

BAB 6

PEMBAHASAN

6.1 Analisis Hasil

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah terjadi peningkatan ekspresi Erythropoietin pada infeksi sekuensial *Mycobacterium tuberculosis* yakni selama 8 minggu dan 16 minggu. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah Infeksi *Mycobacterium tuberculosis* dengan masa inkubasi 8 dan 16 minggu. Sedangkan variabel tergantung dalam penelitian ini adalah ekspresi Erythropoietin yang dikuantifikasi pada jaringan otak tikus dengan infeksi *Mycobacterium tuberculosis* selama 8 minggu dan 16 minggu, dengan menggunakan teknik imunohistokimia. Pemeriksaan dan perhitungan ekspresi Erythropoietin diamati dengan menghitung adanya warna coklat pada inti, sitoplasma, dan dinding sel otak. Masing-masing slide pada bidang pandang dengan perbesaran 400x dan sebanyak 20 lapang pandang. Hasil dari penghitungan data kasarnya kemudian dianalisis untuk mengetahui hubungan antara kedua variabel. Berdasarkan hasil Uji statistik *linear correlation* didapatkan adanya hubungan yang kuat antara Erythropoietin dan lamanya infeksi *Mycobacterium tuberculosis*. Berdasarkan hasil penelitian ini, hubungan ekspresi Erythropoietin dengan lamanya infeksi *Mycobacterium tuberculosis* pada *host* memiliki korelasi yang kuat artinya semakin lama infeksi yang terjadi maka semakin tinggi juga ekspresi Erythropoietin.



6.1.1 Patogenesis Ekspresi Erythropoietin pada Sel Otak *Mus musculus* yang terinfeksi *Mycobacterium tuberculosis*

Mycobacterium tuberculosis strain H37RV dan CDC 151 memiliki kemampuan untuk merekonstruksi ulang sitoskeleton sehingga membuat bentuk sel menjadi tidak bulat lagi, sawar darah otak juga berubah bentuk sehingga kuman ini mampu masuk sendiri ataupun menembus bersama makrofag. Selain itu penelitian sebelumnya menggunakan otak pada penelitian ini juga telah membuktikan bahwa tidak ada perubahan ekspresi *VE Chaderin* pada *adherence junction* yang artinya sawar darah otak ini masih intact, tidak ada yang rusak. Sehingga dapat disimpulkan bahwa ternyata leukosit/makrofag mampu masuk menembus sawar darah otak tanpa merusak strukturnya, yaitu dengan cara diapapedesis.

Proses peradangan yang terjadi mengakibatkan aktivasi makrofag jaringan dan infiltrasi monosit. Jika proses peradangan tersebut terjadi pada otak maka mikroglia akan teraktivasi. Dalam penelitian ini, *Mycobacterium tuberculosis* yang fokus primernya terbentuk di paru-paru kemudian pecah dan menyebar melalui peredaran darah dan limfe sehingga sampai di otak sebagai lokasi infeksi sekunder *Mycobacterium tuberculosis* yang paling sering terjadi. Masuknya *Mycobacterium tuberculosis* ke ruang subarakhnoid mendorong produksi T CD4⁺ naif sehingga berdiferensiasi menjadi Th1 (*T-helper 1*) dan Th2 (*T-helper 2*). Th1 akan bekerja untuk memproduksi IFN- γ (*Interferon γ*) yang akan mengaktivasi mikroglia.

Mikroglia yang teraktivasi ini akan menghasilkan sejumlah sitokin *pro-inflammatory* yang berperan penting untuk melawan dalam neuropatogenesis

infeksi bakteri tuberkulosis di CNS. Selama teraktivasi, mikroglia akan memproduksi dan mensekresikan sitokin *pro-inflammatory* yaitu Erythropoietin. Produksi lokal endogen Erythropoietin di otak dalam hipoksia lebih lanjut menunjukkan bahwa Erythropoietin dapat bertindak dalam parakrin atau autokrin untuk memberikan pelindung saraf. Sehingga Erythropoietin yang di otak akan merespon jika terjadi inflamasi.

6.1.2 Jenis Sel yang Mengekspresi Erythropoietin pada Otak *Mus musculus*

Pada penelitian ini, morfologi sel yang mengekspresikan Erythropoietin tidak nampak seperti mikroglia. Morfologi mikroglia adalah memiliki inti sel kecil dan bulat dikelilingi dengan banyak penjurulan berukuran kecil (Djuwita, 2012). Sel yang terlihat di mikroskop pada penelitian ini berbentuk bulat atau lonjong dan tidak nampak ada penjurulan berukuran kecil. Diduga bentuk sel ini adalah pembuluh darah, yakni arteriol serta venule. Pada penelitian ini nampak banyak sekali morfologi sel yang tercatat yang mengekspresikan Erythropoietin. Selain itu jika diperhatikan, seharusnya yang tercatat adalah sitoplasmanya, karena Erythropoietin diproduksi di sitoplasma, tapi pada penelitian ini, inti sel juga berwarna coklat.

6.1.3 Waktu yang diperlukan agar Ekspresi EPO muncul

Pada penelitian ini, didapatkan bahwa ekspresi Erythropoietin sudah nampak pada otak yang belum mengalami perlakuan (kontrol). Setelah mengalami perlakuan atau infeksi selama 8 dan 16 minggu, terlihat bahwa ekspresi Erythropoietin semakin bertambah seiring dengan lamanya masa inkubasi. Sebelumnya, otak yang digunakan pada penelitian ini telah diuji

imunohistokimia untuk diamati ekspresi antigen *mt38*, yaitu antigen yang dimiliki oleh *Mycobacterium tuberculosis*. Hasilnya positif dan terdapat peningkatan ekspresi antigen *mt38* dari minggu ke 8 dan minggu ke 16. *Mycobacterium tuberculosis* jenis H37RV dan CDC 1151 adalah jenis yang paling sering menyerang manusia. Karena jenis ini memiliki kemampuan invasi serta mampu merubah struktur dari kompleks sel endotel pada otak manusia. Hal ini terjadi karena adanya tonjolan-tonjolan mikrovili pada pintu masuk, yang mendorong sel aktin pada sitoskeleton untuk melakukan penyusunan ulang. Selain itu gen Rv0986 dan Rv0987 yang dimiliki *Mycobacterium tuberculosis* jenis ini memiliki potensi untuk meningkatkan virulensi dan adhesi terhadap sel inangnya. Prevalensi infeksi sekunder pada otak yang terjadi pada manusia baru terjadi pada tahun pertama setelah infeksi primer terjadi (Rock, 2008). Selain itu juga infeksi yang terjadi pada manusia awalnya pada paru lalu masuk ke peredaran darah dan limfe menuju ke organ-organ lain. Proses ini memerlukan waktu dan sangat tergantung dengan status imun dan terapi yang diterima.

Perjalanan penyakit TB dimulai dari adanya infeksi/fokus primer yang terbentuk 3–8 minggu post infeksi. 1–6 bulan berikutnya dapat terjadi TB milier dan TB otak. Selanjutnya 1–12 bulan, akan menyebar ke pleura. Terakhir, 3–6 tahun post infeksi akan menyebar menjadi TB tulang, termasuk TB tulang belakang walaupun fokus dan kompleks primer telah hilang. Sehingga, dari acuan ini bisa disimpulkan bahwa hasil penelitian mendekati teori yang ada bahwa 1–6 bulan pertama post infeksi akan didapatkan TB otak (tentu saja jika tidak dilakukan terapi), sedangkan pada penelitian ini waktu yang digunakan adalah 8 minggu atau 2 bulan dan 16 minggu atau 4 bulan.

6.2 Keterbatasan Penelitian

Penelitian ini memiliki keterbatasan yaitu :

1. Belum dilakukannya penghitungan ekspresi Erythropoietin di organ lain pada infeksi *Mycobacterium tuberculosis* dengan waktu infeksi yang sama. Sehingga tidak diketahui dalam waktu itu organ apa saja yang sudah berespon terhadap infeksi yang terjadi dan tidak diketahui pula apakah ekspresi Erythropoietin pada setiap organ tersebut relatif sama atau ada yang lebih dominan.
2. Tidak dilakukan *double staining* sehingga tidak dapat diketahui apakah sel yang mengekspresikan Erythropoietin adalah mikroglia atau adakah sel lain yang mampu mensekresi Erythropoietin.