

Vol. 17, No. 2 Maret 2011

ISSN 0854-4263

INDONESIAN JOURNAL OF
**Clinical Pathology and
Medical Laboratory**

Majalah Patologi Klinik Indonesia dan Laboratorium Medik

IJCP & ML (Maj. Pat. Klin. Indonesia & Lab. Med.)	Vol. 17	No. 2	Hal. 57-126	Surabaya Maret 2011	ISSN 0854-4263
---	---------	-------	-------------	------------------------	-------------------

Diterbitkan oleh Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Klinik Indonesia

Published by Indonesian Association of Clinical Pathologists

Terakreditasi No: 43/DIKTI/Kep/2008, Tanggal 8 Juli 2008

INDONESIAN JOURNAL OF
**CLINICAL PATHOLOGY AND
MEDICAL LABORATORY**

Majalah Patologi Klinik Indonesia dan Laboratorium Medik

DAFTAR ISI

PENELITIAN

- Pemberian Protein Adhesin 38-kilodalton *Mycobacterium Tuberculosis* Peroral Meningkatkan Jumlah Makrofag dan Limfosit Usus Mencit Balb/c
(*Oral Administration of Mycobacterium Tuberculosis 38-kilodalton Adhesin Protein Increases Macrophages and Lymphocytes in Intestinal Balb/c Mice*)
Rahma Triliana, Ade A Kartosen, Dianika P Puspitasari, Sri Murwani, Sanarto Santoso, Maimun Z Arthamin 57-62
- Diazo Test as a Screening Test of Typhoid Fever: A Practical Approach
(*Uji Diazo sebagai Penyaring Demam Tifoid; Sebuah Pendekatan Praktis*)
J. Nugraha, Meiti Muljanti..... 63-66
- The Diagnostic Value of Heart-type Fatty Acid Binding Protein (h-FABP) Rapid Test Related to Cardiac Troponin I in Non ST Elevation Myocardial Infarction (NSTEMI)
(*Nilai Diagnostik Uji Cepat Heart Type Fatty Acid Binding (h-FABP) Dihubungkan dengan Troponin I pada Non ST Elevation Myocardial Infarction (NSTEMI)*)
E.R. Marpaung, Aryati, Sidarti Soehita SFHS, Yogiarto, Yusri..... 67-71
- Kadar Serum Kreatinin dan Kalium Pasien dengan dan Tanpa Diabetes Jenis (Tipe) II
(*The Creatinine Level and Potassium Serum in Patients with and without Type II Diabetic*)
Tonang Dwi Ardyanto, Tahono 72-75
- Prokalsitonin sebagai Penanda Pembeda Infeksi Bakteri dan Non Bakteri
(*Procalcitonin for the Differentiation of Bacterial and Non Bacterial Infection*)
Bastiana, Aryati, Dominicus Husada, MY. Probohoesodo 76-80
- Diagnosis Jangkitan (Infeksi) Virus Dengue dengan Uji Cepat (Rapid Test) IgA Anti-dengue
(*Diagnosis of Dengue Virus Infection with IgA Anti Dengue Rapid Tests*)
Sri Kartika Sari, Aryati 81-85
- Status Penggumpalan (Agregasi) Trombosit sebagai Faktor Prognostik Terjadinya Keluaran Klinis Strok Infark Mendadak (Strok Infark Akut)
(*The Platelet Aggregation Test as a Predictor of Clinical Outcome in Acute Infarction Stroke*)
Linda Rosita, Usi Sukorini, Budi Mulyono..... 86-96
- Hubungan antara *Flagging Atypdep* di Alat Cell-DYN 3200 dan Keberadaan *Plasmodium Spp* di dalam Darah Penderita di RSUD Dr. Soetomo Surabaya
(*Association Between Atypical Depolarization on the Cell-DYN 3200 and the Presence of Plasmodium Spp in Blood in the Dr. Soetomo Hospital Surabaya*)
Esti Rohani, J. Nugraha..... 97-101
- Korelasi antara Hitung Trombosit dengan Jumlah Cd4 Pasien HIV/AIDS
(*The Correlation between Thrombocyte and Cd4 Count in HIV/AIDS Patients*)
M.I. Diah Pramudianti, Tahono 102-106
- Pengaruh (Efek) Kemoterapi terhadap Kerja (Aktivitas) Enzim Transaminase di Penderita Kanker Payudara
(*The Chemotherapy Effect in the Activity of Transaminase Enzymes in Breast Cancer Patients*)
Helena Leppong, Mutmainnah, Uleng Bahrun 107-109

TELAAH PUSTAKA

Patogenesis dan Pemeriksaan Laboratoprium Mielofibrosis Primer (<i>Pathogenesis and Laboratory Examination of Primary Myelofibrosis</i>) Johanis, Arifoel Hajat	110-120
--	----------------

LAPORAN KASUS

Leukositosis Ber- <i>flagging</i> Bintang (*) Berpotensi Adanya Interferensi Alat Analisis Hematologi Otomatis (<i>Star (*)-flagged Leukocytosis as Indicator of Interfering Factor in Automatic Hematology Analyzer</i>) Christine Sugiarto, Leni Lismayanti, Nadjwa Zamalek Dalimoenthe	121-124
--	----------------

INFORMASI LABORATORIUM MEDIK TERBARU	125-126
--	----------------

PEMBERIAN PROTEIN ADHESIN 38-KILODALTON MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS PERORAL MENINGKATKAN JUMLAH MAKROFAG DAN LIMFOSIT USUS MENCIT BALB/c

(Oral Administration of Mycobacterium tuberculosis 38-Kilodalton Adhesin Protein Increases Macrophages and Lymphocytes in Intestinal BALB/c MICE)

Rahma Triliana¹, Ade A Kartosen², Dianika P Puspitasari², Sri Murwani³, Sanarto Santoso³, Maimun Z Arthamin¹

ABSTRACT

Tuberculosis (TB), caused by *Mycobacterium tuberculosis* (M.tb), is one of the world health problems. Oral vaccination of M.tb has a potential to reduce the risk and complication of TB. The 38-kDa adhesin protein as one of oral TB vaccine candidates has not been proven. This study is aimed to determine M.tb 38-kDa adhesin protein effect on macrophage and lymphocyte numbers in mice intestine after an oral administration. BALB/c mice (n=20), age 6–8 weeks, and were divided into 4 groups: control (K), adjuvant (A), 38-kDa 100µg adhesin protein (P), and combination of 100µg 38-kDa adhesin protein with adjuvant (PA). An oral administration was given at the beginning with 2 boosters every 4 weeks. After 3 days of the second booster, the mice were killed and the intestine was taken and stained with haematoxylin eosin (HE) to measure its macrophages and lymphocytes number. The mean \pm 2SD were 18.4 (3.71) and 6.09 (0.34), 23.0 (7.78) and 8.86 (1.19), 42.2 (13.63) and 23.49 (3.91), 95.4 (30.11), and 53.57 (13.79) respectively for K, A, P and PA group. The statistical test showed a significant difference among each group revealing the role of M.tb 38-kDa adhesin protein as immunogenic inducing cellular immunity in intestine. In this study, so far it was found that the oral administration of M. tb 38-kDa adhesin protein has an ability to increase macrophage and lymphocyte numbers in the mice intestinal BALB/c.

Key words: *Mycobacterium tuberculosis, 38-kDa adhesin protein, mice intestinal macrophages and lymphocytes*

ABSTRAK

Tuberkulosis (TB) yang disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis* (M. tb), masih menjadi masalah kesehatan dunia. Vaksinasi oral M.tb diharapkan mampu mengurangi risiko infeksi dan komplikasi TB. Protein Adesin 38kDa M.tb adalah salah satu kandidat vaksin oral M.tb yang belum teruji potensinya. Penelitian ini dilakukan untuk menentukan potensi protein tersebut dalam meningkatkan jumlah makrofag dan limfosit usus mencit pada pemberian per-oral. Mencit BALB/c (n=20), usia 6–8 minggu, dibagi dalam 4 kelompok: kontrol (K), Ajuvan (A), Protein Adesin 38kDa M.tb 100 µg, (P), dan Protein Adesin 38kDa M.tb 100 µg dengan Ajuvan (PA). Pemberian oral dilakukan di awal penelitian dengan ulangan 2 kali setiap 4 minggu. Tiga hari setelah pemberian ulangan ke dua, mencit dibunuh dan usus diambil untuk pengecatan Hematosilin Eosin (HE) dan penghitungan jumlah makrofag dan limfosit usus. Rerata \pm 2SD adalah 18,4 (3,71) dan 6,09 (0,34), 23,0 (7,78) dan 8,86 (1,19), 42,2 (13,63) dan 23,49 (3,91), serta 95,4 (30,11), dan 53,57(13,79) secara berurutan untuk kelompok K, A, P dan PA dengan hasil uji statistik yang signifikan. Hal ini menunjukkan bahwa protein adesin 38kDa M.tb berpotensi sebagai imunogen dalam mengimbas respon imun seluler di usus. Pemberian peroral protein adesin 38kDa M.tb dapat meningkatkan jumlah makrofag dan limfosit usus mencit BALB/c.

Kata kunci: *Mycobacterium tuberculosis, protein adesin 38kDa, makrofag dan limfosit usus mencit*

PENDAHULUAN

Penyakit tuberkulosis (TB) merupakan salah satu infeksi bakteri kronik yang menjadi salah satu sasaran *Millenium Development Goal* (MDG) di bidang kesehatan.¹ Penyakit akibat satu infeksi *Mycobacterium tuberculosis* (M.tb) ini diperkirakan

menyerang 1 dari 3 penduduk dunia atau jumlah keseluruhan sekitar 2 milyar orang, sehingga TB menyumbang 2,5% penyakit pembeban dunia (*global burden of disease*) dan menduduki posisi ke-7 penyebab kematian utama dunia pada tahun 2004.² Di Indonesia, kematian akibat TB di penduduk non-HIV dan HIV positif adalah 37 dan 2,4 dengan

1 Departemen Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya/RS Saiful Anwar Malang, E-mail: r_triliana@yahoo.com

2 Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

3 Departemen Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya/RS Saiful Anwar Malang

jumlah penderita penyakit (prevalensi) dan kejadian pada tahun 2007 berkisar antara 244 dan 228 per-100.000 penduduk.¹ Hal ini menyebabkan jumlah penderita TB Indonesia berada di peringkat ketiga terbesar di Dunia setelah India dan Cina.² Laporan Riset Kesehatan Dasar tahun 2007 oleh Departemen Kesehatan RI menunjukkan bahwa 17 provinsi di Indonesia memiliki jumlah penderita penyakit TB di atas peringkat nasional, dengan usia tertinggi ≥ 65 tahun dan penderita laki-laki 20% lebih banyak dibandingkan perempuan dengan jumlah penderita tiga kali lebih banyak di desa dan empat kali lebih banyak di penduduk berpendidikan rendah.³ Hal ini membuat TB menjadi salah satu isu global dan nasional yang perlu segera ditangani.

Meningkatnya jumlah penderita HIV/AIDS juga turut berperan pada peningkatan jumlah penderita TB di negara yang awalnya sudah berhasil mengendalikannya.⁴ Upaya penanganan TB tidak hanya dilakukan di level penyembuhan (kurasi),¹⁻² tetapi juga pencegahan.⁵ Vaksinasi merupakan siasat pencegahan pilihan guna menurunkan kejadian, jumlah penderita berpenyakit dan kematian akibat TB melalui permulaan (inisiasi) kekebalan, sehingga mencegah dan memotong rantai pemindahan (transmisi) M.tb.⁵

Bacillus Calmette-Guerin (BCG) merupakan satu-satunya vaksin TB, yang paling sering dipakai dan memiliki efikasi tinggi untuk TB milier dan luar paru (ekstrapulmoner) di anak dan orang dewasa, dengan tingkat keamanan yang tinggi dan kemampuan mengimbas tatanan kebalan cairan tubuh (menginduksi sistem imun humoral) maupun sel yang baik.⁶ Namun, beberapa penelitian menunjukkan bahwa BCG tidak efektif dalam mencegah TB Paru di daerah endemis⁷ dan geografis tertentu⁸ sehingga kemanjuran BCG terhadap TB beragam dari 0% di India sampai 50–80% di Inggris.⁶ Di samping itu kemanjuran juga berbeda di pasien TB dengan HIV positif, pasien dengan pajanan *Mycobacterium spp* dari lingkungan⁷, faktor daya tahan inang (terkait genetik, status imunitas, level nutrisi dan sosial ekonomi) dan penggunaan jenis sediaan BCG juga turut berperan dalam efikasi TB.⁶⁻⁸ Variasi efikasi ini meningkatkan keperluan mendesak ditemukannya bahan vaksin TB yang mampu memberikan perlindungan dan imunoterapi yang dapat digunakan di pasien pengidap HIV-positif atau pernah terpajan M.tb dari lingkungan atau pernah diberi vaksin dengan BCG yang aman dipakai dalam jangka pendek maupun panjang.^{6,9,10}

Penemuan terakhir mengarah pada pengembangan vaksin yang berasal dari molekul terlekat (adhesi) bakteri yang digabungkan dengan bahan pembantu selaput lendir (ajuvan mukosal) atau diberikan lewat selaput lendir (vaksin mukosal).¹¹ Respon imun mukosal terhadap antigen protein adhesin bakteri

akan menghambat perlekatan bakteri di sel inang dan mencegah pengkolonian di permukaan selaput lendir,¹² sehingga adesi protein dapat menjadi calon vaksin TB yang baru.

Penelitian adesi protein sebagai calon vaksin TB pernah dilakukan oleh Tandy,¹³ yang dilakukan dalam dua tahap yakni isolasi dan penentuan berat molekul protein adhesin M.tb B665BT (38 kDa) serta pembuktian kemampuan protein adhesin 38 kDa M.tb tersebut dalam meningkatkan respon imun humoral (*secretory IgA* (S-IgA)) di usus dan cabang tenggorok (bronkiolus) mencit BALB/c setelah pemberian lewat rongga mulut.¹³ Respon imun utama di kuman dalam sel termasuk M.tb adalah imunitas seluler (*cell mediated immunity*) berupa fagositosis oleh makrofag yang tergiatkan sebagai komponen kekebalan bawaan (*innate immunity*) dan penurunan suhu berangsur (lisis) sel terinfeksi oleh limfosit-T sitotoksik yang merupakan komponen kekebalan yang didapat (*acquired immunity*).¹⁴⁻¹⁵ Salah satu syarat antigen berkemungkinan imunogenik untuk pemvaksinan ialah kemampuannya untuk mengaktifasi sistem kekebalan, baik kekebalan bawaan maupun bersui (adaptif).¹⁶ Kemungkinan imunogenik protein adhesin 38-kDa M.tb dalam respon imun seluler (peningkatan jumlah makrofag dan limfosit) di mukosa usus belum pernah diteliti. Oleh sebab itu, penelitian ini dilakukan sebagai sebuah penelitian lanjutan untuk mengamati respon makrofag dan limfosit setelah pemberian protein adhesin 38-kDa lewat rongga mulut di hewan coba, sehingga diharapkan dapat menjadi bahan dasar vaksin oral dan sarana diagnosis kebalan (imunodiagnostik) TB yang baru.

METODE

Rancangan penelitian dan hewan coba

Penelitian dilaksanakan secara eksperimental di laboratorium menggunakan rancangan penelitian variabel pascapenelitian dengan pembandingan/kontrol (*post-test only design with control*) di hewan coba mencit BALB/c. Duapuluh ekor mencit jantan BALB/c, berumur 6–8 minggu dibagi menjadi empat (4) kelompok, yakni mencit tanpa imunisasi (K), mencit dengan imunisasi ajuvan ISCOMs saja (A), protein adhesin 38-kDa 100 μ g saja (P) dan gabungan adhesin 38-kDa 100 μ g- ajuvan ISCOMs lewat rongga mulut (PA).

Pemberian imunisasi lewat rongga mulut protein adhesin 38-kDa M.tb.

Setelah disesuaikan di lingkungan laboratorium selama satu (1) minggu, mencit kelompok K disonde dengan PBS, kelompok A dengan ISCOMs 12 μ g,

kelompok P dengan protein adesin 38-kDa 100 μ g dan kelompok PA dengan protein adesin 38-kDa 100 μ g gabungan ISCOMs 12 μ g. *Booster* dilakukan 2 kali dengan selang 4 minggu untuk menimbulkan respon imun sekunder setelah imunisasi.

Pengambilan contoh usus mencit dan pemeriksaan penyakit jaringan (histopatologi) usus

Tiga hari setelah *booster* ke dua dengan harapan respon imun seluler telah mencapai kadar terbanyak, hewan coba dibunuh setelah preanestesi. Perut kemudian dibuka dan ujung usus halus (ileum terminalis) sepanjang 10 cm diambil, direkat-ikatkan (difiksasi) dengan formalin berdapar netral (*neutral buffered formalin*) 10% untuk persiapan (preparasi) pembuatan kaca obyek (*slide*). Pemeriksaan histopatologi usus dilakukan dengan pengecatan *hematoxyllin eosin* (HE). Pada pengecatan HE, makrofag tercatat sebagai sel besar dengan inti bulat atau berlekuk dengan inti berwarna ungu kebiruan, sedangkan limfosit sebagai sel bulat berinti tunggal (mononukleus) yang besar, membulat (sferis) dan kadang-kadang sedikit berlekuk, warna gelap dengan sitoplasma jernih.¹⁷ Gambaran mikroskopis makrofag dan limfosit dinilai dengan mikroskop cahaya *Olympus* dengan pembesaran 1000 \times dan dihitung sepuluh lapang pandang dengan tiga kali pengulangan oleh tiga (3) peneliti yang berbeda.

Analisis statistik

Data dianalisis sebagai data kelompok dan disajikan dalam bentuk rerata simpang baku (standard deviasi) ($\bar{x} \pm SD$) dan diuji beda dengan uji-t contoh bebas (*independent sample t-test*) untuk membandingkan perbedaan rerata di kelompok K, A, P dan PA dengan nilai $p < 0,05$ dianggap bermakna.

HASIL DAN PEMBAHASAN

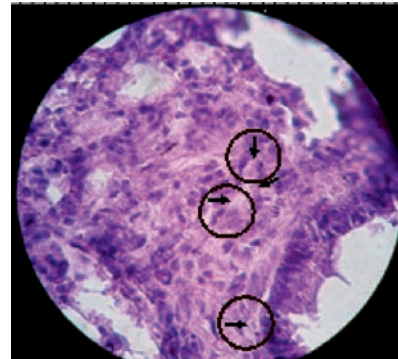
Gambaran makrofag dan limfosit di lapisan usus setiap kelompok disajikan di gambar 1 dan 2, sedangkan hasil penghitungan di tabel 1.

Tabel 1. Rerata (SD) penghitungan jumlah makrofag dan limfosit usus mencit BALB/c

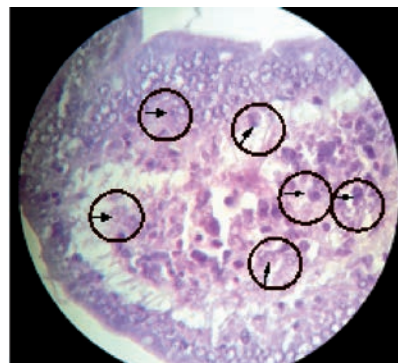
Kelompok	Jumlah Makrofag usus mencit $\frac{10}{lpb}$	Jumlah Limfosit usus mencit $\frac{10}{lpb}$
K (n=5)	18,4 (3,71) *♦♦	6,09 (0,34) *♦♦
A (n=5)	23,0 (7,78) *♦♦	8,86 (1,19) *♦♦
P (n=5)	42,2 (13,63) **♦	23,49 (3,91) **♦
PA (n=5)	95,4 (30,11) **♦	53,57 (13,79) **♦

Keterangan

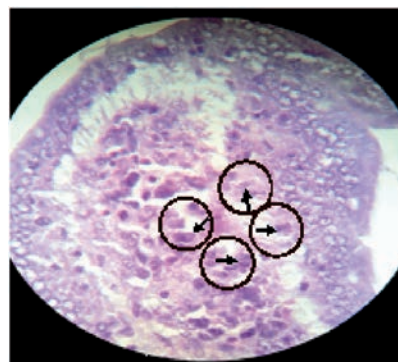
- * Berbeda bermakna dengan kelompok kontrol (K),
- + berbeda bermakna dengan kelompok ajuvan (A),
- ♦ Berbeda bermakna dengan kelompok protein adesin 38-kDa (P),
- ♣ Berbeda bermakna dengan kelompok protein adesin 38-kDa dan ajuvan (PA).



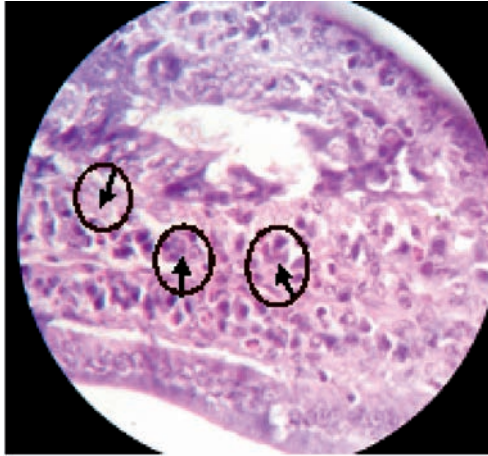
Gambar 1A. Makrofag di lapisan mukosa usus kelompok kontrol (K). Tanda lingkaran menunjukkan bentukan makrofag (pembesaran 1000 \times , mikroskop cahaya).



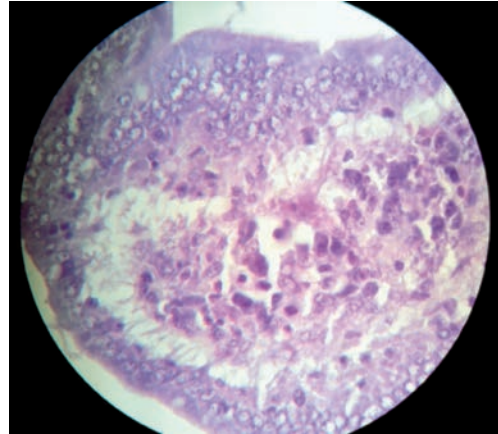
Gambar 1B. Makrofag di lapisan mukosa usus kelompok ajuvan (A). Tanda lingkaran menunjukkan bentukan makrofag (pembesaran 1000 \times , mikroskop cahaya).



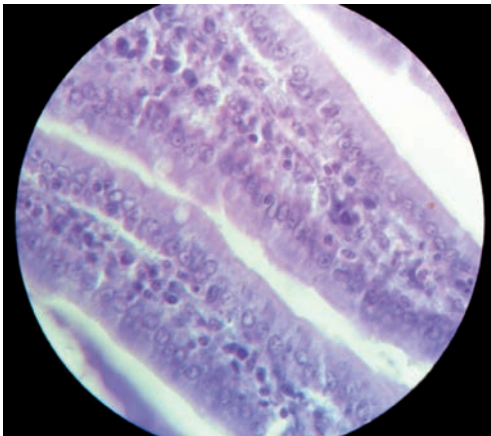
Gambar 1C. Makrofag di lapisan mukosa usus kelompok 100 μ g Protein adesin (P). Tanda lingkaran menunjukkan bentukan makrofag (pembesaran 1000 \times , mikroskop cahaya).



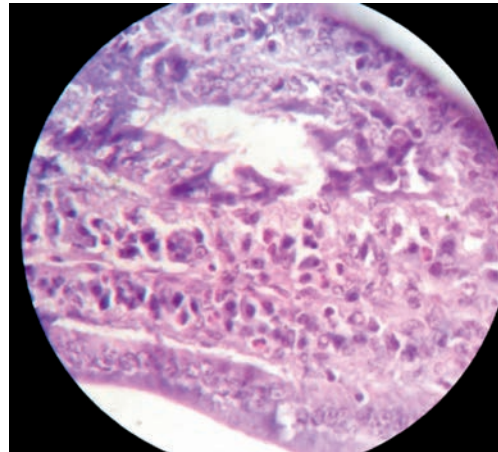
Gambar 1D. Makrofag di lapisan mukosa usus kelompok Protein adesin ajuvan (PA). Tanda lingkaran menunjukkan bentukan makrofag (pembesaran 1000×, mikroskop cahaya).



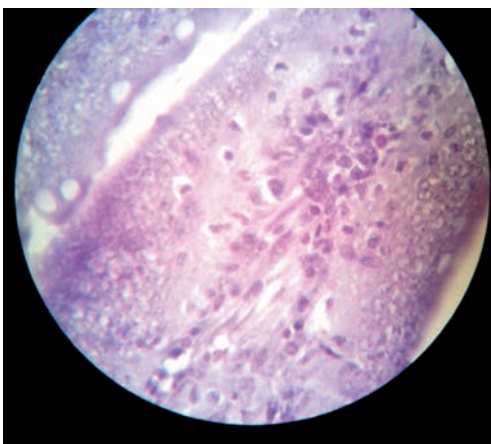
Gambar 2C. Limfosit di lapisan mukosa usus kelompok P. Tanda lingkaran menunjukkan limfosit (pembesaran 1000×, mikroskop cahaya).



Gambar 2A. Limfosit di lapisan mukosa usus kelompok kontrol (K). Tanda lingkaran menunjukkan bentukan limfosit (pembesaran 1000×, mikroskop cahaya).



Gambar 2D. Limfosit di lapisan mukosa usus kelompok PA. Tanda lingkaran menunjukkan limfosit (pembesaran 1000×, mikroskop cahaya).



Gambar 2B. Limfosit di lapisan mukosa usus kelompok dengan ajuvan (A). Tanda lingkaran menunjukkan bentukan limfosit (pembesaran 1000×, mikroskop cahaya).

Dari hasil telitian didapatkan perbedaan yang bermakna antara rerata jumlah makrofag dan limfosit di mukosa usus mencit BALB/c yang diimbas dengan protein adesin 38-kDa M.tb dosis 100µg lewat rongga mulut antara kelompok kontrol, ajuvan, protein adesin saja dan gabungan protein adesin dengan ajuvan, dengan urutan jumlah berturut-turut dari jumlah tertinggi ke terendah adalah kelompok PA, P, A, dan K, baik untuk jumlah makrofag maupun bagi limfosit. Hal ini menunjukkan bahwa telah terjadi imbasan imunitas seluler di usus dengan penggunaan ajuvan saja, protein saja dan gabungan protein dan ajuvan dibandingkan dengan kontrol.

Fungsi primer usus sebagai alat tubuh penyerap pergizian (organ absorpsi nutrisi) membuat usus terpajan berbagai antigen makanan, bakteri, maupun mikroorganisme penyerbu (invasif) lainnya, sehingga diperlukan sistem kekebalan yang melindungi dan terpilih. Adanya makrofag dan limfosit di kelompok kontrol merupakan suatu hal yang normal di hewan

dan manusia sehat seperti pada penelitian Fergusson dan Parrot pada tahun 1972¹⁸ mengingat fungsinya di sistem imun. Jumlah makrofag dan limfosit di jaringan usus kelompok kontrol paling rendah dibandingkan dengan kelompok lain menjadi bukti penunjang adanya sistem kekebalan seluler dasar di usus mencit yang dapat diimbaskan dengan pemajanan antigen.

Pemberian ajuvan (*Immunostimulatory complexes* (ISCOMs)) saja mampu meningkatkan jumlah makrofag dan limfosit dibandingkan dengan kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa ISCOMs memiliki kemungkinan imunogenik walaupun tidak tinggi. Ajuvan adalah pelengkap vaksin untuk dapat meningkatkan respon imun tubuh dan dapat digabungkan dengan butiran (partikel) kuman seperti protein permukaan.^{14,19} Penyulit perangsang kekebalan (*Immunostimulatory complexes*) adalah ajuvan dari saponin, kolesterol, fosfolipid, dan imunogen (protein) yang dapat menembus membran mukosa dan mengimbas respon imun mukosal karena dapat berperan sebagai antigen.^{19,20} Penelitian lingkungan percobaan (*in vitro*) menunjukkan bahwa ISCOMs dapat diambil (*uptake it*) dan dipertunjukkan dengan cepat oleh makrofag yang tergiatkan (APC), mampu menstimulasi proliferasi limfosit-T, ekspresi molekul perangsang ikutan (kostimulator) dan produksi sitokin.^{20,21} *Immunostimulatory complexes* juga dapat meningkatkan ekspresi MHC kelas II di makrofag dan mengubahnya menjadi APC²⁰ untuk mempertunjukkan antigen ke sel-T CD4+, pengimbasan hasil (induksi produksi) antibodi dan respon sel-T *cytotoxic* di hewan coba.^{13,20,21}

Perbedaan yang bermakna antara kelompok P, K dan A memberi petunjuk peran pemberian protein adesin 38 kDa M.tb 100µg pada peningkatan jumlah makrofag dan limfosit mukosa usus mencit, walau tidak sebaik penggunaan gabungan di kelompok PA. Protein adesin dapat menjadi pilihan vaksin untuk imunisasi mukosal¹¹ yang mengimbas perintang (*barrier*) kekebalan terhadap adesin bakteri dan mencegah permulaan jangkitan melalui imunitas spesifik adesin.^{22,23} Potensi protein adesin 38-kDa M.tb di imunitas seluler belum diteliti walau potensi humornya sudah dilakukan.¹³ Tandy, membuktikan bahwa protein hemaglutinin 38-kDa yang memiliki kadar larutan (titer) penggumpalan darah (hemaglutinasi) tertinggi merupakan protein adesin membran sel M.tb yang dapat mengimbas rembihan (*secretory*)-IgA di lumen usus dan bronkiolus dengan pemberian lewat rongga mulut.¹³ Senol *et al.*²⁴ memperkuat kemampuan protein 38-kDa dalam mengimbas pembentukan antibodi di 57,8% pasien TB, sehingga selain untuk imunisasi, protein ini juga dapat menjadi serodiagnostik TB.²⁴

Pemberian protein adesin 38-kDa M.tb gabungan dengan ajuvan memberikan respon imunogenik tertinggi dibandingkan dengan semua

kelompok. Hal ini mungkin timbul akibat gabungan imbasan peningkatan makrofag dan limfosit pada penggunaan kedua bahan ini secara bersamaan. Peningkatan makrofag membuktikan hipotesis imbasan pertunjukkan antigen oleh makrofag tergiatkan (APC), sedangkan peningkatan limfosit membuktikan adanya proliferasi limfosit dalam mukosa yang menunjukkan kemampuan gabungan bahan ini dalam mengimbas kekebalan bawaan dan yang didapat. Namun, kemampuan protein ini dalam menggiatkan kematangan limfosit, pemarkan (diferensiasi) dan pembentukan sel (sel B, sel-T, subset Sel-B dan sel T, sel plasma), maupun elemen seluler lain belum diketahui. Respon imun seluler terhadap kuman dalam sel dan *mycobacterium* lebih dominan dibandingkan dengan cairan tubuh, sehingga peningkatan makrofag sebagai pemengaruh (efektor) utama dan limfosit-T sebagai pendukung kekebalan lebih optimal menghadapi M.tb.²⁶ Pemberian gabungan bahan ini akan meningkatkan ekspresi MHC kelas II, menggiatkan sel T CD4+, meningkatkan jumlah makrofag dan limfosit^{13,20,21} yang akhirnya akan mengaktifkan sistem kekebalan cairan tubuh melalui pelepasan mediator inflamasi seperti IL-1, IL-6, TNF- α dan TGF- β ¹⁴, sehingga penggunaan gabungan bahan ini akan mengimbas kekebalan seluler dan cairan tubuh, sehingga cocok sebagai calon vaksin mukosa.

Penelitian ini merupakan penelitian pertama dalam menunjukkan respon imun seluler setelah pemvaksinasi lewat rongga mulut. Pemvaksinasi lewat rongga mulut memiliki beberapa keuntungan dibandingkan dengan lewat penyuntikan. Antara lain misalnya dengan memberikan cara yang *non-invasive*, dapat mengurangi bahaya penularan infeksi, dan relatif mudah dilakukan,^{11,23} sehingga dapat diberikan kepada anak. Hal ini terbukti berpotensi imunogenik seluler maupun cairan sistemik yang baik.^{13,16} Di samping itu pengebalan penyuntikan (imunisasi parenteral) dikenal gagal merangsang jaringan limfatik mukosa untuk menghasilkan IgA pelindung.^{8,11} Vaksinasi mukosa juga akan mengimbas sistem imun permukaan mukosa yang lain melalui "*common mucosal immune system*" sehingga lebih menguntungkan,^{11,14} mengingat jalan masuk (*port of entry*) M.tb adalah saluran nafas. Pemberian vaksinasi dalam hidung (intranasal) juga dapat sebagai pilihan.²⁷ Namun, cara memberikan dan dosis pemberian sulit ditentukan dengan tepat²³ serta tidak dapat mengimbas organ limfoid yang jauh.²⁸

Pengecatan dengan HE saja merupakan kelemahan penelitian, karena gambaran makrofag dan limfosit hampir mirip dengan sediaan HE, sehingga memungkinkan terjadinya penghitungan ulang dan diperlukan keahlian dalam membedakan kedua sel tersebut. Oleh sebab itu, pengecatan khas makrofag dan limfosit perlu dilakukan secara imunohistokimiawi.

Simpulan telitian ini adalah, bahwa pemberian protein adesin 38-kDa M.tb lewat rongga mulut dapat meningkatkan jumlah makrofag dan limfosit di usus mencit BALB/c. Hal ini juga membuktikan kemampuan imunogen protein adesin 38-kDa M.tb pada pemberian lewat rongga mulut. Imbasan kekebalan tertinggi didapatkan pada penggunaan protein adesin 38-kDa M.tb yang digabungkan dengan ajuvan ISCOMs yang menunjukkan kemampuan imbas tertinggi. Pewarnaan yang lebih khas dengan penanda CD di permukaan makrofag dan limfosit perlu dilakukan untuk menguji peran protein adesin 38-kDa M.tb ini pada pengembangan vaksin tuberkulosis dan peran terhadap imbasan respon imun lebih lanjut, sehingga dapat diperoleh calon vaksin yang ampuh, aman dan dapat dipergunakan secara luas.

SANWACANA (UCAPAN TERIMA KASIH)

Ucapan terima kasih dan penghargaan disampaikan kepada DR. dr. Sugiharta T, SpPK, Yuda NL, SSi dan Fitri, SSi atas semua bantuan selama penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- World Health Organization (WHO). World health statistics 2009. France. World Health Organization. ISBN 97892 4 156381 9. 2009; 33–70
- Palomino JC, Leão SC Ritacco V. Tuberculosis 2007: From basic science to patient care, 1st Ed., Bernd Sebastian Kamps and Patricia Bourcillier. 2007; 263–81.
- Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Profil Kesehatan Indonesia, 2007, Catalog 351.770 212.Ind, Indonesia, 2008; 103–6.
- Glynn, J. Resurgence of Tuberculosis and The Impact of HIV Infection. British Medical Bulletin. 1998; 54: 579–93.
- Doherty TM, Andersen P. Vaccines For Tuberculosis: Novel Concepts And Recent Progress. Clin. Microbiol. Rev. 2005; 18(4):687–702
- Palomino JC, Leão SC Ritacco V. Tuberculosis 2007: From basic science to patient care, 1st Ed, Bernd Sebastian Kamps and Patricia Bourcillier. 2007; 341–60.
- Brandt L, Cunha JF, Olsen AW, Chilima B, Hirsch P, Appelberg R, Andersen P. Failure of the Mycobacterium bovis BCG Vaccine: Some Species of Environmental Mycobacteria Block Multiplication of BCG and Induction of Protective Immunity to Tuberculosis. Infection and Immunity. 2002; 70(2): 672–78.
- Andersen P, Doherty TM. The success and failure of BCG - implications for a novel tuberculosis vaccine. Nat Rev Microbiol. 2005; 3: 656–62.
- Martin C. The dream of a vaccine against tuberculosis; new vaccines improving or replacing BCG? Eur Respir J 2005; 26: 162–7.
- Martin C. Tuberculosis vaccines: past, present and future. Curr Opin Pulm Med. 2006; 12: 186–91.
- Ogra PL, Faden H, and Welliver RC. Vaccination Strategies for Mucosal Immune Responses. Clin Microbiol Rev. 2001; 14(2): 430–445.
- Holmgren J, Czerkinsky C. Mucosal Immunity and Vaccines. Nature Medicine. 2005; 11: S45–S53.
- Tandya, S. Peran Protein Adhesin Mycobacterium tuberculosis dalam Menginduksi Secretory Immunoglobulin A Mukosa Usus dan Bronkiolus Mencit Balb/c (Upaya Memperoleh Bahan Dasar Vaksin Oral Tuberkulosis). Disertasi. 2006. Malang: Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
- Abbas AK, Lichtman AK, Pober. Cellular and Molecular Immunology. 4th Ed, Philadelphia, WB. Saunders Company, 2006; 348–51
- Handojo RA. Aplikasi klinis imunologi di paru sehubungan dengan penyakit infeksi dan penyakit alergi. Disampaikan pada: Pertemuan paru ilmiah millennium. Malang, 27–28 Januari 2001.
- Ranuh IGN, Suyitno H, Hadinegoro SRS, Kartasmita CB, Pedoman Imunisasi di Indonesia. Edisi ke dua, Satgas Imunisasi Ikatan Dokter Anak Indonesia. Jakarta. 2005
- Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO. Histologi Dasar, Edisi 8, dr. Jan Tambayong. Jakarta, Indonesia. EGC, 1995.
- Ferguson, A. & Parrott, D.M.V. The effect of antigen deprivation on thymus-dependent and thymus-independent lymphocytes in the small intestine of the mouse. Clin. exp. Immunol. 1972; 12: 477.
- Elson CO, Dertzbaugh MT. Mucosal Adjuvants in: Immunology 2nd Edition, Academic Press. 1999; 817–838.
- Barr IG, Mitchell GF. ISCOMs (immunostimulating complexes): The first decade. Immunol. Cell Biol. 1996; 74: 8–25.
- Sjölander A, Cox JC, Barr IG. ISCOMs: an Adjuvant with Multiple Functions. Journal of Leukocyte Biology. 1998; 64: 713–723.
- van Ginkel, FW, Nguyen, HH, and McGhee, JR. Synopsis: Vaccines for Mucosal Immunity to Combat Emerging Infectious Diseases. Journal CDC. 2000, 6(2). (<http://www.cdc.gov/ncidod/eid/vol6no2/vanginkle.htm>, accessed on 6 March 2010).
- Doherty TM, Olsen AW, Pinxteren LV, Andersen P. Oral Vaccination with Subunit Vaccines Protects Animals against Aerosol Infection with Mycobacterium tuberculosis. Infection and Immunity. 2002; 70(6): 3111–3121.
- Senol G, Erer OF, Yalcin YA, Coskun M, Gundu AT, Bicmen C. Humoral immune Response Against 38-kDa and 16-kDa Mycobacterial Antigens in Tuberculosis. European Respiratory Journal. 2007; 29(1): 143.
- Ahmad A, Afghan S, Raykundalia C, Catty D. Diagnosis of Tuberculosis by Using ELISA to Detect 38-kDa Mycobacterial Antigen in The Patients. Journal of Islamic Academy of Sciences; 1995; 8(4): 156–158.
- Bender BS, Rowe CA, Taylor SF, Wyatt LS, Moss B, Small PA, Jr. Oral Immunization with a Replication-deficient Recombinant Vaccinia Virus Protects Mice Against Influenza. J Virol. 1996; 70: 6418–6424
- Chen L, Wang J, Zganiacz A, Xing Z. Single Intranasal Mucosal Mycobacterium bovis BCG Vaccination Confers Improved Protection Compared to Subcutaneous Vaccination against Pulmonary Tuberculosis. Infection and Immunity. 2004; 238–246.
- Wang J, Thorson L, Stokes RW, Santosuosso M, Huygen K, Zganiacz A. Single Mucosal, but not Parenteral, Immunization with Recombinant Adenoviral-Based Vaccine Provides Potent Protection from Pulmonary Tuberculosis. The Journal of Immunology. 2004; 173: 6357–65.