

**PENGARUH VAKSINASI HEAT SHOCK PROTEIN HSP65 MYCOBACTERIUM
TUBERCULOSIS TERHADAP AKUMULASI SEL FOAM PADA AORTA
MENCIT MODEL ATEROSKLEROSIS**

TUGAS AKHIR

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



Oleh :

**Steven Budiharjo
NIM : 115070100111076**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG**

2015

TUGAS AKHIR

PENGARUH VAKSINASI *HEAT SHOCK PROTEIN HSP65 MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* TERHADAP AKUMULASI SEL FOAM PADA AORTA MENCIT MODEL ATEROSKLEROSIS

Oleh :

Steven Budiharjo

NIM: 115070100111076

Telah Diikutsertakan dalam
Pekan Ilmiah Mahasiswa Nasional (PIMNAS) XXVI
Mataram, 9-13 September 2013

Pembimbing

Dr. dr. Tinny Endang Hernowati, Sp.PK(K)
NIP. 195212251980022001

Mengetahui,
Ketua Program Studi

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

KATA PENGANTAR

Puji syukur saya ucapkan kepada Tuhan Yang Maha Kuasa, yang telah memberikan petunjuk dan rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini, dengan judul “Pengaruh Vaksinasi *Heat Shock Protein* HSP65 *Mycobacterium tuberculosis* terhadap Akumulasi Sel Foam Pada Aorta Mencit Model Aterosklerosis”. Tugas akhir ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran (S.Ked) pada program pendidikan dokter umum Universitas Brawijaya Malang.

Penulis menyadari bahwa baik dalam perjalanan studi maupun penyelesaian penelitian ini banyak memperoleh bimbingan dan motivasi dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis menyampaikan rasa syukur dan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Dr. dr. Karyono Mintaroem, Sp.PA, selaku dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang telah memberikan saya kesempatan menuntut ilmu di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
2. dr. Bambang Prijadi, MS selaku Pembantu Dekan III FKUB atas bimbingan dan arahan selama proses penelitian, persiapan, karantina, dan presentasi PIMNAS.
3. Dr. dr. Tinny Endang Hernowati, Sp.PK(K), sebagai pembimbing yang selalu memberi masukan, saran serta bimbingan dalam proses menyelesaikan Tugas Akhir ini.
4. Yang tercinta Mama Devi Ferdiana dan Papa Hermawan Budiharjo beserta Adik-adikku, Carolina Budiharjo dan Stevani Budiharjo, serta keluarga besar penulis yang senantiasa memberikan dorongan, semangat, dan doa dalam menghadapi kendala teknis dan psikologis dalam menyelesaikan penelitian ini

5. DIKTI selaku penyelenggara PIMNAS 2013 dan penyedia dana penelitian
6. Untuk kakak-kakak dan rekan kelompok PKM-P "Atherogulator" Kak Anggela Damayanti, Kak Radhitio Adi Nugroho, Risa Siburian dan Dian Amelia yang telah banyak berbagi ilmu dan pengalamannya selama dalam penelitian.
7. Teman-temanku Bogor 38 Agita Danaparamita, Alan Vahlevi, Birgitta Stella, Dheny Surya, Dyah Puspitarini, Khoirunisah Dwi, Muhammad Al-Hamid, Rahajeng Anugrahing, Rizky Rosita, Sanny Wahyu, Stefan Bram, Stephanie Amelia, dan Wildan Malik. Terima kasih karena sudah memberikan saran dan dukungan sehingga tugas akhir ini dapat selesai.
8. Seluruh sahabat-sahabat dan teman-teman tercinta yang selalu memberikan dukungan dan semangat dalam menyelesaikan tugas akhir ini, yang tidak bisa saya sebutkan satu-persatu.
9. Petugas Laboratorium Parasitologi, Biomedik, Farmakologi, dan Patologi Anatomi FKUB yang telah membantu penulis.
10. Semua pihak yang telah membantu dalam penelitian ini.

Penulis menyadari bahwa penulisan penelitian ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu, penulis memerlukan saran dan kritik yang membangun. Akhirnya, semoga penelitian ini dapat menambah wawasan dan memberi manfaat.

Malang, 9 Februari 2015

Penulis

ABSTRAK

Budiharjo, Steven. 2015. Pengaruh Vaksinasi *Heat Shock Protein* HSP65 *Mycobacterium tuberculosis* terhadap Akumulasi Sel Foam Pada Aorta Mencit Model Aterosklerosis. Tugas Akhir, Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing : Dr. dr. Tinny Endang Hernowati, Sp.PK(K).

Aterosklerosis adalah proses inflamasi kronis yang berkembang melalui akumulasi dari kolesterol yang berujung pada pembentukan plak aterosklerotik. Aterosklerosis juga dipengaruhi respon autoimun melalui hsp60 yang dilepaskan dari sel saat inflamasi. Antigen hsp60 manusia mirip dengan hsp65 *Mycobacterium tuberculosis* yang menjadi target potensial dalam pengembangan vaksin aterosklerosis. Aktivitas sistem imun manusia terbagi menjadi imunitas (kekebalan) dan toleransi (tidak reaktif). Pada aterosklerosis, imunitas menyerang antigen dalam tubuh atau autoimun. Induksi toleransi berpotensi mencegah aterosklerosis. Toleransi sistem imun dapat dicapai dengan induksi pada mukosa melalui peran dari sel T regulator (Treg) yang berfungsi mensupresi sistem imun. Toleransi hsp65 bersifat ateroprotektif maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang peran hsp65. Tercapainya toleransi terhadap aterosklerosis menyebabkan terhambatnya progresifitas lesi aterosklerosis yang ditandai dengan penurunan jumlah sel foam. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan post test control group design di mana subyek dibagi menjadi 5 kelompok. Kelompok I yaitu mencit yang sehat (kontrol negatif), kelompok II mencit diberi diet aterogenik (kontrol positif), kelompok III, IV, dan V mencit divaksinasi dengan HSP65 dengan 3 dosis berbeda (0,5 , 0,75 , 1 µg/injeksi) lalu diberi diet aterogenik. Hasil menunjukkan bahwa jumlah foam cell pada ketiga kelompok perlakuan menunjukkan perbedaan yang bermakna dibandingkan kontrol positif (ANOVA, $p = 0,00$) dan hasil seperti pada kontrol negatif. Kesimpulan dari penelitian ini adalah vaksin *Heat Shock Protein* HSP65 *Mycobacterium tuberculosis* mampu menurunkan akumulasi sel foam pada aorta mencit model aterosklerosis

Kata kunci: Aterosklerosis, hsp 65 *Mycobacterium tuberculosis*, Sel T regulator, Toleransi mukosa, Sel foam.

ABSTRACT

Budiharjo, Steven. 2015. The Effect of Vaccination Using *Heat Shock Protein HSP65 Mycobacterium Tuberculosis* Against Accumulation of Foam Cell in Aorta of Atherosclerosis Mice Model. Final Assignment, Faculty of Medicine Brawijaya University. Supervisors: (1) Dr. dr. Tinny Endang Hernowati, Sp.PK(K).

Atherosclerosis is a chronic inflammatory process that develops through the accumulation of cholesterol that leads to the formation of atherosclerotic plaques. Atherosclerosis is also influenced by hsp60 autoimmune response that is released from the cell when inflammation occurred. Similar to human hsp60 antigen of *Mycobacterium tuberculosis* hsp65 is a potential target in the development of atherosclerosis vaccine. Activity of the human immune system is divided into immunity and tolerance (not reactive). In atherosclerosis, immune attack self-antigens in the body or autoimmune. Induction of immunotolerance potentially prevent atherosclerosis. Immune system tolerance can be achieved by induction on the mucosa through the role of regulatory T cells (Tregs) that suppresses the immune system function. HSP 65 tolerance is atheroprotective, so it is necessary to do further research on the role of hsp65. The achievement of tolerance against atherosclerosis causing delays progression of atherosclerotic lesions are characterized by a decrease in the number of foam cells. This study was an experimental study with post-test control group design in which subjects were divided into 5 groups. Group I is healthy mice (negative control), group II mice given atherogenic diet (positive control), group III, IV, and V of mice vaccinated with HSP65 with 3 different doses (0.5, 0.75, 1 ug / injection) and given atherogenic diet. The results showed that the number of foam cells in all three treatment groups showed significant differences compared to the positive control (ANOVA, $p = 0.00$) and the result as the negative control. The conclusion of this study is the Heat Shock Protein HSP65 vaccine *Mycobacterium tuberculosis* is able to reduce the accumulation of foam cells in the aorta of mice model of atherosclerosis

Keywords: Atherosclerosis, HSP65 *Mycobacterium tuberculosis*, T Regulator Cells, Mucosal tolerance, Foam cells.

DAFTAR ISI

Halaman Judul	i
Halaman Pengesahan	ii
Kata Pengantar	iii
Abstrak	v
Abstract	vi
Daftar Isi	vii
Daftar Gambar	x
Daftar Grafik	xi
Daftar Tabel	xii
Daftar Lampiran	xiii
Daftar Singkatan	xiv
 BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.3.1 Tujuan Umum	4
1.3.1 Tujuan Khusus	4
1.4 Manfaat Penelitian	5
1.4.1 Manfaat Akademik	4
1.4.2 Manfaat Aplikatif	5

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Definisi Aterosklerosis	6
2.2 Epidemiologi	6
2.3 Faktor Resiko	8
2.4 Patogenesis	9
2.5 Heat Shock Protein 60 (hsp60)	10
2.6 Heat Shock Protein65 <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	12
2.7 Induksi Toleransi Mukosa	13
2.8 Akumulasi Sel Foam	15

BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Konsep	16
3.2 Hipotesis Penelitian	17

BAB 4 METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian	18
4.2 Populasi dan Sampel	19
4.3 Tempat dan Waktu Penelitian	19
4.4 Variabel Penelitian	20
4.5 Definisi Operasional	20
4.6 Bahan dan Alat Penelitian	22
4.7 Metode Pengumpulan Data	24
4.8 Metode Pengolahan Data	25
4.9 Jadwal Kegiatan	27

BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil Penelitian	28
5.1.1 Jumlah Sel Foam	28
5.2 Analisis Data	31

BAB 6 PEMBAHASAN

6.1 Efektifitas Pemberian Vaksinasi Heat Shock Protein HSP65 <i>Mycobacterium tuberculosis</i> terhadap Penurunan Jumlah Sel Foam Mencit Model Aterosklerosis	33
6.2 Potensi Penggunaan Vaksinasi Heat Shock Protein HSP65 <i>Mycobacterium tuberculosis</i> pada Manusia	35

BAB 7 PENUTUP

7.1 Kesimpulan	37
7.2 Saran	37

Daftar Pustaka	38
----------------------	----

Lampiran	40
----------------	----

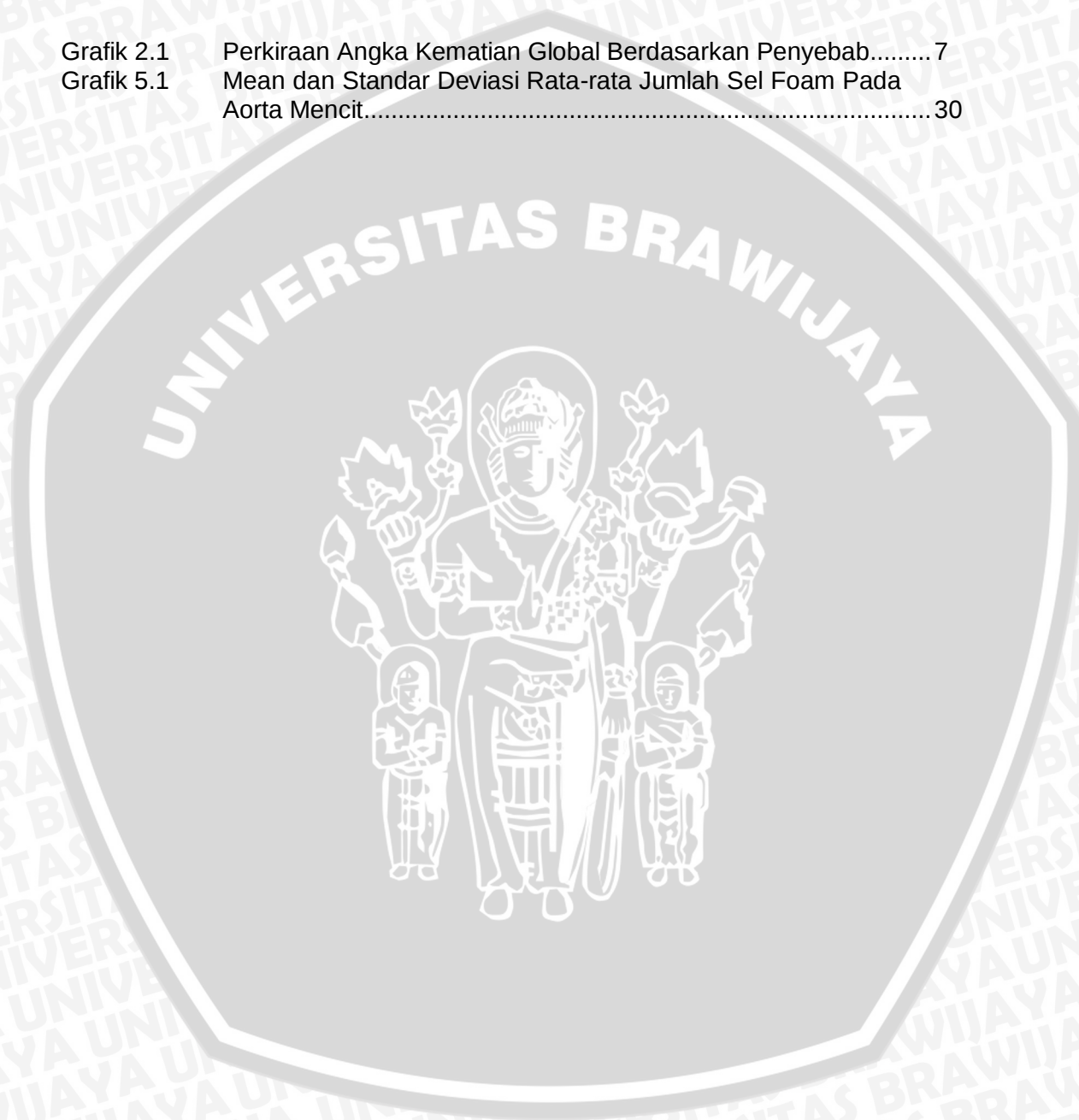
DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Framingham Risk Assessment.	7
Gambar 2.2	Reynolds Risk Score	9
Gambar 2.3	Skema Overview Ekspresi dan Fungsi hsp-60 dalam Aterosklerosis.	12
Gambar 2.4	Mekanisme Induksi Toleransi Mukosa.....	13
Gambar 3.1	Kerangka Konsep Penelitian.....	16
Gambar 4.1	Bagan Rancangan Penelitian.....	18
Gambar 5.1	Gambar Hapusan Sediaan Aorta untuk Penghitungan Foam Cell	29



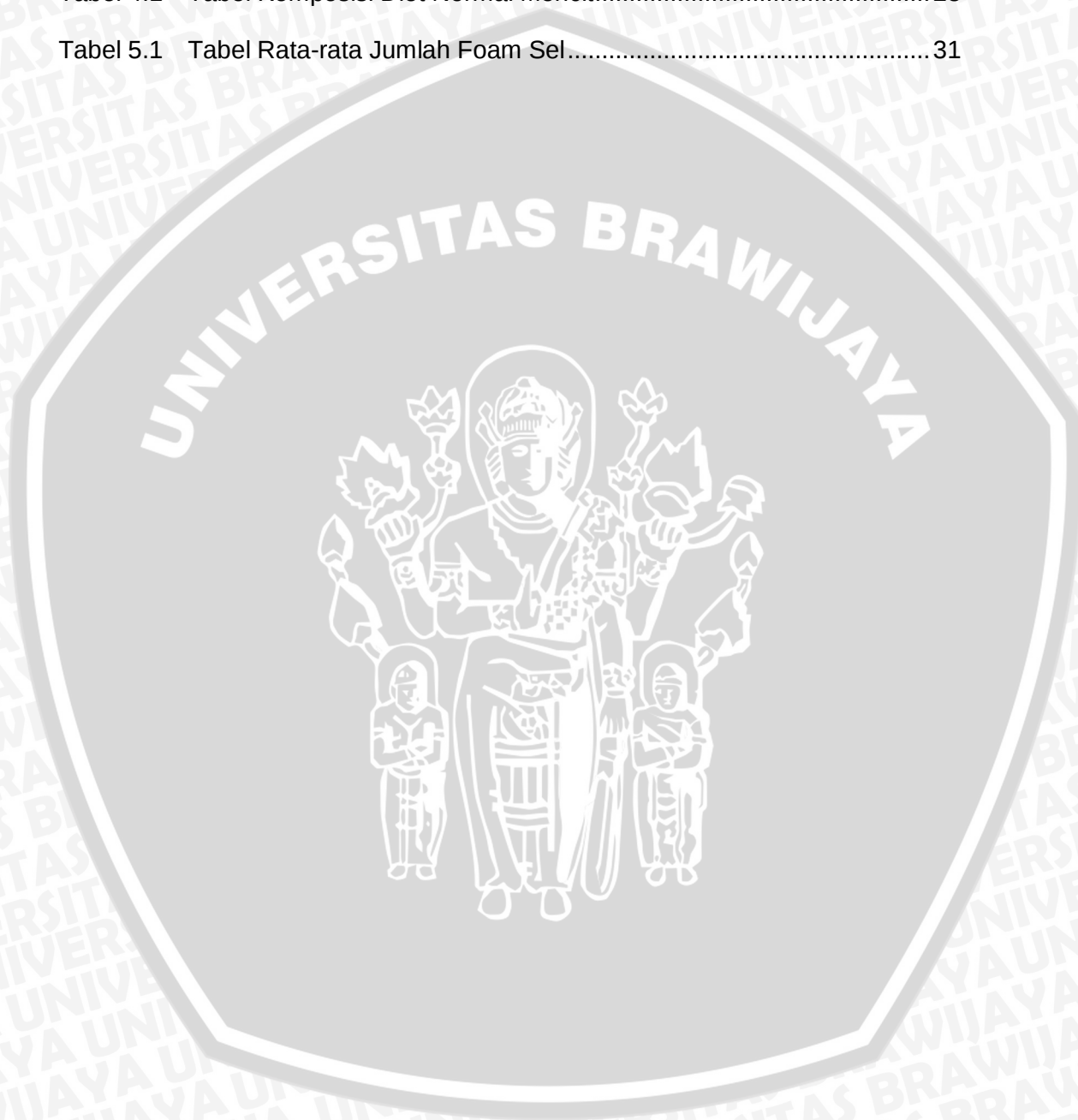
DAFTAR GRAFIK

Grafik 2.1	Perkiraan Angka Kematian Global Berdasarkan Penyebab.....	7
Grafik 5.1	Mean dan Standar Deviasi Rata-rata Jumlah Sel Foam Pada Aorta Mencit.....	30



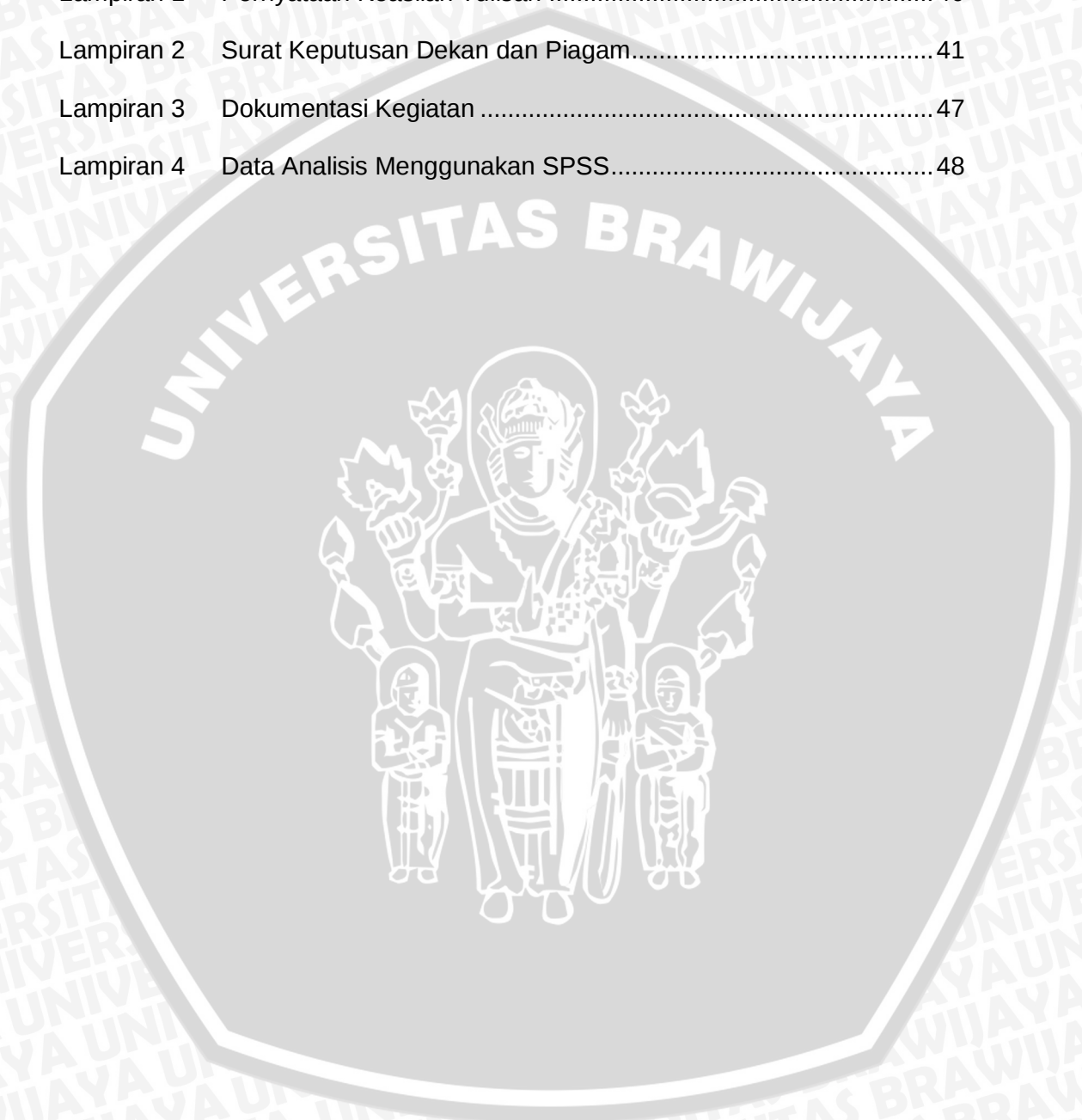
DAFTAR TABEL

Tabel 4.1	Tabel Komposisi Diet Normal Mencit.....	23
Tabel 5.1	Tabel Rata-rata Jumlah Foam Sel.....	31



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Pernyataan Keaslian Tulisan	40
Lampiran 2	Surat Keputusan Dekan dan Piagam.....	41
Lampiran 3	Dokumentasi Kegiatan	47
Lampiran 4	Data Analisis Menggunakan SPSS.....	48



DAFTAR SINGKATAN

AIDS	Acquired Immune Deficiency Syndrome
APC	Antigen Presenting Cell
CD-4+	Cluster Differentiation – 4+
CD-25	Cluster Differentiation – 25
CHD	Coronary Heart Disease
CVD	Cardiovascular Disease
DC	Dendritic Cell
HIV	Human Immunodeficiency Virus
HSP-60	Heat Shock Protein-60
HSP-65	Heat Shock Protein-65
ICAM – 1	Intracellular Adhesion Molecule – 1
IFN α	Interferon Alpha
IFN γ	Interferon Gamma
IL-1	Interleukin-1
IL-6	Interleukin-6
IL-8	Interleukin-8
IL-10	Interleukin-10
IL-12	Interleukin-12
IL-35	Interleukin-35
LDL	Low Density Lipoprotein
MCP-1	Monocyte Chemoattractant Protein – 1
mmLDL	Minimally Modified Low Density Lipoprotein
MMP 9	Matrix Metalloproteinase 9

MTC	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> complex
NALT	Nasal Associated Lymphoid Tissue
NOS	Nitrit Oxide Synthase
NK	Natural Killer
OxLDL	Oxidized Low Density Lipoprotein
PBS	Phosphate Buffered Saline
TGF- β	Tumor Growth Factor Beta
TLR-4	Toll-Like Receptor
TNF- α	Tumor Necrosis Factor – α
VCAM-1	Vascular Cell Adhesion Molecule – 1
WHO	World Health Organization

