

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Systemic Lupus Erythematosus (SLE) merupakan penyakit autoimun ditandai dengan adanya autoantibodi yang melibatkan satu atau lebih organ dengan manifestasi klinis yang beragam, sehingga SLE disebut sebagai penyakit “seribu wajah” karena keberagaman manifestasi klinisnya. Pasien SLE seringkali mengeluhkan berbagai manifestasi klinis dalam satu waktu dan dalam waktu yang panjang. Hal tersebut menyebabkan SLE sulit terdiagnosis dan rata-rata diagnosis SLE baru dapat ditegakkan dua tahun setelah awitan gejala. Morbiditas yang substansial, perjalanan penyakit yang kronis dan ketergantungan yang berlebihan terhadap steroid semuanya berkontribusi terhadap kerusakan organ jangka panjang, bahkan menyebabkan kerusakan organ sistemik. (Tjan, Kambayana and Kurniari, 2022)

Interaksi kompleks antara genetik, faktor resiko lingkungan, paparan infeksi (misalnya virus Epstein Barr) dan hormonal berkontribusi terhadap manifestasi klinis SLE. Faktor genetik, imunologi, endokrin, dan lingkungan mempengaruhi hilangnya toleransi imunologi terhadap antigen yang menyebabkan pembentukan autoantibodi patogenik dan kerusakan jaringan melalui berbagai mekanisme. Sistem imun bawaan dan sistem imun adaptif berperan dalam patogenesis SLE. Pelepasan sitokin, aktivasi komplemen dan produksi autoantibodi menyebabkan kerusakan organ (Lin, Wakhlu and Connolly, 2024). Insidensi dan prevalensi SLE secara keseluruhan di negara-negara Asia-Pasifik berkisar antara 0,9 hingga 3,1 dan 4,3–4,53 per 100.000. Kejadian SLE bervariasi di semua kelompok usia, penyakit ini lebih umum terjadi pada usia 15 hingga 45 tahun. Rasio pria dan wanita pasien SLE secara luas sebesar 1:9. Konsentrasi estrogen yang tinggi pada wanita dapat meningkatkan resiko SLE. Mortalitas paling umum pada pasien SLE meliputi infeksi, penyakit kardiovaskular dan penyakit ginjal. (Fatoye, Gebrye and Mbada, 2022).

Systemic lupus erythematosus ditandai dengan eksaserbasi dan remisi, yang memerlukan pemantauan ketat terhadap aktivitas penyakit. Penilaian aktivitas penyakit penting karena adanya hubungan antara aktivitas penyakit yang tinggi atau flare dan dampak kesehatan yang merugikan, termasuk kerusakan organ akhir yang ireversibel, mortalitas, dan penurunan kualitas hidup. Aktivitas penyakit SLE dapat ditentukan berdasarkan skor *Systemic Lupus Erythematosus Disease*

Activity Index (SLEDAI), salah satunya *Mexican Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index* (Mex-SLEDAI). Skor Mex-SLEDAI diprakarsai oleh Guzman pada tahun 1992 dengan tujuan menyederhanakan SLEDAI dan mengurangi biaya implementasinya dengan tetap mempertahankan kualitas informasi yang diperoleh. Mex-SLEDAI digunakan sebagai instrumen penilaian aktivitas penyakit yang praktis dan tervalidasi dengan rentang nilai skor 0-32 (Amelia *et al.*, 2024; Thanou *et al.*, 2021). Menilai aktivitas penyakit merupakan faktor yang penting dalam menentukan strategi intervensi dan terapi yang tepat untuk mencapai remisi penyakit. Penilaian aktivitas meliputi gejala klinis dan parameter laboratorium. (Alves *et al.*, 2021)

Kalprotektin serum merupakan salah satu parameter yang diteliti dalam regulasi penyakit SLE. Kalprotektin adalah kompleks S100 heterodimerik yang diekspresikan pada leukosit. Kompleks ini dilepaskan oleh neutrofil dan monosit di lokasi inflamasi yang akan memodulasi respon inflamasi. Kalprotektin menginduksi inflamasi dengan mengikat *Receptor Advanced Glycation End-product* (RAGE) dan *Toll Like Receptors 4* (TLR4) yang terletak di permukaan leukosit dan sel endotel sehingga menyebabkan pelepasan sitokin pro inflamasi seperti interleukin-1 β , interleukin-6 dan *Tumor Necrosis Factor* (TNF α). Penelitian yang dilakukan Iwona Homa *et al* (2022) menunjukkan bahwa kalprotektin merupakan biomarker yang berguna dalam memantau aktivitas penyakit autoimun (Homa-Mlak *et al.*, 2022). Penelitian mengenai kalprotektin serum dan aktivitas penyakit yang dilakukan oleh Marasovic *et al* (2024) menunjukkan korelasi positif antara kadar kalprotektin serum dan skor SLEDAI dengan kadar yang lebih tinggi ditemukan pada pasien penyakit aktif (Marasović-Krstulović *et al.*, 2024).

Biomarker yang menggunakan uji laboratorium rutin yang secara akurat menyajikan aktivitas penyakit SLE dapat memiliki nilai praktis yang penting dalam pengaturan klinis. Estimasi inflamasi berdasarkan *Complete Blood Count* (CBC), sebagai tes praktis, tidak ekspansif, dan rutin, telah menjadi metode yang dapat dipergunakan. Kombinasi berbagai subparameter CBC telah diselidiki sebagai penanda peradangan imun seluler. Indeks yang menggabungkan jenis sel CBC berpartisipasi pada proses peradangan, termasuk *Systemic Immune Inflammation Index* (SII), telah muncul sebagai penanda baru peradangan terkait penyakit SLE). *Systemic Immune Inflammation Index* sebagai penanda peradangan imun mengintegrasikan tiga populasi sel yaitu neutrofil, limfosit dan trombosit menjadi satu parameter tunggal (Akdogan and Melikoglu, 2024). Beberapa studi melaporkan bahwa SII memiliki korelasi dengan aktivitas penyakit dan dapat membantu membedakan aktivitas penyakit dari ringan sampai sedang dan berat. Penelitian lain menekankan perlunya validasi lanjutan dan interpretasi yang

mempertimbangkan klinis pasien. Penelitian tentang kalprotektin serum dan SII memiliki daya tarik karena berperan pada proses inflamasi, tetapi kemampuannya dalam mencerminkan aktivitas penyakit masih belum konsisten sehingga menarik perhatian untuk mengetahui korelasinya terhadap aktivitas penyakit SLE.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang masalah di atas dapat dirumuskan pertanyaan sebagai berikut

“ Bagaimana kalprotektin serum dan *Systemic Immune-Inflammation Index* sebagai parameter dalam menilai aktivitas penyakit SLE”

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Menilai hubungan kadar kalprotektin serum dan SII dalam menilai aktivitas penyakit pasien SLE

1.3.2 Tujuan Khusus

- Mengetahui korelasi kadar kalprotektin serum dengan aktivitas penyakit SLE berdasarkan skor Mex-SLEDAI
- Mengetahui nilai *Systemic Immune-Inflammation Index* dengan aktivitas penyakit SLE berdasarkan skor Mex-SLEDAI
- Mengetahui korelasi antara kalprotektin serum dan *Systemic Immune-Inflammation Index* pada pasien SLE

1.4 Hipotesis Penelitian

Terdapat korelasi positif antara kadar kalprotektin serum dan nilai *Systemic Immune-Inflammation Index* dengan aktivitas penyakit pada subjek SLE

1.5 Manfaat Penelitian

1.5.1 Manfaat Aplikasi Klinis Manfaat Ilmu

Diharapkan kalprotektin serum dan nilai SII dapat menjadi parameter dalam pemantauan aktivitas penyakit SLE dan monitoring progresi penyakit, sehingga memungkinkan manajemen SLE lebih baik

1.5.2 Manfaat Pengembangan Penelitian

Memberikan kontribusi pada literatur ilmiah mengenai korelasi antara kalprotektin serum dan nilai SII pada SLE, sehingga dapat menjadi acuan bagi penelitian selanjutnya.

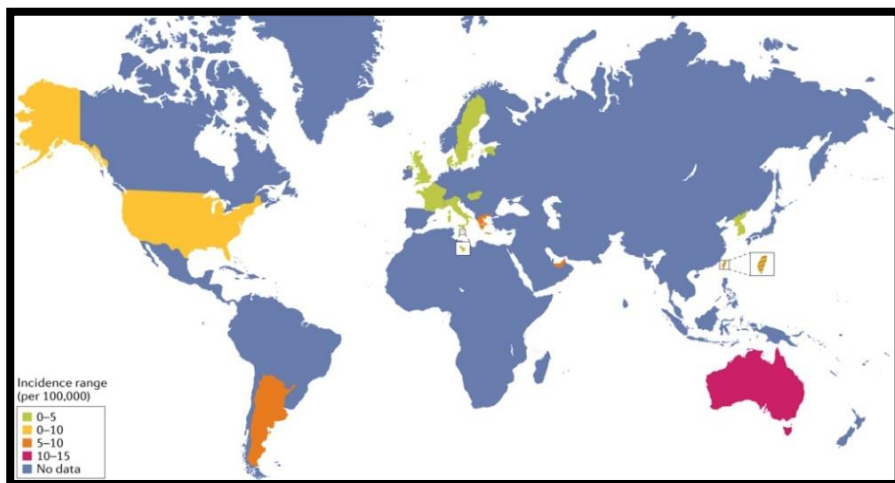
1.6 Kajian Teori dan Konsep Penelitian

1.6.1 *Systemic Lupus Erythematosus* (SLE)

1.6.1.1 Epidemiologi

Systemic Lupus Erythematosus (SLE) menjadi salah satu penyakit yang menantang ditandai dengan manifestasi klinis sistemik dan organ target serta disfungsi sistem imun yang luas. Manifestasi SLE pada kulit, sendi, ginjal, sistem kardiovaskular dan sistem saraf pusat yang terjadi pada setiap pasien menunjukkan pola penyakit yang berbeda. Sifat sistemik SLE mencerminkan perubahan dalam aktivitas sistem imun yang mengakibatkan autoimunitas yang menargetkan asam nukleat dan protein terkaitnya, serta peradangan yang merusak jaringan (Crow, 2023).

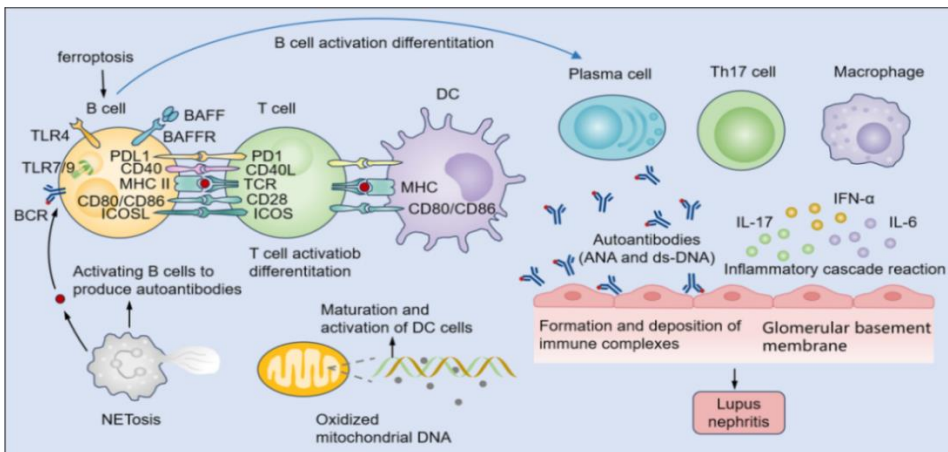
Laporan tentang insiden dan prevalensi SLE global sangat bervariasi karena variasi inheren dalam demografi populasi, paparan lingkungan dan faktor sosial ekonomi. Tingkat kejadian SLE secara keseluruhan bervariasi antara 3,7 per 100.000 orang pertahun, 1,5 dan 7,4 per 100.000 orang pertahun di Eropa, 1,4 dan 6,3 per 100.000 orang pertahun di Amerika Selatan. Prevalensi SLE bervariasi antara 26,5 sampai 103 per 100.000 individu di Asia. Prevalensi berdasarkan studi kohort berbasis populasi tahun 2003-2008 menggunakan ICD di Indonesia diperkirakan 4,9 kasus per 100.000 orang pertahun. Gambar 1 menunjukkan kisaran insiden yang dilaporkan untuk SLE per lokasi (per 100.000 penduduk) (Barber *et al.*, 2021).



Gambar 1. Estimasi kejadian global untuk SLE (Barber *et al.*, 2021)

1.6.1.2 Etiopatogenesis

Karakteristik dari SLE adalah produksi autoantibodi yang menargetkan *self-antigen*, yang mengarah pada pembentukan kompleks imun. Kompleks ini terakumulasi dalam pembuluh darah, memicu reaksi inflamasi hebat yang dapat menyebabkan disfungsi berbagai sistem organ. Interaksi kompleks ini berujung pada pembentukan autoantibodi dengan potensi patogenik. Interaksi kompleks antara respons imun bawaan dan adaptif dalam perkembangan SLE (Gambar 2)(Su *et al.*, 2024).



Gambar 2. Interaksi imunopatogenesis SLE (Su *et al.*, 2024)

Patogenesis pada SLE didorong oleh aktivasi abnormal dari sel imun adaptif dan bawaan. Sel imun adaptif, termasuk limfosit T, limfosit B, dan sel plasma, berperan dalam perkembangan penyakit. Sel T dapat mengalami kehilangan toleransi diri, yang mengakibatkan stimulasi sel B oleh sel autoreaktif. Aktivasi ini menyebabkan produksi autoantibodi yang berlebihan oleh sel B, yang kemudian membentuk kompleks imun. Kompleks ini terakumulasi dalam jaringan, yang memicu respons inflamasi. Sel imun bawaan, seperti neutrofil, monosit-makrofag, sel *natural killer*, dan *Dendritic Cell* (DC), berkontribusi secara signifikan terhadap patogenesis SLE. Interaksi antara sel imun adaptif dan bawaan bersama dengan produksi sitokin pro-inflamasi yang berlebihan dan gangguan mekanisme pengaturan, berujung pada peradangan kronis dan kerusakan multiorgan yang menjadi ciri khas SLE. *Toll Like Receptors* (TLR), khususnya TLR7 dan TLR9, berperan penting dalam genesis autoantibodi. Stimulasi abnormal TLR9 dan TLR7 meningkatkan pembentukan autoantibodi yang menargetkan autoantigen

terkait *double stranded Deoxyribonucleic Acid* (dsDNA) dan RNA. *Long- Lived Plasma Cells*(LLPCs), yang dihasilkan dari diferensiasi terminal sel B, merupakan sumber pembentukan autoantibodi pada SLE. Plasmablas berumur pendek, setelah berinteraksi dengan sel T CD4+ di dalam pusat germinal kelenjar getah bening, berevolusi menjadi sel plasma berafinitas tinggi. Sel-sel ini kemudian bermigrasi ke *niches* khusus di dalam sumsum tulang tempat terlindung dari pengaruh eksternal, memungkinkan bertahan dalam jangka waktu yang lama dan terus menerus menghasilkan autoantibodi. Sel T autoreaktif berperan penting dalam perkembangan SLE. Sel T-helper 1 (Th1) mendorong proses stres oksidatif yang terkait dengan produksi Interferon-gamma (IFN γ). Sitokin ini mendorong perekrutan neutrofil, memicu aktivasi sistem kekebalan bawaan, dan meningkatkan fungsi limfosit B. Sel T regulator (Treg) berperan penting dalam menjaga toleransi perifer terhadap antigen diri (Su et al., 2024).

Neutrofil terbukti menghasilkan IFN tipe-I tanpa memerlukan stimulasi TLR, yang dapat menyebabkan perkembangan sel B abnormal di dalam sumsum tulang penderita SLE. *Neutrophil Extraceluller Traps* (NET) terdiri dari asam nukleat yang didekondensasi dan kromatin yang dikeluarkan, pembentukannya dapat menimbulkan reaksi imun autoreaktif terhadap antigen asam nukleat. Neutrofil menghasilkan *Reactive Oxygen Species* (ROS) untuk eliminasi patogen dan dapat menimbulkan kerusakan endotel pada SLE. Pembentukan NET yang berlebihan ditambah dengan gangguan pembersihan juga dapat mengakibatkan peningkatan aktivasi inflamasi pada makrofag, sehingga memperburuk respons inflamasi. Temuan ini menunjukkan peran imunostimulasi yang signifikan dari neutrofil dalam SLE melalui pembentukan NET, yang secara substansial berkontribusi terhadap disregulasi imun dan cedera jaringan berikutnya (Su et al., 2024).

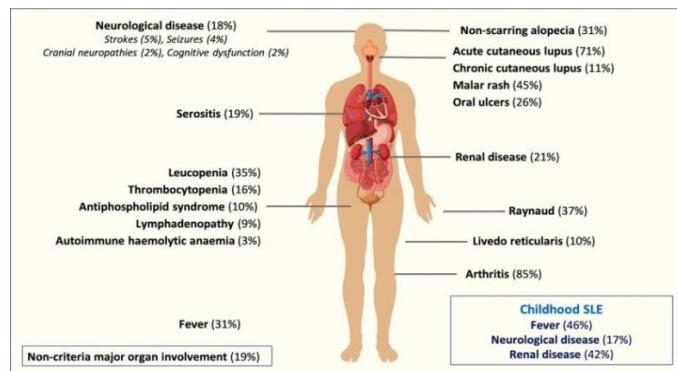
Sel dendritik berperan menjembatani respons imun bawaan dan adaptif. Sel dendritik berfungsi sebagai regulator utama dalam autoimunitas terkait SLE, yang mewujudkan peran stimulasi dan supresif. Sel dendritik memiliki kapasitas untuk membedakan antigen melalui *Pattern Recognition Receptors* (PRR). Proses ini dapat menyebabkan aktivasi sel T dan B autoreaktif yang berkontribusi pada patologi inflamasi SLE, sebaliknya DC dengan kemampuan tolerogenik dapat mendorong toleransi imun dengan meningkatkan fungsi dan perkembangan sel T atau B regulator atau dengan menghambat aktivasi sel-sel ini. SLE memiliki hipometilasi DNA sel T yang merupakan modifikasi epigenetik yang khas. Perubahan ini menghasilkan peningkatan transkripsi gen, yang terkait erat dengan tingkat keparahan penyakit. Regulasi epigenetik terganggu dapat menyebabkan kesalahan ekspresi gen dan disfungsi pada sel imun, yang berpotensi memicu reaksi autoimun(Su et al., 2024).

Faktor lingkungan yang diketahui dapat memicu SLE meliputi infeksi virus, obat-obatan tertentu dan paparan radiasi Ultraviolet (UV). *Human Endogenous Retroviruses* (HERV) dianggap sebagai predisposisi individu terhadap SLE karena faktor genetik, sedangkan *Epstein-Barr Virus* (EBV) dikenal sebagai pemicu lingkungan yang dapat memicu SLE. Dihipotesiskan bahwa sel-B yang terinfeksi EBV dapat menghindari apoptosis, yang menyebabkan aktivasi, proliferasi, dan pembentukan autoantibodi. Virus epstein barr juga diduga berperan dalam aktivasi sistem imun bawaan dan pematangan sel B, yang berpotensi memicu pembentukan autoantibodi yang menargetkan urutan asam amino pada protein sendiri dan yang dikodekan oleh EBV. RNA virus diketahui memicu respons imun dengan menginduksi produksi IFN (Su *et al.*, 2024).

Radiasi ultraviolet yang mencakup panjang gelombang UVA dan UVB berperan penting dalam patogenesis SLE. Radiasi ini terutama menginduksi apoptosis pada keratinosit melalui produksi ROS dan kerusakan DNA. Peningkatan sirkulasi IFN tipe-1, sel langerhans dan keratinosit yang terpapar radiasi UV mengekspresikan tingkat tinggi sitokin pro-inflamasi termasuk IL-6, IL-1 β , dan TNF- α . Lingkungan dengan sitokin yang meningkat akan menstimulasi perekrutan sel T sehingga terbentuk siklus inflamasi berkelanjutan yang mengaktifkan sistem imun adaptif (Lin, Wakhlu and Connolly, 2024).

1.6.1.3 Diagnosis Systemic Lupus Erythematosus

Diagnosis dan pengobatan SLE sulit dilakukan karena presentasi penyakit yang beragam, karakteristik klinis yang berubah-ubah, dan perkembangan penyakit yang tidak dapat diprediksi. Diagnosis dapat menjadi tantangan pada tahap awal penyakit ketika gejala yang terbatas, kasus negatif pada pemeriksaan *Antinuclear Antibody* (ANA) atau dominan organ. Ciri utama penyakit SLE dan frekuensi awal penyakit secara kumulatif tercantum pada gambar 3 (Fanouriakis *et al.*, 2021).



Gambar 3. Organ-organ yang terlibat pada SLE (Fanouriakis *et al.*, 2021)

Klasifikasi kriteria telah digunakan pada SLE seperti ACR/EULAR 19 menurut *American Collage of Rheumatology* (ACR) dan *European League Againts Rheumatism* (EULAR). Kriteria klasifikasi EULAR/ACR 2019 untuk SLE mencakup ANA positif minimal satu kali sebagai kriteria entri wajib; diikuti oleh kriteria berbobot aditif yang dikelompokkan dalam 7 domain klinis dan 3 domain imunologi dan diberi bobot dari 2 hingga 10 (Tabel 1). Pemeriksaan ANA $\geq 1 : 80$ digunakan sebagai kriteria. Pengujian imunofluoresensi Hep-2 tidak dimiliki oleh semua pusat pemeriksaan maka direkomendasikan pemeriksaan ANA *immunoassay* yang equivalent (Aringer *et al.*, 2019)

Tabel 1 Kriteria SLE EULAR/CR 2019

Kriteria entri			
Titer ANA $\geq 1:80$ pada sel Hep-2 atau tes yang ekuivalen			
↓			
Jika tidak ada, tidak diklasifikasikan SLE Jika ada, lihat kriteria additif			
↓			
Kriteria additif			
Jangan dimasukkan ke dalam kriteria jika ada penjelasan lain penyebabnya selain SLE			
Munculnya kriteria sekali sudah dapat dihitung			
Klasifikasi SLE memerlukan setidaknya satu kriteria domain klinis dan ≥ 10 poin			
Kriteria boleh muncul tidak bersamaan			
Dalam setiap dimain, hanya kriteria dengan bobon tertinggi dimasukkan ke dalam skor total			
Kriteria dan domain klinis	Bobot	Kriteria dan domain imunologis	Bobot
Konstitusional		Antibodi antifosfolipid	
Demam	2	Antibodi anti-kardiolipin ATAU	
Hematologis		Antibodi anti- $\beta 2$ GPI ATAU	
Leukopenia	3	Lupus antikoagulan	2
Trombositopenia	4	Protein komplemen	
Hemolisis autoimun	4	C3 ATAU C4 rendah	3
Neuropsikiatrik		C3 DAN C4 rendah	4
Delirium	2	Antibodi spesifik SLE	
Psikosis	3	Antibodi anti-dsDNA ATAU	
Kejang	5	Antibodi anti-Smith	6
Mukokutan			
Alopecia tanpa parut	2		
Ulkus mulut	2		
Lupus kutaneus subakut atau lupus diskoid	4		
Lupus kutaneus akut	6		
Serosal			
Efusi pleura atau perikardial	5		
Perikarditis akut	6		
Muskuloskeletal			
Keterlibatan sendi	6		
Ginjal			
Proteinuria $>0,5$ gram /24 jam	4		
Nefritis lupus kelas II atau kelas V	8		
Nefritis lupus kelas III atau kelas IV	10		
Total skor:			
↓			
Klasifikasi diagnosis SLE jika skor 10 atau lebih dan bila kriteria entri terpenuhi			

Sumber : (Aringer *et al.*, 2019)

Diagnosis SLE didasarkan pada kombinasi klinis yang konsisten dan temuan imunologi yang khas, seperti *Antinuclear Antibody* (ANA), *anti-double stranded Deoxyribonucleic Acid* (dsDNA) dan antibodi anti-Smith, dan atau kadar komplemen yang rendah (Vaillant and Goyal, 2023). Evaluasi aktivitas penyakit sangat penting untuk menjadi pedoman pengobatan. Perjalanan SLE yang tidak seragam secara langsung tercermin dalam perubahan status aktivitas penyakit dari waktu ke waktu. Aktivitas lupus dapat didefinisikan sebagai jumlah semua manifestasi klinis dan kelainan serologis yang terkait dengan jalur imun-inflamasi yang sedang berlangsung yang terlibat dalam SLE (Mokbel *et al.*, 2025). Sekitar 20–30% pasien SLE mengalami penyakit kronis aktif, sebagian besar pasien SLE memiliki perjalanan penyakit yang fluktuatif, dengan periode penyakit klinis aktif dan flare diselingi dengan interval aktivitas penyakit klinis rendah. Flare didefinisikan sebagai peningkatan aktivitas penyakit yang terukur yang melibatkan tanda dan gejala klinis yang baru atau lebih buruk dan pengukuran laboratorium. Flare menempatkan pasien pada risiko kerusakan organ, morbiditas yang signifikan dan berkontribusi pada peningkatan biaya perawatan kesehatan (Thanou *et al.*, 2021).

1.6.1.3 Penilaian Aktivitas Penyakit Systemic Lupus Erythematosus

Skor SLEDAI pada awal diagnosis penyakit dapat menjadi penanda prognostik yang memprediksi kerusakan, yang dapat membantu dalam mengidentifikasi pasien yang berisiko lebih tinggi mengalami hasil yang buruk. SLEDAI diperkenalkan pertama kali pada tahun 1985 sebagai indeks global yang menilai aktivitas penyakit SLE. Indeks Mex-SLEDAI mencakup variabel klinis dan laboratorium. Skala Mex-SLEDAI dikembangkan oleh peneliti Meksiko pada tahun 1992. (Suszek *et al.*, 2024). Gambaran deskripsi yang dinilai pada Mex-SLEDAI meliputi gangguan neurologis, gangguan ginjal, vaskulitis, hemolisis, trombositopenia, miositis, artritis, gangguan mukokutaneus, serositis, demam, fatigue, leukopenia dan limfopenia dengan total skor 32 (Perhimpunan Reumatologi Indonesia, 2019).

Tabel 2. Skor Mex SLEDAI

Deskriptor	Definisi	Skor
Gangguan Neurologi	Psikosis. Perubahan kemampuan melaksanakan aktivitas normal akibat gangguan persepsi terhadap realita yang berat. Termasuk: halusinasi, tidak koheren, asosiasi longgar, miskin isi pikir, berpikir tidak logis, perilaku aneh/disorganisasi/katatonik. Eksklusi : uremia dan akibat dari obat CVA (<i>Cerebrovascular Accident</i>). Sindrom baru. Eksklusi aterosklerosis Kejang. Onset baru. Eksklusi metabolik, infeksi atau akibat dari obat Sindrom otak organik. Perubahan fungsi mental dengan gangguan orientasi, memori atau fungsi intelektual lain dengan onset cepat, gambaran klinis berfluktuasi. Misalnya kesadaran berkabut dengan penurunan kapasitas berkonsentrasi dan ketidakmampuan mempertahankan atensi terhadap lingkungan. Disertai minimal 2 dari gangguan persepsi; bicara tidak koheren; insomnia atau kantuk di siang hari. Peningkatan atau penurunan aktivitas psikomotor. Eksklusi penyebab metabolik, infeksi, atau akibat penggunaan obat Mononeuritis. Onset baru dari defisit sensorik atau motorik pada satu atau beberapa saraf kranial atau perifer Mielitis. Onset baru paraplegia dan atau gangguan kontrol BAB atau BAK. Eksklusi penyebab lainnya	8
Gangguan renal	Silinder, Heme granular atau sel darah merah. Hematuria. >5 eritrosit /LPB. Eksklusi penyebab lainnya (batu, infeksi) Eksklusi penyebab lainnya (batu/infeksi) Proteinuria. Onset baru, >0.5g/L pada spesimen acak Peningkatan kreatinin (> 5mg/dL)	6
Vaskulitis	Ulserasi, gangren, nodul lunak pada jari, infark <i>periungual</i>, <i>splinter haemorrhages</i>. Data vaskulitis dari biopsi atau angiogram	4
Hemolisis Trombositopenia	Hb<12 g/dL dan retikulosit terkoreksi > 3% Trombositopenia <100.000. Tidak disebabkan oleh obat	3
Miositis	Nyeri dan kelemahan otot proksimal, yang berhubungan dengan peningkatan <i>creatinine phosphokinase</i> (CPK)	3
Arthritis	Nyeri sendi lebih dari 2 sendi disertai pembengkakan atau efusi	2
Gangguan Mukokutan	Ruam malar. Onset baru atau berulang eritema malar yang menonjol Ulkus mukosa. Onset baru atau berulang ulserasi oral atau nasofaring Alopesia. Bercak abnormal kerontokan rambut secara difus atau rambut mudah rontok	2
Serositis	Pleuritis. Riwayat nyeri pleuritik atau <i>pleural rub</i> atau efusi pleura pada pemeriksaan fisik Perikarditis. Riwayat nyeri perikardial atau terdengar <i>rub</i>. Peritonitis. Nyeri abdominal difus dengan nyeri lepas(<i>rebound</i>) (Eksklusi penyakit intra-abdominal)	2

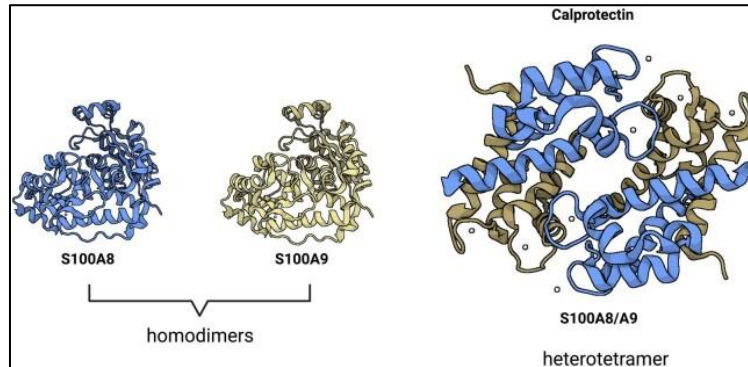
Demam	Demam > 38° C setelah mengeksklusi penyebab infeksi.	1
Kelelahan	yang tidak dapat dijelaskan	
Leukopenia	Leukosit <4000/mm ³ , tidak disebabkan obat	1
Limfopenia	Limfosit < 1200 mm ³ , tidak disebabkan obat	1

Sumber : (Hamijoyo *et al.*, 2021)

1.6.2 Kalprotektin Serum (S100A8/S100A9)

Kalprotektin (S100A8/S100A9) merupakan protein pengikat kalsium yang termasuk dalam keluarga S100 yang dilepaskan dari neutrofil sebagai bagian dari perangkap ekstraseluler neutrofil selama proses inflamasi. Protein S100 yang memediasi respon inflamasi dan terlibat dalam perekrutan sel inflamasi ke lokasi cedera. Kalprotektin terbukti menjadi ligan endogen reseptor *Toll-like 4* yang berperan penting pada imunitas bawaan. Keluarga protein S100 secara khusus dikaitkan dengan fungsi imun bawaan melalui ekspresinya dalam sel-sel asal myeloid. Fungsi protein ini sangat bervariasi antara anggota individu, berfungsi sebagai molekul sinyal intraseluler dan ekstraseluler. Fungsi protein S100 meliputi fungsi sitoskeletal, homeostasis, penekanan tumor, respons antimikroba, aktivitas kemotaktik, aterogenesis, dan perlindungan dari kerusakan sel oksidatif pada jaringan otak. Kalprotektin (S100A8/S100A9) terutama diekspresikan dalam sel imun bawaan, khususnya dalam neutrofil, monosit, dan makrofag, yang merupakan sekitar 40% dari protein sitosol dalam sel-sel ini. kalprotektin di bawah rangsangan tertentu dapat diekspresikan dalam lini sel lain, seperti osteoklas dan keratinosit (Inciarte-Mundo, Frade-Sosa and Sanmartí, 2022).

Kalprotektin adalah molekul heterodimerik pengikat kalsium berukuran 36,5 kDa, dengan dua rantai berat dan satu rantai ringan yang tidak terikat secara kovalen. Gen yang mengkode subunit kalprotektin terletak di kluster gen pada kromosom manusia 1q12-1q21. (Inciarte-Mundo, Frade-Sosa and Sanmartí, 2022). Kadar kalprotektin yang tinggi dapat terdeteksi pada penyakit autoimun seperti rheumatoid arthritis, SLE, myasthenia gravis, dan vaskulitis. Pengikatan ion Kompleks S100A8/S100A9 dapat membentuk heterodimer atau heterotetramer yang dianggap penting untuk fungsi biologis intraseluler dan ekstraseluler (Gambar 4) (Carnazzo *et al.*, 2024)

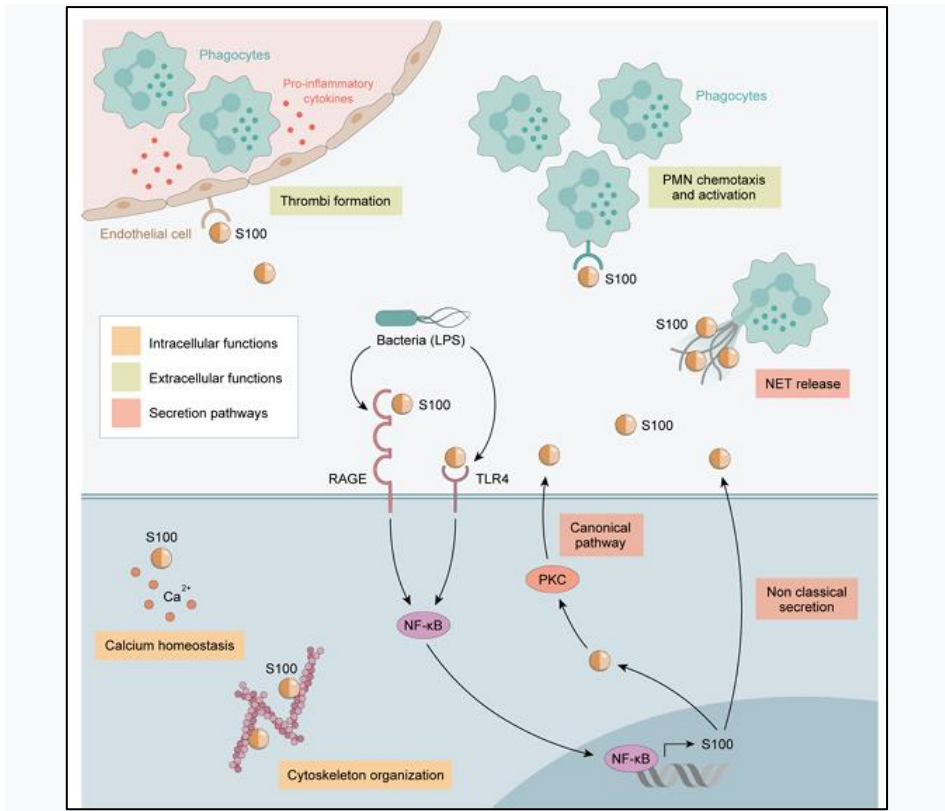


Gambar 4. Struktur Kalprotektin (Carnazzo et al., 2024)

Dua jalur aktivasi kalprotektin telah diusulkan untuk menjelaskan pelepasan kalprotektin ke kompartemen ekstraseluler. Jalur pertama, jalur kanonik, meliputi protein kinase C, yang diinduksi oleh rangsangan inflamasi yang berbeda (misalnya bakteri). Jalur kedua, sekresi non-klasik yang mencegah jalur terkait Golgi, memerlukan peningkatan kadar kalsium intraseluler, yang diinduksi oleh kontak antara fagosit dan sel endotel yang telah diaktifkan sebelumnya oleh TNF yang menghasilkan sekresi aktif kalprotektin oleh fagosit. Mekanisme aktivasi baru telah diusulkan, yaitu aktivasi melalui kromatin dalam *Neutrophil Extracellular Traps* (NET). Kalprotektin juga dapat disekresikan secara pasif dari sel-sel apoptosis (Inciarte-Mundo, Frade-Sosa and Sanmartí, 2022).

Kompleks kalprotektin berinteraksi dengan komponen sitoskeletal seperti filament aktin, vimentin dan mikrotubulus dengan cara yang bergantung pada kalsium. Fungsi intraseluler kalprotektin meliputi migrasi sel sitoskeleton dan homeostasis kalsium. Konsentrasi kalsium yang tinggi menginduksi penataan ulang kalprotektin menjadi tetramer yang memungkinkan translokasi ke membran sel dan polimerisasi tubulin. Kalprotektin memberikan aksi antimikroba yang kuat terhadap berbagai patogen bakteri dan jamur. Kompleks kalprotektin ekstraseluler berinteraksi dengan sel endotel dengan mengikat heparin sulfat khususnya *carboxylated glycans* dan meningkatkan reseptor integrin pada leukosit, yang mengakibatkan aktivasi pada sel endotel. Sel endotel yang teraktivasi mengekspresikan sitokin pro-inflamasi (misalnya IL-1, IL-8, MCP-1), dengan demikian kalprotektin berperan dalam mendorong adhesi fagosit ke endotel vaskular dan pembentukan trombus. Kalprotektin menghasilkan umpan balik yang positif meningkatkan kemotaksis dan aktivasi PMN, yang merupakan sumber utama kalprotektin sehingga kalprotektin

memiliki fungsi autokrin dan parakrin. Fungsi kalprotektin terlihat pada gambar 5 (Inciarte-Mundo, Frade-Sosa and Sanmartí, 2022).

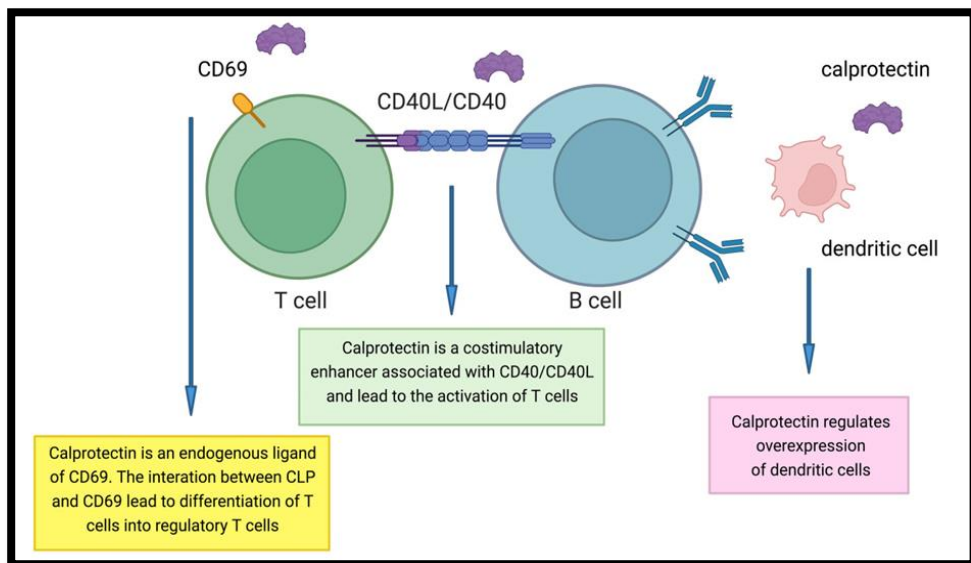


Gambar 5. Fungsi kalprotektin (Inciarte-Mundo, Frade-Sosa and Sanmartí, 2022)

Kalprotektin memberikan aksi antimikroba yang kuat terhadap berbagai patogen bakteri dan jamur. Kalprotektin mengenali protein yang terikat dengan bakteri, seperti lipopolisakarida, meningkatkan produksi sitokin pro-inflamasi, seperti $TNF-\alpha$, $IL-1\beta$, dan $IL-12$ secara lokal. Kalprotektin dikenal sebagai DAMP endogen dan mengikat reseptor TLR4 dan RAGE yang memperkuat respon imun bawaan dan menginduksi perekrutan PMN ke jaringan yang mengalami inflamasi (Inciarte-Mundo, Frade-Sosa and Sanmartí, 2022).

Kompleks kalprotektin mengatur jalur intraseluler sel imun dan memodulasi respon inflamasi yang memungkinkan perekrutan leukosit melalui kemotaksis leukosit dan infiltrasi jaringan. Fungsi ekstraseluler dimediasi oleh RAGE dan reseptor TLR4 yang merupakan reseptor utama kalprotektin. Ikatan

antara heterodimer dan TLR4 memicu kaskade transduksi sinyal yang melibatkan *nuclear factor- κ B* yang bertranslokasi ke dalam nukleus dan meningkatkan ekspresi gen sitokin pro inflamasi seperti TNF- α , IL6, IL8. Kalprotektin berperan pada respon imun adaptif. Kalprotektin berkontribusi pada induksi sel T CD8⁺ selama proses aktivasi oleh antigen. Protein ini berperan sebagai penambah kostimulasi bersama dengan pensinyalan ligan CD40 dan menyebabkan hilangnya toleransi sel T melalui ekspresi berlebihan sel dendritik. Kalprotektin merupakan ligan endogen CD69. Interaksi antara kalprotektin dan CD69 mengarah pada diferensiasi sel T menjadi sel T regulator. Berat molekul yang rendah dapat membuat kalprotektin berdifusi dari jaringan yang meradang ke sirkulasi (gambar 6) (Carnazzo *et al.*, 2024).



Gambar 6. Peran serum kalprotektin pada penyakit autoimun (Carnazzo *et al.*, 2024)

Kalprotektin merupakan biomarker inflamasi yang dapat ditemukan dan diukur pada berbagai spesimen biologis. Kalprotektin selain pada serum atau plasma juga dapat diperiksa pada saliva, feses, urin serta cairan serebrospinal, sehingga memiliki potensi yang luas dalam aplikasi evaluasi berbagai kondisi inflamasi. Pemeriksaan serum kalprotektin dinilai lebih praktis dan berpotensi mencerminkan aktivitas inflamasi sistemik (Lamot *et al.*, 2022).

1.6.3 **Systemic Inflammation Index (SII)**

Peradangan adalah proses mekanisme pertahanan sistem kekebalan tubuh terhadap kerusakan jaringan, infeksi dan stres. Respon imun dapat terjadi karena efek biologis, kimia, fisik, atau psikologis disebut peradangan. Berbagai kombinasi subparameter CBC telah diselidiki sebagai penanda peradangan imun seluler. Indeks yang menggabungkan jenis sel CBC berpartisipasi dalam proses peradangan termasuk *Systemic Immune Inflammation Index* (SII) telah muncul sebagai penanda baru peradangan terkait penyakit. Indeks SII pertama kali diperkenalkan dari penelitian Hu et al pada tahun 2014 sebagai parameter prognostik pada karsinoma hepatoseluler dan sejak itu penggunaannya menjadi berkembang pesat pada berbagai kondisi klinis seperti keganasan, penyakit kardiovaskular, penyakit inflamasi, gangguan neurologis maupun penyakit autoimun. Indeks SII secara biologis mencerminkan interaksi komponen inflamasi bawaan, respon imun adaptif dan aktivasi trombosit (Wu et al., 2025; Yontar and Mutlu, 2024).

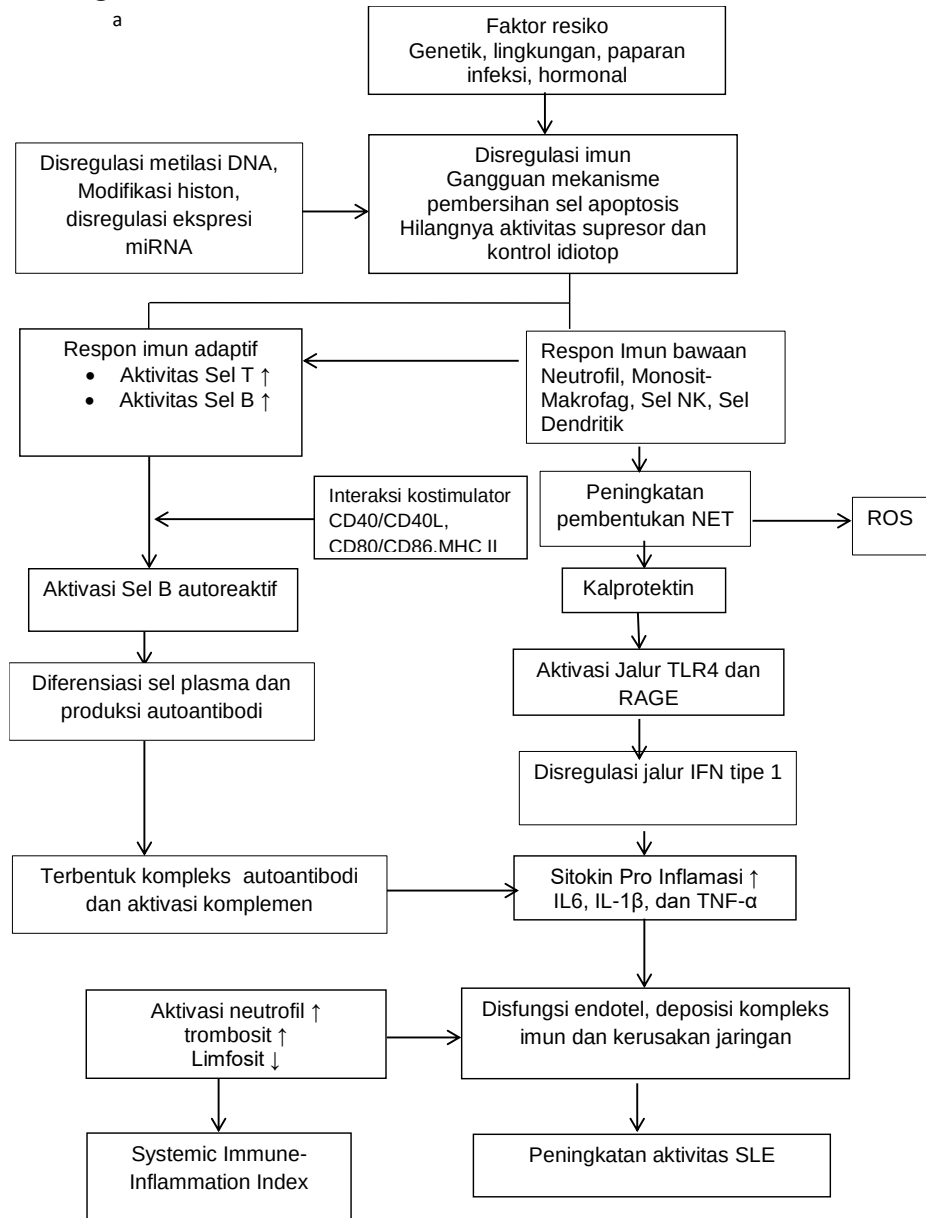
Systemic Immune Inflammation Index sebagai penanda peradangan imun karena mengintegrasikan tiga populasi sel yaitu neutrofil, limfosit dan trombosit menjadi satu parameter tunggal. SII dapat memberikan gambaran informasi tentang gambaran inflamasi sistemik dan respon imun lokal (Ulung, Ismirawati and Nurulita, 2025). Neutrofil berperan dalam proses inflamasi melalui dilepaskan sitokin proinflamasi, enzim proteolitik dan pembentukan *neutrophils extracellular trap*. Limfosit mencerminkan regulasi dan respon imun adaptif. Penurunan limfosit dikaitkan dengan terjadinya disregulasi imun dan inflamasi sistemik. Trombosit tidak hanya berperan pada hemostasis tetapi juga berperan pada proses inflamasi, interaksi endotel dan imunotrombosis. Penggabungan dari ketiga parameter ini pada satu indeks lebih dapat menggambarkan status inflamasi-imunologis dibandingkan penggunaan satu parameter tunggal. Perhatian terhadap SII terhadap penyakit autoimun semakin meningkat dalam beberapa tahun terakhir. Berbagai penelitian mengungkapkan SII merupakan biomarker yang dapat digunakan pada berbagai penyakit autoimun seperti rheumatoid arthritis, SLE, dan spondyloarthritis karena dapat mencerminkan keterkaitan antara inflamasi sistemik dan disregulasi imun (Wu et al., 2025).

1.6.4 Kalprotektin Serum dan *Systemic Immune-Inflammation Index* pada *Systemic Lupus Erythematosus*

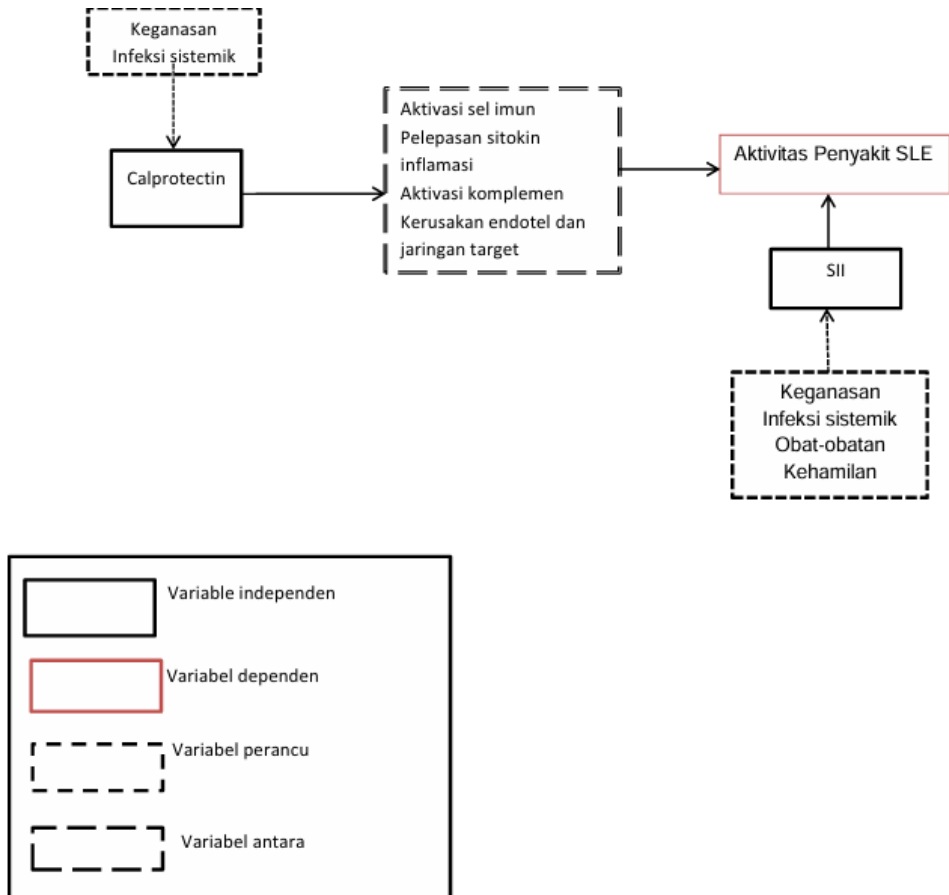
Kalprotektin terhadap penyakit inflamasi dan autoimun dipandang sebagai penanda aktivasi sistem imun bawaan karena berkaitan dengan aktivasi neutrofil dan monosit. Kalprotektin pada penelitian SLE dijelaskan sebagai protein yang dilepaskan selama proses inflamasi dan merupakan komponen utama *Neutrophils Extracellular Traps* (NETs) yang dapat memodulasi respon imun bawaan dan adaptif. Christian Lood et al. mendapatkan hasil penelitian bahwa keberadaan S100A8/A9 pada monosit dan PMN dan sel B yang semua merupakan sel yang berperan dalam respon inflamasi pada SLE (Lood et al., 2011). Penelitian yang dilakukan Iwona Homa et al. menemukan konsentrasi kalprotektin yang lebih tinggi pada kelompok studi dibanding kelompok kontrol. Kadar kalprotektin secara signifikan lebih tinggi pada pasien dengan SLE yang kadar dsDNA-nya sangat tinggi dibandingkan dengan yang kadar dsDNA-nya tetap normal. Kalprotektin berkorelasi dengan penanda eksaserbasi SLE (Homa-Mlak et al., 2022).

Muhammad Recai mendapatkan hasil penelitian SII lebih tinggi pada kasus dengan SLE daripada kelompok kontrol ($p < 0,000$) (Akdogan and Melikoglu, 2024). Sel-sel ini penting untuk respons imun dan sering berubah pada penyakit autoimun. Neutrofil yang meningkat selama peradangan dan infeksi, berkontribusi terhadap kerusakan jaringan dengan melepaskan *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan enzim proteolitik. Neutrofil pada SLE dapat membentuk *Neutrophil Extracellular Traps* (NET), memperburuk peradangan dan cedera jaringan. Limfosit, terutama sel T dan sel B, penting untuk respons imun adaptif. Fungsi limfosit yang tidak teratur dan proliferasi dapat menyebabkan produksi autoantibodi dan peradangan berkelanjutan. Jumlah dan rasio limfosit dapat menunjukkan tingkat aktivasi imun dan autoimunitas pada pasien SLE. Monosit, yang berdiferensiasi menjadi makrofag dan sel dendritik dalam jaringan, penting untuk fagositosis dan produksi sitokin. Kadar monosit meningkat pada kondisi inflamasi seperti SLE, yang menyebabkan kerusakan jaringan dan inflamasi kronis. Trombosit terlibat dalam inflamasi dan hemostasis. Aktivasi dapat menyebabkan kerusakan pembuluh darah dan mengintensifkan respons inflamasi. Peningkatan jumlah trombosit pada SLE atau aktivasi dapat dikaitkan dengan aktivitas penyakit dan keterlibatan organ (Yang et al., 2025).

1.6.5 Kerangka Teori



1.6.6 Desain Konseptual



BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Tempat dan Waktu Penelitian

2.1.1 Tempat Penelitian

- a. Instalasi Rawat Inap dan Poliklinik Reumatologi RS Wahiddin Sudirohusodo Makassar untuk rekrutmen sampel
- b. Laboratorium Patologi Klinik RS Wahidin Sudirohusodo Makassar
- c. Laboratorium Unit Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin (FK UH) atau Rumah Sakit Pendidikan Universitas Hasanuddin

2.1.2 Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan mulai bulan Agustus 2025 hingga jumlah sampel terpenuhi

2.2 Alat dan Bahan

Penelitian ini menggunakan beberapa alat dan bahan untuk mendukung kelancaran proses pengambilan sampel dan pengumpulan data. Alat yang digunakan antara lain alat tulis, kertas, peralatan laboratorium seperti vakum vakutainer, jarum, alkohol swab, plester, *ELISA reader*, dan *hematology analyzer*. Bahan yang digunakan meliputi sampel plasma dari subjek yang telah mendapat penjelasan untuk menjadi subjek penelitian dan menandatangani *informed consent* dengan tetap menjaga kerahasiaan identitas subjek penelitian

2.3 Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian observasional dengan desain *cross sectional*. Populasi penelitian adalah semua pasien yang berusia > 18 tahun yang didiagnosis SLE oleh klinisi Rheumatologi di RS Wahidin Sudirohusodo Makassar. Sampel penelitian adalah semua populasi 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. Penentuan besarnya sampel dengan menggunakan rumus Lemeshow, besar sampel yang diperlukan untuk pengujian dua sisi sebagai berikut :

$$n = \frac{(Z_{1-\alpha/2} + Z_{1-\beta})^2 \times [p_1(1 - p_1) + p_2(1 - p_2)]}{(p_1 - p_2)^2}$$

$$n = \frac{(1.96 + 0.84)^2 \times [(0.70)(0.30) + (0.40)(0.60)]}{(0.70 - 0.40)^2}$$

$$n = \frac{(2.80)^2 \times (0.21 + 0.24)}{0.09} = \frac{7.84 \times 0.45}{0.09} = \frac{3.528}{0.09} = 39.2$$

n = besar sampel (40)

α = Derajat kepercayaan 95% (1.96)

β = Kekuatan penelitian 95% (1.65)

p = Estimasi proporsi

$p_1 - p_2$ = selisih rerata dua kelompok yang bermakna

Berdasarkan perhitungan sampel tersebut didapatkan jumlah minimal sampel ditambah 10% untuk *dropout* jadi 44 sampel. Jumlah sampel pada penelitian ini adalah sebanyak 77 subjek pasien SLE

2.3.1 Kriteria Inklusi

- Pasien SLE wanita maupun pria di RS Wahidin Sudirohusodo yang berusia ≥ 18 tahun
- Memiliki data pemeriksaan darah rutin
- Bersedia ikut dalam penelitian dengan menandatangani *informed consent*

2.3.2 Kriteria Eksklusi

- Subjek dengan keganasan hematologi
- Subjek dengan infeksi aktif pada saat pengambilan sampel penelitian
- Subjek dengan data klinis atau laboratorium yang tidak lengkap
- Sampel serum lipemik, ikterik atau hemolisis dan tidak dapat dilakukan pengambilan spesimen ulang

2.3.3 Analisis Data

Semua data yang diperoleh dicatat dalam formulir data penelitian, kemudian dikelompokkan berdasarkan tujuan dan jenis data. Selanjutnya dipilih metode statistik yang sesuai. Analisis data dilakukan menggunakan SPSS versi 25.

Analisis statistik dilakukan adalah :

- a. Perhitungan statistik diskriptif dan sebaran frekuensi
- b. Uji statistik :
 - 1) *Kolmogorov-Smirnov test* untuk menilai normalitas data
 - 2) Uji korelasi *Spearman* karena data tidak terdistribusi normal
 - 3) Uji *Kruskal-Wallis* untuk membandingkan perbedaan antar kelompok
 - 4) Hasil uji statistik signifikan jika $p \leq 0,05$

2.3.4 Izin Subjek Penelitian dan Kelayakan Etik

Setiap tindakan pada penelitian ini dilakukan setelah pemberian informasi dan atas seizin subjek yang dijadikan sampel penelitian melalui lembar *informed consent* dan dinyatakan memenuhi persyaratan etik untuk dilaksanakan dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin-RSPTN Universitas Hasanuddin-RS Wahidin Sudirohusodo Makassar (KEPK FKUH-RSUH-RSWS) dengan nomor *Ethical Clearance* 795/UN4.6.4.5.31/PP36/2025 dan izin penelitian dari RS Wahidin Sudirohusodo dengan nomor DP.04.03/D.XIX.2/25710/2025

2.4 Pelaksanaan Penelitian

2.4.1 Alokasi Subyek

- a. Penelitian dilakukan pada pasien yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi
- b. Sampel penelitian yaitu pasien rawat inap dan rawat jalan yang didiagnosis SLE

2.4.2 Cara Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dengan beberapa tahap sebagai berikut :

- a. Pasien yang menjalani perawatan atau kunjungan ke poli RS Wahidin Sudirohusodo yang memenuhi kriteria inklusi kemudian diberikan penjelasan lengkap mengenai tujuan penelitian kepada pasien dan keluarga, jika setuju selanjutnya *informed consent* diisi dan ditanda tangan.
- b. Pengambilan darah vena pasien yang diproses menjadi serum untuk

diperiksakan kadar kalprotektin di Unit Penelitian FKUH/RSPTN Universitas Hasanuddin dengan kit ELISA

- c. Penghitungan skor Mex-SLEDAI dan nilai SII sesuai dengan rumus berdasarkan data yang ada pada rekam medis

2.4.3 Prosedur Pemeriksaan Kadar Kalprotektin Serum

A. Persiapan Sampel

Sampel yang digunakan adalah sampel serum. Simpan sampel darah pada suhu ruangan selama 2 jam atau pada suhu 4°C semalaman. Setelah pengambilan kemudian disentrifus selama 20 menit dengan kecepatan 1000×g atau 3000 rpm untuk segera dideteksi. Disimpan dalam aliquot pada suhu -20°C dalam waktu 3 bulan atau suhu -80°C dalam waktu 6 bulan. Hindari siklus beku-cair berulang

B. Alat dan Bahan

Alat

- a. ELISA *microplate reader* dengan absorbansi pada 450 nm
- b. Kertas saring
- c. *Multichannel pipette* dan *disposable pipette tips*
- d. Tabung steril dan *Eppendorf tube*
- e. Inkubator 37°C
- f. *Plate sealer*
- g. *Microcentrifuge tubes*
- h. 0.01 mol/L *Phosphate Buffered Saline* (PBS), pH7.0-7.2

Bahan :

- a. *Deionized* atau *distilled water*
- b. *Lyophilized Standard*
- c. Spesimen serum

Human calprotectin (S100A8/S100A9 Heterodimer) ELISA Kit :

- 1) *Detection Reagent A*
- 2) *Detection Reagent B*
- 3) *Concetrated wash buffer*
- 4) *TMB Substrate*
- 5) *Assay diluent A*
- 6) *Assay diluent B*

- 7) *Wash buffer*
- 8) *Stop Solution*.

C. Prinsip Tes

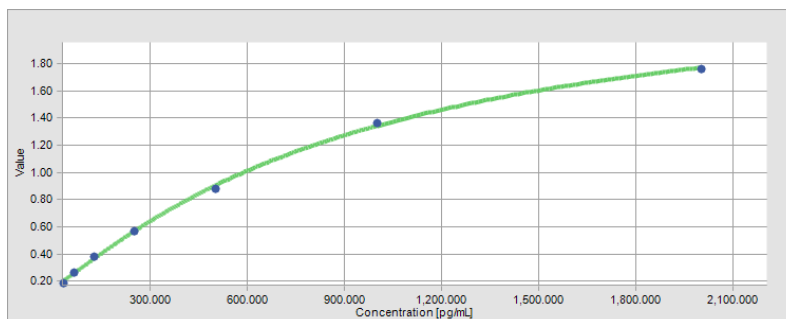
Pemeriksaan ini menggunakan metode *sandwich Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) untuk mengukur kadar kalprotektin serum secara kuantitatif *in vitro*. *Micro plate* ELISA telah dilapisi dengan antibodi spesifik terhadap S100A8. Antibodi S100A9 terkonjugasi biotin digunakan sebagai antibodi deteksi. Standar atau sampel ditambahkan ke dalam ELISA *plate wells* untuk digabungkan dengan antibodi yang telah dilapisi sebelumnya. Selanjutnya, avidin yang terkonjugasi dengan Horseradish Peroxidase (HRP) ditambahkan ke setiap sumur dan diinkubasi. Setelah tahap pencucian, larutan substrat TMB ditambahkan, hanya sumur yang mengandung kalprotektin, antibodi berbiotin, dan avidin berkonjugasi enzim yang akan menunjukkan perubahan warna. TMB dikatalisis oleh HRP untuk menghasilkan produk berwarna biru yang berubah menjadi warna kuning. Reaksi enzim-substrat kemudian dihentikan dengan penambahan larutan asam sulfat, lalu perubahan warna diukur secara spektrofotometri pada panjang gelombang $450 \text{ nm} \pm 10 \text{ nm}$. Konsentrasi kalprotektin dalam sampel kemudian ditentukan dengan membandingkan nilai O.D sampel terhadap kurva standar.

D. Persiapan Reagen

- a. Seluruh komponen kit dan sampel dibawa ke suhu ruang ($18\text{--}25^\circ\text{C}$) sebelum digunakan.
- b. Standar direkonstitusi dengan 1,0 mL pengencer standar, kemudian didiamkan selama 10 menit pada suhu ruang dan dihomogenkan perlahan. Konsentrasi standar pada larutan stok adalah 100 ng/mL. Tujuh tabung yang masing-masing berisi 0,5 mL pengencer standar harus disiapkan, lalu dibuat seri pengenceran dua kali lipat
- c. Reagen Deteksi A dan B. Reagen stok disentrifugasi singkat sebelum digunakan, kemudian diencerkan 100 kali dengan pengencer uji A dan B hingga mencapai konsentrasi kerja.
- d. Sebanyak 20 mL *wash solution* pekat diencerkan dengan 580 mL air deionisasi atau air suling hingga diperoleh 600 mL *wash solution*.
- e. Substrat TMB volume yang diperlukan diambil dengan ujung pipet steril, dan sisa larutan tidak boleh dikembalikan ke dalam botol.

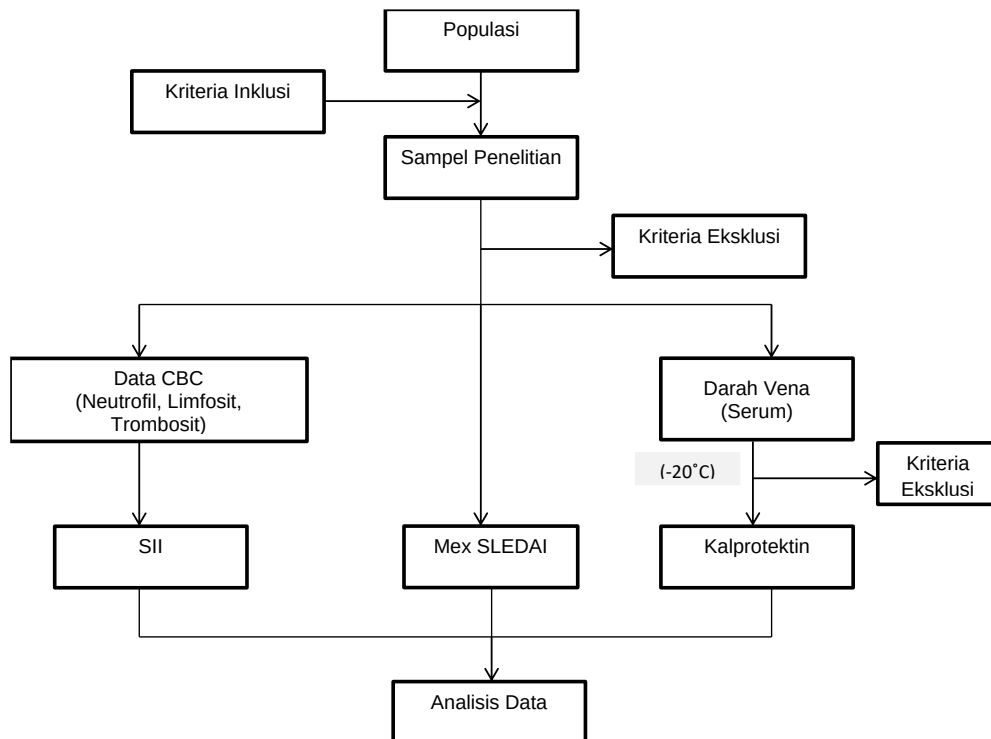
E. Cara Kerja

- Sumur untuk standar terencerkan, *blank*, dan sampel ditentukan terlebih dahulu. Tujuh sumur disiapkan untuk standar dan satu sumur disiapkan untuk *blank*. Sebanyak 100 μL standar, blank, dan sampel ditambahkan ke sumur yang sesuai. *Plate* kemudian ditutup dengan *plate sealer* dan diinkubasi selama 1 jam pada suhu 37°C .
- Cairan pada setiap sumur dibuang tanpa pencucian.
- Sebanyak 100 μL larutan Reagen Deteksi A ditambahkan ke setiap sumur, kemudian *plate* ditutup dengan *plate sealer* dan diinkubasi selama 1 jam pada suhu 37°C .
- Larutan dari *plate* diaspirasi atau dibuang, lalu setiap sumur dicuci dengan 350 μL *wash buffer* 1 $\times$. *Plate* didiamkan 1–2 menit, kemudian cairan sisa dihilangkan sepenuhnya. Proses pencucian ini diulang tiga kali.
- Sebanyak 100 μL larutan Reagen Deteksi B ditambahkan ke setiap sumur, kemudian *plate* ditutup dengan *plate sealer* dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C .
- Proses aspirasi atau pencucian diulangi hingga lima kali.
- Sebanyak 90 μL larutan substrat TMB ditambahkan ke setiap sumur. *Plate* ditutup dengan *plate sealer* baru dan diinkubasi selama 10–20 menit pada 37°C . Sumur harus dilindungi dari cahaya.
- Stop solution* ditambahkan sebanyak 50 μL kedalam setiap sumur. Cairan akan berubah menjadi warna kuning. Cairan kemudian dicampurkan dengan mengetuk sisi *plate* secara perlahan.
- Tetes air dan sidik jari pada bagian bawah *plate* harus dihilangkan. Gelembung pada permukaan cairan tidak boleh ada. *Plate* kemudian dibaca segera pada 450nm menggunakan pembaca *microplate*. Rentang deteksi : 31.2-2,000 pg/mL.



Gambar kurva kalibrator pemeriksaan ELISA

2.4.4 Skema Alur Penelitian



2.5 Parameter Pemeriksaan

2.5.1 Definisi Operasional dan Kriteria Objektif

1. Pasien SLE adalah pasien yang telah didiagnosis *Systemic Lupus Erythematosus* oleh klinisi berdasarkan anamnesis, pemeriksaan fisik, berdasarkan kriteria ACR EULAR 2019 dan hasil laboratorium di RS Wahidin Sudirohusodo
2. Kalprotektin adalah protein dalam sampel serum pasien yang diukur dengan metode ELISA menggunakan *Human Calprotectin* (S100A8/S100A9 Heterodimer) ELISA kit (MybioSource,USA). Hasil dinyatakan dalam pg/mL
3. Mex SLEDAI adalah skala atau alat ukur untuk menilai aktivitas penyakit SLE.
Kriteria objektif :
 - a. Skor 0-1 : memungkinkan pasien dalam keadaan remisi (tidak aktif)
 - b. Skor 2-5 : aktivitas ringan
 - c. Skor 6-9 : aktivitas sedang
 - d. Skor 10-13 : aktivitas berat
 - e. Skor ≥ 14 : aktivitas sangat berat
4. *Systemic Immune Inflammation Index* (SII) merupakan salah satu parameter penilaian inflamasi yang dinilai berdasarkan jumlah neutrofil, limfosit dan trombosit yang tercantum pada hasil pemeriksaan CBC yang diperiksa pada saat satu kali masuk di rumah sakit. Nilai SII dinyatakan dalam satuan ($10^9/L$) dan diukur menggunakan formula sebagai berikut :

$$SII = \frac{\text{Neutrofil} \times \text{Platelet}}{\text{Limfosit}}$$