibodi pendeteksi. Standar, sampel uji dan antibodi pendeteksi terkonjugasi biotin ditambahkan ke sumur, dan dicuci dengan buffer pencuci. HRP-Streptavidin ditambahkan dan konjugat yang tidak terikat dicuci bersih dengan buffer pencuci. Substrat TMB digunakan untuk memvisualisasikan reaksi enzimatik HRP. TMB dikatalisis oleh HRP untuk menghasilkan produk warna biru yang berubah menjadi kuning setelah penambahan larutan penghenti asam. Kepadatan kuning sebanding dengan jumlah target sampel yang ditangkap di piring. Baca optical density (OD) absorbansi pada 450nm dalam microplate reader, dan kemudian konsentrasi target dapat dihitung.

II. Prosedur Kerja

1. Semua reagen, larutan standar dan sampel dipersiapkan. Periksa label dan warna sampel vial/botol dan pastikan cocok dan tidak ada kesalahan.
2. *Plate*, semua reagen dan sampel dibiarkan mencapai suhu kamar (18°C - 25°C) secara alami sebelum memulai prosedur pengujian. Jangan gunakan pemanas air panas untuk memanaskan *plate*, reagen atau sampel.
3. Piring dari kantong foil dihapus. *Plate* dilepas dan strip yang tidak terpakai dikembalikan ke kantong foil dengan paket pengering dan tutup kembali untuk mencegah kelembapan.
4. *Blank wells, standar wells, sample wells* diatur

5. Larutan standart (S1,S2,S3,S4,S5) sebanyak 50 μ L ditambahkan ke *well* sesuai standar, lalu sampel sebanyak 50 μ L ditambahkan ke dalam setiap *sample wells*
6. *HRP-Conjugate reagent* sebanyak 100 μ L ditambahkan ke setiap *well* kecuali *blank wells*
7. *Plate* dengan *closure plate membrane* ditutup dan diinkubasi selama 60 menit pada suhu 37°C
8. Semua *well* (termasuk semua *blank well*) dicuci 4 kali
9. Chromogen solution A sebanyak 50 μ L ditambahkan ke setiap *well*
10. Chromogen solution B sebanyak 50 μ L ditambahkan ke setiap *well*. (Lindungi larutan chromogen B dari cahaya)
11. *Plate* diaduk perlahan dan diinkubasi selama 15 menit pada suhu 37°C (lindungi plat dari cahaya)
12. *Stop solution* sebanyak 50 μ L ditambahkan ke setiap sumur
13. *Optical density* pada 450 nm dibaca menggunakan pembaca ELISA dalam waktu 15 menit setelah *stop solution* ditambahkan (sekitar 5 menit biasanya merupakan waktu terbaik).
14. *Detection Range kit* pemeriksaan IgG 1.56 – 100ng/mL.

2.4.2.2 Pemeriksaan Kadar CRP

A. Tahap Pra-Analitik

1. **Persiapan Pasien:** Tidak ada persiapan khusus
2. **Persiapan Sampel:** Sampel yang digunakan adalah sampel plasma hasil luaran TPE. Kumpulkan plasma dari kantong luaran TPE yang sudah menggunakan sitrat sebagai antikoagulan. Kemudian diletakkan pada suhu 2°C - 8°C selama 30 menit setelah pengumpulan. Kumpulkan supernatan untuk dilakukan pengujian tersebut. Sampel yang akan digunakan dalam waktu seminggu dapat disimpan pada suhu 2°C - 8°C, jika tidak sampel harus disimpan pada suhu -20°C dalam waktu 3 bulan atau suhu - 80°C dalam waktu.
3. Alat dan bahan :
Alat :
 - a. Air suling
 - b. Kertas saring
 - c. Pipet dan ujung pipet sekali pakai
 - d. Tabung sampel
 - e. Pembaca ELISA mampu mengukur absorbansi pada 450 nm

- f. Inkubator
- g. *96 well microtiter plates*
- h. *Microtiter plate reader*
- i. Alat setrifus

Bahan :

- a. Spesimen serum
- b. *Biotinylated Detection Ab working solution*
- c. *Wash solution*
- d. *Stop solution*
- e. Chromogen solution A
- f. Chromogen solution B
- g. *HRP-Conjugate Reagent*
- h. *Closure plate membrane*

B. Tahap Analitik

I. Prinsip Dasar Pemeriksaan

Pemeriksaan ini menggunakan metode *sandwich Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA). Antibodi spesifik untuk *Human CRP* dilapiskan sebelumnya ke pelat 96-sumur. Antibodi terkonjugasi biotin digunakan sebagai antibodi pendeteksi. Standar, sampel uji dan antibodi pendeteksi terkonjugasi biotin ditambahkan ke sumur, dan dicuci dengan buffer pencuci. HRP-Streptavidin ditambahkan dan konjugat yang tidak terikat dicuci bersih dengan buffer pencuci. Substrat TMB digunakan untuk memvisualisasikan reaksi enzimatik HRP. TMB dikatalisis oleh HRP untuk menghasilkan produk warna biru yang berubah menjadi kuning setelah penambahan larutan penghenti asam. Kepadatan kuning sebanding dengan jumlah target sampel yang ditangkap di piring. Baca *optical density* (OD) absorbansi pada 450nm dalam *microplate reader*, dan kemudian konsentrasi target dapat dihitung.

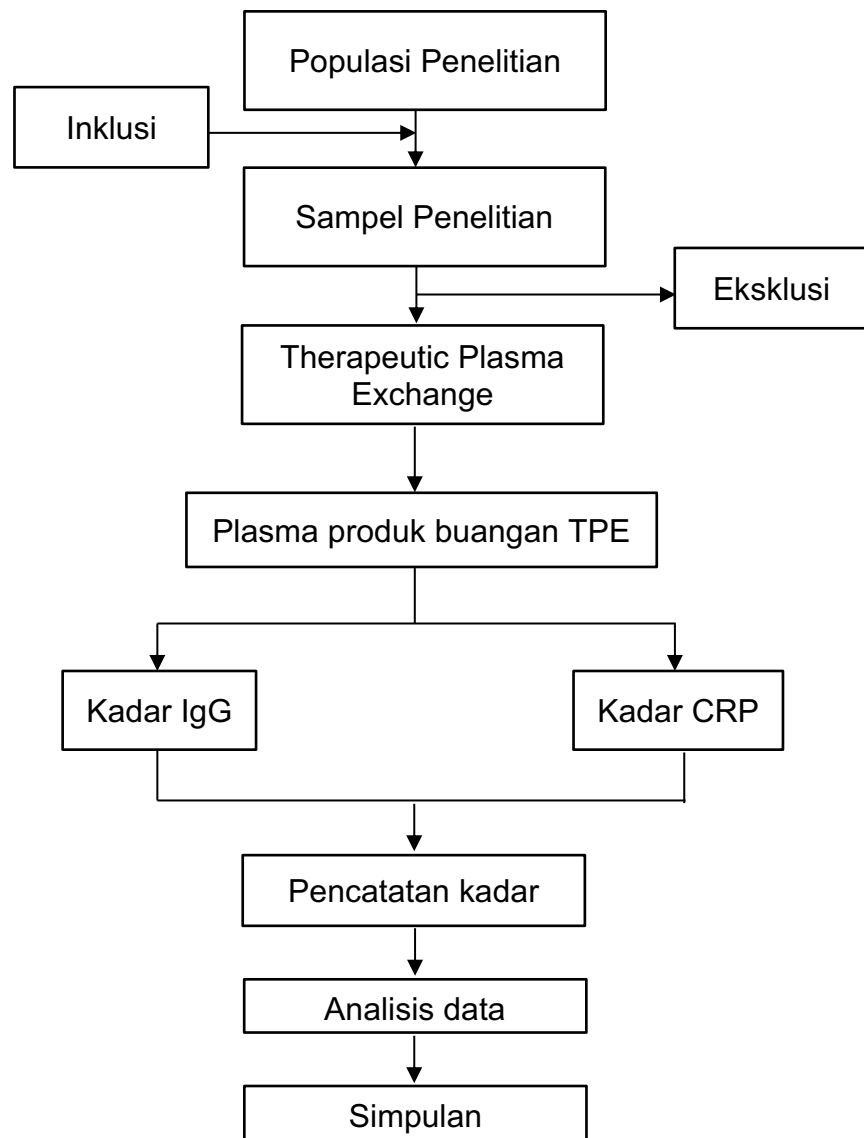
II. Prosedur

1. Semua reagen, larutan standar dan sampel dipersiapkan. Periksa label dan warna sampul vial/botol dan pastikan cocok dan tidak ada kesalahan.
2. *Plate*, semua reagen dan sampel dibiarkan mencapai suhu kamar (18°C - 25°C) secara alami sebelum memulai prosedur pengujian. Jangan gunakan pemanas air panas untuk

memanaskan *plate*, reagen atau sampel.

3. Piring dari kantong foil dihapus. *Plate* dilepas dan strip yang tidak terpakai dikembalikan ke kantong foil dengan paket pengering dan tutup kembali untuk mencegah kelembapan.
4. *Blank wells, standar wells, sample wells* diatur
5. Larutan standart (S1,S2,S3,S4,S5) sebanyak 50 μ L ditambahkan ke *well* sesuai standar, lalu sampel sebanyak 50 μ L ditambahkan ke dalam setiap *sample wells*
6. *HRP-Conjugate reagent* sebanyak 100 μ L ditambahkan ke setiap *well* kecuali *blank wells*
7. *Plate* dengan *closure plate membrane* ditutup dan diinkubasi selama 60 menit pada suhu 37°C
8. Semua *well* (termasuk semua *blank well*) dicuci 4 kali
9. Chromogen solution A sebanyak 50 μ L ditambahkan ke setiap *well*
10. Chromogen solution B sebanyak 50 μ L ditambahkan ke setiap *well*. (Lindungi larutan chromogen B dari cahaya)
11. *Plate* diaduk perlahan dan diinkubasi selama 15 menit pada suhu 37°C (lindungi plat dari cahaya)
12. *Stop solution* sebanyak 50 μ L ditambahkan ke setiap sumur
13. *Optical density* pada 450 nm dibaca menggunakan pembaca ELISA dalam waktu 15 menit setelah *stop solution* ditambahkan (sekitar 5 menit biasanya merupakan waktu terbaik).
14. *Detection Range kit* pemeriksaan CRP 10 – 10000 ng/mL.

2.4.3 Alur Penelitian



Gambar 7. Alur Penelitian

2.5 Parameter Pemeriksaan

Definisi Operasional

1. *Therapeutic Plasma Exchange* adalah tindakan terapi yang bertujuan untuk menghilangkan dan menggantikan plasma darah pasien sesuai dengan indikasi. Metode yang digunakan adalah metode sentrifugasi.
2. Imunoglobulin-G adalah antibodi pertama yang terlibat dalam respon imunitas lanjutan. Kadarnya diukur dengan metode ELISA menggunakan kit *Human IgG* Elabscience[®] (*Elabscience Biotechnology Inc, USA*), dan kadarnya dinyatakan dalam satuan ng/mL.
3. Perubahan kadar igG plasma produk buangan TPE adalah perubahan kadar IgG antara TPE 1, TPE2, TPE3 dan dinyatakan dalam bentuk persentase.
4. *C-Reactive Protein* adalah protein yang diproduksi oleh organ hati, dan dilepaskan ke dalam aliran darah sebagai respons terhadap peradangan. Kadarnya diukur dengan metode ELISA menggunakan kit *High Sensitivity C-Reactive Protein (hs-CRP)* Elisa DBC[®] (*Diagnostic Biochem Canada inc, USA*), dan kadarnya dinyatakan dalam satuan ng/mL.
5. Perubahan kadar CRP plasma produk buangan TPE adalah perubahan kadar CRP antara TPE 1, TPE2, TPE3 dan dinyatakan dalam bentuk persentase.
6. Plasma produk hasil buangan TPE adalah plasma yang dikeluarkan setelah tindakan TPE pasien.
7. Pasien dengan penyakit autoimun ialah pasien infeksi yang mengalami autoimun (myelitis) dan atau yang memiliki diagnosis klinis autoimun yang ditegakkan oleh klinisi departemen neurologi berdasarkan kriteria diagnostik untuk masing-masing penyakit autoimun, disertai bukti laboratorium atau penunjang.