

Sekresi IFN- γ dan IL-10 Setelah Stimulasi Antigen Fusi ESAT-6-CFP-10 (EC610) pada Penderita TB Aktif dan TB Laten

Sabrina Prihantika¹, Nova Kurniati², Kemas Ya'kub Rahadiyanto³, M. Irsan Saleh⁴, Zen Hafy⁵, Francisca Srioetami Tanoerahardjo⁶, Jusak Nugraha⁷, Eddy Mart Salim²

¹Program Studi Magister Ilmu Biomedik, Fakultas Kedokteran, Universitas Sriwijaya, Palembang, Indonesia

²Departemen Ilmu Penyakit Dalam, Fakultas Kedokteran, Universitas Sriwijaya, Palembang, Indonesia

³Departemen Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran, Universitas Sriwijaya, Palembang, Indonesia

⁴Departemen Farmakologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Sriwijaya, Palembang, Indonesia

⁵Departemen Histologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Sriwijaya, Palembang, Indonesia

⁶Konsultan Laboratorium Molekuler dan Mikrobiologi dalam Penelitian TB, Pusat Biomedik dan Teknologi dasar Kesehatan, Balai Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Nasional, Kemenkes RI, Jakarta, Indonesia

⁷Departemen Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia

sabrinaprihantika@gmail.com

Abstrak

Sistem imunitas seluler sangat berperan dalam melawan infeksi TB yaitu peran sel limfosit T yang berdiferensiasi menjadi sel Th1 mensekresikan sitokin pro inflamasi IFN- γ dan sel Th2 yang mensekresi sitokin anti inflamasi IL-10. Antigen fusi EC610 bersifat spesifik dan memiliki antigenitas yang kuat terhadap stimulasi sel T. Tujuan penelitian untuk mengetahui perbedaan rerata kadar IFN- γ dan IL-10 setelah stimulasi antigen EC610 pada penderita TB aktif dan TB laten. Desain penelitian ini adalah eksperimen semu secara *in vitro* dengan kultur PBMC yang distimulasi oleh antigen EC610 pada kelompok TB aktif dan TB laten. Penelitian dan pemeriksaan dilakukan di RSK Paru Provinsi Sumsel dan Laboratorium Pusat Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Jakarta Pusat. Terdapat 21 subjek penderita TB aktif dan 28 subjek penderita TB laten yang sesuai dengan kriteria inklusi. Pengukuran kadar IFN- γ dan IL-10 dilakukan menggunakan ELISA-Reader. Hasil penelitian menunjukkan kadar IFN- γ dan IL-10 setelah stimulasi antigen EC610 lebih tinggi pada TB aktif daripada TB laten. Tingginya kadar IFN- γ pada penderita TB aktif menunjukkan adanya respon imun protektif terhadap kuman *M.tb* sedangkan tingginya kadar IL-10 menunjukkan perannya sebagai anti inflamasi. Tidak terdapat perbedaan bermakna rerata kadar IFN- γ pada penderita TB aktif dan TB laten ($p=0,769$) dan terdapat perbedaan bermakna rerata kadar IL-10 setelah stimulasi antigen EC610 lebih tinggi pada TB aktif daripada TB laten ($p=0,000$).

Kata kunci : Tuberkulosis, IFN- γ , IL-10, PBMC, Antigen EC610

Abstract

IFN- γ and IL-10 Secretion after Stimulation of Fusion Antigens ESAT-6-CFP-10 (EC610) in Patients Actives TB and Latent TB

The cellular immune system was instrumental in the fight against TB infection: the role of T cells which differentiate into Th1 secrete pro-inflammatory cytokines IFN- γ and Th2 secrete anti-inflammatory cytokine IL-10. EC610 fusion antigen is specific and has a strong antigenic to stimulate of T cells. This research is aimed to know the differences between the mean levels of IFN- γ and IL-10 after stimulation of antigen EC610 in patients with active TB and latent TB. This study design is quasi-experimental *in vitro* by culturing PBMC stimulated by antigen EC610 in the group of active TB and latent TB. Research and checks carried out in the South Sumatra provincial Lung SSR and the Laboratory Center for Health Research and Development, Central Jakarta. There are 21 people who had active TB and latent TB patients 28 subjects in accordance with the inclusion criteria. Measurement of levels of IFN- γ and IL-10 was performed using an ELISA-Reader. The results showed levels IFN- γ and IL-10 following stimulation of antigen EC610 higher in active TB than latent TB. High levels IFN- γ in patients with active TB showed a protective immune response while high levels of IL-10 its role as an anti-inflammatory. There were no significant differences in mean levels of IFN- γ in patients with active TB and latent TB infection ($p = 0.769$) and there were significantly different levels of IL-10 following stimulation of antigen EC610 higher in active TB than latent TB infection ($p = 0.000$).

Key words : Tuberculosis, IFN- γ , IL-10, PBMC, Antigens EC

1. Pendahuluan

Tuberkulosis (TB) merupakan salah satu penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Mycobacterium tuberculosis* (*M.tb*) yang ditularkan melalui udara dengan inhalasi *droplet nucleus* yang infeksius, hingga kini masih menjadi masalah kesehatan yang sulit dikendalikan di negara-negara berkembang termasuk di Indonesia. TB masih menjadi salah satu penyebab kematian utama di berbagai negara di dunia dengan angka kematian sekitar 1,5-2 juta orang setiap tahunnya.¹

Berdasarkan Global Tuberculosis Report 2014, pada tahun 2013 diperkirakan 9 juta orang terinfeksi TB, 56% diantaranya berasal dari Asia Tenggara. India, Indonesia dan China merupakan tiga negara dengan penderita TB terbanyak di dunia.² Indonesia menempati urutan ke-2 negara dengan prevalensi tertinggi di Asia Tenggara setelah Timor Leste.³

Kasus TB di Provinsi Sumatera Selatan tahun 2016 berdasarkan jenis kelamin dilaporkan pria lebih tinggi 1,6 kali dari wanita. Sedangkan berdasarkan kelompok umur, kasus TB pada tahun 2016 paling banyak ditemukan pada kelompok umur 45-54 tahun yaitu sebesar 20,42% diikuti kelompok umur 25-34 tahun sebesar 19,77%.⁴

Berbagai manifestasi yang timbul akibat infeksi *M.tb* menggambarkan adanya gangguan regulasi sistem pertahanan tubuh akibat interaksi kronis antara *M.tb* dan respon imun tubuh. Terdapat peran penting dari makrofag sebagai mediator imunitas non spesifik dan sel T sebagai mediator imunitas spesifik untuk menghancurkan *M.tb*.⁵ Dalam paru-paru, bakteri difagosit oleh makrofag alveolar. Interaksi antara komponen *M.tb* dengan makrofag akan memproduksi berbagai kemokin dan sitokin sebagai sinyal infeksi yang menyebabkan migrasi makrofag yang berasal dari monosit dan sel dendritik ke tempat infeksi di paru-paru.⁶

IFN- γ adalah sitokin utama yang diproduksi oleh sel T pada infeksi TB dan telah banyak digunakan untuk mendiagnosis infeksi TB. Namun interferon saja tidak cukup untuk

memberi perlindungan terhadap perkembangan penyakit, juga terdapat berbagai peran penting dari sitokin lainnya.⁷

Limfosit T regulator (Treg) berperan dalam mengatur keseimbangan imunitas melalui peranan yang kompleks dan sirkuit imunologik. Bila Treg berlebihan pada TB progresif, maka keseimbangan imunitas terganggu sehingga menimbulkan prognosis buruk. Treg akan melepas substansi supresor yang mengubah produksi mediator sel B dan sel T, salah satunya IL-10 yang dapat mengatur dan menyeimbangkan proses inflamasi yang terjadi, ditandai dengan kadarnya yang meningkat untuk menekan aktivitas sitokin proinflamasi.⁸

IL-10 merupakan sitokin anti inflamasi yang dikenal sebagai faktor penghambat sitokin-sitokin proinflamasi seperti IFN- γ , IL-2, IL-3, TNF- α dan GM-CSF.⁹ IL-10 mempunyai efek pleiotropik pada imunoregulasi dan peradangan yang diatur oleh sekresi sitokin Th1. IL-10 penting untuk menangkalkan respon imun yang hiperaktif dalam tubuh manusia. IL-10 dapat menghambat fagositosis dan eliminasi *M.tb* dengan cara membatasi produksi intermediate oksigen dan nitrogen reaktif yang dimediasi oleh aktivasi IFN- γ .¹⁰

Telah banyak penelitian yang dilakukan untuk menganalisis keterlibatan sistem imun, terutama sitokin dalam mendalami patogenesis TB, IL-10 misalnya yang menurut penjelasan dari berbagai literatur menunjukkan produksi IL-10 di dalam tubuh pada penderita TB berperan sangat penting dalam progresivitas penyakit TB. Penelitian mengenai TB terus dilakukan berkelanjutan mengenai rantai patogenesis biomolekuler TB.¹¹

Beberapa tahun terakhir, digunakan metode pemeriksaan Interferon Gamma Release Assay (IGRA) untuk mendiagnosis adanya infeksi TB. Terdapat 2 metode pemeriksaan IGRA, yaitu QuantiFERON-TB (QFT) dan T-SPOT.TB. QFT Plus adalah teknik pemeriksaan *Sandwich* ELISA yang mendeteksi IFN- γ setelah stimulasi antigen *M.tb*.¹² Tes ini dapat mendeteksi infeksi TB namun belum dapat membedakan TB aktif dan TB laten dengan cara mencampur *whole blood*

dengan peptida sintetik yang mempresentasikan *M.tb*.¹³

Early Secreted Antigen Target (ESAT-6) merupakan antigen yang bersifat imunogenik dan dapat disekresi baik oleh bakteri *M.tb* dan wild type dari *M. bovis* dimana respon imun dapat diukur dan diamati setelah adanya produksi IFN- γ setelah distimulasi oleh antigen tersebut. 10-kDa Culture Filtrate Protein (CFP-10) merupakan antigen yang berperan dalam virulensi *M.tb*.

Antigen fusi yang mengkombinasikan ESAT-6 dan CFP-10 diketahui memiliki antigenitas yang kuat terhadap sel T dan sangat kuat dalam menstimulasi respon imun seluler spesifik, ditunjukkan adanya peningkatan kemampuan menginduksi IFN- γ sebagai sitokin protektif utama pada penderita, sehingga berpotensi untuk digunakan sebagai antigen dalam diagnosis TB.¹⁴ Antigen fusi EC610 akan menstimulasi aktivasi sel limfosit T sehingga memproduksi IFN- γ , TNF- α dan menginduksi makrofag untuk memproduksi IL-10.

Pengukuran sekresi sitokin secara *in vitro* masih relatif jarang dilakukan di Indonesia maka pada penelitian ini akan dilakukan pengukuran sitokin dengan menggunakan sampel PBMC yang akan distimulasi dengan antigen dari *M. tb* yaitu EC610 yang diketahui dapat mensekresi IFN- γ dan IL-10. Sehingga dapat mengevaluasi patogenesis TB pada keadaan respon imun penderita TB aktif dan TB laten dengan mengamati kadar sitokin pro inflamasi dan anti inflamasi, yang kemudian dapat digunakan sebagai biomarker untuk membedakan keadaan patogenesis TB.

2. Metode

Penelitian dilaksanakan pada bulan Juli 2018 - Februari 2019 di RSK Paru Provinsi Sumatera Selatan dan pemeriksaan sampel dilakukan di Laboratorium RSK Paru Sumatera Selatan dan Laboratorium Pusat Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Jakarta Pusat. Jenis penelitian ini adalah eksperimen semu secara *in vitro* dengan kultur PBMC dari *whole blood*

penderita TB aktif dan TB laten yang distimulasi dan diinkubasi dengan antigen fusi EC610.

Sampel penelitian adalah penderita TB aktif yang telah didiagnosis sebagai penderita TB aktif kasus baru oleh dokter spesialis paru, hasil pemeriksaan BTA, foto toraks dan mendapat OAT < 1 bulan, sedangkan penderita TB laten berasal dari perawat/petugas di RS Paru Palembang dan kontak dengan penderita TB > 6 bulan.

Pengambilan sampel darah vena sebanyak 12-16 ml dengan menggunakan tabung vakum dimasukan dalam lima tabung antikoagulan heparin. Kemudian sampel dibuat isolasi *Peripheral Blood Mononuclear Cells* (PBMC) menggunakan Ficoll-Paque. Lalu dilakukan pre-inkubasi sel PBMC dengan stimulasi antigen fusi EC610 selama 24-72 jam. Selanjutnya dilakukan pengukuran sekresi IFN- γ dan IL-10 dengan *ELISA-Reader*. Data hasil pengukuran yang diperoleh kemudian dikumpulkan dan dianalisa secara statistik dengan uji *Mann-Whitney* pada tingkat kemaknaan $p > 0,05$.

3. Hasil

Karakteristik Subjek Penelitian

Subjek penelitian sebanyak 49 orang, dengan penderita TB aktif sebanyak 21 orang pasien TB kasus baru dan TB laten sebanyak 28 orang dengan riwayat kontak pasien TB aktif, dimana 23 orang berasal dari perawat/petugas kesehatan di RSK Paru Sumatera Selatan dan 5 orang berasal dari kontak keluarga penderita TB paru.

Tabel 1 menunjukkan karakteristik subjek penelitian paling banyak berjenis kelamin perempuan yaitu sebanyak 13 orang pada TB aktif (61,90%) dan 21 orang pada TB laten (75,00%), paling banyak pada rentang umur 25-36 tahun. Jumlah penderita TB aktif paling banyak adalah pada tingkat pendidikan SMA sedangkan penderita TB laten yang paling banyak pada tingkat pendidikan Diploma. Diketahui sebanyak 14 orang (66,7%) penderita TB aktif dan sebanyak 20 orang (71,4%) pada

TB laten pernah mendapatkan vaksin BCG. Berdasarkan IMT, diketahui penderita TB aktif dan TB laten paling banyak memiliki klasifikasi IMT normal. Hasil pemeriksaan BTA penderita TB aktif menunjukkan paling banyak pada hasil BTA +1 yaitu sebanyak 13 orang (61,9%). Menurut hasil pemeriksaan foto toraks, pada penderita TB aktif sebanyak 15 orang (71,4%) dengan gambaran foto toraks lesi minimal dan sebanyak 6 orang (28,6%) dengan gambaran foto toraks lesi sedang sedangkan penderita TB laten sebanyak 28 orang (100%) dengan gambaran foto toraks normal. Sedangkan hasil pemeriksaan QFT, penderita TB aktif didapatkan hasil pemeriksaan QFT positif sebanyak 21 orang (100%) dan QFT negatif sebanyak 13 orang (46,4%) sedangkan pada penderita TB laten didapatkan hasil pemeriksaan QFT positif sebanyak 13 orang (46,4%) dan QFT negatif sebanyak 15 orang (53,6%).

Kadar IFN- γ setelah Stimulasi Antigen EC610 pada TB Aktif dan TB Laten

Tabel 2 menunjukkan rerata kadar IFN- γ setelah distimulasi dengan antigen EC610 lebih tinggi pada TB aktif daripada TB laten dengan nilai signifikansi $p=0,769$ yang berarti tidak terdapat perbedaan bermakna antara kadar IFN- γ pada penderita TB aktif dan TB laten.

Tabel 2. Kadar IFN- γ pada penderita TB aktif dan TB laten

	IFN- γ	n	Median (Minimum – Maksimum)	p
EC610	TB aktif	21	6700 (2000 - 9100)	0,769*
	TB laten	28	6000 (2500 - 9000)	

* Uji *Mann-Whitney* ($p < 0,05$)

Tabel 1. Karakteristik subjek penelitian

Karakteristik	TB aktif n(%)	TB laten n(%)
Jumlah Subjek	21(100)	28(100)
Jenis Kelamin		
Perempuan	13(61,90)	21(75)
Laki-laki	8(38,10)	7(25)
Umur (X \pm SD)	39,10 \pm 10,034	36,32 \pm 8,773
Pendidikan		
SMP	3(14,3)	0(0)
SMA	12(57,1)	7(25)
Diploma	2(9,5)	12(42,9)
Sarjana	4(19,0)	9(32,1)
Status BCG		
Ya	14(66,7)	20(71,4)
Tidak	1(4,8)	0(0)
Tidak Diketahui	6(28,6)	8(28,6)
IMT		
Sangat Kurus	3(14,3)	1(3,6)
Kurus	6(28,6)	1(3,6)
Normal	11(52,4)	19(67,9)
Gemuk	1(4,8)	4(14,3)
Obesitas	0(0)	3(10,7)
Hasil BTA		
Positif	15 (71,4)	0(0)
BTA+1	13 (61,9)	0(0)
BTA+2	1 (4,8)	0(0)
BTA+3	1 (4,8)	0(0)
Negatif	6 (28,6)	28 (100)
Foto Toraks		
Normal	0(0)	28(100)
Lesi minimal	15(71,4)	0(0)
Lesi sedang	6(28,6)	0(0)
Hasil QFT		
Positif	21(100)	13(46,4)
Negatif	0(0)	15(53,6)

Kadar IL-10 setelah Stimulasi Antigen EC610 pada TB Aktif dan TB Laten

Tabel 3 menunjukkan rerata kadar IL-10 setelah distimulasi dengan antigen EC610 lebih tinggi pada TB aktif daripada TB laten dengan nilai signifikansi $p=0,000$ yang menunjukkan terdapat perbedaan bermakna antara kadar IFN- γ pada penderita TB aktif dan TB laten.

Tabel 3. Kadar IL-10 pada penderita TB aktif dan TB laten

IFN- γ	n	Median (Minimum – Maksimum)	p
EC610 TB aktif	21	380 (120 - 480)	0,000*
TB laten	28	38 (30 - 60)	

* Uji *Mann-Whitney* ($p < 0,05$)

4. Pembahasan

Pada penelitian ini berdasarkan jenis kelamin, penderita TB paru aktif proporsi perempuan lebih besar yaitu sebanyak 61,9% daripada laki-laki yaitu sebanyak 38,1%, begitu pula dengan penderita TB laten dengan proporsi perempuan 75% dan laki-laki 25%. Sejalan dengan penelitian sebelumnya yang juga mendapatkan jumlah penderita TB pada perempuan (51,4%) lebih banyak dibandingkan laki-laki (48,6%).¹⁵ Namun data ini tidak sesuai dengan data jumlah kasus TB di Palembang tahun 2017, dimana proporsi penderita TB paru kasus baru terbanyak pada laki-laki dengan persentase jumlah kasus baru pada laki-laki sebesar 64,03% dan pada perempuan sebesar 35,97%.¹⁶ Proporsi yang tidak sesuai ini karena penderita TB aktif sebagian besar yang berobat dan bersedia ikut serta menjadi subjek penelitian pada periode waktu tersebut adalah perempuan, dikarenakan faktor sosio-ekonomi sehingga beberapa wanita banyak yang bekerja dan bertemu banyak orang, juga karena lingkungan sekitar tempat tinggal. Proporsi perempuan penderita TB laten lebih banyak karena petugas kesehatan di RSK Paru Sumsel sebagian besar berjenis kelamin perempuan. Tidak ada hubungan bermakna secara statistik jenis kelamin dengan kejadian TB paru karena TB paru merupakan infeksi paru-paru yang disebabkan oleh kontaminasi udara oleh bakteri *M.tb* sehingga setiap jenis kelamin punya kesempatan yang sama terhadap infeksi TB.¹⁷

Penderita TB aktif dan TB laten terbanyak ditemukan pada rentang umur 25-36 tahun, yaitu pada usia produktif. Hasil ini sesuai dengan laporan bahwa jumlah kasus baru TB paling banyak pada rentang umur 25-34 tahun.¹⁸ Hal ini disebabkan karena pada usia produktif kebanyakan orang bekerja di lingkungan yang mobilitasnya tinggi sehingga berpotensi kontak dengan *M.tb*.¹⁹ Sistem imun pada usia produktif lebih baik dibandingkan anak-anak dan orang tua sehingga saat terpapar kuman *M.tb* sistem imun dapat mencegah perkembangannya di dalam tubuh dan dorman menjadi TB laten, ditunjukkan dengan hasil pemeriksaan QFT positif.²⁰

Sebagian besar penderita TB aktif memiliki tingkat pendidikan SMA, sedangkan pada penderita TB laten kebanyakan pada tingkat pendidikan Diploma karena sebagian besar bekerja sebagai perawat/ petugas kesehatan. Tingkat pendidikan berpengaruh kondisi lingkungan masyarakat penderita sehingga kurangnya pengetahuan, informasi atau kepedulian mengenai bahaya TB paru yang menyebabkan kurangnya kepatuhan dalam pengobatan, selain itu juga berpengaruh pada jenis pekerjaannya yang berhubungan erat dengan status sosio-ekonomi.²¹

Berdasarkan riwayat status BCG penderita TB aktif dan TB laten, kebanyakan penderita mengetahui pernah mendapatkan vaksin BCG. Namun hal ini tidak dapat menjadi patokan bahwa riwayat status BCG mempengaruhi keadaan infeksi TB seseorang.²²

Pengukuran status gizi berdasarkan IMT, penderita TB aktif dan TB laten rata-rata memiliki klasifikasi IMT normal. Seperti yang diketahui status nutrisi maupun gizi yang buruk akan meningkatkan resiko seseorang tertular penyakit TB. Namun pada penelitian ini rata-rata penderita TB aktif memiliki klasifikasi IMT normal, menunjukkan status nutrisi dan gizi penderita masih baik. Hasil ini sejalan dengan penelitian sebelumnya bahwa pasien TB aktif sebagian besar tidak mengalami penurunan nafsu makan.²³ Penderita TB laten mayoritas memiliki IMT normal karena pada keadaan TB laten tidak menimbulkan gejala

penyakit seperti peningkatan metabolisme maupun penurunan nafsu makan sehingga tidak berpengaruh pada status nutrisi penderita.²⁰

Berdasarkan penegakan hasil diagnosis TB aktif didapatkan hasil gambaran foto toraks, pemeriksaan mikroskopis sputum BTA yang menunjukkan gambaran foto toraks yang abnormal sesuai gambaran TB paru aktif yaitu paling banyak gambaran lesi minimal dan hasil BTA +1. Pemeriksaan sputum BTA selain untuk diagnosis TB juga dapat memberikan evaluasi terhadap pengobatan yang telah diberikan, kadang tidak mudah untuk mendapatkan sputum pada pasien yang tidak batuk, bila sputum telah didapat bakteri BTA sulit ditemukan sehingga mendapatkan hasil BTA negatif pada penderita TB aktif.²⁴

Hasil pemeriksaan QFT, penderita TB aktif sebanyak 21 orang (100%) dan penderita TB laten sebanyak 13 orang (46,4%) menunjukkan hasil positif, menandakan seseorang telah mengalami infeksi *M.tb* meskipun belum dapat membedakan TB aktif maupun laten atau infeksi baru atau lama.²⁵

Kadar IFN- γ setelah Stimulasi Antigen EC610 pada TB Aktif dan TB Laten

IFN- γ merupakan salah satu sitokin yang paling berperan dalam aktivasi makrofag dan memiliki fungsi yang penting untuk mengeliminasi *M.tb* di dalam tubuh, terutama diproduksi oleh sel T CD4, selain itu diperlukan juga sel T CD8 untuk meningkatkan produksi IFN- γ yang memberikan perlindungan saat terinfeksi oleh kuman *M.tb*.²⁶ IFN- γ memperkuat potensi fagosit dari makrofag dengan menstimulasi fusi fagolisosom dan menstimulasi pembentukan radikal bebas yang dapat menghancurkan *M.tb*.¹⁹

Penelitian ini didapatkan kadar IFN- γ setelah distimulasi oleh antigen EC610 pada penderita TB aktif lebih tinggi daripada TB laten akan tetapi tidak terdapat perbedaan bermakna. Penelitian lain mendapatkan hasil yang sama bahwa subjek kontrol sehat memiliki kadar IFN- γ lebih rendah dibandingkan dengan pasien TB.²⁷ Hasil

penelitian ini sejalan dengan penelitian oleh Takdir bahwa kadar IFN- γ secara signifikan lebih tinggi pada subjek tuberkulosis yang baru pertama kali didiagnosis dibandingkan subjek kontrol yang tidak menderita sakit.²⁸ Begitu pula sejalan dengan penelitian Setiawan H. dan Nugraha J. bahwa kadar IFN- γ oleh PBMC setelah distimulasi dengan ESAT-6 pada TB aktif lebih tinggi daripada TB laten dan orang sehat namun tidak bermakna, peningkatan kadar IFN- γ menunjukkan adanya respon imun yang protektif terhadap infeksi kuman *M.tb*.²⁹

Hasil ini berbeda dengan penelitian yang disampaikan sebelumnya bahwa kadar IFN- γ rendah pada keadaan TB aktif karena adanya gangguan produksi IFN- γ di sirkulasi darah sehingga pejamu rentan terpapar dengan kuman *M.tb*.¹⁹ Penurunan kadar IFN- γ akan mengurangi fungsi makrofag sehingga kuman *M.tb* dapat terus menerus bermultiplikasi dan proses infeksi TB terus berlangsung.^{30,31} Perbedaan ini karena metode yang digunakan adalah secara *in vitro* dengan stimulasi oleh antigen spesifik *M.tb* dan sampel PBMC sedangkan penelitian yang banyak sebelumnya secara *in vivo* yaitu sampel *whole blood* yang telah diambil langsung dilakukan pemeriksaan sehingga didapatkan hasil yang berbeda pula.

Hasil berbeda ini kemungkinan karena sampel penelitian adalah pasien TB kasus baru dan telah mendapat OAT <1 bulan dimana respon inflamasi masih meningkat pada fase awal infeksi TB, sehingga pada penelitian ini didapatkan kadar IFN- γ lebih tinggi pada penderita TB aktif. Saat infeksi awal TB sistem imun memberikan respons dengan melakukan reaksi inflamasi yang biasanya timbul dalam waktu 2-10 minggu setelah terpapar bakteri dengan membentuk sebuah jaringan baru yang disebut granuloma, sehingga menarik sel-sel imun untuk membantu mengeliminasi bakteri dengan meningkatkan sitokin-sitokin pro inflamasi, termasuk IFN- γ .³²

Variasi lamanya pemberian OAT pada penderita TB dapat membantu meningkatkan respon imun penderita. Kadar IFN- γ TB aktif lebih tinggi dibandingkan kontrol sebelum terapi berlangsung.³³ Kadar IFN- γ meningkat

secara signifikan pada kelompok yang telah mendapat pengobatan.³⁴ Pemberian OAT <1 bulan memungkinkan perkembangan dari *M.tb* berkurang karena sistem imun tubuh penderita meningkat, sehingga terjadi aktivasi makrofag ditandai dengan peningkatan kadar IFN- γ .

Peningkatan kadar IFN- γ dapat juga terjadi karena pengaruh sel T memori yang sudah pernah dipaparkan sebelumnya kemudian distimulasi dengan antigen EC610 yang lebih spesifik sehingga ekspresi kadar IFN- γ menjadi lebih banyak. Pengaruh kekuatan presentasi oleh antigen diduga menentukan antigenitas yang mempengaruhi stimulasi terhadap proliferasi sel T dan produksi sitokin.³⁵

Kadar IL-10 setelah Stimulasi Antigen EC610 pada TB Aktif dan TB Laten

IL-10 merupakan sitokin anti inflamasi yang dapat menghambat aktifitas makrofag dan menurunkan proliferasi sel Th-1 sehingga dapat menurunkan respon imun terhadap infeksi TB. IL-10 diproduksi oleh Th-2, subset sel T CD4+ termasuk Th1, Th17, sel B, neutrofil, makrofag dan beberapa subset dendritik. Fungsi IL-10 antara lain dapat meregulasi ekspresi molekul kostimulator pada makrofag yang penting untuk mengoptimalkan aktivasi sel T, menghambat ekspresi molekul-molekul pada APC, menekan aktivasi sel T dan produksi sitokin dari sel T, seperti IFN- γ dan IL-2.³⁶

IL-10 juga dikenal sebagai sel T regulator (Treg) yang mampu menghambat sel mieloid dan sel dendritik untuk mengaktivasi sel Th-1 sehingga produksi sitokin terhambat, berfungsi sebagai imunoregulator yang penting dalam keseimbangan antara respon inflamasi dan respon imunopatologi.³⁷

IL-10 dapat menghambat pematangan fagosom sehingga memfasilitasi kelangsungan hidup dan perkembangan basil *M.tb*.¹⁰ Selain itu juga berperan dalam maturasi sel T CD8 sitotoksik serta diferensiasi sel T memori untuk menghadapi infeksi berikutnya.³⁸

Kadar IL-10 setelah distimulasi dengan antigen EC610 didapatkan kadar IL-10 lebih tinggi pada TB aktif daripada TB laten dan

terdapat perbedaan yang bermakna. Penelitian ini sejalan dengan hasil penelitian sebelumnya bahwa rerata kadar IL-10 setelah stimulasi antigen ESAT-6 lebih tinggi pada TB aktif daripada TB laten dan terdapat perbedaan bermakna antara kadar IL-10 orang sehat dan TB laten, juga antara TB aktif dan TB laten.²⁹

Kadar IL-10 dapat berbeda menurut status infeksi yang diamati.³⁹ Peningkatan IL-10 diketahui menunjukkan tingkat keparahan dan progresivitas infeksi TB yang berhubungan dengan penurunan jumlah bakteri *M.tb* yang hidup di dalam host, beberapa penelitian IL-10 dianggap memungkinkan sebagai biomarker untuk mengamati perkembangan infeksi TB.⁴⁰

Tingginya kadar IL-10 pada TB aktif kemungkinan terjadi karena subjek penelitian merupakan pasien TB kasus baru yang berada pada fase awal infeksi, respon inflamasi sedang meningkat maka kadar sitokin IL-10 yang diproduksi oleh Treg juga meningkat untuk menetralkan proses inflamasi.

Pada penelitian ini didapat kadar IFN- γ dan IL-10 sama-sama meningkat pada TB aktif. Hasil ini sejalan dengan penelitian oleh Abebe dan kawan-kawan bahwa kadar IFN- γ dan IL-10 lebih tinggi secara signifikan pada pasien TB dan orang sehat daripada kelompok sekontak dengan pasien TB, yang menunjukkan kedua sitokin pro inflamasi dan anti inflamasi tersebut meningkat secara bersamaan selama TB klinis atau saat progresivitas TB diikuti dengan gejala penyakit yang timbul.⁴¹

Respon Th2 terlihat muncul pada saat stadium lanjut penyakit TB, ditandai dengan peningkatan produksi IL-4 dan IL-10 dan ekspansi dari Treg, serta lamanya perjalanan penyakit dapat mempengaruhi keadaan imunitas pasien.⁴² Adanya kontribusi IL-10 dalam keseimbangan imunologis untuk mengendalikan beban bakteri dan patologi fase infeksi TB.⁴³ Sumber seluler IL-10 selama fase infeksi TB cenderung dinamis dan bergantung pada stadium infeksi dan adanya patogen spesifik. Sumber awal produksi IL-10 selama infeksi berasal dari sel-sel mieloid termasuk makrofag meskipun saat respon imun spesifik sel T menjadi sumber utama produksi IL-10.¹⁰

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, pengukuran kadar IFN- γ dan IL-10 dapat digunakan untuk pengembangan selanjutnya dalam diagnostik maupun evaluasi pengobatan penyakit TB, pemeriksaan tidak bisa hanya dengan satu sitokin namun harus didampingi dengan sitokin yang lain.

Kesimpulan

Kadar IFN- γ dan IL-10 setelah stimulasi antigen EC610 lebih tinggi pada TB aktif daripada TB laten. Tidak terdapat perbedaan bermakna antara kadar IFN- γ antara penderita TB aktif dan TB laten dan terdapat perbedaan bermakna antara kadar IL-10 antara penderita TB aktif dan TB laten setelah stimulasi antigen EC610.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih kepada Dr. dr. Francisca Sriotami Tanoehardjo, SpPK., M.Si dan Pusat Biomedik dan Teknologi dasar Kesehatan, Balai Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Nasional, Kemenkes RI, Jakarta atas dukungan dan bantuan pengadaan antigen fusi EC610.

Daftar Pustaka

- Day CI, Abrahams DA, Lerumo L 2011. Functional Capacity of *Mycobacterium Tuberculosis*-specific T cell Responses in Humans is Associated with Mycobacterial load. *J Immunol.* 187:2222-32.
- WHO. 2015. Global tuberculosis report. WHO press.
- WHO. 2014. Global tuberculosis report. WHO press.
- Kemenkes Republik Indonesia. 2017. Profil Kesehatan Indonesia 2016. Terdapat di: www.depkes.go.id/.../profil-kesehatan-indonesia/Profil-Kesehatan-Indonesia-2016.pdf. Diakses pada 20 Januari 2018.
- Dheda K, Booth H, Hugget JF *et al.* 2010. Lung remodeling in Pulmonary Tuberculosis. *The Journal of Infect Dis.* 192: p.1201-10.
- Liemena Selvi. 2015. *Perbandingan Penampilan Diagnostik Pemeriksaan Tuberculosis Antigen Rapid Test Kit antara Sputum dan Serum Pasien Tuberkulosis Paru*. Digilib Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Sutherland JS., de Jong BC., Jaffries DJ., Adetifa IM., Ora MO. 2010. Production of TNF-alpha IL-12 (p40) and IL-17 Can Discriminate Between Active TB Disease and Latent Infection in a West African Cohort. *PLoS ONE.* 5: e12365.
- O'Leary SN., O'Sullivan MP., Keane J. 2011. IL-10 Blocks Phagosome Maturation in *M.tb* Infected Human Macrophages. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 45: 172-80.
- Braat H., Rottiers P., Hommes DW., Huyghebaert N., Remaut E., Remon JP., van Deventer SJ., Neiryneck S., Peppelenbosch MP., Steidler L. 2006. "A phase I Trial with Transgenic Bacteria Expressing Interleukin-10 in Crohn's Disease". *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* 4 (6): 754-9.
- Redford P., Murray P., O'Garra A. 2011. The Role of IL-10 in Immune Regulation During *M. tuberculosis* Infection. *Mucosal Immunology.* 4(3): 261-70.
- Corbiere V. Pottier G. Bonkain F. 2012. Risk Stratification of Latent Tuberculosis Defined by Combined Interferon Gamma Release Assays. *Plos One.* 7:e43285.
- QuantiFERON-TB Gold (QFTG) ELISA [package insert]. 2016. Germantown, MD; QIAGEN Group.
- Loh KW bR., Toressi J. 2011. Chron's Disease ot Tuberculosis. *J Travel Med.* 18(3): 221-3.
- Hermayanti D 2014. *Respons Imun dan Pemeriksaan Serologi pada Tuberkulosis*. Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Malang. Malang.
- Risnawati Dewi., Ali RH., Tubagus V. 2015. Gambaran Hasil Pemeriksaan Foto Toraks pada Pasien Baru yang melakukan

- Pemeriksaan Toraks Foto di Bagian/ SMF Radiologi BLU RSUP Prof. Dr. R. D. Kandou Manado Periode Juni-Oktober 2014. *Jurnal e-Clinic (eCI)*. Vol.3 No.1.
16. Dinas Kesehatan Provinsi Sumatera Selatan. 2018. Profil Kesehatan Tahun 2017. Terdapat di : <http://dinkes.palembang.go.id/tampung/dokumen/dokumen-157-281.pdf>. Diakses pada 14 Maret 2019.
 17. Oktavia Surakhmi, Mutahar R., Destriatania S. 2016. Analisis Faktor Risiko Kejadian TB Paru di Wilayah Kerja Puskesmas Kertapati Palembang.
 18. Departemen Kesehatan (Depkes) RI. 2011. *Pedoman Nasional Penanggulangan Tuberculosis*.
 19. Widjaja Teguh J, Jaseputra KD, Roostati R. 2010. Analisis Kadar Interferon Gamma pada Penderita Tuberkulosis Paru dan Orang Sehat. *Journal Respiratory Indonesia*. Vol.30. No.2.
 20. Yusuf Umami, Yulianto FA., Triyani Y. 2015. Angka Kejadian Karakteristik Pasien TB Laten pada Anggota Keluarga Pasien TB Aktif di Rumah Sakit Pendidikan Undap Periode 2014. *Prosiding Pendidikan Dokter*. ISSN: 2460-657X.
 21. Sianturi Ruslantri. 2014. Analisis Faktor yang Berhubungan dengan Kekambuhan TB Paru. *Unnes Journal of Public Health*. ISSN 2252-6258.
 22. Martin Ucok., Hasibuan Pantas. 2010. Prevalensi TB Laten pada Petugas Kesehatan di RSUP H. Adam Malik Medan. *J Respir Indo*. Vol.30. No.2.
 23. Christianto Erwin., Putri WA., Munir SM. 2016. Gambaran Status Gizi pada Pasien Tuberkulosis Paru yang Menjalani Rawat Inap di RSUD Arifin Achmad Pekanbaru. *JOM FK*. Vol.3 No.2.
 24. Majdawati Ana. 2010. Uji Diagnostik Gambaran Lesi Foto Thorax pada Penderita dengan Klinis Tuberkulosis Paru. *Mutiara Medika*. Vol.10 No.2. 180-188. Bagian Radiologi Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.
 25. QFT-Plus ELISA Package Insert Kit. 2016. Qiagen Group.
 26. Afzal N., Javed K., Zaman S., Mumtaz A., Hussains S., Tahir R. 2010. Percentage of CD4+ and CD8+ T-lymphocytes in Blood of Tuberculosis Patients. *J Ayub Med Coll Abbottabad*. 22: 182-6.
 27. Hussains S., Afzal N., Javaid K., Ullah MI., Ahmad T., Saleem-Uz-Zaman. 2010. Level of Interferon-Gamma in the Blood of Tuberculosis Patients. *Iran J Immunol*. 7(4): 240-6.
 28. Takdir AK., Arief E., Tabri NA., Seweng A. 2018. Hubungan Kadar IFN- γ Serum dengan Derajat Kepositifan Sputum Basil Tahan Asam pada Tuberkulosis Paru Kasus Baru. *Jurnal Penyakit Dalam Indonesia*. Vol. 5 No.2.
 29. Setiawan H., Nugraha J. 2016. *Analisis Kadar IFN- γ dan IL-10 pada PBMC Penderita Tuberkulosis aktif, Laten dan Orang Sehat, Setelah di Stimulasi Antigen ESAT-6*. Universitas Airlangga. Surabaya.
 30. Maderuelo DL., Arnalich F., Serantes R., Gonzales A., Codoceo R., Madero R. 2003. Interferon-g and Interleukin-10 Gene Polymorphisms in Pulmonary Tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 167: 970-5.
 31. Etokebe GE., Kardum B., Johansen MS., Knezevic J., Balen S., Mileusnic NM. 2006. Interferon-g Gene (TB74A and G2109A) Polymorphisms are Associated with Microscopy-positive Tuberculosis. *Scandinavian Journal of Immunology*. 63: 136-41.
 32. Soemantri, Irman. 2008. Keperawatan Medikal Bedah: Asuhan Keperawatan Pasien Dengan Gangguan Sistem Pernapasan. Salemba Merdeka. Jakarta.
 33. Peresi E., Silva SM., Calvi SA., Marcondes-Machado. 2008. Cytokines and Acute Phase Serum Proteins as Markers of Inflammatory Regression During the Treatment of Pulmonary Tuberculosis. *J Bras Pneumol*. 34 (11): 924-9.

34. Leem AY., Song JH., Lee EH., Lee H., Sim B., Kim SY., Chung KS., Kim EY., Jung JY., Park MS., Kim YS., Chang J., Kang YA. 2018. Changes in Cytokines Responses to TB Antigens ESAT-6, CFP-10 and TB 7.7 and Inflammatory Markers in Peripheral Blood During Therapy. *Scientific Reports*. 8:1159. Republic of Korea.
35. Wibowo RY., Tambunan BA., *et al.* 2017. Ekspresi IFN- γ oleh Sel T CD4+ dan CD8+ Setelah Stimulasi Antigen Fusi ESAT-6-CFP-10 pada Pasien Tuberkulosis Paru aktif. Universitas Airlangga. Surabaya.
36. Tadokera R., Wilkons KA., Meintjes GA. *et al.* 2013. Role of the Interleukin-10 Family of Cytokines in Patients with Immune Reconstitution Inflammatory Syndrome Associated with HIV Infection and Tuberculosis. *The Journal of Infectious Disease*. 207: 1148-1156.
37. Cavalcanti YVN., Brelaz MCA., Neves JK., Ferraz JC., Pereira VRA. 2012. Role of TNF-Alpha, IFN-Gamma, and IL-10 in the Development of Pulmonary Tuberculosis. *Hindawi Publishing Corporation, Pulmonary Medicine*. Vol.12: 745483. pp. 1-10.
38. Yuan N., Zhang HF., Wei Q., Wang P., Guo WY. 2018. Expression of CD4+ CD25+Foxp3+ Regulatory T Cells, Interleukin-10 and Transforming Growth Factor β in Newly Diagnosed Type 2 Diabetic Patients. *Experimental and Clinical Endocrinology and Diabetes*. 126 (2): 96-101.
39. Kim YK., Lee SY. *et al.* 2014. Gamma-Interferon and Soluble IL-2 Receptor in Tuberculous Pleural Effusion Lung. 200: 179. pp.1759-84.
40. Bertholet S., Home DJ., Laughin EM., *et al.* 2011. Effect of Chemotherapy on Whole blood Cytokines Responses to *M.tb* Antigens in a Small Cohort of Patients with Pulmonary Tuberculosis. *Clinical and Vamline Immunology*. 18(8): 1378-86.
41. Abebe F., Belay M., Leggesse M., Mihret A., dan Franken KS. 2017. Association of ESAT-6/CFP-10-Induced IFN- γ , TNF- α and IL-10 with Clinical Tuberculosis: Evidence from Cohorts of Pulmonary Tuberculosis Patients, Household Contacts and Community Controls in an Endemic Setting. *Clinical and Experimental Immunology*. University of Oslo. Faculty of Medicine. Institute of Health and Society. Norway.
42. Chiacchio T., Cassetti R., Butera O. 2009. Characterization of Regulatory T Cells Identified as CD4 (+) CD25 (high) CD39 (+) in Patients with Active Tuberculosis. *Clin Exp Immunol*. 156: 463-70.
43. Wong Eileen A., Kraus Carolyn, Reimann KA., Flynn JL. 2017. The Role of IL-10 During Early *M. tuberculosis* Infection in a Non-Human Primate Model. *J Immunol*. 198: 123-5.