

**PENGARUH VAKSINASI OUTER MEMBRANE PROTEIN (OMP)
Mycobacterium tuberculosis SUBKUTAN TERHADAP JUMLAH SEL T
CD4⁺ MENCIT BALB/c**

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran Umum**



Oleh :

Anggela Damayanti

NIM. 105070107111029

PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2013

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

**PENGARUH VAKSINASI OUTER MEMBRANE PROTEIN (OMP)
Mycobacterium tuberculosis SUBKUTAN TERHADAP JUMLAH SEL T
CD4⁺ MENCIT BALB/c**

Oleh :

Anggela Damayanti

NIM : 105070107111029

Telah diuji pada :

Hari : Senin

Tanggal : 7 Oktober 2013

Dan dinyatakan lulus oleh:

Penguji I

Safrina Dewi Ratnaningrum, S.Si, M.Si.Med
NIP. 0018037402

Penguji II/Pembimbing I

Penguji III/Pembimbing II

Dr. dr. Dwi Yuni Nur Hidayati, M.Kes
NIP. 0047383009

dr. Ahmad Dian W, Sp. THT-KL
NIP. 197804012005011001

Mengetahui,
Ketua Program Studi

Prof.Dr.dr. Teguh Wahyu Sardiono,DTM&H.,M.SC.,Sp.Par.K
NIP. 19520410 198002 1 001

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, karena atas kasih dan anugerahNya maka penulis bisa menyelesaikan karya tulis tugas akhir ini dengan baik.

Ketertarikan Penulis akan topik ini didasari oleh adanya fakta tentang tingginya angka penderita TB di Indonesia. Penulis ingin mencari metode vaksinasi yang lebih baik selain BCG untuk mencegah tuberculosis dengan menggunakan *Outer Membrane Protein (OMP) M. tuberculosis* sebagai vaksinasi subunit.

Penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

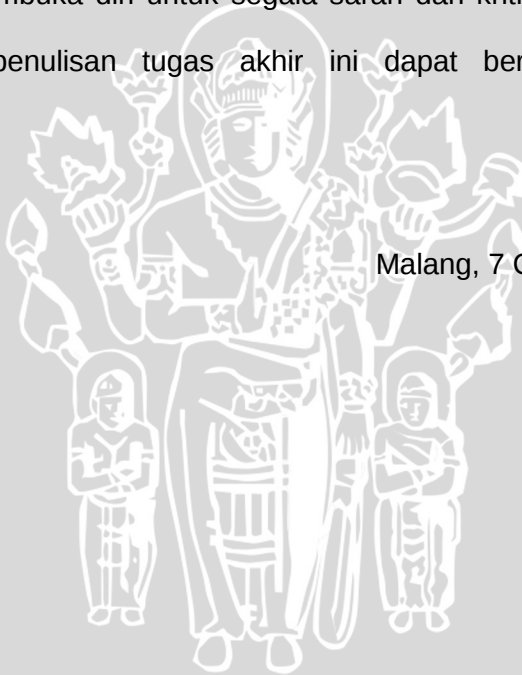
1. Dr. dr. Karyono M, Sp. PA, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
2. Dr. dr. Dwi Yuni Nur H, M.Kes, selaku dosen pembimbing pertama yang senantiasa membantu dan mendidik penulis dalam melakukan penelitian.
3. dr. Ahmad Dian W, Sp. THT-KL, selaku dosen pembimbing kedua yang dengan sabar selalu memberikan masukan dan bimbingan dalam penelitian dan penulisan karya tulis akhir.
4. Ibu Safrina Dewi R, S.Si, M.Si.Med, selaku dosen penguji atas saran dan kritik yang membangun sehingga dapat menyempurnakan tugas akhir ini.
5. Segenap anggota Tim Pengelola Tugas Akhir Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
6. Orang tua yang selalu memberikan dukungan baik berupa material maupun nonmaterial.

7. Segenap staff Laboratorium Mikrobiologi, Parasitologi, dan Biomedik FKUB untuk segala bantuan yang sangat penting dalam penelitian ini.
8. Teman-temanku Surya Abadi, Janu, Risa, Venta, Dean, dan semua yang penulis tidak bisa sebutkan satu per satu yang selalu membantu dan mendukung.
9. Semua pihak yang telah membantu penyelesaian tugas akhir ini baik secara langsung maupun tidak langsung.

Penulis menyadari bahwa penulisan ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis membuka diri untuk segala saran dan kritik mengenai tugas akhir ini. Semoga penulisan tugas akhir ini dapat berguna bagi yang membutuhkan.

Malang, 7 Oktober 2013

Penulis



ABSTRAK

Damayanti, Anggela. 2013. Pengaruh Vaksinasi *Outer Membrane Protein* (OMP) *Mycobacterium tuberculosis* Subkutan Terhadap Jumlah Sel T CD4⁺ Mencit BALB/c Secara *In Vivo*. Tugas Akhir, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Dr. dr. Dwi Yuni H, M.Kes (2) dr. Ahmad Dian W, Sp. THT-KL

Mycobacterium tuberculosis merupakan patogen yang menyebabkan penyakit radang paru kronis. Salah satu pencegahannya adalah dengan vaksinasi BCG. Namun, vaksinasi BCG tingkat efektifitasnya sangat bervariasi. *Mycobacterium tuberculosis* mempunyai *Outer Membrane Protein* (OMP) yang bersifat imunogenik dengan berat molekul 71 kDa. Pada penelitian ini, digunakan *Outer Membrane Protein* (OMP) hasil pemotongan *M. tuberculosis*. Uji Elektroforesis SDS-PAGE menunjukkan *Outer Membrane Protein* (OMP) mengandung protein dengan berat molekul mendekati 71 kDa. OMP digunakan sebagai vaksinasi subunit yang diimunisasi secara subkutan pada daerah tengkuk mencit. Terdapat 2 macam perlakuan, yaitu mencit yang divaksin dan mencit yang tidak divaksin menggunakan OMP. Total mencit yang digunakan adalah 18 mencit. Penghitungan dilakukan di limpa mencit menggunakan metode *flowcytometry* dengan isolasi sel T CD4⁺. Hasil uji Independent Sample t-Test menunjukkan angka signifikansi < 0.05 , yang berarti ada perbedaan pengaruh induksi vaksin *Outer Membrane Protein* (OMP) yang signifikan terhadap jumlah sel T CD4⁺ pada limpa mencit. Kesimpulan dari penelitian ini adalah *Outer Membrane Protein* (OMP) mengandung protein imunogenik dengan berat molekul mendekati 71 kDa, pemberian *Outer Membrane Protein* (OMP) secara subkutan mampu menginduksi respon imun pada mencit.

Kata kunci : OMP *Mycobacterium tuberculosis*, subkutan, sel T CD4⁺.

ABSTRACT

Damayanti, Anggela. 2013. *Effect of Subcutaneous Vaccination Using Outer Membrane Protein (OMP) of Mycobacterium tuberculosis on CD4⁺ T Cell Level In Mice Strain BALB/C*. Final Assignment, Faculty of Medicine, Brawijaya University. Supervisors: (1) Dr. dr. Dwi Yuni Nur H, M.Kes (2) dr. Ahmad Dian W, Sp. THT-KL

Mycobacterium tuberculosis is a pathogen than infected one third of world population. One way to prevent the TB is using BCG vaccination. However, the effectiveness of BCG is on a wide range (0-80%). *Mycobacterium tuberculosis* has *Outer Membrane Protein (OMP)* with molecular weight 71 kDa that is immunogenic. In this research, *Mycobacterium tuberculosis* was cut down to get a *Outer Membrane Protein (OMP)*. The *Outer Membrane Protein (OMP)* was tested by Electroforesis SDS-PAGE. The result showed that there was protein with molekular weight 71 kDa on the *Outer Membrane Protein (OMP)*, indicating that *Outer Membrane Protein (OMP)* has immunogenic protein. *Outer Membrane Protein (OMP)* was used as a subunit vaccine that was injected subcutanly on the back regio of the mice neck. In this research used 2 groups : mice didn't injected *Outer Membrane Protein (OMP)* and mice injected OMP. 18 mice were used. The level was counted from the spleen, using flowcytometry method with isolation of CD4⁺ T cell. Independent T test was under 0,05, indicating that there was significant difference in any type of induction to the CD4⁺ T cell level in the spleen of the mice. The conclution of this research is *Outer Membrane Protein (OMP)* of tuberculosis contains immunogenic protein with molecular weight 71 kDa, the subcutaneous injection of *Outer Membrane Protein (OMP)* tuberculosis was able to induce immune response on mice.

Key Words: OMP *Mycobacterium tuberculosis*, Subcutaneous, CD4⁺ T cell.

DAFTAR ISI

Halaman

Judul.....	i
Halaman Pengesahan.....	ii
Kata Pengantar.....	iii
Abstrak.....	v
Abstract.....	vi
Daftar Isi.....	vii
Daftar Tabel.....	x
Daftar Gambar.....	xi
Daftar Lampiran.....	xii
Daftar Singkatan.....	xiii

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	5
1.3.1 Tujuan Umum.....	5
1.3.2 Tujuan Khusus.....	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
1.4.1 Manfaat Akademik.....	5
1.4.2 Manfaat Praktis.....	5

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tuberkulosis.....	6
2.1.1 Etiologi Tuberkulosis.....	6
2.1.2 Virulensi <i>M. tuberculosis</i>	8
2.1.3 Patogenesis <i>M. tuberculosis</i>	9
2.2 Sistem Imun.....	11
2.2.1 Imunitas Natural.....	11
2.2.1.1 Fagositosis.....	12
2.2.1.2 Antigen Presenting Cells (APCs).....	12
2.2.1.3 MHC (Major Histocompatibility Complex).....	13
2.2.2 Imunitas Adaptif.....	15
2.2.2.1 Imunitas Humoral.....	15
2.2.2.2 Imunitas Seluler.....	16
2.2.2.3 Aktivasi Sistem Imunitas Seluler.....	16
2.3 Vaksinasi.....	19
2.3.1 Pengertian.....	19
2.3.2 Jenis-Jenis Vaksinasi.....	20
2.3.3 Vaksinasi Subkutan Pada Mencit.....	21
2.3.4 Cara Kerja Vaksin.....	23
2.3.5 Keberhasilan Vaksinasi.....	24

2.3.6	Kegagalan Vaksinasi.....	24
2.3.7	Ajuvan.....	25
2.4	Bacille Calmette Guerin (BCG).....	27
2.5	Outer Membrane Protein (OMPs) <i>M. tuberculosis</i>	28

BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1	Kerangka Konsep.....	30
3.2	Hipotesis Penelitian.....	31

BAB IV METODE PENELITIAN

4.1	Desain Penelitian.....	32
4.2	Sampel Penelitian.....	32
4.3	Estimasi Jumlah Besar Sampel.....	32
4.4	Lokasi dan Waktu Penelitian.....	33
4.5	Variabel Penelitian.....	33
4.5.1	Variabel Bebas.....	33
4.5.2	Variabel Tergantung.....	34
4.5.3	Variabel Kendali.....	34
4.6	Definisi Operasional.....	34
4.7	Alat dan Bahan Penelitian.....	34
4.7.1	Alat dan Bahan untuk Pemeliharaan Tikus.....	34
4.7.2	Alat dan Bahan untuk Isolasi Outer Membrane.....	35
4.7.3	Alat dan Bahan untuk Elektroforesis SDS-PAGE.....	35
4.7.4	Alat dan Bahan untuk Vaksinasi Subkutan.....	35
4.7.5	Alat dan bahan untuk Pembedahan Mencit.....	35
4.7.6	Alat dan Bahan untuk Flowcytometry.....	35
4.8	Prosedur Penelitian.....	36
4.8.1	Prosedur Isolasi OMP.....	36
4.8.2	Prosedur Electroforesis SDS-PAGE.....	36
4.8.3	Prosedur Western Blot.....	37
4.8.4	Prosedur Vaksinasi Subkutan.....	38
4.8.5	Prosedur Persiapan Hewan Coba.....	39
4.8.6	Prosedur Pembedahan Mencit.....	39
4.8.7	Prosedur Persipan Sampel untuk Flowcytometry.....	40
4.9	Analisis Data.....	40

BAB V HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1	Hasil Penelitian.....	41
5.1.1	Berat Molekul OMP <i>M. tuberculosis</i>	41
5.1.2	Jumlah Sel T CD4 ⁺	42
5.2	Analisis Data.....	44
5.2.1	Uji Normalitas Data.....	44
5.2.2	Uji Homogenitas Varian.....	44
5.2.3	Uji <i>Independent Sample t-Test</i>	45

BAB VI PEMBAHASAN

6.1	Pembahasan.....	48
-----	-----------------	----

BAB VII PENUTUP

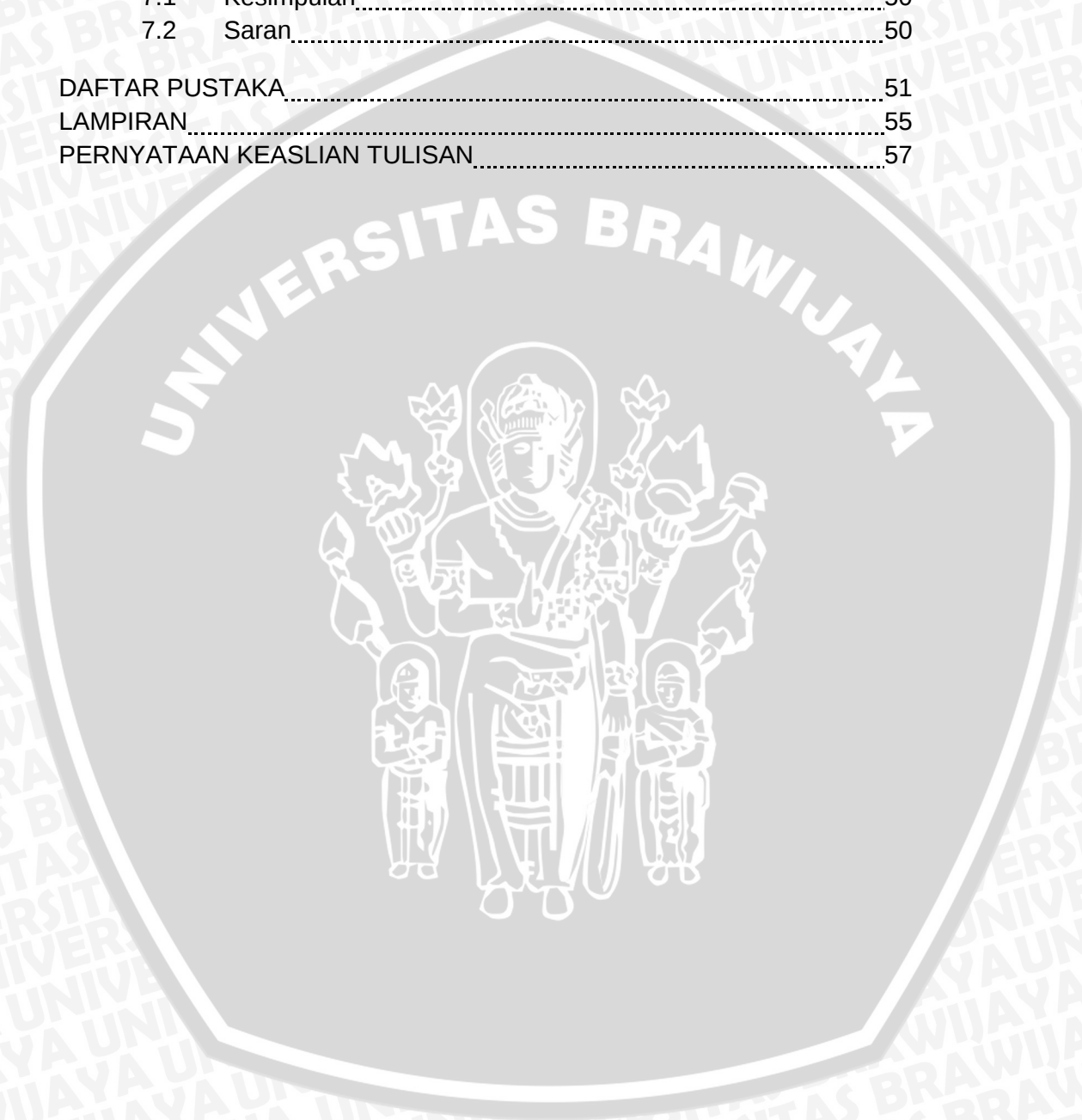
7.1	Kesimpulan.....	50
-----	-----------------	----

7.2	Saran.....	50
-----	------------	----

DAFTAR PUSTAKA.....	51
---------------------	----

LAMPIRAN.....	55
---------------	----

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN.....	57
----------------------------------	----



DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 5.1 Hasil Penghitungan Jumlah Sel T CD4⁺ Flowcytometry..... 43



DAFTAR GAMBAR

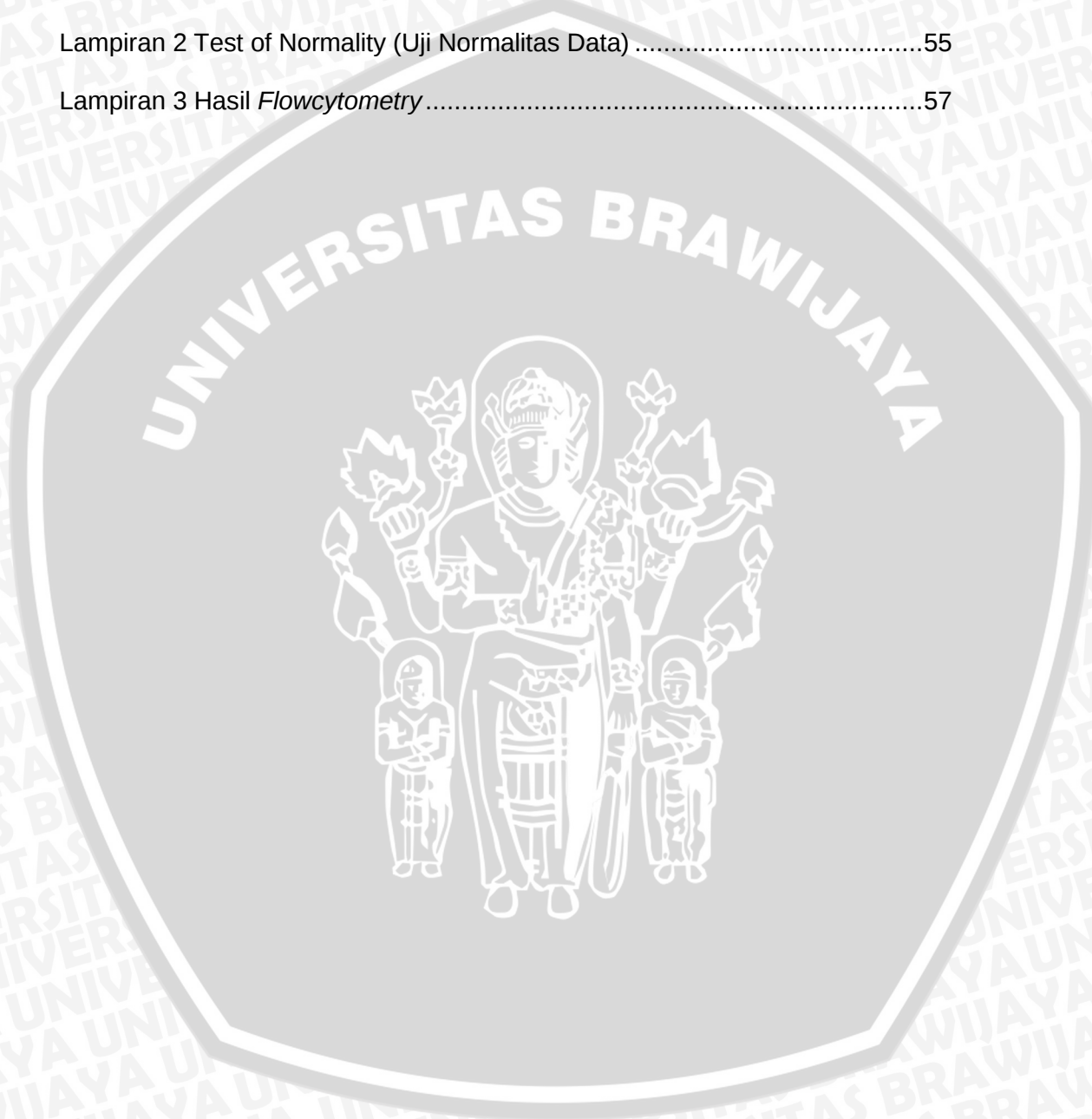
Halaman

Gambar 2.1 Koloni <i>M. tuberculosis</i>	8
Gambar 2.2 Proses Presentasi Antigen oleh APC	13
Gambar 2.3 Ekspresi MHC Kelas I dan II	14
Gambar 2.4 Diferensiasi Sel T naif CD4 ⁺	17
Gambar 2.5 Tiga Kelas Perubahan Sel T Efektor	18
Gambar 2.6 Lokasi Lemak Cokelat pada Mencit.....	22
Gambar 2.7 Distribusi Limfonodi pada Mencit.....	22
Gambar 2.8 Kapsul <i>M. tuberculosis</i>	28
Gambar 2.9 Kerangka Konsep.....	30
Gambar 5.1 Hasil Electroforesis SDS-PAGE OMP TB.....	41
Gambar 5.2 Hasil Western Blot OMP TB	42
Gambar 5.3 Hasil Pengukuran <i>Floctometry</i> Kontrol Negatif Limpa.....	42
Gambar 5.4 Hasil Pengukuran <i>Floctometry</i> Kontrol Positif Limpa	43

DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

Lampiran 1 Independent Sample t-Test (<i>Analysis of Variance</i>).....	55
Lampiran 2 Test of Normality (Uji Normalitas Data)	55
Lampiran 3 Hasil <i>Flowcytometry</i>	57



DAFTAR SINGKATAN

APC	: Antigen Presenting Cell
CD	: Cluster of Differentiation
CFA	: Complete Freund's Adjuvan
CTL	: Cytolytic
DNA	: Deoxyribonucleid Acid
DTH	: Delayed Type Hypersensitivity
IFA	: Incomplete Freund's Adjuvan
IFN	: Interferon
IgG	: Immunoglobulin G
IL	: Interleukin
LFA	: Leucocyte Function Assosiated Antigen
MHC	: Major Histo Compatibility
NO	: Nitric Oxide
PBS	: Phospate Buffer Saline
RD1	: Region of Differentiation 1
RE	: Reticulum Endoplasma
SD	: Sel Dendritik
TAP	: Transporter Associated with ntigen Processing
TCR	: T Cell Receptor
TGF- β	: Transforming Growth Factor- β
Th	: T helper
TLR	: Toll Like Receptor
TNF- α	: Tumor Necrosis Factor- α