

Vol. 18, No. 3 Juli 2012

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. 18	No. 3	Hal. 147-210	Surabaya Juli 2012	ISSN 0854-4263
---	---------	-------	--------------	-----------------------	-------------------

Diterbitkan oleh Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Klinik Indonesia

*Published by Indonesian Association of Clinical Pathologists*

Terakreditasi No: 66b/DIKTI/KEP/2011, Tanggal 9 September 2011

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

Majalah Patologi Klinik Indonesia dan Laboratorium Medik

**DAFTAR ISI**

**PENELITIAN**

- Pemeriksaan *Prothrombin Time* dan *Activated Partial Thromboplastin Time* dengan Humaclot VA Serta Sysmex CA 500  
*(Prothrombin Time and Activated Partial Thromboplastin Time Test's Result using Humaclot VA and Sysmex CA 500)*  
**Misnah, Agus Alim Abdullah, Mansyur Arif, Burhanuddin Bahar** ..... 147-150
- Asosiasi HLA-DRB1\* dan HLA-DQB1\* dengan IgM-RF Serum pada Arthritis Reumatoid  
*(Association HLA-DRB1\* and HLA-DQB1\* with Serum IgM-RF-on Rheumatoid Arthritis)*  
**Joewono Soeroso, FM Judajana, H Kalim** ..... 151-156
- Platelet Demam Berdarah Dengue  
*(Platelets of Dengue Haemorrhagic Fever)*  
**PR Ayu, U Bahrun, M Arif** ..... 157-160
- Nilai Diagnostik **Antigen TB** dengan *Rapid Test Device* (TB Ag) untuk Tuberkulosis Paru  
*(The Diagnostic Value of TB Antigen Using Rapid Test Device (TB Ag) for Pulmonary Tuberculosis)*  
**Sri Kartika Sari, Aryati** ..... 161-167
- Bakteri Aerob Patogen dan Uji Kepekaan Antimikroba di Ruang Perawatan Penyakit Dalam  
*(Antimicrobial Susceptibility Test of Pathogenic Aerobic Bacteria at the Internal Medicine Ward)*  
**Fedelia Raya, Nurhayana Sennang, Suci Aprianti** ..... 168-171
- Korelasi Fungsi Hati terhadap Derajat Penyakit Demam Berdarah Dengue Anak  
*(Correlation of Liver Functions Test, and the Grade of Dengue Hemorrhagic Fever in Children)*  
**Ani Kartini, Mutmainnah, Ibrahim Abdul Samad** ..... 172-175
- Cryptosporidiosis Paru di Penderita TBC  
*(Pulmonary Cryptosporidiosis in TBC Patients)*  
**R. Heru Prasetyo** ..... 176-178
- Mycobacterium Tuberculosis dan PCR  
*(Mycobacterium Tuberculosis and PCR)*  
**Yuyun Widaningsih, Ismawati Amin, Nurhayana Sennang, Uleng Bahrun, Mansyur Arif** ..... 179-183
- Imunisasi Protein Adhesin 38-kDa Mycobacterium Tuberculosis Lewat Rongga Mulut Terkait Sel T CD8+ di Paru  
*(Oral Immunization with 38-kDa Adhesin Protein of Mycobacterium tuberculosis on CD8+ T Cells in Lung)*  
**Maimun Z Arthamin, Agus A Gani, Nurani Issiyah, Sanarto Santoso** ..... 184-190
- Hitung Trombosit di Sindrom Koroner Akut Terkait Low Molecular Weight Heparin (LMWH)  
*(Thrombocytes Count in Acute Coronary Syndrome Related to Low Molecular Weight Heparin (LMWH))*  
**Cyntia Kornelius, Darwati Muhadi, Mansyur Arif** ..... 191-194

**TELAAH PUSTAKA**

- Perlemakan Hati Akut di Kehamilan  
*(Acute Fatty Liver of Pregnancy)*  
**Meiti Muljanti, Leonita Anniwati, Juli Soemarsono** ..... 195-202

LAPORAN KASUS

Cold Agglutinin pada Penderita *Community Acquired Pneumonia*  
(*Cold Agglutinins in A Community Acquired Pneumonia Patient*)

**Johanis, Juli Soemarsono** .....

203–208

INFORMASI LABORATORIUM MEDIK TERBARU .....

209–210

# IMUNISASI PROTEIN ADHESIN 38-KDA MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS LEWAT RONGGA MULUT TERKAIT SEL T CD8+ DI PARU

(Oral Immunization with 38-kDa Adhesin Protein of *Mycobacterium tuberculosis* on CD8+ T Cells in Lung)

Maimun Z Arthamin<sup>1</sup>, Agus A Gani<sup>1</sup>, Nurani Issiyah<sup>2</sup>, Sanarto Santoso<sup>3</sup>

---

## ABSTRACT

The efficacy of *Bacillus Calmette-Guerin* (BCG), vaccine against tuberculosis (TB), varies widely, from 0 to 90%; and BCG mainly activates CD4+ T cells, but it fails to activate CD8+ T cells. From the previous study, 38-kDa protein is an adhesin protein. CD8+ T cells play the role in controlling *Mycobacterium tuberculosis* (M.tb) infection and contribute to the memory immunity. The objective of this study was to determine effect of oral immunization by 38-kDa adhesin protein of M.tb to increase the level of CD8+ T cells in the lung of BALB/c mice. This study used an experimental with post test control group design. The mice were divided into six groups (each group consist of 4 samples), where Group 1: were immunization orally with 100 µg 38-kDa adhesin protein of M.tb and 12 µg ISCOMs. Followed by group 2: 100 µg 38-kDa adhesin protein of M.tb, group 3: 50 µg 38-kDa adhesin protein of M.tb and 12 µg ISCOMs, and group 4: 50 µg 38-kDa adhesin protein of M.tb. Group 5: 12 µg ISCOMs. Group 6: Control. In this study was found increased level of CD8+ T cells in the lung of BALB/c mice after orally immunization with 38-kDa adhesin protein of M.tb. The highest level of CD8+ T cells was on group 1, p=0.000. Also there were found significant differences among the immunized groups, except group 2 and 3, as well as group 5 and 6 also. It can be concluded in this study that oral immunization with 38-kDa adhesin protein of M.tuberculosis could increase the level of CD8+ T cells in the lung of BALB/c mice.

**Key words:** 38-kDa adhesin protein, *mycobacterium tuberculosis*, CD8+ T cells, lung, oral immunization

## ABSTRAK

Tingkat ketepatan vaksin *Bacillus Calmette-Guerin* (BCG) untuk pencegahan terhadap tuberkulosis (TB) berkisar antara 0-90% persen, selain itu BCG hanya dapat mengaktifkan sel T CD4+ tetapi gagal untuk sel T CD8+. Didasari penelitian sebelumnya, protein 38-kDa M.tuberculosis (M.tb) terbukti merupakan protein adhesin. Sel T CD8+ berperan dalam mengendalikan imunitas dan memori respons imun terhadap infeksi M.tb. Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan pemberian protein adhesin 38-kDa M.tb lewat rongga mulut yang diduga dapat meningkatkan jumlah sel T CD8+ di dalam paru mencit BALB/c. Penelitian ini merupakan kajian cobaan murni dengan rancangan kelompok pembandingan pascauji. Mencit dibagi menjadi 6 kelompok (tiap kelompok terdiri dari 4 ekor). Kelompok 1: diimunisasi dengan protein adhesin 38kDa M.tb 100 µg dan ISCOMs 12 µg, selanjutnya kelompok 2: dengan protein adhesin 38 kDa 100 µg, kelompok 3: dengan protein adhesin 38 kDa 50 µg dan ISCOMs 12 µg, kelompok 4: dengan protein adhesin 38 kDa 50 µg, kelompok 5: dengan ISCOMs 12 µg, dan kelompok 6: tidak diimunisasi. Hasil telitian menunjukkan bahwa terdapat peningkatan jumlah sel T CD8+ di paru mencit BALB/c setelah pemberian protein adhesin 38-kDa M.tb lewat rongga mulut. Peningkatan tertinggi terlihat di kelompok 1, p=0,000. Dalam kajian ini terdapat perbedaan yang bermakna antar kelompok perlakuan, kecuali antara kelompok 2 dan 3, serta 5 dan 6. Maka dapat disimpulkan bahwa pemberian protein adhesin 38-kDa M.tb lewat rongga mulut dapat meningkatkan jumlah sel T CD8+ di paru mencit BALB/c. Temuan ini masih perlu dikaji lebih lanjut untuk potensinya sebagai bahan kandidat vaksin untuk perlindungan terhadap M.tb.

**Kata kunci:** Protein adhesin 38-kDa, *Mycobacterium tuberculosis*, sel T CD8+, paru, imunisasi lewat rongga mulut

---

## PENDAHULUAN

*Mycobacterium tuberculosis* telah menginfeksi sepertiga penduduk dunia, menurut *World Health Organization* (WHO) sekitar 8 juta penduduk dunia diserang TB dengan kematian 3 juta orang per tahun.<sup>1</sup> Angka kejadian TB di Indonesia merupakan jumlah

kasus TB terbesar ke tiga di dunia setelah India dan Cina. Di Indonesia, diperkirakan terjadi 450.000 kasus baru TB setiap tahun, sedangkan kematian karena TB diperkirakan 175.000 per tahun.<sup>2</sup>

Pencegahan terhadap penyakit tuberkulosis telah dilakukan dengan vaksin *Bacillus Calmette-Guerin*

---

<sup>1</sup> Laboratorium Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya/RSU dr. Saiful Anwar Malang Jl. JA Suprpto No. 2 Malang. E-mail: maimun70@yahoo.com. Telp: 0341-357407

<sup>2</sup> Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

<sup>3</sup> Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya-RSU dr. Saiful Anwar Malang

(BCG).<sup>3</sup> Tingkat ketepatan penggunaan vaksin BCG berkisar antara 0–90%, selain itu BCG hanya dapat mengaktifkan sel T CD4+ tetapi untuk sel T CD8+ gagal.<sup>4,5</sup> Vaksin BCG memberikan perlindungan yang kuat terhadap anak usia sekolah dari infeksi penyakit TB, akan tetapi kurang menghasilkan kekebalan pada usia dewasa di beberapa negara endemik. Sebagai contoh, kemunculan infeksi sekunder akibat resistensi terhadap M.tb dan kejadian reaktivasi TB.<sup>6</sup>

Penelitian vaksin TB yang tepat guna banyak mengalami kegagalan sampai beberapa tahun. Sepuluh tahun terakhir ini, beberapa kandidat vaksin baru telah dikembangkan, di antaranya vaksin turunan satuan DNA (*DNA-subunit vaccines*), *modified BCG*, dan M.tb yang terlemahkan (*attenuated*).<sup>6</sup> Di samping itu, pembuatan vaksin baru protein M.tb juga sedang dikembangkan.<sup>7</sup>

Mekanisme pertahanan tubuh terhadap TB berupa respons *cell mediated immunity* (CMI) merupakan hal penting dalam perlindungan awal infeksi M.tb (biasanya di paru) dan mencegah kembali kejadian tahap laten (M.tb tetap tinggal di granuloma).<sup>8</sup> Pengeluaran cairan (deplesi) sel T CD8+ dalam tubuh mempermudah kejadian reaktivasi TB yang bersifat laten. Sel T CD8+ dapat mengenali makrofag yang terinfeksi M.tb dan membunuh di dalam sel M.tb tersebut. Hal tersebut membuktikan betapa penting sel T CD8+ sebagai pengendali infeksi TB secara langsung.<sup>9</sup> Penelitian peran sel T CD8+ dalam infeksi *M.tuberculosis* dapat dikembangkan untuk vaksin TB yang tepat guna dan mendukung dalam imunodiagnostik.<sup>10</sup>

Penelitian ini merupakan kelanjutan penelitian sebelumnya oleh Tandy,<sup>11</sup> yang membuktikan bahwa protein 38 kDa M.tb adalah protein adhesin. Lebih lanjut terbukti pula bahwa saat protein ini diberikan lewat rongga mulut kepada mencit BALB/c, bahan tersebut dapat mengimbas *secretory-Immunoglobulin A* (sIgA) khas lendir/mukosa usus dan bronkhialus.<sup>11</sup> Imunisasi lewat rongga mulut dapat menghasilkan respons imun yang bersifat melindungi paru.<sup>12</sup>

Tujuan penelitian ini untuk menentukan pemberian protein adhesin 38-kDa M.tb lewat rongga mulut yang diduga dapat meningkatkan jumlah sel T CD8+ di dalam paru mencit BALB/c.

Manfaat penelitian ini antara lain, protein adhesin 38 kDa M.tb diharapkan dapat diketahui perannya sebagai bahan dasar vaksin TB, dan diagnostik laboratorik TB.

## METODE

Rancangan penelitian: Penelitian ini merupakan penelitian cobaan di hewan coba mencit.

Sampel penelitian: Pada penelitian ini digunakan mencit jantan jenis BALB/c sebanyak 24 ekor yang berumur antara 6–8 minggu. Jumlah sampel

untuk setiap perlakuan adalah 4 ekor di setiap kelompok. Pada penelitian ini, mencit dibagi menjadi 6 kelompok, yaitu di kelompok (1) mencit yang diimunisasi dengan protein adhesin 38 kDa M.tb 100 µg dan *immunostimulating complexes* (ISCOMs) 12 µg, selanjutnya kelompok (2) mencit diimunisasi dengan protein adhesin 38 kDa M.tb 100 µg. Kemudian kelompok (3) mencit diimunisasi dengan protein adhesin 38 kDa M.tb 50 µg dan ISCOMs 12 µg., kelompok (4) mencit diimunisasi dengan protein adhesin 38 kDa M.tb 50 µg., kelompok (5) mencit diimunisasi dengan ISCOMs 12 µg, dan kelompok (6) mencit tidak diimunisasi sebagai pembandingan.

## Tata Langkah Penelitian

Persiapan hewan coba. Hewan coba dipilih berdasarkan ketentuan sampel, yaitu mencit jantan BALB/c, berusia 6–8 minggu, berat badan 100–150 gram dan pada pemeriksaan fisik dinyatakan sehat, yang ditandai dengan mata jernih, bulu mengkilap, gerakan aktif dan lincah, dan tinja tidak lembek.

Penyesuaian iklim (aklimatisasi) hewan coba. Mencit dipelihara dan diadaptasikan dalam laboratorium selama enam (6) hari pada suhu ruangan yang tetap (20–25° C). Untuk tempat pemeliharaan digunakan kotak plastik berukuran 42×30×15 cm, masing-masing dihuni empat (4) ekor mencit, ditutup dengan kawat kasa dan diberi alas sekam.

Pengacakan (randomisasi) kelompok yang diteliti menjadi enam (6) jenis perlakuan.

Pemberian protein adhesin 38-kDa M.tb dan ISCOMs. Di kelompok 1 dan 3, protein adhesin 38-kDa diberikan dua macam dosis (50 µg dan 100 µg) dicampur SCOMs 12 µg dan PBS dalam tabung *Eppendorf* dengan volume 150 mL, kemudian diolak (*divortex*) selama beberapa menit dan diberikan secara lewat rongga mulut (pipa penyalur/sonde). Di kelompok 2, 4, dan 5; protein adhesin 38-kDa dengan dosis 50 µg dan 100 µg saja atau ISCOMs 12 µg saja dicampur dengan PBS dalam tabung *Eppendorf* dengan volume 150 mL, kemudian *divortex* selama beberapa menit dan kemudian diberikan secara lewat rongga mulut (sonde). Setelah 4 minggu dilakukan *booster* (vaksin ulangan) yang pertama, setelah 4 minggu dilakukan *booster* yang ke dua. Pemberian *booster* dilakukan seperti pada perlakuan pertama.

Pembedahan, pengambilan organ tubuh paru mencit. Waktu pembedahan (waktu antara *booster* ke dua dan pembedahan) pada penelitian ini adalah 3 hari, dengan tujuan respons imun seluler berupa sel T CD8+ dan mencapai jumlah terbanyak. Pembuatan sediaan jaringan tubuh (preparat histologik) paru dengan cara metode blok parafin.

Pembuatan preparat imunohistokimia paru mencit. Pertama kali, deparafinisasi dan rehidrasi jaringan paru,

selanjutnya, merintang jaringan dengan protein tidak khas. Inkubasi dengan antibodi primer dan dilanjutkan dengan antibodi sekunder. Inkubasi jaringan dalam SA-HRP Kromogen DAB digunakan, dan dilanjutkan dengan *counterstain* memakai hematoksin utama.

Pemeriksaan sediaan (preparat). Pemeriksaan preparat histologis paru dilakukan menggunakan mikroskop binokular. Sel T CD8+ dihitung dengan pembesaran 1000× di 10 lapang pandang dengan cara tiga kali pengulangan dan *double blind*.

### Analisis Statistik

Untuk uji respons imun sel T CD8+ terhadap protein adhesin 38-kDa *M.tb* dengan tingkat kemaknaan  $p < 0,05$  *One-way analysis of variance* (ANOVA). Untuk melihat perbedaan jumlah sel T CD8+ di setiap kelompok menggunakan *Post Hoc Test* (uji Tukey).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Dalam penelitian ini mencit dikelompokkan menjadi enam (6) perlakuan yang dilakukan selama ± 10 minggu, kemudian pembedahan dilakukan untuk mengambil organ paru dan selanjutnya dihitung jumlah sel T CD8+ di paru mencit tersebut. Hasil telitian tercantum dalam tabel 1 berikut.

**Tabel 1.** Rerata jumlah sel T CD8+ di setiap kelompok perlakuan

Perlakuan	Jumlah sel T CD8+ di paru mencit BALB/c per 10 lapang pandang [(rerata (SD))]
Protein adhesin 38 kDa <i>M.tuberculosis</i> 100 µg dan ISCOMs 12 µg	169,50 (25,77)
Protein adhesin 38 kDa <i>M.tuberculosis</i> 100 µg	131,75 (14,79)
Protein adhesin 38 kDa <i>M.tuberculosis</i> 50 µg dan ISCOMs 12 µg	127,75 (18,30)
Protein adhesin 38 kDa <i>M.tuberculosis</i> 50 µg	88,25 (12,34)
ISCOMs 12 µg	50,00 (7,74)
Pembanding	32,50 (10,85)

Untuk mengetahui keberadaan perbedaan pengaruh ragam dosis pemberian protein adhesin 38-kDa *M.tuberculosis* lewat rongga mulut terhadap jumlah sel T CD8+ di paru mencit BALB/c dilakukan uji analisis *oneway* ANOVA. Hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa di setiap perlakuan yang diberikan menunjukkan nilai kemaknaan sebesar 0,000 ( $p < 0,05$ ), sehingga dapat

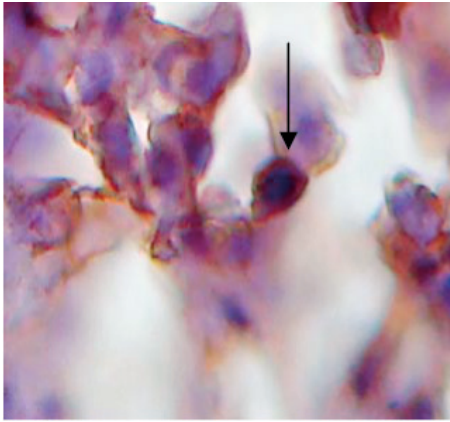
disimpulkan bahwa terdapat perbedaan pengaruh pemberian protein adhesin 38-kDa *M.tuberculosis* lewat rongga mulut yang sangat bermakna antartiap perlakuan terhadap jumlah sel T CD8+ di paru mencit BALB/c. Untuk mengetahui keberadaan perbedaan pengaruh pemberian protein adhesin 38-kDa *M.tuberculosis* lewat rongga mulut terhadap jumlah sel T CD8+ di paru mencit BALB/c antara setiap perlakuan, maka dapat dilihat hasil uji Tukey di Tabel 2. Dari hasil uji perbandingan berganda di tabel 2, terlihat bahwa terdapat perbedaan yang bermakna di jumlah sel T CD8+ antarsetiap kelompok, kecuali antara K2 dan K3 dan antara K5 dan K6 tidak berbeda secara bermakna.

**Tabel 2.** Hasil uji statistik Tukey

Perbandingan antar perlakuan	Kelompok pembanding	P
Protein adhesin 38 kDa <i>M.tuberculosis</i> 100 µg dan ISCOMs 12 µg	2	0,037
	3	0,011
	4	0,000
	5	0,000
	6	0,000
	Protein adhesin 38 kDa <i>M.tuberculosis</i> 100 µg	1
3		0,999
4		0,013
5		0,000
6		0,000
Protein adhesin 38 kDa <i>M.tuberculosis</i> 50 µg dan ISCOMs 12 µg		1
	2	0,999
	4	0,027
	5	0,000
	6	0,000
	Protein adhesin 38 kDa <i>M.tuberculosis</i> 50 µg	1
2		0,027
3		0,034
5		0,000
6		0,001
Ajuvan ISCOMs 12 µg		1
	2	0,000
	3	0,000
	4	0,034
	6	0,644
	Pembanding	1
2		0,000
3		0,000
4		0,001
5		0,644

### Gambaran Mikroskopis Sel T CD8+ di Paru

Pada penelitian ini preparat dicat menggunakan cara imunohistokimiawi dengan menggunakan bahan pewarnaan *Diamino Benzidine* (DAB), sehingga sel T CD8+ tampak berwarna kecoklatan. Gambaran sel T CD8+ di paru mencit tersebut adalah sebagai berikut: membran sel T CD8+ berwarna kecoklatan sedangkan intinya berwarna ungu kebiruan. Seperti tampak di Gambar 1 berikut.



**Gambar 1.** Sel T CD8+ pada pewarnaan imunohistokimiawi. Tampak sel T CD8+ berwarna kecoklatan di membran sel dan tampak inti bulat berwarna ungu kebiruan. Tanda panah menunjukkan bentukan sel T CD8+ (pembesaran 1000×, mikroskop cahaya).

Gambar preparat paru mencit di setiap perlakuan tampak di Gambar 2.

Pada penelitian ini, protein adhesin 38-kDa *M.tuberculosis* diberikan lewat rongga mulut karena mempunyai manfaat yang jelas baik dari segi fisik maupun kekebalan. Secara fisik vaksinasi lewat rongga mulut mempunyai kelebihan dibandingkan dengan yang BCG secara dalam kulit (intrakutan). Vaksinasi lewat rongga mulut mudah pemberiannya, dapat dilakukan oleh orang yang terlatih tanpa memerlukan bantuan tenaga medik (13). Pemberian vaksin bawah kulit (subkutan) atau dalam kulit (intradermal) memiliki bahaya kejadian penularan infeksi sistemik, memerlukan keterampilan baku untuk melakukannya, dan terdapat kemungkinan timbul respons tubuh yang negatif terhadap suntikan (12).

Ditinjau dari segi imunologis, mukosa merupakan pintu masuk (*port d'entry*) *M.tuberculosis* dan mukosa paru dilindungi oleh sistem serupa getah bening (limfoid) yang khusus, yaitu *Bronchus-Associated Lymphoid Tissue* (BALT). Imunisasi melalui satu jenis permukaan mukosa akan mengimbas sistem imun di permukaan mukosa lainnya. Sebagai contoh imunisasi lewat rongga mulut yang melalui mukosa *gastro-intestinal tract* (GIT) akan memberikan perlindungan yang sangat tinggi terhadap mukosa paru.<sup>12</sup> Czerkinsky dan Holmgren 1999, yang dikutip dari Hitchick,<sup>14</sup> menggunakan pernyataan “*Common Mucosal Immune System*”, yaitu imunitas yang timbul di membran mukosa tertentu yang juga tepat guna di selaput yang sama lainnya.<sup>14</sup>

Meskipun vaksinasi dalam hidung/intranasal lebih bagus dalam mengimbas sel T antigen khusus di saluran napas, perlakuan ini juga memiliki kekurangan. Dalam penelitian oleh Chen *et al.*,<sup>15</sup> menunjukkan bahwa vaksinasi

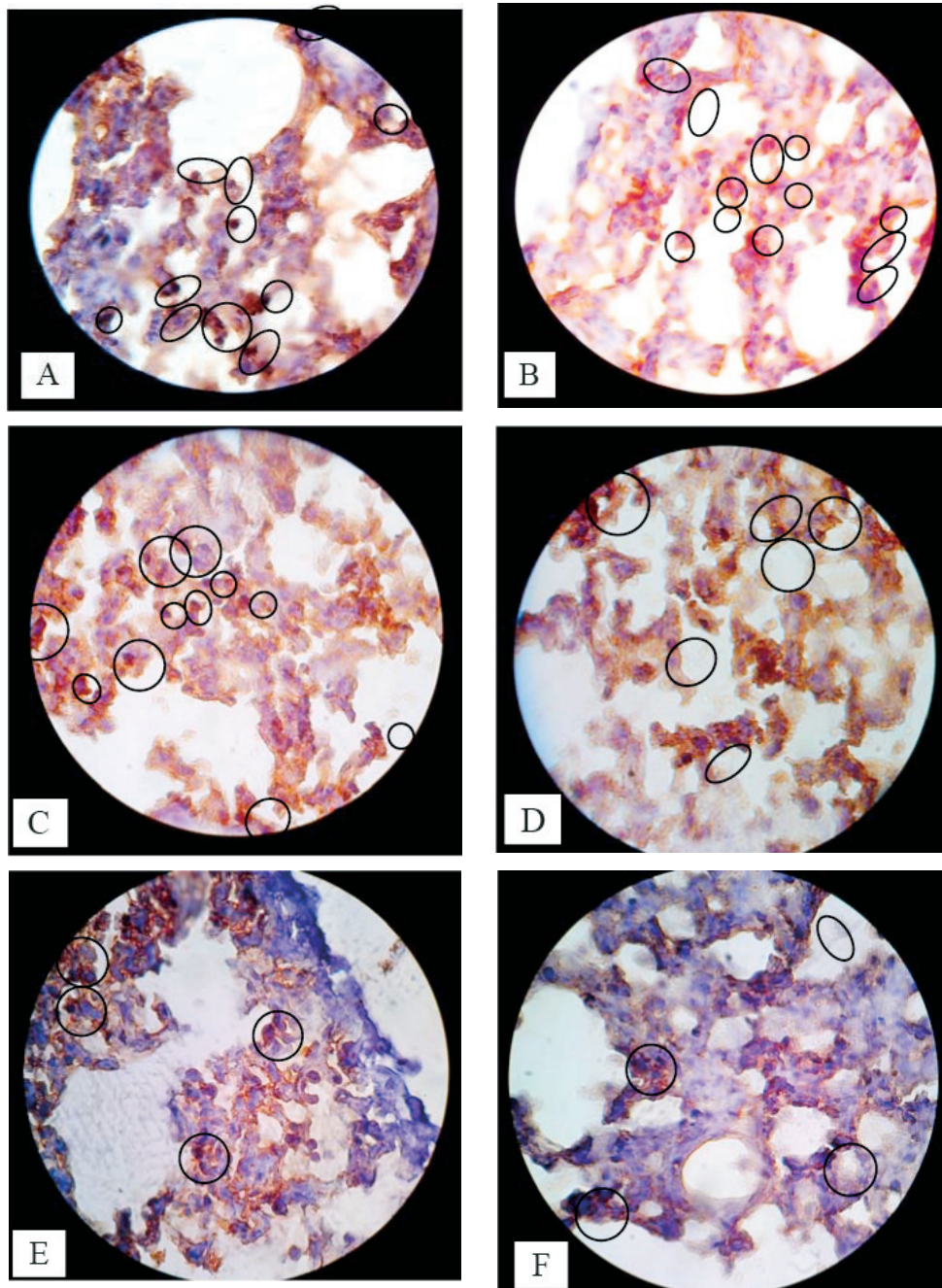
yang terkait selaput lendir/mukosal BCG intranasal hanya memberikan perlindungan lokal di paru tetapi tidak bersifat sistemik di limpa. Di samping itu, juga diperlukan dosis yang lebih tinggi dibandingkan dengan vaksinasi bawah kulit/subkutan untuk mengimbas respons imun yang terbaik di paru.<sup>15</sup>

Protein yang terdapat di dinding *M.tuberculosis* dan di komponen lainnya dapat mengimbas respons imun.<sup>14</sup> Pada penelitian oleh Shin *et al.*,<sup>16</sup> ditemukan bahwa *Mycobacterium tuberculosis heparin-binding hemagglutinin* (HBHA) berikatan kuat dengan *immunoglobulin M* (IgM) di pasien TB.<sup>16</sup> Protein ini meningkat di infeksi sel epitel, tetapi tidak yang terkait makrofag dan protein ini didapatkan di paru tetapi tidak di limpa mencit yang terinfeksi *M.tuberculosis*.<sup>17</sup>

Pelekatan (adhesi) antigen di mukosa epitel dan sel M penting dalam pengembangan respons imun mukosal. Apabila diberikan lewat rongga mulut protein yang dapat digunakan sebagai alat melekatkan dalam proses adhesi sangat tepat guna dalam mengimbas respons imun mukosal dan respons antibodi.<sup>18</sup> Pada penelitian yang dilakukan oleh Tandy,<sup>11</sup> protein 38-kDa memiliki kemampuan menggumpalkan darah tertinggi, sehingga dapat disimpulkan bahwa protein ini merupakan protein adhesin. Di samping itu juga telah dibuktikan bahwa protein adhesin 38-kDa yang diberikan lewat rongga mulut di mencit BALB/c dapat mengimbas sekresi sIgA khusus di mukosa usus dan bronkiolus.<sup>11</sup>

Di kelompok 1 didapatkan jumlah sel T CD8+ yang bermakna dibandingkan dengan kelompok pembanding. Hal tersebut menunjukkan bahwa protein adhesin 38-kDa *M.tb* dapat mengimbas respons imun sel yang berupa peningkatan jumlah sel T CD8+.

Protein adhesin 38-kDa *M.tb* dianggap sebagai benda asing oleh tubuh atau antigen. Respons imun yang bersifat melindungi sistem mukosal terdapat di bagian mikro limfoid, yang terdiri dari *Peyer's patches*, *mesenteric lymph nodes* sel serupa getah bening (limfoid) di lamina propria dan epitel usus (14). Antigen yang masuk ke dalam tubuh melalui membran mukosa akan diterima oleh sel M di *follicle associated epithelium* (FAE) yang merupakan bagian dari *Peyer's patches* usus, kemudian antigen tersebut akan diproses oleh sel dendritik di *sub-epitelial dome* (SED), yang merupakan tempat APC untuk disajikan kepada sel T di kawasan parafolikular folikel limfoid.<sup>19</sup> Apabila APC tertentu seperti sel dendritik menyajikan epitop antigen yang sudah diproses permukaannya, maka epitop tersebut akan dikaitkan ke antigen MHC kelas II, mengaktifkan sel T CD4+.<sup>20</sup> Sel T tersebut akan berdiferensiasi menjadi sel T efektor (sel T CD4+) yaitu Th1 dan Th2.<sup>14</sup> Jika antigen tersebut berada di sitoplasma maka akan merangsang sel T CD8+ melalui MHC kelas I dengan bantuan sitokin IL-2 yang dihasilkan oleh sel



**Gambar 2.** Gambar paru dengan pewarnaan imunohistokimia. **(A)** kelompok 1. **(B)** kelompok 2. **(C)** kelompok 3. **(D)** kelompok 4. **(E)** kelompok 5. **(F)** kelompok 6. Tanda lingkaran menunjukkan bentukan sel T CD8+ yang berwarna kecoklatan di membran sel dan inti sel berwarna ungu kebiruan (pembesaran 1000x, mikroskop cahaya).

Th1. Sel T CD8+ yang bersifat pelarut sel (sitolitik), dan selanjutnya akan melarutkan sel yang mengandung antigen tersebut.<sup>21</sup>

Sel T CD8+ berperan dalam mengendalikan imunitas terhadap infeksi TB akut, selain itu juga berperan dalam memori respons imun terhadap M.tb dengan cara gabungan hasil sitokin dan sifat sitotoksik.<sup>22</sup> Mencit yang mengalami kekurangan molekul seperti CD8, *Transporter associated with Antigen Processing* (TAP), dan perforin; lebih mudah terinfeksi M.tb dibandingkan dengan mencit yang mempunyai

komponen molekul tersebut.<sup>23</sup> Pada penelitian lain yang menggunakan tikus mutan dengan menyingkirkan gen 2-mikroglobulin, yaitu gen yang diperlukan untuk menunjukkan MHC kelas I, sehingga sel T CD8+ tidak berfungsi secara aktif, maka tikus akan mati dengan cepat karena infeksi M.tb tetapi tidak karena infeksi BCG.<sup>24</sup>

Setelah imunitas mukosal terpekaikan, kedua sel limfosit (yaitu sel T dan sel B) akan meninggalkan tempat awal yang mengenali antigen, melewati *lymph nodes* lokal yaitu *mesenteric lymph nodes* masuk ke



peredaran pembuluh darah, menuju membran mukosa tempat asal antigen dan berdiferensiasi menjadi sel efektor dan sel memori.<sup>25</sup> Di samping itu, antigen yang diproses oleh sel dendritik (APC) di mukosa usus akan berpindah melalui *lymph nodes* lokal dan akan tersebar melalui pembuluh darah ke mukosa efektor<sup>26</sup>, yaitu paru yang merupakan fokus utama dari M.tb.

Bahan ajuvan digabungkan dengan vaksin antigen untuk mengimbas respons imun yang kuat. Ajuvan berfungsi untuk mengimbas respons imun lebih awal, kuat dan tinggi, serta lebih lama sebagai pelindung tubuh terhadap infeksi penyakit.<sup>27</sup> *Immunostimulating complexes*, merupakan ajuvan tertentu, yang dapat meningkatkan penggambaran MHC bagi APC karena penunjukan antigen yang tepat. *Immunostimulating complexes* dapat mengimbas kadar antibodi yang tinggi dan respons sel T yang kuat, terutama untuk sel T yang teracuni (*cytotoxic*) di beberapa telitian cobaan hewan coba. *Immunostimulating complexe*) mampu membawa antigen yang diliputinya masuk ke dalam sitosol (28), sehingga mempermudah pengaktifan sel T CD8+.

Di kelompok 2 didapatkan jumlah sel T CD8+ yang meningkat bermakna dibandingkan dengan kelompok pembanding dan kelompok 1, akan tetapi jumlah sel T CD8+ dari kelompok 1 berkurang 22%. Di telitian yang dilakukan oleh Zubaidah,<sup>29</sup> menunjukkan bahwa pemberian SPT Ag di dalam hidung dengan atau tanpa ajuvan CT terdapat perbedaan gambaran respons imun IgA yang bermakna ( $p < 0,05$ ), dibandingkan dengan PBS sebagai kelompok pembanding.<sup>29</sup>

Di kelompok 5 didapatkan jumlah sel T CD8+ tidak bermakna dibandingkan dengan kelompok pembanding. Hal tersebut karena ajuvan hanya sebagai pelengkap, yaitu digabungkan dengan vaksin antigen untuk mengimbas respons imun tubuh. Istilah 'ajuvan' berasal dari bahasa Latin 'adjuvans' yang berarti menolong (*to help*).<sup>30</sup>

Di kelompok 6 didapatkan sel T CD8+ dalam jumlah sangat sedikit. Sel T CD8+ yang didapatkan di kelompok pembanding merupakan hal tertentu yang normal terjadi di hewan dan manusia yang sehat.

## SIMPULAN DAN SARAN

Pemberian protein adhesin 38-kDa *M.tuberculosis* lewat rongga mulut dapat meningkatkan jumlah sel T CD8+ dalam paru mencit BALB/c. Pemberian protein adhesin 38-kDa *M.tuberculosis* dosis 100 µg lewat rongga mulut dapat meningkatkan jumlah sel T CD8+ lebih banyak dibandingkan dengan pemberian protein adhesin 38-kDa *M.tuberculosis* dosis 50 µg.

Didasari telitian ini para peneliti menyarankan juga keperluan dilakukan penelitian lanjutan dengan memperluas ranah variabel yang diteliti,

seperti pengaruh pemberian protein adhesin 38-kDa *M.tuberculosis* terhadap sekresi sitokin yang berperan dalam respons imun seluler TB. Di samping itu perlu juga hal tersebut diteliti dengan menggunakan gabungan protein adhesin 38-kDa *M.tuberculosis* dan protein semacam lainnya yang terdapat di *M.tuberculosis*, yang mungkin lebih tepat guna dalam mengimbas respons imun.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Pertama, para peneliti menyampaikan ucapan terima kasih kepada Dirjen DIKTI yang telah mendanai penelitian ini melalui dana Program Penelitian Hibah Bersaing.

Kedua, para peneliti juga menyampaikan penghargaan dan ucapan terima kasih kepada Dr. dr. Sugiharta Tandya, Sp.PK yang banyak berperan dalam penelitian ini. Dan akhirnya kepada Fitri Armania, S.Si dan Wahyudha Ngatiril Lady, S.Si juga disampaikan penghargaan dan ucapan terima kasih, karena banyak membantu pelaksanaan penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Senol G, Erer OF, Yalcin YA, Coskun M, Gu ndu AT, Bic men C, Ertas M, Ozkan SAO. Humoral immune Response Against 38-kDa and 16-kDa Mycobacterial Antigens in Tuberculosis. *European Respiratory Journal*, 2007; 29(1): 143.
2. Utama A. Tuberkulosis. [www.infeksi.com/articles.php?lng=in&pg=57](http://www.infeksi.com/articles.php?lng=in&pg=57). 2007. Diakses tanggal 30 November 2007. Jam 11.12.
3. Martin, C. The Dream of a Vaccine Against Tuberculosis; New Vaccine Improving or Replacing BCG?. *European Respiratory Journal*, 2005; 26(1): 162–166.
4. da Fonseca DPAJ, Joosten D, van der Jee R, Jue DL, Singh M, Vordermeier HM, Snippe H, Verheul AFM. Identification of New Cytotoxic T-Cell Epitopes on the 38-Kilodalton Lipoglycoprotein of Mycobacterium tuberculosis by Using Lipopeptides. *Infection and Immunity*, 1998; 66(7): 3190–3197.
5. Sarhan, MAA. Progress in Tuberculosis Vaccines Development. *Research Journal of Medicine and Medical Sciences*, 2007; 2(2): 35–41.
6. Martín C, Bigi F and Gicquel B. New Vaccines against Tuberculosis, Palomino JC et al (Eds). *Tuberculosis 2007*. Bernd Sebastian Kamps and Patricia Bourcillier, 2007; 341–360.
7. Buddle BM, Pollock JM, Hewinson RG. Experimental Infection Models of Tuberculosis in Domestic and Wild Animals in Cole, Stewart T et al (Eds). *Tuberculosis and Tubercle Bacillus*. Washington, D.C, ASM press, 2005; 537–42.
8. Boom WH. New TB Vaccines is There a Requirement for CD8+ T Cells?. *The Journal of Clinical Investigation*, 2007; 117(8): 2092–2094.
9. Lazarevic V, Flynn J. CD8+ T Cells in Tuberculosis. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 2002; 166: 1116–1121.
10. Lewinsohn DA, Winata E, Swarbrick GM, Tanner KE, Cook MS, Null MD, Cansler ME, Sette A, Sidney J, Lewinsohn DM. Immunodominant Tuberculosis CD8 Antigens Preferentially Restricted by HLA-B. *PLoS Pathogens*, 2007; 3(9): e127.

11. 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). Tidak diterbitkan. Malang, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. 2006; 24–40.
12. Doherty TM, Olsen AW, van Pinxteren L, Andersen P. Oral Vaccination with Subunit Vaccines Protects Animals against Aerosol Infection with Mycobacterium tuberculosis. *Infection and Immunity*, 2002; 70(6): 3111–3121.
13. Anderson AO. Peripheral and Mucosal Immunity: Critical Issues for Oral Vaccine Design. 1997. <http://www.geocities.com/artscience/peripheral-lt.html>. Diakses Tanggal 06 September 2008. Jam 15.00.
14. Hitchick, NC. Tuberculosis: Prospects for an Oral Vaccine Using Novel Antigens and Adjuvants. <http://www.scielo.br/pdf/mioc/v10n5/v10n5a02.pdf>. 2006. Diakses tanggal 02 Februari 2008. Jam 15.51.
15. 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.
16. Shin AR, Lee KS, Lee JS, KIM SY, Song CH, Jung SB, Yang CS, Jo EK, Park JK, Paik TH, Kim HJ. Mycobacterium tuberculosis HBHA Protein Reacts Strongly with the Serum Immunoglobulin M of Tuberculosis Patients. *Clinical and Vaccine Immunology*, 2006; 13(8): 869–875.
17. Delogu G, Sanguinetti M, Posteraro B, Rocca S, Zanetti S, Fadda G. The hbhA Gene of Mycobacterium tuberculosis Is Specifically Upregulated in the Lungs but Not in the Spleens of Aerogenically Infected Mice. *Infectoin and Immunity*, 2006; 74(5): 3006–3011.
18. Ogra PL, Faden H, Welliver RC. Vaccination Strategies for Mucosal Immune Responses. *Clinical Microbiology Reviews*, 2001; 14(2): 432–441.
19. Miller H, Zhang J, Kuolee R, Patel GB, Chen W. Intestinal M cells: The fallible sentinels. *World Journal Gastroenterology*, 2007; 13(10): 1477–1486.
20. Price SA, Wilson LM. Patofisiologi: Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit Edisi 6, Jakarta, EGC. 2006; Vol. 1: 86–99.
21. Subagyo A, Aditama TY, Sutoyo DK, Partakusuma LG. Pemeriksaan Interferon-gamma dalam Darah untuk Deteksi Infeksi Tuberkulosis. *Jurnal Tuberkulosis Indonesia*, 2006; 3(2): 7–11.
22. Serbina NV, Flynn JL. CD8+ T Cells Participate in the Memory Immune Response to Mycobacterium tuberculosis. *Infection and Immunity*, 2001; 69(7): 4320–4328.
23. Hernández-Pando R. Immunology, Pathogenesis, Virulence; Palomino JC et al (Eds). *Tuberculosis 2007*. Bernd Sebastian Kamps and Patricia Bourcillier, 2007; 157–206.
24. Handayani, S. 2002. Respon Imunitas Seluler pada Infeksi Tuberkulosis Paru. [www.kalbe.co.id/files/cdk/files/13\\_ResponImunitasSeluler.pdf](http://www.kalbe.co.id/files/cdk/files/13_ResponImunitasSeluler.pdf)/13\_ResponImunitasSeluler.html. Diakses tanggal 10 November 2007. Jam 10.50.
25. Holmgren J, Czerkinsky C. Mucosal Immunity and Vaccines. *Nature Medicine*, 2005; 11: S45–S53.
26. Petzke M. Mucosal Immunology and Vaccine Development. [http://www.brown.edu/Courses/Bio\\_160/handouts/feb23.pdf](http://www.brown.edu/Courses/Bio_160/handouts/feb23.pdf). 2009. Diakses tanggal 2 Juni 2009. Jam 10.49.
27. West E. A Glimpse into the Scary World of Vaccine Adjuvants. <http://www.vaclib.org/basic/adjuvants.htm>. 2005. Diakses tanggal 15 Mei 2009. Jam 12.02.
28. Sjölander A, Cox JC, Barr IG. ISCOMs: an Adjuvant with Multiple Functions. *Journal of Leukocyte Biology*, 1998; 64: 713–723.
29. Zubaidah M. Peningkatan titer Immunoglobulin A Mukosa Usus Mencit (Mus Musculus) Sesudah Pemberian Protein Solubel Toxoplasma gondii Dengan Atau Tanpa Ajuvan Toksin Kolera secara Intranasal: Penelitian Eksperimental Laboratoris. <http://adln.lib.unair.ac.id/go.php?id=jiptunair-gdl-s2-2005-zubaidahmo-1786&node=255&start=41&PHPSESSID=e99ecec43aeb91a73c0e368ce140cf5f>. 2005. Diakses tanggal 5 Mei 2009. Jam 12.10.
30. Scheibner. Adjuvants in Vaccines. <http://www.vaclib.org/basic/adjuvants.htm>. 2000. Diakses tanggal 15 Mei 2009. Jam 12.02.