

Analisis Kadar Interferon Gamma Pada Penderita Tuberkulosis Paru dan Orang Sehat

J. Teguh Widjaja,* Diana K. Jasaputra,** Rina Lizza Roostati.**

*Bagian Pulmonologi Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Maranatha,

**Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Maranatha, Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Maranatha

ABSTRACT

Background : Pulmonary tuberculosis is an acute or chronic respiratory infection that has attract attention of health experts around the world because the prevalence continue to increase. Interferon gamma (IFN- γ) is one of the most important cytokine in the pathogenesis of pulmonary tuberculosis. This study aims to assess the levels of IFN- γ in people with pulmonary tuberculosis and healthy people in the community.

Method and samples : the methodology of this study is observational analytic. Samples of blood plasma derived from venous blood of patients with tuberculosis and healthy people. IFN- γ level is measured by Enzyme Linked analysis techniques Immunosorbent Assay (ELISA). Samples were read by spectrophotometer (ELISA reader). The data obtained were analyzed by unpaired t test (independent t test) with $\alpha=0.05$.

Result : of this study shows that IFN- γ level in people with pulmonary tuberculosis differ significantly with healthy people ($p < 0.05$).

Conclusion : IFN- γ level in pulmonary tuberculosis patients were lower than healthy people and the difference is statistically significant.

Key words: IFN- γ , lung tuberculosis

PENDAHULUAN

Tuberkulosis paru merupakan penyakit menular akut maupun kronis yang terutama menyerang paru atau saluran napas. Sejak beberapa dekade yang lalu, penyakit ini terus-menerus mendapat perhatian para pakar kesehatan. Hal itu disebabkan karena setiap tahun prevalensinya terus meningkat. Penderita tuberkulosis paru dapat disembuhkan bila ditangani sejak dini dan dengan seksama. Badan kesehatan internasional WHO memperkirakan bahwa jumlah seluruh kasus tuberkulosis paru di dunia meningkat dari 7,5 juta pada tahun 1990 menjadi 10,2 juta pada tahun 2000. Jumlah kematian seluruhnya meningkat dari 2,5 juta menjadi 3,5 juta.¹

Tuberkulosis paru disebabkan oleh bakteri batang gram positif, *Mycobacterium tuberculosis*. Infeksi *Mycobacterium tuberculosis* memiliki kekhasan tersendiri, karena bakteri tersebut hidup intraseluler. Kondisi ini merupakan salah satu faktor yang mempersulit upaya pengobatan. *Mycobacterium*

tuberculosis dapat menular dari individu yang satu ke individu lainnya melalui percikan yang terbawa udara (airborne droplets), seperti batuk, dahak atau percikan ludah. Penderita tuberkulosis paru pada umumnya adalah orang dewasa. Anak-anak dengan tuberkulosis paru primer pada umumnya tidak menularkan bakteri pada orang lain. Tuberkulosis paru pada orang dewasa dapat berkembang dari: (1) progresi suatu infeksi paru primer, (2) progresi lesi paru dari kuman melalui aliran darah, (3) reaktivasi lesi primer lama, atau (4) reaktivasi lesi pasca-primer lama.¹ Gambaran patologi anatomi tuberkulosis paru yang khas menunjukkan adanya nekrosis perkejuan yang dikelilingi sel epiteloid dan sel datia Langhans.

Pada saat ini para ahli menduga adanya gangguan sistem imun pada penderita tuberkulosis. Sel *T helper-1* (Th1) sangat berperan pada sistem pertahanan tubuh terutama dalam menghadapi infeksi bakteri intraseluler. Salah satu sitokin yang diproduksi sel Th1 adalah interferon gamma (IFN- γ) yang berperan penting dalam mengeliminasi bakteri *Mycobacterium tuberculosis*. Interferon gamma

bertugas untuk memperkuat potensi fagosit dari makrofag yang terinfeksi bakteri *Mycobacterium tuberculosis* yaitu dengan cara menstimulasi pembentukan fagolisosom. Interferon gamma juga menstimulasi pembentukan radikal bebas untuk menghancurkan komponen bakteri *Mycobacterium tuberculosis* yaitu DNA dan dinding sel bakteri.²

Terjadinya gangguan atau penurunan aktivitas sel Th1 dan sitokinnya yaitu IFN- γ cukup bermakna dalam mempengaruhi mekanisme pertahanan tubuh terhadap penyakit tuberkulosis paru. Oleh karena itu pengetahuan tentang kadar IFN- γ dalam pertahanan tubuh individu terhadap infeksi tuberkulosis paru sangat penting.

METODE

Penelitian menggunakan rancangan penelitian observasional analitik. Sampel berupa plasma penderita tuberkulosis paru dan orang sehat di masyarakat yang diukur dengan teknik analisis *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (ELISA). Data yang diperoleh dianalisis dengan metode uji t tidak berpasangan (*independent t test*).

Metode Pemilihan Sampel

Pemilihan subjek penelitian menggunakan metode accidental sampling. *Accidental sampling* adalah cara pemilihan subjek penelitian yang tidak terencana, penderita yang datang berobat dengan periode tertentu dan memenuhi kriteria tertentu diminta menjadi subjek penelitian. Periode dan kriteria pada penelitian ini adalah penderita kasus baru yang didiagnosis tuberkulosis paru dengan BTA positif yang datang pada bulan Januari – Februari 2007 ke RS Immanuel dan RS Paru Dr.H.A.Rotinsulu.

Prosedur Pemeriksaan Sitokin IFN- γ dengan ELISA Kit

Darah vena subjek penelitian diambil sebanyak 3 ml dan dimasukkan dalam tabung EDTA kemudian dikocok bolak-balik. Tabung disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 30 menit. Darah yang telah disentrifugasi akan terpisah menjadi eritrosit, lapisan *buffy coat* dan plasma darah. Plasma dipisahkan dan disimpan dalam *microtube*. Kemudian dibungkus dengan parafilm lalu disimpan dalam pendingin dengan suhu -20°C sampai akan digunakan.

Plasma darah dan Kit ELISA dikeluarkan dan

diletakkan pada suhu kamar. Larutan standar dibuat dengan melarutkan *Lyophilized IFN- γ Standard* dan Assay Diluent lalu di-vortex. Larutan standar lalu diperiksa secara duplo, sementara sumur lainnya diisi dengan sampel yang telah ditambahkan Assay Diluent terlebih dahulu. Setiap sumur kemudian ditambahkan dengan Rabbit anti-Human IFN- γ Polyclonal Antibody. *Plate* kemudian ditutup dengan *sealer (Acetate Plate Sealer)* untuk mencegah terjadinya penguapan dan diinkubasi pada suhu ruang selama 3 jam.

Setelah diinkubasi, *sealer* dibuka dan *plate* dicuci dengan *Wash Buffer*. *Goat anti-Rabbit Conjugated Alkaline Phosphatase* ditambahkan pada setiap sumur lalu di-seal kembali *plate* tersebut dan inkubasi selama 45 menit pada suhu ruang. *Sealer* kemudian dibuka dan cairannya dibuang, kemudian *plate* dicuci dengan *Wash Buffer*. Tambahkan reagen pewarna dan inkubasi pada suhu ruangan selama 6 menit setelah itu tambahkan *stop solution*. Hasilnya dibaca dengan ELISA Reader, sehingga didapatkan data kadar IFN- γ penderita tuberkulosis paru dan orang sehat yang selanjutnya dibandingkan.

Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis secara statistik dengan menggunakan uji t tidak berpasangan dengan $\alpha = 0,05$ dengan program komputer Sigma Stat.

HASIL

Karakteristik dari subjek penelitian disajikan pada tabel 1 dan 2. Data karakteristik subjek penelitian pada tabel 1 memperlihatkan bahwa pada penelitian ini, kelompok usia yang terbanyak menderita tuberkulosis paru adalah kelompok usia 21–30 tahun. Data karakteristik subjek penelitian pada tabel 2 memperlihatkan bahwa subjek penelitian orang sehat berusia 21–30 tahun. Perbandingan kadar IFN- γ pada penderita tuberkulosis paru dan orang sehat disajikan pada tabel 3.

Tabel 1. Karakteristik subjek penelitian penderita tuberkulosis paru

Usia	Jenis Kelamin		Jumlah (orang)
	Laki-laki	Perempuan	
15 - 20	2	1	3
21 - 30	4	6	10
31 - 40	1	5	6
41 - 50	4	2	6
51 - 60	2	0	2
Jumlah	13	14	27

Tabel 2. Karakteristik subjek penelitian orang sehat

Usia	Jenis Kelamin		Jumlah (orang)
	Laki-laki	Perempuan	
15 - 20	1	1	2
21 - 30	9	16	25
Jumlah	10	17	27

Data hasil penelitian pada tabel 3 dianalisis dengan menggunakan uji t tidak berpasangan (*Independent t test*) karena kriteria penelitian yang digunakan pada kedua kelompok yang diteliti adalah berbeda. Data dianalisis dengan menggunakan program komputer Sigma Stat, dengan *Mann-Whitney Rank Sum Test*.

Tabel 3 memperlihatkan nilai rerata IFN- γ penderita tuberkulosis paru pada penelitian ini lebih rendah dibandingkan nilai rerata IFN- γ pada orang sehat. Nilai rerata IFN- γ penderita tuberkulosis paru adalah 0,044852 dan nilai rerata IFN- γ kelompok bukan penderita tuberkulosis adalah 0,054222. Data tersebut kemudian dianalisis dengan uji t tidak berpasangan dan diambil kesimpulan bahwa kadar IFN- γ penderita tuberkulosis paru berbeda signifikan ($p < 0,05$) dibandingkan orang sehat. Hasil ini menunjukkan pada penderita tuberkulosis paru terjadi penurunan kadar IFN- γ yang cukup berarti.

Tabel 3. Perbandingan nilai rerata IFN- γ penderita tuberkulosis paru dan orang sehat

No.	IFN- γ	
	Orang sehat	Tuberkulosis paru
1	0,046	0,037
2	0,044	0,042
3	0,045	0,040
4	0,061	0,038
5	0,036	0,041
6	0,041	0,038
7	0,045	0,043
8	0,050	0,042
9	0,062	0,040
10	0,052	0,045
11	0,048	0,043
12	0,048	0,048
13	0,042	0,047
14	0,053	0,039
15	0,134	0,045
16	0,049	0,048
17	0,053	0,048
18	0,053	0,048
19	0,048	0,042
20	0,045	0,050
21	0,041	0,050
22	0,101	0,045
23	0,057	0,043
24	0,046	0,049
25	0,057	0,049
26	0,062	0,060
27	0,045	0,051
Rerata	0,054222	0,044852

Data penderita tuberkulosis paru pada tabel 3 kemudian dikelompokkan berdasarkan usia, yaitu kelompok usia <30 tahun dan kelompok usia >30 tahun (tabel 4). Pengelompokan ini guna mencari hubungan antara usia dengan sistem imun penderita tuberkulosis paru yang dalam hal ini dicerminkan melalui kadar IFN- γ .

Tabel 4. Hubungan antara usia dengan kadar IFN- γ

No.	Usia (tahun)	
	≤ 30	> 30
1	0,050	0,041
2	0,048	0,040
3	0,047	0,049
4	0,042	0,060
5	0,042	0,043
6	0,043	0,048
7	0,045	0,039
8	0,048	0,037
9	0,042	0,051
10	0,049	0,038
11	0,050	0,040
12	0,045	0,045
13	0,038	0,048
14		0,043
Rerata	0,045	0,044

Tabel 4 diatas menunjukkan bahwa secara statistik tidak terdapat perbedaan kadar IFN- γ yang signifikan ($p = 0,665$) antara mereka yang berusia di bawah dan di atas 30 tahun.

Data penderita tuberkulosis paru juga dikelompokkan berdasarkan jenis kelamin, yaitu kelompok laki-laki dan perempuan (tabel 5).

Pengelompokan ini guna mengetahui apakah ada hubungan antara jenis kelamin dengan kadar IFN- γ sebagai parameter sistim imun penderita tuberkulosis paru.

Tabel 5. Hubungan antara jenis kelamin dengan kadar IFN- γ

No	Jenis Kelamin	
	Laki-laki	Perempuan
1	0,050	0,048
2	0,047	0,042
3	0,043	0,042
4	0,048	0,045
5	0,042	0,049
6	0,050	0,045
7	0,043	0,038
8	0,039	0,041
9	0,051	0,040
10	0,038	0,049
11	0,040	0,060
12	0,048	0,048
13	0,043	0,037
14		0,045
Rerata	0,045	0,045

Data dari Tabel 5 memperlihatkan bahwa tidak terdapat perbedaan antara kadar IFN- γ pada laki-laki maupun perempuan ($p = 0,938$).

DISKUSI

Data karakteristik subjek penelitian pada tabel 2 memperlihatkan bahwa pada penelitian ini, kelompok usia terbanyak menderita tuberkulosis paru adalah kelompok usia 21–30 tahun. Data ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh WHO terhadap kasus tuberkulosis di Indonesia.³ Kenyataan ini mungkin disebabkan oleh karena kelompok usia tersebut merupakan kelompok usia produktif, misalnya bekerja di lingkungan yang mobilitasnya tinggi sehingga lebih mudah kontak dengan *Mycobacterium tuberculosis*.

Berdasarkan analisis tabel 3 mengenai kadar IFN- γ pada penderita tuberkulosis paru dan orang sehat diketahui bahwa pada penderita tuberkulosis paru terjadi penurunan kadar IFN- γ yang secara statistik signifikan. Perbandingan antara kadar IFN- γ pada penderita tuberkulosis dengan orang sehat telah dianalisa oleh beberapa peneliti dengan hasil yang beragam.

Beberapa studi memperlihatkan bahwa terjadi penurunan kadar IFN- γ pada penderita TB aktif.^{4,5} Penelitian lainnya yang membandingkan

anak-anak dengan TB dan anak-anak sehat tuberkulin positif, mendapatkan bahwa produksi IFN- γ sangat rendah pada mereka yang menderita TB Paru berat dan sangat berat dan penderita kurang gizi. Produksi IL-12, IL-4 dan IL-10 sama pada pasien TB dan tuberkulin positif. Hasil ini memperlihatkan bahwa respons imun awal terhadap mikrobakterium TB berhubungan dengan pengurangan produksi IFN- γ , dan tidak berhubungan dengan pengurangan produksi IL-12 atau peningkatan IL-4 dan IL-10.⁶

Beberapa penelitian telah dilakukan untuk meneliti pengaruh gangguan produksi IFN- γ yang berakibat rendahnya kadar IFN- γ di sirkulasi darah terhadap kerentanan penjamu bila terpapar kuman tuberkulosis. Flynn dan kawan-kawan melakukan penelitian pada binatang percobaan mencit dengan merusak gen yang bertanggungjawab untuk memproduksi IFN- γ sehingga kadarnya dalam darah sangat rendah, dan kemudian dilakukan paparan dengan kuman tuberkulosis. Ternyata walaupun dapat membentuk granuloma mencit-mencit tadi gagal memproduksi *reactive nitrogen intermediate* suatu senyawa penting dalam proses pembunuhan MTB, sehingga tidak mampu membendung pertumbuhan kuman. Mencit-mencit tersebut memperlihatkan nekrosis jaringan dan perburukan penyakit yang dengan cepat mengakibatkan kematian.⁷

Lopez-Maderuelo dan kawan-kawan melakukan penelitian pada sampel darah vena yang diambil dari 113 pasien baru TB paru BTA (+). Mereka mendapatkan pada penderita TB terjadi polimorfisme pada gen yang memproduksi IFN- γ sehingga kadarnya dalam darah rendah dan menyebabkan mereka berisiko lebih mudah terjangkit tuberkulosis.⁸ Pathan dan kawan-kawan mendapatkan kadar IFN- γ yang lebih rendah pada penderita TB aktif dengan kultur positif dibandingkan pada orang kontak sehat, penderita TB minimal atau bakteriologis negatif.⁹ Hasil penelitian lain oleh Koksai dan kawan-kawan yang membandingkan kadar IFN- γ pada penderita TB aktif, TB inaktif dan orang sehat tidak menunjukkan perbedaan bermakna sehingga mereka menyimpulkan bahwa pemeriksaan ini tidak dapat digunakan untuk membedakan apakah TB aktif atau inaktif.¹⁰

Penyebab turunnya kadar IFN- γ tidak diteliti melalui penelitian ini, namun dapat diasumsikan beberapa faktor yang dapat menyebabkan penurunan kadar IFN- γ diantaranya:

1. Faktor penjamu terutama faktor genetik, merupakan hal yang sangat menentukan apakah paparan atau infeksi bakteri akan menimbulkan penyakit atau tidak. Penelitian ini tidak menilai faktor genetik dari tiap subjek penelitian sehingga tidak dapat membuktikan seberapa besar pengaruh faktor genetik pada tuberkulosis paru. Pengaruh faktor genetik ini menurut Maderuelo *et.al* dan Etokebe *et.al* berupa kelainan polimorfisme gen IFN- γ +874 T/A, yaitu gen yang berperan dalam produksi IFN- γ yang menyebabkan penurunan kadar IFN- γ . Penurunan IFN- γ akan mendeprasi fungsi makrofag sehingga Mycobacterium tuberculosis akan terus bermultiplikasi dan proses infeksi terus berlangsung.^{8,11}
2. Status gizi penjamu yaitu bila nutrisi seseorang buruk maka aktivitas sistem imun orang tersebut akan berkurang. Penelitian ini tidak menilai status gizi tiap subjek penelitian sehingga tidak dapat membuktikan seberapa besar pengaruh status gizi terhadap sistem imun penderita tuberkulosis paru. Menurut Chandra, status nutrisi seseorang mempengaruhi kerentanan (*susceptibility*) terhadap penyakit infeksi, salah satunya tuberkulosis. Defisiensi nutrisi mengakibatkan penurunan respon imun, fungsi fagosit, produksi sitokin dan sistem komplemen. Pendapat ini didukung oleh serangkaian penelitian yang dilakukan Chandra dan Bloom yang membuktikan bahwa tikus yang sengaja diberi diet rendah protein (2%) lebih rentan terhadap infeksi tuberkulosis paru dibandingkan tikus yang mendapat diet cukup protein (20%). Tikus dengan diet rendah protein menunjukkan penurunan kadar IFN- γ , TNF- α , dan *nitric oxide*. Berdasarkan hasil tersebut, dapat disimpulkan bahwa asupan nutrisi yang memadai terutama protein, akan meningkatkan respon imun sehingga insidensi tuberkulosis paru dapat diminimalisasi.¹²
3. Usia penjamu: Vasto *et.al*¹³ melakukan penelitian mengenai hubungan usia dengan imunitas dan mengemukakan bahwa pada usia lanjut terjadi penurunan sistem imun, disebut juga immunosenescence. Jumlah sel T relatif tetap pada usia lanjut namun fungsinya menurun seiring bertambahnya usia. Penurunan fungsi

sel T disebabkan adanya perubahan pada lipid membran sel yang menyebabkan lambatnya proses penghantaran sinyal pada sel T CD4+.⁸ Pada penelitian ini tidak didapatkan perbedaan bermakna antara mereka yang berusia di bawah dan di atas 30 tahun. Hal ini mungkin disebabkan oleh karena pada penelitian ini tidak didapatkan subjek yang berusia lebih dari 65 tahun (geriatrik). Hasil penelitian ini lebih sesuai dengan kesimpulan Maderuelo *et al*, yang mengatakan bahwa kadar IFN- γ tidak dipengaruhi oleh usia.⁸

4. Jenis kelamin: hasil penelitian ini memperlihatkan tidak ada perbedaan kadar IFN- γ antara laki-laki dan perempuan. Hasil ini sesuai dengan penelitian multivarian terhadap penderita tuberkulosis paru yang dilakukan oleh Maderuelo *et.al*, yang menyimpulkan bahwa kadar IFN- γ tidak mutlak dipengaruhi oleh jenis kelamin.⁸

KESIMPULAN

Pada penelitian ini didapatkan bahwa pada pemeriksaan kadar IFN- γ serum penderita tuberkulosis paru lebih rendah dibandingkan orang sehat di masyarakat.

DAFTAR PUSTAKA

1. Crofton SJ, Horne N, Miller F. Tuberkulosis Klinis. Jakarta: Widya Medika 2002.
2. Kumar V, Abbas AK, Fausto N. Pathologic Basis of Disease. Philadelphia: Elsevier Saunders 2005.
3. Aditama TY. Tuberkulosis: Diagnosis, Terapi dan Masalahnya. Jakarta: Ikatan Dokter Indonesia (IDI) 2002.
4. Zhang M, Lin Y, Iyer DV, Gong J, Abrams JS, Barnes PF. T-cell cytokine responses in human infection with Mycobacterium tuberculosis. Infect Immun. 1995 Aug;63(8):3231-4.
5. Ting LM, Kim AC, Cattamanchi A, Ernst JD. Mycobacterium tuberculosis inhibits IFN-gamma transcriptional responses without inhibiting activation of STAT1. J Immunol. 1999 Oct 1;163(7):3898-906.
6. Swaminathan S, Gong J, Zhang M, Samten B, Hanna LE, Narayanan PR, et al. Cytokine

- production in children with tuberculous infection and disease. *Clin Infect Dis*. 1999 Jun;28(6):1290-3.
7. Flynn JL, Chan J, Triebold KJ, Dalton DK, Stewart TA, Bloom BR. An essential role for interferon gamma in resistance to *Mycobacterium tuberculosis* infection. *J Exp Med*. 1993 Dec 1;178(6):2249-54.
 8. Maderuelo DL, Arnalich F, Serantes R, Gonzales A, Codoceo R, Madero R. Interferon-g and Interleukin-10 Gene Polymorphisms in Pulmonary Tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2003;167:970-5.
 9. Pathan AA, Wilkinson KA, Klenerman P, McShane H, Davidson RN, Pasvol G, et al. Direct ex vivo analysis of antigen-specific IFN-gamma-secreting CD4 T cells in *Mycobacterium tuberculosis*-infected individuals: associations with clinical disease state and effect of treatment. *J Immunol*. 2001 Nov 1;167(9):5217-25.
 10. Koksai D, Unsal E, Poyraz B, Kaya A, Savas H, Sipit T, et al. The value of serum interferon-gamma level in the differential diagnosis of active and inactive pulmonary tuberculosis. *Tuberk Toraks*. 2006;54(1):17-21.
 11. Etokebe GE, Kardum B, Johansen MS, Knezevic J, Balen S, Mileusnic NM. Interferon-g Gene (T874A and G2109A) Polymorphisms Are Associated With Microscopy-positive Tuberculosis. *Scandinavian Journal of Immunology*. 2006;63:136-41.
 12. Chandra RK. Nutrition, immunity and infection: From basic knowledge of dietary manipulation of immune responses to practical application of ameliorating suffering and improving survival. *Proct Natl Acad Sci USA*. 1996;93:14304-7.
 13. Vasto S, Malavolta M, Pawelec G. Age and immunity. *Immunity & Ageing*. 2006;3(2).

