

## BAB 6

### PEMBAHASAN

#### 6.1 Pembahasan Hasil Penelitian

Lupus eritematosus sistemik (LES) merupakan penyakit yang terjadi akibat adanya kerusakan multisistem, autoimun, dan jaringan ikat dengan manifestasi klinis yang sangat luas. Penyakit ini banyak diderita oleh wanita muda pada usia produktif. Rasio prevalensi wanita dengan pria mencapai 9:1 (Lancet,2007). Pada penelitian ini, karakteristik tersebut diatas sesuai dengan model mencit balb/c LES yang mempunyai jenis kelamin betina dengan usia mencit balb/c yang produktif yaitu pada usia 8 minggu. Hewan model lupus juga telah lama dikembangkan, karena adanya sebuah integrasi antara hewan model lupus dan manusia dalam pengembangan penelitian lupus eritematosus (Perry *et al.*,2011).

Berbagai macam autoantibodi ditemukan pada LES, diantaranya adalah *antinuclear antibody* (ANA) yang sering ditemukan pada autoantibodi LES. *Antinuclear antibody* (ANA) merupakan salah satu kriteria imunologis utama yang menunjukkan gangguan autoimun, dan paling sering digunakan sebagai salah satu tes untuk membantu mendiagnosa LES (Cui *et al.*,2006). Pengukuran kadar ANA juga dilakukan pada mencit model LES dalam penelitian ini. Hasil yang didapatkan pada semua kelompok perlakuan adalah positif pada tes ANA, sehingga dapat disimpulkan bahwa semua mencit model LES pada penelitian ini merupakan positif LES.

Disregulasi sistem imun pada LES seringkali dikaitkan dengan kerusakan jaringan pada organ hal tersebut dikarenakan produksi sitokin proinflamasi yang

sangat tinggi. Salah satu sitokin yang banyak diproduksi adalah IL-17A yang merupakan suatu sitokin pro-inflamasi yang berperan dengan memanggil neutrofil dan makrofag pada jaringan (Korn *et al.*, 2009). IL-17A yang bertindak sebagai kemoatraktan dengan menginduksi berbagai macam sitokin, dapat mengakibatkan kerusakan jaringan pada organ oleh karena respon inflamasi yang berlebihan (Yan *et al.*, 2010). Kerusakan jaringan yang terjadi salah satunya pada organ ginjal, dapat berakibat fatal seperti terjadinya kerentanan infeksi dan lupus nefritis. Infeksi yang terjadi merupakan penyebab tingginya angka kematian pada LES, infeksi tersebut juga dapat terjadi karena adanya peradangan pada organ ginjal yang terjadi sebelumnya (Goldblatt *et al.*, 2009). Gangguan ginjal pada LES juga merupakan salah satu penyebab komplikasi tersering pada LES yang dapat mengakibatkan kematian, oleh karena itu pada penelitian ini penghambatan jalur IL-17A merupakan target utama terapi pada LES agar kerentanan infeksi pada LES dapat diturunkan.

Vaksin kinoid IL-17A adalah vaksin bersifat imunogenik yang dapat membentuk antibodi anti IL-17A, yang mana pada penderita LES kadar IL-17A tergolong sangat tinggi. Komponen yang terdapat didalam vaksin merupakan protein recombinant IL-17A yang dikonjugasikan dengan *Keyhole Limpet Hemocyanin* (KLH) sehingga terbentuk vaksin yang secara alamiah membentuk antibodi anti IL-17A. Dengan dosis pemberian 50µg seperti yang telah dilakukan sebelumnya oleh Zagury, *et al.*, (2009). Vaksinasi yang dilakukan secara intramuskular pada kelompok P2 sebanyak tiga kali dengan jarak pemberian masing-masing selama tiga minggu, hal tersebut bertujuan untuk mendapatkan hasil yang efektif dalam pembentukan antibodi anti IL-17A. Pada pemberian vaksinasi yang pertama, *adjuvant* yang diberikan berupa *Complete Freud's*



*Adjuvant* (CFA) dengan perbandingan 1:1 dengan larutan kompleks KLH-IL-17A. Pada pemberian vaksinasi booster ( booster 1 dan 2 ), *adjuvant* yang diberikan berupa *Incomplete Freud's Adjuvant* (IFA) dengan perbandingan 1:1 dengan larutan kompleks KLH-IL-17A, pemberian vaksinasi tersebut juga sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Durez P. *et al.*,(2014) yaitu dilakukan pemberian vaksin kinoid TNF pada *rheumatoid arthritis* (RA).

Pada penelitian ini, reaksi inflamasi pada organ ginjal mencit LES yang telah diberi vaksin kinoid IL-17A sebanyak 3 kali booster, kemudian dilakukan uji coba terhadap kerentanan infeksi dengan menggunakan bakteri *methicilin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) dengan dosis  $10^8$  cfu/ml secara intraperitoneal. *Methicilin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) merupakan jenis bakteri yang resisten terhadap sejumlah antibiotik. Hal ini mengakibatkan terapi pada infeksi MRSA lebih sulit untuk dilakukan daripada bakteri lainnya, dan dengan demikian bakteri tersebut menjadi lebih berbahaya. Bakteri MRSA pada umumnya dapat berkoloni pada saluran pernafasan, luka yang terbuka, dan pada saluran kemih. Penularan bakteri MRSA terjadi melalui kontak tubuh, sehingga penyebaran penyakit mudah terjadi (Lamfont, 2013). Daya tahan tubuh yang lemah seperti pada penderita LES mempunyai resiko lebih besar untuk terinfeksi bakteri ini (Daniel *et. al*, 2013). MRSA juga diketahui dapat berkembang dengan cepat pada jaringan dalam waktu 48-72 jam (Hussein, 2015). Diagnosa infeksi yang dilakukan melalui laboratorium mikrobiologi adalah dengan tehnik kultur pada chrome agar plate yang merupakan selektif medium agar untuk bakteri MRSA (Francois, 2008), dalam penelitian ini untuk melihat koloni bakteri juga menggunakan tehnik yang sama dengan menggunakan tehnik kultur pada media *chrome agar plate* yang kemudian dilakukan perhitungan kolonisasi bakteri

menggunakan *colony counter*. Metode yang digunakan pada penelitian ini merupakan metode *pour plate*, metode ini dengan cara mencampurkan sampel bersama *chrome agar plate* sehingga bakteri tersebut tersebar merata baik di permukaan atau didalam agar. Metode ini digunakan untuk jenis sampel padat seperti organ ginjal yang tidak dapat difiltrasi dan sulit untuk diratakan dipermukaan agar.

Pada mencit model LES pemberian vaksin kinoid IL-17A dapat menurunkan proses inflamasi yang terjadi, sehingga disregulasi sistem imun dapat membaik dan kerentanan infeksi dapat menurun. Penilaian kerentanan infeksi dilakukan dengan perhitungan kolonisasi bakteri MRSA pada *chrome agar plate* dengan menggunakan *colony counter*. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan apakah vaksin kinoid IL-17A dapat menurunkan jumlah kolonisasi bakteri pada organ ginjal mencit LES yang diinjeksi MRSA. Penelitian ini menggunakan sampel organ ginjal mencit LES yang terdiri dari 3 kelompok perlakuan yaitu kelompok kontrol yang merupakan mencit LES, kelompok P1 merupakan mencit LES dengan injeksi bakteri MRSA, dan kelompok P3 yang merupakan mencit LES yang diberi vaksin kinoid IL-17A kemudian diinjeksi dengan bakteri MRSA.

Berdasarkan hasil perhitungan jumlah kolonisasi bakteri yang telah dibahas pada bab sebelumnya, dapat diketahui bahwa terdapat penurunan jumlah kolonisasi bakteri secara signifikan pada kelompok organ ginjal yang diberi vaksin kinoid IL-17A dibandingkan dengan kelompok yang tidak diberi vaksin kinoid IL-17A ( $p = 0.022$ ). Melalui hasil penelitian ini pula dapat diketahui bahwa terdapat peningkatan jumlah kolonisasi pada kelompok yang diberi injeksi bakteri MRSA dibandingkan dengan kelompok kontrol yang merupakan organ



ginjal mencit LES ( $p = 0.031$ ). Hal ini sesuai dengan penelitian Lin *et al.*, (2009) bahwa peningkatan kadar IL-17A dapat meningkatkan kerentanan pada infeksi *Staphylococcus aureus* pada mencit LES. Komponen vaksin yang digunakan pada penelitian Lin *et al.*, (2009) adalah primer dari limfosit Th1, Th17 dan Th1/17, yang memproduksi sitokin pro inflamasi yang meningkatkan kemampuan fagositosis dari sel. Penelitian lain yang mendukung hasil tersebut adalah penelitian yang dilakukan oleh Rohn *et al.*, (2006) penghambatan molekul IL-17 terbukti efektif dalam memperbaiki proses inflamasi pada LES. Vaksin aktif mengandung partikel yang menyerupai virus terkonjugasi dengan rekombinan IL-17 (IL-17 VLP). Vaksinasi menggunakan IL-17 VLP memiliki progresi yang lebih lambat pada penyakit autoimun seperti *arthritis* dan ensefalomielitis. Penelitian yang dilakukan oleh Durez, *et al.* (2014) juga mendukung hasil tersebut dengan penelitiannya mengenai vaksin kinoid TNF pada *rheumatoid arthritis* (RA). Vaksin tersebut dapat memperbaiki kondisi klinis dari RA dengan terbentuknya antibodi anti-TNF. Pengukuran titer antibody anti-TNF juga dilakukan dengan didapatkan hasil yang tinggi pada kadar antibodi anti-TNF, sehingga dapat menekan proses inflamasi yang terjadi pada RA dengan kadar antibodi anti-TNF yang terlampau tinggi.

## 6.2 Implikasi terhadap Bidang Kedokteran

Penelitian ini mengenai pemberian vaksinasi kinoid IL-17A dalam menurunkan kerentanan infeksi pada organ ginjal mencit LES yang telah diinjeksi bakteri MRSA. Untuk menilai hasil dari penelitian ini variable tergantung yang diteliti adalah jumlah kolonisasi bakteri pada organ ginjal mencit LES. Hasil yang didapatkan adalah terdapat hasil signifikan bahwa terjadi penurunan jumlah

kolonisasi bakteri pada organ ginjal mencit LES yang diberi vaksin kinoid IL-17A disbanding dengan organ ginjal mencit LES yang tidak diberi vaksin kinoid IL-17A. Hal ini terkait penghambatan jalur IL-17A pada LES akan menurunkan terjadinya kerentanan infeksi akibat dari kerusakan jaringan pada organ ginjal.

Sesuai dengan hasil yang didapat dari penelitian ini, maka pemberian vaksin kinoid IL-17A dapat dijadikan sebagai terapi pada LES untuk mencegah inflamasi dan kerentanan infeksi. Namun untuk bisa diaplikasikan ke masyarakat, penelitian ini masih memerlukan penelitian lebih lanjut, sehingga penelitian ini juga bisa dijadikan sebagai dasar teori dan pertimbangan bagi peneliti lain untuk melakukan penelitian lanjutan dengan pembahasan yang lebih mendalam.

### **6.3 Keterbatasan Penelitian**

Penelitian ini terbatas pada vaksinasi kinoid IL-17A menurunkan kerentanan infeksi berdasarkan penurunan jumlah kolonisasi bakteri pada organ ginjal mencit LES yang diinjeksi MRSA. Pada penelitian ini diperlukan waktu yang lama yaitu dalam waktu 8 bulan penelitian. Terdapat keterbatasan pada penelitian ini, perlakuan proses injeksi pristana untuk membuat hewan model LES dibutuhkan waktu minimal 4 bulan setelah injeksi pristana dilakukan dan pada proses tersebut banyak mencit yang mati karena perubahan sistem imun akibat efek pemberian pristana. Untuk itu diperlukan jumlah sampel yang lebih banyak dan perlunya dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui efek samping yang ditimbulkan oleh vaksin kinoid IL-17A pada LES.