

## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Definisi Dan Patogenesis Alzheimer

*Alzheimer disease* adalah bentuk umum dari demensia yang menyebabkan gangguan ingatan, cara berfikir, dan tingkah laku yang banyak terjadi pada orang tua. Sampai saat ini penyakit alzheimer ini belum bisa disembuhkan, bahkan secara progresif semakin memburuk dengan berjalannya waktu dan dapat menimbulkan kematian. Alzheimer pertama kali dideskripsikan oleh seorang psikiatri dan neuropatologi Jerman yang bernama Alois Alzheimer pada tahun 1906 (Berchtold NC *et al*, 2008). Alzheimer paling sering ditemukan pada orang dengan usia 65 tahun ke atas, meskipun onset akut dari alzheimer bisa terjadi pada usia yang lebih muda. Pada tahun 2006 sekitar 26,6 juta orang di dunia menderita alzheimer, dan diprediksikan akan mempengaruhi 1 dari 85 orang pada tahun 2050 (Brookmeyer R *et al*, 2007).

*Alzheimer disease* ditandai dengan hilangnya sel neuron dan synap pada korteks serebral dan pada beberapa regional subkortikal yang menyebabkan atropi otak. Pada studi foto MRI dan Mikroskopi terdapat pembentukan plak dan terjadi degenerasi pada otak penderita *alzheimer disease* (Desikan RS *et al*, 2009). Pembentukan plak pada *alzheimer disease* ini terjadi karena adanya deposit dan *misfolding* peptida protein kecil, yaitu asam amino dengan panjang 34-39 yang disebut beta amyloid. Sedangkan pembentukan kekusutan neurofibril (*neurofibrillary tangle*) terjadi karena agregasi mikrotubuli yang berhubungan dengan protein tau yang terhiperfosforilasi dan terakumulasi pada sel neuron otak. Hasil dari beberapa hipotesis dan penelitian tentang *alzheimer disease*

menyatakan bahwa pemicu utama yang menyebabkan terjadinya degenerasi pada sel-sel neuron otak adalah karena akumulasi protein beta amyloid (Priller C *et al*, 2006).

## 2.2 Diagnosis Alzheimer

Dalam menegakkan diagnosis *alzheimer disease* biasanya memerlukan beberapa evaluasi dan memakan waktu lebih dari 1 hari. Dalam banyak kasus, biasanya pendeteksian ini melibatkan lebih dari 1 orang spesialis seperti seorang neurologis, psikolog, dan psikiater. Biasanya diagnosis dilakukan berdasarkan 4 hal yaitu (*Fisher Center For Alzheimer's Research Foundation, 2012*) :

1. Riwayat kesehatan : adalah sebuah wawancara yang memuat masalah tentang penyakit masa lalu dan obat-obatan yang pernah dikonsumsi. Biasanya tes ini dilakukan dengan pendampingan keluarga karena pada umumnya pasien alzheimer telah mengalami demensia yang dapat menurunkan akurasi data yang didapatkan.
2. Keadaan fisik : termasuk memeriksa fungsi pendengaran dan penglihatan, jantung dan paru-paru, termasuk pengaturan suhu, tekanan darah dan tekanan nadi. Dokter juga harus menanyakan diet yang dilakukan pasien termasuk hubungan dengan berbagai faktor resiko seperti rokok dan alkohol. Pemeriksaan fisik biasanya ditunjang dengan pemeriksaan laboratorium yang meliputi pemeriksaan darah dan urine untuk mengeliminasi diagnosis banding lainnya. Level depresi pasien juga harus diperhatikan, dalam beberapa kasus bahkan kesehatan spiritual pasien dipertimbangkan.
3. Pemeriksaan neuropsikologi : dokter biasanya menggunakan beberapa alat untuk mengakses memori pasien, mengakses cara memecahkan masalah,



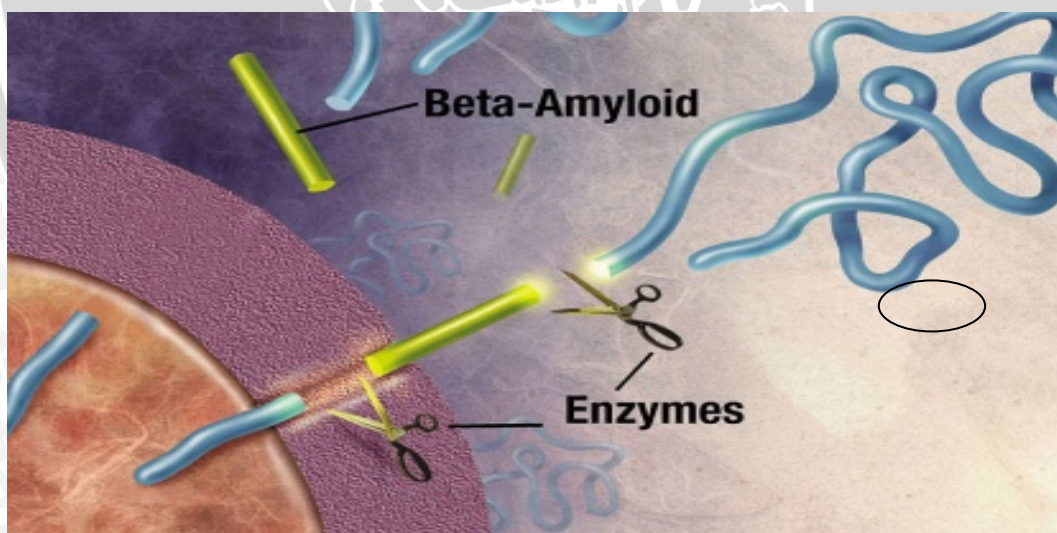
perhatian pasien, koordinasi gerakan mata, dan pemikiran abstrak pasien seperti memberikan penghitungan yang sederhana pada pasien. Tujuan utamanya adalah untuk melihat karakterisasi perubahan tipe kognitif yang terjadi yang mungkin dapat menunjukkan penyebab kelainan yang diderita pasien. Metode yang paling umum untuk digunakan dalam tes ini adalah MMSE (*Mini Mental State Exam*). Dalam tes MMSE, dokter ataupun perawat akan meminta pasiennya untuk menjawab beberapa perhitungan sederhana dan orientasi seperti waktu, tanggal dan lainnya.

4. *Brain-imaging scan* : MRI dan CT-SCAN dapat digunakan untuk melihat struktur dan vaskularisasi dari otak pasien, yang nantinya dapat digunakan sebagai bahan evaluasi apakah terdapat kelainan pada otak pasien. Bahkan PET SCAN dapat melihat bagian otak mana yang paling bekerja aktif dalam melaksanakan fungsi luhurnya.

Sementara, diagnosis pasti dari penyakit Alzheimer hanya bisa dibuat dengan pemeriksaan autopsi otak pasien. Evaluasi neuropatologi ini, menunjukkan atrofi otak yang luas, mengisyaratkan kehilangan neuron yang signifikan. Lesi diagnostik ditemukan pada pemeriksaan mikroskopis pada area otak yang paling terpengaruh, yang menunjukkan adanya plak neuritik ekstraseluler dan kusutan neurofibril intraseluler dalam jumlah yang besar. Plak dan kusutan ditemukan secara dominan di lobus frontal dan temporal, termasuk hipokampus. Pada beberapa kasus yang sudah *advanced*, kelainan patologis meluas ke daerah korteks lain, termasuk lobus parietal dan oksipital (Nowotny *et al.*, 2001)

### 2.3 Beta-Amyloid Plaque

Beta amyloid adalah fragment dari protein besar yang disebut *amyloid precursor protein* (APP). APP diketahui sebagai protein yang dapat masuk dengan bebas melewati membran neuron pada otak yang berperan untuk pertumbuhan neuron, pelindung dan perbaikan pada neuron yang *injury*. Pada *alzheimer disease*, APP ini membelah menjadi fragment-fragment kecil oleh enzim proteolisis yang menyebabkan akumulasi dan agregasi dari beta amyloid. Tetapi gangguan produksi dan agregasi peptida protein beta amyloid yang meningkatkan patologi *alzheimer disease* sampai saat ini belum diketahui dengan pasti. Akumulasi dan agregasi dari beta amyloid ini dipercaya dapat menyebabkan terjadinya *toxic* pada sel otak sehingga terjadi gangguan pada homeostasis ion kalsium otak yang dapat memicu apoptosis pada sel-sel neuron otak (Yankner BA *et al*, 2010).



**Gambar 2.1** Struktur Molekul Protein Beta Amyloid. Proses pembelahan APP (*Amyloid Precursor Protein*) menjadi fragment-fragment kecil beta amyloid oleh enzim proteolisis yang menyebabkan akumulasi dan agregasi dari beta amyloid (Lahiri DK, 2010).



## 2.4 Antibodi dan Antigen

### 1.4.1 Antibodi Poliklonal

Antibodi poliklonal adalah antibodi yang diperoleh dari beberapa sel B atau *cell lines*. Pembuatan antibodi ini memiliki beberapa kemiripan dengan berbagai antibodi yang ditemukan dalam serum normal, yaitu komponen cairan yang terpisah saat darah yang membeku. Kemiripan ini disebabkan oleh fakta bahwa antibodi poliklonal mengenali epitop yang berbeda dan memiliki derajat yang berbeda kekhususannya. Sebaliknya, antibodi monoklonal, berasal dari satu jenis klon dan mengenali epitop yang sama dengan derajat yang sama kekhususannya (Loyd, 2013).

Untuk menghasilkan antibodi poliklonal, hewan coba, seperti ayam, tikus atau kelinci diinjeksi dengan antigen. Sistem kekebalan hewan dirangsang untuk memproduksi sel B yang mensekresikan antibodi yang spesifik untuk antigen. Setelah jangka waktu tertentu, biasanya beberapa minggu atau bahkan bulan, serum hewan dipanen (Loyd, 2013).

Persiapan khusus antibodi poliklonal biasanya, merupakan campuran antibodi spesifik, dimana seluruhnya mengenali antigen yang sama. Antibodi mengikat dengan kekuatan yang berbeda untuk epitop yang berbeda pada antigen (Loyd, 2013).

Ciri-ciri dari Antibodi Poliklonal, diantaranya adalah :

1. Mampu mengenali beberapa epitop pada satu antigen. Serum yang diperoleh akan berisi campuran kompleks heterogen dari antibodi dengan afinitas yang berbeda
2. Poliklonal tersusun sebagian besar dari subkelas IgG

3. Imunogen peptida sering digunakan untuk menghasilkan antibodi poliklonal yang menargetkan epitop yang unik, terutama untuk protein homologi tinggi (Milner, 2013).

Hal-hal yang mengenai, proses pembuatan antibodi poliklonal, diantaranya adalah :

1. Biaya produksi yang murah
2. Tidak membutuhkan teknologi dan keterampilan yang tinggi
3. Waktu pembuatan yang relatif singkat
4. Antibodi Poliklonal tidak mampu menyelidiki domain spesifik antigen. Karena antiserum poliklonal biasanya akan mengenali banyak domain (Milner, 2013).

Antibodi Poliklonal akan mengenali beberapa epitop pada satu antigen, sehingga memiliki keuntungan sebagai berikut :

1. Poliklonal dapat membantu memperkuat sinyal dari target protein dengan tingkat ekspresi rendah, seperti protein target akan mengikat lebih dari satu molekul antibodi pada beberapa epitop.
2. Karena dapat mengenali beberapa epitop, antibodi poliklonal dapat memberikan hasil yang lebih baik di IP / CHIP
3. Lebih toleran terhadap perubahan kecil dalam antigen, misalnya, polimorfisme, heterogenitas glikosilasi, atau perubahan kecil denaturasi, dibandingkan monoklonal antibodi (homogen).
4. Antibodi poliklonal akan mengidentifikasi protein homologi tinggi terhadap protein imunogen atau untuk menyaring protein target dalam sampel jaringan dari spesies lain dibandingkan dengan imunogen misalnya antibodi poliklonal kadang-kadang digunakan ketika sifat antigen dalam spesies belum teruji tidak diketahui.

5. Antibodi Poliklonal sering menjadi pilihan yang lebih disukai untuk mendeteksi protein terdenaturasi.
6. Beberapa epitop umumnya menyediakan deteksi lebih kuat (Milner, 2013).

Kelemahan dari penggunaan antibodi poliklonal, yaitu :

1. Menghasilkan sejumlah besar antibodi non-spesifik yang kadang-kadang dapat memberikan sinyal *background* pada beberapa aplikasi.
2. Beberapa epitop, mewajibkan peneliti untuk memeriksa urutan imunogen untuk setiap reaktivitas silang (Milner, 2013).

Prosedur umum pembuatan antibodi poliklonal :

1. Diproduksi dengan mengimunisasi hewan dengan antigen yang tepat.
2. Imunisasi atau vaksinasi adalah suatu prosedur untuk meningkatkan derajat imunitas seseorang terhadap patogen tertentu atau toksin. Imunisasi yang ideal adalah yang dapat mengaktifkan sistem pengenalan imun dan sistem efektor yang diperlukan. Hal tersebut dapat diperoleh dengan pemberian antigen yang tidak patogenik.
3. Serum dari hewan terimunisasi dikumpulkan
4. Antibodi dalam serum dapat dimurnikan lebih lanjut.
5. Karena satu antigen menginduksi produksi banyak antibodi maka hasilnya berupa *polyclonal* /campuran antibodi (Milner, 2013).

#### 1.4.2 Antibodi Poliklonal Beta-Amyloid

Neuron termasuk sel-sel yang unik yang terdapat didalam tubuh manusia.

Sel neuron berbeda dari kebanyakan sel pada tubuh manusia pada umumnya, terutama dalam hal meregenerasi dirinya. Pada umumnya setiap kerusakan yang terjadi pada sel-sel didalam tubuh akan ditanggapi dengan adanya proses regenerasi *germ cell* atau sel-sel induk yang memiliki kemampuan untuk



membelah menjadi sel yang rusak kembali dengan fungsi yang hampir sempurna. Hal yang berbeda terjadi pada sel-sel neuron, karena sel neuron tidak memiliki *germ cell* yang mampu mengcover kerusakan yang terjadi pada sel neuron. Ini menunjukkan setiap kerusakan yang terjadi pada sel-sel neuron tidak akan dikompensasi secara sempurna. Secara fungsional pun, sel neuron merupakan sel yang sangat unik karena mampu membangkitkan *impuls* listriknya sendiri dan mampu bekerja secara sinergis satu sama lainnya untuk memenuhi fungsi penghantaran *impuls*. Berbagai paparan mekanis maupun usia lama kelamaan akan terakumulasi dan akan menurunkan kemampuan sel-sel neuron untuk menjalankan fungsi normalnya, biasanya terdapat mekanisme kompensasi yang tidak sempurna untuk menanggulangi hal ini, yaitu sel neuron akan digantikan dengan jaringan parut yang tidak memiliki kemampuan khusus seperti sel neuron. Dapat dibayangkan apabila terjadi pergantian satu sel neuron yang fungsional pada jaras tertentu dengan jaringan ikat yang tidak spesifik akan mengganggu aliran *impuls* yang seharusnya bekerja secara sinergis (Guyton *et al* 2010).

Pada fase awal terjadinya *alzheimer disease* dimana terjadi penurunan fungsi dan massa dari sel neuron dan *synaps* yang menyebabkan atropi pada korteks serebral (Wenk GL *et al* 2003). Terjadinya atropi pada korteks serebral ini menyebabkan terjadinya proses *misfolding* pembentukan protein pada otak, dimana protein yang paling berperan pada proses tersebut adalah APP (*Amyloid Precursor Protein*). Gen APP pada manusia terletak pada *chromosome* 21 dan memiliki sedikitnya 18 *exon* pada 240 *kilobases* (Yoshikai S *et al* 2006). APP merupakan protein transmembran yang dapat secara bebas berpenetrasi melalui membran neuron dan diketahui berfungsi untuk pertumbuhan, keselamatan, dan perbaikan *post injury* sel neuron (Priller C *et al* 2006). Pada *alzheimer disease*,



melalui proses yang belum diketahui, APP membelah menjadi fragment yang lebih kecil oleh enzim proteolisis (Hooper NM *et al* 2005). Proses pembelahan APP oleh protease ini dibagi menjadi 3, yaitu *alfa secretase*, *beta secretase* dan *gamma secretase*. Pembelahan APP oleh *beta secretase* dan *gamma secretase* menghasilkan fragment beta amyloid. *Gamma secretase* yang memproduksi akhir *C-Terminal* dari *beta amyloid peptide*, pembelahan pada regio transmembran pada APP dapat menghasilkan sejumlah isoform asam amino 36-43. Isoform yang paling umum adalah isoform beta amyloid 40 dan 42. Bentuk isoform paling panjang diproduksi pada pembelahan yang terjadi pada *reticulum endoplasma*, sedangkan bentuk isoform yang paling pendek diproduksi oleh pembelahan pada *trans-golgy network*. Mutasi APP yang dikaitkan dengan onset awal *alzheimer disease* adalah terjadi peningkatan produksi beta amyloid 42, yaitu gugus peptida dengan 42 asam amino (Tapiola *et al.*, 2009)

Setiap antigen yang diinjeksikan kedalam tubuh organisme akan selalu mengalami proses pengenalan oleh sel-sel tubuh yang akan menghasilkan antibodi. Molekul antibodi hanya akan mengenali setiap molekul antigen yang sesuai dan spesifik pada antigennya. Antibodi beta amyloid hanya akan mengenali antigennya yaitu beta amyloid (Abbas *et al* 2010). Harapannya, apabila antibodi beta amyloid mampu untuk mengikat antigennya yaitu beta amyloid maka dapat dijadikan suatu alat diagnostik yang mampu mensuplemen tes yang ada pada saat ini. Selain itu tes yang masih digunakan pada alzheimer saat ini masih berupa tes yang sangat subjektif dan sangat tergantung pada keahlian dari tenaga ahli yang melakukan pendiagnosian dan juga tergantung pada situasi dan kondisi saat dilakukan pendeteksian. Dengan demikian, antibodi beta amyloid sangat potensial untuk dikembangkan sebagai suatu alat

pendeteksian baru dan mampu mensuplementasi pendeteksian alzheimer saat ini dan juga pendeteksian melalui antibodi beta amyloid diharapkan mampu mengurangi *human error* karena menggunakan metode analisis secara sitologi.

