

## BAB 6

### PEMBAHASAN

#### 6.1 Peran Sistem Imun Humoral (IgG) terhadap infeksi *M.tuberculosis*

Hingga saat ini belum ada satu pun negara di dunia yang bebas dari TB (Yoga, 2011). Indonesia yang merupakan negara berkembang, menduduki peringkat ke empat dalam jumlah penderita TB tertinggi (Global Tuberculosis Report, 2013), sehingga perlu dilakukan usaha-usaha dalam menanggulangi penyakit ini, diantaranya penemuan vaksin yang lebih efektif dari BCG. Walaupun telah digunakan sejak lama, efektivitas vaksin BCG dalam mencegah TB paru pada dewasa bervariasi (Dietrich *et al.*, 2006). Beberapa komponen sistem imun, dari seluler maupun humoral, berperan dalam menjaga agar bakteri yang berada dalam sitoplasma makrofag (fase dorman) atau yang berada pada Ghon tidak meluas atau menginfeksi sel lain. Dari beberapa penelitian, diketahui beberapa sitokin yang berperan aktif yaitu : IL-6, TNF- $\alpha$  , IL-12, and IL-23/IL-17, sitokin tersebut bersifat pro-inflamasi dan mengontrol perluasan infeksi (Zuniga, 2012). Dari sistem humoral diketahui beberapa antibodi juga berperan penting diantaranya Immunoglobulin A (IgA) dan Immunoglobulin G (IgG) (Abbas *et al.*, 2007). IgG pada infeksi bakteri tuberkulosis berperan untuk mengenali antigen (bakteri) dan mempresentasikan kepada sel efektor seperti, makrofag, sel natural killer (NK) ataupun sel T-cytotoxic, kemudian bersama-sama dengan komplemen mengopsinisasi bakteri dan membentuk membrane attack complex (MAC) dan berakhir dengan lisisnya bakteri (Zuniga, 2012)

Sistem imun humoral dapat pada infeksi TB dapat dijadikan indikator aktif TB maupun diagnostik TB (Senol, 2007). Ag38 kDa adalah antigen yang sering diteliti secara serologis (Weldingh, 2005)

Protein rekombinan 38 kDa atau yang disebut Ag38 merupakan salah satu antigen pada bakteri tuberkulosis yang diyakini dapat menimbulkan respon imun spesifik. Ag38 dapat digunakan sebagai serodiagnostik pada kasus Tuberkulosis dengan sensitivitas sebesar 41% dan spesifitas sebesar 93% (Senol,2007). Ag38 kDa dapat menginduksi sistem imun humoral pada 36 dari 71 primata pada tuberkulin skin test (TST). Sedangkan sensitivitas maupun spesifitas dibawah 50% dibandingkan antigen lain seperti Ag16 kDa, ESAT-6 atau Ag85b. Antibodi pada infeksi TB muncul setelah hari ke 30-60 pascainfeksi (Fanghui *et al*, 2011). Penelitian ini berusaha untuk menunjukkan bahwa IgG telah mengenali Ag38 kDa secara spesifik dengan membentuk kompleks Ag-Ab

## **6.2 Ag-Ab kompleks pada ketiga kelompok : sehat, kontak tuberkulosis dan pasien tuberkulosis**

Berdasarkan hasil Anova pada ketiga kelompok tidak dapat perbedaan yang bermakna pada rerata IgG-Ag38 kompleks yang dibentuk. Pada uji selanjutnya, post-hoc (LSD) menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara ketiga kelompok. Analisis selanjutnya, membandingkan pemberian Ag38 dan PPD pada kelompok sehat. Dengan independent t-test menunjukkan tidak terdapat perbedaan antara pemberian Ag38 dan PPD pada kelompok sehat terhadap pembentukan kompleks Ag-Ab. Pada independent t-test di kelompok kontak tuberkulosis menunjukkan tidak terdapat perbedaan antara pemberian Ag38 dan PPD pada kelompok sehat terhadap pembentukan kompleks Ag-Ab. Pada independent t-test di kelompok kontak tuberkulosis menunjukkan tidak terdapat perbedaan antara pemberian Ag38 dan PPD pada kelompok sehat terhadap pembentukan kompleks Ag-Ab. Penelitian ini hanya bertujuan menunjukkan bahwa IgG yang dihasilkan oleh ketiga kelompok dapat membentuk Ag-Ab kompleks dengan protein rekombinan 38 KDa sedangkan

ekspresi IgG tidak diukur secara kuantitatif. Tabel Histogram pada sampel sehat dan kontak menunjukkan kompleks Ag-Ab tereksresi pada pemberian protein rekombinan Ag 38 kDa daripada PPD, hal ini menunjukkan memang IgG dapat mengenali lebih spesifik Ag 38 dibanding PPD. Sedangkan, pada sampel pasien kompleks Ag-Ab lebih tereksresi pada pemberian PPD dibanding Ag 38 kDa, hal ini dikarenakan sistem imun terutama humoral pada pasien sudah mengalami kekacauan koordinasi dikarenakan makrofag sudah tidak mensekresikan IL-12, sehingga CD4+ tidak bisa berproliferasi dan berdiferensiasi menjadi Th1 yang berimbas pada lemahnya presentasi antigen oleh APC (Th1) pada sel B. Sel B tidak dapat mengartikan epitope protein tanpa bantuan sel Th1. (Abbas *et al*, 2007) Berdasarkan tinjauan respon primer dan sekunder, hanya pada kelompok sehat saja dapat diketahui bahwa ini merupakan respon imun primer sedangkan pada kontak dan pasien tidak diketahui apakah sekunder atau *advance*. Hal ini dikarenakan semua sampel telah dilakukan tes tuberkulin pada proses inklusi tetapi sebelum diambil darahnya.

Penelitian lain menunjukkan bahwa antigen 38 KDa merupakan antigen yang immudominan dimana Ag 38 merupakan jenis lipoprotein yang sejenis dengan periplasmic-transport pada E.coli yang dapat menimbulkan imun spesifik (Chang, 1994). Adapun, perbedaan ekspresi jumlah IgG yang berbeda antara sehat, kontak ataupun pasien dapat dijelaskan bahwa infeksi M.tuberkulosis akan meyebabkan terbentuknya antibodi terhadap bakteri tersebut, tetapi pasien tidak menghasilkan antibodi terhadap semua substaansi antigen dari dinding M.tuberkulosis dan spesifitas antibodi-antibodi ini berbeda pada beberapa individu. Hal-hal yang mempengaruhi terbentuknya antibodi adalah latar belakang etnik, berat ringan nya penyakit, tingkat endemisitas daerah , serta virulensi strain bakteri (Lyaschenko, 1998). Pada TB ekstrapulmonary antibodi

hanya terdeteksi sebesar 12-56% (Uma, 2001). Pada TB ekstraparu antibodi terhadap Ag38 kDa terdeteksi pada 73% kasus pada spesifisitas 98%. Studi terbaru menunjukkan bahwa sensitivitas dari Ag38 kDa yang dihasilkan dari proses rekombinan telah menurun (Silva, 2003 Beck, 2005). Sebaiknya sebagai suatu kandidat vaksin, Ag38 kDa tidak digunakan secara mandiri tetapi harus dikombinasi (Raja, 2004). Pada TB, agar suatu antigen dapat dijadikan kandidat vaksin atau ekspresi antibodi akibat suatu antigen, setidaknya dibutuhkan sensitivitas >80% dan spesifisitas >95% (WHO, 1997)

Pada uji Western-blot hanya dilakukan satu perlakuan dengan pemberian Ag38 tanpa PPD dikarenakan jumlah sumuran yang terbatas serta dosis PPD waktu itu yang terbatas. Hasil western-blot menunjukkan pita protein hanya terbaca pada sehat 1 pada ukuran 37 kDa dan kontak 1 pada ukuran 40 kDa. Pada kelompok pasien tidak dapat diidentifikasi pada pita mana muncul kompleks Ag-Ab. Kemungkinan hal ini disebabkan oleh 1. Faktor teknis, dimana metode western-blot yang dilakukan cukup sulit dikarenakan antibodi sekunder memang berasal dari serum yang berbeda-beda sehingga gel harus dipotong dan ditransfer pada kertas nitrocellulose serta menempatkan pada kantong plastik yang berbeda-beda pula sesuai serum. 2. Ekspresi IgG pada ketiga kelompok memang bervariasi, tidak selalu pasien mengekspresikan IgG lebih banyak daripada kontak ataupun sehat, hal ini dikarenakan kekhasan sistem imun tiap-tiap individu serta faktor virulensi dari bakteri yang berbeda pula, peneliti tidak dapat mengetahui apakah *strain* bakteri yang menginfeksi sampel adalah sama atau berbeda serta peneliti tidak dapat mengetahui profil sistem imunitas dari tiap-tiap sampel, sehingga perlu pendalaman lebih lanjut.

### **6.3 Ag – Ab kompleks pada pemberian protein rekombinan 38 kDa M.tuberculosis dan PPD**

Peneliti juga menggunakan spektrum antigen dari pure protein derivative (PPD). PPD berisi antigen-antigen yang berasal dari M.bovis. Terdapat sekitar 200 jenis protein pada PPD (Efendi, 1999). Berdasarkan hasil Independent t-test pada kelompok sehat yang mendapat perlakuan protein rekombinan 38 kDa M.tuberculosis dan PPD menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang bermakna pada pemberian Ag38 maupun PPD terhadap terbentuknya kompleks Ag-Ab. Dapat diambil suatu kesimpulan Ag38 dapat membentuk kompleks Ag-Ab sama baiknya dengan PPD. Hasil independent t-test pada kelompok kontak menyimpulkan perlakuan pemberian Ag38 dan PPD tidak memberikan hasil yang signifikan terhadap kompleks Ag-Ab. Namun, Ag38 sudah dapat cukup membentuk kompleks Ag-Ab pada kelompok kontak. Hasil independent t-test pada kelompok kontak menyimpulkan perlakuan pemberian Ag38 dan PPD tidak memberikan hasil yang signifikan terhadap kompleks Ag-Ab. Namun, Ag38 sudah dapat cukup membentuk kompleks Ag-Ab pada kelompok pasien.

Penelitian ini memiliki kelemahan, yaitu peneliti tidak dapat memastikan dalam proses dot-blot maupun western blot apakah serum dari dari ketiga kelompok terbebas dari kontaminan luar seperti steril atau tidak alat-alat tersebut. Kemudian, juga tidak dapat dianalisis apakah ini respon imun primer atau sekunder dikarenakan tidak diketahuinya latar belakang sistem imun terutama profil IgG sebelum dan sesudah pemberian antigen.