

INDONESIAN JOURNAL OF
**CLINICAL PATHOLOGY AND
 MEDICAL LABORATORY**

Majalah Patologi Klinik Indonesia dan Laboratorium Medik

DAFTAR ISI

PENELITIAN

Nilai Rujukan <i>Soluble Transferrin Receptor (sTfR)</i> {(Soluble Transferrin Receptor Reference Value (sTfR))} Anggraini Iriani, Endah Purnamasari, Riadi Wirawan	211-214
Analisis <i>Absolute Neutrophil Count</i> di Pasien Kanker Payudara dengan Kemoterapi (<i>Analysis of Absolute Neutrophil Count in Breast Cancer Patients with Chemotherapy</i>) Arifa Moidady, Tenri Esa, Uleng Bahrun	215-219
<i>Packed Red Cell</i> dengan Delta Hb dan Jumlah Eritrosit Anemia Penyakit Kronis (<i>Packed Red Cells with Delta Hb and Erythrocytes in Anemia of Chronic Disease</i>) Novita Indayanie, Banundari Rachmawati	220-223
Indeks Aterogenik Plasma di Infark Miokard Akut dan Penyakit Diabetes Melitus (<i>Atherogenic Index of Plasma in Acute Myocardial Infarction and Diabetes Mellitus</i>) Zulfikar Indra, Suci Aprianti, Darmawaty E.R.	224-226
Ret-He dalam Diagnosis sebagai Tolok Ukur dalam Mendeteksi Kekurangan Zat Besi di Ibu Hamil (<i>Ret-He in Diagnostic Parameter to Detecting Iron Deficiency in Pregnant Women</i>) Imee Surbakti, Adi Koesoema Aman, Makmur Sitepu	227-230
Perbedaan Bermakna Kadar <i>Serum Amiloid A</i> antara Stenosis Koroner dibandingkan Bukan Stenosis Koroner (<i>Significantly Higher Level of Serum Amyloid A Among Coronary Stenosis Compared to Nonstenosis</i>) I Nyoman G Sudana, Setyawati, Usi Sukorini	231-236
<i>Hybridization-Based Nucleic Acid Amplification Test</i> terhadap <i>Cartridge-Based Nucleic Acid Amplification Test</i> terkait <i>Multidrug-Resistant Tuberculosis</i> (<i>Hybridization-Based Nucleic Acid Amplification Test Towards Cartridge-Based Nucleic Acid Amplification Test in Multidrug-Resistant Tuberculosis</i>) Ivana Agnes Sulianto, Ida Parwati, Nina Tristina, Agnes Rengga I	237-243
Protein Rekombinan 38 Kda <i>Mycobacterium Tuberculosis</i> dalam <i>Interleukin-2</i> dan <i>Interleukin-4</i> Serta Limfosit T Cd3 ⁺ (<i>The Mycobacterium Tuberculosis 38 Kda Recombinant Protein in Interleukin-2 and Interleukin-4 as well as Cd3⁺ T Lymphocytes</i>) Maimun Z Arthamin, Nunuk S Muktiati, Triwahju Astuti, Tri Yudani M Raras, Didit T Setyo Budi, Francisca S. Tanoerahardjo	244-249
Angka Banding Albumin Kreatinin Air Kemih dan HbA1c Serta Estimasi Laju Filtrasi Glomerulus pada Pasien Diabetes Melitus Tipe 2 (<i>Urinary Albumin to Creatinine Ratio with HbA1c and Estimated Glomerulo Filtration Rate in Type 2 Diabetes Mellitus Patients</i>) Amiroh Kurniati, Tahono	250-256

Zat Besi di Pendonor Teratur dan yang Tidak Teratur (<i>Iron in Regular and Nonregular Donors</i>) Ina Diyana Kartika, Lince Wijoyo, Syahraswati, Rachmawati Muhiddin, Darwati Muhadi, Mansyur Arif.....	257-260
Deteksi Antibodi Multipel Hepatitis C dalam Darah Donor (<i>Multiple Antibody Detection of hepatitis C in Donor Blood</i>) Ranti Permatasari, Aryati, Budi Arifah.....	261-265
<i>Oxidized-Low Density Lipoprotein dan Derajat Stenosis Penyakit Jantung Koroner</i> (<i>Oxidized-Low Density Lipoprotein And Stenosis Level In Coronary Artery Disease</i>) Sutamti, Purwanto Ap, Mi. Tjahjati.....	266-272
Protein 24 HIV dan Limfosit T-CD4 ⁺ di Infeksi HIV Tahap (<i>HIV P24 Protein and CD4⁺T-Lymphocyte in Stage I HIV Infection</i>) I Made Sila Darmana, Endang Retnowati, Erwin Astha Triyono	273-279
Fibrinogen dan <i>Transcranial Doppler</i> di Strok Iskemik Akut (<i>Fibrinogen and Transcranial Doppler in Acute Ischemic Stroke</i>) Hafizah Soraya Dalimunthe, Adi Koesoema Aman, Yuneldi Anwar.....	280-284
Kesahihan Diagnostik Hemoglobin Retikulosit untuk Deteksi Defisiensi Zat Besi di Kehamilan (<i>Diagnostic Validity of Reticulocyte Hemoglobin for Iron Deficiency Detection in Pregnancy</i>) Tri Ratnaningsih, Budi Mulyono, Sutaryo, Iwan Dwiprahasto.....	285-292
Rerata Volume Trombosit dan Agregasi Trombosit di Diabetes Melitus Tipe 2 (<i>Mean Platelet Volume and Platelet Aggregation in Diabetes Mellitus Type 2</i>) Malayana Rahmita Nasution, Adi Koesoema Aman, Dharma Lindarto.....	293-297
Kaitan IgE Spesifik Metode Immunoblot terhadap ELISA pada Rinitis Alergi (<i>Association Between Specific Ige Immunoblot Method with ELISA on Allergic Rhinitis</i>) Aryati, Dwi Retno Pawarti, Izzuki Muhashonah, Janti Tri Habsari.....	298-303
TELAAH PUSTAKA	
Diagnosis Tiroid (<i>Diagnosis of Thyroid</i>) Liong Boy Kurniawan, Mansyur Arif.....	304-308
LAPORAN KASUS	
Talasemia Beta Hemoglobin E (<i>Hemoglobin E Beta Thalassemia</i>) Viviyanti Zainuddin, agus Alim Abdullah, Mansyur Arif	309-312
MANAGEMEN LABORATORIUM	
Mutu Layanan Menurut Pelanggan Laboratorium Klinik (<i>Service Quality Regarding to the Clinical Laboratory Customer</i>) Mohammad Rizki, Osman Sianipar	313-318
INFORMASI LABORATORIUM MEDIK TERBARU.....	319-320

Ucapan terima kasih kepada penyunting Vol. 21 No. 3 Juli 2015

Sidarti Soehita, Jusak Nugraha, J.B. Soeparyatmo, Maimun Z. Arthamin,
Kusworini Handono, Rahayuningsih Dharma, July Kumalawati, Tahono, Rismawati Yaswir, Mansyur Arif

PROTEIN REKOMBINAN 38 KDA MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS DALAM INTERLEUKIN-2 DAN INTERLEUKIN-4 SERTA LIMFOSIT T CD3⁺

(The Mycobacterium Tuberculosis 38 kDa Recombinant Protein in Interleukin-2 and Interleukin-4 as well as CD3⁺ T Lymphocytes)

Maimun Z Arthamin¹, Nunuk S Muktiati², Triwahju Astuti², Tri Yudani M Raras³,
Didit T Setyo Budi², Francisca S. Tanoerahardjo⁴

ABSTRACT

Tuberculosis remains a serious global health problem despite the widespread use of the vaccine against tuberculosis (TB). Up to now, the only available TB vaccine, *Mycobacterium bovis* BCG has a very wide efficacy range from 0 until 80 percent protection so the development of a new vaccine is needed. The new protein as a candidate vaccine should be assessed for their immunogenicity. The purpose of this study was to examine whether *Mycobacterium tuberculosis* 38 kDa recombinant protein could stimulate a cellular immune response especially CD3⁺T lymphocytes to express IL-2 and IL-4 in PBMC cultures. An experimental laboratory research on cultured PBMC of 3 groups consisting of TB patients, contacts of TB positive and healthy subjects, each group consisted of 8 subjects. All PBMC cultures were induced by *Mycobacterium tuberculosis* 38 kDa recombinant protein, Purified Protein Derivative (PPD) and without antigen as a control. Expression of IL-2 and IL-4 CD3⁺ T lymphocytes was measured with flowcytometry. In healthy volunteers and TB contacts there was a significant difference in the expression of IL-2 and IL-4 CD3⁺ T lymphocytes compared with no any treatment. The highest IL-2 expression was in healthy subjects [8.13 (0.622)] while the highest expression of IL-4 was in TB patients [6.436 (4.586)]. *Mycobacterium tuberculosis* 38 kDa recombinant protein could induce the expression of IL-2 and IL-4 of CD3⁺ T lymphocytes in healthy subjects, TB contacts and TB patients and there were a significance differences in the expression of all groups.

Key words: 38-kDa recombinant protein, *Mycobacterium tuberculosis*, IL-2, IL-4 CD3⁺T lymphocytes

ABSTRAK

Tuberkulosis merupakan permasalahan kesehatan global yang berat di samping luasnya penggunaan vaksin terhadap tuberkulosis. Saat ini satu-satunya vaksin yang tersedia adalah BCG *Mycobacterium bovis*, kemanjurannya antara 0–80%, sehingga perlu dikembangkan vaksin baru. Protein baru kandidat vaksin harus diuji imunogenisitasnya. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui bahwa protein rekombinan 38 kDa *Mycobacterium tuberculosis* dapat merangsang respons imun seluler khususnya limfosit T CD3⁺ lewat penentuan ekspresi IL-2 dan IL-4 pada kultur PBMC. Penelitian percobaan laboratoris pada kultur PBMC dari tiga (3) kelompok, yaitu: pasien TB, bersentuhan dengan pengidap TB positif dan subjek sehat; dan setiap kelompok tersebut terdiri dari delapan (8) subjek. Semua kultur PBMC diimbias dengan protein penggabungan ulang 38 kDa *Mycobacterium tuberculosis*, *Purified Protein Derivative* (PPD) dan tanpa antigen sebagai pembanding. Ekspresi IL-2 dan IL-4 limfosit T CD3⁺ diukur dengan *flowcytometry*. Di subjek sehat dan yang bersentuhan dengan pengidap TB terdapat perbedaan bermakna dalam ekspresi IL-2 dan IL-4 limfosit T dibandingkan dengan kelompok tanpa perlakuan. Ekspresi IL-2 tertinggi terdapat di subjek sehat [8,13 (0,622)], sedangkan yang terkait IL-4 tertinggi terdapat di pasien TB [6,436 (4,586)]. Protein 38 kDa rekombinan *Mycobacterium tuberculosis* dapat mengimbias ekspresi IL-2 dan IL-4 limfosit T CD3⁺ di subjek sehat yang bersentuhan dan pasien TB, selain itu terdapat perbedaan bermakna pada ekspresinya di semua kelompok.

Kata kunci: Protein 38-kDa rekombinan, *mycobacterium tuberculosis*, IL-2, IL-4 limfosit T CD3⁺

PENDAHULUAN

Tuberkulosis (TB) merupakan masalah kesehatan masyarakat yang penting di dunia. Pada tahun

1992, WHO telah mencanangkan TB sebagai *Global Emergency*. Tuberkulosis menyebabkan kesehatan yang buruk di antara jutaan orang setiap tahun dan merupakan penyebab utama kematian ke-2 akibat

¹ Laboratorium Patologi Klinik-Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang. E-mail: maimun70@yahoo.com

² Departemen Pulmonologi dan Kedokteran Respirasi-Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya-RSSA, Malang.

³ Laboratorium Biokimia dan Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang.

⁴ Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Kementerian Kesehatan, Indonesia.

penyakit menular di seluruh dunia, setelah *Human Immunodeficiency Virus* (HIV). Saat ini Indonesia menempati urutan ke-4 untuk kejadian tertinggi setelah negara India, Cina dan Afrika Selatan, yaitu antara sebesar 0,4–0,5 juta.¹

Salah satu pencegahan terhadap penyakit tuberkulosis adalah dengan vaksinasi. Vaksin TB yang sering dan telah lama digunakan adalah *Bacille Calmette Guerin* (BCG). Namun demikian, ketepatangunaan vaksin BCG terhadap TB paru sangat beragam, yaitu mulai tidak ada perlindungan sampai 80% perlindungan.² Adapun ketepatangunaan tertinggi BCG dilaporkan ketika vaksin tersebut diberikan kepada bayi baru lahir, tetapi akan menurun pada masa waktu antara 10–15 tahun, sedangkan pada usia dewasa, tidak mampu mencegah TB.³ Keberadaan keragaman ketepatangunaan BCG ini, merupakan masalah penting, terutama di negara berkembang dengan jumlah penyakit TB yang tinggi.² Salah satu penyebab ketepatangunaan BCG yang kurang karena ada perbedaan galur *Mycobacterium*. Vaksin BCG merupakan vaksin yang berasal dari galur *M.bovis* yang dilemahkan, sedangkan Tuberkulosis disebabkan oleh *M.tuberculosis*.⁴

Dengan pemahaman tentang mekanisme sistem imun yang semakin berkembang, maka strategi pembuatan vaksin TB yang lebih baik dan tepat guna akan ditingkatkan. Strategi vaksinasi TB yang paling tepat guna adalah bahan dapat merangsang respons imun yang diperantarai oleh sel T, untuk menghasilkan sitokin, seperti: Interleukin-2, Interferon gamma (IFN- γ) dan *Tumor Necrosis Factor Alpha* (TNF- α), sel T sitotoksik, serta antibodi terhadap antigen khas terkait bakteri penyebab penyakit.^{2,5}

Interleukin-2 (IL-2) merupakan salah satu sitokin proinflamasi yang dihasilkan oleh limfosit T terutama sel T CD4⁺, berperan penting dalam membangkitkan respons kekebalan terhadap TB,⁶ sedangkan Interleukin-4 (IL-4) adalah salah satu sitokin antiinflamasi yang dihasilkan terutama oleh sel T CD4⁺ Th2. Bahan tersebut berperan menghambat hasil atau dampak sitokin proinflamasi di TB.^{7,8}

CD3⁺ merupakan kompleks protein yang terdapat di semua perkembangan limfosit T tertentu, sehingga di populasi sel limfosit T CD3⁺ juga meliputi limfosit T CD4⁺ dan CD8⁺.^{9,10}

Saat ini, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya telah mampu mengembangkan salah satu kandidat vaksin subunit yaitu antigen (Ag) rekombinan 38 kDa *M.tuberculosis* dengan sistem heterolog, yaitu dengan cara gen pab dari *M.tuberculosis* galur lokal diklon dan diekspresikan di *E. coli* DH5 α .¹¹ Antigen ini belum diuji kemampuannya dalam mengimbas respons imun yang diperantarai sel T untuk menghasilkan sitokin, dalam hal ini IL-2 dan IL-4.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui bahwa protein rekombinan 38 kDa *M.tuberculosis* dapat mengimbas ekspresi IL-2 dan IL-4 limfosit T CD3⁺ pada kultur PBMC pasien TB, kontak pengidap TB positif dan subjek sehat lewat penentuannya. Dan juga untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan gambaran di ketiga kelompok penelitian tersebut.

METODE

Penelitian ini merupakan kajian *true experimental laboratory* pada kultur PBMC dari pasien TB, kontak dengan pengidap TB positif dan pembandingan orang yang sehat. Mereka mendapatkan pemberian protein rekombinan 38 kDa *M.tuberculosis* dan PPD sebagai pembandingnya dan kemudian diukur ekspresi interleukin-2 dan interleukin-4 di limfosit T CD3⁺. Penelitian ini dilakukan di Instalasi Rawat Jalan SMF Paru Rumah Sakit Umum Dr. Saiful Anwar Malang dan untuk kultur PBMC dan pemeriksaan ekspresi sitokin di limfosit dilakukan di laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang yang dilaksanakan antara bulan Agustus–Desember 2013.

Patokan umum kesertaan terdiri dari pasien yang berusia antara 18–50 tahun, subjek penelitian harus seronegatif terhadap HIV, glukosa darah, fungsi hati dan ginjal normal, mereka yang terinfeksi di paru dan tempat lain disingkirkan. Disertakan pula mereka yang tidak dalam pengobatan steroid atau immunosupresan dan bersedia ikut penelitian dengan menandatangani surat persetujuan tindakan. Patokan kesertaan pasien TB adalah pengidap TB paru dengan BTA positif yang belum pernah mendapat OAT golongan I atau yang mendapatkan pengobatan kurang dari satu (1) bulan. Patokan kesertaan kontak TB meliputi orang sehat yang tidak bergejala, tanda dan riwayat TB dan telah bersentuhan dengan pasien TB selama lebih dari enam (6) bulan dan pada pemeriksaan BTA dahak negatif, uji *Mantoux* positif dan foto dada normal. Sedangkan patokan kesertaan subjek sehat meliputi mereka yang tidak bergejala, tanda dan riwayat TB, tidak pernah bersentuhan dengan pasien TB dan pada pemeriksaan BTA dahak negatif, uji *Mantoux* negatif dan foto dada normal.

Patokan tidak disertakan meliputi pasien: TB-HIV, kultur MDR TB positif, pengidap TB ekstra paru saja tanpa terkait paru, yang bersangkutan sedang hamil, mengidap penyakit ikutan lain seperti: keganasan, diabetes, penyakit kardiovaskular berat, infeksi berat (pneumonia, malaria dll).

Sampel darah vena ketiga kelompok diisolasi PBMCnya masing-masing sebanyak 10⁶ (setelah dihitung dengan *hematologic analyzer*) dalam 100 μ L

IMDM kemudian dikultur dengan tiga (3) perlakuan yaitu: tidak diberi antigen, diberi protein gabungan ulang *M.tb* 38 kDa dan PPD. Kultur diinkubasi selama 72 jam, PBMC dikultur dalam inkubator 37°C 5% CO₂ enam (6) jam sebelum dipanen diberikan *Brefeldin A* (*Golgiplug*) 10 µg/mL, kemudian dilakukan pengecatan dengan petanda CD3⁺, IL-2 dan IL-4 dan selanjutnya diperiksa dengan *flowcytometry*.

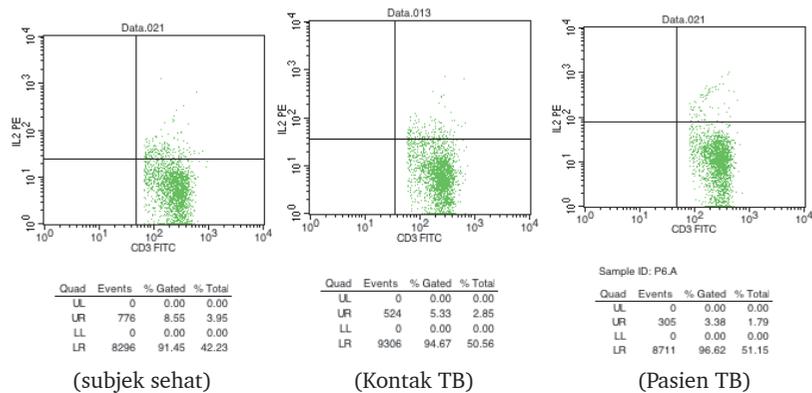
Pada pembacaan *flowcytometry*, setelah *pellet* PBMC selnya dicat baik dengan *cell surface marker* (CD3⁺ *marker*) maupun dengan *cytoplasmic marker* (IL-2 dan IL-4 *marker*) kemudian dipindahkan ke kuvet baca. Selanjutnya dibuat jalan masuk di *gate* limfosit dan sesudah itu pembacaan ekspresi limfosit T CD3⁺ yang mengekspresikan IL-2 dan IL-4. Ekspresi diperlihatkan dalam persentase.

Analisis data hasil meneliti menggunakan *One way ANOVA* setelah diuji normalitas dan homogenitas, yaitu metode analisis statistik tergolong perbandingan antara lebih dari dua rerata. Untuk melihat perbedaan ekspresi sitokin IL-2 dan IL-4 di setiap kelompok dilakukan dengan uji *Post Hoc* (*Tukey's Test*). Nilai *p* dianggap bermakna apabila *p*<0,05 (uji *Tukey*).

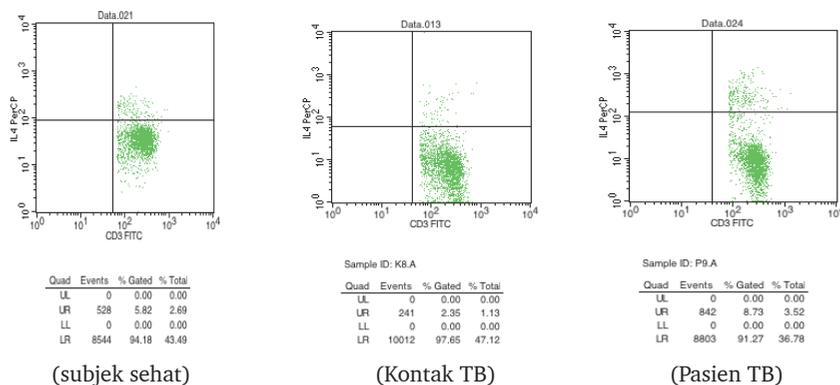
HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini melibatkan 24 subjek penelitian yang terdiri dari masing-masing delapan (8) orang: mereka yang sehat, kontak dengan pengidap TB dan 8 yang terkait TB paru. Kelompok tersebut telah memenuhi patokan kesertaan dan tidak disertakan. Dari keseluruhan sampel yang diperoleh, di kelompok sehat dan kontak TB didapatkan jumlah laki-laki sama banyak dengan perempuan, yaitu sejumlah empat (4) orang, sedangkan di pasien TB didapatkan jumlah laki-laki (lima/5 orang) lebih banyak daripada perempuan (tiga/3 orang). Di kelompok usia tertunjuk bahwa di kelompok sehat dan pasien TB terbanyak terdapat di kumpulan yang berusia antara 21–30 tahun masing-masing sebanyak tujuh (7) dan enam (6) orang. Sedangkan di kelompok yang bersentuhan TB terbanyak terdapat di kumpulan yang berusia antara 31–40 tahun, yaitu sebanyak lima (5) orang.

Setelah dikultur selama 72 jam, dipanen, kemudian diperiksa ekspresi IL-2 limfosit T CD3⁺ dan IL-4 limfosit TCD3⁺ dengan *flowcytometry*. Beberapa hasil *flowcytometry* disajikan di Gambar 1 dan 2.



Gambar 1. Periksaan *flowcytometry* ekspresi IL-2 limfosit T CD3⁺ (%gated) pada pemberian protein gabungan ulang 38 kDa Mtb



Gambar 2. Periksaan *flowcytometry* ekspresi IL-4 limfosit T CD3⁺ (%gated) pada pemberian protein gabungan ulang 38 kDa Mtb.

Hasil memeriksa ekspresi IL-2 dan IL-4 limfosit T CD3⁺ dengan *flowcytometry* di kelompok sehat disajikan di Tabel 1.

Berdasarkan tabel tersebut didapatkan bahwa di kelompok sehat terdapat perbedaan bermakna ekspresi IL-2 dan IL-4 limfosit T CD3⁺. Dengan analisis uji *Tukey*, selanjutnya didapatkan ekspresi IL-2 pada perlakuan pemberian antigen rekombinan 38 kDa Mtb memiliki perbedaan bermakna ($p=0,000$) dengan tanpa antigen yaitu bernilai lebih tinggi, sedangkan bila dibandingkan dengan pemberian PPD juga bernilai tetap lebih tinggi walaupun tidak bermakna ($p=0,09$). Demikian juga pada tolak ukur IL-4 pada perlakuan pemberian antigen rekombinan 38 kDa memiliki perbedaan bermakna (0,04) dengan tanpa antigen. Yaitu bernilai lebih rendah, sedangkan bila dibandingkan dengan pemberian PPD tidak didapatkan perbedaan yang bermakna ($p=0,973$).

Hasil memeriksa ekspresi IL-2 dan IL-4 limfosit T CD3⁺ dengan *flowcytometry* di kelompok kontak pengidap TB disajikan di Tabel 2.

Berdasarkan tabel di atas didapatkan bahwa di kelompok kontak pengidap TB terdapat perbedaan bermakna di ekspresi IL-2 dan IL-4 limfosit T CD3⁺. Dengan analisis uji *Tukey* lebih lanjut didapatkan

ekspresi IL-2 limfosit T CD3⁺ pada perlakuan pemberian protein rekombinan 38 kDa dan memiliki perbedaan bermakna ($p=0,04$) dengan tanpa antigen, yaitu bernilai lebih tinggi, sedangkan bila dibandingkan dengan pemberian PPD tidak didapatkan perbedaan bermakna ($p=0,816$). Demikian juga di ekspresi IL-4 limfosit T CD3⁺ pada perlakuan pemberian antigen rekombinan 38 kDa memiliki perbedaan bermakna ($p=0,01$) dengan tanpa antigen yaitu bernilai lebih rendah. Apabila dibandingkan dengan pemberian PPD tidak didapatkan perbedaan bermakna ($p=0,771$).

Hasil memeriksa ekspresi IL-2 dan IL-4 limfosit T CD3⁺ dengan *flowcytometry* di pasien TB disajikan di Tabel 3.

Berdasarkan tabel di atas didapatkan bahwa di kelompok pasien TB tidak terdapat perbedaan bermakna di ekspresi IL-2 maupun IL-4 limfosit T CD3⁺ baik pada perlakuan pemberian protein rekombinan 38 kDa, PPD maupun tanpa pemberian antigen.

Hasil memeriksa ekspresi IL-2 dan IL-4 limfosit CD3⁺ dengan *flowcytometry* pada perlakuan pemberian antigen rekombinan 38 kDa *M.tb* disajikan di Tabel 4.

Tabel 1. Rerata persentase ekspresi IL-2 dan IL-4 limfosit T CD3⁺ kelompok sehat

Tolak ukur	Perlakuan	Rerata (SB)	P
IL-2	Tanpa Ag	5,059 (0,837) a	0,000
	PPD	7,398 (0,458) b	
	Rekombinan 38 kDa	8,130 (0,622) b	
IL-4	Tanpa Ag	14,028 (7,962) b	0,012
	PPD	5,070 (0,266) a	
	Rekombinan 38 kDa	5,585 (0,148) a	

Keterangan: Hasil menganalisis uji *Tukey*, a-a, b-b menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang bermakna di dua (2) perlakuan, a-b menunjukkan terdapat perbedaan bermakna di dua (2) perlakuan.

Tabel 2. Rerata persentase ekspresi IL-2 dan IL-4 limfosit T CD3⁺ di kelompok kontak pengidap TB

Tolak ukur	Perlakuan	Rerata (SB)	P
IL-2	Tanpa Ag	3,605 (0,438) a	0,001
	PPD	5,911 (1,403) b	
	Rekombinan 38kDa	5,579 (1,183) b	
IL-4	Tanpa Ag	2,789 (0,223) b	0,000
	PPD	2,050 (0,337) a	
	Rekombinan 38kDa	2,150 (0,296) a	

Keterangan: Hasil menganalisis uji *Tukey*, a-a, b-b menunjukkan tidak terdapat perbedaan bermakna di dua (2) perlakuan, a-b menunjukkan terdapat perbedaan bermakna di dua (2) perlakuan.

Tabel 3. Rerata persentase ekspresi IL-2 dan IL4 limfosit T CD3⁺ di pasien TB

Tolak ukur	Perlakuan	Rerata (SB)	P
IL-2	Tanpa Ag	7,103 (1,805) a	0,894
	PPD	6,618 (3,344) a	
	Rekombinan 38kDa	6,481 (2,858) a	
IL-4	Tanpa Ag	6,761 (3,927) a	0,895
	PPD	5,759 (4,434) a	
	Rekombinan 38kDa	6,436 (4,586) a	

Keterangan: Hasil menganalisis uji *Tukey*, a-a menunjukkan tidak terdapat perbedaan bermakna di dua (2) perlakuan.

Tabel 4. Rerata persentase ekspresi IL-2 dan IL-4 limfosit T CD3⁺ pada pemberian antigen Rekombinan 38kDa

Tolok ukur	Perlakuan	Rerata (SD)	P
IL-2	Subjek sehat	8,130 (0,622) b	0,033
	Kontak dengan TB	5,579 (1,183) a	
	Pasien TB	6,481 (2,858) ab	
IL-4	Subjek sehat	5,585 (0,148) b	0,010
	Kontak dengan TB	2,150 (0,296) a	
	Pasien TB	6,436 (4,586) b	

Keterangan: Hasil menganalisis uji *Tukey*, a-a, b-b menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang bermakna di dua (2) perlakuan, a-b menunjukkan terdapat perbedaan bermakna di dua (2) perlakuan.

Berdasarkan tabel di atas didapatkan bahwa pada perlakuan pemberian antigen rekombinan 38 kDa terdapat perbedaan bermakna di ekspresi IL-2 dan IL-4 limfosit T CD3⁺. Dengan analisis uji *Tukey* lebih lanjut didapatkan bahwa ekspresi IL-2 limfosit T CD3⁺ kelompok yang kontak pengidap TB memberikan perbedaan bermakna ($p=0,28$) dengan kelompok sehat, yaitu bernilai lebih rendah. Namun, tidak terdapat perbedaan bermakna ($p=0,591$) dengan pasien TB. Di kelompok sehat didapatkan perbedaan bermakna ($p=0,28$) dengan kelompok yang kontak TB, yaitu ekspresinya lebih tinggi, sedangkan jika dibandingkan dengan pasien TB tidak terdapat perbedaan bermakna ($p=0,191$), tetapi bernilai tetap lebih tinggi. Pada ekspresi IL-4 limfosit T CD3⁺ dengan perlakuan pemberian antigen rekombinan 38 kDa nilai persentase tertinggi terdapat di pasien TB. Di tabel tersebut terlihat bahwa terdapat perbedaan bermakna ($p=0,011$) antara persentase ekspresi IL-4 limfosit T CD3⁺ kelompok pasien TB kontak dengan pengidap TB yang bernilai lebih tinggi. Jika dibandingkan dengan kelompok sehat, persentase di pasien TB tetap lebih tinggi, tetapi tidak berbeda secara bermakna ($p=0,799$).

Protein 38 kDa *M.tb* merupakan antigen yang berkemungkinan untuk pengembangan vaksin TB, karena memiliki epitop khas sel: TCD4⁺, T CD8⁺ (CTL) dan yang untuk sel B.¹¹⁻¹³ Pembuatan sitokin yang dihasilkan oleh sel T sebagai respons imun terhadap pajanan antigen *M. tb* dapat diukur dalam supernatan sel yang dirangsang dengan menggunakan metode *Enzyme-Linked Immunospot (ELISPOT)*. Saat ini tehnik *Intracellular Cytokine Staining (ICC)* menggunakan *multicolour immunofluorescent labeling* dan *flowcytometry* telah banyak digunakan untuk mengidentifikasi sel yang khas yang membuat sitokin. Deteksi sitokin dengan pengecatan intrasel memberikan hasil bagus karena hanya mendeteksi sel yang khas, setelah sekresi sitokin dihambat oleh bahan penghalang tertentu.^{12,13}

Pada penelitian ini didapatkan bahwa ekspresi IL-2 limfosit T CD3⁺ di pasien TB setelah dikultur dengan memberikan protein rekombinan 38 kDa *M.tb* lebih rendah daripada kelompok sehat walaupun tidak

bermakna. Hal ini menunjukkan bahwa limfosit T di pasien TB kurang merespons terhadap pemberian protein rekombinan 38 kDa *M.tb* jika dibandingkan dengan kelompok sehat. Di kelompok kontak TB didapatkan ekspresi IL-2 limfosit T CD3⁺ lebih rendah jika dibandingkan dengan pasien TB. Namun, di kontak TB juga didapatkan ekspresi IL-4 limfosit T CD3⁺ lebih rendah daripada IL-2 limfosit T CD3⁺nya. Hal ini menunjukkan bahwa di kontak TB setelah kultur dengan pemberian protein rekombinan 38 kDa *M.tb* keseimbangan respons imun lebih menonjol ke arah Th1. Interleukin-2 merupakan salah satu sitokin proinflamasi yang berperan melindungi terhadap infeksi intrasel.⁶ Beberapa telitian menunjukkan bahwa PBMC dari pasien TB, jika dirangsang secara *in vitro* dengan PPD, akan mensekresikan IFN- γ dan IL-2 di tingkat lebih rendah dibandingkan dengan subjek sehat dengan tuberkulin positif. Telitian lain juga menunjukkan penurunan sekresi IFN- γ dan peningkatan IL-4 atau peningkatan jumlah sel yang mensekresikan IL-4. Berdasarkan telitian ini dapat disimpulkan bahwa pasien TB memiliki respons menonjol bagi Th2, sedangkan untuk tuberkulin positif memiliki respons ke arah jenis Th1.^{6,14}

Pada penelitian ini juga didapatkan bahwa ekspresi IL-4 limfosit T CD3⁺ di pasien TB lebih tinggi daripada yang bersentuhan dengan TB ($p<0,01$) maupun subjek sehat. Hal ini juga menunjukkan bahwa di pasien TB respons imun lebih dikuasai oleh Th2. Interleukin-4 merupakan salah satu sitokin anti-inflamasi atau imunosupresi sehingga pergeseran respons ke arah Th2 yang ditunjukkan oleh peningkatan IL-4 akan memberikan pengaruh negatif di respons imun. Dampak merugikan dari IL-4 di infeksi intrasel (termasuk TB) dianggap berasal dari penghambatan hasil sitokin IFN dan aktivasi makrofag. Di tikus yang terinfeksi dengan *M.tuberculosis*, baik di penyakit yang berkembang maupun yang reaktivasi infeksi tidak berkembang (laten), keduanya berhubungan dengan peningkatan hasil IL-4. Demikian pula ekspresi IL-4 yang berlebihan menyebabkan kerusakan jaringan yang lebih hebat. Beberapa telitian menunjukkan bahwa sitokin Th2 termasuk IL-4 berhubungan dengan reaktivasi TB menetap dan luas. Dilaporkan pula

bahwa terdapat peningkatan hasil IL-4 di pasien TB, terutama mereka yang mengidap penyakit kavitas. Namun, hal ini masih belum taat asas kedudukannya dan masih harus diteliti lebih lanjut.^{7,15}

SIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan telitian ini, dapat disimpulkan bahwa protein rekombinan 38 kDa *M.tb* dapat merangsang ekspresi IL-2 dan IL-4 limfosit T CD3⁺ di subjek yang sehat, kontak TB dan pasien TB. Di samping itu terdapat perbedaan ekspresi di ketiga kelompok tersebut. Ekspresi IL-2 limfosit T CD3⁺ tertinggi terdapat di subjek yang sehat, sedangkan ekspresi IL-4 limfosit T CD3⁺ tertinggi terdapat di pasien TB.

Sehubungan terdapat keterbatasan yang ditemukan, maka kajian lebih lanjut perlu dilakukan, yaitu: Penilaian respons limfosit T terhadap pemberian protein rekombinan 38 kDa *M.tb* galur lokal untuk mengetahui peluang bentuk imunogenitasnya, maka lebih baik dilanjutkan dengan penelitian yang lebih khas di respons limfosit T CD4⁺ maupun yang T CD8⁺; Uji bentuk imunogenitas akibat pemberian protein rekombinan 38 kDa *M.tb* galur lokal terhadap kejadian ekspresi limfosit pada kultur PBMC untuk mengetahui kemungkinannya dalam mengekspresikan IL-2 dan IL-4 sebaiknya dilakukan dengan masa kultur berbeda untuk mendapatkan hasil yang terbaik.

DAFTAR PUSTAKA

1. World Health Organization. Global Tuberculosis Report 2012; 1–28.
2. Martin C. The dream of a vaccine against tuberculosis, new vaccines improving or replacing BCG?. *Eur Respir J* 2005; 26: 162–167.
3. Brandt L, Joana CF, Anja O, Ben C, Penny H, Rui A, *et al.* Failure of the Mycobacterium bovis BCG Vaccine: Some Species of Environmental Mycobacteria Block Multiplication of BCG and Induction of Protective Immunity to Tuberculosis. *Infection and Immunity*, 2002; 672–678.
4. Barker LF and Hussey G. The immunological basis for immunization series: module 5: tuberculosis. WHO Library Cataloguing-in-Publication Data, 2011; 1–40.
5. Ginsberg AM. A Proposed National Strategy for Tuberculosis Vaccine Development, *Clinical Infectious Diseases*, 2000; 30(Suppl 3): S233–42.
6. Raja A. Immunology of tuberculosis. *Indian J Med Res*, 2004; 120(5): 213–232.
7. Crevel Rv, Ottenhoff THM, Meer JWM. Innate Immunity to Mycobacterium tuberculosis. *Clinical Microbiology Reviews*, 2002; 15(2): 294–309.
8. Dheda K. The Immunology of Tuberculosis: From Bench to Bedside. *Respirology*, 2010; 15: 433–450.
9. Goldsby. *Cells and Organs of the Immune System*, 2002; 24–55.
10. Burnester R, Pezzutto A and Wirth J. *Respiratory Diseases. Color Atlas of Immunolog*, 2003; 200–221.
11. Raras TYM dan Lyrwati D. Cloning and expression of pab gene of *M.tuberculosis* isolated from pulmonary TB patient in *E.coli* DH5 α . *Med J Indonesia*, 2011; 20(4): 247–254.
12. Chang Z, Choudhary A, Lathigra R, Quiococho F. The Immunodominant 38-kDa Lipoprotein Antigen of Mycobacterium tuberculosis is a Phosphate-binding Protein. *The American Society for Biochemistry and Molecular Biology*, 1994; 269(3): 1956–1968.
13. Da Fonseca DP, Joosten D, Van Der Zee, Jue DL, Singh M, Vordermeier HM, *et al.* Identification of New Cytotoxic T-Cell Epitopes on The 38-Kilodalton Lipoglycoprotein of Mycobacterium tuberculosis By Using Lipopeptides, *Infection and Immunity. American Society For Microbiology*, 1998; 66(7): 3190–3197.
14. Serena M, Daker SE, Dieli F, Federico M, Martino A. $\gamma\delta$ T Cells Cross-Link Innate and Adaptive Immunity in *M.tuberculosis* Infection. *Clinical and Developmental Immunology*, 2012; 1–11.
15. Nolan A, Fajardo E, Huie M, Condos R, Pooran A *et al.* Increased Production of IL-4 and IL-12p40 from Bronchoalveolar Lavage Cells Are Biomarkers of Mycobacterium tuberculosis in the Sputum. *PLoS One*, 2013; 8(3): e59461.