

**PEMBERIAN PROTEIN 38 kDa *Mycobacterium tuberculosis*
MENURUNKAN EKSPRESI INTERLEUKIN-4 PADA KULTUR
PERIPHERAL BLOOD MONONUCLEAR CELL (PBMC)**

TUGAS AKHIR

Untuk Memenuhi Persyaratan

Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran Umum



Oleh :

Agung Hidayatulloh

NIM. 105070103111014

PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2014

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

**PEMBERIAN PROTEIN 38 kDa *Mycobacterium tuberculosis*
MENURUNKAN EKSPRESI INTERLEUKIN-4 PADA KULTUR
PERIPHERAL BLOOD MONONUCLEAR CELL (PBMC)**

Oleh :

Agung Hidayatulloh

NIM : 105070103111014

Telah diuji pada

Hari : Senin

Tanggal : 12 Mei 2014

dan dinyatakan lulus oleh:

Penguji I

Dr.dra. Sri Winarsih, Apt, Msi

NIP. 19540823 19813 2 001

Pembimbing I

Pembimbing II

dr. Maimun ZA, M.Kes, Sp.PK
NIP.19700526 199702 2 005

Dr. dr. Sri Poeranto Y S, M.Kes,
Sp.Par(K)
NIP.19520506 198002 1 002

Mengetahui,
Ketua Program Studi

Prof. Dr. dr. Teguh Wahyu Sardjono, DTM&H, M.Sc, Sp.Park
NIP. 19520410 198002 1 001

KATA PENGANTAR

Segala puji hanya bagi Allah SWT yang telah melimpahkan taufik, rahmat, dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir dengan judul “Pemberian Protein 38 Kda *Mycobacterium tuberculosis* Menurunkan Ekspresi Interleukin-4 pada Kultur Peripheral Blood Mononuclear Cell (PBMC)”.

Ketertarikan penulis akan topik ini didasari oleh fakta bahwa masih banyaknya jumlah kasus infeksi tuberkulosis di dunia, khususnya di Indonesia sendiri. Oleh karena itu, penulis ingin mencari kandidat vaksin lainnya yang lebih baik dari vaksin BCG dalam mencegah penyakit tuberkulosis, yaitu dengan menggunakan *Protein 38 kDa M.tuberculosis*.

Dengan selesainya Tugas Akhir ini, penulis mengucapkan terima kasih yang tak terhingga kepada:

1. Dr. dr. Karyono Mintaroem, Sp.PA, dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang telah memberikan kesempatan menuntut ilmu di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
2. Prof. Dr. dr. Teguh Wahyu Sardjono, DTM&H, M.Sc, Sp.ParK, Ketua jurusan pendidikan dokter, yang telah mengayomi mahasiswa dalam menuntut ilmu di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
3. Dr.Dra. Sri Winarsih, Apt, Msi, selaku penguji I yang memberikan saran dan kritik yang telah diberikan sehingga penulis dapat menyempurnakan Tugas Akhir ini.
4. dr. Maimun ZA, M.Kes, Sp.PK, sebagai pembimbing pertama yang telah memberikan banyak bantuan dalam penelitian ini dan dengan sabar dan

telaten membimbing serta memberikan masukan dan saran yang berguna bagi penulis dalam menyelesaikan Tugas Akhir ini.

5. Dr. dr. Sri Poeranto YS, M.Kes, Sp.ParK selaku pembimbing kedua yang dengan sabar membimbing penulis untuk dapat menulis dengan baik dan senantiasa memberikan masukan selama penulisan Tugas Akhir ini.
6. Segenap anggota Tim Pengelola Tugas Akhir FKUB Dr. Dra. Sri Winarsih, Apt., M.Si dan dr. Soemardini, M.Pd atas semua bantuannya.
7. Staf Laboratorium Biomedik, Mas Yudha dan Mbak Suci yang telah banyak membantu dalam penyelesaian penelitian ini.
8. Yang tercinta ibu saya Nur Cholishah, ayah saya Khusnul Farid, atas dukungan, perhatian, dan kasih sayangnya.
9. Yang tercinta kekasih saya Firdha Nuri yang tak henti-hentinya memberi dukungan dan semangat dalam menyelesaikan penelitian ini.
10. Teman-temanku, Mirban, Zainur, Dilo, Janu, Yanuar, Beny atas bantuan, dukungan, dan motivasinya.
11. Semua pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan Tugas Akhir ini yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari Tugas Akhir yang telah ditulis sangat jauh dari sempurna, namun penulis berharap Tugas Akhir ini akan dapat memberikan manfaat. Semoga Allah SWT senantiasa memberikan rahmat dan karunia-Nya kepada kita semua, Amin.

Malang, April 2014

Penulis

ABSTRAK

Hidayatulloh, Agung. 2014. Pemberian Protein 38 Kda *Mycobacterium tuberculosis* Menurunkan Ekspresi Interleukin-4 pada Kultur Peripheral Blood Mononuclear Cell (PBMC). Tugas Akhir, Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) dr. Maimun ZA, M.Kes, Sp.PK. (2) Dr.dr. Sri Poeranto YS, M.Kes, Sp.Par(K)

Jumlah penderita TB di Indonesia sekitar 5,8% dari total jumlah penderita TB di dunia dan menduduki peringkat ke- 3 terbanyak di dunia setelah India dan China. Untuk mencegah penyakit TB, di Indonesia sudah dilaksanakan vaksin TB menggunakan BCG, namun pemberian vaksin BCG tidak efektif untuk mencegah penyakit tuberculosis. Protein 38 kDa *M.tuberkulosis* adalah antigen spesifik *M.tuberculosis* yang paling dominan dalam merangsang respon imun tubuh dibanding antigen lainnya. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan bahwa pemberian protein 38 kDa dapat menurunkan ekspresi IL-4 pada kultur PBMC. Metode yang digunakan adalah desain eksperimen murni di laboratorium secara *ex vivo* dengan *Randomized Post Test Only Controlled Group Design*. Sampel berjumlah masing-masing 9 subyek sehat, kontak dan pasien. PBMC dari masing-masing subyek diisolasi dan dibagi menjadi 3 kelompok yang kemudian diinduksikan protein 38 kDa, PPD atau kontrol. PBMC akan dikultur selama 3 hari dan dilihat ekspresi IL-4 menggunakan cara *flow cytometry*. Hasil penelitian menunjukkan rerata ekspresi IL-4 limfosit (gated %) sehat=0,72, kontak=0,44, dan pasien=2,59. Setelah dilakukan uji Kruskall Wallis dan ANOVA, pada masing-masing subyek sehat, kontak dan pasien menunjukkan perbedaan yang signifikan terhadap produksi IL-4 kelompok yang di induksi protein 38 kDa dengan kontrol, nilai *p-value* masing-masing kelompok adalah sebagai berikut, subyek sehat *p*=0,00, subyek kontak *p*=0,002 dan subyek pasien *p*=0,001. Ini dapat terjadi karena induksi protein 38 kDa dapat meningkatkan respon Th1 sehingga produksi IL-4 oleh Th2 dapat ditekan. Juga terdapat perbedaan produksi IL-4 yang signifikan dengan nilai *p*=0,00 antara subyek sehat, kontak dan pasien setelah diinduksi protein 38 kDa. Kesimpulan penelitian adalah protein 38 kDa dapat menurunkan ekspresi IL-4 limfosit pada kultur PBMC.

Kata kunci: Protein 38 kDa *M.tuberculosis*, PBMC, Limfosit, IL-4

ABSTRACT

Hidayatulloh, Agung. 2014. **38 kDa Protein of *Mycobacterium tuberculosis* Induction Decreases Interleukin-4 Expression in Pheriperal Blood Mononuclear Cell (PBMC) Culture.** Final Assignment, Medical Program, Faculty of Medicine, University of Brawijaya. Supervisors: (1) dr. Maimun ZA, M.Kes, Sp.PK. (2) Dr.dr. Sri Poeranto YS, M.Kes, Sp.Park

The number of patients with tuberculosis in Indonesia is about 5,8% from total patients in the world and have third rank in the world after India and China. To prevent Tuberculosis, Indonesia has been giving TB vaccine using BCG vaccine, but is not effective to prevent this disease. 38 kDa protein of *M. tuberculosis* is immunodominant lipoprotein that able to suppress IL-4 production that correlates with severity of the disease. This experiment aimed to determine that 38 kDa protein induction could decreases IL-4 expression in PBMC culture. The methode is Randomized Post Test Only Controlled Group Design by ex vivo. There are 9 samples in each healthy, contact and patient subject. The PBMC from subjects was isolated and divided into 3 groups, and then inducted 38 kDa Protein, PPD or control. The PBMC was cultured for 72 hours and the expression of IL-4 examined by flow cytometry test. This study showed that average of lymphocytes IL-4 expression (gated %) is healthy=0,72, contact=0,44 and patient=2,59. Based on Kruskall Wallis and ANOVA test, there was significant differences of IL-4 expression among protein 38 kDa induced group and control group in healthy, contact and patient subject, p-values each groups were healthy subject p=0,00, contact subject p=0,002 and patient subject p=0,001. Also there was significant differences in IL-4 expression with p=0,00 between healthy, contact and patient subject after induced with 38 kDa protein. The conclusion is the 38 kDa protein of *M.tuberculosis* can decreases lymphocytes IL-4 production in PBMC culture.

Key words: 38 kDa Protein of *M.tuberculosis*, PBMC, Limfosit, IL-4



DAFTAR ISI

Halaman

Judul	i
Halaman Pengesahan	ii
Kata Pengantar	iii
Abstrak	v
Abstract	vi
Daftar Isi	vii
Daftar Gambar	ix
Daftar Tabel	x
Daftar Lampiran	xi
Daftar Singkatan	xii

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan	5
1.3.1 Tujuan Umum	5
1.3.2 Tujuan Khusus	5
1.4 Manfaat	5
1.4.1 Manfaat Akademik	5
1.4.2 Manfaat Praktis	6

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tuberkulosis	7
2.1.1 Definisi	7
2.1.2 Patogenesis Tuberkulosis	8
2.1.2.1 Tuberkulosis Primer	8
2.1.2.2 Tuberkulosis Pasca-Primer	9
2.1.2.3 Respon Imun Tuberkulosis	10
2.1.3 Diagnosis	12
2.1.4 Penatalaksanaan Tuberkulosis	14
2.2 <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	15
2.2.1 Morfologi	15
2.2.2 Struktur Antigen	16
2.3 <i>Bacillus Calmette-Guerin</i>	16
2.4 Protein 38 kDa <i>M.tuberculosis</i>	17
2.5 Interleukin-4 (IL-4)	18
2.5.1 Deskripsi	18
2.5.2 Fungsi	19
2.6 <i>Flow cytometry</i>	20
2.6.1 Definisi	20
2.6.2 Fungsi	20



BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep Penelitian	22
3.2 Hipotesis Penelitian	23

BAB 4 METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian	24
4.2 Lokasi dan Waktu Penelitian	25
4.3 Populasi dan Sampel	25
4.4 Variabel Penelitian	27
4.4.1 Variabel Bebas	27
4.4.2 Variabel Tergantung	27
4.5 Definisi Operasional	28
4.6 Alat dan Bahan Penelitian	28
4.6.1 Pemeriksaan Umum	28
4.6.2 Isolasi PBMC	29
4.6.3 Kultur PBMC	29
4.6.4 Flow Cytometry	29
4.7 Prosedur Penelitian	29
4.7.1 Isolasi PBMC	29
4.7.2 Kultur PBMC	31
4.7.3 Pengujian Flow Cytometry	31
4.8 Pengumpulan dan Analisis Data	32

BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil Penelitian	34
5.1.1 Jumlah Limfosit yang Mengekspresikan Interleukin-4	34
5.2 Analisis Data	35
5.2.1 Perbandingan Pemberian Protein 38 kDa pada Subjek Sehat, Kontak dan Pasien	36
5.2.2 Perbandingan Pemberian Protein 38 kDa dengan PPD dan Kontrol pada Subjek Sehat	37
5.2.3 Perbandingan Pemberian Protein 38 kDa dengan PPD dan Kontrol pada Subjek Kontak	39
5.2.4 Perbandingan Pemberian Protein 38 kDa dengan PPD dan Kontrol pada Subjek Pasien	40

BAB 6 PEMBAHASAN	43
-------------------------------	-----------

BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan	53
7.2 Saran	53

DAFTAR PUSTAKA	54
LAMPIRAN	59
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	81



DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 2.1 Diagram Skematik Respon Imun terhadap M.tb	12
Gambar 2.2 Tes Nucleic Acid Amplification	13
Gambar 2.3 Gambaran Radiologis Pasien dengan TB Paru	14
Gambar 2.4 Gambaran M.tuberculosis setelah Pewarnaan BTA	16
Gambar 3.1 Kerangka Konsep	22
Gambar 4.1 Rancangan Penelitian	24
Gambar 4.2 Subyek Penelitian	26
Gambar 4.3 Tabung sentrifugasi	30
Gambar 5.1 Grafik Presentase Limfosit yang Mengekspresikan IL-4 Menggunakan <i>Flow cytometry</i> pada masing-masing subjek sehat, kontak dan pasien	35



DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1	Regimen Pengobatan TB Sesuai Kriteria Diagnosis
Tabel 5.1	Presentase Limfosit yang Mengekspresikan Interleukin-4 Menggunakan Flow Cytometry pada Masing-masing Subyek Sehat, Kontak dan Pasien
Tabel 5.2	Perbandingan Pemberian Protein 38 kDa pada Subyek Sehat, Kontak dan Pasien
Tabel 5.3	Perbandingan Pemberian Protein 38 kDa dengan PPD dan Kontrol pada Subyek Sehat
Tabel 5.4	Perbandingan Pemberian Protein 38 kDa dengan PPD dan Kontrol pada Subyek Kontak
Tabel 5.5	Perbandingan Pemberian Protein 38 kDa dengan PPD dan Kontrol pada Subyek Pasien



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1 Kegiatan Penelitian	59
Lampiran 2 Hasil <i>flow cytometry</i>	61
Lampiran 3 Analisis Statistik Perbandingan Pengaruh Pemberian Protein 38 kDa pada Kelompok Sehat, Kontak dan Pasien	73
Lampiran 4 Analisis Statistik Perbandingan Pengaruh Pemberian Protein 38 kDa (antigen) dengan PPD dan Kontrol pada Subyek Sehat.....	76
Lampiran 5 Analisis Statistik Perbandingan antara Pengaruh Pemberian Protein 38 kDa (antigen) dengan PPD dan Kontrol pada Subyek Kontak	79
Lampiran 6 Analisis Statistik Perbandingan antara Pengaruh Pemberian Protein 38 kDa (antigen) dengan PPD dan Kontrol pada Subyek Pasien	80



DAFTAR SINGKATAN

BCG	<i>Bacillus Calmette-Guerin</i>
BTA	Bakteri Tahan Asam
CD	<i>Cluster of Differentiation</i>
CMI	<i>Cell Mediated Immunity</i>
CRP	<i>C-Reactive Protein</i>
DOTS	<i>Directly Observed Treatment, Short-course</i>
EDTA	<i>Ethylene Diamine Traacetic Acid</i>
HIV	<i>Human Immunodeficiency Virus</i>
HRZES	<i>Isioniazid, Rifampisin, Pirazinamid, Etambutol, Streptomisin</i>
IFN γ	<i>Interferon gamma</i>
IL-4	<i>Interleukin-4</i>
kDa	<i>Kilo dalton</i>
LP	Lapang Pandang
MDR-TB	<i>Multi Drug Resistance Tuberculosis</i>
MHC	<i>Major Histocompatibility Complex</i>
NAA	<i>Nucleic Acid Amplification</i>
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
PPD	<i>Purified Protein Derivative</i>
TB	Tuberkulosis
Th1	<i>T Helper 1</i>
Th2	<i>T Helper 2</i>