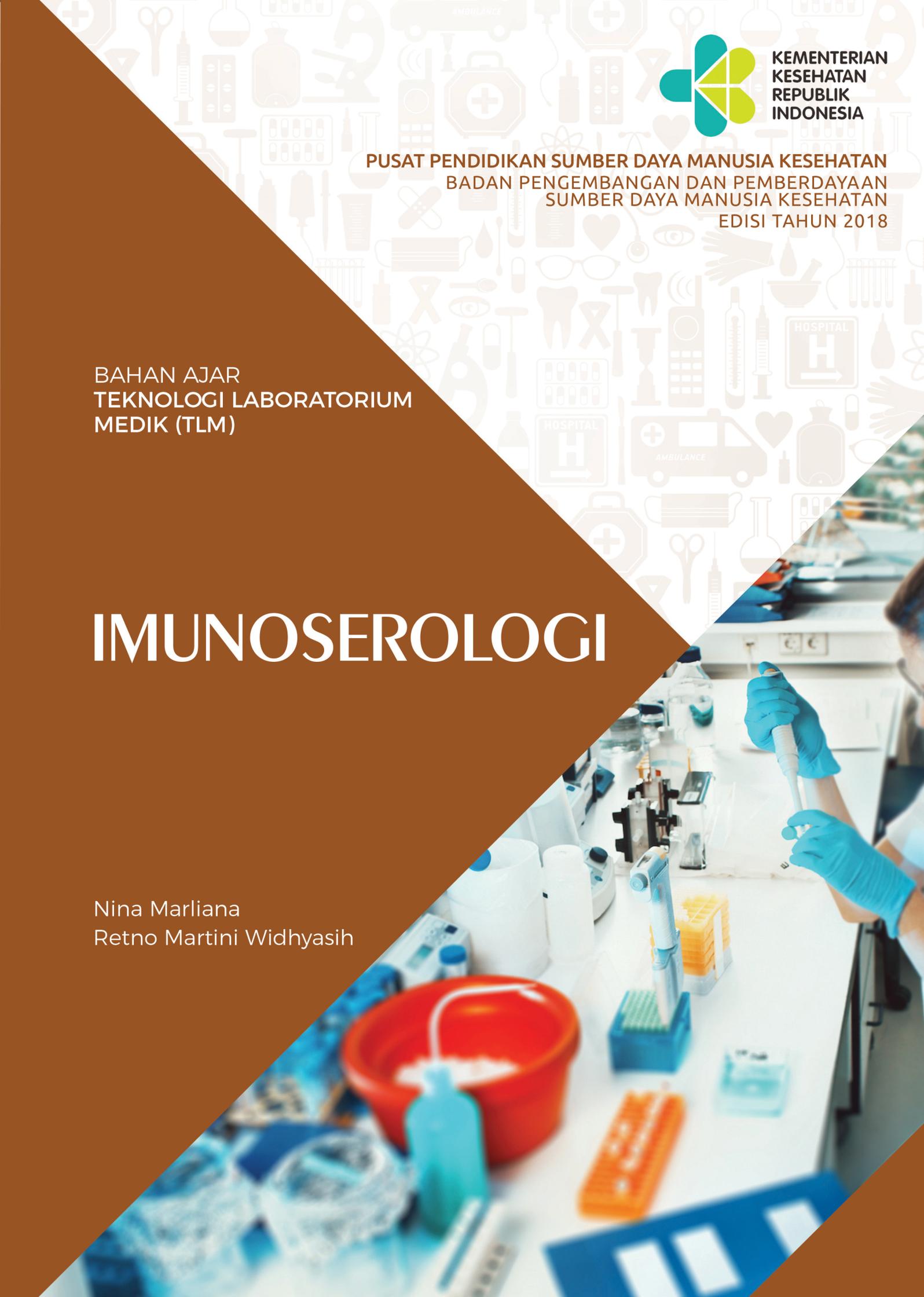


BAHAN AJAR  
TEKNOLOGI LABORATORIUM  
MEDIK (TLM)

# IMUNOSEROLOGI

Nina Marliana  
Retno Martini Widhyasih



BAHAN AJAR  
TEKNOLOGI LABORATORIUM  
MEDIK (TLM)

# IMUNOSEROLOGI

Nina Marlina  
Retno Martini Widhyasih

Hak Cipta © dan Hak Penerbitan dilindungi Undang-undang

Cetakan pertama, Agustus 2018

*Penulis* : *Nina Marlina, SPd. M.Biomed*  
*Retno Martini Widhyasih,SSI. M.Biomed*

*Pengembang Desain Intruksional* : *Adhi Susilo, S.Pt., M.Biotech.St., Ph.D*

*Desain oleh Tim P2M2*

*Kover & Ilustrasi* : *Bangun Asmo Darmanto, S.Des.*

*Tata Letak* : *Fahreis Hertansyah Pohan, S. Sn*

*Jumlah Halaman* : *326*

# DAFTAR ISI

	Halaman
<b>BAB I: DASAR-DASAR PENGENDALIAN MUTU .....</b>	<b>1</b>
<b>Topik 1.</b>	
<b>Ruang Lingkup Pengendalian Mutu .....</b>	<b>4</b>
Latihan .....	10
Ringkasan.....	11
Tes 1 .....	13
<b>Topik 2.</b>	
<b>Pengenalan Tahap-tahap Pengendalian Mutu .....</b>	<b>16</b>
Latihan .....	20
Ringkasan.....	20
Tes 2 .....	21
<b>KUNCI JAWABAN TES FORMATIF .....</b>	<b>23</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>24</b>
<b>BAB II: STRATEGI 5Q FRAMEWORK UNTUK TERCAPAINYA MUTU PEMERIKSAAN LABORATORI .....</b>	<b>25</b>
<b>Topik 1.</b>	
<b>5Q Framework.....</b>	<b>28</b>
Latihan .....	32
Ringkasan.....	33
Tes 1 .....	33
<b>Topik 2.</b>	
<b>Komponen Komputer .....</b>	<b>49</b>
Latihan .....	54
Ringkasan.....	54
Tes 2 .....	59

<b>KUNCI JAWABAN TES FORMATIF .....</b>	<b>61</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>62</b>
<b>BAB III: SUMBER-SUMBER KESALAHAN PADA TAHAP PRA ANALITIK, ANALITIK DAN PASCA ANALITIK .....</b>	<b>64</b>
<b>Topik 1.</b>	
<b>Sumber Kesalahan Teknik .....</b>	<b>67</b>
Latihan .....	79
Ringkasan.....	80
Tes 1.....	81
<b>Topik 2.</b>	
<b>Sumber Kesalahan Non Teknik .....</b>	<b>84</b>
Latihan .....	107
Ringkasan.....	107
Tes 2.....	107
<b>KUNCI JAWABAN TES FORMATIF .....</b>	<b>109</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>110</b>
<b>BAB IV: UJI KUALITAS BAHAN LABORATORIUM (REAGEN, BAHAN STANDART, BAHAN KONTROL, DAN AIR).....</b>	<b>111</b>
<b>Topik 1.</b>	
<b>Pengenalan Bahan Laboratorium.....</b>	<b>113</b>
Latihan .....	123
Ringkasan.....	124
Tes 1.....	126
<b>Topik 2.</b>	
<b>Uji Kualitas Bahan Laboratorium .....</b>	<b>128</b>
Latihan .....	151

Ringkasan.....	151
Tes 2.....	155
<b>KUNCI JAWABAN TES FORMATIF .....</b>	<b>157</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>158</b>
<b>BAB V: KALIBRASI ALAT DAN INSTRUMEN LABORATORIUM KESEHATAN .....</b>	<b>159</b>
<b>Topik 1.</b>	
<b>Pengenalan Alat dan Instrumen Laboratorium Kesehatan .....</b>	<b>162</b>
Latihan .....	193
Ringkasan.....	194
Tes 1.....	196
<b>Topik 2.</b>	
<b>Kalibrasi Alat dan Instrumen Laboratorium Kesehatan .....</b>	<b>198</b>
Latihan .....	213
Ringkasan.....	213
Tes 2.....	214
<b>KUNCI JAWABAN TES FORMATIF .....</b>	<b>216</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>217</b>
<b>BAB VI: KEANDALAN TES LABORATORIUM.....</b>	<b>219</b>
<b>Topik 1.</b>	
<b>Akurasi dan Presisi .....</b>	<b>221</b>
Latihan .....	231
Ringkasan.....	232
Tes 1.....	233
<b>Topik 2.</b>	
<b>Sensitivitas dan Spesifisitas Diagnostik .....</b>	<b>235</b>

Latihan .....	239
Ringkasan.....	240
Tes 2.....	240
<b>KUNCI JAWABAN TES FORMATIF .....</b>	<b>242</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>243</b>
<b>BAB VII: PEMANTAPAN MUTU INTERNAL BIDANG KIMIA KLINIK .....</b>	<b>244</b>
<b>Topik 1.</b>	
<b>Pengenalan Pemantapan Mutu Internal Bidang Kimia Klinik .....</b>	<b>247</b>
Latihan .....	274
Ringkasan.....	274
Tes 1.....	274
<b>Topik 2.</b>	
<b>Menu pada Aplikasi Pengolah Angka (Microsoft Excel) .....</b>	<b>277</b>
Latihan .....	296
Ringkasan.....	296
Tes 2 .....	297
<b>KUNCI JAWABAN TES FORMATIF .....</b>	<b>299</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>300</b>
<b>BAB VIII: PEMANTAPAN MUTU INTERNAL BIDANG URINALISIS .....</b>	<b>302</b>
<b>Topik 1.</b>	
<b>Pengenalan Pemantapan Mutu Internal Bidang Urinalisis .....</b>	<b>304</b>
Latihan .....	318
Ringkasan.....	319
Tes 1 .....	319
<b>Topik 2.</b>	

<b>Penerapan Pemantapan Mutu Internal Bidang Urinalisis .....</b>	<b>320</b>
Latihan .....	346
Ringkasan.....	347
Tes 2.....	347
<b>KUNCI JAWABAN TES FORMATIF .....</b>	<b>349</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>350</b>
<b>BAB IX: PEMANTAPAN MUTU INTERNAL BIDANG HEMATOLOGI .....</b>	<b>352</b>
<b>Topik 1.</b>	
<b>Pengenalan Pemantapan Mutu Internal Bidang Hematologi .....</b>	<b>357</b>
Latihan .....	377
Ringkasan.....	377
Tes 1 .....	378
<b>Topik 2.</b>	
<b>Penerapan Pemantapan Mutu Internal Bidang Hematologi .....</b>	<b>381</b>
Latihan .....	388
Ringkasan.....	390
Tes 2 .....	390
<b>KUNCI JAWABAN TES FORMATIF .....</b>	<b>394</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>395</b>
<b>BAB X: PEMANTAPAN MUTU INTERNAL BIDANG MIKROBIOLOGI .....</b>	<b>396</b>
<b>Topik 1.</b>	
<b>Pengenalan Pemantapan Mutu Internal Bidang Mikrobiologi .....</b>	<b>399</b>
Latihan .....	417
Ringkasan.....	417
Tes 1 .....	417
<b>Topik 2.</b>	

<b>Pemantapan Mutu Internal Bidang Parasitologi Pemantapan Mutu Laboratorium Mikroskopis Malaria .....</b>	<b>420</b>
Latihan .....	442
Ringkasan.....	442
Tes 2 .....	443
<b>KUNCI JAWABAN TES FORMATIF .....</b>	<b>445</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>446</b>
<b>BAB XI: PENERAPAN PEMANTAPAN MUTU INTERNAL BIDANG IMUNOSEROLOGI .....</b>	<b>447</b>
<b>Topik 1.</b>	
<b>Pengenalan Pemantapan Mutu Internal Bidang Imunoserologi .....</b>	<b>449</b>
Latihan .....	454
Ringkasan.....	455
Tes 1 .....	455
<b>Topik 2.</b>	
<b>Penerapan Pemantapan Mutu Internal Bidang Imunoserologi .....</b>	<b>457</b>
Latihan .....	467
Ringkasan.....	468
Tes 2 .....	469
<b>KUNCI JAWABAN TES FORMATIF .....</b>	<b>471</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>472</b>
<b>BAB XII: PROGRAM NASIONAL PEMANTAPAN MUTU EKSTERNAL .....</b>	<b>473</b>
<b>Topik 1.</b>	
<b>Pengenalan Pemantapan Mutu Eksternal .....</b>	<b>475</b>
Latihan .....	484
Ringkasan.....	485
Tes 1 .....	485

<b>Topik 2.</b>	
<b>Penerapan Program Nasional Pemantapan Mutu Eksternal .....</b>	<b>487</b>
Latihan .....	504
Ringkasan.....	505
Tes 1 .....	506
<b>KUNCI JAWABAN TES FORMATIF .....</b>	<b>508</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>509</b>

# Bab 1

## IMUNOLOGI DAN RESPON IMUN

Nina Marlina, S.Pd., M.Biomed.

### Pendahuluan

**K**ita bisa hidup sehat disebabkan karena tubuh mempunyai sistem imun. Sistem imun dapat mengenali antigen asing di sekitar kita seperti mikroorganisme baik bakteri, virus, jamur maupun parasit sehingga jika antigen asing tersebut masuk ke dalam tubuh maka tubuh akan berespon baik secara humoral melalui antibodi maupun sitokin yang lain atau secara seluler melalui sel-sel imun.

Imunologi adalah ilmu yang mempelajari sistem imun. Sistem imun meliputi sistem imun non spesifik dan spesifik, yang keduanya bisa secara humoral maupun seluler.

Pada Bab I ini kita akan mempelajari mengenai ruang lingkup sistem imun non spesifik. Pelajarilah dengan seksama Bab 1 ini. Setelah mempelajari bab ini, mahasiswa akan mampu :

1. menjelaskan istilah pada imunologi
2. menjelaskan syarat imunogenitas
3. menjelaskan sistem imun non spesifik secara humoral
4. menjelaskan sistem imun non spesifik secara seluler

Manfaat mempelajari bab ini adalah membantu Anda untuk dapat memahami lebih dalam tentang konsep dan mekanisme sistem imun non spesifik sebagai dasar dalam upaya memahami sistem imun.

Agar memudahkan Anda mempelajari bab ini, maka materi yang akan dibahas terbagi menjadi 3 topik, yaitu:

1. Konsep imunologi, syarat imunogenitas, unsur-unsur imunitas
2. Sistem imun non spesifik secara humoral
3. Sistem imun non spesifik secara seluler

Selanjutnya agar Anda berhasil dalam mempelajari materi yang tersaji dalam Bab 1 ini, perhatikan beberapa saran sebagai berikut :

- a. Pelajari setiap topik materi secara bertahap
- b. Usahakan mengerjakan setiap latihan dengan tertib dan sungguh-sungguh.

c. Kerjakan tes yang disediakan dan diskusikan bagian-bagian yang sulit Anda pahami dengan teman sejawat atau tutor, atau melalui pencarian di internet.

# Topik 1

## Konsep Immunologi, Syarat Immunogenitas, Unsur-unsur Imunitas

**I**munologi adalah studi mekanisme pertahanan tubuh terhadap infeksi (berdasarkan konsep lama). Sedangkan berdasarkan konsep baru Immunologi adalah studi mekanisme dan fungsi sistem kekebalan akibat pengenalan zat asing dan usaha netralisasi, eliminasi dan metabolisme zat asing tersebut atau produknya.

Mekanisme Reaksi Kekebalan meliputi reaksi imun spesifik yaitu reaksi Humoral & reaksi Seluler, reaksi Imun Non Spesifik yaitu reaksi Humoral & reaksi Seluler, interaksi dari kedua mekanisme tsb.

Fungsi Reaksi Kekebalan adalah Pertahanan Tubuh, Homeostatis Surveillance.

Zat Asing terdiri dari mikroorganisme (Bakteri, Virus, Fungus, Parasit), sel Tumor, sel / Jaringan Alogen, bahan / zat yang bersifat antigen (Alergen).

Beberapa istilah pada imunologi

Antigen : molekul yang bereaksi dg Antibodi/Imunosit

Tdk hrs membangkitkan Respons Imun.

Imunogen : molekul yg membangkitkan Respons Imun

Hapten : molekul berukuran kecil, tdk Immunogenik ,dpt bereaksi dg Antibodi yg timbul akibat stimulasi hapten bersangkutan yg terikat molekul carrier.

Epitop : bagian antigen yg bereaksi dg antibodi

Paratop : bagian antibodi yang bereaksi dg antigen

Antibodi : molekul yg disintesis oleh sel B/Plasma (Imunoglobulin, bentuk soluble dari reseptor antigen pd Sel B)

Syarat Immunogenitas

1. Asing
2. Makromolekul (Bm. 100.000)
3. Bisa Juga Molekul Kecil Asal Terikat Carrier
4. Hampir Setiap Rangkaian Asam Amino/Peptida, maka jika Konfigurasi Berubah (Denaturasi) Immunogenitas Hilang / Berubah
5. Complexity
6. Genetic
7. Cara Masuk Ag & Dosis Ag
8. Thymus Dependent / Independent

**Tabel 1.** Unsur-Unsur Imunitas Bawaan dan Didapat

	Bawaan (Nonspesifik)	Didapat (Spesifik)
Physicochemical Barrier	Kulit Mukosa	Sistem Imun Dlm Kulit / Mukosa Sekresi Mukosa
Circulating Molecules	Komplemen APR (Acute Phase Reactant)	Antibodi Dlm Darah
Cell	Fagosit, Monosit, PMN, Makrofag, NK	Limfosit
Soluble Mediators Active On Other Cells	Macrophage Derived Cytokine : IFN $\alpha$ , IFN $\beta$ , TNF	Lymphocyte Derived Cytokines : IFN $\gamma$

## Latihan

**Untuk dapat memperdalam pemahaman Anda mengenai materi di atas, kerjakanlah Latihan berikut!**

- 1) Jelaskan apa yang dimaksud dengan imunologi berdasarkan konsep lama & baru?
- 2) Jelaskan apa yang dimaksud dengan antigen, imunogen, hapten, epitop, paratop, antibodi?
- 3) Unsur imunitas dapat dibagi berdasarkan physicochemical barrier, Circulating Molecules, Cell, Soluble Mediators Active On Other Cells. Jelaskan perbedaan antara imunitas bawaan dan imunitas didapat berdasarkan empat pembagian tersebut !

## Ringkasan

Imunologi berdasarkan konsep baru adalah studi mekanisme dan fungsi sistem kekebalan akibat pengenalan zat asing dan usaha netralisasi, eliminasi dan metabolisme zat asing tersebut atau produknya.

Pada imunologi ada beberapa istilah yang harus diketahui yaitu antigen, imunogen, haptan, epitop, paratop dan antibodi. Pada imunitas dapat dibedakan antara unsur-unsur imunitas bawaan dan didapat.

## Tes 1

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

1. Bagian antigen yang berikatan dengan antibodi disebut apa ?
  - A. Epitop
  - B. Paratop
  - C. Ajuvan
  - D. Pembawa
  - E. Haptan
2. Unsur imunitas bawaan secara humoral adalah :
  - A. Antibodi
  - B. Interferon  $\gamma$
  - C. Sitokin
  - D. Limfokin
  - E. Komplemen
3. Unsur imunitas didapat secara humoral adalah :
  - A. Antibodi
  - B. Interferon  $\alpha$
  - C. Sitokin
  - D. C. Reaktif Protein
  - E. Komplemen
4. Unsur imunitas bawaan secara seluler adalah :
  - A. Makrofag
  - B. Limfosit B
  - C. Limfosit T
  - D. Eritrosit

E. Trombosit

5. Unsur imunitas didapat secara seluler adalah :
  - A. Limfosit
  - B. Monosit
  - C. Netrofil Segmen
  - D. Eosinofil
  - E. Basofil
  
6. Molekul yang di sintesis oleh sel plasma adalah
  - A. Antigen
  - B. Antibodi
  - C. Komplemen
  - D. Protein Fase Akut
  - E. Sitokin
  
7. Molekul berukuran kecil, tdk Immunogenik ,dpt bereaksi dg Antibodi yg timbul akibat stimulasi hapten bersangkutan yg terikat molekul carrier disebut :
  - A. Hapten
  - B. Immunogen
  - C. Antigen
  - D. Paratop
  - E. Epitop
  
8. Bagian antibodi yang berikatan dengan antigen disebut :
  - A. Epitop
  - B. Paratop
  - C. Ajuvan
  - D. Pembawa
  - E. Hapten
  
9. Molekul yang bereaksi dg antibodi / Immunosit adalah :
  - A. Hapten
  - B. Immunogen
  - C. Antigen
  - D. Paratop
  - E. Epitop

10. Molekul yang membangkitkan respon imun disebut :

- A. Hapten.
- B. Immunogen
- C. Antigen
- D. Paratop
- E. Epitop

Cocokkanlah jawaban Anda dengan Kunci Jawaban Tes 1 yang terdapat di bagian akhir Bab 1 ini.

# Topik 2

## Respon Imun Non Spesifik

Imunitas nonspesifik fisiologik berupa komponen normal tubuh, selalu ditemukan pada individu sehat dan siap mencegah mikroba masuk ttubuh dan dengan cepat menyingkirkannya. Jumlahnya dapat ditingkatkan oleh infeksi, misalnya jumlah sel darah putih meningkat selama fase akut pada banyak penyakit. Disebut nonspesifik karena tidak ditujukan terhadap mikroba tertentu, teh ada dan siap berfungsi sejak lahir. Mekanismenya tidak menunjukkan spesifisitas terhadap bahan asing dan mampu melindungi tubuh terhadap banyak patogen potensial. Sistm tersebut merupakan pertahanan terdepan dalam menghadapi serangan berbagai mikroba dan dapat memberikan respon langsung. Imunitas bawaan (non spesifik) meliputi kulit dan mukosa sebagai barrier, cara kimia & fisik, asam lemak (kulit, folikel rambut), lisozim (air mata, saliva), mukus, asam lambung gerak silia, batuk / bersin.

### A. Pertahanan fisik/mekanik.

Dalam sisitem pertahanan fisik atau mekanik, kulit, selaput lendir, silia saluran napas, batuk dan bersin, merupakan garis pertahanan terdepan terhadap infeksi. Keratinosit dan lapisan epidermis kulit sehat dan epitel mukosa yang utuh tidak dapat ditembus kebanyakan mikroba. Kulit yang rusak akibat luka bakar dan selaput lendir saluran napas yang rusak oleh asap rokok akan meningkatkan risiko infeksi. Tekanan oksigen yang tinggi di paru bagian atas membanu hidup kuman obligat aerob seperti tuberkulosis.

### B. Pertahanan biokimia.

Kebanyakan mikroba tidak dapat menembus kulit yang sehat, namun beberapa dapat masuk tubuh melalui kelenjar sebasue dan folikel rambut. pH asam keringat sekresi sebasues, berbagai asam lemak yang dilepas kulit mempunyai efek denaturasi terhadap protein membran sel sehingga dapat terjadi melalui kulit Lisozim dalam keringat, ludah air mata dan air susu ibu, melindungi tubuh terhadap berbagai kuman positif-Gram oleh karena dapat menghancurkan lapisan peptidoglikan dinding bakteri. Air susu juga mengandung laktooksidase dan asam neuranminik yang mempunyai sifat antibakterial terhadap E.koli dan stafilokok. Saliva mengandung enzim seperti laktooksidase yang merusak dinding sel mikroba dan menimbulkan kebocoran sitoplasma dan juga mengandung antibodi serta komplemen yang dapat berfungsi sebagai opsonin dalam lisis sel mikroba.

Asam hidroklorida dalam lambung enzim proteolitik, antibodi dan empedu dalam usus halus membantu menciptakan lingkungan yang dapat mencegah infeksi banyak mikroba. pH yang rendah dalam vagina spermin dalam semen dan jaringan lain dapat mencegah tumbuhnya bakteri Gram positif. Pembilasan oleh urin dapat menyingkirkan kuman patogen. Laktoferin dan transferin dalam serum mengikat besi yang merupakan metabolit esensial untuk hidup beberapa jenis mikroba seperti *Pseudomonas*.

Bahan yang disekresi mukosa saluran napas (enzim dan antibodi) dan telinga berperan dalam pertahanan tubuh secara biokimia. Mukus yang kental melindungi sel epitel mukosa dapat menangkap bakteri dan bahan lainnya yang selanjutnya dikeluarkan oleh gerakan silia. Polusi, asap rokok, alkohol dapat merusak mekanisme tersebut sehingga memudahkan terjadinya infeksi oportunistik

Udara yang kita hirup, kulit dan saluran cerna, mengandung banyak mikroba, biasanya berupa bakteri dan virus, kadang jamur atau parasit. Sekresi kulit yang bakterisidal, asam lambung, mukus dan silia di saluran napas membantu menurunkan jumlah mikroba yang masuk tubuh, sedang epitel yang sehat biasanya dapat mencegah mikroba masuk kedalam tubuh. Dalam darah dan sekresi tubuh, enzim lisosom memusnahkan banyak bakteri dengan merusak dinding selnya. IgA juga pertahanan permukaan mukosa, memusnahkan banyak bakteri dengan meruak dinding selnya. IgA juga pertahanan permukaan mukosa. Flora normal (biologis) terbentuk bila bakteri nonpatogenik menempati permukaan epitel. Flora tersebut dapat melindungi tubuh melalui kompetisi dengan patogen untuk makanan dan tempat menempel pada epitel serta produksi bahan antimikrobal. Penggunaan antibiotik dapat mematikan flora normal sehingga bakteri patogenik dapat menimbulkan penyakit.

Mekanisme imunitas nonspesifik terhadap bakteri pada tingkat sawar fisik seperti kulit atau permukaan mukosa adalah sebagai berikut :

1. Bakteri yang bersifat simbiotik atau komensal yang ditemukan di kulit pada daerah terbatas hanya menggunakan sedikit nutrien, sehingga kolonisasi mikroorganisme patogen sulit terjadi.
2. Kulit merupakan sawar fisik efektif dan pertumbuhan bakteri dihambat sehingga agen patogen yang menempel akan dihambat oleh pH rendah dari asam laktat yang terkandung dalam sebum yang dilepas kelenjar keringat
3. Sekret dipermukaan mukosa mengandung enzim destruktif seperti lisozim yang menghancurkan dinding sel bakteri
4. Saluran napas dilindungi oleh gerakan mukosiliar sehingga lapisan mukosa secara terus-menerus digerakkan menuju arah nasofaring
5. Bakteri ditangkap oleh mukus sehingga dapat disingkirkan dari saluran napas
6. Sekresi mukosa saluran napas dan saluran cerna mengandung peptida antimikrobal yang dapat memusnahkan mikroba patogen

7. & 8. Mikroba patogen yang berhasil menembus sawar fisik dan masuk ke jaringan dibawahnya dapat dimusnahkan dengan bantuan komplemen dan dicerna oleh fagosit

### C. Sistem imun non spesifik seluler

Fagosit Profesional adalah sel yang berperan pada proses fagositosis yaitu polimorfonuklear (PMN) dan monosit. Monosit yang berada dalam jaringan disebut makrofag. Makrofag mempunyai beberapa nama sesuai dengan jaringan yang ditempati. Makrofag pada kulit disebut langerhans, pada syaraf disebut dendrit, pada hati disebut kupfer, pada otak disebut makroglia, pada lung disebut alveolar makrofag.

Sel-sel ini berasal dari promonosit sumsum tulang yang, setelah diferensiasi menjadi monosit darah, akhirnya tinggal di jaringan sebagai makrofag dewasa dan membentuk system fagosit mononukleus. Mereka ditemukan di seluruh jaringan ikat dan di sekitar membran dasar di pembuluh darah kecil dan terbanyak di dapat di paru-paru (makrofag alveolar), hati (sel-sel Kupffer), dan di permukaan sinusoid-sinusoid limpa dan sinus-sinus meduler kelenjar getah bening pada posisi yang strategis untuk menyaring bahan-bahan asing. Contoh-contoh lainnya adalah sel mesangial dalam glomerulus ginjal, mikroglia otak dan osteoklas dalam tulang. Tidak seperti polimorf, mereka adalah sel-sel berumur panjang dengan retikulum endoplasmik berpermukaan kasar dan mitokondria. Walaupun sel polimorf menyusun pertahanan utama melawan bakteri piogenik (pembentukan pus). Namun secara garis besar dapat dikatakan bahwa makrofag berada di posisi yang terbaik melawan bakteri, virus dan protozoa yang mampu hidup di sel-sel tuan rumah.

Makrofag sebagai fagosit intra sel juga berfungsi sebagai Antigen Presenting Cell (APC) dan produksi sitokin. Sebagai APC jika antigennya eksogen maka peptida akan digendong oleh MHC kelas II yang selanjutnya direspon oleh limfosit T helper sedangkan jika antigennya endogen maka peptida akan digendong oleh MHC kelas I yang selanjutnya direspon oleh limfosit T sitotoksik.

Pengaturan intra sel dan proses antigen dapat dijelaskan melalui gambar di bawah ini :

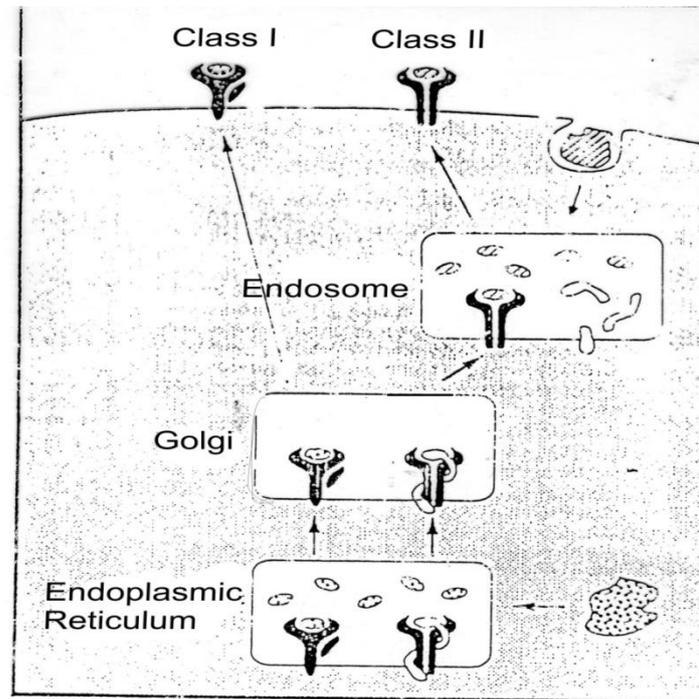


Fig. 1. Intracellular traffic and antigen processing. Different shadings have been used to represent MHC class I and class II molecules (black), invariant chain (white), exogenous antigen and fragments thereof (hatched), and endogenous antigen and fragments thereof (dotted). All elements are drawn schematically without any implication on their exact molecular structures.

Golgi

**Gambar 1.** Mekanisme Antigen Presenting Cell dari makrofag

Sel yang berperan sebagai *antigen presenting cell* antara lain makrofag. Pada proses tersebut melibatkan 3 organel sel yaitu retikulum endoplasma, golgi dan endosom. Pada retikulum endoplasma terdapat Major Histocompatibility Complex (MHC) kelas I & II.

Jika ada antigen endogen maka akan masuk ke dalam retikulum endoplasma dan akan dipecah menjadi peptida yang kemudian digendong oleh MHC kelas I kemudian masuk ke golgi dan dipresentasikan ke permukaan sel yang selanjutnya akan di respon oleh sel T sitotoksik. MHC kelas II dari retikulum endoplasma akan masuk ke golgi kemudian ke endosom. Di endosom MHC kelas II akan melepaskan variannya. Jika ada antigen eksogen maka akan masuk ke dalam endosom dan akan dipecah menjadi peptida yang kemudian digendong oleh MHC kelas II dan dipresentasikan ke permukaan sel yang selanjutnya akan di respon oleh T helper.

Sel Natural Killer ( sel NK )

Sel NK adalah limfosit bergranula besar dengan suatu morfologi khas. Mereka diperkirakan dapat mengenal struktur-struktur glikoprotein dengan berat molekul tinggi yang

muncul pada permukaan sel terinfeksi virus sehingga dapat dibedakan dari sel-sel normal. Pengenalan ini mungkin terjadi melalui reseptor serupa lektin (yaitu pengikatan karbohidrat) pada permukaan sel NK yang menghantar sel pembunuh dan sasaran saling berhadapan pada jarak yang dekat. Pengaktifan sel NK berlanjut dan membawa kepada polarisasi granula di antara inti dan sasaran dalam beberapa menit dan pelepasan kandungan sel ke ekstraseluler di antara dua sel.

Granula sel NK mempunyai perforin atau sitolisin yang memiliki beberapa struktur homolog dengan C9; mirip dengan protein, namun tanpa bantuan apapun selain dari  $Ca^{2+}$ , ia bisa menyusup atas kemampuan sendiri ke dalam membrane yang menjadi sasaran, jelas sekali dengan cara mengikat fosforilkolin melalui domain amfipatik yang dipunyainya. Kemudian terjadi polimerisasi membentuk pori tembus membrane (transmembran) dengan struktur seperti cincin, seperti kompleks komplemen penyerang membran. Sel NK membunuh dengan apoptosis dimana terjadi fragmentasi inti yang terjadi dengan cepat diakibatkan oleh suatu endonuklease yang bergantung dari kalsium yang bekerja terhadap DNA yang mudah diserang, terletak diantara nukleosom dan menghasilkan fragmen 'nucleosome ladder' 200 kb.

Granula-granula juga mengandung tumor necrosis factor  $\beta$  dan suatu golongan protease serin disebut granzyme, diantaranya fragmentin, dapat berfungsi sebagai faktor sitotoksik NK.

Cara pembunuhan ekstraseluler dari sel terinfeksi oleh sel natural killer (NK), yaitu begitu reseptor NK mengikat permukaan sel terinfeksi virus maka granula sel NK melepas perforin keluar dari sel kemudian memproses penggabungan molekul untuk membentuk saluran tembus membran yang memberikan kemudahan terjadinya lisis sel yang menjadi sasaran dengan cara memberi jalan masuknya fragmentin, tumor nekrosis factor dan factor sitotoksik potensial lainnya yang berasal dari granula. Fragmentasi nukleosom DNA menjadi 200 kb fragmen 'ladder' setelah kematian sel didapat dengan cara memecah  $\lambda$  DNA oleh Hind III sehingga terjadi kerusakan yang karakteristik dari DNA yang mengalami apoptosis.

Fungsi :

1. Killing ( Sel Tumor, Intra Cellular Pathogens Langsung )

Peran sel NK pada sel tumor dilakukan dengan cara mengeluarkan zat yang ada pada granulanya yang menyebabkan sel tumor menjadi apoptosis (kematian sel yang terprogram)

2. Produksi Toksin

Eosinofil

Parasit berukuran besar seperti halnya cacing tidak dapat secara fisik difagositosis dan pembunuhan di luar sel oleh eosinofil tampaknya berkembang secara bertahap dalam

mengatasi situasi ini. Eosinofil mempunyai granula-granula yang jelas yang mengambil warna yang jelas pada pengecatan dengan cat asam dan mempunyai suatu gambaran khas pada mikroskop elektron. Suatu protein dasar utama (major basic protein = MBP) ditemukan dalam inti granula sementara protein kation eosinofilik bersama-sama dengan suatu peroksidase dapat diidentifikasi dalam matriks granula. Enzim-enzim lainnya yang dipunyai adalah arylsulfatase B, fosfolipase dan histaminases D. Mereka mempunyai reseptor permukaan untuk C3b dan dalam keadaan aktif menghasilkan suatu letupan respiratori yang hebat bersamaan dengan terbentuknya metabolit oksigen aktif. Tidak cukup dengan ini, alam juga mempersenjatai sel dengan protein-protein granula yang mampu menghasilkan suatu penyumbat transmembran dalam membran sasaran seperti C9 dan perforin NK. Sebagian besar cacing dapat mengaktifkan jalur komplemen alternatif, namun walaupun tahan terhadap serangan C9, pembungkusan tubuh mereka oleh C3b memungkinkan melekatnya eosinofil melalui reseptor C3b. Apabila kontak tersebut berlanjut ke tahap pengaktifan, eosinofil akan mengawali serangan ekstraselulernya termasuk pelepasan MBP dan khususnya protein kation yang merusak membrane parasit.

#### D. Sistem imun non spesifik humoral

Soluble Mediators ( mediator yang larut dalam plasma )

##### 1. Protein fase akut (Acute Phase Reactant / Protein)

Selama fase akut infeksi, terjadi perubahan pada kadar beberapa protein dalam serum yang disebut APP. Yang akhir merupakan bahan antimikrobia dalam serum yang meningkat dengan cepat setelah sistem imun nonspesifik diaktifkan. Protein yang meningkat atau menurun selama fase akut disebut juga APRP yang berperan dalam pertahanan dini. APRP diinduksi oleh sinyal yang berasal dari tempat cedera atau infeksi melalui darah. Hati merupakan tempat sintesis APRP. Sitokin TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6 merupakan sitokin proinflamasi dan berperan dalam induksi APRP.

##### a. C-Reactive Protein

CRP yang merupakan salah satu PFA termasuk golongan protein yang kadarnya dalam darah meningkat pada infeksi akut sebagai respons imunitas nonspesifik. Sebagai opsonin, CRP mengikat berbagai mikroorganisme, protein C pneumokok yang membentuk kompleks dan mengaktifkan komplemen jalur klasik. Pengukuran CRP digunakan untuk menilai aktivitas penyakit inflamasi. CRP dapat meningkat 100x atau lebih dan berperan pada imunitas nonspesifik yang dengan bantuan Ca<sup>++</sup> dapat mengikat berbagaimolekul antara lain fosforilkolin yang ditemukan pada permukaan bakteri/jamur. Sintesis CRP yang meningkat

meningkatkan viskositas plasma dan laju endap darah. Adanya CRP yang tetap tinggi menunjukkan infeksi yang persisten.

#### b. Lektin

Lektin/kolektin merupakan molekul larut dalam plasma yang dapat mengikat manan/manosa dalam polisakarida, (karena disebut MBL) yang merupakan permukaan banyak bakteri seperti galur pneumokok dan banyak mikroba, tetapi tidak pada se vertebrata. Lektin berperan sebagai opsonin, mengaktifkan komplemen (lihat BAB 7: komplemen, aktivasi melalui jalur lektin). SAP mengikat lipopolisakarida dinding bakteri dan berfungsi sebagai reseptor untuk fagosit.

#### c. Protein fase akut lain

Protein fase akut yang lain adalah  $\alpha$ 1-antitripsin, amiloid serum A, haptoglobin, C9, faktor B dan fibrinogen yang juga berperan pada peningkatan laju endap darah akibat infeksi, namun jauh lebih lambat dibanding dengan CRP. Secara keseluruhan, respons fase akut memberikan efek yang menguntungkan melalui peningkatan resistensi pejamu, mengurangi cedera jaringan dan meningkatkan resolusi dan perbaikan cedera inflamasi.

#### d. Mediator asal fosfolipid

Metabolisme fosfolipid diperlukan untuk produksi PG dan LTR. Keduanya meningkatkan respons inflamasi melalui peningkatan permeabilitas vaskuler dan vasodilatasi (lihat pada bab Mekanisme efektor, Inflamasi dan Reaksi hipersensitivitas).

## 2. Komplemen ( Opsonisasi, Sitolisis )

Komplemen terdiri atas sejumlah besar protein yang bila diaktifkan akan memberikan proteksi terhadap infeksi dan berperan dalam respon inflamasi. Komplemen dengan spektrum aktivitas yang luas diproduksi oleh hepatosit dan monosit dan dapat diaktifkan secara langsung oleh mikroba atau produknya (jalur alternatif, klasik dan lektin). Komplemen berperan sebagai opsonin yang meningkatkan fagositosis, sebagai faktor kemotaktik dan juga menimbulkan destruksi/lisis bakteri dan parasit. Komplemen rusak pada pemanasan 56°C selama 30 menit.

Serum normal dapat memusnahkan dan menghancurkan beberapa bakteri Gram negatif atas kerja sama antara antibodi dan komplemen yang ditemukan dalam serum normal. Antibodi diinduksi oleh infeksi subklinis (antara lain flora normal) dan komponen dalam diit yang imunogenik. Antibodi dengan bantuan komplemen dapat menghancurkan membran lapisan LPS dinding sel. Bila lapisan LPS menjadi lemah, lisozim, mukopeptida dalam serum dapat menembus membran bakteri dan menghancurkan lapisan mukopeptida. MAC daris

istem komplemen dapat membentuk lubang-lubang kecil dalam sel membran bakteri sehingga bahan sitoplasma yang mengandung bahan-bahan vital keluar sel dan menimbulkan kematian mikroba

### 3. Sitokin

Sitokin berbagai molekul yg berfungsi memberi sinyal antara Limfosit, Fagosit & Sel-Sel lain untuk membangkitkan respon imun. Contoh sitokin antara lain adalah interferon, interleukin, Coloni Stimulating Factor (CSF), Tumor Necrosis Factor (TNF).

#### Sitokin IL-1, -6, TNF- $\alpha$

Selama terjadi infeksi, produk bakteri seperti LPS mengaktifkan makrofag dan sel lain untuk memproduksi dan melepas berbagai sitokin seperti IL-1 yang merupakan pirogen endogen, TNF- $\alpha$  dan IL-6. Pirogen adalah bahan yang menginduksi demam yang dipacu baik oleh faktor eksogen (endotoksin asal bakteri negatif-Gram) atau endogen seperti IL-1 yang diproduksi makrofag dan monosit. Ketiga sitokin tersebut disebut sitokin proinflamasi, merangsang hati untuk mensintesis dan melepas sejumlah protein plasma seperti protein fase akut antara lain CRP yang dapat meningkat 1000x, MBL dan SAP.

#### Reaksi Inflamasi

Inflamasi adalah reaksi lokal jaringan terhadap infeksi atau cedera dan melibatkan lebih banyak mediator dibanding respon imun didapat. Inflamasi dapat lokal, sistemik, akut dan kronis yang menimbulkan kelainan patologis. Sel-sel sistem imun non spesifik seperti neutrofil, sel mast, basofil, eosinofil dan makrofag jaringan berperan dalam inflamasi. Neutrofil merupakan sel utama pada inflamasi dini, bermigrasi ke jaringan dan puncaknya terjadi pada 6 jam pertama.

Pada reaksi inflamasi mekanisme melalui tahapan sebagai berikut :

1. Retraksi Endotel
2. Permeabilitas Pembuluh Darah meningkat
3. Blood supply meningkat
4. Mediator menembus dinding pembuluh darah
5. Chemotaxis PMN, Diapedesis, Infiltrasi
6. Fagositosis

## Latihan

**Untuk dapat memperdalam pemahaman Anda mengenai materi di atas, kerjakanlah Latihan berikut!**

- 1) Apa yang dimaksud dengan imunitas bawaan ?
- 2) Sebutkan sel / jaringan yang berhubungan dengan imunitas bawaan
- 3) Jelaskan nama lain dari makrofag !
- 4) Apa fungsi makrofag ?
- 5) Jelaskan mekanisme antigen presenting cell dari makrofag !
- 6) Apa fungsi sel NK ?
- 7) Apa yang dimaksud dengan inflamasi ?
- 8) Sel apa yang berfungsi sebagai fagosit pada proses inflamasi ?
- 9) Apa yang dimaksud dengan sitokin?
- 10) Jelaskan sitokin pada imunitas bawaan!

## Ringkasan

Imunitas bawaan (non spesifik) meliputi kulit dan mukosa sebagai barrier, cara kimia & fisik, asam lemak (kulit, folikel rambut), lisozim (air mata, saliva), mukus, asam lambung gerak silia, batuk / bersin.

Sel yang berperan pada imunitas bawaan meliputi makrofag dan sel NK, kedua sel tersebut mempunyai mekanisme yang berbeda pada eliminasi antigen. Sedangkan pada inflamasi sel yang berfungsi sebagai fagositosis dilakukan oleh sel netrofil segmen.

## Tes 2

**Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!**

1. Sel yang berfungsi sebagai *Antigen Presenting Cell* pada respon imun adalah ....
  - a. Eosinofil
  - b. Basofil
  - c. Sel NK
  - d. Makrofag
  - e. Netrofil batang
  
2. Pada mekanisme *Antigen Presenting Cell* organel yang mengandung *antigen binding site* adalah ....
  - a. Endosom
  - b. Golgi
  - c. Endoplasmik retikulum
  - d. Mitokondria

- e. Inti
3. Pada mekanisme *Antigen Presenting Cell* organel yang melepaskan varian dari MHC II adalah ....
- a. Endosom
  - b. Golgi
  - c. Endoplasmik retikulum
  - d. Mitokondria
  - e. Inti
4. Sel yang berfungsi sebagai pembunuh alamiah pada respon imun non spesifik adalah
- a. Eosinofil
  - b. Basofil
  - c. Sel NK
  - d. Makrofag
  - e. Netrofil batang
5. Pada reaksi inflamasi sel yang berfungsi sebagai fagosit pada respon imun non spesifik adalah ....
- a. Eosinofil
  - b. Basofil
  - c. Sel NK
  - d. Makrofag
  - e. Netrofil segmen
6. Pada reaksi inflamasi diawali dengan retraksi sel ....
- a. Makrofag
  - b. Endotel
  - c. Langerhans
  - d. Dendrit
  - e. Makroglia
7. Molekul yang di keluarkan oleh sel jika teraktifasi adalah ....
- a. *Acute Phase Reactan*
  - b. Antibodi
  - c. Sitokin
  - d. Komplemen

- e. Interferon  $\alpha$
8. Protein dalam bentuk tidak aktif, larut dalam plasma darah berfungsi pada respon imun non spesifik secara humoral adalah ....
- a. *Acute Phase Reactan*
  - b. Antibodi
  - c. Sitokin
  - d. Komplemen
  - e. Interferon  $\alpha$
9. Protein fase akut, terdapat dalam plasma jika ada inflamasi adalah ....
- a. *C. Reactive Protein*
  - b. Antibodi
  - c. Sitokin
  - d. Komplemen
  - e. Interferon  $\alpha$
10. Sel yang berfungsi sebagai killing pada sel tumor adalah ....
- a. Makrofag
  - b. Sel NK
  - c. Langerhans
  - d. Dendrit
  - e. Makroglia

Cocokkanlah jawaban Anda dengan Kunci Jawaban Tes 2 yang terdapat di bagian akhir Bab 1 ini.

# Topik 3

## Respon Imun Spesifik

**B**erbeda dengan sistem imun nonspesifik, sistem imun spesifik mempunyai kemampuan untuk mengenal benda yang dianggap asing bagi dirinya. Benda asing yang pertama kali terpajan dengan tubuh segera dikenal oleh sistem imun spesifik. Paparan tersebut menimbulkan sensitasi, sehingga antigen yang sama dan masuk tubuh untuk kedua kali akan dikenal lebih cepat dan kemudian dihancurkan. Oleh karena itu, sistem tersebut disebut spesifik. Untuk menghancurkan benda asing yang berbahaya bagi tubuh, sistem imun spesifik dapat bekerja tanpa bantuan sistem imun nonspesifik. Namun pada umumnya terjalin kerjasama yang baik antara sistem imun nonspesifik dan spesifik seperti antara komplemen-fagosit-antibodi dan antarmakrofag-sel T.

Sistem imun spesifik terdiri atas sistem humoral dan sistem selular. Pada imunitas humoral, sel B melepas antibodi untuk menyingkirkan mikroba ekstraselular. Pada imunitas selular, sel T mengaktifkan makrofag sebagai efektor untuk menghancurkan mikroba atau mengaktifkan sel CTC/Tc sebagai efektor yang menghancurkan sel terinfeksi.

### A. SISTEM IMUN SPESIFIK HUMORAL.

Pemeran utam dalam sistem imun spesifik humoral adalah limfosit B atau sel B. Humor berarti cairan tubuh. Sel B berasal dari sel asal multipoten di sumsum tulang. Pada unggas, sel yang disebut Bursa cell atau sel B akan berdiferensiasi menjadi sel B yang matang dalam alat yang disebut Bursa Fabricius yang terletak dekat kloaka. Pada manusia diferensiasi tersebut terjadi dalam sumsum tulang.

Sel B yang dirangsang oleh benda asing akan berproliferasi, berdiferensiasi dan berkembang menjadi sel plasma yang memproduksi antibodi. Antibodi yang dilepas dapat ditemukan dalam serum. Fungsi utama antibodi ialah pertahanan terhadap infeksi ekstraselular, virus dan bakteri serta menetralkan toksinnya.

### B. SISTEM IMUN SPESIFIK SELULER

Limfosit T atau sel T berperan pada sistem imun spesifik selular. Sel tersebut juga berasal dari sel asal yang sama seperti sel B. Pada orang dewasa sel T dibentuk didalam sumsum tulang, tetapi proliferasi dan diferensiasinya terjadi didalam kelenjar timus atau pengaruh berbagaifaktor asal timus. 90-95% dari semua sel T dala timustersebut mati dan hanya 5-10% menjadi matang dan selanjutnya meninggalkan timus untuk masuk kedalam sirkulasi.

Faktor timus yang disebut timosin dapat ditemukan dalam peredaran darah sebagai hormon asli dan dapat mempengaruhi diferensiasi sel T di perifer. Berbeda dengan sel B, sel T terdiri atas beberapa subsekt dengan fungsi yang berlainan yaitu sel CD4<sup>+</sup> (Th1, Th2), CD8<sup>+</sup> atau CTL atau Tc dan Ts atau sel Tr atau Th3. Fungsi utama sistem imun spesifik selular ialah pertahanan terhadap bakteri yang hidup intraselular, virus, jamur, parasit dan keganasan. Sel CD4<sup>+</sup> mengaktifkan sel Th1 yang selanjutnya mengaktifkan makrofag untuk menghancurkan mikroba. Sel CD8<sup>+</sup> memusnahkan sel terinfeksi. Perbedaan imunitas spesifik humoral dan selular.

## C. ORGAN DAN SISTEM LIMFATIK

### 1. Organ limfatik

Sejumlah organ limfoid dan jaringan yang morfologis dan fungsional berlainan berperan dalam respons imun. Organ limfoid tersebut dapat dibagi menjadi organ primer dan sekunder. Timus dan sumsum tulang adalah organ primer yang merupakan organ limfoid tempat pematangan limfosit

#### a. Organ limfoid primer

Organ limfoid primer atau sentral terdiri atas sumsum tulang dan timus. Sumsum tulang merupakan jaringan kompleks tempat hematopoiesis dan depot lemak. Lemak merupakan 50% atau lebih dari komposisi rongga sumsum tulang. Organ limfoid primer diperlukan untuk pematangan, diferensiasi dan proliferasi sel T dan B sehingga menjadi limfosit yang dapat mengenal antigen. Karena itu organ tersebut berisikan limfosit dalam berbagai fase diferensiasi. Sel hematopoietik yang diproduksi di sumsum tulang menembus dinding pembuluh darah dan masuk ke dalam sirkulasi dan didistribusikan ke berbagai bagian tubuh. Sumsum Tulang merupakan tempat pembentukan dan pematangan limfosit B dan tempat pembentukan Limfosit T sedangkan timus merupakan tempat pematangan limfosit T.

#### b. Organ limfoid sekunder

Organ Limfoid Sekunder terdiri dari limpa dan kelenjar limfe disebut juga organ sistemik karena memberi respon terhadap antigen yang ada dalam sirkulasi darah dan limfe yang berasal dari seluruh tubuh. Dan Sistem Mukosa (MALT) Jaringan limfoid yang terdapat pada permukaan yang melapisi saluran cerna (GALT) dan saluran napas (BALT). Mekanisme utama adalah melalui sIgA. Pada saluran cerna terdapat sebagai Peyer's Patches. Disamping sistem MALT, sejumlah besar limfosit terdapat dalam Jaringan Ikat Lamina Propria (Lamina Propria Lymphocyte, LPL) Dan Dalam Lapisan Epitel (Intra-Epitel)

Limpa dan kelenjar getah bening (KGB) merupakan organ limfoid sekunder yang terorganisasi tinggi. Yang akhir ditemukan sepanjang sistem pembuluh limfe. Jaringan limfoid

yang kurang terorganisasi secara kolektif disebut *mucosa-associated lymphoid tissue* (MALT) yang ditemukan di berbagai tempat di tubuh. MALT meliputi jaringan limfoid ekstranodul yang berhubungan dengan mukosa di berbagai lokasi, seperti *skin-associated lymphoid tissue* (SALT) di kulit, *bronchus-associated lymphoid tissue* (BALT) di bronkus, *gut-associated lymphoid tissue* (GALT) di saluran cerna yang meliputi Plak Peyer di usus kecil, apendiks, berbagai folikel limfoid dalam lamina propria usus, mukosa hidung, tonsil, mame, serviks uterus, membran mukosa saluran napas atas, bronkus dan saluran kemih. Organ limfoid sekunder merupakan tempat sel darah mempresentasikan antigen yang ditangkapnya di bagian lain tubuh ke sel T yang memacunya untuk proliferasi dan diferensiasi limfosit.

#### a. Limpa

Seperti halnya dengan kelenjar getah bening, limpa terdiri atas zona sel T atau senter germinal dan zona sel B atau zona folikel. Arteriol berakhir dalam sinusoid vaskuler yang mengandung sejumlah eritrosit, makrofag, sel dendritik, limfosit dan sel plasma. Antigen dibawa *antigen presenting cell* (APC) masuk ke dalam limpa melalui sinusoid vaskuler. Limpa merupakan tempat respon imun utama yang merupakan saringan terhadap antigen asal darah. Mikroba dalam darah dibersihkan makrofag dalam limpa. Limpa merupakan tempat utama fagosit memakan mikroba yang diikat antibodi (opsonisasi). Individu tanpa limpa akan menjadi rentan terhadap infeksi bakteri berkapsul seperti pneumokok dan meningokok, oleh karena mikroba tersebut biasanya hanya disingkirkan melalui opsonisasi dan fungsi fagositosis akan terganggu bila limpa tidak ada.

#### b. Kelenjar getah bening

Kelenjar getah bening (KGB) adalah agemat nodular jaringan limfoid yang terletak sepanjang jalur limfe di seluruh tubuh. Sel dendritik membawa antigen mikroba dari epitel dan mengantarkannya ke kelenjar getah bening yang akhirnya dikonsentrasikan di KGB. Dalam KGB ditemukan peningkatan limfosit berupa nodus tempat proliferasi limfosit sebagai respons terhadap antigen.

#### c. *Skin-Associated Lymphoid Tissue*

*Skin-Associated Lymphoid Tissue* (SALT) merupakan alat tubuh terluas yang berperan dalam sawar fisik terhadap lingkungan. Kulit juga berpartisipasi dalam pertahanan pejamu, dalam reaksi imun dan inflamasi lokal. Banyak antigen asing masuk tubuh melalui kulit dan banyak respon imun sudah diawali di kulit.

#### d. *Mucosa- Associated Lymphoid Tissue* – Sistem Imun Sekretori

Imunitas di tempat khusus seperti saluran napas dan saluran cerna disebut MALT yang merupakan imunitas lokal. MALT merupakan agregat jaringan limfoid dekat permukaan mukosa. Baik antibodi lokal (IgA sekretori) maupun sel limfosit berperan dalam respon imun spesifik. IgA sekretori yang diproduksi di saluran cerna dapat bereaksi dengan makanan atau alergen lain yang dicerna. Lapisan epitel mukosa yang terpajan langsung dengan antigen berperan sebagai sawar mekanis.

Jaringan-jaringan limfoid tersebut berperan dalam pertahanan imun lokal dan regional melalui kontak langsung dengan antigen asing. Oleh karena itu berbeda dari jaringan limfoid yang berhubungan dengan kelenjar limfoid, limpa dan timus.

MALT ditemukan di jaringan mukosa saluran napas bagian atas, saluran cerna, saluran urogenital dan kelenjar mammae berupa jaringan limfoid tanpa kapsul, mengandung sel limfosit dan APC yang mengawali respons imun terhadap antigen yang terhirup dan termakan. Epitel mukosa yang merupakan sawar antara lingkungan internal dan eksternal juga merupakan tempat masuknya mikroba.

#### e. Respon imun oral

Ludah tidak hanya membilas rongga mulut, tetapi juga mengandung berbagai molekul seperti lisozim dan IgA sekretori yang ikut melindungi rongga mulut. Sel PMN melindungi jaringan gusi dan peridontium. Di samping IgA, respons imun humoral yang lain juga berperan. Subyek dengan defisiensi imun sering disertai dengan peningkatan infeksi mukosa oleh mikroorganisme oportunistik seperti *Kandida albicans*. Sel Th1 dan Th2 berperan dalam respon imun terhadap bakteri patogen juga penting pada penyakit periodontal. Reaksi hipersensitivitas Tipe II, III dan IV dapat menimbulkan periodontitis progresif kronis. Vaksin diharapkan dapat dikembangkan di masa mendatang dalam pencegahan atau mengontrol karies gigi dan penyakit periodontal. Namun penyakit yang kompleks menyulitkan pembuatan vaksin.

Lapisan epitel mukosa merupakan sawar mekanis terhadap antigen asing dan mikroorganisme. Sistem imun khusus yang terletak di permukaan epitel kadang disebut CMIS. Sistem imun mukosa terdiri atas IgA sekretori yang diproduksi sel plasma di lamina propria dan kemudian diangkut melalui sel epitel dengan bantuan reseptor poliiimunoglobulin. Baik sel T $\alpha$  $\beta$  dan T $\gamma$  $\delta$  ditemukan di lapisan mukosa epitel sebagai limfosit intra epitel dan di lamina propria mukosa.

Respon imun terhadap antigen oral berbeda dari respon imun terhadap antigen yang diberikan parenteral. Toleransi oral dapat terjadi terhadap beberapa antigen protein yang dicerna, tetapi respon mukosa lokal dengan produksi kadar IgA tinggi dapat terjadi setelah pemberian vaksin terpilih seperti vaksin polio Sabin.

#### f. *Bronchial Associated Lymphoid Tissue*

Belum banyak hal yang sudah diketahui mengenai respon imun mukosa saluran napas dibanding saluran cerna, namun diduga bahwa respon imunnya adalah serupa. Struktur berupa cincin banyak ditemukan di berbagai tempat, berisikan nodul yang terletak di sekitar bronkus dan berhubungan dengan epitel seperti plak sel limfoid. Sel plasma ditemukan di bawah epitel. Sel-sel BALT memiliki kemampuan pergantian yang tinggi dan nampaknya tidak memproduksi IgG. Sel-sel BALT diduga bermigrasi dari daerah limfoid lain. BALT berperan dalam respons terhadap antigen kuman yang terhirup.

#### g. *Gut- Associated Lymphoid Tissue*

*Gut-Associated Lymphoid Tissue* (GALT) tersebar di mukosa saluran cerna. Saluran cerna orang dewasa mempunyai luas permukaan sekitar 400 m<sup>2</sup>. Permukaan yang luas tersebut selalu terpajan dengan berbagai mikroba dan makanan yang mungkin dapat menerangkan mengapa 2/3 seluruh sistem imun ada di saluran cerna. Secara fungsional, GALT terdiri atas dua komponen, yang terorganisasi dan yang difus.

#### h. *Microfold cell*

*Microfold cell* atau sel M adalah sel epitel saluran cerna yang pinositik aktif, berperan dalam mengantarkan kuman dan bahan makromolekul dari lumen intestinal ke plak Peyer. Sel tersebut bukanlah APC, ditemukan di lapisan epitel plak Peyer yang berperan dalam presentasi antigen. Sel tersebut memiliki permukaan relatif besar dengan lipatan-lipatan mikro yang menempel pada mikroorganisme dan permukaan makromolekular.

Penangkapan antigen melewati sawar usus terjadi di tempat-tempat yang dikenal sebagai daerah induktif oleh sel pengangkut khusus yang disebut sel M. Morfologi sel M unik karena adanya suatu kantong besar pada membran basolateral yang berisikan limfosit dan makrofag. Sel mengantarkan antigen dari lumen saluran cerna ke sel imun yang ditemukan dalam kantong tersebut secara terus menerus. Limfosit atau makrofag yang menangkap antigen meninggalkan sel M untuk seterusnya berpindah menuju folikel limfoid setempat.

#### i. Tonsil dan plak Peyer

##### Komponen Seluler

Sel-Sel Dalam Sistem Imun :

- > Limfosit : T, B, Nk
- > Fagosit : Monosit / Makrofag, Pmn
- > Asesor : Apc, Mastosit, Endotel

Dasar dari respon imun didapat / spesifik adalah antigen rekognisi. Antigen adalah inisiator & pemicu semua bentuk bespon imun spesifik. Inti respons imun adalah aktivasi klon limfosit yang mengenal antigen pemicu.

Sistem imun dibentuk untuk mengenal antigen, menghancurkannya dan menyikirkannya sumbernya.

Antigen Binding Molecules terdiri dari B-Cell Antigen Receptor (Ig), T-Cell Antigen Receptor & MHC Klas I & II

### Seluler

Limfosit T dengan sub set : T Helper ( Th1& Th2), T Supresor & T Sitotoksik

Fungsi membantu sel B untuk membentuk Antibodi

Fungsi Sitotoksik

Produksi Sitokin

### Humoral

Antibodi (Imunoglobulin)

Disintesis oleh Limfosit B/ Sel Plasma

Membran Ig merupakan reseptor Ag pd permukaan Sel B

Secreted/Circulating Ig merupakan bentuk soluble dari reseptor tsb

Fungsi : - Mengawali Aktivasi Komplemen Jalur Klasik

- Mengaktivasi Fagosit

- Multi Valen

Mempunyai struktur dasar yang sama, terdiri atas Fragmen Fab yang mengikat Ag, dan Fc yang berinteraksi dengan unsur-unsur lain dari sistem imun yang mempunyai reseptor.

### *Antibody Dependent Cell Cytotoxicity (ADCC)*

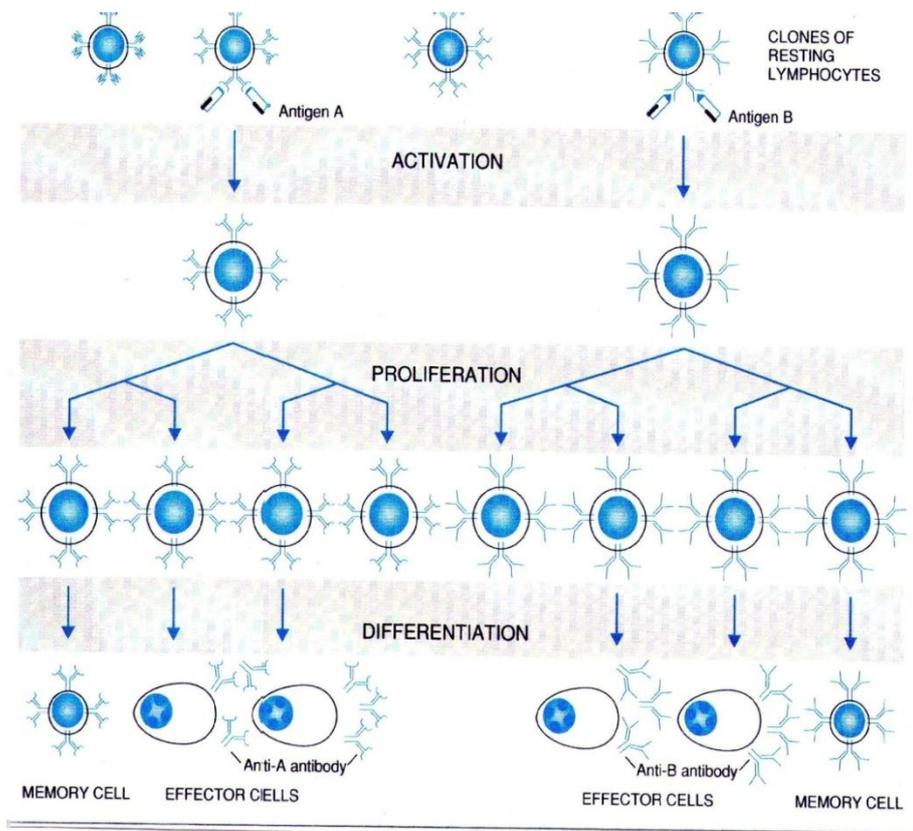
Sitotoksitas seluler baru dapat berlangsung bila dibantu oleh (ada interaksi dengan) antibodi.

### Hipotesis Seleksi Klon

Limfosit B mempunyai reseptor yang disebut B Cell antigen Receptor (BCR). Reseptor dari limfosit B akan berikatan dengan antigen yang cocok. Satu limfosit akan mengenali satu epitop. Setelah reseptor antigen berikatan dengan antigen maka akan terikat erat dan masuk

secara endositosis, kemudian sel akan teraktivasi yaitu proliferasi (memperbanyak diri) dan diferensiasi (berubah bentuk) menjadi sel plasma (sel efektor) dan sel memori.

Sel plasma akan membentuk antibodi berada di sitoplasma sel, kemudian disekresikan ke dalam plasma darah. Sel memori adalah sel dengan bentuk sama dengan sel asal hanya mempunyai ingatan sehingga jika bertemu dengan antigen yang sama akan berespon lebih cepat, kualitas lebih baik dan kadarnya akan lebih tinggi dan bertahan lebih lama di dalam plasma darah.



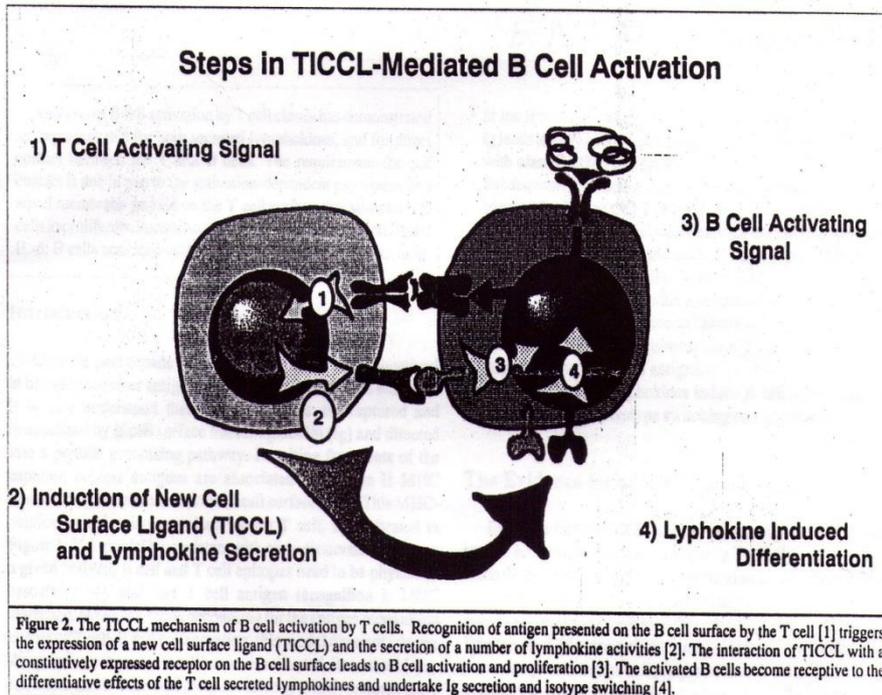
**Gambar :** Hipotesis Seleksi Klon

TICCL model

*T-cell Induce Cell Contact Ligand* (TICCL) adalah mekanisme sel T dalam membantu sel B membentuk antibodi.

Antigen akan ditangkap oleh slg kemudian masuk ke dalam sel, dipecah menjadi peptide dan digendong oleh MHC II kemudian di presentasikan ke permukaan sel dan di ikat oleh TCR dari limfosit T. Ikatan tersebut akan menyebabkan sel T teraktivasi yaitu membentuk molekul

permukaan baru yaitu TICCL dan sekresi limfokin. TICCL akan berikatan dengan CD40 dari Limfosit B menyebabkan Limfosit B teraktivasi yaitu berproliferasi dan dibawah pengaruh limfokin akan berdiferensiasi.



Gambar 2. Mekanisme TICCL model

## Mekanisme Respon Imun

Pengenalan → cocok → "Lock & Key"

Aktivasi → Ditangkap oleh slg dari Limfosit B

- Masuk secara Endositosis

↓

- Dipecah menjadi peptida

- Disajikan ke permukaan sel melalui MHC II

- Diikat TcR limfosit T

↓

Ikatan tersebut menyebabkan limfosit T teraktivasi membentuk

- TICCL

- Sekresi limfokin

↓

TICCL ikatan CD40 limfosit B → Proliferasi

dengan adanya limfokin → Diferensiasi

↓

Efektor

→ Sel Plasma yang mensekresi Imunoglobulin  
Sel Memori

## Latihan

Untuk dapat memperdalam pemahaman Anda mengenai materi di atas, kerjakanlah Latihan berikut!

- 1) Jelaskan tentang organ limfoid primer !
- 2) Jelaskan tentang organ limfoid sekunder !
- 3) Jelaskan tentang *Mucosa Associated Lymphoid Tissue* (MALT)
- 4) Jelaskan tentang TICCL model ?
- 5) Jelaskan tentang Hipotesis Seleksi Klon ?

## Ringkasan

Respon imun spesifik secara seluler diperantarai oleh sel limfosit T sedangkan respon imun spesifik secara humoral dilakukan oleh sel limfosit B. Tempat pembentukan dan pematangan limfosit adalah pada organ limfoid primer sedangkan sel-sel limfosit yang sudah matang akan masuk pada organ limfoid sekunder meliputi kelenjar limfe, limpa dan MALT. Hipotesis seleksi klon adalah suatu hipotesis yang menjelaskan bagaimana mekanisme respon imun spesifik yang meliputi 3 fase yaitu pengenalan, aktivasi dan efektor. Sedangkan TICCL model adalah suatu model yang menjelaskan bagaimana sel limfosit T helper membantu sel limfosit B berproliferasi dan berdiferensiasi menjadi sel plasma dan sel memori.

## Tes 3

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

- 1) Sel yang berperan pada respon imun spesifik adalah ....
  - a. Basofil
  - b. Eosinofil
  - c. Limfosit
  - d. Monosit

- e. Netrofil
- 2) Secara humoral respon imun spesifik tersebut dapat dilakukan oleh ....
- a. *Acute Phase Reactan*
  - b. Antibodi
  - c. Sitokin
  - d. Komplemen
  - e. Interferon
- 3) Inti dari respon imun adalah aktivasi klon limfosit. Berdasarkan hipotesis seleksi klon maka setiap klon akan berdiferensiasi menjadi ....
- a. Sel plasma
  - b. Sel memori
  - c. Sel plasma dan sel memori
  - d. Sel limfosit
  - e. Sel makrofag
- 4) Aktivasi sel limfosit dimulai dari terjadinya ikatan antara reseptor antigen pada sel B dengan antigen. Nama reseptor antigen pada sel B adalah ....
- a. TCR
  - b. BCR
  - c. MHC I
  - d. MHC II
  - e. Reseptor Gp II b IIIa
- 5) Bagaimana sifat antibodi yang dibentuk oleh sel B ?
- a. Sensitif
  - b. Spesifik
  - c. Monoklonal
  - d. Poliklonal
  - e. Terlarut dalam plasma
- 6) Ikatan yang mengaktifkan sel T pada mekanisme TICCL model adalah ....
- a. Antara TCR dengan peptida asing yang digendong MHC I
  - b. Antara TCR dengan peptida asing yang digendong MHC II
  - c. Antara BCR dengan antigen asing
  - d. Antara BCR dengan antigen asing

- e. Antara TICCL dengan CD 40 dari sel B
- 7) Bagaimana bentuk aktivasi sel T pada mekanisme TICCL model ?
- a. Membentuk TICCL
  - b. Sekresi limfokin
  - c. Membentuk TICCL dan sekresi limfokin
  - d. Proliferasi
  - e. Diferensiasi
- 8) Apa ikatan yang mengaktifkan sel B pada mekanisme TICCL model ?
- a. Antara TCR dengan peptida asing yang digendong MHC I
  - b. Antara TCR dengan peptida asing yang digendong MHC II
  - c. Antara BCR dengan antigen asing
  - d. Antara BCR dengan antigen asing
  - e. Antara TICCL dengan CD 40 dari sel B
- 9) Bagaimana bentuk aktivasi sel B pada mekanisme TICCL model ?
- a. Membentuk TICCL
  - b. Sekresi limfokin
  - c. Membentuk TICCL dan sekresi limfokin
  - d. Proliferasi
  - e. Proliferasi dan Diferensiasi
- 10) Syarat ikatan antara slg dengan antigen pada respon imun tersebut harus cocok seperti apa ?
- a. Afinitas lemah
  - b. Afinitas kuat
  - c. Lock & Key
  - d. Uni valen
  - e. Uni determinan
- 11) Antigen peptida yang digendong MHC I di presentasikan ke permukaan sel yang akan di respon oleh sel apa ?
- a. Limfosit B
  - b. Limfosit T helper
  - c. Limfosit T sitotoksik
  - d. Limfosit T supresor

e. *Natural Killer Cell*

12) Apa *Effektor cell* pada mekanisme respon imun tersebut di atas ?

- a. Sel memori
- b. Sel plasma
- c. Sel monosit
- d. Sel basofil
- e. Sel netrofil

# Kunci Jawaban Tes

## Test Formatif 1

1. A
2. E
3. A
4. A
5. A
6. B
7. A
8. B
9. C
10. B

## Test Formatif 2

1. D
2. C
3. A
4. C
5. E
6. B
7. C
8. D
9. A
10. B

## Test Formatif 3

1. C
2. B
3. C
4. B
5. B
6. B
7. C

- 8. E
- 9. E
- 10. C
- 11. C
- 12. B

# Glosarium

Antigen (Ag) : Suatu zat yang dapat bereaksi dengan antibodi.

Tidak semua antigen dapat memicu produksi antibodi; zat yang dapat memicu produksi antibodi disebut imunogen.

Antibodi (Ab) : Suatu protein yang dihasilkan sebagai akibat interaksi dengan suatu antigen.

Protein ini mampu bergabung dengan antigen yang menstimulasi produksinya.

Sel B (limfosit B) : Dalam artian sempit, suatu sel yang berasal dari bursa pada spesies burung dan, dengan menggunakan analogi tersebut, juga berlaku untuk sel yang berasal dari organ yang sama dengan bursa pada spesies bukan burung.

Sel B adalah prekursor sel plasma yang menghasilkan antibodi.

Imunitas yang diperantai sel (selular): Imunitas yang didominasi oleh limfosit dan makrofag.

Imunitas diperantai sel adalah istilah yang umum digunakan untuk hipersensitivitas tipe IV

Sel T sitotoksik : Sel-sel T yang dapat membunuh sel lain, misal, sel-sel yang terinfeksi patogen intraseluler

Endotoksin : Toksin bakteri yang dilepaskan dari sel-sel yang rusak.

Epitop : Tempat di dalam antigen yang dikenali oleh antibodi. Juga dikenal sebagai determinan antigenik.

Hapten: Suatu molekul yang tidak bersifat imunogenik dengan sendirinya tetapi dapat bereaksi dgn antibodi spesifik.

Histokompatibilitas : Memiliki antigen transplantasi yang sama.

Imunitas humoral : Berikatan dengan imunitas dalam cairan tubuh dan digunakan untuk menunjukkan imunitas yang diperantarai oleh antibodi dan komplemen.

Respon imun : Terjadinya resistensi (imunitas) terhadap zat asing misalnya agen infeksius. Respons imun dapat diperantarai antibodi (humoral), diperantarai sel (selular), atau keduanya.

Imunitas : (1). Imunitas bawaan: Resistansi nonspesifik yang tidak didapat melalui kontak dengan suatu antigen. Imunitas tersebut melalui sawar kulit dan selaput lendir terhadap agen-agen infeksius dan berbagai faktor imunologi nonspesifik, dan bervariasi sesuai dengan usia dan aktivitas hormonal dan metabolik.

(2). Imunitas adaptif: Proteksi yang diperoleh dengan memasukkan antigen secara sengaja ke dalam suatu pejamu yang responsif. Imunitas aktif bersifat spesifik dan diperantarai oleh antibodi atau sel limfoid atau keduanya.

Makrofag : Sel mononuklear fagositik yang berasal dari monosit sumsum tulang dan ditemukan dalam jaringan serta tempat peradangan. Makrofag berperan sebagai pembantu dalam imunitas, terutama sebagai sel penyaji antigen (antigen presenting cell, APC)

Kompleks histokompatibilitas utama (major histocompatibility complex, MHC) : Kelompok gen yang letaknya berdekatan, misalnya kromosom 6 pada manusia, yang mengkode antigen histokompatibilitas (molekul MHC)

Monosit : Sel darah fagositik dalam sirkulasi yang akan menjadi makrofag jaringan

Sel pembunuh alami (natural killer, NK) : Sel-sel limfoid besar dengan reseptor spesifik antigen yang tidak diketahui. Sel-sel tersebut mampu mengenali dan membunuh sel abnormal tertentu, misalnya, sel tumor.

Sel plasma : Hasil akhir diferensiasi sel B yang menyekresikan antibodi.

Sel polimorfonuklear (PMN) : Juga dikenal sebagai neutrofil atau granulosit, PMN berasal dari sel hematopoietik dalam sumsum tulang dan ditandai dengan nukleus berlobus banyak. PMN bermigrasi dari sirkulasi ke tempat peradangan melalui kemotaksis dan bersifat fagositik untuk bakteri dan partikel lain.

Inflamasi : Akumulasi lokal cairan dan sel-sel setelah cidera atau infeksi.

Interferon : Salah satu kelompok heterogen protein-protein dengan berat molekul rendah yang dibentuk oleh sel pejamu yang terinfeksi untuk melindungi sel-sel yang tidak terinfeksi dari infeksi virus. Interferon, yang merupakan suatu sitokin, juga mempunyai fungsi imuno modulasi.

Leukosit : Istilah umum untuk sel putih.

Limfosit : Sel mononuklear berdiameter 7-12  $\mu\text{m}$  yang mengandung nukleus dengan kromatin padat dan lingkaran kecil sitoplasma. Limfosit meliputi sel T dan B, yang mempunyai peran primer pada imunitas.

Kemokin : Protein dengan berat molekul rendah yang merangsang gerakan leukosit

Kemotaksis : Suatu proses yang menarik sel fagositik ke sekitar patogen penginfeksi.

# Daftar Pustaka

Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. *Cellular and Molecular Immunology*. 4 ed. Philadelphia. WB Saunders 2000.

Kresno SB. *Imunologi : Diagnosis dan Prosedur Laboratorium*. Ed 3. Jakarta. FKUI 2000.

Baratawidjaja KG, Iris R. *Imunologi Dasar*. Edisi II. Jakarta. FKUI 2014

# Bab 2

## ANTIGEN, ANTIBODI, KOMPLEMEN, PROSES TOLERANSI IMUNOGENIK

*Nina Marlina, S.Pd, M.Biomedik*

### Pendahuluan

**A**ntibodi merupakan respon imun spesifik humoral sedangkan komplemen merupakan respon imun non spesifik humoral. Pada prosesnya fungsi kekebalan dijalankan oleh sistem imun non spesifik maupun spesifik melalui interaksi dari kedua mekanisme tersebut sehingga antigen dapat dieliminasi

Pada Bab II ini kita akan mempelajari mengenai ruang lingkup antigen, antibodi dan komplemen. Pelajarilah dengan seksama Bab 2 ini. Setelah mempelajari bab ini, mahasiswa akan mampu :

1. Menjelaskan antigen.
2. Menjelaskan macam dan fungsi antibodi.
3. Menjelaskan mekanisme aktivasi komplemen.
4. Menjelaskan proses toleransi imunogenik.

Manfaat mempelajari bab ini adalah membantu Anda untuk dapat memahami lebih dalam tentang antigen, macam dan fungsi antibodi, mekanisme aktivasi komplemen, proses toleransi imunogenik

Agar memudahkan Anda mempelajari bab ini, maka materi yang akan dibahas terbagi menjadi 3 topik, yaitu:

1. Antigen dan Antibodi.
2. Komplemen.
3. Proses Toleransi Imunogenik.

Selanjutnya agar Anda berhasil dalam mempelajari materi yang tersaji dalam Bab 2 ini, perhatikan beberapa saran sebagai berikut :

- a. Pelajari setiap topik materi secara bertahap
- b. Usahakan mengerjakan setiap latihan dengan tertib dan sungguh-sungguh.

Kerjakan tes yang disediakan dan diskusikan bagian-bagian yang sulit Anda pahami dengan teman sejawat atau tutor, atau melalui pencarian di internet.

# Topik 1

## Antigen dan Antibodi

### A. ANTIGEN.

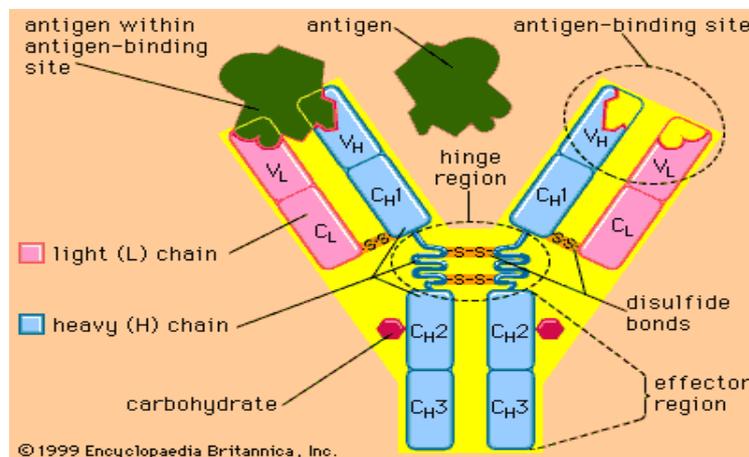
Antigen adalah molekul yang bereaksi dengan antibodi / imunosit. Tidak harus membangkitkan respon imun. Imunogen adalah molekul yang membangkitkan respon imun. Hapten adalah molekul berukuran kecil, tidak imunogenik, dapat bereaksi dengan antibodi yang timbul akibat stimulasi hapten bersangkutan yang terikat molekul carrier. Sedangkan epitop adalah bagian antigen yang bereaksi dengan antibodi.

### B. ANTIBODI

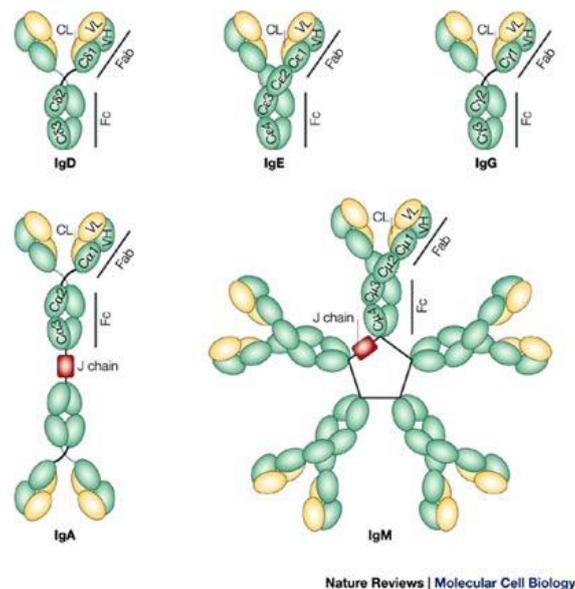
Antibodi (imunoglobulin) adalah molekul yang disintesis oleh sel B / sel plasma (bentuk soluble dari reseptor antigen pada sel B). Membran imunoglobulin merupakan reseptor antigen pada permukaan sel B. Secara fungsional antibodi adalah molekul yang dapat bereaksi dengan antigen. Sedangkan paratop adalah bagian antibodi yang bereaksi dengan antigen.

Antibodi mempunyai struktur dasar yang sama, terdiri atas fragmen Fab (yang mengikat antigen) dan Fc yang berinteraksi dengan unsur-unsur lain dari sistem imun yang mempunyai reseptor Fc. Berbentuk huruf Y, tersusun atas 2 rantai berat (heavy chain) dan 2 rantai ringan (light chain) yang dihubungkan dengan jembatan disulfida (S-S). Heavy chain mempunyai berat molekul 50.000 dalton sedangkan light chain mempunyai berat molekul 25.000 dalton. Ada 5 jenis antibodi yaitu Ig M; Ig G; Ig A; Ig D dan Ig E.

Antibodi dapat di treatment oleh enzim papain dan pepsin. Jika antibodi di treatment oleh enzim papain maka akan pecah menjadi 2 Fab dan Fc, sedangkan jika di treatment oleh enzim pepsin maka akan pecah menjadi  $F(ab')_2$  dan fragmen minor.



Gambar 3. Struktur antibodi



Gambar : jenis antibodi

IgM :

- Antibodi yang pertama terbentuk setelah bertemu antigen.
- 4-5 hari setelah terpapar
- Jumlah banyak
- Berkurang dan lenyap :10-11 hari setelah terpapar

IgG :

- Merupakan tulang punggung sistim kebal humoral
- Timbul setelah IgM
- Lebih kecil daripada IgM
- Diproduksi lebih besar daripada IgM
- Dibentuk 5 hari setelah terpapar
- Mencapai puncak :2-3 minggu setelah terpapar, kemudian turun secara perlahan
- Serum diambil 2-3 minggu setelah vaksinasi / setelah proses penyembuhan karena infeksi alam,guna mengetahui titer antibodi
- Pengambilan serum 1-2 hari sesudah vaksinasi,titer antibodi masih terlalu rendah

IgA :

- Timbul bersamaan dengan IgG

- 2 bentuk
- Bentuk dalam serum, 1 tempat pengikat antigen
- Bentuk sekretori, terdapat di mata, saluran pernapasan, saluran pencernaan. Terdiri dari 2-3 tempat pengikat antigen
- Dihasilkan oleh sel mukosa
- Hanya sedikit memberi perlindungan terhadap antigen yang masuk secara intra muskuler atau intravena
- Perlindungan yang besar terhadap antigen yang masuk melalui saluran pencernaan dan pernapasan.

Ig D :

- Fungsi utamanya adalah reseptor antigen atau dengan kata lain sebagai pengenalan antigen oleh sel B.

Ig E :

- Berperan dalam peristiwa alergi. Juga membantu dalam melawan infeksi cacing.

### C. Interaksi Antigen Antibodi.

Antibodi merupakan respon humoral pada imunitas bawaan sebagai proteksi terhadap infeksi organisme dan produk toksik. Interaksi antara antigen antibodi adalah penting dalam respon imun spesifik oleh karena itu, interaksi antigen antibodi invitro digunakan secara luas untuk diagnostik yaitu untuk deteksi identifikasi antigen atau antibodi.

Reaksi antigen antibodi dalam serum secara invitro disebut serologi. Sebagai contoh penggunaan serologi adalah untuk identifikasi dan klasifikasi antigen pada serotyping pada variasi mikroorganisme menggunakan antisera spesifik.

Interaksi antigen antibodi menghasilkan variasi presipitasi (jika antigen soluble); aglutinasi (jika antigen partikulat) dan aktivasi komplemen. Presipitasi, aglutinasi maupun aktivasi komplemen tidak terjadi jika antibodi (dua atau lebih combining site) bereaksi dengan hapten (unideterminan, univalen) atau interaksi antara fragmen univalen pada antibodi seperti Fab dengan antigen walaupun multivalen.

### I. Interaksi Antigen-Antibodi Primer

Interaksi primer antara antigen dengan antibodi bukan ikatan kovalen tetapi kekuatan van der Waals, kekuatan elektrostatis dan kekuatan hidrofobik. Diperlukan untuk menutup rapat antara epitop dan antibodi yang kadang-kadang berbeda antara kunci dengan gembok. Karena energi rendah pada interaksi antigen antibodi maka, kompleks antigen antibodi dapat

dipecah oleh tinggi atau rendah dari pH, tinggi konsentrasi garam atau oleh ion chaotropic seperti sianat, dimana interfere ikatan hidrogen pada molekul air.

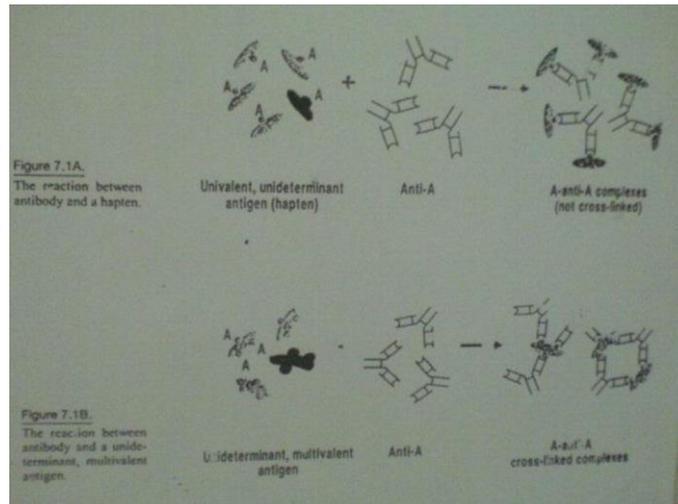
Afinitas adalah konstanta hubungan intrinsik terhadap karakteristik ikatan antara antibodi dengan epitop. Aviditas adalah semua energi ikatan antara antibodi dengan multivalen antigen. Secara umum antibodi Ig M aviditas lebih besar daripada antibodi Ig G, walaupun afinitasnya sama.

Interaksi antigen-antibodi primer adalah permulaan reaksi dan merupakan pengikatan antigen dengan antibodi tingkat molekular. Biasanya reaksi ini tidak terlihat dengan mata belaka tetapi memerlukan suatu indikator, misalnya dengan melabel antigen atau antibodi dengan berbagai zat seperti radioisotop, enzim atau zat warna fluoresin dan lain-lain. Sesuai dengan label yang dipakai, maka teknik penetapan interaksi antigen-antibodi dengan label radioisotop disebut teknik RIA, dan teknik yang menggunakan label enzim disebut ELISA, sedangkan teknik yang menggunakan indikator fluoresin disebut teknik imunofluoresensi. Teknik-teknik itu bermanfaat untuk penetapan antigen atau antibodi yang kadarnya rendah.

## II. Interaksi Antigen-Antibodi Sekunder

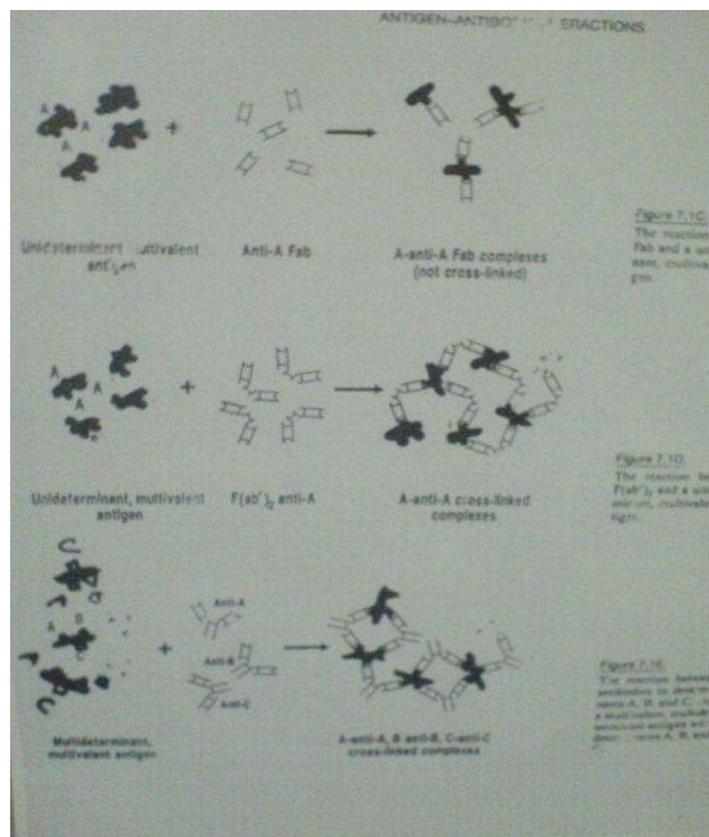
Interaksi antigen-antibodi sekunder dapat mengakibatkan presipitasi atau aglutinasi. Reaksi antigen-antibodi dapat terjadi langsung, tetapi kadang-kadang reaksi baru terjadi apabila ada komplemen. Apabila antigen yang ada dalam larutan direaksikan dengan antibodi spesifik, akan terbentuk kompleks antigen-antibodi yang besar sehingga kompleks mengendap dan terjadi presipitasi. Bila antigen itu terikat pada suatu partikel, misalnya partikel lateks, kuman, eritrosit maupun partikel lain, maka interaksi antigen-antibodi tersebut menyebabkan terjadinya gumpalan atau aglutinasi. Interaksi antigen-antibodi sekunder merupakan dasar berbagai jenis teknik uji in vitro, misalnya teknik imunodifusi, aglutinasi lateks, hemaglutinasi, uji fiksasi komplemen, turbidimetri, nefelometri dan lain-lain.

Reaksi aglutinasi adalah reaksi antara antibodi dengan antigen multivalen (partikulat) sehingga menghasilkan ikatan silang pada variasi partikel antigen oleh antibodi. Titer adalah pengenceran serum tertinggi yang masih menyebabkan aglutinasi. Pro zone effect adalah serum dengan konsentrasi antibodi tinggi dimana tidak terjadi aglutinasi (antibodi ekse = kelebihan antibodi). Post zone effect adalah suatu keadaan dimana terjadi kelebihan antigen sehingga tidak terjadi aglutinasi (antigen ekse). Zona equivalence adalah suatu daerah dimana terjadi keseimbangan antara antigen-antibodi sehingga terjadi aglutinasi.



Gambar 4. Ikatan Antigen Antibodi

Pada gambar 7.1A dijelaskan bahwa jika antigen univalen, undeterminan berikatan dengan antibodi spesifik maka akan terjadi ikatan tetapi tidak terjadi ikatan silang. Pada gambar 7.1B dijelaskan bahwa jika antigen multivalen, undeterminan berikatan dengan antibodi spesifik maka akan terjadi kompleks ikatan silang.



Gambar 5. Ikatan Antigen Antibodi

Pada gambar 7.1C dijelaskan bahwa jika antigen multivalen, unideterminan berikatan dengan antibodi spesifik pada bagian F ab maka akan terjadi ikatan tetapi tidak terjadi ikatan silang. Pada gambar 7.1D dijelaskan bahwa jika antigen multivalen, unideterminan berikatan dengan antibodi spesifik pada bagian F (ab')<sub>2</sub> maka akan terjadi kompleks ikatan silang. Pada gambar 7.1E dijelaskan bahwa jika antigen multivalen, multideterminan berikatan dengan antibodi spesifik maka akan terjadi kompleks ikatan silang.

## Latihan

**Untuk dapat memperdalam pemahaman Anda mengenai materi di atas, kerjakanlah Latihan berikut!**

- 1) Jelaskan apa yang dimaksud dengan antigen ?
- 2) Jelaskan apa yang dimaksud dengan imunogen ?
- 3) Jelaskan apa yang dimaksud dengan haptan ?
- 4) Jelaskan apa yang dimaksud dengan epitop ?
- 5) Jelaskan apa yang dimaksud dengan paratop ?
- 6) Jelaskan apa yang dimaksud dengan antibodi ?
- 7) Jelaskan ikatan antigen antibodi ?

## Ringkasan

Antigen adalah molekul yang bereaksi dengan antibodi / imunosit. Tidak harus membangkitkan respon imun. Antibodi (imunoglobulin) adalah molekul yang disintesis oleh sel B / sel plasma (bentuk soluble dari reseptor antigen pada sel B). Membran imunoglobulin

merupakan reseptor antigen pada permukaan sel B. Ikatan antigen dan antibodi ditentukan oleh valensi dari antigen yang harus multivalen dan struktur antibodi yaitu harus utuh atau dalam bentuk  $F(ab')_2$  sehingga akan membentuk kompleks ikatan silang.

## Tes 1

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

1. Bagian antigen yang berikatan dengan antibodi disebut apa ?
  - A. Epitop
  - B. Paratop
  - C. Ajuvan
  - D. Pembawa
  - E. Hapten
  
2. Unsur imunitas bawaan secara humoral adalah :
  - A. Antibodi
  - B. Interferon  $\gamma$
  - C. Sitokin
  - D. Limfokin
  - E. Komplemen
  
3. Unsur imunitas didapat secara humoral adalah :
  - A. Antibodi
  - B. Interferon  $\alpha$
  - C. Sitokin
  - D. C. Reaktif Protein
  - E. Komplemen
  
4. Unsur imunitas bawaan secara seluler adalah :
  - A. Makrofag
  - B. Limfosit B
  - C. Limfosit T
  - D. Eritrosit
  - E. Trombosit
  
10. Unsur imunitas didapat secara seluler adalah :

- A. Limfosit
- B. Monosit
- C. Netrofil Segmen
- D. Eosinofil
- E. Basofil

11. Molekul yang di sintesis oleh sel plasma adalah

- A. Antigen
- B. Antibodi
- C. Komplemen
- D. Protein Fase Akut
- E. Sitokin

12. Molekul berukuran kecil, tdk Immunogenik ,dpt bereaksi dg Antibodi yg timbul akibat stimulasi hapten bersangkutan yg terikat molekul carrier disebut :

- A. Hapten
- B. Immunogen
- C. Antigen
- D. Paratop
- E. Epitop

13. Bagian antibodi yang berikatan dengan antigen disebut :

- A. Epitop
- B. Paratop
- C. Ajuvan
- D. Pembawa
- E. Hapten

14. Molekul yang bereaksi dg antibodi / Imunosit adalah :

- A. Hapten
- B. Immunogen
- C. Antigen
- D. Paratop
- E. Epitop

10. Molekul yang membangkitkan respon imun disebut :

- A. Hapten.

- B. Imunogen
- C. Antigen
- D. Paratop
- E. Epitop

Cocokkanlah jawaban Anda dengan Kunci Jawaban Tes 1 yang terdapat di bagian akhir Bab 2 ini.

## Topik 2

# Sistem Komplemen

Sistem komplemen merupakan satu kumpulan berbagai jenis protein konsentrasi rendah dalam serum yang secara kolektif merupakan salah satu mekanisme efektor respons imun non spesifik. Tiga mekanisme sistem komplemen berada dalam plasma sebagai pro-enzim yang inaktif yaitu  $C_1$ ,  $C_4$  dan  $C_3$ . Setiap saat dapat dibuat aktif melalui suatu reaksi permulaan sebagai pencetus rangkaian reaksi.

Tiga tahap reaksi sistem komplemen ( $C_3$  memegang peran utama)

### 1. Fase Pengenalan

Pada fase ini terjadi interaksi antara komponen  $C_1$  dengan reseptor pada Fc antibody. Antibodi yang bebas (tidak berikatan dengan antigen sesuai), reseptor pada Fc tidak dapat mengikat komplemen. Segera setelah berikatan dengan antigen yang sesuai, maka reseptor pada Fc antibody menjadi aktif dan dapat mengikat  $C_1$  yang terdiri dari 3 sub fraksi  $C_{1q}$ ,  $C_{1r}$  dan  $C_{1s}$ . Ketiga sub fraksi ini dipersatukan dan di stabilisis menjadi satu kesatuan oleh ion kalsium.

Cara kerja komponen C1 adalah : sub fraksi C1q merupakan protein yang akan mengenali dan berikatan pada reseptor dari Fc yang ditujukan terhadap C1q apabila, antibodi telah berikatan dengan antigen yang sesuai membentuk antigen-antibodi kompleks. Ikatan C1q dengan reseptor pada Fc menyebabkan C1r bekerja aktif sebagai enzim. Enzim ini menyebabkan C1s Aktif.

## 2. Fase Pengaktifan / Aktivasi.

C1s bereaksi dengan C4 dan C2 membentuk C142. Kompleks C142 ini bersifat aktif sebagai enzim disebut C3 konvertase, yang memecah C3 menjadi 2 sub unit yaitu sub unit kecil C3a yang dilepas ke dalam cairan tubuh dan sub unit besar C3b yang bekerja sebagai enzim terhadap C5 + C6 + C7 menghasilkan kompleks tri molekul C567 Aktif.

## 3. Fase Efektor

C567 yang bekerja sebagai enzim mengaktifkan faktor titik dari C8 dan C9 sehingga membentuk C89 yang secara aktif melisiskan membran sel.

C3b juga berfungsi sebagai opsonin pada ikatan antigen antibodi yang sesuai sehingga, memungkinkan makrofag atau sel NK untuk mengikat opsonin tersebut sehingga antigen akan dihancurkan atau difagositosis, hal ini disebabkan karena makrofag atau sel NK mempunyai reseptor terhadap C3b.

## Jalur Alternatif/Jalur Pintas

Pada jalur alternative tidak membutuhkan kompleks antigen-antibodi ataupun fragmen Fc dari antibodi sehingga tidak membutuhkan adanya reaksi komponen C1 + C4 + C2 Untuk menghasilkan C3 konvertase.

Rangkaian reaksi jalur alternatif dimulai Jika terjadi agregasi dari imunoglobulin atau fragmen F (Ab')<sub>2</sub>, ataupun berbagai jenis polisakarida berasal dari kuman yang akan mengubah C3 Proaktivator menjadi C3 aktivator (C3 konvertase). C3 konvertase akan memecah C3 menjadi C3a dan C3b yang selanjutnya sama seperti pada jalur klasik.

# Latihan

**Untuk dapat memperdalam pemahaman Anda mengenai materi di atas, kerjakanlah Latihan berikut!**

- 1) Apa yang dimaksud dengan komplemen ?

- 2) Bagaimana mekanisme sistem komplemen jalur klasik ?
- 3) Apa perbedaan mekanisme sistem komplemen jalur klasik dengan jalur alternative !
- 4) Apa fungsi makrofag pada aktivasi sistem komplemen ?
- 5) Apa fungsi C3b pada aktivasi sistem komplemen ?
- 6) Apa fungsi C89 aktif pada aktivasi sistem komplemen ?

## Ringkasan

Sistem komplemen merupakan satu kumpulan berbagai jenis protein konsentrasi rendah dalam serum yang secara kolektif merupakan salah satu mekanisme efektor respons imun non spesifik. Komplemen dapat diaktifkan melalui jalur klasik, alternatif dan lektin

## Tes 2

**Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!**

1. Pada jalur klasik apa yang memulai mekanisme aktivasi komplemen ?
  - A. Antigen
  - B. Antibodi
  - C. Ikatan antigen antibodi yang sesuai
  - D. Komplemen
  - E. *Acute Phase Reactan*
2. Reseptor komplemen pada bagian Fc dari antibodi akan mengikat apa ?
  - A. C1q
  - B. C1r
  - C. C1s
  - D. C3b
  - E. C89 aktif
3. Apa yang bertindak sebagai opsonin pada aktivasi komplemen ?
  - A. C1q
  - B. C1r
  - C. C1s
  - D. C3b
  - E. C89 aktif
4. Apa yang melisis antigen pada aktivasi komplemen ?
  - A. C1q
  - B. C1r

- C. C1s
  - D. C3b
  - E. C89 aktif
5. Sel apa yang melakukan fagositosis pada aktivasi komplemen ?
- A. Makrofag
  - B. Netrofil
  - C. Basofil
  - D. Eosinofil
  - E. Limfosit
6. C89 aktif akan melisiskan antigen dengan cara apa ?
- A. Membentuk membran attact kompleks
  - B. Mengikat antigen
  - C. Mengikat antibodi
  - D. Menstimulasi makrofag
  - F. Menstimulasi netrofil
7. Pada jalur alternatif, aktivasi komplemen dimulai dari apa ?
- A. Aktivasi C3 konvertase
  - B. Aktivasi reseptor komplemen
  - C. Ikatan antigen antibody yang sesuai
  - D. Antibodi bebas
  - E. Agregasi F (ab')<sub>2</sub>

Cocokkanlah jawaban Anda dengan Kunci Jawaban Tes 2 yang terdapat di bagian akhir Bab 2 ini.

## Topik 3

# Proses Toleransi Immunogenik

**D**asar respon imun adalah respon imun non spesifik dan spesifik. Pada respon imun spesifik melibatkan sel limfosit B dan T. Sel limfosit B dan T yang mature (dewasa) dapat membedakan antigen “self” dan “non self”

Organ yang berperan dalam pematangan limfosit adalah :

Organ limfoid primer : sumsum tulang & timus.

Organ limfoid sekunder (perifer): limpa, kelenjar limfe dan *Mucosa Associated Limfoid Tissue* (MALT).

Perkembangan Limfosit T

Bone Marrow merupakan tempat pembentukan seluruh sel darah ( *Stem cell* ). Limfosit T dibentuk di sum-sum tulang dan dimatangkan di Timus. Sel limfosit T yang belum dewasa disebut timosit. Setelah dimatangkan di Timus maka sel tersebut akan masuk ke dalam perifer.

Di Timus terjadi proses toleransi (central tolerans).

Disini terjadi seleksi baik positif maupun negatif dengan self MHC-associated peptida antigen (MHC sendiri yang berikatan dengan antigen peptida sendiri).

#### Seleksi (+)

##### A. Lack of Positive Selection

Pada *thymic epithelial cell*:

Jika terjadi kegagalan pengenalan terhadap MHC dari kompleks MHC peptida, terjadi kematian sel apoptosis

##### B. Positive Selection

Pada *thymic epithelial cell* :

Jika terjadi pengenalan dengan aviditas lemah terhadap MHC dari kompleks MHC peptida, terhindar dari kematian sel, konversi ke single positif dan tetap hidup dilanjutkan ke seleksi negatif.

#### Seleksi (-)

##### C. Negative Selection

Pada *thymic antigen presenting cell* :

Terjadi pengenalan dengan aviditas kuat terhadap peptida dari kompleks MHC peptida terjadi kematian sel apoptosis.

Setelah melewati seleksi positif dan negatif, dihasilkan limfosit T yang matang (terseleksi) dimana TcR nya mengenal MHC sendiri dan mengenal antigen asing dengan kata lain mengenal antigen asing yang disajikan oleh MHC sendiri.

Di perifer toleransi terjadi karena :

Anergi

Stimulasi berulang dari antigen

Supresi

Pengenalan antigen selain ikatan TcR dengan peptida yang disajikan dengan MHC sebagai sinyal pertama, perlu bantuan sinyal ke dua dari ikatan CD28 dengan B7 dari antigen presenting cell (sebagai ko stimulator) yang dapat menimbulkan rangsangan/aktifasi sel T sebagai efektor.

Jika B7 dari APC tidak ada atau B7 berikatan dengan CTL A-4 dari limfosit akan timbul anergi yaitu sel hidup tetapi tidak mampu memberikan respon imun (tidak dapat di stimulasi)

Perkembangan Limfosit B

Bone Marrow merupakan tempat pembentukan seluruh sel darah ( Stem cell ). Limfosit B dibentuk dan dimatangkan di sum-sum tulang. Di perifer terdapat sel limfosit B mature.

Disumsum tulang terjadi central toleran pada sel B

- Immature limfosit B mengenali multivalen antigen sendiri seperti membran protein terjadi apoptosis
- Immature limfosit B mengenali secara spesifik antigen sendiri valensi lemah akan hidup tetapi ≠ mampu berespon terhadap antigen

## Latihan

**Untuk dapat memperdalam pemahaman Anda mengenai materi di atas, kerjakanlah Latihan berikut!**

- 1) Apa yang dimaksud dengan Proses Toleransi Immunogenik ?
- 2) Apa yang dimaksud dengan Seleksi Positif ?
- 3) Apa yang dimaksud dengan Seleksi Negatif ?
- 4) Jelaskan tentang sel limfosit T dewasa (yang sudah terseleksi) ?
- 5) Jelaskan tentang proses pematangan sel limfosit B !

## Ringkasan

Sel limfosit B dan T yang mature (dewasa) dapat membedakan antigen “self” dan “non self”

Perkembangan Limfosit T

Di Timus terjadi proses toleransi (central tolerans).

Disini terjadi seleksi baik positif maupun negatif dengan self MHC-associated peptida antigen (MHC sendiri yang berikatan dengan antigen peptida sendiri)

Seleksi (+)

Jika terjadi pengenalan dengan aviditas lemah terhadap MHC dari kompleks MHC peptida, terhindar dari kematian sel, konversi ke single positif dan tetap hidup, dilanjutkan ke seleksi negatif

Seleksi (-)

Terjadi pengenalan dengan aviditas kuat terhadap peptida dari kompleks MHC peptida terjadi kematian sel apoptosis

## Tes 3

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

Proses Toleransi Immunogenik merupakan proses pematangan Limfosit T sehingga menjadi dewasa.

1. Terjadi dimana Proses Toleransi Immunogenik tersebut ?
  - a. Timus
  - b. Sumsum tulang
  - c. MALT
  - d. Kelenjar Lymph
  - e. Limpa

Sel epitel merupakan *Antigen Presenting Cell* yang akan menseleksi Limfosit T tersebut.

2. Ikatan apa yang menseleksi dari sel tersebut diatas ?
  - a. *Self MHC associated self peptida*
  - b. *Self MHC associated non self peptida*
  - c. *Non self MHC associated self peptida*
  - d. *Non self MHC associated non self peptida*
  - e. Reseptor dari sel T

Proses Toleransi Immunogenik dimulai dengan seleksi positif.

3. Apa yang dimaksud seleksi tersebut di atas ?
  - a. Mengenal MHC dari *self MHC associated self peptida*
  - b. Mengenal MHC dgn aviditas lemah dari *self MHC associated self peptida*
  - c. Mengenal peptida dari *self MHC associated self peptida*
  - d. Mengenal peptida dgn aviditas lemah dari *self MHC associated self peptida*
  - e. Mengenal peptida dari *self MHC associated non self peptide*

Jika seleksi positif lolos, maka akan konversi ke single positif dan sel tetap hidup, dilanjutkan dengan seleksi negatif.

4. Apa yang dimaksud seleksi negative tersebut di atas ?
  - a. Tidak mengenal MHC dari *self MHC associated self peptida*
  - b. Tidak mengenal MHC dgn aviditas lemah dari *self MHC associated self peptida*
  - c. Tidak mengenal peptida dari *self MHC associated self peptida*
  - d. Tidak mengenal peptida dgn aviditas lemah dari *self MHC associated self peptida*
  - e. Tidak mengenal peptida dari *self MHC associated non self peptide*

5. Sel limfosit T akan mengalami apa jika tidak lolos pada seleksi positif maupun negatif ?
  - a. Apoptosis
  - b. Lisis
  - c. Proliferasi
  - d. Diferensiasi
  - e. Fusi
  
6. Bagaimana sifat dari *T Cell Receptor* dari limfosit T CD4+ dewasa ?
  - a. Mengenal peptida asing yang digendong MHC I
  - b. Mengenal peptida sendiri yang digendong MHC I
  - c. Mengenal peptida asing yang digendong MHC II
  - d. Mengenal peptida sendiri yang digendong MHC II
  - e. Mengenal antigen asing
  
7. Bagaimana sifat dari *T Cell Receptor* dari limfosit T CD8+ dewasa ?
  - a. Mengenal peptida asing yang digendong MHC I
  - b. Mengenal peptida sendiri yang digendong MHC I
  - c. Mengenal peptida asing yang digendong MHC II
  - d. Mengenal peptida sendiri yang digendong MHC II
  - e. Mengenal antigen asing
  
8. Jika ko stimulator yaitu ikatan antara B7 dari *Antigen Presenting Cell* dengan CD28 dari limfosit tidak ada maka sel akan menjadi apa ?
  - a. Anergi
  - b. Apoptosis
  - c. Proliferasi
  - d. Diferensiasi
  - e. Fusi

# Kunci Jawaban Tes

## Test Formatif 1

1. A
2. E
3. A
4. A
5. A
6. B
7. A
8. B
9. A
10. B

## Test Formatif 2

1. C
2. A
3. D
4. E
5. A
6. A
7. A

### Test Formatif 3

1. A
2. A
3. B
4. C
5. A
6. C
7. A
8. A

## Glosarium

Anafilatoksin	: Fragmen protein komplemen yang dilepaskan selama aktivasi. Menyebabkan peningkatan permeabilitas vaskuler.
Imunoglobulin	: Suatu glikoprotein, terdiri dari rantai H dan L, yang berfungsi sebagai antibodi. Semua antibodi adalah imunoglobulin, tetapi tidak semua imunoglobulin mempunyai fungsi antibodi.
Kelas Imunoglobulin	: Subdivisi molekul imunoglobulin berdasarkan perbedaan struktural (urutan asam amino) pada manusia terdapat lima kelas imunoglobulin: IgG, IgM, IgA, IgE, dan IgD.
Subkelas Imunoglobulin	: Subdivisi molekul imunoglobulin berdasarkan perbedaan struktural pada rantai H. Untuk IgG manusia terdapat empat subkelas: IgG1, IgG2, IgG3, dan IgG4.
Komplemen	: Suatu set protein plasma yang merupakan mediator primer reaksi-reaksi antigen-antibodi.
Sitolisis	: Lisis bakteri atau sel-sel seperti tumor atau sel darah merah akibat penyisipan kompleks serangan membrane yang ditimbulkan oleh aktivasi komplemen.
Kompleks serangan	: Produk akhir aktivasi kaskade komplemen, yang mengandung C5, Membran C6, C7, dan C8 (serta C9). Kompleks serangan membran

	membuat lubang pada membran bakteri gram negatif, yang dapat membunuhnya
Opsonin	: Suatu zat yang mampu meningkatkan fagositosis. Antibodi dan komplemen adalah dua opsonin utama.
Opsonisasi	: Penyelubungan antigen atau partikel (misal, agen infeksius) oleh zat-zat, seperti antibodi, komponen komplemen, fibronektin, dan sebagainya, yang mempermudah ambilan partikel asing ke dalam sel fagositik.
Antibodi monoklonal	: Setiap limfosit B menghasilkan antibodi dengan spesifitas tunggal. Namun, Sel B normal tidak tumbuh untuk jangka waktu yang tak terbatas. Jika sel-sel B dileburkan dengan sel Mieloma melalui hibridisasi sel somatik, dan akhirnya didapatkan sel berfusi yang menyekresikan antibodi dengan spesifitas yang diinginkan, akan dihasilkan suatu lini sel penghasil antibodi yang tahan lama, dikenal sebagai hibridoma, dan sel-sel hibrid ini memproduksi antibodi monoklonal
Sel T (juga limfosit T)	: Suatu sel yang berasal dari timus yang berpartisipasi dalam berbagai reaksi imun selular.
Timosit T	: Sel limfosit T yang belum dewasa berada pada timus.

## Daftar Pustaka

Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. *Cellular and Molecular Immunology*. 4 ed. Philadelphia. WB Saunders 2000.

Kresno SB. *Imunologi : Diagnosis dan Prosedur Laboratorium*. Ed 3. Jakarta. FKUI 2000.

Baratawidjaja KG, Iris R. *Imunologi Dasar*. Edisi II. Jakarta. FKUI 2014

Ramadhani D, Devi Y, Risalia R A, Retno M (Penerjemah), Ong H O, Eka A M (Editor).  
Dalam : Olson K R, Ernesto D N. *Imunologi dan Serologi Klinis Modern*. Jakarta. EGC 2014.



# Bab 3

## HIPERSENSITIVITAS

*Nina Marlina, S.Pd, M. Biomedik*

### Pendahuluan

**H**ipersensitivitas adalah respon imun adaptif yang terjadi secara berlebihan dan “Inappropriate” sehingga menyebabkan kerusakan jaringan. Reaksi terjadi pada kontak ulangan. Antigen bisa secara eksogen maupun endogen. Dijalankan oleh reaksi imun spesifik baik secara humoral maupun seluler.

Dibedakan atas 4 tipe yang bisa terjadi bersama-sama yaitu Anafilaktik, Sitotoksik, Kompleks imun dan T cell mediated.

Selanjutnya agar Anda berhasil dalam mempelajari materi yang tersaji dalam Bab 1 ini, perhatikan beberapa saran sebagai berikut :

- a. Pelajari setiap topik materi secara bertahap
- b. Usahakan mengerjakan setiap latihan dengan tertib dan sungguh-sungguh.

Kerjakan tes yang disediakan dan diskusikan bagian-bagian yang sulit Anda pahami dengan teman sejawat atau tutor, atau melalui pencarian di internet.

# Topik 1

## Hipersensitivitas tipe I (Anafilaktik)

**T**ipe I, *Immediate Hypersensitivity* : reaksi imun yang cepat (dalam menit) setelah kontak ulang dengan antigen, dimana antibodi spesifik terikat pada / dengan sel mast, sehingga terjadi degranulasi sel mast yang melepaskan mediator-mediator yang menimbulkan gejala atau simpton.

Ada dua bentuk yaitu :

1. Lokal : terjadi disebabkan karena antigen masuk dapat melalui hirupan, penelanan, kontak yang bisa menyebabkan asma, diare, gatal.
2. Sistemik : terjadi disebabkan karena antigen masuk dengan suntikan sehingga dapat menyebabkan shock anafilaktik.

Pada tipe ini jenis antibodi yang dibentuk adalah IgE.

Reaksi yang timbul dapat segera yaitu antara 5 sampai 30 menit setelah kontak atau lebih lambat antara 2 sampai 8 jam setelah kontak yang terjadi oleh karena metabolisme dari granula pada sel mast

Mekanisme yang terjadi adalah sebagai berikut :

Pada pemaparan pertama dengan antigen maka antigen, akan ditangkap oleh reseptor sel B yang menyebabkan sel B teraktivasi yaitu berproliferasi yang kemudian berdiferensiasi menjadi sel plasma. Sel plasma ini akan membentuk antibodi jenis Ig E yang selanjutnya akan ditangkap oleh sel mast karena sel mast mempunyai reseptor terhadap Ig E pada bagian Fc nya.

Pada pemaparan kedua dengan antigen maka antigen akan ditangkap oleh antibodi IgE pada bagian F ab di permukaan sel mast sehingga terjadi ikatan silang antara 1 antigen dan 2 antibodi yang menyebabkan enzim fosfolipase A2 teraktivasi. Aktivasi enzim fosfolipase A2 akan menyebabkan dinding sel tidak stabil dan mengeluarkan isi granulanya yang merupakan mediator yang menimbulkan anafilaktik.

Mediator-mediator tersebut terdiri dari :

Mediator Utama :

1. Adenosin yang berfungsi untuk meningkatkan pengeluaran mediator sel mast
2. Histamin yang berfungsi untuk kontraksi otot polos bronchial, intestine dan meningkatkan permeabilitas pembuluh darah.
3. Faktor Kemotaktik yang terdiri dari Eosinofil khemotaktik faktor yang akan menarik eosinofil & Netrofil khemotaktik factor yang akan menarik netrofil.

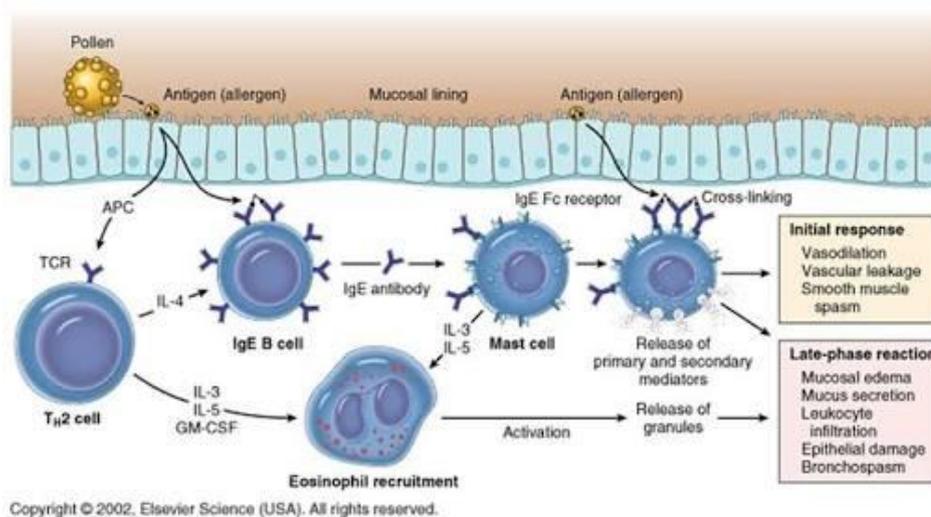
4. Protease yang berfungsi untuk aktivasi komplemen  
Proteoglikan yang berfungsi sebagai antikoagulan

Mediator sekunder :

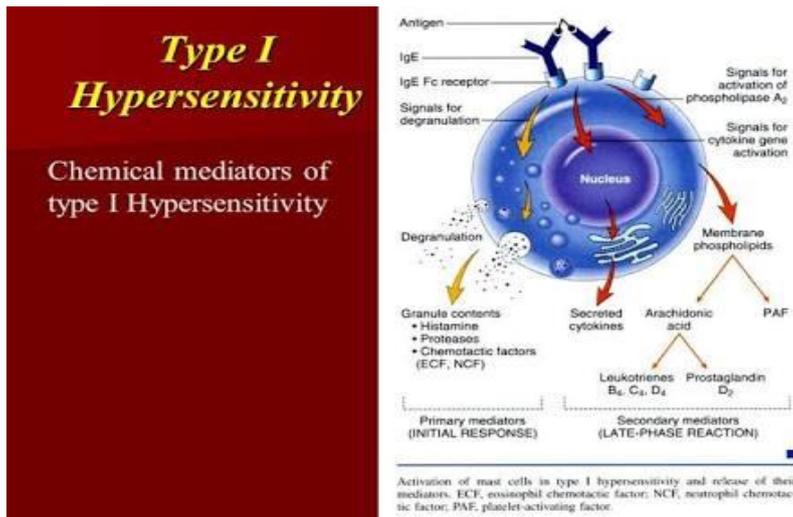
1. Asam arahidonat terdiri dari Leukotriene yang menyebabkan kontraksi bronchiale dan Prostaglandin yang menyebabkan asma bronchiale.
2. Platelet activating factor menyebabkan reaksi fase lambat
3. Inti akan mengeluarkan sitokin

Mediator-mediator tersebut diatas menyebabkan timbulnya inflamasi, sesak nafas dan hipersekresi.

Mekanisme hipersensitivitas dapat dijelaskan pada gambar sebagai berikut.



Gambar 6. Paparan pertama hipersensitivitas tipe I



Gambar 7. Paparan kedua hypersensitivitas tipe I

## Latihan

Untuk dapat memperdalam pemahaman Anda mengenai materi di atas, kerjakanlah Latihan berikut!

- 1) Apa yang dimaksud dengan hipersensitivitas ?
- 2) Jelaskan mekanisme hipersensitivitas tipe I !
- 3) Jelaskan mediator yang dikeluarkan dari sel mast !
- 4) Apa fungsi histamin ?
- 5) Apa alergen yang dapat menyebabkan hipersensitivitas tipe I ?

## Ringkasan

Hipersensitivitas adalah respon imun adaptive yang terjadi secara berlebihan dan “In Appropriate” sehingga menyebabkan kerusakan jaringan.

Tipe I, Immediate Hypersensitivity : reaksi imun yang cepat (dalam menit) setelah kontak ulang dengan antigen, dimana antibodi spesifik terikat pada / dengan sel mast, sehingga terjadi degranulasi sel mast yang melepaskan mediator-mediator yang menimbulkan gejala atau simpton.

Mekanismenya adalah Antigen terikat pada IgE di permukaan sel mast → croslinking 1 Ag + 2 Ab → menyebabkan destabilised dinding sel yang akan mengeluarkan mediator utama dari granula dan mediator sekunder dari inti dan dinding selnya.

## Tes 1

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

1. Apa jenis antibodi yang dibentuk pada hipersensitivitas tipe I (anafilaktik) ?
  - a. IgM
  - b. IgG
  - c. IgD
  - d. IgA
  - e. IgE
  
2. Apa alergen yang dapat menyebabkannya ?
  - a. Polen
  - b. Virus
  - c. Bakteri
  - d. Tumor
  - e. Sel alogenis
  
3. Apa mediator yang dapat menyebabkan timbulnya gejala pada hipersensitivitas tersebut ?
  - a. Histamin
  - b. Toksin kuman
  - c. ADP
  - d. Serotonin
  - e. Epinefrin
  
4. Apa sel yang dapat mengeluarkan mediator tersebut ?
  - a. Eritrosit
  - b. Trombosit
  - c. Mastosit
  - d. Netrofil
  - e. Makrofag
  
5. Enzim yang teraktivasi pada membran sel mast adalah : ....
  - A. Fosfolipase A2
  - B. Tromboksan A2
  - C. Peroksidase
  - D. Pepsin

## E. Papain

Cocokkanlah jawaban Anda dengan Kunci Jawaban Tes 1 yang terdapat di bagian akhir Bab 3 ini.

# Topik2

# Hipersensitivitas tipe II (Sitotoksik)

**S**itotoksik (Antibody Dependent Cytotoxicity Hypersensitivity) adalah reaksi hipersensitivitas yang dimediasi dengan antibodi terhadap antigen di permukaan sel atau jaringan.

Jenis Ag Bisa :

- Antigen intrinsik (antigen normal).  
Contoh sel darah merah dari donor.
- Antigen eksogen yang diadsorpsi oleh sel (allered antigen, antigen yang berubah).  
Contoh: sebagian molekul obat bereaksi dengan antigen permukaan sel yang menjadi target.

Jenis Antibodi : Ig G dan Ig M

Ada 3 mekanisme :

## 1. Complement Dependent Reaksi



Ag + Ab + C

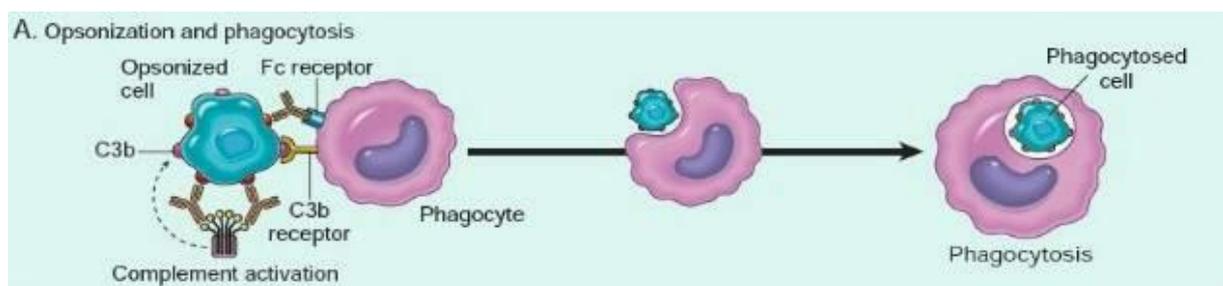


Lisis antigen yang dilakukan oleh C89 aktif melalui *membrane attack complex*  
Fagosit oleh makrofag karena makrofag mempunyai reseptor terhadap komplemen C3b

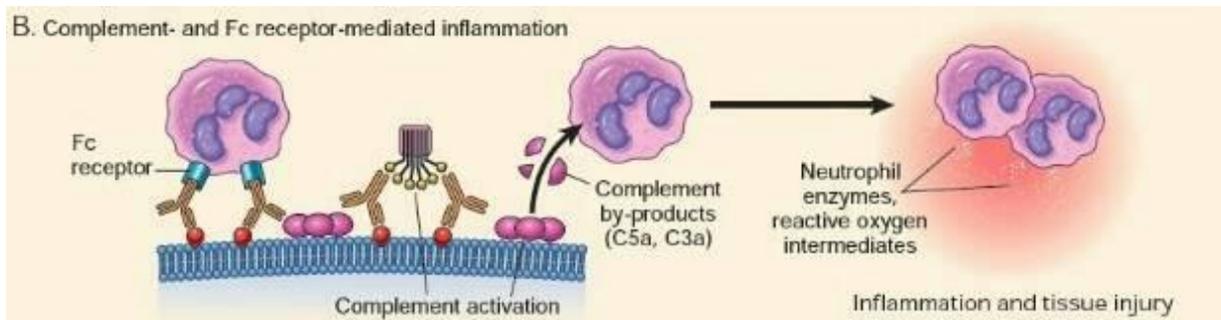


- Reaksi transfusi
- Erythroblastosis foetalis
- Auto Imun Anemia Hemolitik
- Reaksi obat

Mekanisme complemen dependent dapat lebih jelas dengan melihat gambar sebagai berikut:



Gambar 8. Oponisasi komplemen C3b dan fagositosis makrofag



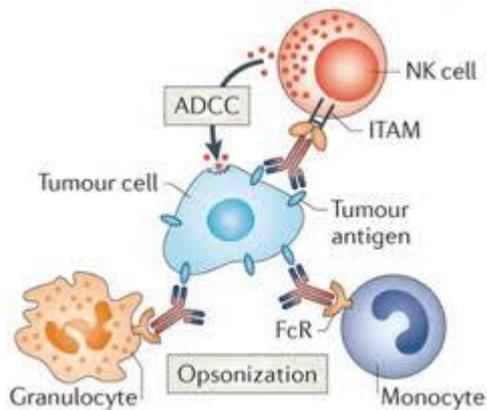
Gambar 9. Komplemen dan reseptor Fc yang memediasi inflamasi dan kerusakan jaringan.

2. ADCC (*Antibody Dependent Cell-Mediated Cytotoxicity*)

↓  
 Ag + Ab ← NK sel - NF  
 Monosit  
 Netrofil  
 Eosinofil - NF

Sel supaya difagosit harus di coat / di oponisasi dulu oleh antibodi

↓  
 Parasit, Tumor, *Graft Rejection*



Gambar 10. Mekanisme ADCC

3. Anti Receptor Antibodi.

Pada mekanisme ini terbentuknya antibodi terhadap reseptor, sehingga reseptor tidak dapat berikatan dengan ligan nya.

Pada miastenia gravis terbentuk antibodi terhadap reseptor asetil kolin sehingga reseptor asetil kolin tidak dapat berikatan dengan asetil kolin dengan efek hambatan. Sedangkan pada Penyakit Graves terbentuk antibodi terhadap reseptor thyroid stimulating hormone (TSH) sehingga reseptor TSH tidak dapat berikatan dengan TSH dengan efek stimulasi.

#### Miastenia gravis.

Miastenia gravis adalah penyakit autoimun yang mengenai taut neuromuscular. Awitan penyakit dapat bersifat akut atau dapat berlangsung selama periode waktu yang panjang. Pasien datang dengan keluhan kelelahan dan perasaan mudah lelah yang memburuk dengan aktivitas dan kembali pulih dengan istirahat. Kelompok otot rangka adalah kelompok yang paling sering terkena, dan pasien mengeluhkan penglihatan ganda, kesulitan menaiki tangga atau membawa benda, dan kesulitan dalam berbicara atau menelan. Kegagalan bernafas akibat kelemahan otot pernafasan adalah gejala bermakna yang mengancam jiwa. Pasien dengan abnormalitas mata saja didiagnosis mengalami miastenia gravis okular sedangkan mereka yang mempunyai gejala lebih sistemik didiagnosa mengalami penyakit generalisata.

Miastenia gravis terjadi akibat destruksi yang diperantarai oleh antibodi terhadap reseptor asetilkolin di membran pascasinaps pada taut neuromuskular. Akibatnya, asetilkolin yang dilepaskan oleh neuron gagal memulai pemberian sinyal. Sel T juga berperan dalam patofisiologi penyakit, mungkin dengan merangsang produksi antibodi sel B dan melalui perubahan aktivitas sel T regulatorik. Uji serologi untuk pengikatan atau penghambatan autoantibodi dilakukan apabila terdapat kecurigaan adanya penyakit ini, dan antibodi terhadap reseptor asetilkolin ditemukan pada lebih dari 80 % penderita penyakit ini. Pada pasien yang tidak memiliki autoantibodi reseptor asetilkolin, mungkin ditemukan antibodi yang diarahkan untuk melawan reseptor spesifik otot tirosin kinase. Autoantibodi diukur dengan radioimmunoassay dan sangat spesifik untuk penyakit ini.

Penatalaksanaan miastenia gravis menargetkan beberapa aspek penyakit. Pertama, pasien dapat diobati dengan inhibitor asetilkolinesterase untuk meningkatkan konsentrasi asetilkolin di dalam taut neuromuscular. Kedua, untuk menargetkan komponen autoimun, pasien dapat di terapi dengan obat-obat immunosupresif, seperti glukokortikoid. Walaupun titer autoantibodi tidak berkaitan dengan derajat keparahan penyakit, titer cenderung menurun pada individu yang berhasil merespons imunoterapi. Pada miastenia gravis generalisata yang berat, terutama yang disertai gagal nafas, plasmaferesis dikerjakan untuk menurunkan titer antibodi reseptor asetilkolin esterase

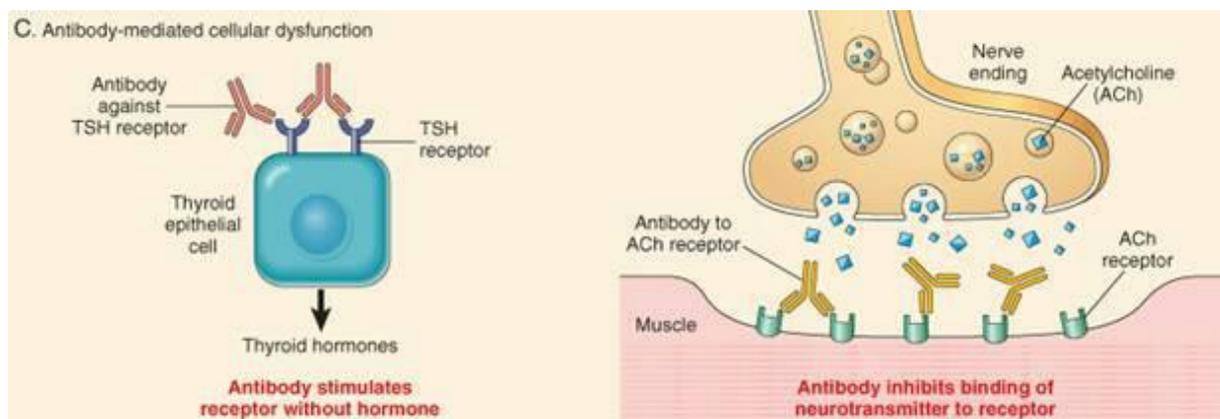
#### Penyakit Graves.

Hipertiroidisme yang diperantarai oleh autoimun, juga dikenal sebagai penyakit Graves, didiagnosis pada 1% individu penderita penyakit tiroid autoimun dan lebih sering pada wanita

daripada pria. Individu dengan penyakit Graves memiliki tanda kelebihan hormone tiroid: penurunan berat badan, rasa cemas, sulit tidur, denyut jantung cepat, intoleransi panas, dan tremor. Pasien, khususnya anak, juga mungkin mengalami kesulitan berkonsentrasi, sehingga hipertiroidisme dapat mengganggu keberhasilan di sekolah. Temuan pada pemeriksaan fisik yang sesuai dengan keadaan hipertiroid mencakup gondok (pembesaran kelenjar tiroid dengan pembengkakan di leher), peningkatan denyut jantung dan tekanan darah, tremor, gelisah, reflex meningkat, dan kelemahan otot. Eksoftalmos, yang bermanifestasi sebagai penonjolan mata dan tatapan melotot, merupakan temuan fisik yang terkait dengan penyakit Graves.

Diagnosa laboratorium penyakit Graves ditegakkan berdasarkan pengukuran TSH, yang akan mengalami penekanan, dan kadar hormon tiroid, yang akan mengalami peningkatan. Antibodi antitiroglobulin dan tiroperoksidase sering meningkat tetapi tidak spesifik untuk penyakit Graves. Keadaan hipertiroid adalah hasil dari autoantibodi yang aktif secara biologis, *thyroid stimulating immunoglobulin* (TSI), yang berikatan dengan reseptor TSH di sel-sel folikular tiroid dan merangsang pelepasan hormone tiroid yang independen terhadap TSH.

Penyakit Graves ditangani dengan mengendalikan tekanan darah yang tinggi dan denyut jantung yang meningkat dan menurunkan produksi hormone tiroid. Pasien mulanya diobati dengan obat-obatan yang menghambat produksi hormone tiroid. Terapi definitif berupa reseksi bedah atau radioablasi terhadap kelenjar dengan 131 Iodium yang diikuti dengan terapi sulih hormone tiroid. Menariknya, penyakit Graves memulih spontan dalam waktu 2 tahun sejak diagnosis pada sekitar 30% kasus. Meskipun demikian, pasien-pasien ini mungkin berubah menjadi keadaan hipertiroid yang diperantarai oleh autoimun dan memerlukan sulih tiroksin. Oleh sebab itu, uji fungsi tiroid harus dilakukan secara teratur pada populasi ini. Mekanisme antireseptor antibodi dapat dijelaskan pada gambar sebagai berikut.



Gambar 11. Mekanisme Anti Receptor Antibodi.

## Latihan

Untuk dapat memperdalam pemahaman Anda mengenai materi di atas, kerjakanlah Latihan berikut!

- 1) Apa yang dimaksud dengan hipersensitivitas tipe 2 (Sitotoksik) ?
- 2) Bagaimana mekanisme Sitotoksik melalui komplemen dependen ?
- 3) Apa fungsi makrofag pada aktivasi sistem komplemen ?
- 4) Apa fungsi C3b pada aktivasi sistem komplemen ?
- 5) Apa fungsi C89 aktif pada aktivasi sistem komplemen ?
- 6) Bagaimana mekanisme Sitotoksik melalui *Antibody Dependent Cell Cytotoxicity* (ADCC)?
- 7) Pada mekanisme ADCC sel apa yang berperan pada penghancuran antigen ?
- 8) Bagaimana mekanisme Sitotoksik melalui *Anti Receptor Antibody* ?
- 9) Jelaskan tentang Myasthenia gravis !
- 10) Jelaskan tentang Grave diseases !

## Ringkasan

Sitotoksik (*Antibody Dependent Cytotoxicity Hypersensitivity*) adalah reaksi hipersensitivitas yang dimediasi dengan antibodi terhadap antigen di permukaan sel/jaringan. Ada 3 mekanisme yaitu

### 1. *Complemen dependent.*

Ikatan antigen antibodi akan menyebabkan reseptor terhadap komplemen yang terdapat pada bagian Fc antibodi menjadi aktif, sehingga akan mengikat C1q, C1q menjadi aktif yang akan mengaktifkan C1r, C1r menjadi aktif yang akan mengaktifkan C1s. C1s akan mengikat C4 dan C2 menjadi C142 aktif atau C3 Convertase, selanjutnya C3 Convertase akan memecah C3 menjadi C3a dan C3b. C3b berfungsi sebagai opsonin pada antibodi yang telah berikatan dengan antigen sehingga makrofag atau sel NK akan menghancurkan antigen. C3b akan mengaktifkan C5, C6, C7 menjadi C567 aktif. C567 aktif akan mengaktifkan C89 menjadi C 89 aktif. C89 aktif inilah yang akan menghancurkan antigen.

### 2. *Antibody Dependent Cell Cytotoxicity.*

Pada mekanisme ini antigen akan dihancurkan oleh sel NK, eosinofil, netrofil atau makrofag setelah dilapisi dulu dengan antibodi. Pada mekanisme ini antigen berupa tumor , parasit atau penolakan terhadap graft

3. *Anti Receptor Antibody.*

Pada mekanisme ini terbentuknya antibodi terhadap receptor, sehingga receptor tidak dapat berikatan dengan ligan nya.

Pada *Myasthenia Gravis* terbentuk antibodi terhadap receptor asetil kolin sehingga receptor asetil kolin tidak dapat berikatan dengan asetil kolin dengan efek hambatan. Sedangkan pada *Grave Diseases* terbentuk antibodi terhadap receptor *thyroid stimulating hormone* (TSH) sehingga receptor TSH tidak dapat berikatan dengan TSH dengan efek stimulasi

## Tes 2

**Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!**

1. Yang bertindak sebagai opsonin pada mekanisme *complemen dependent* ?
  - A. C3 konvertase
  - B. C3a
  - C. C3b
  - D. C567 aktif
  - E. C89 aktif
2. Sel apa yang akan menghancurkan antigen pada mekanisme *complemen dependent* tersebut ?
  - A. Netrofil batang
  - B. Netrofil semen
  - C. Eosinofil
  - D. Basofil
  - E. Makrofag

3. Pada mekanisme *ADCC (antibody dependent cell cytotoxicity)* apa yang bertindak sebagai opsonin ?
- A. C1q
  - B. C1r
  - C. C1s
  - D. C142 aktif
  - E. Antibodi
4. Sel apa yang akan menghancurkan antigen pada soal no 3 ?
- A. Limfosit
  - B. Sel NK
  - C. Monosit
  - D. Eosinofil
  - E. PMN
5. *Myastenia Gravis* adalah contoh dari hipersensitivitas yang berefek hambatan, hal ini terjadi karena terbentuknya antibodi terhadap reseptor .

Apa hormon yang berperan pada penyakit tersebut ?

- A. Asetil kolin hormon
  - B. Tiroid stimulating hormon
  - C. Fibrinogen
  - D. Faktor VIII von Willebrand
  - E. Human Chorionic Gonadotropin
6. Pada *Grave disease* terjadinya stimulasi hormon tiroid disebabkan karena adanya ikatan antara antibodi dengan reseptor .

Apa hormon yang berperan pada penyakit tersebut ?

- A. Asetil kolin hormon
  - B. Tiroid stimulating hormon
  - C. Fibrinogen
  - D. Faktor VIII von Willebrand
  - E. Human Chorionic Gonadotropin
7. Pada resipien yang ditransfusi oleh eritrosit donor dengan golongan darah ABO yang berbeda akan terjadi penghancuran eritrosit.

Ini merupakan contoh mekanisme hipersensitivitas apa ?

- A. *Complemen dependent*
  - B. ADCC
  - C. *Anti Receptor Antibody*
  - D. Anafilaktik
  - E. Sitotoksik
8. Peristiwa bayi lahir kuning karena penghancuran eritrosit pada bayi dengan golongan darah Rh positif dari ibu Rh negatif disebut apa ?
- A. Erithroblastosis foetalis.
  - B. Reaksi transfusi
  - C. Graft rejection
  - D. Miasthenia gravis
  - E. Grave diseases

Cocokkanlah jawaban Anda dengan Kunci Jawaban Tes 2 yang terdapat di bagian akhir Bab 3 ini.

## Topik 3

# Hipersensitivitas tipe III (Complex Immun Mediated) dan Hipersensitivitas tipe IV (T Cell Mediated)

**H**ipersensitivitas tipe III (*Immun Complex Mediated*) adalah reaksi yang diinduksi oleh kompleks antigen-antibodi yang mampu mengaktifkan komplemen dan berbagai mediator serum, sehingga menimbulkan kerusakan jaringan.

Kompleks imun terbentuk dalam serum akan diedarkan yang selanjutnya dimana dia mengendap akan menimbulkan kerusakan jaringan. Kompleks imun ada yang beredar atau diendapkan.

Pada penyakit kompleks imun sistemik misalnya pemberian anti tetanus serum akan timbul serum sickness. Pada penyakit ini terdapat 3 tahap yaitu:

1. Pembentukan kompleks imun.
2. Pengendapan kompleks imun, yang ditentukan oleh :
  - Besar ukuran kompleks imun. Hal ini terjadi jika antibodi excess (kelebihan antibodi)

maka kompleks imun yang terbentuk besar selanjutnya, akan difagosit oleh mono fagosit sistem. Tetapi jika antigen excess (kelebihan antigen) maka kompleks imun yang terbentuk kecil maka akan diendapkan oleh karena kurang afinitas terhadap sistem mono fagosit.

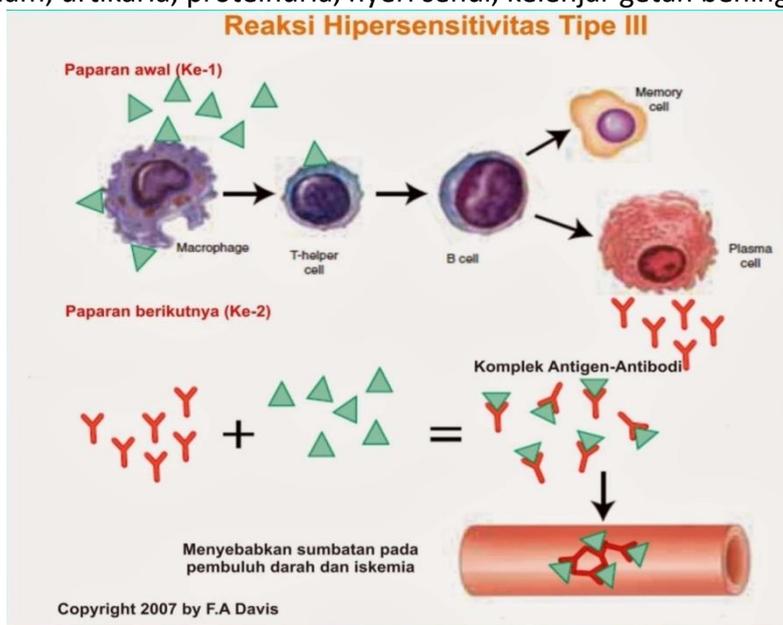
- Muatan listrik kompleks imun.
- Afinitas antigen pada berbagai jaringan.
- Faktor hemodinamik

### 3. Reaksi Radang

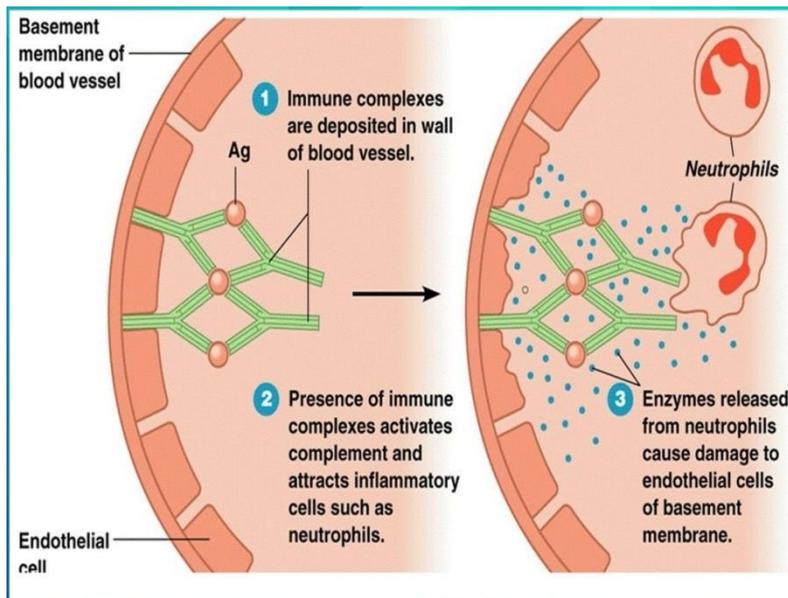
- Anafilaktik → Release Amino Vaso Aktif → Permeabilitas pembuluh darah meningkat
- Aktifasi Komplemen
- Kemotaktik → Release Enzyme Lisosomal → Nekrosis

Agregasi Trombosit → Trombosis → Ischemia → Nekrosis

Demam, urtikaria, proteinuria, nyeri sendi, kelenjar getah bening membesar.



**Gambar 12.** Pemaparan pertama mekanisme hipersensitivitas tipe III



**Gambar 13.** Mekanisme hipersensitivitas tipe III

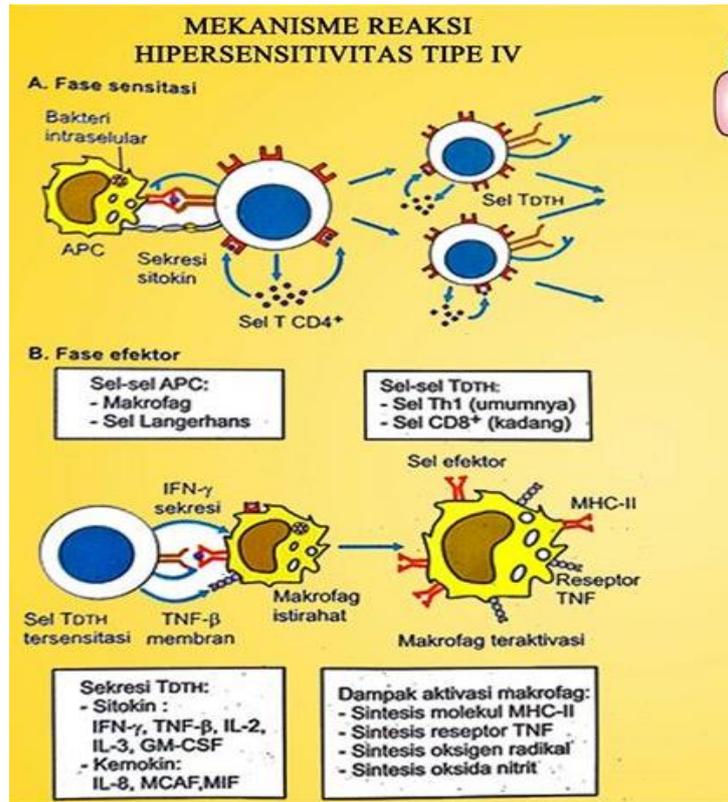
Hipersensitivitas tipe IV (*T Cell Mediated*).

Hipersensitivitas tipe IV (*T Cell Mediated*) adalah Reaksi yang dimediasi oleh sel T yang teraktivasi sehingga mengeluarkan mediator-mediator yang dapat merusak jaringan.

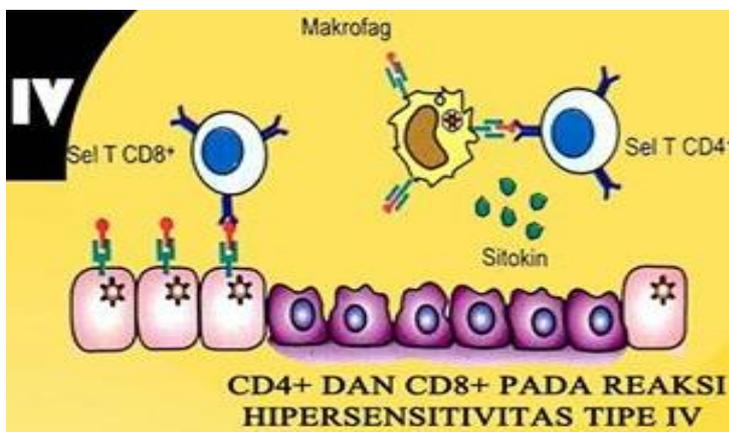
Mencakup : *Delayed hypersensitivity* (T Helper/ T CD4) dan T Sitotoksik (T CD8)

Pada *delayed hypersensitivity* melibatkan limfosit T CD4 sehingga jika ada antigen maka limfosit T CD4 akan tersensitisasi sehingga akan mengeluarkan limfokin seperti IL2, tumor nekrosis faktor atau interferon maka, limfokin inilah yang menstimulasi makrofag sehingga akan melakukan fagositosis kemudian terjadi inflamasi. Contoh pada tes Mantoux.

Pada T cell cytotoxic akan melibatkan limfosit T CD8, jika ada antigen maka limfosit T CD8 akan berubah menjadi limfosit T Sitotoksik yang akan menghancurkan antigen atau lisis sel, dalam hal ini antigen berupa virus, tumor dan *allogenic cell*.



**Gambar 14.** Mekanisme hipersensitivitas tipe IV



**Gambar 15.** Mekanisme hipersensitivitas tipe IV diperantarai sel CD4+ dan CD8+

## PENGERTIAN HIPERSENSITIVITAS IV

REAKSI TIPE IV MERUPAKAN HIPERSENSITIVITAS TIPE LAMBAT YANG DIKONTROL SEBAGIAN BESAR OLEH REAKTIVITAS SEL T TERHADAP ANTIGEN. SAAT INI REAKSI HIPERSENSITIVITAS TIPE IV TELAH DIBAGI MENJADI DTH YANG TERJADI MELALUI SEL CD4+ DAN T CELL MEDIATED CYTOLYSIS YANG TERJADI MELALUI SEL CD8+.

## PENGGOLONGAN HIPERSENSITIVITAS TIPE IV BERDASARKAN WAKTU AWAL TIMBULNYA GEJALA SERTA PENAMPAKAN KLINIS DAN HISTOLOGIS.

<i>Tipe</i>	<i>Waktu reaksi</i>	<i>Penampakan klinis</i>	<i>Histologi</i>	<i>Antigen dan situs</i>
<i>Kontak</i>	<i>48-72 jam</i>	<i>Eksim (ekzema)</i>	<i>Limfosit, makrofag, epidermidis</i>	<i>ditikuti edema</i> <i>Epidermal (senyawa organik, jelatang atau poison ivy, logam berat, dll.)</i>
<i>Tuberkulin</i>	<i>48-72 jam</i>	<i>Pengerasan (indurasi) lokal</i>	<i>Limfosit, makrofag</i>	<i>monosit,</i> <i>Intraderma (tuberkulin, lepromin, dll.)</i>
<i>Granuloma</i>	<i>21-28 hari</i>	<i>Pengerasan</i>	<i>Makrofag, epitheloid dan sel raksaksa, fibrosis</i>	<i>Antigen persisten atau senyawa asing dalam tubuh (tuberkulosis, kusta, etc.)</i>

## Latihan

Untuk dapat memperdalam pemahaman Anda mengenai materi di atas, kerjakanlah Latihan berikut!

- 1) Apa yang mempengaruhi pengendapan kompleks imun pada serum sickness ?
- 2) Sebutkan sel yang teraktifasi dan sel yang memfagositosis pada delayed hypersensitivity !
- 3) Pada T cell mediated, jika antigen berupa virus maka sel yang merespon terhadap antigen tersebut adalah

## Ringkasan

Hipersensitivitas tipe III (Immun Complex Mediated) adalah Reaksi yang diinduksi oleh kompleks Ag-Ab yang mampu mengaktifkan komplemen dan berbagai mediator serum, sehingga menimbulkan kerusakan jaringan. Kompleks imun dengan ukuran intermediate di dalam pembuluh darah akan mengaktifkan komplemen yang selanjutnya, menyebabkan basofil mengeluarkan mediator vasodilatasi sehingga pembuluh darah membesar. Kemudian kompleks imun mengendap dan mengaktifkan komplemen. Komplemen yang teraktivasi akan mengaktifkan netrofil sehingga mengeluarkan enzim lisosomal dari granulanya yang menyebabkan inflamasi.

Hipersensitivitas tipe IV atau reaksi tipe IV merupakan hipersensitivitas tipe lambat yang dikontrol sebagian besar oleh reaktivitas sel T terhadap antigen. Saat ini reaksi hipersensitivitas tipe IV telah dibagi menjadi Delayed Tipe Hipersensitivity yang terjadi melalui sel CD4+ dan *T Cell Mediated Cytolysis*.

## Tes 3

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

1. Kompleks imun adalah : ....
  - A. Antigen
  - B. Antibodi
  - C. Ikatan antigen antibodi
  - D. Reseptor
  - E. Ligan
2. Kompleks imun dengan ukuran intermediate di dalam pembuluh darah akan mengaktifkan komplemen. Komplemen yang teraktivasi akan mengaktifkan sel : ....
  - A. Basofil
  - B. Eosinofil
  - C. Netrofil
  - D. Limfosit
  - E. Monosit
3. Basofil akan mengeluarkan mediator yang akan menyebabkan pembuluh darah membesar yaitu : ....
  - A. Vasodilatasi
  - B. Vasokonstriksi
  - C. *Eosinofil Chemotaktik Factor*
  - D. *Netrofil Chemotaktik Factor*
  - E. *Platelet Activating Factor*
4. Kompleks imun yang mengendap di dalam pembuluh darah akan mengaktifkan komplemen. Komplemen yang teraktivasi akan mengaktifkan sel : ....
  - A. Basofil
  - B. Eosinofil
  - C. Netrofil
  - D. Limfosit
  - E. Monosit
5. Netrofil akan mengeluarkan enzim sehingga timbul inflamasi. Enzim tersebut adalah : ....
  - A. Lisosomal

- B. Peroksidase
  - C. Fosfolipase A2
  - D. Tromboksan A2
  - E. Adenil siklase
6. Pada *Delayed Tipe Hipersensitivity* maka antigen akan menstimulasi sel sehingga mengeluarkan Interleukin 2 ; Sel tersebut adalah : ....
- A. T CD4+
  - B. T CD8+
  - C. Makrofag
  - D. Monosit
  - E. Netrofil segmen
7. Pada *Delayed Tipe Hipersensitivity* maka antigen akan di fagosit oleh : ....
- A. T CD4+
  - B. T CD8+
  - C. Makrofag
  - D. Monosit
  - E. Netrofil segmen
8. Antigen yang dapat menyebabkan *Delayed Tipe Hipersensitivity* dapat berupa : ....
- A. Virus
  - B. Bakteri
  - C. Bakteriofag
  - D. Sel darah merah
  - E. Polen
9. Pada *T Cell Mediated Cytolysis*, antigen akan dihancurkan oleh : ....
- A. T CD4+
  - B. *Cytotoxic T Limfocyte*
  - C. Makrofag
  - D. Monosit
  - E. Netrofil segmen
10. Antigen penyebab *T Cell Mediated Cytolysis* dapat berupa : ....
- A. Virus
  - B. Bakteri

- C. Bakteriofag
- D. Sel darah merah
- E. Polen

# Kunci Jawaban Tes

## Test Formatif 1

1. E
2. A
3. A
4. C
5. A

## Test Formatif 2

1. C
2. E
3. E
4. B
5. A
6. B
7. A
8. A

## Test Formatif 3

1. C
2. A
3. A
4. C
5. A
6. A
7. C
8. B
9. B
10. A

# Glosarium

Reaksi hipersensitivitas :

(1) Reaksi hipersensitivitas : Hipersensitivitas diperantarai antibodi

**Tipe I.** Segera: Antibodi IgE diinduksi oleh allergen dan berkaitan dengan sel mast dan eosinofil melalui reseptor Fc-nya. Setelah bertemu dengan antigen itu lagi, IgE yang terfiksasi akan berikatan silang, menginduksi degranulasi dan pelepasan mediator, terutama histamin.

**Tipe II.** Antigen pada permukaan sel bergabung dengan antibodi, menyebabkan lisis yang diperantarai komplemen (misal, transfusi atau reaksi Rh) atau kerusakan membran sitotoksik lain (misal, anemia hemolitik autoimun).

**Tipe III.** Kompleks imun: Kompleks imun antigen-antibodi tersimpan dalam jaringan, komplemen diaktivasi, dan sel-sel polimorfonuklear tertarik ke tempat ini, dan menyebabkan kerusakan jaringan.

(2) Hipersensitivitas diperantarai sel :

**Tipe IV Lambat** : limfosit T, disensitisasi oleh antigen, melepaskan sitokin-sitokin.

Pada kontak ke dua dengan antigen yang sama. Sitokin menginduksi peradangan dan mengaktifkan makrofag

# Daftar Pustaka

1. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. Cellular and Molecular Immunology. 4 ed. Philadelphia. WB Saunders 2000.
2. Kresno SB. *Imunologi : Diagnosis dan Prosedur Laboratorium*. Ed 3. Jakarta. FKUI. 2000.
3. Baratawidjaja KG, Iris R. *Imunologi Dasar*. Edisi II. Jakarta. FKUI 2014
4. Ramadhani D, Devi Y, Risalia R A, Retno M (Penerjemah), Ong H O, Eka A M (Editor). Dalam : Olson K R, Ernesto D N. *Imunologi dan Serologi Klinis Modern*. Jakarta. EGC 2014.

# Bab 4

## IMUNOLOGI TUMOR DAN TRANSPLANTASI

*Retno Martini Widhyasih, S.Si., M.Biomed*

*Rizana Fajrunni'mah, M.Si.Med.*

### Pendahuluan

**D**ewasa ini, tumor merupakan sebab kematian yang sangat berarti di negara industri maupun berkembang. Begitu juga di negara maju, kematian oleh penyakit infeksi telah menurun dan tumor telah menjadi sebab kematian kedua setelah penyakit jantung. Lebih dari 100 jenis dan sub tipe tumor dapat ditemukan dalam organ spesifik.

Pada kebanyakan organ dan jaringan hewan dewasa, jumlah sel yang diproduksi tubuh maupun yang mati dipertahankan keseimbangannya dengan baik. Berbagai jenis sel matang dalam tubuh memiliki masa hidup tertentu. Kadang pertumbuhan sel tidak dapat terkontrol, sel membentuk klon yang berkembang dan menimbulkan tumor atau neoplasma. Tumor yang tumbuhnya tidak terus menerus dan tidak menginvasi jaringan sehat sekitarnya secara luas disebut tidak ganas (*benigna*). Kanker timbul dari ploriferasi dan penyebaran klon sel yang mengalami transformasi. Pertumbuhan tumor ganas ditentukan oleh kapasitas ploriferasi sel tumor, kemampuan sel tumor menginvasi jaringan dan kemampuan sel tumor bermetastasis. Tumor yang terus tumbuh dan menjadi progresif invasif disebut ganas (*maligna*). Tumor ganas cenderung bermetastasis, gerombol sel tumor kecil dapat terlepas dari tumor, menginvasi pembuluh darah atau limfe dan dibawa ke organ lain untuk seterusnya berproliferasi.

Transplantasi merupakan cara yang dilakukan untuk mengganti kerusakan jaringan suatu organ dalam tubuh yang didapatkan dari tubuh lain. Beberapa usaha awal untuk mengganti kerusakan jaringan menggunakan transplantasi dilakukan selama Perang Dunia II, sebagai suatu cara untuk mengobati pilot yang mengalami luka bakar kulit yang berat dalam kecelakaan pesawat. Dalam waktu singkat disadari bahwa individu menolak jaringan yang

dicangkokkan dari individu lain. Penolakan ini akibat dari reaksi inflamasi yang merusak jaringan transplantasi.

Tumor atau kanker dan transplantasi organ adalah dua keadaan klinis di mana peran sistem imun mendapat perhatian yang sangat besar. Pada kanker, terdapat keyakinan bahwa meningkatkan imunitas terhadap tumor mempunyai harapan tinggi untuk pengobatan. Sebaliknya, pada transplantasi organ, respon imun terhadap jaringan cangkok merupakan rintangan untuk transplantasi yang berhasil, sehingga mempelajari bagaimana menekan respon tersebut merupakan tujuan utama ahli imunologi transplantasi.

Respon imun terhadap tumor dan jaringan cangkok mempunyai beberapa karakteristik yang sama. Persamaan tersebut adalah di mana sistem imun tidak menanggapi mikroba seperti biasanya, namun menanggapi sel non-infeksius yang dianggap sebagai sel asing. Antigen yang menjadi penanda tumor dan cangkok jaringan sebagai benda asing dapat diekspresikan oleh semua jenis sel yang menjadi target transformasi ganas atau yang dicangkokkan dari satu individu ke individu lainnya. Karena alasan-alasan tersebut, maka tumor dan transplantasi dibahas bersama pada bab ini.

# Topik 1

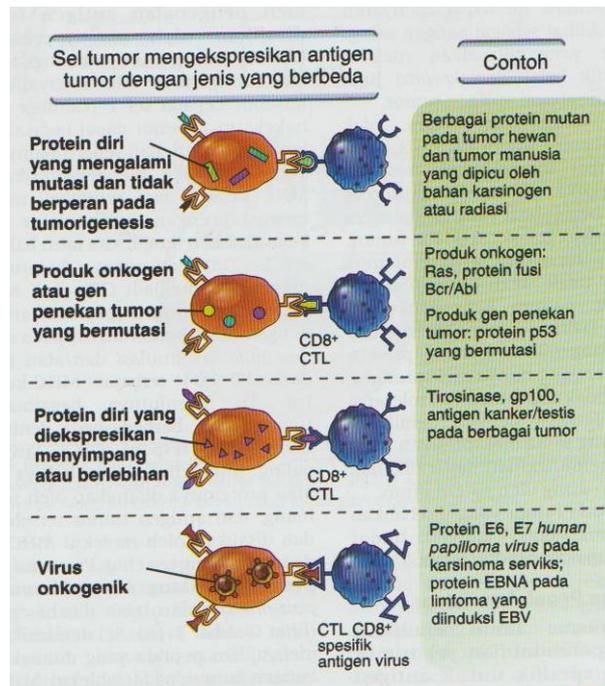
## Imunologi Tumor

**S**alah satu penyebab kematian setelah penyakit infeksi adalah tumor. Tumor dapat dianggap sebagai penyakit yang ditimbulkan karena proliferasi yang progresif dari sel asal progenitor tunggal yang dapat melepaskan diri dari pengawasan regulator sistem imun dan mekanisme homeostasis yang normal. Keseimbangan antara jumlah sel yang diproduksi dengan yang mati, pada kebanyakan organ dapat dipertahankan dengan baik. Berbagai sel matang dalam tubuh mempunyai masa hidup tertentu. Keseimbangan antara jumlah sel yang diproduksi dengan dan yang mati diawasi sistem pengontrol yang baik. Namun dapat juga terjadi pertumbuhan sel yang tidak terkontrol dan membentuk klon yang berkembang dan menimbulkan tumor atau neoplasma.

Tumor lebih sering terjadi pada orang dengan supresi sistem imun dibanding dengan orang normal. Radiasi dapat mengakibatkan risiko 100 kali dibanding orang normal.

### A. Antigen Tumor

Tumor mengekspresikan berbagai jenis molekul yang mungkin dapat dikenali oleh sistem imun sebagai antigen asing (gambar 16). Jika sistem imun mampu bereaksi terhadap tumor pada seorang individu, tumor tersebut pasti mengekspresikan antigen yang dilihat sebagai antigen asing (*nonself*) oleh sistem imun individu tersebut.



Gambar 16. Jenis antigen tumor

Antigen tumor umum dapat digolongkan ke dalam beberapa kelompok (tabel 2) :

1. Produk berbagai gen yang bermutasi.

Pengurutan (*sequencing*) gen tumor yang terbaru mengungkapkan bahwa pada tumor manusia yang sering dijumpai terdapat banyak sekali mutasi berbagai gen yang tidak berperan pada perkembangan tumor dan dinamakan “mutasi penumpang” (*passenger mutations*). Produk gen yang berubah ini dapat merangsang respons imun adaptif terhadap tumor pasien tersebut. Pada hakekatnya setiap gen dapat bermutasi secara acak pada tumor yang berbeda.

2. Produk onkogen atau gen penekan tumor (*tumor suppressor genes*) yang bermutasi.

Beberapa antigen tumor adalah hasil mutasi/translokasi onkogen atau gen penekan tumor (*tumor suppressor genes*) dan diperkirakan terlibat dalam transformasi keganasan, dinamakan sebagai mutasi pengemudi (*driver mutations*). Jenis mutasi ini dapat menyandi protein yang dilihat sebagai antigen asing. Protein baru yang dihasilkan juga dapat berperan sebagai antigen tumor.

3. Protein yang diekspresikan secara tidak lazim.

Pada beberapa tumor manusia, antigen yang dapat menimbulkan respon imun tampaknya merupakan protein normal (tidak bermutasi) yang ekspresinya mengalami disregulasi pada tumor. Autoantigen yang secara struktural normal tersebut tidak akan

menimbulkan respon imun, namun karena ekspresi yang tidak lazim, membuat mereka menjadi imunogenik. Misalnya protein diri yang hanya diekspresikan pada embrio tidak akan memicu toleransi pada orang dewasa, bila protein yang sama diekspresikan pada tumor, maka kemungkinan dapat dikenali sebagai antigen asing oleh sistem imun.

#### 4. Antigen viral.

Pada tumor yang disebabkan oleh virus onkogenik, antigen tumor mungkin merupakan produk virus.

Tabel 2. Antigen tumor

Antigen tumor	Contoh
Produk onkogen	Mutasi Ras
Produk tumor supresor gen	Mutasi p53
Produk gen yang tidak berperan pada tumorigenesis	Berbagai mutasi protein pada melanoma
Produk gen yang tidak diekspresikan pada sel normal	Protein MAGE, BAGE, GAGE (melanoma)
Produk overexpressed gene	Tirosinase , gp 100 (melanoma)
Produk onkogen virus	Protein E6 dan E7 (papilloma virus, Ca. serviks) Protein EBNA1-(EBV- Ca. Nasofaring)
Antigen onkofetal	CEA ( Ca. Colon) AFP (hepatoma)
Perubahan glikolipid dan glikoprotein	GM2, GD2 ( melanoma)
Differentiation antigen	Prostate specific antigen CD10, CD20 ( limfoma sel B)

## B. RESPON IMUN TERHADAP TUMOR

Respon imun terhadap tumor melibatkan dua sistem imunitas yaitu sebagai berikut:

### 1. Imunitas humoral

Imunitas humoral ini berperan lebih sedikit dibandingkan imunitas seluler. Tubuh membentuk antibodi terhadap antigen tumor. Antibodi tersebut ternyata dapat menghancurkan sel tumor secara langsung atau dengan bantuan komplemen

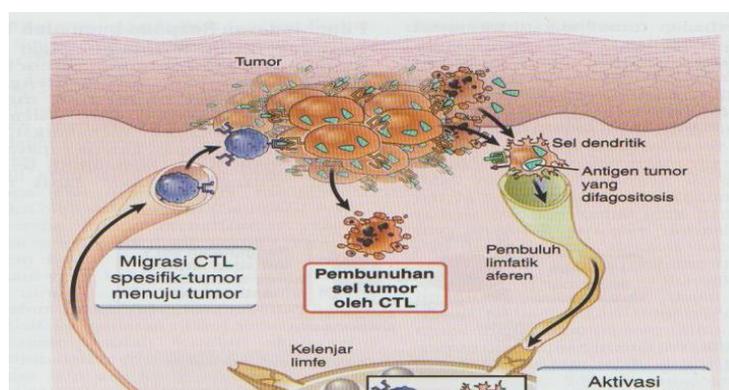
atau melalui sel efektor ADCC (*Antibodi Dependent Cell –Mediated- Cytotoxicity*) yang diperankan oleh makrofag dan sel NK yang mempunyai Fc reseptor di permukaannya. Mekanisme humoral yang terjadi melalui lisis dan opsonisasi oleh antibodi dan komplemen, atau dengan mencegah adhesi sel tumor oleh antibodi. Antibodi diduga lebih berperan terhadap sel yang bebas (leukemia, metastase tumor) dibanding tumor padat. Peranan antibody dalam eliminasi tumor secara invitro telah terbukti namun secara in vivo masih sedikit buktinya. Host yang mempunyai tumor dapat membentuk antibody terhadap berbagai antigen tumor. Misalnya pada pasien EBV-associated lymphoma di dalam serumnya dapat dideteksi antibodi terhadap antigen EBV yang diekspresikan di permukaan sel limfoma.

## 2. Imunitas seluler

Pada pemeriksaan patologi anatomi tumor, sering ditemukan infiltrate sel-sel yang terdiri atas sel fagosit mononuclear, limfosit, sedikit sel plasma dan sel mast. Sistem imun dapat langsung menghancurkan sel tumor tanpa sensitisasi sebelumnya. Berikut yang berperan dalam imunitas seluler terhadap tumor:

### a. CTL (*Cytotoxic T Lymphocyte*)

Mekanisme utama dari imunitas tumor adalah *killing* sel tumor oleh CTL CD8+. Banyak studi menunjukkan bahwa tumor yang mengekspresikan antigen unik dapat memacu CTL spesifik yang dapat menghancurkan tumor (gambar 17).



### Gambar 17. Respon imun terhadap tumor

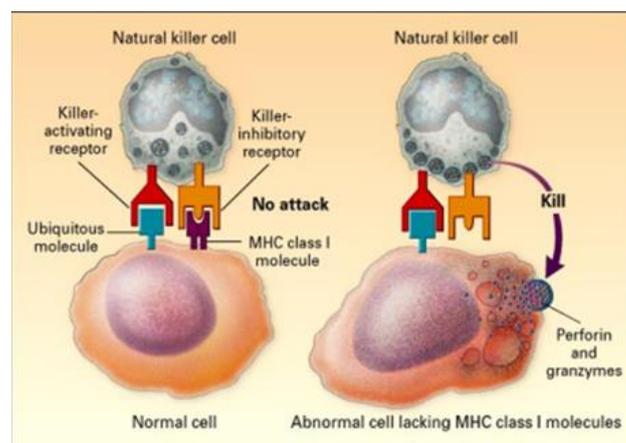
Sebagian besar antigen tumor yang menimbulkan respons imun pada individu yang terkena tumor adalah protein sitosolik atau protein inti yang disintesa secara endogen dan dipresentasikan sebagai peptida yang berikatan dengan MHC kelas I. Apakah Anda masih ingat apa itu MHC dan fungsinya? Anda dapat melihat kembali bab sebelumnya mengenai MHC ataupun melihat link berikut (<https://www.youtube.com/watch?v=qyt-yTy-EEM>) untuk lebih jelasnya mengenai MHC kelas I.

CTL dapat berperan dalam fungsi surveillance dengan mengenal dan membunuh sel yang berpotensi menjadi ganas, yang mengekspresikan peptide yang berasal dari protein mutan seluler protein virus onkogenik. Peptide ini dipresentasikan bersama MHC kelas I. Peran immune surveillance dalam mencegah tumor yang bukan diinduksi virus, diragukan, karena frekuensi terjadinya tumor ini tidak meningkat pada binatang percobaan maupun manusia yang defisiensi sel T.

Oleh karena itu antigen tumor ini dikenali oleh CTL CD8<sup>+</sup> terbatas MHC kelas I, yang berfungsi membunuh sel yang menghasilkan antigen tersebut. Peranan CTL pada reaksi penolakan tumor telah dibuktikan dengan jelas pada hewan coba: transplant tumor dapat dihancurkan dengan mentransfer sel T CD8<sup>+</sup> yang bersifat reaktif terhadap tumor ke hewan yang mempunyai tumor tersebut. Penelitian pada beberapa tumor manusia menunjukkan bahwa infiltrasi banyak CTL meramalkan perjalanan klinis yang lebih baik daripada tumor dengan sedikit CTL.

b. Sel NK (*Natural Killer*)

Sel NK adalah limfosit sitotoksik yang mengenal sel sasaran yang tidak antigen spesifik dan juga tidak MHC dependen. Diduga bahwa fungsi terpenting sel NK adalah antitumor. Sel NK mengekspresikan FcR yang dapat mengikat sel tumor yang dilapisi antibodi dan dapat membunuh sel sasaran melalui ADCC dan pelepasan protease, perforin, dan granzim ( Gambar 18)



**Gambar 18.** Mekanisme sel NK dalam membunuh sel sasaran

Secara *in vitro* terlihat bahwa sel Nk dapat membunuh sel yang terinfeksi virus dan beberap sel tumor, terutama tumor hemopoietik. Sel NK juga berespon ketika tidak adanya MHC kelas I. Pengenalan molekul MHC kelas I oleh sel NK akan memberikan sinyal inhibisi pada sel NK. Pada beberap tumor ekspresi MHC kelas I ditekan, akibatnya sel tumor yang tidak mengekspresikan MHC kelas I ini menjadi target yang baik untuk sel NK.

c. Makrofag

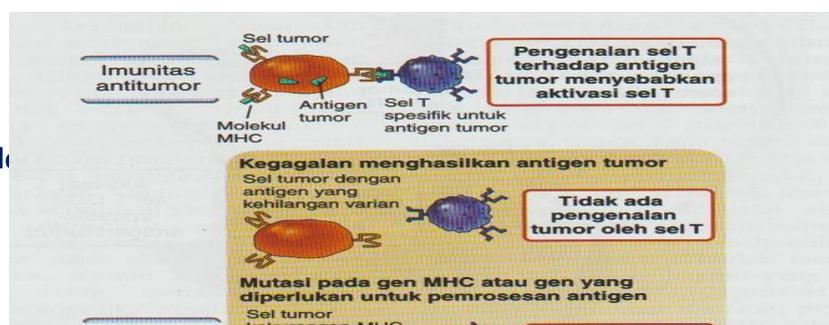
Secara *invitro* diperlihatkan bahwa makrofag teraktivasi dapat membunuh sel tumor lebih efisien dibanding sel normal. Mekanisme aktivasi makrofag oleh sel tumor tidak diketahui. Mungkin dengan pengenalan antigen langsung di permukaan sel tumor atau aktivasi oleh IFN $\gamma$  yang diproduksi oleh tumor specific T sel. Makrofag memiliki enzim dengan fungsi sitotoksik dan melepas mediator oksidatif seperti superoksid dan oksida nitrit. Makrofag juga melepas

TNF- $\alpha$  yang mengawali apoptosis (menginduksi trombosis pada pembuluh darah tumor). Makrofag dapat memakan dan mencerna sel tumor dan mempresentasikannya ke sel CD4<sup>+</sup>. Jadi makrofag dapat berfungsi sebagai inisiator dan efektor imun terhadap tumor.

Untuk lebih jelasnya, Anda dapat melihat ilustrasi peran dan kerja sama imunitas humoral maupun seluler pada link <https://www.youtube.com/watch?v=K09xzIQ8zsq>.

### C. MEKANISME TUMOR MENGHINDAR DARI SISTEM IMUN

Respon imun seringkali gagal untuk mengontrol pertumbuhan tumor karena tumor berkembang untuk menghindari dari pengenalan imun atau menahan mekanisme efektor imun. Respons imun harus membunuh semua sel tumor, sedangkan tumor dapat tumbuh dengan cepat. Seringkali pertumbuhan tumor melampaui pertahanan imun. Respons imun terhadap tumor lemah karena banyak tumor yang hanya sedikit menimbulkan inflamasi dan kostimulasi serta hanya sedikit mengekspresikan antigen *nonself* (asing). Ada beberapa alasan yang menyebabkan kegagalan tersebut yaitu sel tumor berasal dari sel host, sehingga mirip dengan sel normal. Kebanyakan tumor hanya sedikit mengekspresikan antigen yang dikenali sebagai *non self*, sehingga banyak tumor bersifat sebagai cenderung bersifat imunogen lemah. Beberapa tumor yang kuat dalam menginduksi respons imun, diantaranya adalah tumor yang diinduksi virus onkogenik dimana antigen virus merupakan antigen asing. Juga tumor yang diinduksi karsinogen poten sering menyebabkan mutasi gen. Tidaklah mengejutkan bahwa sel tumor yang dapat menghindari respons imun akan terseleksi untuk dapat bertahan hidup dan tumbuh lebih lanjut. Pertumbuhan dan penyebaran yang cepat dari tumor dapat melampaui kapasitas system imun untuk membasmi sel tumor, padahal control dari tumor memerlukan eliminasi menyeluruh dari sel tumor. Tumor menggunakan beberapa mekanisme untuk menghindari destruksi oleh sistem imun (gambar 19). Sistem imun dapat diaktivasi dengan stimulus eksterna untuk dapat membunuh dan mengeradikasi sel tumor dengan efektif. Sifat ini selanjutnya dimanfaatkan dalam imunoterapi.



**Gambar 19.** Mekanisme tumor menghindari sistem imun

- Beberapa tumor menghambat ekspresi antigen yang menjadi sasaran serangan sistem imun. Tumor ini disebut sebagai varian yang kehilangan antigen. Jika antigen yang hilang tersebut tidak terlibat dalam pemeliharaan sifat keganasan tumor, maka sel tumor varian tersebut akan terus tumbuh dan menyebar.
- Tumor lain ada yang menghambat ekspresi MHC kelas I, sehingga mereka tidak dapat menyajikan antigen kepada sel T CD8<sup>+</sup>. Sel NK mengenali molekul yang diekspresikan oleh sel tumor, namun tidak pada sel normal, dan sel NK akan teraktivasi jika sel targetnya tidak mempunyai molekul MHC kelas I.
- Tumor mengikat jalur yang menghambat aktivasi sel T. Beberapa tumor mengekspresikan ligan untuk reseptor penghambat sel T, sehingga terjadi penurunan aktivasi sel T setelah pengenalan antigen tumor. Beberapa jenis tumor dapat memicu sel T regulator yang juga menekan respons imun anti tumor.
- Terdapat tumor lain yang dapat mensekresi sitokin immunosupresif, misalnya transforming growth factor  $\beta$ , atau memicu sel T regulator yang menekan respons imun.

D. Penanda tumor

Penanda tumor adalah substansi biologi yang diproduksi oleh sel-sel tumor, masuk dalam aliran darah, dan dapat dideteksi jumlah/ nilainya dengan pemeriksaan. Petanda-petanda tumor, idealnya mempunyai potensi untuk membantu ahli klinik dengan cara memberi sinyal aktivitas penyakit dalam keadaan tidak adanya manifestasi klinik, sehingga dengan demikian memberikan suatu metode skrining untuk penyakit preklinik, memantau status tumor selama pengobatan, dan mendeteksi kekambuhan dini.

Karena kemajuan dalam teknologi antibodi monoklonal, banyak petanda tumor sekarang dapat terdeteksi dalam sampel cairan tubuh yang sedikit misalnya serum, urin, atau asites. Untuk dapat dipakai secara klinik maka petanda tumor harus memiliki sensitivitas dan spesifitas tertentu, tetapi yang menjadi masalah pada pemakaian klinis suatu petanda tumor adalah spesifitas.

Sistem TNM biasa digunakan sebagai penentuan stadium untuk beberapa jenis tumor, dapat ditambah dengan kadar serum penanda tumor pada saat diagnosis atau pada saat terapi dimulai. Selain itu, antibodi terhadap penanda tumor digunakan pada penapisan kelenjar getah bening, darah, dan aspirat sumsum tulang untuk mendeteksi sel tumor. Adanya sel positif antigen tumor dapat diukur dengan sitometri alir yang menggunakan antibodi berlabel fluoresen terhadap antigen terkait tumor, dengan teknik imunositokimia yang lain, dan dengan teknik molekuler yang mencakup *fluorescent in situ hybridization* (FISH) atau *quantitative real-time polymerase chain reaction* (qPCR).

Dalam teori, penanda tumor yang “ideal” harus mempunyai beberapa atribut:

1. Petanda tumor harus dibuat oleh tumor tersebut dan tidak terdapat pada individu sehat atau pada individu yang mengalami kelainan non neoplastik.
2. Petanda tumor disekresikan kedalam sirkulasi dalam jumlah banyak sehingga kadar dalam serum meningkat dalam keadaan adanya sejumlah relatif kecil sel-sel yang bersifat kanker. Kadar petanda tumor akan sesuai dengan volume dan luasnya neoplasia sehingga kadar serialnya secara akurat akan mencerminkan perkembangan klinis penyakit dan regresi ke kadar normal akan terkait dengan kesembuhan.

Penggunaan yang paling umum penanda tumor termasuk :

1. Diagnosis untuk mengkonfirmasi hasil tes lainnya dan gejalanya ( penanda tumor saja tidak digunakan untuk mendiagnosa kanker)
2. Prognosis : untuk memprediksi perilaku kanker itu, respon terhadap pengobatan dan kemungkinan pemulihan.

3. Monitor pengobatan untuk menentukan bagaimana kanker menanggapi pengobatan.
4. Surveillance : untuk menentukan kemungkinan kanker akan kembali setelah perawatan.
5. Skrining untuk menemukan kanker pada orang sehat atau beresiko tinggi sebelum gejalanya timbul.

#### Keterbatasan penanda tumor

Diperlukan tes lain seperti sinar X atau biopsi ( pengangkatan sampel jaringan untuk memeriksa kanker ) yang berguna untuk menentukan apakah tingkat yang lebih tinggi dari suatu penanda tumor tertentu.

- Titer tinggi dari penanda tumor dapat menunjukkan kondisi lain selain kanker.
- Beberapa penanda tumor , mungkin tinggi pada orang tanpa kanker
- Tingkat penanda tumor dapat bervariasi , sehingga sulit untuk mendapatkan hasil yang konsisten.

Kinetik penanda tumor akan bermanfaat apabila menunjukkan kesesuaian dengan adanya keganasan. Bila keganasan hilang karena terapi maka marker juga harus hilang dan kadarnya kembali normal. Apabila kadar tetap tinggi dan meningkat kembali setelah pasca terapi dapat dipastikan masih ada sisa sel atau metastasis. Kadar penanda tumor akan meningkat setelah beberapa waktu pasien dinyatakan sembuh maka ada indikasi kekambuhan. Ada beberapa tumor yang tidak menunjukkan peningkatan penanda tumor sehingga pada kasus tersebut penanda tumor tidak dapat digunakan untuk diagnosis atau pemantauan.

Evaluasi terhadap keberhasilan pengobatan tidak hanya dengan pemeriksaan penanda tumor tapi harus disertai penanda lainnya. Apabila penanda ganas meningkat setelah terapi yang dianggap berhasil maka secara klinik adanya remisi komplit berdasarkan metoda konvensional sehingga perlu dilakukan evaluasi kembali, kecuali ada kondisi lain yang dapat menjelaskan peningkatan kadar

Identifikasi molekuler antigen tumor telah dapat memberikan berbagai informasi mengenai respons imun terhadap tumor. Antigen tumor yang unik dapat digunakan sebagai molekul sasaran untuk dikenal sistem imun untuk dihancurkan secara spesifik. Antigen tersebut dapat dibagi sesuai gambaran ekspresinya pada sel tumor dan sel normal.

#### 1. *Tumor specific antigen (TSA)*

TSA merupakan antigen sasaran ideal untuk terapi imun tumor. Contoh TSA adalah protein yang diproduksi akibat mutasi satu atau lebih gen. Jenis TSA yang lain adalah protein dalam tumor yang diinduksi oleh virus. TSA hanya diekspresikan pada sel

tumor, tidak terdapat pada sel normal, ada yang unik untuk sel tumor tertentu, ada yang ditemukan pada beberapa jenis tumor.

## 2. *Tumor associated antigen (TAA)*

TAA merupakan antigen yang sebenarnya tidak tumor spesifik. TAA terdapat baik pada sel tumor maupun sel normal. Umumnya merupakan bagian dari sel normal yang ekspresinya berlebihan atau tidak terkontrol. Pada sel normal ekspresinya sedikit dan pada sel tumor, ekspresinya berlebihan. Antigen tumor dapat merupakan protein seluler normal, yang diekspresikan secara abnormal pada sel tumor dan merangsang respons imun. Contohnya adalah antigen onkofetal. Antigen tersebut disandi oleh gen yang diekspresikan selama embriogenesis dan perkembangan janin. Gen tersebut menyandi protein yang diduga berperan dalam pertumbuhan cepat sel embrio dan diaktifkan kembali untuk fungsi yang sama pada tumor yang tumbuh cepat. Golongan antigen onkofetal juga diekspresikan testis normal, dikenal sebagai antigen tumor testis, paru, kepala, leher dan kandung kemih. Dewasa ini dikenal lebih dari 50 jenis TAA dan banyak epitop yang sudah diidentifikasi sel T.

Antigen onkofetal adalah protein yang diekspresikan dengan kadar tinggi pada sel kanker dan sel fetal normal, tetapi tidak/hanya sedikit pada sel orang dewasa. Antigen ini sering digunakan sebagai penanda tumor. Perkembangan teknik deteksi yang lebih baik, didapatkan antigen onkofetal tidak hanya meningkat pada sel tumor, tetapi juga bila terdapat inflamasi (peradangan), bahkan pada sel normal dalam jumlah kecil. Dua antigen onkofetal yang dikenal adalah CEA dan AFP (Alfa Feto Protein). Ekspresi CEA yang tinggi terbatas pada usus pankreas dan hati selama masa kehamilan trimester I dan II. Ekspresi yang rendah terlihat pada mukosa colon orang dewasa normal dan menyusui. Ekspresinya meningkat pada karsinoma kolon, pankreas, hati dan payudara. Peningkatan kadar CEA dapat dideteksi dalam serum pasien. Kadarnya dalam serum digunakan untuk monitor menetapnya atau rekurensi tumor setelah terapi.

Jenis TAA yang lain adalah *tissue-specific differentiation antigen*, protein yang diekspresikan pada sel yang menjadi tumor dan ekspresinya ditemukan terus sesudah transformasi neoplastik. Jadi antigen tersebut menunjukkan asal jaringan tumor.

- Melanoma differentiating antigen gp 100

- Protein Bence-Jones dan Imunoglobulin Monoklonal yang digunakan untuk memastikan diagnosis pada pasien multipel mieloma. Protein bence-jones adalah rantai ringan immunoglobulin yang ditemukan di dalam urine pasien multipel mieloma.
- Mikroglobulin beta-2, adalah komponen molekul kelas I dan karenanya berada di seluruh sel bernukleus. Namun kadar serum mikroglobulin beta-2 meningkat pada diagnosis multipel myeloma, leukemia limfositik kronik, dan beberapa limfoma.
- PSA (*Prostate Specific Antigen*) diekspresikan jaringan prostat normal dan dengan tumor. PSA merupakan protease dalam cairan semen, meningkatkan motilitas sperma. PSA terdapat dalam jumlah rendah di dalam serum pria normal, dan meningkat seiring dengan usia dan ukuran prostat yang meningkat. Dengan menggunakan batas 4 ng/ml, semakin tinggi kadar PSA, semakin besar kemungkinan pasien menderita kanker prostat. Adalah penanda tumor untuk kanker prostat, satu-satunya marker untuk skrining kanker jenis umum. Suatu protein yang dibuat sel glandula prostat yang dibuat sel glandula prostat pada laki – laki yang berfungsi yang berfungsi membuat cairan semen. Kadar PSA meningkat pada kanker prostat. Pasien dengan benign prostate hyperplasia ( BPH ) kadang menunjukkan peningkatan kadar PSA. Kadar PSA bukan kanker kurang dari 4 ng/mL, kadar lebih dari 10 ng/mL diindikasikan kanker, sedang kadar antara 4 – 10 ng/mL merupakan daerah abu – abu ( grey zone ) dan biasanya dokter akan melakukan biopsi.
- *Carcinoembryonic antigen* (CEA), dapat dilepas ke dalam sirkulasi, ditemukan dalam serum penderita dengan berbagai neoplasma. Kadar CEA meningkat (di atas 2,5 mg/ml) ditemukan dalam sirkulasi penderita tumor kolon, tumor pancreas, beberapa jenis tumor paru, payudara, dan lambung. CEA telah ditemukan pula dalam darah penderita nonneoplastik seperti emfisema, colitis ulseratif, pankreatitis, peminum alkohol, dan perokok. Sehingga dengan timbulnya positif palsu berlebihan, dan beberapa tumor memberikan hasil negatif, sehingga kombinasi kedua masalah tersebut menghalangi pemakaian CEA sebagai penanda penapisan.
- CA 15-3 dan CA 27-29 merupakan assay untuk penanda kanker payudara. CA 15-3 diukur dengan assay sandwich sedangkan CA 27-29 dengan assay

kompetitif. Peningkatan kadar ditemukan 70% pada pasien dengan stadium lanjut. Terutama untuk monitoring kanker payudara. Peningkatan kadar Ca 15-3 darah dijumpai pada kurang dari 10 % pasien dengan stadium awal dan sekitar 70 % pasien dengan stadium lanjut. Kadar biasanya turun seiring keberhasilan terapi. Kadar normal biasanya kurang dari 25 U/mL, tapi kadar sampai 100 U/mL kadang dijumpai pada wanita sehat.

- CA 19-9, digunakan dalam memantau perjalanan penyakit pasien kanker pancreas dan kanker hepatobiliaris. CA-19-9 meningkat dalam serum dari 29% sampai 48% wanita penderita kanker ovarium. Beberapa dari wanita ini tidak mengalami peningkatan CA-125. CA-19-9 dapat berguna dalam memantau pasien-pasien penderita tumor musinus. Suatu proporsi kecil pasien-pasien penderita kanker serviks atau endometrium juga telah meningkat kadar CA-19-9 nya.

Walaupun pada awalnya dikembangkan untuk deteksi kanker colorectal, tapi ternyata lebih sensitif terhadap kanker pankreas. Kadar normal kurang dari 37 U/mL. Kadar yang tinggi pada awal diagnosis menunjukkan stadium lanjut dari kanker. Calcitonin adalah hormon yang diproduksi sel tertentu ( parafollicular C Cells ) pada glandula tiroid yang secara normal membantu regulasi kadar kalsium darah. Kanker pada Parafollicular C Cells yang disebut medullary thyroid carcinoma ( MTC ) menyebabkan peningkatan kadar hormon calcitonin dalam darah.

- CA 125, penanda tumor yang digunakan untuk memantau respon pembedahan dan terapi pada wanita yang menderita kanker ovarium. CA-125 merupakan suatu glikoprotein permukaan sel dengan berat molekul tinggi mencapai lebih dari 1000 kDa. Tidak seperti halnya banyak petanda tumor glikoprotein permukaan sel lainnya, CA-125 tidak dianggap sebagai suatu musin karena kandungan karbohidratnya (24%) kurang dari 50%. Fungsi fisiologisnya normal tidak diketahui, tetapi dilepaskan dari permukaan sel dan telah terdeteksi pada cairan amniotik, mukus servikal, lumina kelenjar endometrium, cairan semen, sekresi bronkhial, cairan peritoneum, dan serum dari individu2 yang kelihatannya sehat. Pada orang dewasa, CA-125 terdapat pada permukaan sel-sel yang merupakan lini tuba fallopii, endometrium, endoserviks, peritoneum, pleura, perikardium, dan bronkhus. Pada Ovarium normal Ca 125 ini hanya sedikit dijumpai., meskipun antigen tersebut kadang-kadang ditemukan dalam ovarium pada kista inklusi, ekskresi papilari jinak, ketika epitelium mengalami metaplasia tubal. Ca-125 merupakan suatu

petanda cukup spesifik untuk kanker ovarium. Peningkatan kadar serum telah ditemukan pada kebanyakan pasien penderita metastatik endometrium, tuba fallopii, endoservik, dan karsinoma pankretik, dan juga pada beberapa pasien penderita kanker payudara, paru dan kolon. Insiden yang paling tinggi dari peningkatan Ca-125 pada kanker non ginekologi terlihat pada kanker pankreas (60%). Secara konsekuen, Ca-125 tidak bermanfaat untuk menentukan asal dari adenokarsinoma dimana tempat primernya tidak terlihat.

Merupakan penanda tumor standar untuk memonitoring selama / setelah terapi kanker epitel ovarium. Kadar normal biasanya kurang dari 30 – 35 U/mL. Lebih 90 % dengan kanker stadium lanjut memiliki kadar Ca 125 tinggi.

- *AFP (Alpha 1-FetoProtein)* merupakan glikoprotein dalam sirkulasi, yang pada keadaan normal disintesis dan disekresi oleh *yolk sac* dan hati selama masa fetal. Pada orang dewasa protein ini digantikan oleh albumin dan kadar AFP serum dewasa sangat rendah. Peningkatan yang bermakna terlihat dengan kadar tinggi dalam serum fetus normal, eritroblastoma testis (karsinoma testis) dan hepatoma (kanker hati) dan kadang-kadang kanker lambung dan pancreas. Peningkatan kadar AFP dalam serum merupakan indikator yang baik untuk rekurensi tumor hati dan germ sel pasca terapi. Nilai diagnostic dari AFP berkurang karena kadarnya juga meningkat pada penyakit non neoplastik seperti sirosis hati.
- Human Chorionic Gonadotropin (hCG),  
adalah penanda tumor seperti AFP, meningkat pada kanker testis nonseminomatosus. hCG meningkat pada tumor trofoblastik gestasional dan tumor sel germinativum. Sinsitiotrofoblas plasenta mensekresikan suatu glikoprotein heterodimer dengan berat molekul 36.700. Glikosilasi peptida tulang belakang berperan untuk menstabilkan molekul tersebut dan memperpanjang masa hidup dalam serum. hCG mempunyai kesamaan struktural dan fungsional dengan LH (luteinizing hormone). Kedua hormon ini mempunyai segmen beta yang berbeda dan sub unit alfa yang identik. Dengan demikian, assay untuk hCG biasanya menggunakan antibodi monoklonal yang spesifik untuk sub unit beta untuk menghindari reaktivitas silang dengan LH. Dalam keadaan tidak adanya kehamilan, kadar hCG serum pada wanita yang tidak mengalami kanker di bawah kisaran sensitivitas pada kebanyakan assay. Aplikasi hCG yang paling umum pada onkologi ginekologi adalah dalam mendiagnosa dan manajemen penyakit trofoblastik kehamilan (GTD). Petanda ini juga meningkat pada lebih kurang 70% kanker testikular non seminomatous

dan kadang-kadang pada penyakit gastrointestinal jinak. Sebagai tambahan, produksi ektopik sejumlah kecil hCG oleh kanker yang timbul dari sel-sel yang secara normal tidak memproduksi hormon ini akan dapat terjadi. Setiap peningkatan petanda ini dalam keadaan tidak adanya kehamilan memberi peringatan follow-up untuk menyingkirkan keganasan.

Aplikasi Petanda Tumor pada Keganasan Ginekologi.

Penggunaan macam macam petanda tumor, dapat diklasifikasikan sebagai berikut :

1. Deteksi dini atau uji saring untuk kanker primer
2. Diagnosis
3. Menentukan tingkat keganasan (tumor staging) sebelum dilakukan terapi
4. Deteksi adanya kekambuhan dan metastase
5. Evaluasi prognosis
6. Pemantauan respon terhadap terapi

## Latihan

**Untuk dapat memperdalam pemahaman Anda mengenai materi di atas, kerjakanlah Latihan berikut!**

- 1) Apa sajakah jenis utama antigen tumor yang dikenali dan ditanggapi oleh sistem imun.
- 2) Mekanisme apa sajakah yang digunakan tumor untuk menghindari sistem imun.
- 3) Sistem imun yang terlibat dalam penolakan tumor.
- 4) Macam-macam penanda tumor
- 5) Perbedaan TAA dan TSA

## Ringkasan

1. Antigen tumor dapat merupakan produk onkogen atau gen penekan tumor, protein seluler yang bermutasi, molekul yang berstruktur normal yang diekspresikan berlebihan atau menyimpang atau suatu virus onkogenik.
2. Sel tumor mengekspresikan antigen tumor spesifik dan antigen umum yang berhubungan dengan tumor. Sebaliknya dari antigen tumor yang diinduksi virus dimiliki semua tumor yang diinduksi oleh virus yang sama.

3. Tumor dapat menghindari respons imun dengan menghilangkan ekspresi antigennya, menghentikan ekspresi molekul MHC atau molekul lain yang terlibat, mengekspresikan ligan untuk reseptor penghambat sel T, serta memicu sel regulator atau mensekresi sitokin yang menekan respons imun.
4. Penolakan tumor terutama diperantarai oleh CTL yang mengenali peptida yang berasal dari antigen tumor. Induksi respons CTL seringkali melibatkan penangkapan sel tumor atau antigennya oleh sel dendritik atau makrofag dan penyajian sel tersebut ke sel T. Selain itu juga melibatkan sel NK dan terbentuknya antibodi.
5. Ada bukti keterlibatan sistem imun pada tumor.
6. Respons imun terhadap tumor sangat kompleks dengan melibatkan komponen seluler dan humoral, respon imun non spesifik dan respon imun spesifik.
7. Tumor dapat menstimulasi maupun mensupresi respons imun.
8. Sel tumor berbeda dari sel normal oleh karena perubahan regulasi pertumbuhan, sehingga memungkinkannya untuk berproliferasi tanpa batas, sehingga dapat menginvasi jaringan sekitar dan menyebar ke jaringan lain.

## Tes 1

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

- 1) Sistem imun akan bereaksi terhadap segala sesuatu yang asing bagi tubuh atau disebut antigen, begitu juga pada keadaan penyakit tumor. Salah satunya adalah antigen viral. Antigen tersebut berupa ....
  - A. Protein yang diekspresikan tidak lazim
  - B. Produk dari virus
  - C. Produk onkogen
  - D. Produk dari gen yang mengalami mutasi
  
- 2) Respon imunitas humoral terhadap tumor terjadi melalui mekanisme...
  - A. Pengaktifan CTL
  - B. Pengikatan antigen tumor oleh sel NK
  - C. Lisis dan opsonisasi oleh antibodi dan komplemen
  - D. Apoptosis oleh makrofag
  
- 3) Peran sel NK dalam respon imun terhadap tumor yaitu melalui mekanisme...
  - A. Pelepasan protease, perforin dan granzim
  - B. Pelepasan superoksida dan oksida nitrit
  - C. Pengikatan dengan MHC kelas I

D. Oponisasi

- 4) Jenis antigen tumor yang belum spesifik dan mengalami peningkatan dalam sirkulasi penderita dengan neoplasma maupun nonneoplastik seperti tumor kolon, pancreas, paru, payudara, lambung, emfisema, pancreatitis yaitu ...
- A. PSA
  - B. AFP
  - C. CA 125
  - D. CEA

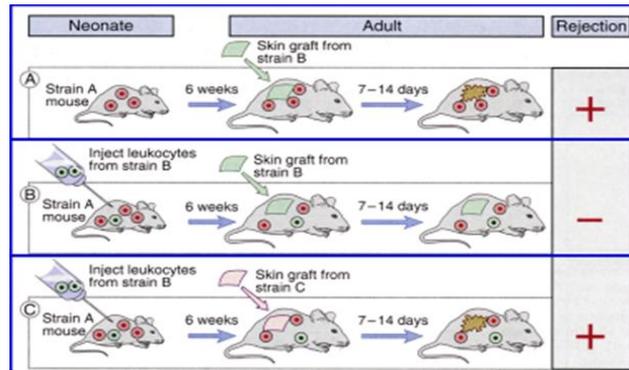
# Topik2

## Imunologi Transplantasi

### A. TRANSPLANTASI JARINGAN DAN ORGAN

Pertahanan tubuh kita dirancang untuk melindungi kita dari ancaman yang berasal dari lingkungan. Untuk mencapai keadaan demikian system tubuh kita bekerja untuk (1) mencegah ancaman potensial agar tidak masuk dalam tubuh (2) menolak dan menghancurkan ancaman tersebut bila masuk dalam tubuh. Transplantasi merujuk pada pemindahan sel-sel dan atau jaringan maupun organ dari satu orang ke orang lainnya. Puluhan ribu transplan jantung, hati, pancreas, paru, dan ginjal dilakukan setiap tahun. Namun, transplant ginjal yang berhasil baru dilakukan selama kurang lebih 50 tahun. Upaya-upaya awal (pertama kali pada manusia tahun 1935) berujung pada penolakan segera karena ketidakcocokan golongan darah. Transplant ginjal yang berhasil pertama kali dilakukan di antara kembar identik pada tahun 1954.

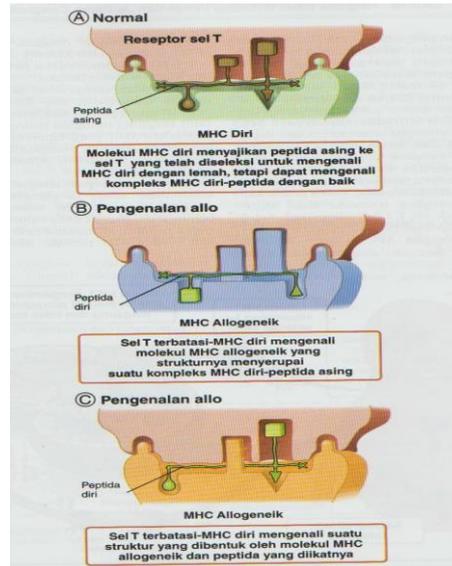
Rintangan utama pada transplantasi organ adalah kurangnya ketersediaan organ dan penolakan imun terhadap organ yang ditransplantasikan akibat ketidakcocokan imun donor-resipien. Individu yang memberikan jaringan cangkok disebut donor, individu yang menerima jaringan cangkok adalah resipien/inang. Jaringan atau organ yang ditransplantasikan disebut sebagai tandur/cangkok (*graft*) ( Gambar 20). Terdapat bermacam-macam jenis tandur yaitu: (1) autograft adalah suatu tandur dari orang yang sama (tandur diperoleh dari satu orang dan ditransplantasikan ke bagian anatomis yang berbeda pada orang yang sama, misalnya potongan kulit pada pasien luka bakar). Karena autograft diperoleh dari orang yang sama, cangkok secara genetik identik terhadap orang tersebut dan diterima. (2) isograft, yaitu suatu tandur yang diperoleh dari seorang individu yang secara genetik identik dengan resipien, misalnya dari kembar identik, juga diterima. (3) allograft, merupakan suatu tandur dari individu yang secara genetik berbeda dari spesies yang sama, misal manusia ke manusia. Teknologi terkini juga menyelidiki pemakaian xenograft, yang merupakan tandur dari spesies yang berbeda, misal dari primata non-manusia ke manusia.



**Gambar 20.** Mekanisme penerimaan dan penolakan setelah transplantasi

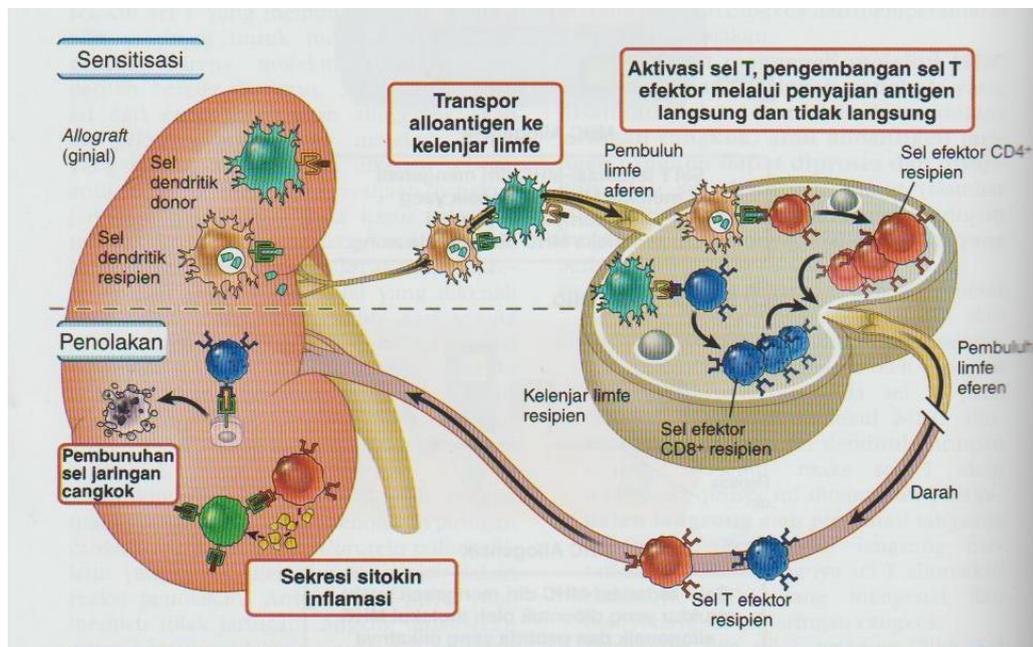
Allograft dan xenograft akan selalu ditolak oleh resipien dengan sistem imun normal. Antigen yang menjadi sasaran penolakan dinamakan alloantigen dan xenoantigen, sedangkan antibodi dan sel T yang bereaksi melawan antigen tersebut disebut alloreaktif dan xenoreaktif. Antigen allografts yang menjadi sasaran utama reaksi penolakan adalah protein yang disandi oleh gen MHC (*Major Histocompatibility Complex*). Gen dan molekul MHC homolog terdapat pada semua mamalia. MHC manusia disebut sebagai kompleks *human leukocyte antigen* (HLA). Fungsi fisiologi molekul MHC adalah menyajikan antigen untuk dikenali limfosit T. Harap diingat bahwa setiap orang mengekspresikan 6 alel MHC kelas I (satu alel HLA-A, -B, dan -C dari masing-masing orangtua (ayah dan ibu)), dan biasanya lebih dari 8 alel MHC kelas II (satu alel HLA-DQ dan -DP, satu atau dua -DR dari masing-masing orangtua, serta beberapa kombinasi dari HLA tersebut). Gen MHC bersifat sangat poliformik, dengan lebih dari 13.000 alel HLA pada seluruh manusia, menyandi sekitar 2200 protein HLA-A, 2900 protein HLA-B, dan 1300 protein DR B. Karena alel-alel ini dapat diwariskan dan diekspresikan dalam berbagai kombinasi, maka setiap individu kemungkinan besar akan mengekspresikan protein MHC yang berbeda dengan individu yang lain, sehingga akan terlihat sebagai antigen asing oleh sistem imun individu yang berbeda, kecuali pada kasus kembar identik. Anda dapat melihat ilustrasinya di link berikut <https://www.youtube.com/watch?V=t9TvTmddanE>

Respons terhadap antigen MHC oleh sel dari individu yang berbeda adalah salah satu respons imun terkuat yang diketahui. Reseptor sel T (TCR) terhadap antigen telah berkembang untuk mengenali molekul MHC, yang sangat penting untuk pengawasan sel yang membawa mikroba infeksius. Sebagai hasil seleksi positif di timus, sel T matur yang mempunyai afinitas terhadap MHC diri (self) akan tetap hidup, dan sebagian sel tersebut akan mempunyai afinitas tinggi terhadap MHC diri yang menyajikan peptida asing. Molekul MHC allogeneik dapat kelihatan seperti molekul MHC diri yang mengikat peptida asing (gambar 21). Oleh karena itu pengenalan molekul MHC allogeneik dalam allograft merupakan sebuah contoh dari reaksi silang.



Gambar 21. Pengenalan MHC oleh limfosit T

Untuk menimbulkan respons imun anti jaringan cangkok, alloantigen dari jaringan cangkok dibawa oleh sel dendritik ke kelenjar limfe terdekat, di mana mereka akan dikenali oleh sel T alloreaktif (gambar 22).

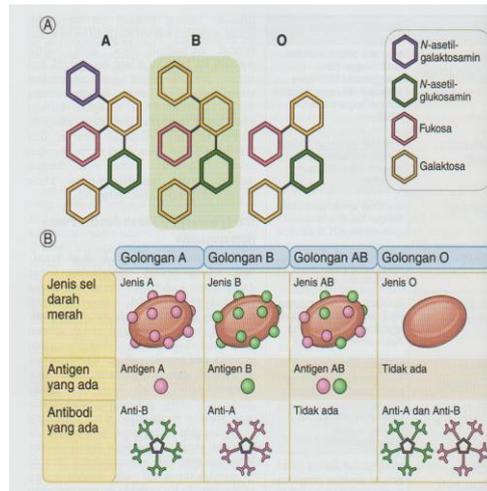


Gambar 22. Respon imun terhadap jaringan cangkok

Sel dendritik yang menyajikan alloantigen juga memberi kostimulator sehingga dapat merangsang sel T-helper maupun CTL alloreaktif. Sel T efektor yang dihasilkan proses tersebut akan kembali ke darah menuju jaringan cangkok dan memperantarai terjadinya penolakan. Sel T resipien dapat mengenali molekul MHC allogeneik donor pada sel dendritik jaringan cangkok, sehingga sel T akan teraktivasi. Proses ini dinamakan pengenalan langsung atau presentasi langsung alloantigen. Selain itu, dapat juga melalui pengenalan allo tidak langsung. Yaitu jika sel jaringan cangkok (alloantigen) diambil oleh sel dendritik resipien/inang yang kemudian diproses dan dipresentasikan oleh molekul MHC diri pada APC resipien tersebut. Proses ini serupa dengan presentasi silang antigen tumor seperti yang dibahas sebelumnya.

Meskipun molekul MHC adalah antigen utama yang mencetuskan penolakan jaringan cangkok, terdapat protein-protein poliformik lain yang juga mempunyai peran dalam reaksi penolakan. Antigen non-MHC yang memicu tolak jaringan cangkok dinamakan *minor histocompatibility antigens*, dan sebagian besar adalah protein seluler normal yang berbeda urutan antara donor dan resipien. Reaksi penolakan yang ditimbulkan oleh *minor histocompatibility antigens* biasanya tidak sekuat dengan reaksi terhadap protein MHC asing. Dua keadaan klinis di mana antigen minor merupakan sasaran penting penolakan adalah transfusi darah serta transplantasi sel punca hematopoietik.

Transfusi darah merupakan transplantasi sel darah yang merupakan bentuk transplantasi tertua dalam dunia kedokteran klinis. Penghalang utama transfusi adalah adanya antigen golongan darah asing (*blood group antigens*), di mana prototipenya adalah antigen ABO (gambar 23). Antigen tersebut diekspresikan di sel darah merah, sel endotel, dan banyak jenis sel lainnya. Antigen ABO adalah karbohidrat pada glikoprotein atau glikosphingolipid membran yang mempunyai suatu glikan inti yang mungkin mempunyai tambahan gula terminal. Antigen golongan darah A dan B mempunyai gula terminal yang berbeda (N-acetylgalaktosamin pada antigen A, dan galaktosa pada B). Individu dengan golongan darah AB mengekspresikan kedua jenis gula terminal tersebut pada molekul glikolipid yang berbeda, sedangkan individu dengan golongan darah O mengekspresikan glikan inti namun tidak mengekspresikan kedua gula terminal.



Gambar 23. Antigen

Golongan Darah ABO

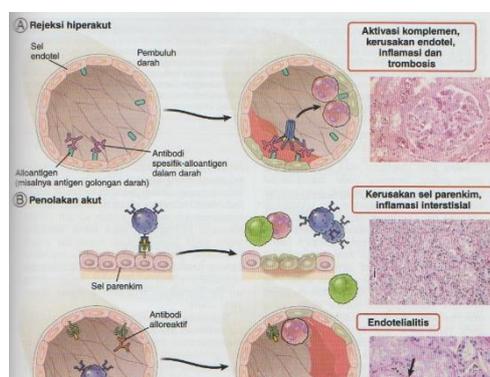
Individu yang mengekspresikan salah satu antigen golongan darah akan bersifat toleran terhadap antigen tersebut, namun mempunyai antibodi terhadap antigen golongan darah lainnya, sedangkan individu golongan darah O mempunyai baik antibodi anti A maupun anti B. Antibodi tersebut dihasilkan terhadap antigen yang diekspresikan oleh mikroba intestinal dan bereaksi silang dengan antigen golongan darah ABO. Antibodi yang telah terbentuk ini bereaksi dengan sel darah yang ditransfusikan yang mengekspresikan antigen sasaran, sehingga dapat terjadi reaksi transfusi berat. Masalah ini dapat dihindari dengan mencocokkan golongan darah donor dan resipien, dan oleh karena antigen golongan darah merupakan senyawa gula, maka tidak akan memicu respon sel T. Antigen golongan darah selain antigen ABO juga terlibat dalam reaksi transfusi, dan biasanya lebih ringan. Salah satu contoh penting adalah antigen Rh, yang merupakan protein membran sel darah merah yang dapat menjadi sasaran antibodi maternal, dan dapat menyerang janin ketika janin tersebut mengekspresikan Rh paternal sedangkan si ibu tidak mempunyai antigen tersebut.

Transplantasi sel punca hematopoietic semakin banyak digunakan untuk mengoreksi kelainan hematopoietic, untuk memulihkan sumsum tulang yang rusak karena iradiasi dan kemoterapi untuk kanker, serta untuk mengobati leukemia. Transplantasi sel punca hematopoietic mempunyai beberapa masalah khusus. Sebelum transplantasi, sebagian sumsum tulang resipien harus dihancurkan untuk membentuk ruangan yang dapat ditempati oleh sel punca yang akan ditransplantasikan. Depleksi sumsum tulang resipien ini pasti akan menyebabkan defisiensi sel darah, termasuk sel imun, mengakibatkan terjadinya defisiensi imun yang dapat serius. Meskipun cangkok jaringan berhasil, resipien seringkali mengalami imunodefisiensi berat ketika sistem imun mereka sedang dipulihkan kembali. Walaupun begitu, transplantasi sel punca hematopoietic merupakan suatu terapi yang berhasil untuk mengatasi berbagai jenis penyakit yang mengenai sistem hematopoietic serta limfoid.

## B. MEKANISME REAKSI PENOLAKAN PADA TRANSPLANTASI

Penolakan jaringan cangkok diklasifikasikan menjadi hiperakut, akut, dan kronik berdasarkan gambaran klinis dan patologis (gambar 4.7 dan 4.8). Klasifikasi ini dirancang berdasarkan penolakan allograft ginjal, dan tetap bertahan baik sampai sekarang.

1. **Penolakan hiperakut**, terjadi hanya dalam hitungan menit setelah transplantasi dan ditandai dengan thrombosis pembuluh darah serta nekrosis iskemik jaringan cangkok. Penolakan ini diperantarai oleh antibodi di dalam darah yang spesifik untuk antigen pada sel endotel jaringan cangkok dan telah ada sebelum transplantasi. Antibodi yang telah terbentuk sebelumnya ini dapat berupa antibodi IgM alami spesifik terhadap molekul MHC allogeinik karena transfusi darah sebelumnya, kehamilan, atau transplantasi organ. Penolakan hiperakut ini bukan merupakan masalah umum pada transplantasi klinis, karena setiap donor dan resipien dicocokkan jenis darahnya dan dilakukan tes *cross-match* (resipien dites adanya antibodi terhadap sel calon donor).
2. **Penolakan akut**, terjadi dalam hitungan hari atau minggu setelah transplantasi, dan merupakan penyebab utama terjadinya kegagalan cangkok jaringan dini. Penolakan akut diperantarai oleh sel T dan antibodi spesifik terhadap alloantigen pada jaringan cangkok. Sel T dapat berupa CTL CD8<sup>+</sup> yang langsung menghancurkan sel jaringan cangkok atau sel CD4<sup>+</sup> yang mensekresi sitokin dan memicu inflamasi, yang akan menghancurkan jaringan cangkok. Sel T juga bereaksi terhadap sel-sel dalam pembuluh darah jaringan cangkok, sehingga menyebabkan kerusakan vaskular. Antibodi berperan terutama pada komponen vascular pada penolakan akut. Kerusakan pada pembuluh darah jaringan cangkok yang diperantarai antibodi terutama disebabkan oleh aktivasi komplemen melalui jalur klasik.
3. **Penolakan kronik**, adalah suatu bentuk kerusakan jaringan cangkok yang berlangsung berbulan-bulan sampai bertahun-tahun, menyebabkan hilangnya fungsi jaringan cangkok yang progresif. Penolakan kronik dapat bermanifestasi sebagai fibrosis pada jaringan cangkok serta penyempitan pembuluh darah secara bertahap, dinamakan arteriosklerosis jaringan cangkok. Penyebab lesi tersebut adalah sel T yang bereaksi melawan alloantigen jaringan cangkok dan mensekresi sitokin yang merangsang proliferasi dan aktivitas fibroblast dan sel otot polos vaskular di jaringan cangkok. Alloantibodi juga berperan pada penolakan kronik.



**Gambar 24.** Mekanisme dan histopatologi penolakan jaringan cangkok

Ilustrasi singkat rangkuman imunologi transplantasi dapat juga dilihat pada video ini:  
<https://www.youtube.com/watch?v=cfDwqRExemI>

## Latihan

**Untuk dapat memperdalam pemahaman Anda mengenai materi di atas, kerjakanlah Latihan berikut!**

- 1) Jenis transplantasi atau cangkok.
- 2) Respons imun terhadap jaringan atau organ yang dicangkokkan.
- 3) Mekanisme reaksi penolakan pada transplantasi .
- 4) Contoh transplantasi

## Ringkasan

1. Transplantasi adalah proses memindahkan sel-sel atau jaringan dari satu orang ke orang lainnya.
2. Tujuan transplantasi secara keseluruhan adalah untuk menggantikan sel atau jaringan, biasanya karena sel atau jaringan tersebut rusak ( misalnya malfungsi atau disfungsi organ). Karena mayoritas pemindahan ini terjadi antara dua individu dari spesies yang sama yang tidak identic secara genetik , salah satu rintangan utama dalam transplantasi

adalah respon imun dari resipien terhadap sel atau jaringan donor. Bentuk transplantasi tersering adalah transplantasi darah dari orang satu ke orang lainnya.

3. Jenis transplantasi atau cangkok yaitu autograft, isograft, allograft, dan xenograft.
4. Respons imun terhadap jaringan atau organ yang dicangkokkan melalui antigen allografts yang dikenali sel T adalah molekul MHC allogeneik yang serupa dengan MHC diri yang membawa antigen di mana sel T telah diseleksi mengenalinya. Antigen jaringan cangkok dapat langsung dipresentasikan kepada sel T resipien atau ditangkap dan dipresentasikan oleh APC inang.
5. Mekanisme reaksi penolakan pada transplantasi terdiri dari penolakan hiperakut, akut, dan kronik.

## Tes 2

**Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!**

- 1) Suatu transplantasi yang dilakukan dari orang yang sama namun bagian anatomis yang berbeda cenderung dapat diterima. Transplantasi tersebut dinamakan ...
  - A. isograft
  - B. autograft
  - C. allograft
  - D. xenograft
- 2) Suatu allograft ataupun xenograft akan selalu ditolak oleh resipien dengan sistem imun normal. Antigen allograft yang menjadi sasaran utama reaksi penolakan adalah protein yang disandi oleh ...
  - A. gen MHC
  - B. sel limfosit T
  - C. CTL
  - D. APC
- 3) Respon imun terhadap jaringan cangkok dimulai dari alloantigen dari jaringan cangkok dibawa oleh sel dendritik ke kelenjar limfe terdekat di mana mereka akan dikenali oleh...
  - A. sel dendritik
  - B. antibodi
  - C. sel limfosit T

- D. sel limfosit B
- 4) Mekanisme reaksi penolakan pada transplantasi ada 3 jenis. Satu diantaranya adalah reaksi yang terjadi dalam hitungan hari atau minggu setelah transplantasi. Reaksi tersebut dinamakan ...
- A. Penolakan hiperakut
  - B. Penolakan akut
  - C. Penolakan kronik
  - D. Penolakan superakut

## Kunci Jawaban Tes

### **Test Formatif 1**

- 1) B.
- 2) C.
- 3) A.
- 4) D.

### **Test Formatif 2**

- 1) B
- 2) A.
- 3) C.
- 4) B.

# **Glosarium**

- ADCC : Antibody Dependent Cell-Mediated Cytotoxicity, Proses efek sel NK yang mengekspresikan reseptor untuk IgG yaitu CD 16 terhadap sel sasaran yang dilapisi dengan IgG sehingga terjadi lisis.
- CTL : Cytotoxic T-Lymfocyte, jenis limfosit yang fungsi efektor utamanya mengenal dan membunuh sel pejamu yang terinfeksi virus atau mikroba intraseluler lain. CTL biasanya mengekspresikan CD8 yang mengenal peptide mikroba yang dipresentasikan MHC kelas I. CTL membunuh sel yang terinfeksi melalui pelepasan granul sitoplasma yang berisikan protein dan enzim yang dapat membuat lubang-lubang membran sel.
- Onkofetal : Antigen yang pada keadaan normal hanya diekspresikan pada janin , tetapi dapat diekspresikan pada orang dewasa dengan keganasan.
- Onkogen : Gen yang menyandi protein yang dapat menginduksi transformasi seluler.
- Perforin : Protein yang membuat lubang-lubang homolog dengan protein komplemen C9. Ditemukan sebagai monomer dalam granul CTL dan sel NK. Bila perforin dilepas dari granul CTL atau sel NK yang diaktifkan akan menimbulkan polimerisasi dalam lapisan lipid membrane plasma sel sasaran dan membuat saluran. Saluran tersebut dapat mengalirkan enzim asal granul CTL masuk ke dalam sel sehingga terjadi lisis osmotik dinding sel sasaran.

## Daftar Pustaka

Abbas A.K, Lichtman A.H., Pillai S. 2016. *Imunologi Dasar Abbas: Fungsi dan Kelainan Sistem Imun*. Edisi 5. Editor: Handono Kalim. Singapore: Elsevier.

Baratawidjaja K.G., Rengganis I., 2009. *Imunologi Dasar*. Edisi 8. Jakarta: Balai Penerbit FK UI.

Rittenhouse-Olson, Kate, Ernesto de nardin, 2016. *Imunologi Dan Serologi Klinis Modern: Untuk Kedokteran Dan Analisis Kesehatan (MLT/CLT)*, Alih Bahasa: Dian Ramadhani, et al. Jakarta: EGC.

# Bab 5

## IMUNOPROFILAKSIS DAN IMUNOLOGI INFEKSI

*Retno Martini Widhyasih, S.Si,M.Biomed*

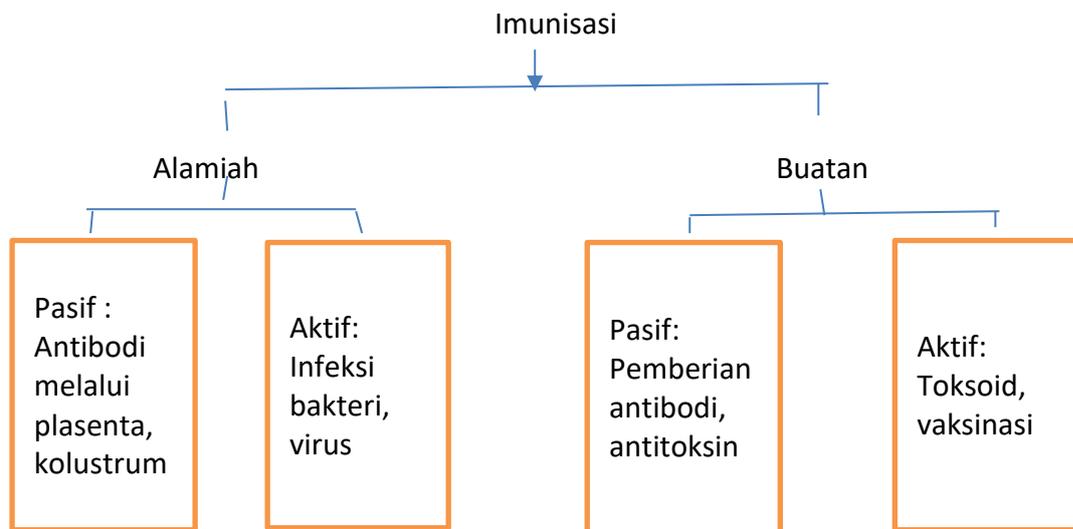
### Pendahuluan

**P**encegahan penyakit infeksi dengan imunoprolifaksis (imunisasi) merupakan kemajuan yang besar dalam dunia kedokteran. Cacar yang merupakan penyakit yang sangat ditakuti, berkat imunisasi massal, sekarang telah dapat dilenyapkan dari muka bumi ini. Demikian juga dengan polio yang dewasa ini dapat di eradikasi di banyak negara.

Imunoglobulin G pada umumnya efektif dalam darah, juga dapat melewati plasenta dan memberikan imunisasi pasif pada kepada janin. Adanya transfer pasif tersebut dapat merugikan oleh karena Ig maternal dapat menghambat imunisasi yang efektif pada bayi. Sehingga sebaiknya imunisasi pada neonatus ditunggu sampai antibodi ibu menghilang dari darah anak. Antibodi yang diberikan pasif menunjukkan efek yang sama. Imunitas seluler (Sel T, makrofag) yang diinduksi vaksinasi adalah esensial untuk mencegah dan eradikasi bakteri, protozoa, virus, jamur intraseluler. Oleh karena itu, imunisasi harus diarahkan untuk menginduksi baik respon imun humoral maupun seluler, respons CD4 atau CD8, respons Th1 atau Th2 sesuai dengan yang dibutuhkan. Untuk infeksi cacing dipilih induksi imunitas Th2 yang memacu produksi IgE, sedang untuk proteksi terhadap mikobakteri dipilih respon imun Th1 yang mengaktifkan makrofag (DTH).

Imunisasi atau vaksinasi adalah prosedur untuk meningkatkan derajat imunitas protektif dengan memberikan imunitas protektif dengan menginduksi respons memori terhadap patogen tertentu atau toksin dengan menggunakan preparat antigen nonvirulen/nontoksik. Antibodi yang diproduksi oleh imunisasi harus harus efektif terutama terhadap mikroba ekstraseluler dan produknya (toksin). Mengingat respons yang kuat baru timbul beberapa minggu, imunisasi aktif biasanya diberikan jauh sebelum pajanan dengan patogen.

Imunoprofilaksis terjadi melalui imunisasi aktif atau pasif. Pada imunisasi aktif, respons imun terjadi setelah seseorang terpapar dengan antigen. Imunisasi pasif terjadi bila seseorang menerima antibodi atau produk sel lainnya dari orang lain yang mendapatkan imunisasi aktif. Terjadinya imunisasi alamiah dan buatan (aktif dan pasif) terlihat pada gambar 25.



Gambar 25. Terjadinya imunitas spesifik

# Topik 1

## Imunisasi Aktif dan Imunisasi Pasif

### A. TUJUAN IMUNISASI

Pada sebagian besar hewan, gabungan antara resistensi bawaan dan stimulasi respons adaptif/didapat oleh antigen sudah cukup untuk mengatasi infeksi yang umum (jika tidak, spesies tidak dapat bertahan hidup). Namun demikian, sistem imun mempunyai kelemahan, dan kelemahan ini dapat diatasi dengan bantuan dari luar. Penggunaan vaksin mungkin telah lebih banyak menyelamatkan nyawa dibandingkan intervensi medis yang lain saat ini.

Mekanisme imun bawaan umumnya bekerja dengan melawan tantangan yang diberikan, baik segera maupun tidak sama sekali. Di lain pihak, respon imun adaptif mempunyai kelemahan karena muncul dengan lambat, sehingga mungkin antibodi berkadar tinggi mungkin terlambat untuk mencegah kematian atau kecacatan.

Imunisasi spesifik dapat bersifat aktif, dimana antigen digunakan untuk membangkitkan memori imunologis secara aman. Pencegahan sebelum terjadi pemaparan umumnya dilakukan sebagai imunisasi aktif pada anak. Imunisasi pasif merupakan bentuk lain dari tindakan tersebut adalah pemberian globulin imun atau dilakukan setelah terjadi pemaparan misalnya pemberian globulin imun terhadap rabies, toksoid dan antitoksin terhadap toksin difteri dan tetanus dan globulin imun terhadap Hepatitis B. Efek yang ditimbulkan lebih cepat namun berjangka pendek.

### B. IMUNISASI AKTIF

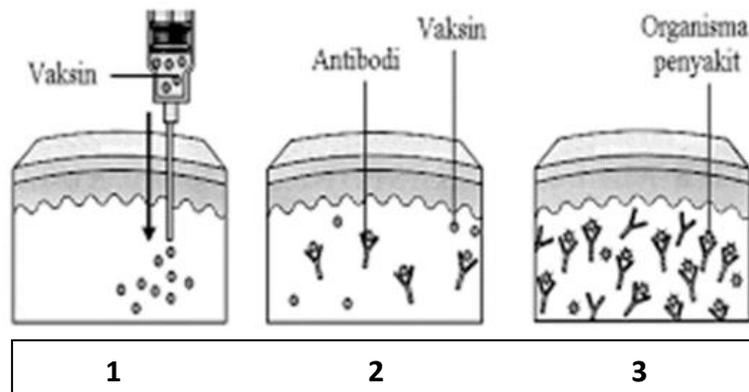
Imunisasi aktif yang dikenal dengan vaksinasi dan istilah “vaksin” diperkenalkan oleh Pasteur untuk mengingat kembali hasil penelitian klasik Jenner dengan cowpox (*vaccinia*), yang selanjutnya diperluas hingga seluruh agen digunakan untuk menginduksi imunitas spesifik dan menghilangkan efek infeksi selanjutnya. Vaksin diberikan sedini mungkin, memperhitungkan kenyataan bahwa sistem imun belum berkembang di bulan-bulan pertama kehidupan, dan bahwa antibodi secara pasif yang didapat dari ibu melalui plasenta dan atau air susu akan mencegah bayi secara spesifik membentuk responnya secara sendiri. Imunisasi Aktif yang dianjurkan pada berbagai tingkat usia terlihat pada tabel 3.

**Tabel 3.** Imunisasi aktif yang dianjurkan sesuai usia

Usia	Vaksin
2 bulan	Difteri, tetanus, <i>pertussis</i> (DTP-1) Polio trivalent oral (TOP-1)
4 bulan	DTP-2, TOP-2
6 bulan	DTP-3, TOP-3
15 bulan	Campak, <i>mumps</i> , <i>rubella</i>
18 bulan	DTP-4, TOP-4
4-6 tahun	DTP-5, TOP-5
14-16 tahun ( dan tiap 10 tahun sesudah itu)	Td (Tetanus dengan dosis toksoid difteri yang dikurangi)
18-24 tahun	Campak, <i>mumps</i> , <i>rubella</i>
25-64 tahun	Campak, <i>mumps</i> , <i>rubella</i>
Lebih dari 65 tahun	Influenza, <i>pneumococ</i>

Keuntungan dari pemberian vaksin hidup/dilemahkan adalah terjadinya replikasi mikroba sehingga menimbulkan pajanan dengan dosis yang lebih besar dan respons imun di tempat infeksi alamiah. Vaksin yang dilemahkan diproduksi dengan mengubah kondisi biakan mikroorganisme. Risiko vaksin yang dilemahkan ialah oleh karena dapat menjadi virulen kembali dan merupakan hal yang berbahaya untuk subyek imunokompromais.

Kontak pertama dengan antigen eksogen menimbulkan respons humoral primer yang ditandai dengan sel plasma yang memproduksi antibody dan sel B memori. Respons primer ditandai dengan lag phase yang diperlukan sel naif untuk menjalani seleksi klon, ekspansi klon dan diferensiasi menjadi sel memori dan sel plasma. Kemampuan untuk memberikan respons humoral sekunder tergantung adanya sel B dan sel T memori. Aktivasi kedua sel memori menimbulkan respons antibody sekunder yang dapat dibedakan dari respons primer. Mekanisme respon imun pada imunisasi aktif buatan terlihat pada gambar 26.



**Gambar 26.** Respon imun pada imunisasi buatan

Keterangan :

1. Vaksin dalam bentuk antigen yang tidak berbahaya disuntikkan ke dalam tubuh.
2. Vaksin merangsang sistem imun untuk mengeluarkan antibody
3. Adanya organisme penyakit akan dihalangi oleh antibody yang sudah terbentuk.

### C. IMUNISASI PASIF

Imunisasi pasif dilakukan melalui transfer patogen atau sel imun dari orang yang imun ke orang lain yang non-imun. Hal ini dapat terjadi secara alamiah dan buatan. Dahulu antiserum dibentuk di kuda, tetapi bahaya *serum sickness* membuat patogen monoclonal ‘manusia’ lebih diutamakan.

#### 1. Imunitas pasif alamiah (maternal melalui plasenta)

Adanya antibodi dalam darah ibu merupakan proteksi pasif terhadap fetus. IgG dapat berfungsi sebagai antitoksik, antivirus, dan antibacterial terhadap *H. influenza B* atau *S. agalactica B*. Ibu yang mendapat vaksinasi aktif akan memberikan proteksi pasif.

#### 2. Imunitas pasif alamiah (maternal melalui kolustrum)

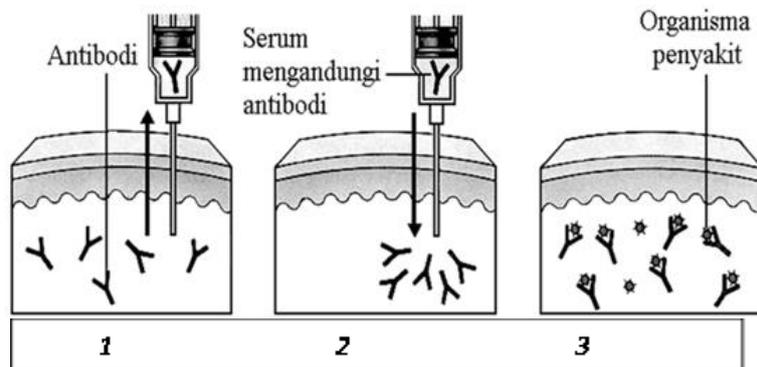
Air Susu Ibu (ASI) mengandung berbagai patogen imun. Beberapa diantaranya berupa *enhancement growth factor* untuk bakteri yang diperlukan dalam usus atau factor yang justru dapat menghambat tumbuhnya bakteri tertentu (lisozim, laktoferin, interferon, makrofag, sel T, sel B, granulosit). Antibodi ditemukan dalam ASI dan kadarnya yang lebih tinggi pada kolustrum (ASI pertama yang keluar segera setelah partus).

#### 3. Imunitas pasif buatan

Pada umumnya digunakan globulin manusia yang spesifik. Preparat patogen globulin spesifik yang dapat diperoleh adalah sebagai berikut :

- Antibodi (*Rhogam*) terhadap antigen RhD, diberikan kepada ibu 72 jam perinatal dalam usaha mencegah imunisasi oleh eritrosit fetal yang Rh<sup>+</sup>.
- *Tetanus immune globulin (TIG)* adalah antitoksin yang diberikan sebagai proteksi pasif setelah menderita luka.
- *Rabies immune globulin (RIG)* dapat diberikan bersamaan dengan imunisasi aktif.
- *Hepatitis B immune globulin (HBIG)* diberikan pada masa perinatal kepada anak yang dilahirkan oleh ibu dengan infeksi Hepatitis B, para tenaga medis yang tertusuk jarum terinfeksi atau pada mereka setelah kontak dengan seseorang hepatitis B yang HbsAg positif.

Mekanisme respon imun pada imunisasi pasif buatan seperti gambar 27 dan program imunisasi terlihat pada tabel 4.



**Gambar 27.** Respon imun pada imunisasi pasif buatan

Keterangan :

1. Darah mengandung 122ntibody diambil dari manusia atau hewan yang sakit.
2. Serum mengandung 122ntibody dipisahkan dari darah , selanjutnya dipisahkan dan disuntikkan.
3. Antibodi akan langsung bekerja dengan menetralisasi toksin atau mikroba dengan memberikan efek jangka pendek

Tabel 4. Program imunisasi

Jadual imunisasi		
Vaksin	Umur Pemberian Imunisasi	Umur Imunisasi Ulang

BCG	0-2 bulan	-
DPT	2,3,4 bulan	18 bulan, 5 tahun, 12 tahun
Polio	0,2,3,4 bulan	18 bulan, 5 tahun
Hepatitis B	0,1,6 bulan	5 tahun bila tidak mendapat MMR
<b>Program imunisasi yang dianjurkan</b>		
MMR	15 bulan- 2 tahun	5 tahun atau 10-12 tahun
Hepatitis A	2 tahun	6 bulan- 1 tahun setelah imunisasi
Hib	2,4,6 bulan	18 bulan
Cacar air	1 tahun	10 tahun
Tifoid	2 tahun	Setiap 3 tahun
<i>Influenza</i>	<i>1 tahun</i>	<i>Setiap tahun</i>
<i>Pneumococcus</i>	<i>2,4,6 bulan</i>	<i>18 bulan.</i>

#### D. PERBEDAAN RESPONS IMUN DI BERBAGAI BAGIAN BADAN

Dalam pemberian patogen terjadi perbedaan antara intra dan ekstra vascular. IgA sekretori diproduksi setempat di lamina propria di bawah patogen mukosa saluran nafas dan cerna yang merupakan tempat kuman masuk. IgA merupakan Ig utama dalam sekresi hidung, bronkus, intestinal, saluran kemih, saliva, kolustrum, dan empedu.

Pemberian oral vaksin polio (Sabin) menimbulkan pembentukan antipolio (IgA) dan ditemukan di dalam sekresi nasal dan duodenum, sedang pemberian vaksin mati parenteral (Salk) tidak. Hal ini menjelaskan bahwa IgA memberikan keuntungan dan dapat mencegah virus di tempat virus masuk ke dalam badan.

IgM dan IgG dapat pula ditemukan dalam sekresi setempat. Hal ini berarti bahwa Ig serum dapat pula berperan pada imunitas ekstravaskuler. IgM dan IgG telah ditemukan pula dalam eksudat. IgG berperan pada respons imun antitoksin. IgA dapat menetralkan eksotoksin seperti enterotoksin *V. cholera*. Toksin berikatan kuat dengan jaringan alat sasaran dan biasanya tidak dapat dilepaskan lagi dengan pemberian antitoksin. Sehingga penyakit-penyakit yang mekanismenya terjadi melalui eksotoksin, pemberian segera antitoksin sangat diperlukan agar kerusakan yang ditimbulkannya (lebih banyak toksin berikatan dengan jaringan) dapat dicegah.

Enzim eksotoksin dari bakteri *C. perfringens* dan 123ath ular dapat dinetralkan patogen. Adanya aktivitas antitoksik IgG menunjukkan bahwa ibu yang cukup diimunisasi, dapat

memindahkan antitoksin kepada fetus dan dapat memberikan proteksi pada hari-hari pertama sesudah lahir. Hal ini diperlukan dalam pencegahan tetanus neonatorum.

Respons antivirus adalah kompleks, karena ada beberapa faktor yang berperan seperti tempat masuk virus dalam tubuh, tempat virus melekat pada sel, aspek pathogenesis infeksi virus, induksi interferon, respons antibody dan *Cellular Mediated Immunity* (CMI). Infeksi virus seperti campak dan polio, mulai di epitel mukosa saluran nafas atau cerna dan patogeniknya yang utama terjadi setelah disebarkan melalui darah ke alat lainnya.

Interferon adalah protein atau glukoprotein antivirus yang dibentuk berbagai sel dalam tubuh sebagai respon terhadap infeksi virus. Interferon ditemukan sebelum makrofag diaktifkan atau antibody dibentuk. Oleh karena itu interferon berfungsi dalam pencegahan dini. Virus merangsang sel-sel tubuh untuk memproduksi protein antivirus yang berbeda dari antibody.

Respon imun antibakterial meliputi lisis melalui patogen dan komplemen, opsonisasi, fagositosis yang diaktifkan dengan eliminasi bakteri di hati, limpa dan sel-sel dari patogen fagosit makrofag. Peran pada proses opsonisasi dan fagositosis bakteri gram patogen adalah IgG dan IgM saja atau dengan bantuan C3b (opsonin).

Aktivasi komplemen melalui patogen dapat dirangsang secara non spesifik oleh endotoksin lipopolisakarida (merupakan dinding bakteri gram patogen) atau oleh polisakarida dari kapsul bakteri gram patogen dan bakteri gram positif, yang mengaktifkan C3. Jalur patogen akan menimbulkan pelepasan molekul kemotaktik C3a dan C5a, dan opsonin C3b. Pada jalur klasik IgM berperan dalam lisis bakteri gram patogen. CMI juga berperan pada bakteri yang hidup intraseluler seperti *M. tuberculosis*.

Respon imun terhadap fungus, protozoa dan cacing meliputi imunitas humoral dan atau seluler, seperti halnya imunitas pada virus dan bakteri. Keunikan respons imun pada parasit yaitu oleh karena hal tersebut tergantung pada siklus hidupnya.

## **E. KEBERHASILAN VAKSINASI DALAM PROFILAKSIS IMUN**

Vaksinasi bertujuan untuk memberikan imunitas yang efektif dengan menciptakan ambang mekanisme efektor imun yang adekuat dan sesuai, beserta populasi sel memori yang dapat berkembang cepat pada kontak baru dengan antigen dan memberikan proteksi terhadap infeksi. Pada vaksinasi polio diperlukan titer lebih tinggi dalam darah dan pada infeksi mikobakteria seperti tuberculosis imunitas seluler yang mengaktifkan makrofag adalah yang paling efektif. Sejumlah kondisi harus dipenuhi untuk memperoleh vaksin yang berhasil. Antigen harus dengan cepat dapat dibaca, preparat harus stabil dalam penyimpanan, harga murah, mudah pemberiannya dan aman (Tabel 5).

**Tabel 5.** Faktor yang harus dipenuhi oleh vaksin yang baik

Faktor	Persyaratan
Efektivitas	Harus memacu ambang protektif 125athog imun <ul style="list-style-type: none"> <li>- Di tempat yang sesuai</li> <li>- Relevan ( Ab, Tc, Th1, Th2)</li> <li>- Durasi adekuat</li> </ul>
ketersediaan	Mudah dipersiapkan dalam jumlah besar
stabilitas	Stabil pada cuaca ekstrim sekalipun, diutamakan tidak memerlukan alat pendingin
harga	Terjangkau,
keamanan	Tidak ada kontaminasi

## F. KLASIFIKASI VAKSIN

Vaksin dapat dibagi menjadi vaksin hidup dan vaksin mati. Vaksin hidup dibuat dalam pejamu, dapat menimbulkan penyakit ringan, dan menimbulkan respon imun yang sama seperti infeksi alamiah. Vaksin mati merupakan bahan (seluruh sel atau komponen spesifik) asal patogen seperti toksoid yang diinaktifkan tetapi tetap imunogen. Imunogen merupakan bahan yang dapat menginduksi respons imun. Ciri –ciri umum vaksin hidup dan mati terlihat di tabel 6.

**Tabel 6.** Ciri-ciri umum vaksin hidup dan mati

Ciri	Vaksin hidup	Vaksin mati
Ambang imunitas yang diinduksi	Tinggi: replikasi mikroba ( menyerupai infeksi alamiah)	Rendah: mikroba tidak menunjukkan replikasi, imunitas pendek.
Respons imun humoral	Baik	Baik
Respons imun seluler	Baik: antigen diproses dan dipresentasikan dengan molekul MHC	Buruk
Dosis	Satu kali cukup	Diperlukan beberapa dosis
Ajuvan	Tidak perlu	Biasanya diperlukan
Rute pemberian	Sub kutan, oral, intranasal	Sub kutan atau intra muskuler
Lama imunitas	Potensial seumur hidup	Biasanya diperlukan dosis booster

Penggunaan pejamu imunokompromais	pada	Dapat menimbulkan penyakit	Tidak dapat menimbulkan penyakit
Penggunaan kehamilan penyimpanan	pada	Teoritis kerusakan janin dapat terjadi Perlu khusus untuk mempertahankan hidup	Teoritis kerusakan janin tidak terjadi Perlu khusus untuk mempertahankan stabilitas sifat kimiawi dan fisis
Stabilisitas		Tidak tahan panas	Tahan panas
Keuntungan		Tunggal, dosis kecil Diberikan dengan rute alamiah Memacu imunitas local Menyerupai infeksi alamiah	Aman Stabil
Kerugian		Kontaminasi virus onkogenik (?) Menjadi virulen Inaktivasi oleh perubahan cuaca Penyakit pada pejamu imunokompromais	Diperlukan dosis multiple dan booster Diberikan dengan suntikan-rute tidak alamiah Diperlukan kadar antigen tinggi.

1. **Vaksin hidup heterolog** bekerja dengan menghasilkan penyakit yang lebih ringan tetapi memberi perlindungan silang; Misalnya vaksin BCG (tuberkulosis bovine yang dilemahkan), yang memberikan perlindungan parsial terhadap tuberculosis khususnya jika diberikan pada bayi. Namun demikian, dengan peningkatan cepat tuberculosis di seluruh dunia, dibutuhkan vaksin yang lebih baik.
2. **Vaksin hidup yang dilemahkan** (campak, measles), gondongan (mumps), polio (sabin), rubella) menghasilkan penyakit subklinis dan pada umumnya perlindungannya sangat baik. Vaksin measles, mumps dan rubella biasanya diberikan bersama-sama (MMR).
3. **Vaksin tidak aktif** digunakan saat virus tidak dapat dilemahkan ; meliputi virus yang dibunuh dengan formalin seperti rabies dan influenza. Vaksin polio mati (salk) telah menggantikan vaksin hidup (sabin) yang lebih murah tetapi kurang efektif disebagian Negara.

4. **Toksoid** adalah toksin bakteri (misalnya difteria, tetanus) yang diinaktifkan menggunakan formalin namun masih bersifat antigenik.
5. **Vaksin subunit** meliputi vaksin pertama ‘generasi kedua’ yaitu antigen yang dimurnikan dihasilkan dari teknologi rekombinan DNA. Vaksin sub unit pertama yang dikembangkan adalah antigen permukaan hepatitis A dan B, dan vaksin ini memberikan kadar perlindungan tinggi (>90%). Vaksin rekombinan antigen permukaan terhadap human papillomavirus yang ditularkan secara seksual telah diperkenalkan tahun 2007 dan mencegah baik infeksi virus dan perkembangan kanker serviks yang disebabkan virus ini.
6. **DNA, vektor.** Dengan cara memasukkan gen dari satu mikroba ke mikroba lain yang kurang virulen seperti *vaccinia*, *Salmonella* yang dilemahkan. Organisme ‘rekombinan’ ini seringkali menstimulasi imunitas kuat terhadap antigen yang dimasukkan. Jika vektor memiliki genom yang cukup besar (misalnya BCG), sejumlah antigen yang berbeda dapat dimasukkan ke dalam suatu vektor tunggal sehingga mengurangi kebutuhan mengulangi dosis.
7. **Polisakarida kapsuler** mencetuskan sebagian antibodi (terutama IgM) terhadap infeksi meningokokus, pneumokokus dan haemophilus. Kadar dan ketahanan antibodi protektif dapat ditingkatkan dengan menggabungkan polisakarida ini dengan antigen protein yang menstimulasi respons ‘helper’ kuat. Toksoid tetanus atau difteri seringkali digunakan untuk tujuan ini. Vaksin ‘konjugat’ telah terbukti berguna dalam perlawanan terhadap meningitis bakteri.

**Tabel 7.** Jenis vaksin dan serum yang digunakan pada manusia

<i>Sasaran penyakit</i>	<i>Jenis vaksin dan serum</i>
<i>Difteri, tetanus, pertussis, Hib, polio</i>	<i>‘5 in 1’</i>
<i>Measles, mumps, rubella (MMR)</i>	<i>Hidup dilemahkan</i>
<i>Tuberkulosis ( BCG)</i>	<i>Hidup heterolog dilemahkan</i>
<i>Polio</i>	<i>Dilemahkan (sabin) dan Mati (salk)</i>
<i>Haemophilus influenza (Hib) (meningitis)</i>	<i>Konjugat polisakarida</i>
<i>Meningokokus A/C</i>	<i>Konjugat polisakarida</i>
<i>Hepatitis A dan B</i>	<i>Subunit (rekombinan)</i>

<i>Human papillomavirus</i>	<i>Subunit (rekombinan)</i>
<i>Botulisme</i>	<i>ISG asal manusia atau kuda</i>
<i>Difteri</i>	<i>Serum asal kuda</i>
<i>Hepatitis A</i>	<i>ISG</i>
<i>Hepatitis B</i>	<i>HBIG atau ISG</i>
<i>Hipogamaglobulinemia</i>	<i>ISG</i>
<i>Campak</i>	<i>ISG</i>
<i>Rabies</i>	<i>ISG, RIG, serum imun asal kuda</i>
<i>Rho (D)</i>	<i>ISG vs Rho (D)</i>
<i>Tetanus</i>	<i>TIG</i>

---

## **G. HAL-HAL YANG PERLU DIPERHATIKAN PADA VAKSINASI**

### **1. Tempat pemberian vaksin**

Rute parenteral (ID,SC,IM) biasa dilakukan pada lengan daerah deltoid. Vaksin Hepatitis yang diberikan pada lengan terbukti memberikan respons imun yang lebih baik. Pemberian vaksin polio parenteral (virus dimatikan) akan memberikan respons antibody serum yang lebih tinggi dibanding dengan vaksin hidup oral. Vaksin oral menimbulkan produksi IgA sekretori yang dapat memberikan proteksi local.

### **2. Imunitas mukosa**

Merupakan proteksi terhadap infeksi epitel mukosa yang sebagian besar tergantung dari produksi dan sekresi IgA. Imunitas mukosa akan timbul apabila tubuh terpajan dengan imunitas mukosa. Oleh karena itu, vaksin yang diberikan oral atau intranasal, biasanya lebih efektif dalam memacu imunitas setempat dan relevan dibandingkan dengan pemberian parenteral.

### **3. Imunitas humoral**

Imunitas ini ditentukan oleh adanya antibody dalam darah dan cairan jaringan., terutama IgG. Immunoglobulin G juga penting pada proteksi toksin dan bisa.

### **4. Sistem efektor**

Sistem efektor adalah respons imun yang dapat membatasi penyebaran infeksi atau mengeliminasi pathogen di tempat patogen, intraseluler atau ekstraseluler. Vaksin yang dibutuhkan harus dapat merangsang imunitas seluler/ makrofag. Antibodi IgG dan IgA dan lainnya , kadang-kadang efektif dalam mengontrol pathogen yang disebarkan oleh infeksi ulang.

## 5. Lama proteksi

Lama proteksi sesudah vaksinasi, bervariasi tergantung pada pathogen dan jenis vaksin. Imunitas terhadap toksin tetanus yang terutama tergantung dari IgG dan sel B yang memproduksinya, dapat berlangsung 10 tahun lebih. Imunitas juga tergantung tempat infeksi dan jenis respons imun yang efektif terhadapnya.

## H. KONTRAINDIKASI IMUNISASI

Kontraindikasi merupakan keadaan yang meningkatkan kemungkinan terjadinya efek berbahaya yang tidak diinginkan; bila ditemukan, vaksin hendaknya tidak diberikan. Kontraindikasi yang permanen untuk semua vaksin adalah reaksi alergi berat/ anafilaksis terhadap vaksin atau komponennya. Komposisi vaksin juga mengandung buffer, adjuvant dan bahan lain yang ditambahkan dalam produksi vaksin. Kontraindikasi vaksin dapat berupa:

- Reaksi alergi (IgE) berat, biasanya terjadi cepat dan membutuhkan pertolongan medis.
- Vaksinasi pada penderita dengan gangguan respons imun memerlukan pertimbangan khusus. Perbandingan risiko keuntungan dan kerugian adalah kompleks. Rekomendasi resmi dari pabrik dapat berbeda untuk tiap produknya.

## Latihan

**Untuk dapat memperdalam pemahaman Anda mengenai materi di atas, kerjakanlah Latihan berikut!**

- 1) Buatlah bagan pembagian dari imunisasi.
- 2) Jelaskan perbedaan imunisasi aktif dan pasif
- 3) Tuliskan perbedaan ciri-ciri vaksin hidup dan vaksin mati
- 4) Jelaskan perbedaan respon imun di berbagai badan
- 5) Tuliskan hal-hal yang perlu diperhatikan dalam vaksinasi
- 6) Jelaskan berbagai hal yang harus dipenuhi sebagai vaksin yang baik
- 7) Tuliskan beberapa jenis vaksin dan serum yang digunakan pada manusia.

## Ringkasan

1. Imunisasi aktif adalah timbulnya antibodi sebagai respons terhadap respons rangsangan antigen.
2. Imunisasi pasif adalah transfer proteksi melalui antibodi yang sudah terjadi dan diproduksi oleh individu lain.
3. Status imunitas dapat diinduksi oleh imunisasi aktif atau pasif. Imunisasi pasif jangka pendek dapat ditransfer antibodi yang *performed*. Imunisasi atau vaksinasi memberikan imunisasi aktif jangka panjang.
4. Tiga jenis vaksin yang umum digunakan untuk manusia sampai saat ini adalah vaksin hidup (avirulen), diinaktifkan (mati), atau makromolekul yang dimurnikan.
5. Komponen protein patogen diekspresikan dalam biakan sel yang dapat merupakan vaksin yang efektif. Vaksin polisakarida dapat dikonjugasikan dengan protein untuk memaksimalkan imunogenitas.
6. Imunisasi dengan vaksin subunit atau vaksin hidup meningkatkan baik produksi antibodi dan proteksi jangka panjang, respons seluler yang diarahkan terhadap virus pada infeksi selanjutnya.
5. Sejumlah kondisi harus dipenuhi untuk memperoleh vaksin yang berhasil secara efektif, preparat harus stabil dalam penyimpanan, harga murah, mudah diberikan dan aman.

## Tes 1

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

- 1) Sel yang mengekspresikan antibodi adalah ....
  - a. Netrofil
  - b. Makrofag
  - c. Limfosit T
  - d. Limfosit B
  - e. Natural Killer sel
- 2) Antibodi berperan dalam ....
  - a. Fagositosis
  - b. Imunitas seluler
  - c. Imunitas humoral
  - d. Kelainan autoimun
  - e. Reaksi hipersensitivitas

- 3) Manakah dari kelas Ig di bawah ini yang dapat menembus plasenta ....
- Ig A
  - Ig D
  - Ig E
  - IgG
  - IgM
- 4) Mekanisme antibodi yang menghambat dan menghilangkan racun pada sel yang memberikan efek patologi adalah ....
- Netralisasi
  - Opsonisasi
  - Fagositosis
  - Aktivasi
- 5) Respon Kekebalan sekunder lebih cepat menghadapi infeksi antigen daripada respon primer karena adanya ....
- antibodi
  - Sel B
  - Sel T
  - memori imunologis
  - respon non spesifik
- 6) Manakah dari kelas Ig di bawah ini yang berperan pada imunitas mukosa ....
- Ig A
  - Ig D
  - Ig E
  - IgG
  - IgM
- 7) Manakah dari kelas Ig di bawah ini yang berperan sebagai ADCC ....
- Ig A
  - Ig D
  - Ig E
  - Ig G
  - IgM
- 8) Apabila seseorang mendapatkan vaksinasi, maka kekebalan yang diperoleh adalah...
- Kekebalan aktif alamiah

- b. Kekebalan aktif buatan
  - c. Kekebalan pasif alamiah
  - d. Kekebalan pasif buatan
  - e. Kekebalan ras
- 9) Program pengembangan imunisasi yang diwajibkan Kementerian Kesehatan adalah ...
- a. BCG, Hepatitis B, Polio, Campak, DPT
  - b. BCG, Hepatitis B, Hib, Campak, DPT
  - c. BCG, Polio, Campak, DPT, MMR
  - d. BCG, Hepatitis B, Polio, Campak, DT
  - e. BCG, Hepatitis B, Polio, Campak, TT
- 10) Penyuntikan Anti Tetanus Serum akan memberikan kekebalan yang bersifat ....
- a. Kekebalan aktif alamiah
  - b. Kekebalan aktif buatan
  - c. Kekebalan pasif alamiah
  - d. Kekebalan pasif buatan
  - e. Kekebalan ras
- 11) Sifat dari antibodi seperti di bawah ini, kecuali ....
- a. Merupakan gamma globulin (protein)
  - b. Merupakan zat asing dalam tubuh
  - c. Bekerja sebagai pelindung terhadap mikroorganisme
  - d. Berbentuk cair
  - e. Ditemukan dalam serum dan getah bening
- 12) Kelas antibodi yang terbentuk pada infeksi primer adalah ....
- a. Ig A
  - b. Ig D
  - c. Ig E
  - d. Ig G
  - e. Ig M
- 13) Kelas antibodi yang banyak terdapat dalam kolustrum adalah ....
- a. Ig A
  - b. Ig D

- c. Ig E
  - d. Ig G
  - e. Ig M
- 14) Kelas antibodi yang terbentuk pada infeksi sekunder adalah ....
- a. Ig A
  - b. Ig D
  - c. Ig E
  - d. Ig G
  - e. Ig M
- 15) Peran immunoglobulin A terutama pada ....
- a. Imunisasi pasif
  - b. Sebagai reseptor antigen
  - c. mukosa saluran pernafasan
  - d. Merangsang pelepasan histamin oleh basofil
  - e. Immunoglobulin yang diproduksi pada awal respon imunitas primer

## Topik 2

# Imunologi Infeksi

## A. PENDAHULUAN

Bila suatu mikroorganisme menembus kulit atau selaput lendir, maka tubuh akan mengerahkan keempat komponen sistem imun untuk menghancurkannya, yaitu antibodi, fagosit, komplemen, dan sel-sel sistem imun. Bila suatu antigen pertama kali masuk tubuh, dalam beberapa hari pertama, antibodi dan sel sistem imun spesifik lainnya belum memberikan respons. Namun komplemen, fagosit dan komponen-komponen imun nonspesifik lainnya seperti lisozim, interferon dan sebagainya, dapat bekerja langsung untuk menghancurkannya. Pada umumnya, komplemen dan antibodi merupakan komponen sistem imun yang paling aktif dalam pemusnahan mikroorganisme yang berada bebas dalam darah atau jaringan, sedang respons imun seluler dikerahkan terhadap mikroorganisme yang untuk hidupnya memilih tempat di dalam sel.

Banyak mikroorganisme yang masuk ke dalam tubuh untuk selanjutnya hidup di kulit, selaput lendir saluran nafas, atau saluran cerna. Kulit dan selaput lendir yang merupakan pertahanan mekanik, pada umumnya juga dilindungi oleh komponen sistem imun non spesifik seperti pH asam, enzim, mucus, sekresi.

Respons imun humoral diperankan oleh antibodi yang dibentuk oleh sel B. Antibodi juga mempunyai arti diagnostik. Antibodi dapat mengikat mikroorganisme melalui reseptor yang terdapat pada permukaan sel sehingga dapat mencegah mikroorganisme masuk ke dalam sel.

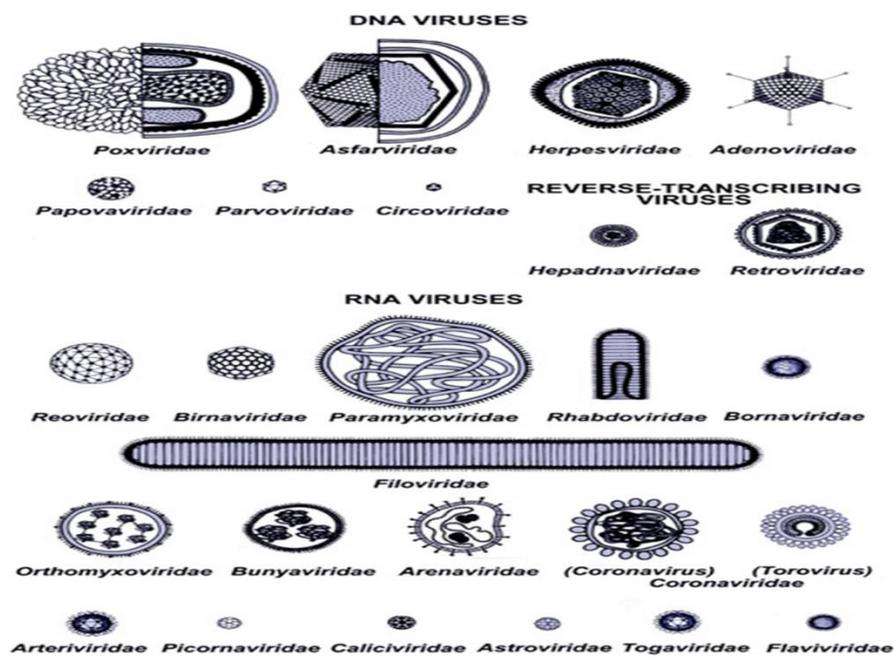
Fagositosis oleh makrofag dan polimorf merupakan fase akhir penghancuran mikroorganisme. Komplemen dan antibodi berperan sebagai opsonin yang dapat meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag. Mikroorganisme yang sudah ada di dalam sel dibunuh dan dipecah oleh lisosom.

Monosit, sel polimorf, dan sel K, dapat menghancurkan mikroorganisme yang diselubungi antibodi melalui *antibody dependent cellular cytotoxicity cell* (ADCC), karena sel-sel tersebut mempunyai reseptor Fc dari antibodi. Beberapa jenis virus, bakteri, dan protozoa penting, dapat hidup di dalam makrofag. Mikroorganisme yang terdapat dalam otot, otak maka antibodi tidak dapat menyerang mikroorganisme tersebut, namun diperlukan bantuan dan penerahan sistem imun seluler melalui ADCC.

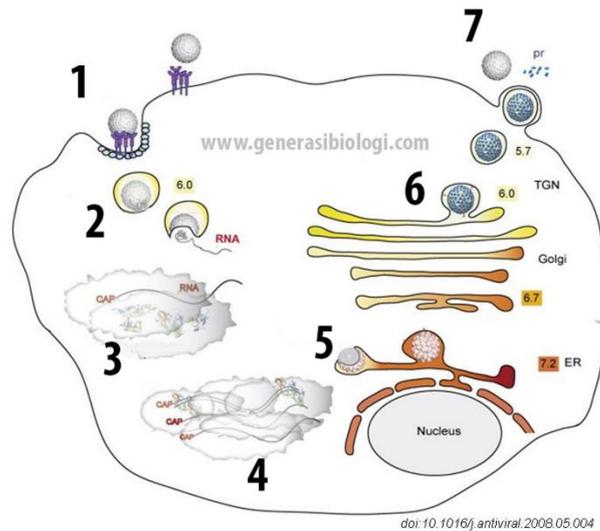
### 1) Imunitas terhadap virus

Virus berbeda dengan seluruh organisme infeksius lain, karena berukuran sangat kecil, tidak memiliki dinding sel dan aktivitas metabolisme independen. Dalam replikasinya virus membutuhkan sel hidup karena tidak memiliki perangkat biokimiawi yang diperlukan untuk sintesis protein dan karbohidrat.

Struktur virus terdiri atas kapsid yang melindungi bahan genetik. Bahan genetik dan kapsid disebut nukleokapsid. Peran kapsid adalah melindungi bahan genetik virus terhadap nuclease asal pejamu. Kapsid terdiri dari subunit protein yang dijadikan bentuk sederhana dan khas berbentuk heliks, isometrik atau berbentuk kerucut ( Gambar 28 dibawah ini ). Struktur virus terlihat pada gambar 28.



Gambar 28. Morfologi virus



Gambar 29. Siklus virus umum

Keterangan gambar :

1. Virion diabsorpsi sel pejamu melalui reseptor
2. Virus menembus sel dan melepaskan mantelnya
3. Infeksi terjadi melalui beberapa fase yang bergantung pada jenis virus.
4. Berbagai komponen virus dibentuk di dalam sitoplasma dan atau nucleus sel. Selanjutnya komponen –komponen tersebut menyatukan diri sehingga terbentuk virus yang matang
5. Perakitan terjadi di Retikulum endoplasma
6. Virus mengalami pematangan di badan golgi dan siap dilepaskan
7. Virus dilepaskan dan dapat menyerang sel lain.

Infeksi virus biasanya dimulai dengan invasi setempat pada permukaan epitel (Gambar 29). Kemudian virus akan ke dalam sirkulasi darah dan menimbulkan fase viraemi dan kemudian virus mengadakan invasi sampai di sel alat sasaran seperti kulit, susunan saraf. Tubuh memerangi virus yang mempunyai berbagai fase infeksi melalui bermacam-macam cara.

Mekanisme yang berperan pada pertahanan berbagai fase infeksi virus adalah :

- a. Interferon dan IgA merupakan pertahanan pertama pada epitel permukaan
- b. Beberapa virus berkembang dalam sel eptel permukaan. Ada virus yang mempunyai lebih dari satu masa viraemi dan selama ada dalam darah, virus tersebut rentan terhadap antibodi.

- c. Virus di dalam sel yang diserang berbagai sistem imun humoral dan seluler dan atau antibodi melalui ADCC.
- d. Pada umumnya penghancuran virus di dalam sel menguntungkan tubuh, tetapi reaksi imun yang terjadi dapat menimbulkan pula kerusakan jaringan tubuh yang disebut imunopatologik.

Sel K sebagai efektor pada ADCC respons imun terhadap virus dapat mengakibatkan timbulnya kerusakan jaringan pejamu melalui pembentukan kompleks imun. Virus dapat pula menimbulkan reaksi autoimunitas karena virus dapat melepaskan pecahan antigen, merangsang proliferasi sel autoreaktif, menghambat fungsi sel supresor atau dan menekan sistem imun lainnya. Tuberkulin yang positif dapat menjadi negatif selama terjadi infeksi dengan virus campak. Mekanisme respons imun humoral dan seluler terhadap virus disampaikan pada tabel 8 dan gambar 30. menyampaikan tentang respons antivirus.

**Tabel 8.** Mekanisme respons imun humoral dan seluler terhadap virus

Jenis respons	Molekul atau sel efektor	Aktivitas
Humoral	Antibodi (terutama IgA sekretori)	Menghambat ikatan virus pada sel pejamu, sehingga mencegah infeksi atau reinfeksi
	Antibodi IgG, IgM, dan IgA	Menghambat fusi envelop virus dengan membrane plasma sel pejamu
	Antibodi IgG dan IgM	Memacu fagositosis partikel virus (opsonisasi)
	Antibodi IgM	Aglutinasi partikel virus
	Komplemen yang diaktifkan oleh antibody IgG atau IgM	Mediator opsonisasi oleh C3b dan lisis partikel envelop virus oleh MAC
Seluler	IFN $\gamma$ yang disekresi Th atau Tc	Aktivitas antiviral direk
	CTL	Memusnahkan sel self yang terinfeksi virus
	Sel NK dan makrofag	Memusnahkan sel terinfeksi melalui ADCC



pada karier yang berhubungan dengan sirosis dan kanker hati. Tetapi dengan IFN $\alpha$  atau antivirus lainnya kadang dapat menginduksi imunitas dan mengendalikan virus.

## 2) Imunitas terhadap bakteri

Pertahanan tubuh terhadap bakteri pathogen seperti pada pertahanan mikroorganisme lainnya, terdiri atas pertahanan non spesifik dan spesifik. Epitel permukaan yang mempunyai fungsi proteksi, akan membatasi masuknya bakteri ke dalam tubuh. Bila bakteri berhasil masuk ke dalam jaringan tubuh, patogenitasnya akan ditentukan oleh kemampuan tubuh untuk menghancurkan dinding selnya.

### a. Struktur Bakteri

Menurut sifat patologik dinding sel, maka mikroorganisme dapat dibagi menjadi negatif Gram, positif Gram, mikobakterium dan *spirochaeta*. Permukaan bakteri dapat dilapisi **kapsul** yang protektif (mempengaruhi perlekatan), **dinding sel** (mempengaruhi pencernaan), dan **pelepasan eksotoksin** ( yang merusak sel fagosit dan sel lain). Protein dan polisakarida yang ada dalam struktur tersebut dapat merangsang sistem imun humoral tubuh untuk membentuk antibodi. Pada akhir respons imun, semua bakteri dihancurkan fagosit. Patogenitas beberapa infeksi bakteri noninvasif yang hidup di dalam sel permukaan seperti difteri dan *V. cholera* yang memproduksi toksin bergantung pada pembentukan immunoglobulin oleh penjamu yang dapat menetralkan. Antibodi yang dibentuk terhadap toksin dapat dapat menetralkan efek toksin tetanus, difteri sehingga dapat mencegah kerusakan jaringan yang ditimbulkannya.

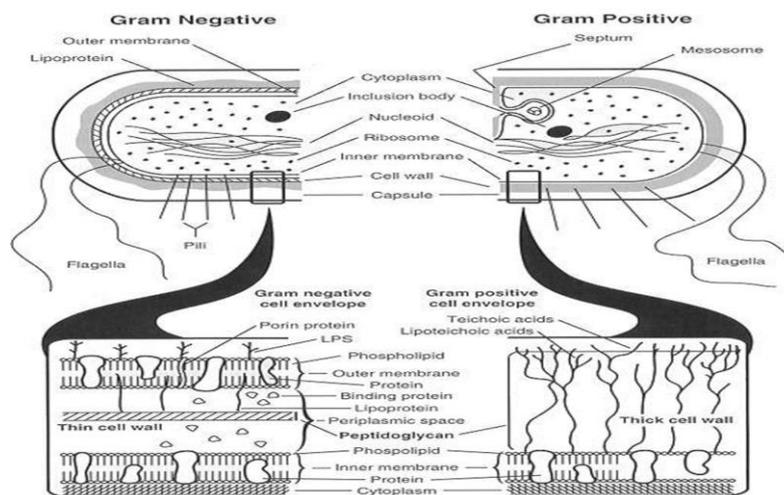
**Dinding sel.** Di luar membrane plasma, bakteri mempunyai dinding sel yang tersusun dari mukopeptida yang disebut peptidoglikan; disini lisozim akan bekerja dengan menyerang ikatan N-asam asetimuramat-N-asetilglukosamin. Bakteri negatif Gram mempunyai membrane kedua yang disebut lipopolisakarida (LPS, disebut juga endotoksin). Dinding sel bakteri adalah penginduksi kuat inflamasi.

Flagela, agen utama motilitas bakteri, mengandung protein sangat antigenik ('antigen H''tifoid, dll) yang menimbulkan antibodi imobilisasi.

**Pili** digunakan untuk bakteri dalam berlekatan dengan sel; antibody dapat mencegah proses ini ( misalnya IgA terhadap gonokokus)

**Kapsul** Sejumlah besar bakteri yang virulen tergantung pada kapsul yang meindunginya dari kontak dengan fagosit.

**Eksotoksin** (berbeda dari endotoksin (LPS) dinding sel). Bakteri positif Gram sering mensekresi protein yang merusak pada fagosit, susunan saraf, jaringan setempat). Sering dapat menyebabkan kematian.



Gambar 31. dinding sel bakteri

Keterangan gambar :

Dinding sel bakteri positif Gram : dinding sel yang tebal terdiri dari peptidoglican dengan lapisan lipid yang tipis.

Dinding sel bakteri negatif Gram : dinding sel dengan lapisan lipid yang tebal dan dinding sel yang tipis.

Imunitas bakteri ekstraseluler

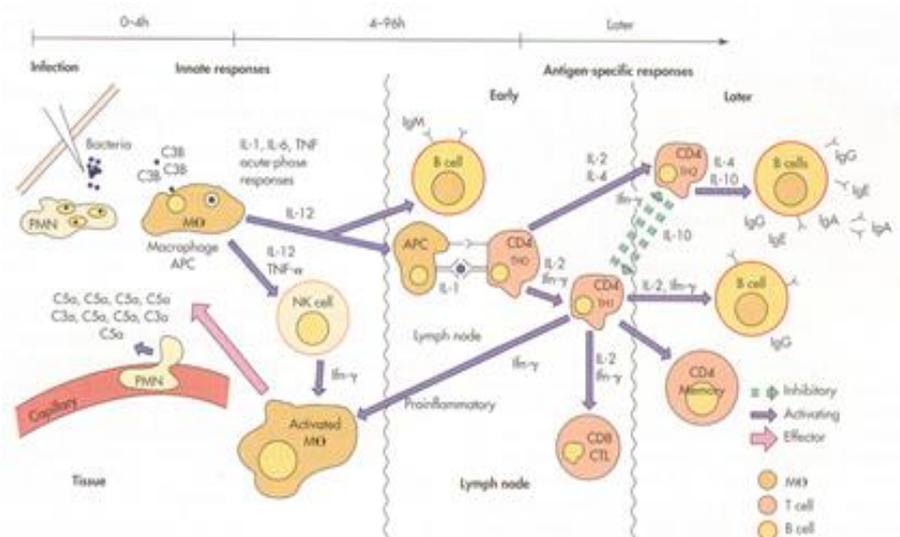
Bakteri ekstraseluler dapat hidup dan berkembangbiak di luar sel pejamu misalnya dalam sirkulasi, jaringan ikat dan rongga jaringan seperti lumen usus dan saluran cerna. Beberapa diantaranya adalah bakteri patogen. Penyakit yang ditimbulkan bakteri ekstraseluler dapat berupa inflamasi dan yang menimbulkan destruksi jaringan di tempat infeksi dengan membentuk nanah.

Respon imun non spesifik utama adalah komplemen, fagositosis dan respon inflamasi. Respon imun spesifik berupa antibodi merupakan komponen imun protektif utama terhadap bakteri ekstraseluler yang berfungsi untuk menyingkirkan mikroba dan menentralkan toksin melalui berbagai mekanisme. Sel T helper (Th2) memproduksi sitokin yang merangsang sel B, aktivasi makrofag dan inflamasi)

### Imunitas bakteri intaseluler

Ciri utama bakteri intraseluler adalah kemampuannya untuk hidup bahkan berkembangbiak dalam fagosit. Mikroba tersebut mendapat tempat tersembunyi yang tidak dapat ditemukan oleh antibodi dalam sirkulasi sehingga untuk eliminasinya memerlukan mekanisme imun seluler.

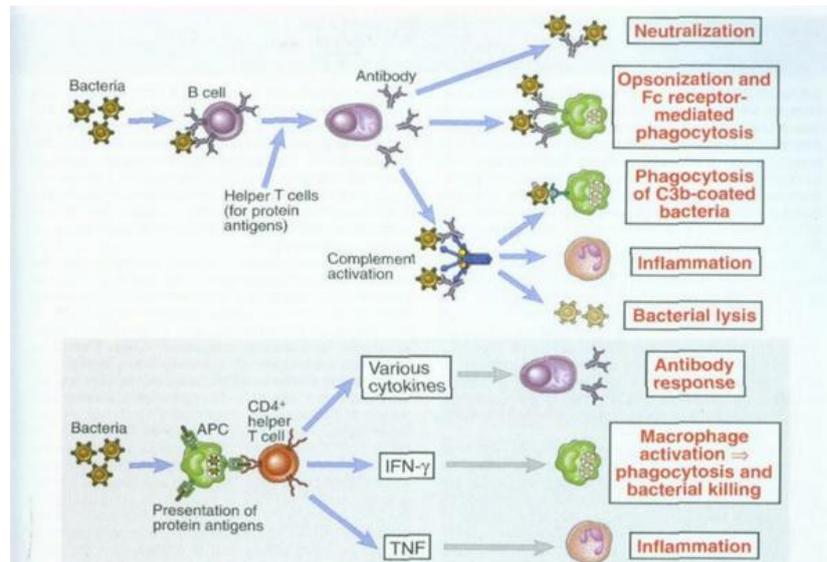
Efektor imun nonspesifik utama terhadap bakteri intrasel. Fagosit menelan dan mencoba menghancurkan mikroba tersebut , namun mikroba dapat resisten terhadap efek degradasi fagosit. Sel NK memproduksi IFN- $\gamma$  yang mengaktifkan makrofag dan meningkatkan daya membunuh bakteri dan memakan bakteri. Sehingga sel NK memberikan respons dini , dan terjadi interaksi antara sel NK dan makrofag. Proteksi respons imun spesifik terhadap bakteri intraseluler berupa imunitas seluler. Respons imun terhadap bakteri terlihat pada gambar 32 dan Respon imun spesifik terhadap bakteri ekstraseluler tergambar pada gambar 33.



Gambar 32. Respons antibakteri

Keterangan gambar :

Peran respon imun nonspesifik dimulai dengan presentasi dari polimorfonuklear neutrofil (PMN) dan Makrofag . APCs dan antigen sampai di kelenjar getah bening untuk mengaktivasi respons imun spesifik (Th1 dan Immunoglobulin M). Th2 merespon sel plasma untuk menghasilkan antibodi dan sistem memori.



Gambar 33. Respon imun spesifik terhadap bakteri ekstraseluler

Respon imun spesifik terhadap bakteri ekstraseluler dan toksin yang dihasilkannya akan mengaktifkan sel B dan sel Th CD 4<sup>+</sup> untuk menghasilkan antibody. Peran antibody yaitu mengeliminasi bakteri dan toksin dengan beberapa mekanisme. Sel Th CD4<sup>+</sup> memproduksi sitokin yang menstimulasi respon sel B, aktivasi makrofag, inflamasi, APC =antigen presenting sel.

## Bakteri

**Strep** *Streptococcus spp.* Digolongkan berdasarkan eksotoksin hemolitik ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ) atau antigen dinding sel (golongan A-Q). *Streptococcus*  $\beta$  hemolitik grup A adalah yang paling patogenik, memiliki kapsul (protein M) yang berlekatan dengan membrane mukosa tetapi melawan fagositosis, sejumlah eksotoksin ( sehingga timbul *scarlet fever*), dinding sel yang tidak dapatdicerna sehingga menyebabkan reaksi yang diperantarai sel yang sangat berat, antigen yang bereaksi silang dengan otot jantung ( demam rheuma), dan kecenderungan untuk timbulkompleks imun yang dapat merusak ginjal (nefritis).

**Staph** *Staphylococcus spp.* Faktor antifagosit meliputi enzim koagulasi pembentuk fibrin dan protein A, yang berkaitan dengan bagian Fc IgG, menghambat opsonisasi. Toksin lain yang dihasilkan menyebabkan stafilokokus sangat merusak dan organisme pembentuk abses.

**Gonococcus** IgA dapat menghambat perlekatan dengan permukaan mukosa tetapi bakteri ini mensekresi protease yang menghancurkan IgA; sehingga infeksi jarang tereliminasi, menyebabkan status 'karier'. Gonokokus dan meningokokus merupakan bakteri yang dihilangkan dengan perantara komplemen.

**Basil tuberkulosis dan lepra** Mikobakteri ini memiliki dinding sel yang sangat kuat, kaya akan lipid, yang melawan pembunuhan intraseluler; mikobakteri ini juga menghambat gabungan fagosom-lisosom. Timbul CMI kronis, dengan pembentukan granuloma, penghancuran jaringan, dan pembentukan jaringan parut. Pada lepra, 'spektrum' antara lokalisasi dan desiminasi berkaitan dengan jumlah antibody dan antibody.

**Salmonella spp.** Menginfeksi usus tetapi juga dapat bertahan hidup dan menyebar dalam makrofag. Pemulihan setelah infeksi dapat menimbulkan status 'karier'.

**Tetanus** menimbulkan penyakit berat karena kerja eksotoksin pada SSP. Antibodi ('antitoksin') sangat efektif menghambat kerja toksin.

**Difteri** juga memproduksi neurotoksin kuat, namun kematian timbul akibat kerusakan jaringan setempat dalam laring ('membran palsu').

Mekanisme pertahanan imun utama terhadap patogen dapat dilihat pada tabel 9.

**Tabel 9.** Mekanisme pertahanan imun utama terhadap patogen

Jenis Infeksi	Mekanisme pertahanan imun utama
Bakteri	Antibodi, kompleks imun dan sitotoksitas
Mikobakteri	DTH dan reaksi granulomatosa
Virus	Antibodi (netralisasi), CTL, dan Tdth
Protozoa	DTH dan antibodi
Parasit cacing	Antibodi (atopi, DCC) dan reaksi granulomatosa
Jamur	DTH dan reaksi granulomatosa

### 3) Imunitas terhadap jamur

Jamur adalah organisme eukariotik, tidak mengandung klorofil. Kebanyakan jamur tidak berbahaya, namun sebagian kecil spesies jamur dapat menimbulkan penyakit pada manusia yang disebut mikosis dapat berupa mikosis superfisial, subkutan, dan sistemik. (Tabel 10). Penyakit tersebut bervariasi antara infeksi superfisial biasa sampai penyakit sistemik yang membahayakan terutama pada pejamu immunodefisiensi. Infeksi jamur terberat adalah infeksi sistemik seperti histoplasmosis, kriptokokosis, dan koksidiomikosis yang biasanya bermula dari infeksi paru dan diperoleh melalui inhalasi spora dari jamur yang hidup bebas.

Tabel 10. Klasifikasi penyakit jamur

Daerah infeksi	Superfisial	Epidermis, tidak ada inflamasi
	Kutan	Kulit, rambut, kuku
	Subkutan	Luka, biasanya ada inflamasi
	Dalam atau sistemik	Paru, visera abdomen, tulang, SSP
Rute infeksi	Eksogen	Lingkungan, lewat udara, kutan dan perkutan
	Endogen	Reaktivasi laten, organisme komensal
Virulensi	Primer	Pada dasarnya virulen, menginfeksi pejamu sehat
	oportunistik	Virulensi rendah, biasanya menginfeksi subyek imunokompromais

Respons imun terhadap infeksi jamur terutama diperankan oleh neutrofil dan makrofag alveolar sebagai sel pertahanan pertama terhadap spora jamur yang terhirup. *Aspergillus* biasanya mudah dihancurkan oleh makrofag alveolar. Imunitas non spesifik kadang kurang efektif, tidak dapat membatasi pertumbuhan jamur pathogen. Tidak banyak bukti bahwa antibodi berperan pada resolusi dan control infeksi. Cell Mediated Immunity (CMI) merupakan efektor imunitas spesifik utama

terhadap infeksi jamur. Infeksi *Candida* sering berawal pada permukaan mukosa dan diduga CMI dapat mencegah penyebarannya ke jaringan.

Saat ini banyak ditemukan infeksi jamur terutama pada subyek imunokompromais yang disebabkan AIDS, yang mendapat terapi terhadap kanker, dan penolakan transplantasi yang menekan sumsum tulang dan respons imun. Menurut lokasi infeksi, jamur pada manusia dapat berupa :

- a. Jamur permukaan yang hidup dalam komponen kulit yang mati, rambut, dan kuku yang mengandung keratin.
- b. Jamur subkutan yang hidup sebagai saprofit dan menimbulkan modul kronik atau tukak
- c. Jamur saluran nafas yang berasal dari saprofit tanah dan menimbulkan infeksi paru subklinis atau akut.
- d. *Candida albicans* yang menimbulkan infeksi superfisial pada kulit dan membran mukosa.

Pada umumnya, mekanisme hidup pertahanan jamur yang berhasil menyerupai mekanisme pada bakteri; kapsul antifagosit ( misalnya *Cryptococcus*), resistensi terhadap pencernaan oleh makrofag ( misalnya *Histoplasma spp*), dan penghancuran polimorf (misalnya *Coccidioides spp*). Jamur yang paling menarik darisisi imunologis adalah *Candida albicans*, merupakan saprofit pada kulit dan mukosa yang tidak berbahaya, namun akan mengambil keuntungan jika ada penurunan daya tahan tubuh.

## Jamur

**Dermatofit** Jamur berfilamen memetabolisme keratin, sehingga hidupnya di kulit, rambut dan kuku (ringworm). Sekresi sebacea membantu mengendalikan jamur ini, tetapi CMI juga dapat memiliki peran yang belum jelas.

***Candida albicans*** Suatu jamur mirip khamir (yeast) yang menimbulkan infeksi pada kulit, mulut dll. Pada orang dengan imunodefisiensi menimbulkan dampak yang luas dan berat. Peran sel T dalam mengeliminasi infeksi ini belum diketahui.

***Actinomyces spp.*** Dan jamur berspora lainnya dari jerami yang mengandung kapang, dll. Dapat mencapai alveolus paru, menstimulasi produksi antibodi dan selanjutnya mencetuskan hipersensitivitas berat ('paru-paru petani'). Baik IgG dan IgE dapat

terlibat. *Aspergillus sp.* Khususnya cenderung menimbulkan masalah pada pasien dengan TB atau imunodefisiensi seluler. Penyebaran hampir timbul ke seluruh bagian organ. Toksin jamur ini ( aflatoksin) adalah faktor risiko untuk kanker hati.

Infeksi pada kulit biasanya terbatas dan disertai resistensi yang terbatas pula. Resistensi diduga karena adanya respons sistem imunseluler. Makrofag yang diaktifkan limfokindan sel T diduga dapat menghancurkan jamur melalui mekanisme seperti yang terjadi pada reaksi tipe IV dari Gell dan Coombs.

#### 4) **Imunitas terhadap parasit protozoa**

Sebanyak kurang lebih 20 spesies protozoa yang dapat menginfeksi manusia, dan empat diantaranya dapat menyebabkan derajat keparahan dari penyakit: malaria, *Trypanosoma* Afrika dan Amerika, *Leishmania*. Protozoa tersebut berhasil menggabungkan strategi yang ditemukan pada bakteri dan virus; penyebaran jarak jauh oleh vektor serangga, habitat intraseluler, variasi antigen dan immunosupresi. Sehingga vaksinasi menjadi lemah , khususnya karena sebagian gejala penyakit timbul akibat respons imun bukan akibat parasit tersebut.

Berbeda dengan hal tersebut, protozoa usus umumnya menimbulkan penyakit yang cukup ringan, kecuali jika imunitas menurun ( imunodefisiensi) atau tertekan ( immunosupresi) . Malaria *Plasmodium falcifarum*, *P. malariae*, *P.vivax*, dan *P.ovale* ditularkan oleh nyamuk *Anopheles* betina.

#### 5) **Imunitas terhadap cacing**

Infeksi parasit menimbulkan respons imun humoral dan seluler. Mekanisme mana yang lebih berperan bergantung pada jenis parasit. Ukuran protozoa dan cacing jauh lebih besar dibandingkan dengan ukuran bakteri dan virus.

Parasit mempunyai siklus hidup yang berbeda dengan bakteri dan virus. Ukurannya yang lebih besar mengandung lebih banyak antigen, baik dalam jumlah maupun dalam jenis. Infeksi parasit biasanya terjadi kronik dan kematian pejamu akan merugikan parasit sendiri. Infeksi yang kronik akan meninggikan kadar immunoglobulin dalam sirkulasi, menimbulkan rangsangan antigen yang persisten dan pembentukan kompleks imun. Parasit dapat menimbulkan immunosupresi dan efek immunopatologik pada pejamu. Pada umumnya respons imun seluler lebih efektif

terhadap protozoa intraseluler, sedang antibodi lebih efektif terhadap parasit ekstraseluler dalam darah dan cairan jaringan.

Sel T, terutama sel T<sub>c</sub>, dapat menghancurkan parasit intraseluler, misalnya *T.cruzi*. Limfokin yang dilepas oleh sel T yang disensitisasi dapat mengaktifkan makrofag untuk lebih banyak membentuk reseptor untuk Fc dan C3, berbagai enzim dan faktor lain yang dapat meninggikan sitotoksis. Pada beberapa infeksi, parasit tidak dapat dihancurkan oleh sistem imun dengan cara tersebut di atas.

## Latihan

**Untuk dapat memperdalam pemahaman Anda mengenai materi di atas, kerjakanlah Latihan berikut!**

- 1) Jelaskan beberapa mekanisme imunitas terhadap virus
- 2) Jelaskan perbedaan mekanisme imunitas terhadap bakteri intraseluler dan ekstraseluler
- 3) Jelaskan sistem imun yang berperan pada respon imun cacing
- 4) Jelaskan peran sistem imunitas terhadap infeksi jamur

## Ringkasan

1. Respons sistem imun nonspesifik merupakan pertahanan awal terhadap patogen. Pertahanan tersebut berupa sawar fisik diantaranya kulit dan produksi komponen komplemen non spesifik, fagosit, dan sitokin tertentu sebagai respon terhadap berbagai patogen.
2. Respons terhadap infeksi awal dapat dibagi dalam beberapa fase. Fase pertama adalah fase respon dini dan respon non spesifik yang diperankan oleh sel efektor dan molekul yang mengenal mikroba. Fase selanjutnya juga adalah primer, nonspesifik yang menemukan organisme, ditandai oleh pengerahan fagosit profesional dan sel NK ke tempat infeksi.
3. Bakteri dibagi menurut struktur morfologi, aktivitas metabolik dan faktor lingkungan yang diperlukan untuk hidup. Bakteri positif Gram disebut demikian karena menunjukkan

pewarnaan khas di lapisan luar peptidoglican; negatif Gram menunjukkan peptidoglican tipis.

4. Banyak bakteri memproduksi toksin yang digunakan sebagai faktor virulen primer, menginduksi kerusakan patologis pada jaringan pejamu. Toksin dapat berfungsi untuk menciptakan kolonisasi yang produktif dan bekerja dengan merusak membran sel pejamu yang mengaktifkan *messenger* sekunder yang mengganggu fungsi sel pejamu.
5. Respons imun terhadap infeksi bakteri ekstraseluler pada umumnya diperankan antibodi. Antibodi dapat menghancurkan bakteri dengan bantuan komplemen, menetralkan toksin dan berperan sebagai opsonin untuk meningkatkan fagositosis. Pertahanan tubuh terhadap bakteri intraseluler terutama tergantung pada respons sel T CD4<sup>+</sup>.
6. Respons imun terhadap infeksi virus, melibatkan kedua komponen humoral dan seluler. Virus bermutasi dengan cepat dan dapat menghindari respons imun humoral.
7. Awal replikasi virus diawali oleh menempel dan masuknya partikel virus ke dalam sel pejamu, diikuti oleh replikasi bahan genetik dan produksi protein (polimerase dan protein struktural) yang diperlukan untuk membentuk virion dengan nukleokapsid yang matang.
8. Virion yang baru dibentuk dilepas dari sel pejamu dengan pembentukan di permukaan sel melalui budding atau melalui lisis sel pejamu.
9. Kerusakan jaringan sekitar dapat disebabkan langsung oleh respons imun atau usaha untuk membatasi replikasi dan penyebaran virus.
10. Interferon merupakan bagian dari respons imun alamiah dari pejamu yang protektif cepat yang ditujukan terhadap invasi virus.
11. Respons humoral dan seluler berperan pada imunitas terhadap infeksi protozoa. Pada umumnya antibodi humoral efektif terhadap fase hidup protozoa dalam darah. Tetapi bila protozoa sudah menginfeksi sel pejamu, diperlukan imunitas seluler.
12. Penyakit jamur atau mikosis jarang berat pada individu sehat tetapi menjadi persoalan besar pada individu immunodefisiensi, baik imunitas spesifik maupun non spesifik dapat mengontrol infeksi jamur.
13. Cacing adalah parasit yang besar yang pada keadaan normal tidak berkembang biak dalam sel. Karena beberapa dari organisme ini ditemukan pada pajanan cacing dengan sistem imun yang terbatas sehingga hanya diinduksi imunitas derajat rendah. Pada umumnya cacing serang dengan bantuan antibodi.

## Tes 2

**Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!**

- 1) Dari beberapa pernyataan di bawah ini, manakah agen yang berperan dalam imunitas non spesifik ....
  - a. Sel NK, limfosit, netrofil
  - b. Komplemen, epitel, limfosit
  - c. Sel NK, makrofag, limfosit
  - d. Komplemen, netrofil, limfosit
  - e. Sel NK, makrofag, komplemen
  
- 2) Mekanisme antibodi yang menghambat dan menghilangkan racun pada sel yang memberikan efek patologi adalah ....
  - a. Netralisasi
  - b. Opsonisasi
  - c. Fagositosis
  - d. Aglutinasi
  - e. Presipitasi
  
- 3) Pertahanan jaringan dengan fagositosis dilaksanakan oleh sel....
  - a. Trombosit
  - b. Eritrosit
  - c. Platelet
  - d. Lekosit
  - e. Retikulosit
  
- 4) Pada awal infeksi kuman *M. Tuberculosis* dapat dikenali dan difagositosis oleh sel-sel .... alveolar sebagai mekanisme pertahanan awal tubuh terhadap infeksi.
  - a. Epitel
  - b. Eosinofil
  - c. Makrofag
  - d. Limfosit T
  - e. Langerhans
  
- 5) Jika seseorang terinfeksi virus, sel yang akan mempresentasikan antigen virus tersebut ke limfosit T adalah ....
  - a. Limfosit B
  - b. Sel NK
  - c. Makrofag

- d. sel hati
  - e. Sel dendritik
- 6) Sel yang membunuh sasaran melalui pelepasan perforin adalah ....
- a. Sel NK
  - b. Neutrofil
  - c. Makrofag
  - d. basofil
  - e. Limfosit
- 7) Salah satu sel yang berperan penting dalam respon imun terhadap jamur adalah ....
- a. Limfosit Th 2
  - b. Respon Th1 -DTH
  - c. Netrofil
  - d. Makrofag
  - e. sel mast
- 8) Glikoprotein yang diproduksi dan disekresikan oleh sejumlah sel, seperti makrofag, fibrosit, atau limfosit yang terinfeksi berbagai virus disebut...
- a. Komplemen
  - b. Sel dendritik
  - c. Interferon
  - d. C- Reaktif protein
  - e. Sel NK
- 9) Berikut adalah respon imun yang berperan terhadap infeksi parasit, **kecuali** ....
- a. Makrofag teraktivasi
  - b. Sel T
  - c. Eosinofil
  - d. respon IgE
  - e. Sel NK
- 10) Pembunuhan sel yang terinfeksi virus secara langsung biasanya dilakukan oleh ....
- a. Sel T CD8+

- b. Sel T helper 1 CD4+
- c. Sel T helper 2 CD4+
- d. Sel plasma
- e. Sel B CD19+

## Kunci Jawaban Tes

### Test Formatif 1

- 1) D.
- 2) C.
- 3) D.
- 4) A.
- 5) D.
- 6) A.
- 7) D.
- 8) B
- 9) A.
- 10) D.
- 11) B
- 12) E.
- 13) A.

14) D.

15) C.

#### Test Formatif 2

1) E.

2) A.

3) D.

4) C.

5) C.

6) A.

7) B.

8) C.

9) E.

10) A

## Glosarium

**ADCC** : Antibody Dependent Cell-mediated Cytotoxicity) Proses efek sel NK yang mengekspresikan reseptor untuk IgG yaitu Fcγ-RIII (CD16) terhadap sel sasaran yang dilapisi dengan IgG sehingga terjadi lisis.

**Ajuvan** : Bahan yang berbeda dengan antigen , meningkatkan respon imun sel T melalui aktivasi dan pengumpulan leukosit lain yang disebut sel asesori, di tempat terpajan dengan antigen.

**CD** : Cluster of Differentiation, Molekul permukaan sel yang diekspresikan pada berbagai jenis sel system imun yang ditunjukkan dengan penomoran Cluster of Differentiation (CD).

**Eksotoksin** : Protein toksik yang dilepaskan oleh bakteri positif dan negative Gram , beberapa berfungsi sebagai superantigen. Menyebabkan keracunan makanan dan sindrom renjatan toksik.

- Endotoksin : Komponen dinding sel bakteri positif Gram, juga disebut Lipopolisakarida (LPS) , dilepas berbagai bakteri mati, ang merangsang berbagai respon imun, seperti sekresi sitokin, induksi aktivitas mikrobisidal makrofag. Endotoksin mengandung komponen lipid dan hidrat arang ( polisakarida).
- NK sel : Natural Killer sel , nama lainnya Large Granular Lymphocyte. Subset limfosit asal sumsum tulang yang berbeda dari sel B dan sel T, berfungsi dalam imunitas non spesifik.
- Th : Sel T yang dirangsang oleh antigen untuk memberikan aksinya yang memacu respons imun.
- Th1 : Subset T helper yang berperan pada respons Th1
- Th2 : Subset T helper yang berperan pada respons Th2

## Daftar Pustaka

- Abbas, Abul,K, 2010, *Basic Immunology: Functions and disorders of the immune system*, five edition, Saunders.
- Baratawidjaja, KG, 2009, *Imunologi Dasar* edisi ke 8 , FKUI, Jakarta.
- Kresna, SB,2009, *Imunologi: Diagnosis dan Prosedur Laboratorium*, Balai Penerbit : FKUI, Jakarta.
- Playfair,J.H.L and Chain,B.M, 2012, *Immunology At a Glance*, edisi kesembilan; alih bahasa Winardini, Erlangga, Jakarta,.
- Roitt, Ivan etc, 2008, *Immunology*, seventh edition, Elsevier.
- Rittenhouse-Olson, Kate: 2017, *Imunologi dan Serologi Klinis Modern: untuk kedokteran dan analis kesehatan (MLT/CLT)* ; alih bahasa , Dian Ramadhani ....[et al.], EGC, Jakarta.

# Bab 6

## AUTOIMUNITAS DAN DEFISIENSI IMUN

*Retno Martini Widhyasih, S.Si, M.Biomed*

### Pendahuluan

**S**uatu keadaan yang mungkin terjadi pada sistem imun adalah keadaan yang tidak diharapkan dan menimbulkan keadaan patologi sehingga disebut dengan imunopatologi. Keadaan imunopatologi yang akan dibahas pada bab ini adalah autoimunitas dan defisiensi imun.

Autoimunitas sebenarnya bukan merupakan penyakit tetapi merupakan suatu keadaan di mana tubuh tidak mampu membedakan sel atau jaringan tubuh sendiri dari sel atau jaringan asing sehingga jaringan tubuh sendiri dianggap sebagai antigen asing. Antigen tersebut disebut autoantigen sedang antibodi yang dibentuk disebut autoantibodi. Respons imun terhadap antigen jaringan sendiri yang disebabkan karena mekanisme normal yang gagal berperan untuk mempertahankan *self tolerance* sel B, sel T atau keduanya. Penyakit autoimun adalah kerusakan jaringan atau gangguan fungsi fisiologis yang ditimbulkan oleh respons autoimun. Perbedaan tersebut adalah penting karena respons imun dapat terjadi tanpa disertai penyakit atau penyakit yang ditimbulkan mekanisme lain ( seperti infeksi).

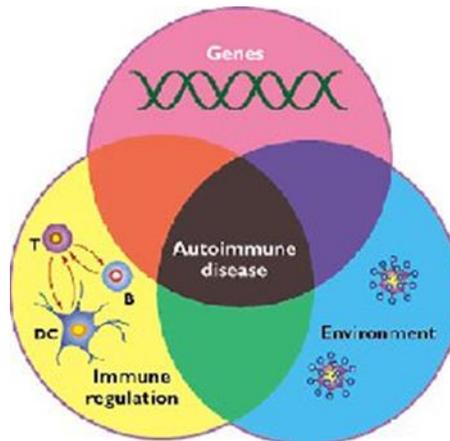
Sel autoreaktif adalah limfosit yang mempunyai reseptor untuk self antigen atau autoantigen. Bila sel tersebut memberikan respons autoimun , disebut sel limfosit reaktif (SLR). Pada keadaan normal , meskipun SLR berpapasan dengan autoantigen, tidak selalu terjadi respons autoimun, oleh karena ada sistem yang mengontrol reaksi autoimun. Respons terhadap self-antigen melibatkan komponen-komponen yang juga bekerja dalam respons imun seperti antibodi, komplemen, kompleks imun dan *Cell Mediated Immunity* (CMI). Antigen yang berperan pada penyakit autoimun pada umumnya belum diketahui.

Keadaan imunopatologi lain yang tidak diharapkan adalah defisiensi imun. Adanya defisiensi imun di klinik harus dicurigai bila ditemukan tanda-tanda dari peningkatan kerentanan terhadap infeksi. Defisiensi imun primer atau kongenital diturunkan, tetapi defisiensi imun sekunder atau didapat ditimbulkan berbagai faktor setelah lahir.

# Topik 1

## Autoimunitas

**P**enyebab autoimunitas belum diketahui dengan pasti, namun para ahli sependapat bahwa dalam hal ini ada beberapa faktor, seperti faktor genetik, faktor imunologik, atau karena mikroorganisme seperti virus (Gambar 34)



**Gambar 34.** Faktor yang berperan pada autoimunitas.

## I. Etiologi autoimunitas

1. Teori tentang terjadinya penyakit autoimun berubah-ubah.

a. Teori *forbidden clones* menurut Jerne dan Burnett

Menurut teori Jerne dan Burnett, self antigen dalam sirkulasi yang sampai di sistem limfoid yang belum matang akan dikenal sebagai self dan selanjutnya tidak terjadi respons imun terhadapnya ( proses *self tolerance*). Menurut teori *clonal selection* dari Burnett, limfosit autoreaktif yang kontak dengan self antigen selama ontogeny dihancurkan (*clonal abortion*).

Mekanisme tersebut merupakan pertahanan terhadap autoimunitas. Namun pada kenyataannya orang normal memiliki limfosit yang dapat bereaksi dengan self-antigen, jika ada sel-sel yang lepas dari *clonal abortion*. Limfosit imunokompeten tersebut dapat dirangsang oleh antigen tertentu sehingga berproliferasi dan berdiferensiasi menjadi klon sel yang dapat membentuk antibodi dan sel-sel memori. Klon yang dapat meloloskan diri dari proses self tolerance atau timbul kembali akibat mutasi disebut *Forbidden clones*.

b. Rangsangan molekul poliklonal

Autoimunitas dapat terjadi oleh karena molekul poliklonal seperti virus Epstein-Bar (EBV) atau lipopolisakarida (LPS) dapat merangsang sel B secara langsung dan menimbulkan autoimunitas. Beberapa reaksi autoimun diduga terjadi akibat respons terhadap antigen yang mempunyai reaksi silang dengan

mikroorganisme yang masuk badan. Antibodi yang dibentuk terdiri atas berbagai autoantibodi.

c. Kegagalan auroregulasi

Diketahui terdapat juga limfosit B yang *self-reactive*, namun kenyataannya penyakit autoimun merupakan lebih banyak kekecualian. Hal ini ditunjang teori immunoregulation yang mempertahankan homeostasis. Sehingga terdapat anggapan bahwa gagalnya sistem pengontrolan yang menimbulkan respons terhadap antigen sendiri.

Pengawasan beberapa sel autoreaktif diduga bergantung pada sel Ts. Bila terjadi kegagalan sel Ts atau bila autoantigen bergabung dengan molekul, maka sel Th dapat dirangsang sehingga mengakibatkan autoimunitas. Penyakit autoimun baru terjadi bila reaksi autoimun mengakibatkan kerusakan jaringan patologik.

d. Sequestered antigen

Sequestered antigen adalah antigen sendiri yang karena letak anatominya, tidak terpajan dengan sel B atau sel T dari sistem imun. Pada keadaan normal sequestered antigen dilindungi dan tidak ditemukan untuk dikenal sistem imun. Perubahan anatomik dalam jaringan seperti inflamasi, dapat memajukan sistem imun yang tidak terjadi pada keadaan normal. Sebagai contoh adalah protein lensa intraocular, sperma dan Myelin Basic Protein.

2. Peran Genetik pada autoimunitas.

Peran genetik pada penyakit autoimun melibatkan gen multiple. Namun demikian defek sejumlah gen tunggal dapat juga menimbulkan autoimunitas. Studi keluarga atau kembar menunjukkan kontribusi genetik dalam semua penyakit autoimun dan autoimunitas sub klinis yang lebih sering ditemukan pada anggota keluarga.

3. Faktor lingkungan yang berperan pada autoimunitas

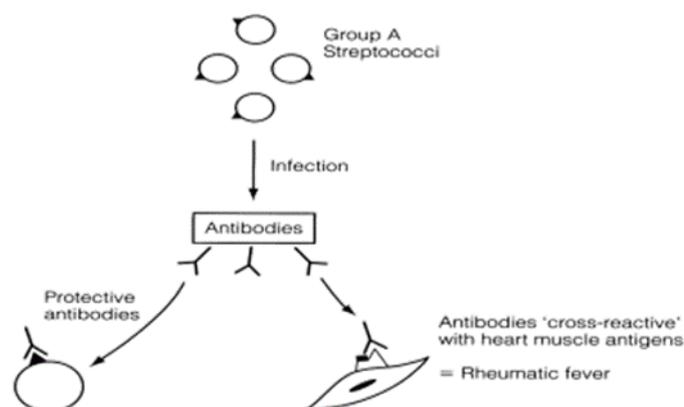
Beberapa faktor lingkungan dapat memicu autoimunitas seperti mikroba, hormon, radiasi UV, obat dan logam

a. Mikroba

Hubungan antara infeksi mikroba dapat berupa virus ataupun bakteri dengan autoimunitas disebabkan karena adanya kemiripan (*mimicracy*). Berbagai virus berhubungan dengan berbagai penyakit autoimun yang mengenai sendi. Virus Adeno dan Coxsackie A9, B2, B4,B6 sering berhubungan dengan polyarthrits, pleuritis, myalgia, ruam kulit, faringitis, miokarditis dan leukositosis.

Penyakit autoimun yang ditimbulkan bakteri adalah demam reuma pasca infeksi streptokok yang disebabkan oleh antibodi terhadap streptokok yang diikat jantung dan menimbulkan miokarditis. Demam reuma adalah gejala sisa nonsupuratif penyakit Streptokok A, biasanya berupa faringitis dengan manifestasi 2-4 minggu pasca infeksi akut. Ada tiga gejala utama yaitu arthritis, karditis dan *korea* (gerakan tidak terkontrol, tidak teratur dari otot muka, lengan dan tungkai). Gejala tersebut biasanya timbul pada penderita yang menunjukkan beberapa gambaran klinis utama dan jarang terjadi dengan sendiri.

Pada pemeriksaan imunologik ditemukan antibodi yang bereaksi dengan protein M dari mikroba penyebab. Antigen Streptokok tersebut memiliki epitop yang mirip dengan jaringan miokard jantung manusia dan antibodi terhadap streptokok tersebut memiliki epitop yang mirip dengan jaringan miokard jantung manusia dan antibodi terhadap streptokok akan menyerang jantung (jaringan katup). Antibodi terhadap antigen streptokok bereaksi silang dengan antigen otot jantung dan menimbulkan kerusakan dan penyakit demam reuma. Penyakit menghilang bila bakteri dieliminasi dan tidak terjadi produksi antibodi ( Gambar 35)



Gambar 35. Streptokok Grup A dan demam reuma

b. Hormon

Studi epidemiologi menemukan bahwa wanita lebih cenderung menderita penyakit autoimun dibanding pria. Selain itu, wanita pada umumnya memproduksi antibodi lebih banyak dibandingkan pria yang biasanya merupakan respons proinflamasi Th1. Kehamilan sering disertai dengan memburuknya penyakit terutama artritis reumatik dan relaps sering terjadi setelah melahirkan. Kadar prolactin yang timbul tiba-tiba setelah kehamilan berhubungan dengan kecenderungan terjadinya penyakit autoimun seperti RA.

c. Radiasi UV

Pajanan dengan radiasi Ultraviolet (biasanya sinar matahari) diketahui merupakan pemicu inflamasi kulit dan kadang LES. Radiasi UV dapat menimbulkan modifikasi struktur radikal bebas self antigen yang meningkatkan imunogenitas.

d. Logam

Berbagai macam logam seperti Zn, Cu, Cr,Pb, Cd,Pt, perak dan silikon diduga dapat menimbulkan efek terhadap sistem imun, baik in vitro maupun in vivo dan kadang serupa autoimunitas. Salah satu yang banyak diteliti adalah terhadap silikon. Silikon merupakan metalloid ( kristal non logam) , dan bentuk dioksida nya disebut dengan silica. Pajanan debu dari silikon yang berhubungan dengan pekerjaan dapat menimbulkan penyakit yang disebut silikosis. Respons imun yang terjadi dapat berupa produksi ANA, RF, dan mungkin dapat menunjukkan LES atau sindrom serupa skeloderma dengan endapan kompleks imun di glomerulus dan glomerulosklerosis lokal. Walaupun banyak dugaan keterlibatan logam dalam autoimunitas, namun masih banyak penelitian yang harus dilakukan terhadap keterlibatan logam dalam autoimunitas. Sebagai contoh adalah logam Silikon dapat merangsang respon autoimun dengan indikator terdeteksinya ANA serta menimbulkan penyakit serupa skleroderma.

## II. Pembagian penyakit autoimun

a. Pembagian penyakit autoimun menurut organ

Penyakit autoimun dapat dibagi menjadi 2 golongan, yaitu yang mengenai organ spesifik dan nonorgan spesifik. Spektrum autoimun seperti terlihat pada Tabel 11.

1. Penyakit autoimun organ spesifik

Pada penyakit autoimun organ spesifik maka alat tubuh yang menjadi sasaran adalah kelenjar tiroid, kelenjar adrenal, lambung dan pankreas. Respon imun yang terjadi adalah terbentuknya antibodi terhadap jaringan alatnya sendiri. Dalam hal ini muncul antibodi yang tumpang tindih, seperti antibodi terhadap kelenjar tiroid dan antibodi terhadap lambung sering ditemukan pada satu penderita. Kedua antibodi tersebut jarang ditemukan bersamaan dengan antibodi yang non-organ spesifik seperti antibodi terhadap komponen nukleus dan nukleoprotein.

Penderita anemia pernisiosa lebih cenderung menderita penyakit tiroid autoimun dibanding orang normal dan juga sebaliknya penderita dengan penyakit tiroid autoimun lebih cenderung untuk juga menderita anemia pernisiosa

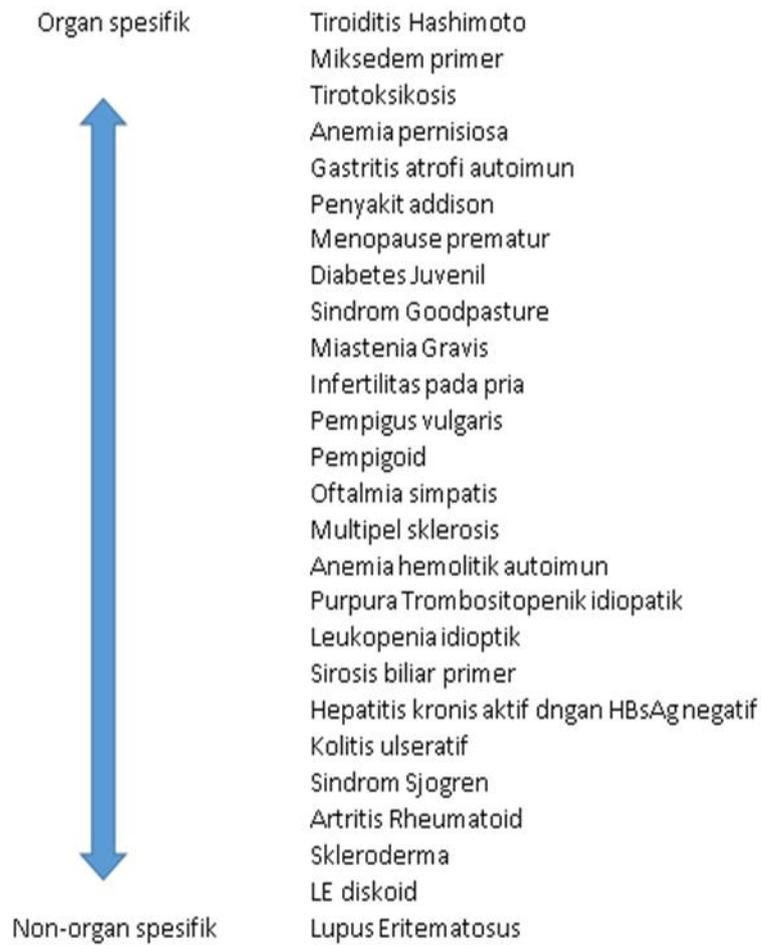
## 2. Penyakit autoimun non-organ spesifik

Penyakit autoimun nonorgan spesifik terjadi karena dibentuknya antibodi terhadap autoantigen yang tersebar luas di dalam tubuh, seperti DNA.

Antibodi yang tumpang tindih ditemukan pula pada golongan penyakit autoimun, misalnya anti DNA yang dapat ditemukan pada golongan penyakit rheumatoid seperti arthritis rheumatoid dan lupus eritematosus sistemik. Juga sering ditemukan gejala klinis yang sama pada kedua penyakit tersebut.

Pada penyakit autoimun nonorgan spesifik, sering juga dibentuk kompleks imun yang dapat diendapkan pada dinding pembuluh darah, kulit, sendi, dan ginjal, serta menimbulkan kerusakan pada organ tersebut. Tempat endapan kompleks imun di dalam ginjal bergantung pada ukuran kompleks yang ada di dalam sirkulasi

Tabel 11. Spektrum penyakit autoimunitas



Perbedaan antara penyakit autoimun yang organ spesifik dengan yang organ spesifik terlihat pada tabel 12.

**Tabel 12.** Perbedaan antara penyakit autoimun organ spesifik dengan yang non-organ spesifik

	<b>Organ spesifik</b>	<b>Non-organ spesifik</b>
Antigen	Terdapat di dalam alat tubuh tertentu : -Diabetes Mellitus tipe I - Autoimun kejar tiroid :	Tersebar di seluruh tubuh : - Sistemik                      Lupus Eritematosus - Rheumatoid Artritis

	<b>Organ spesifik</b>	<b>Non-organ spesifik</b>
	*Graves diseases * Hashimoto - Hepatitis autoimun	- Sindrom Sjogren - Skleroderma - Poliomyositis - Anemia hemolitik autoimun
Kerusakan	Antigen dalam alat tubuh	Penimbunan kompleks sistemik terutama dalam ginjal, sendi dan kulit
Antibodi tumpang tindih	Dengan antibodi organ spesifik dan penyakit lain	Dengan antibodi non-organ spesifik dan penyakit lain

b. Pembagian penyakit autoimun menurut mekanisme

Penyakit autoimun dapat dibagi menurut mekanisme sebagai berikut:

1. Penyakit autoimun melalui antibodi

a) Anemia hemolitik autoimun.

Salah satu sebab menurunnya jumlah sel darah merah dalam sirkulasi ialah destruksi oleh antibodi terhadap antigen pada permukaan sel tersebut. Destruksi dapat terjadi akibat aktivasi komplemen dan hal ini akan menimbulkan Hb dalam urin (hemoglobinuria). Destruksi sel dapat pula terjadi melalui opsonisasi oleh antibodi dan komponen komplemen lainnya. Sel darah merah yang dilapisi antibodi difagositosis makrofag ( yang memiliki reseptor Fc dan C3).

b) Miastenia Gravis

Sasaran dari penyakit ini ialah reseptor asetilkolin pada hubungan neuromuskuler. Reaksi antara reseptor dan Ig akan mencegah penerimaan impuls saraf yang dalam keadaan normal dialirkan oleh molekul asetilkolin. Hal ini menimbulkan kelemahan otot yang begitu berat yang ditandai dengan gejala yang sulit mengunyah dan bernafas sehingga dapat mengakibatkan kematian karena gagal nafas.

Timbulnya miastenia gravis berhubungan dengan timus. Pada umumnya penderita menunjukkan hipertrofi timus dan bila kelenjar timus diangkat, penyakit kadang-kadang dapat menghilang.

Molekul yang menunjukkan rekasi silang dengan reseptor asetilkolin telah ditemukan dalam berbagai sel timus seperti timosit dan sel epitel. Keterlibatan sel-sel dalam perannya menimbulkan penyakit belum diketahui.

#### c) Tirotoksikosis

Pada keadaan ini autoantibodi dibentuk terhadap reseptor hormon. Antibodi terhadap reseptor hormon. Antibodi akan terbentuk terhadap reseptor tiroid stimulating hormone (TSH).

Autoantibodi dapat menembus plasenta sehingga ibu dengan tirotoksikosis dapat melahirkan bayi dengan hiperaktivitas tiroid. Bila autoantibodi pada bayi tersebut dihancurkan beberapa minggu kemudian, tanda-tanda hiperreaktivitas tiroid juga akan hilang.

Sel tiroid dirangsang bila reseptor untuk TSH mengikat hormon. Antibodi terhadap reseptor TSH ditemukan dalam serum penderita dengan penyakit Grave atau basedow dan bila antibodi tersebut diikat reseptor TSH akan terjadi rangsangan yang sama terhadap sel tiroid. Banyak ahli menggolongkan reaksi tersebut sebagai reaksi Gel dan Coombs type V. Contoh penyakit autoimun lain ialah infertilitas pada pria yang mengandung antibodi aglutinin terhadap sperma, yang menyebabkan sperma tidak dapat bergerak untuk bertemu dengan ovum.

### 2. Penyakit autoimun melalui kompleks imun

#### a) Lupus Eritematosus sistemik (SLE)

Lupus sering dijuluki dengan istilah '*great imitator*' atau penyakit seribu wajah. Istilah SLE berasal dari *red wolf* berasal dari gejala dini berupa kemerahan di pipi. Sebenarnya kemerahan yang tampak menyerupai kupu-kupu (*butterfly rash*) terlihat pada gambar 36. Istilah sistemik mempunyai dasar yang kuat oleh karena penyakit mengenai berbagai alat tubuh seperti sendi, SSP, jantung dan ginjal. Kerusakan ginjal merupakan sebab dari kebanyakan kematian. Gejala SLE dapat terjadi dari ringan sampai berat. Terutama menyerang wanita usia produktif dengan angka kematian yang cukup tinggi.



Gambar 36. Gambaran *butterfly rash* pada SLE

Penderita SLE membentuk Ig terhadap beberapa komponen badan misalnya DNA. Diduga Ig tersebut membentuk kompleks dengan DNA yang berasal dari degradasi jaringan normal. Sensitivitas penderita SLE terhadap sinar UV diduga berdasarkan hal ini.

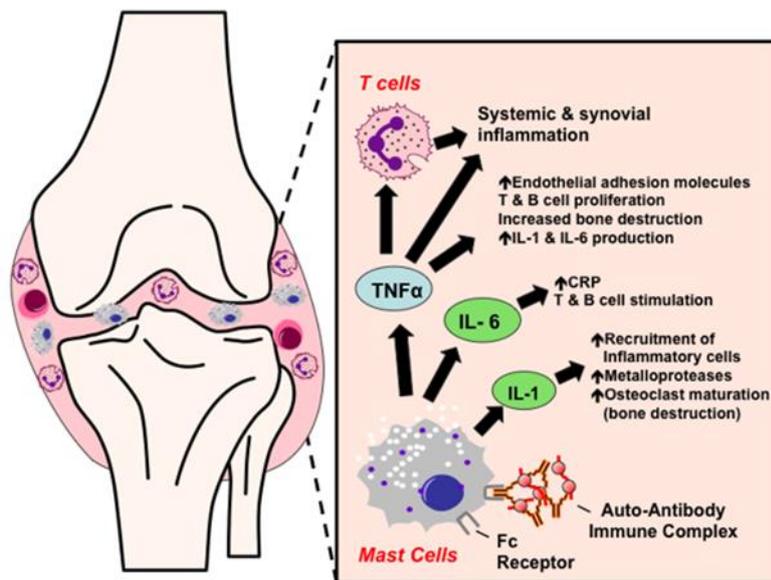
Agregat kompleks imun akan disaring di ginjal dan mengendap di membran basal glomerulus. Kompleks lainnya mungkin mengendap di dinding arteri dan sendi membentuk endapan *lumpry-lumpry*. Kompleks tersebut kemudian mengaktifkan komplemen, dan menarik granulosit dan menimbulkan reaksi inflamasi sebagai glomerulonephritis. Kerusakan ginjal menimbulkan protein uria dan kadang-kadang perdarahan. Derajat gejala penyakit dapat berubah-ubah sesuai dengan kadar kompleks imun. Gejala klinis SLE terlihat pada gambar 37.



Gambar 37. Gejala klinis LES

b) Rheumatoid Arthritis (RA)

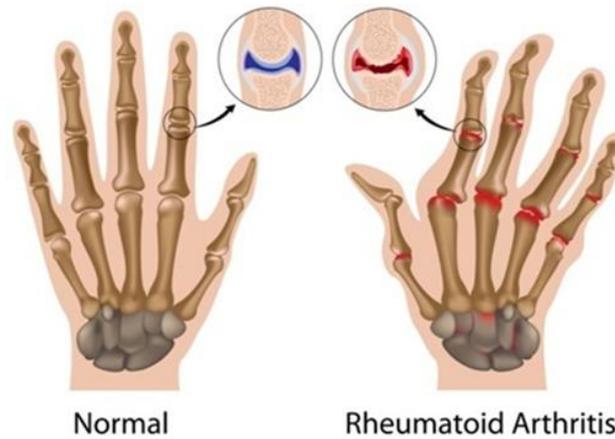
Pada RA dibentuk Ig yang dapat berupa IgM abnormal (disebut Rheumatoid factor, RF) yang spesifik terhadap fraksi Fc dari molekul IgG. Terbentuknya Ig ini dalam jumlah besar belum diketahui dengan jelas. Gambar 6.5. menggambarkan terbentuknya RF kompleks.



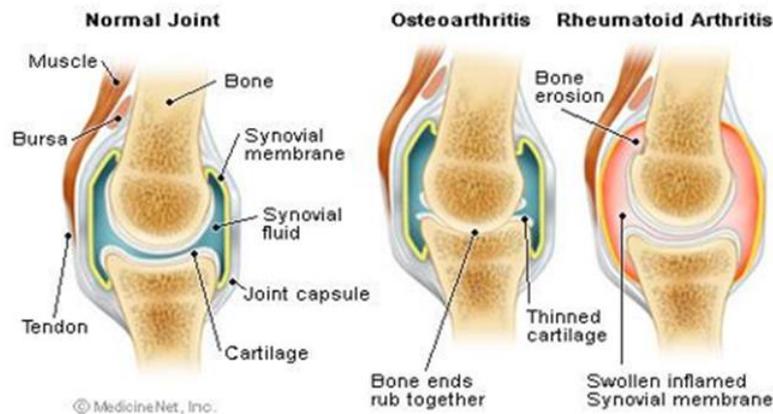
Gambar 38. Mekanisme terbentuknya RF kompleks

Kompleks RF dan IgG ditimbun dalam sinovia sendi dan mengaktifkan komplemen yang melepaskan mediator dengan sifat kemotaktik granulosit. Respons inflamasi yang disertai peningkatan permeabilitas vaskuler menimbulkan pembengkakan sendi dan sakit bila eksudat bertambah banyak. Enzim hidrolitik yang dilepas neutrofil segera memecah kolagen dan tulang rawan sendi yang dapat menimbulkan destruksi permukaan sendi sehingga mengganggu fungsi normal. Akibat inflamasi yang berulang-ulang, terjadi penimbunan fibrin dan penggantian tulang rawan oleh jaringan ikat sehingga sendi menyatu (*ankilosis*) yang menjadi sulit untuk

digerakkan. Perbedaan sendi antara normal dan Rheumatoid arthritis terlihat pada gambar 39 dan 40.



**Gambar 39.** Perbedaan gambaran sendi normal dan RA

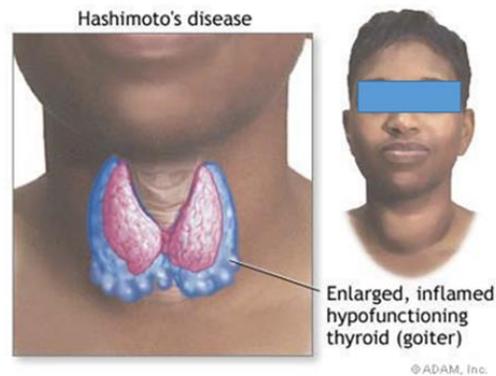


**Gambar 40.** Keadaan persendian pada normal, osteoarthritis dan Rheumatoid arthritis (RA)

3. Penyakit autoimun melalui sel T  
Hashimoto thyroiditis ( HT)

Penyakit kelenjar tiroid yang sering ditemukan pada wanita dewasa tua adalah *goiter* ( pembesaran kelenjar tiroid) atau hipotiroidism yang mengakibatkan rusaknya fungsi kelenjar. Infiltrat terdiri terutama atas sel mononuclear yang ditemukan dalam folikel kelenjar. Bila infiltrasi mencapai derajat. Hal ini serupa dengan reaksi lambat melalui sel T lainnya. Destruksi folikel kelenjar yang progresif disertai dengan infiltrasi sel. Bila infiltrasi mencapai derajat tertentu, pengeluaran hormon tiroid menurun dan gejala hipotiroidism timbul seperti kulit kerang, *puffy face*, rambut tipis mudah rontok dan perasaan dingin.

Beberapa alat sasaran yang terkena pada proses ini adalah tiroglobulin yang merupakan hormon utama tiroid. Mikrosom dari epitel tiroid juga ikut berperan dan Ig terhadap kedua jenis antigen tersebut ditemukan pada penderita dengan HT. Gambar 41.



Gambar 41. Hashimoto Thyroiditis

## Latihan

**Untuk dapat memperdalam pemahaman Anda mengenai materi di atas, kerjakanlah Latihan berikut!**

- 1) Autoimunitas diduga disebabkan karena factor genetik, regulasi system imun dan lingkungan.
- 2) Beberapa teori yang diajukan sebagai penyebab autoimunitas.
- 3) Faktor lingkungan yang berperan pada autoimunitas
- 4) Penyakit autoimun organ spesifik dan non-organ spesifik

## Ringkasan

1. Autoimunitas merupakan kegagalan mekanisme toleransi yang efektif terhadap antigen self
2. Faktor genetik dan lingkungan berperan dalam timbulnya penyakit.
3. Ada beberapa mekanisme mengenai induksi autoimunitas , antara lain penglepasan antigen sekueter, kemiripan molecular.
4. Penyakit autoimun dapat dibagi dalam organ spesifik dan dan sistemik. Organ spesifik melibatkan respons autoimun terutama terhadap organ tunggal atau kelenjar. Penyakit sistemik diarahkan ke jaringan dengan spektrum luas.

## Tes 1

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

- 1) Jika antibodi menyerang sel tubuhnya sendiri yang dianggapnya antigen, peristiwa ini disebut...
  - A. Isoimunitas
  - B. Heteroimunitas
  - C. Autoimunitas
  - D. Imunitas
  
- 2) Di bawah ini termasuk penyakit autoimun organ spesifik
  - a. Hashimoto tyroiditis
  - b. Systemic Lupus Eritematosus
  - c. Scleroderma
  - d. Rheumatoid Arthritis
  
- 3) Di bawah ini termasuk penyakit autoimun non organ spesifik
  - a. Diabetes Mellitus tipe I
  - b. Hepatitis autoimun
  - c. Scleroderma
  - d. Graves disease

## Topik 2

# Defisiensi Imun

**K** eberadaan sistem imun sangat utama sebagai pertahanan terhadap infeksi mikroba dan produk toksiknya. Defek salah satu komponen sistem imun dapat menimbulkan penyakit berat bahkan fatal yang secara kolektif disebut dengan defisiensi imun. Penyakit defisiensi imun dibedakan menjadi kongenital (primer) dan didapat (sekunder). Defisiensi imun kongenital merupakan defek genetik yang meningkatkan kerentanan terhadap infeksi yang sering sudah bermanifestasi pada bayi dan anak, namun secara klinis baru ditemukan pada usia lanjut. Defisiensi imun didapat disebabkan malnutrisi, kanker yang menyebar, pengobatan dengan immunosupresan, infeksi sel sistem imun yang nampak jelas pada infeksi virus HIV, yang merupakan penyebab AIDS.

Adanya defisiensi imun harus dicurigai apabila ditemukan tanda-tanda klinis sebagai berikut :

- Peningkatan kerentanan terhadap infeksi dan jenis infeksi tergantung dari komponen sistem imun yang defektif.
- Penderita dengan defisiensi imun juga rentan terhadap jenis kanker tertentu.
- Defisiensi sistem imun dapat terjadi akibat defek pematangan limfosit atau aktivasi atau dalam mekanisme efektor imunitas non spesifik dan spesifik.

Penyakit defisiensi imun tersering mengenai sistem imun seperti limfosit, komplemen, dan fagosit seperti terlihat pada tabel 13.

**Tabel 13.** Gangguan fungsi sistem imun yang umum

Gangguan fungsi sistem imun	Penyakit yang menyertai
<b>Defisiensi</b>	
Sel B atau antibodi	Infeksi bakteri rekuren seperti otitis media, pneumonia rekuren
Sel T	Kerentanan meningkat pada virus, jamur, protozoa

Fagosit	Infeksi sistemik oleh bakteri yang dalam keadaan biasa mempunyai virulensi rendah, infeksi bakteri piogenik
Komplemen	Infeksi bakteri, autoimunitas

---

**Fungsi yang berlebihan**

Sel B	Gamopati monoklonal
Sel T	Kelebihan sel Ts yang menimbulkan infeksi dan penyakit limfoproliferatif.
Fagosit	Hipersensitivitas, beberapa penyakit autoimun
Komplemen	Edem angioneurotik akibat tidak adanya inhibitor esterase C1.

---

Defisiensi imun dapat dibagi seperti terlihat pada tabel 14.

**Tabel 14.** Pembagian defisiensi sistem imun

Defisiensi Imun
I. Defisiensi imun non- spesifik
A. Defisiensi komplemen
1. Defisiensi komplemen kongenital
2. Defisiensi komplemen fisiologik
3. Defisiensi komplemen didapat
B. Defisiensi interferon
1. Defisiensi interferon kongenital
2. Defisiensi interferon dan lisosim sekunder
C. Defisiensi sel NK
1. Defisiensi sel NK kongenital
2. Defisiensi sel NK didapat
D. Defisiensi sistem fagosit
1. Defisiensi fagosit kongenital
2. Defisiensi fagosit fisiologik
3. Defisiensi fagosit didapat
II. Defisiensi imun spesifik
A. Defisiensi kongenital
B. Defisiensi fisiologik
1. Kehamilan
2. Usia lanjut

---

### C. Defisiensi di dapat

---

1. Malnutrisi
  2. Infeksi
  3. Obat
  4. Penyinaran
  5. Penyakit berat
  6. Kehilangan Ig / leukosit
  7. Agamaglobulinemia dengan timoma
- 

### D. AIDS

---

#### A. Defisiensi imun non-spesifik

##### I. Defisiensi komplemen

Komponen komplemen diperlukan untuk membunuh mikroba, opsonisasi, kemotaksis, pencegahan penyakit autoimun dan eliminasi kompleks antigen-antibodi. Defisiensi komplemen dapat menimbulkan berbagai akibat seperti infeksi bakteri yang rekuren, peningkatan sensitivitas terhadap penyakit autoimun. Kebanyakan defisiensi komplemen adalah herediter. Defisiensi C3 biasanya menimbulkan infeksi rekuren dari bakteri piogenik dan gram negatif yang mungkin disebabkan oleh karena tidak adanya faktor kemotaktik, opsonisasi dan aktivitas bakterisidal.

##### 1. Defisiensi komplemen kongenital

Defisiensi komplemen kongenital biasanya mengakibatkan infeksi yang berulang atau penyakit kompleksimun seperti lupus eritematosus sistemik dan glomerulonephritis

##### 2. Defisiensi komplemen fisiologik

Defisiensi komplemen fisiologik hanya ditemukan pada neonatus yang disebabkan karena kadar C3, C5 dan factor B yang masih rendah

##### 3. Defisiensi komplemen didapat

Defisiensi komplemen didapat disebabkan oleh depresi sintesis, misalnya pada sirosis hati dan malnutrisi protein / kalori.

##### II. Defisiensi interferon dan lisozim

##### 1. Defisiensi kongenital

Defisiensi interferon kongenital dapat menimbulkan infeksi mononucleosis yang fatal.

##### 2. Defisiensi didapat

Defisiensi interferon dan lisozim dapat ditemukan pada malnutrisi protein/ kalori.

### III. Defisiensi sel NK

#### 1. Defisiensi kongenital

Defisiensi sel NK kongenital telah dilaporkan pada penderita dengan osteoporosis ( defek osteoclast dan monosit). Kadar IgG, IgA dan kekerapan autoantibodi biasanya meninggi.

#### 2. Defisiensi di dapat

Defisiensi sel NK yang didapat akibat imunosupresi atau radiasi

### IV. Defisiensi sistem fagosit

Fagosit dapat menghancurkan mikroorganismenya tanpa atau dengan bantuan komplemen melalui jalur alternatif. Defisiensi fagosit sering disertai dengan infeksi berulang. Kerentanan terhadap infeksi piogenik berhubungan langsung dengan jumlah neutrofil yang menurun dan risiko infeksi yang meninggi bila jumlah sel tersebut turun sampai di bawah  $500/\text{mm}^3$ . Defisiensi fagosit dapat terjadi kongenital, fisiologik dan didapat, yang semuanya disertai dengan gangguan fungsi fagositosis.

## B. Defisiensi imun spesifik

Gangguan dalam sistem imun spesifik dapat terjadi kongenital, fisiologik dan didapat.

- I. Defisiensi sistem imun spesifik kongenital sangat jarang terjadi. Beberapa contoh defisiensi imun spesifik dapat terlihat pada tabel 15 Defisiensi sel B dapat berupa gangguan perkembangan sel B. Berbagai akibat dapat ditemukan seperti tidak adanya semua Ig atau satu kelas atau subkelas Ig. Penderita dengan defisiensi semua jenis IgG akan lebih mudah menjadi sakit dibanding dengan yang hanya menderita defisiensi kelas Ig tertentu saja.

Istilah agamaglobulinemia (tidak ada immunoglobulin sama sekali ) sebenarnya tidaklah benar oleh karena pada defisiensi ini biasanya masih ada kadar Ig yang rendah (terutama IgG). Oleh karena itu sebaiknya disebut hipogamaglobulinemi.

Defisiensi sel T kongenital sangat rentan terhadap infeksi virus, jamur dan protozoa. Hal ini berkaitan dengan peranan sel T terhadap sel B, maka defisiensi sel T disertai pada gangguan produksi Ig yang nampak dari tidak adanya respons terhadap vaksinasi dan seringnya terjadi infeksi.

**Tabel 15.** Defisiensi kongenital sel B dan sel T primer

---

1. Defisiensi sel B atau antibodi
a. <i>X-linked hypogammaglobulinemia</i>
b. <i>Transient hypogammaglobulinemia</i>
c. <i>Common variable hypogammaglobulinemia</i>
2. Defisiensi sel T
a. <i>Congenital thymic aplasia ( DiGeorge Syndrome)</i>
b. <i>Chronic mucocutaneous candidiasis</i>
3. Defisiensi sel B dan sel T
a. <i>Severe combined immunodeficiency disorders</i>
4. Penyakit yang disertai dengan kelainan lain
a. <i>Wiscott Aldrich syndrome</i>
b. <i>Ataxia telangiectasia</i>
c. <i>Defisiensi adenosine deaminase</i>

---

II. Defisiensi imun spesifik fisiologik

Defisiensi imun selular dapat ditemukan pada kehamilan. Hal ini mungkin diperlukan untuk kelangsungan hidup fetus yang merupakan allograft dengan antigen paternal. Hal ini dapat disebabkan karena terjadinya peningkatan aktivitas sel T atau oleh efek supresif faktor humoral yang dibentuk trofoblast.

Pada usia lanjut jaringan timus menjadi atrofis. Hal ini mengiringi dengan penurunan sel T baik dalam jumlah maupun fungsi. Defisiensi seluler tersebut sering disertai dengan meningkatnya kejadian kanker, kepekaan terhadap infeksi misalnya tuberculosis, herpes zoster, gangguan penyembuhan infeksi dan fenomena autoimun. Penyakit autoimun di usia lanjut sering timbul karena penurunan aktivitas sel T.

III. Defisiensi imun spesifik didapat

1. Malnutrisi

merupakan keadaan yang dapat menyebabkan defisiensi imun spesifik didapat karena menunjukkan atrofi timus dan jaringan limfoid

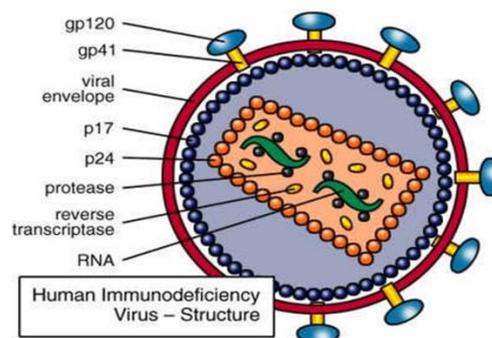
sekunder, depresi respons sel T terhadap mitogen dan sel alogenis, gangguan respons terhadap uji kulit hipersensitivitas tipe lambat.

## 2. Infeksi

Pada beberapa keadaan, infeksi virus dan bakteri dapat menekan sistem imun. Kehilangan imunitas seluler terjadi pada penyakit campak, mononucleosis, hepatitis virus, sifilis, brucellosis, lepra, tuberculosis miliar dan parasit.

## 3. Sindrom defisiensi imun didapat ( AIDS)

*Human Immunodeficiency virus* (HIV) telah diakui sebagai virus penyebab AIDS. HIV yang tergolong virus retro tersebut adalah limfotropik dan menimbulkan efek sitopatologik pada sel Th/helper ( Gambar 42). Virus yang hidup dan berkembang biak di dalam sel Th dan mengakibatkan hancurnya sel-sel tersebut.



Gambar 42. Struktur virus HIV

Keterangan :

1. Inti RNA dan enzim reverse transcriptase (polymerase), protease, integrase.
2. Kapsid – antigen P24
3. Sampul ( antigen p 17) dan tonjolan glikoprotein (gp 120 dan gp 41)
4. Pada partikel virus dewasa (mature) mempunyai inti eksentrik berbentuk batang.
5. Struktur antigenik
  - HIV 1 (penyebaran cepat , gp 120, 41, 24, banyak di Indonesia)
  - HIV 2 ( penyebaran lambat, gp 36, banyak di Afrika)
6. Asam nukleat: RNA terdiri dari dua subunit identic ( 9.200 pasang basa).

Efek sitopatologik HIV tersebut menimbulkan limfopenia yang selektif pada Th, sehingga perbandingan Th : Ts atau perbandingan atau

perbandingan T4 : T8, menjadi terbalik atau lebih kecil daripada 1. Induksi sel Th diperlukan untuk mempertahankan fungsi sel-sel efektor sistem imun lainnya agar tetap baik. Pada AIDS sel Th tidak berfungsi baik, karenanya tidak dapat memberikan induksi yang diperlukan. Gangguan kuantitas dan kualitas sel Th akan menimbulkan kerentanan yang meninggi terhadap infeksi oportunistik seperti *Pneumocystis carinii*, virus sitomegalo, Epstein Bar dan herpes simpleks, jamur *Candida*, *Aspergillus* dan *Cryptococcus*, protozoa dan sarcoma Kaposi.

Gangguan imunitas seluler tampak pula pada aspek-aspek lain, seperti mengurang sampai hilangnya sensitivitas kontak, hipersensitivitas lambat, aktivitas sel Natural Killer (NK) dan sel Tc / cytotoxic serta respons sel mononuclear. Gangguan fungsi monosit tampak pada berkurangnya kemotaksis dan pemusnahan parasit intraseluler. Beberapa peneliti menemukan bahwa HIV dapat hidup biasanya mempunyai sel B yang berfungsi normal, bahkan kadang-kadang menunjukkan kadar Ig yang berlebihan.

Sekarang telah dilaporkan adanya hipergamaglobulinemia dan sel-sel yang memproduksi immunoglobulin secara spontan. Pada AIDS sering ditemukan peningkatan IgG dan IgA. Sel B pada AIDS aktif membentuk antibodi monoclonal. Akibat hal tersebut, immunoglobulin serta kompleks imun dalam serum meninggi dan dapat menimbulkan berbagai fenomena autoimun. Sel B pada AIDS tidak menunjukkan respons normal terhadap antigen spesifik atau imunisasi.

Dalam serum penderita AIDS telah ditemukan faktor supresif terhadap proliferasi sel T sehingga sel tersebut tidak memberikan respons terhadap mitogen dan dalam *mixed lymphocyte culture* ( MLC). Beberapa peneliti menduga bahwa faktor supresif tersebut adalah antibodi terhadap sel T dan dibentuk oleh sel monosit akibat interaksi dengan sel T. Mekanisme faktor supresif ini belum jelas, tetapi diduga kerjanya mencegah sintesis dan sekresi limfokin, antara lain interleukin -2 ( IL 2) atau T cell growth factor.

Infeksi HIV tersebut akan menghancurkan dan mengganggu fungsi sel Th sehingga tidak dapat memberikan induksi kepada sel-sel efektor sistem imun. Tanpa adanya induksi sel Th, sel-sel efektor sistem imun, seperti T8 sitotoksik, sel NK, monosit dan sel B, tidak dapat berfungsi dengan baik.

#### 4. Obat

Obat-obat immunosupresif dan antibiotik dapat menekan sistem imun. Beberapa contoh seperti obat sitotoksik, gentamycin, amikain, dapat mengganggu kemotaksis neutrofil. Kloramfenikol dapat menekan respon antibodi. Jumlah neutrofil yang berfungsi sebagai fagosit, dapat menurun akibat pemakaian kemoterapi, analgetik, antihistamin, antitiroid, antikonvulsi, penenang, dan antibiotik. Steroid dalam dosis tinggi dapat menekan fungsi sel T dan inflamasi.

#### 5. Penyinaran

Dalam dosis tinggi, penyinaran menekan seluruh jaringan limfoid, sedang dalam dosis rendah dapat menekan aktivitas sel Ts secara selektif

### C. HIV dan Respons imun

Untuk sebuah virus yang dapat mematikan sistem imun, infeksi awal dengan HIV akan memicu respons imun terhadapnya dan respons ini dapat merupakan respons humoral dan diperantarai oleh sel. Respons imun terhadap HIV sama seperti setiap respons imun terhadap infeksi virus. Limfosit T sitotoksik dihasilkan untuk membunuh sel yang terinfeksi oleh virus melalui MHC kelas I, epitop antigen endogen, CD8 dan mekanisme reseptor sel T. Spesifisitas sel T sitotoksik biasanya diarahkan ke protein p24, p41, dan gp120. Beberapa antibodi terhadap gp 120 bersifat menetralkan, tetapi sangat spesifik terhadap strain virus yang mengimunitasi. Respons sel T CD8 yang kuat terhadap sel yang terinfeksi HIV, menunjukkan bahwa sel ini merupakan mekanisme efektor utama yang berperan dalam memeriksa replikasi virus HIV. Beberapa mekanisme bawaan yang mungkin berperan dalam membatasi replikasi virus yang dikenal sebagai faktor retriksi. Suatu enzim DNA/RNA terkait dengan faktor retriksi yang diperkirakan terlibat dalam hipermutasi somatik dapat memberikan perlindungan dengan menyebabkan mutasi letal pada asam nukleat virus. Namun demikian, HIV tampaknya telah menemukan cara untuk menghindari semua ini .

Selain itu studi telah menunjukkan bahwa sel T helper yang spesifik virus dapat juga dihasilkan selama respons imun melawan HIV dan memainkan peran dalam pemeliharaan sel T sitotoksik secara kontinyu melawan virus. Respons humoral terhadap HIV menghasilkan berbagai antibodi yang melawan komponen-komponen virus yang berbeda, antibodi ini biasanya digunakan untuk diagnosis.

Antibodi terhadap HIV biasanya dapat dideteksi di dalam aliran darah, permukaan mukosa, dan cairan tubuh lainnya dalam 1 sampai 3 bulan setelah infeksi HIV. Respons antibodi dini cenderung menargetkan misalnya protein p24. Antibodi ini dapat menghambat replikasi virus dan terus memantau virus pada stadium asimtomatik dini. Namun, titer antibodi penetral ini cenderung rendah dan spesifisitasnya sangat sempit (hanya bereaksi dengan beberapa epitop virus tertentu; hal ini membuat antibodi tersebut tidak efisien karena tidak memiliki reaktivitas silang yang lebih luas, karena virus bermutasi sangat cepat dan dengan demikian dapat menghindari efek antibodi tersebut. Dengan demikian, meskipun respons imun awal terhadap HIV dapat mengurangi replikasi virus, respons tersebut tidak dapat benar-benar menghilangkan virus dari pejamu.

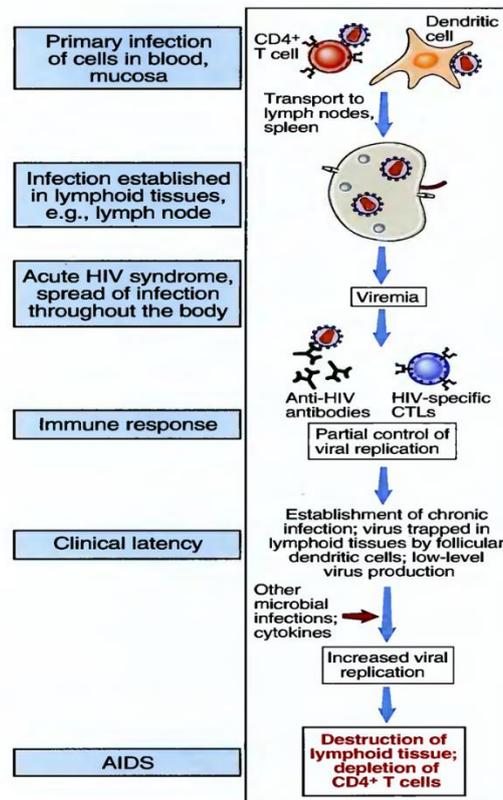
### Patogenesis HIV

Virus umumnya masuk tubuh melalui infeksi sel Langerhans di mukosa rectum atau mukosa vagina yang kemudian bergerak dan bereplikasi di kelenjar getah bening setempat. Virus kemudian disebarkan melalui viremia yang disertai dengan sindrom dini akut berupa panas, myalgia, dan arthralgia. Pejamu memberikan respons seperti terhadap infeksi virus pada umumnya. Virus menginfeksi sel CD4<sup>+</sup>, makrofag dan sel dendritik dalam darah dan organ limfoid.

Antigen virus nukleokapsid, p24 dapat ditemukan dalam darah selama fase ini. Fase ini kemudian dikontrol sel T CD 8<sup>+</sup> dan antibodi dalam sirkulasi terhadap p42 dan protein envelop gp120 dan gp41. Efikasi sel Tc dalam mengontrol virus terlihat dari menurunnya kadar virus. Respons imun tersebut menghancurkan HIV dalam kelenjar getah bening yang merupakan reservoir utama HIV selama fase selanjutnya dan fase laten.

Dalam folikel limfoid, virus terkonsentrasi dalam bentuk kompleks imun yang diikat sel dendritik. Walaupun hanya kadar rendah virus diproduksi dalam fase laten, destruksi sel CD4<sup>+</sup> berjalan terus dalam kelenjar limfoid. Akhirnya jumlah sel CD4<sup>+</sup> dalam sirkulasi menurun. Hal ini dapat berlangsung beberapa tahun. Kemudian menyusul fase progresif kronis dan penderita menjadi rentan terhadap berbagai infeksi oleh kuman nonpatogenik (Gambar 43)

Setelah HIV masuk dalam sel dan terbentuk dsDNA, integrasi DNA viral ke dalam genom sel pejamu membentuk provirus. Provirus tetap laten sampai kejadian dalam sel terinfeksi mencetuskan aktivitasnya yang mengakibatkan terbentuk dan pelepasan partikel virus. Walau CD 4 berikatan dengan envelope glikoprotein HIV 1, diperlukan reseptor kedua supaya dapat masuk dan terjadi infeksi.



Gambar 43. Patogenesis HIV

## Latihan

Untuk dapat memperdalam pemahaman Anda mengenai materi di atas, kerjakanlah Latihan berikut!

- 1) Pembagian defisiensi imun; defisiensi imun primer atau kongenital dan defisiensi imun sekunder atau didapat
- 2) Defisiensi imun non spesifik dan defisiensi imun spesifik
- 3) HIV dan respons imun.

## Ringkasan

1. Defisiensi imun menimbulkan kerentanan terhadap penyakit yang tergantung dari hilangnya fungsi imun.

2. Penyakit defisiensi imun ditimbulkan defek kongenital atau didapat dari limfosit, fagosit dan mediator imunitas non spesifik dan spesifik.
3. Defisiensi imun terjadi akibat kegagalan satu atau lebih komponen system imun. Defisiensi imun primer ditemukan pada saat lahir; sekunder atau didapat timbul karena berbagai sebab setelah lahir.
4. Defisiensi sel B ditandai oleh infeksi bakteri dengan kapsul rekuren.
5. Defisiensi sel T ditandai oleh infeksi rekuren jamur atau protozoa.

## Tes 2

**Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!**

- 1) Sel T sitotoksik disebut juga...
  - a. sel T CD8
  - b. sel T CD4
  - c. sel T suppressor
  - d. sel T delayed
  
- 2) Sel yang paling sering diinfeksi oleh HIV adalah ....
  - a. Eosinofil
  - b. Sel NK
  - c. Limfosit T helper
  - d. Limfosit T sitotoksik
  
- 3) Manakah dari kelas Ig di bawah ini yang menembus plasenta ....
  - a. Ig A
  - b. Ig E
  - c. Ig G
  - d. Ig M
  
- 4) Pembunuhan sel yang terinfeksi virus secara langsung biasanya dilakukan oleh ....
  - a. Sel T CD 4+
  - b. sel T CD 5+
  - c. Sel T CD 6+
  - d. Sel T CD8+

# Kunci Jawaban Tes

## Test Formatif 1

- 1) C.
- 2) A.
- 3) C.

## Test Formatif 2

- 1) A
- 2) C.
- 3) C.
- 4) D.

# Glosarium

- CD : *Cluster of Differentiation*, molekul  
Molekul permukaan sel yang diekspresikan pada berbagai jenis sel system imun yang ditunjukkan dengan penomoran *Cluster of Differentiation (CD)*.
- CD 4 : Molekul Ko-reseptor MHC kelas II. Reseptor untuk HIV-1 dan HIV-2, gp 120
- CD8 : Molekul Ko-reseptor MHC kelas I.
- Imunodominan : Epitop yang menimbulkan respons imun yang lebih mencolok dibandingkan dengan yang lainnya dalam kondisi yang sama.
- Imunokompeten: Menunjukkan limfosit matang yang dapat mengenal antigen spesifik dan berperan dalam respons imun.
- Langerhans (sel,SL) : Sel dendritik ditemukan sebagai jala di lapisan epidermis kulit yang fungsi utamanya menangkap dan mengangkut antigen protein ke kelenjar getah bening terdekat. SL matang menjadi sel dendritik dalam kelenjar getah bening yang dapat mempresentasikan antigen ke sel T naif.
- MHC : lokus genetik ( kromosom 6 pada manusia ) termasuk gen yang sangat polimorfik yang menyandi molekul untuk mengikat peptida yang dikenal sel T.
- M protein : Immunoglobulin monoclonal atau komponen immunoglobulin seperti protein myeloma. M protein merupakan 3-10% dari protein total serum. Kadarnya tetap seumur hidup atau menurun dengan usia. Juga merupakan antigen Streptokok hemolitik B yang tipe spesifik seperti Streptokok M.
- NK sel : *Natural Killer* sel , nama lainnya adalah *Large Granular Lymphocyte*. Subset limfosit asal sumsum tulang yang berbeda dari sel B dan sel T, berfungsi dalam imunitas non spesifik.
- Th : Sel T yang dirangsang oleh antigen untuk memberikan aksinya yang memacu respons imun.

Th1 : subset T helper yang berperan pada respons Th1

Th2 : subset T helper yang berperan pada respons Th2

# Daftar Pustaka

Abbas A.K, Lichtman A.H., Pillai S. 2016. *Imunologi Dasar Abbas: Fungsi dan Kelainan Sistem Imun*. Edisi 5. Editor: Handono Kalim. Singapore: Elsevier.

Baratawidjaja K.G., Rengganis I., 2009. *Imunologi Dasar*. Edisi 8. Jakarta: Balai Penerbit FK UI.

Kresna, SB, *Imunologi.*, 2009. *Diagnosis dan Prosedur Laboratorium*, Jakarta: Balai Penerbit FKUI,

Playfair, J.H.L and Chain, B.M., 2012. *Immunology At a Glance*, edisi kesembilan; alih bahasa Winardini, Jakarta, Erlangga,

Rittenhouse-Olson, Kate, Ernesto de nardin, 2016. *Imunologi Dan Serologi Klinis Modern: Untuk Kedokteran Dan Analisis Kesehatan (MLT/CLT)*, Alih Bahasa: Dian Ramadhani, et al. Jakarta: EGC.

# Bab 7

## PEMERIKSAAN METODE AGLUTINASI

*Retno Martini Widhyasih, S.Si, M.Biomed.*

### Pendahuluan

**B**erdasarkan kenyataan bahwa apabila tubuh terpapar antigen maka tubuh membentuk antibodi spesifik terhadap antigen tersebut. Dalam hal ini dibutuhkan metode pemeriksaan untuk mendeteksi adanya antibodi terhadap antigen bakteri, virus, jamur atau parasit tertentu dapat dipakai untuk menentukan diagnosis berbagai jenis penyakit. Selain dapat digunakan untuk menetapkan antibodi, dapat juga untuk menentukan antigen. Walaupun diagnosis serologi pada penyakit infeksi terutama yang akut seringkali terlambat untuk menentukan terapi, namun ada kalanya bagian tubuh yang terkena infeksi tidak dapat ditemukan mikroorganisme atau dibiakkan sehingga pada keadaan ini salah satu cara untuk menunjang diagnosis adalah uji (test) serologi.

Uji serologi adalah untuk menentukan antigen atau adanya antibodi terhadap mikroorganisme penyebab infeksi. Adanya antibodi terhadap mikroorganisme atau komponen mikroorganisme menunjukkan seseorang pernah terinfeksi atau pernah divaksinasi dengan mikroorganisme tersebut.

Pada infeksi yang kronik, uji serologi tunggal untuk menentukan antibodi sudah dapat menunjang diagnosis, tetapi pada infeksi akut, umumnya diperlukan test ganda dengan jangka waktu 14-21 hari, yaitu pada masa akut dan masa konvalescen. Kenaikan titer sebesar empat kali menunjukkan bahwa infeksi belum lama terjadi.

Dalam melakukan uji serologi, perlu diperhatikan kemungkinan adanya reaksi silang antara antibodi dengan beberapa jenis antigen yang mempunyai determinan antigenik yang serupa sehingga dapat menimbulkan salah tafsir. Idealnya, tes serologi dilakukan terhadap semua antigen yang serupa, dan antigen yang menimbulkan antibodi dengan titer tertinggi dianggap sebagai penyebab infeksi, namun dalam hal ini membutuhkan biaya yang cukup mahal.

## Interaksi antigen-antibodi

Interaksi antigen-antibodi secara invitro yang merupakan dasar imunokimia dapat dibagi menjadi dua katagori yaitu :

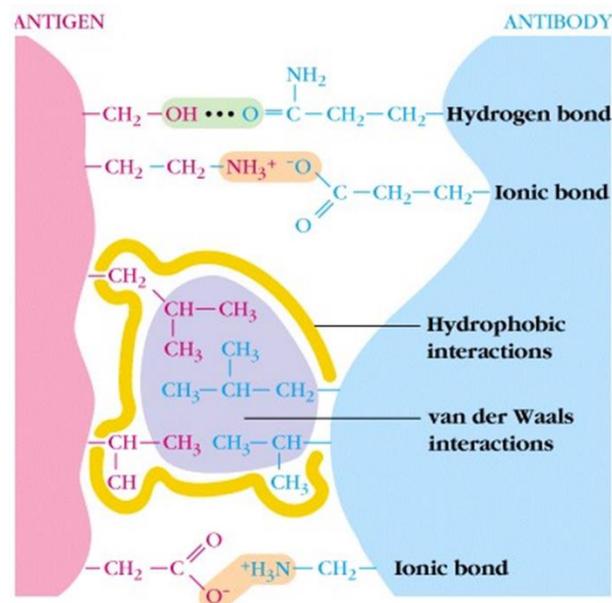
1) interaksi antigen-antibodi primer

adalah permulaan reaksi dan merupakan pengikatan antigen dengan antibodi tingkat molekuler. Reaksi ini tidak terlihat dengan mata belaka tetapi memerlukan suatu indikator, misalnya dengan melabel antigen atau antibodi dengan berbagai zat seperti radioisotop (RIA), enzim (ELISA) dan lain-lain. Teknik tersebut bermanfaat untuk penetapan antigen dan antibodi berkadar rendah.

2) interaksi antigen-antibodi sekunder.

Interaksi ini dapat mengakibatkan presipitasi atau aglutinasi. Reaksi dapat berlangsung secara direk (langsung) atau melalui perantara komplemen. Apabila antigen terlarut direaksikan dengan antibodi spesifik akan terbentuk kompleks Ag-Ab yang besar sehingga kompleks mengendap dan terjadi presipitasi. Bila antigen terikat pada suatu partikel, misalnya lateks, bakteri, eritrosit maupun partikel lain, maka interaksi Ag-Ab tersebut menyebabkan terjadinya gumpalan atau aglutinasi. Hal ini merupakan dasar berbagai jenis teknik uji invitro, seperti teknik imunodifusi, aglutinasi lateks, hemaglutinasi, uji fiksasi komplemen, turbidimetri, nefelometri.

Interaksi antigen pada antibodi dikarenakan adanya kekuatan yang mengikat, yaitu: (Gambar 44)



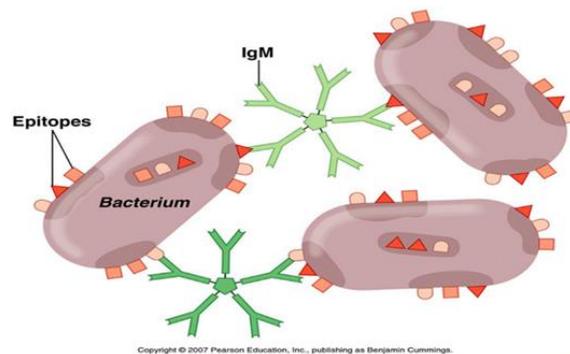
Gambar 44. Interaksi antigen dengan antibodi

Keterangan :

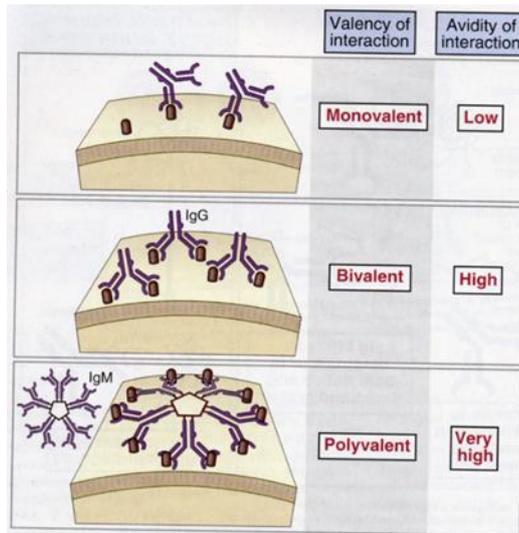
- 1) Ikatan hidrogen: ikatan dengan perantaraan H antara bentuk-bentuk hidrofil :  
-OH<sub>2</sub>, -NH<sub>2</sub>, -COOH
- 2) Ikatan ionik : antara muatan negatif dan positif
- 3) Interaksi hidrofobik : asam amino yang hidrofobik/ non polar cenderung akan bersatu membentuk kelompok dalam lingkungan berair
- 4) Tenaga Van der Waals: ditentukan oleh kekuatan-kekuatan tarik antara lapisan elektron yang meliputi 2 susunan molekul.

## Aglutinasasi

Pengujian berdasarkan aglutinasi merupakan metode klasik untuk penetapan antibodi. Reaksi aglutinasi berlangsung dalam 2 tahap, yaitu pertama-tama antibodi dengan salah satu reseptornya bereaksi dengan antigen. Hal ini dikarenakan antibodi pada umumnya mempunyai lebih dari satu reseptor, maka tahap kedua dengan perantaraan reseptornya yang lain, antibodi bereaksi dengan molekul antigen lain yang mungkin sudah berikatan dengan antibodi sehingga dengan demikian terbentuk gumpalan kompleks antigen-antibodi ( Gambar 45). Reaksi aglutinasi lebih mudah terjadi dengan antibodi kelas IgM yang berbentuk pentamer daripada dengan IgG atau IgA yang mempunyai reseptor lebih sedikit (Gambar 7.3)

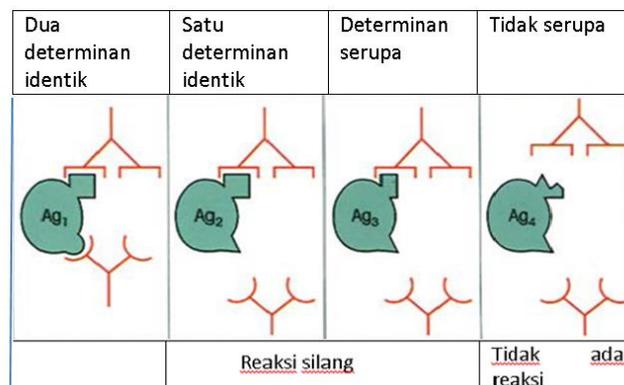


**Gambar 45.** Reaksi reseptor antibodi dengan epitope bakteri



**Gambar 46.** Kekuatan interaksi berbagai kelas Immunoglobulin dengan antigen

Pada permukaan sel (bakteri atau sel lainnya) dapat mempunyai beberapa macam antigen/ epitop. Suatu antigen atau epitop yang serupa atau hampir serupa dapat ditemukan pada sel atau antigen yang berlainan. Serum yang mengandung antibodi terhadap reaksi aglutinasi dengan suatu jenis kuman, namun memberikan reaksi aglutinasi dengan kuman lainnya disebut aglutinasi silang. Antiserum yang ditimbulkan sebagai reaksi terhadap suatu antigen, mungkin saja dapat bereaksi dengan antigen lain yang mempunyai satu atau lebih determinan antigenik yang serupa dengan antigen pertama. Determinan antigenik adalah bagian dari antigen yang dapat berikatan dengan antibodi (Gambar 46). Reaksi silang mempersukar diagnosis kuman dengan cara aglutinasi sehingga dalam pengembangan reagen diperlukan antibodi tunggal (monoklonal) terhadap suatu antigen spesifik pada suatu jenis kuman tertentu sehingga kuman dapat dibeda-bedakan dengan baik.



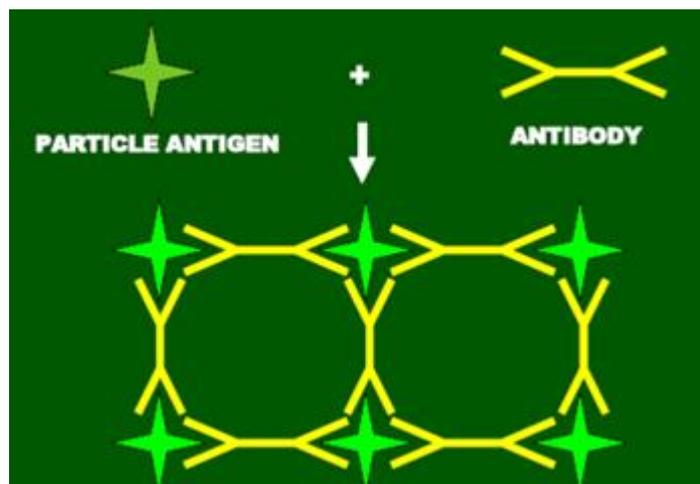
**Gambar 47.** Spesifisitas dan reaksi silang

Keterangan : 1) Ag1 dengan dua determinan identik yang dapat bereaksi dengan antibodi

- 2) Ag2 mempunyai satu determinan antigen yang bereaksi dengan antibodi
- 3) Ag3 mempunyai determinan yang serupa walaupun tidak sama dengan Ag1, dapat bereaksi dengan antibodi tersebut walau ikatannya lebih lemah dari reaksi yang pertama. Hal ini yang disebut reaksi silang.
- 4) Ag4 sama sekali tidak mempunyai determinan antigenik yang serupa dengan Ag1 sehingga tidak dapat bereaksi dengan antibodi tersebut.

Hal di atas inilah yang menandakan spesifisitas suatu antiserum. Interaksi antigen-antibodi dapat digunakan sebagai dasar pemeriksaan laboratorium, baik untuk meniali respons imunologik seluler dan humoral maupun untuk menunjang diagnosis penyakit nonimunologik.

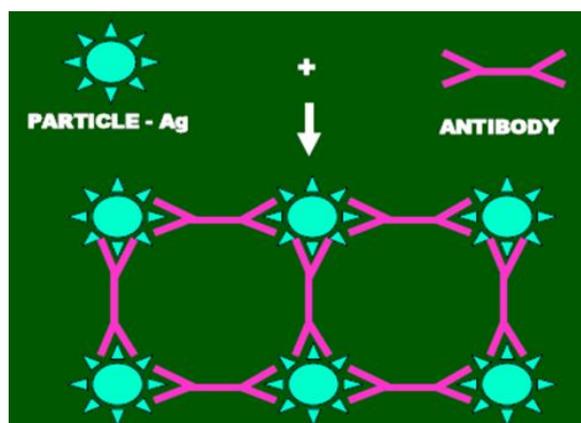
Salah satu syarat untuk reaksi untuk reaksi aglutinasi adalah bahwa antigen harus berupa sel atau partikel, sehingga apabila direaksikan dengan antibodi spesifik terjadi gumpalan dari partikel atau sel tersebut. Cara ini disebut aglutinasi direk (Gambar 47) seperti yang dipakai pada reaksi widal, Weil felix, penetapan golongan darah dan lain-lain.



Gambar 48. Aglutinasi direk

- Keterangan :
- 1) Hasil positif bila terjadi aglutinasi (gumpalan)
  - 2) Hasil negatif bila tidak ada aglutinasi (gumpalan)

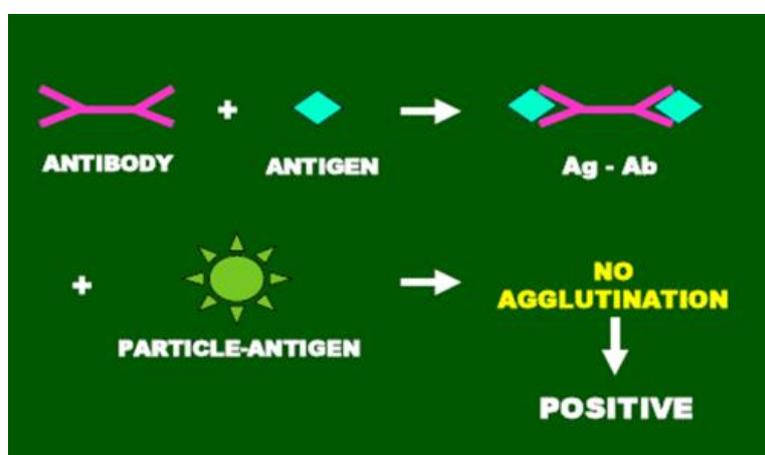
Pada teknik tertentu, cara aglutinasi dapat juga dipakai untuk menentukan antibodi terhadap antigen yang larut, dengan terlebih dahulu melekatkan antigen ini pada suatu partikel yang disebut *carrier*. Beberapa jenis partikel yang dapat digunakan diantaranya eritrosit, lateks, bentonit, carbon (Charcoal). Cara ini disebut aglutinasi indirek atau pasif (Gambar 49).



Gambar 49. Aglutinasi indirek

- Keterangan : 1) Hasil positif bila terjadi aglutinasi  
 2) Hasil negatif bila tidak ada aglutinasi

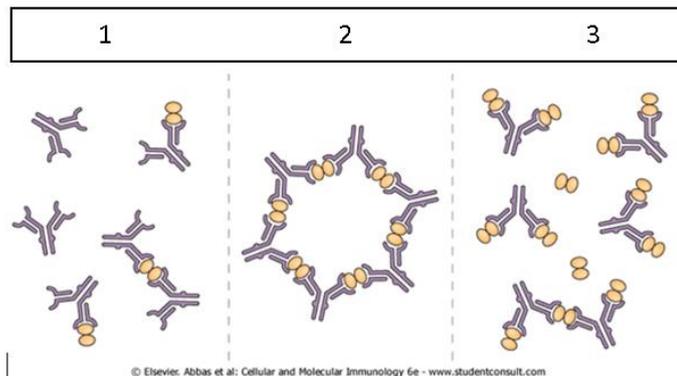
Selain untuk mendeteksi antibodi, cara aglutinasi ini dapat digunakan untuk menetapkan antigen, yaitu dengan melekatkan antibodi spesifik pada carrier, kemudian mereaksikannya dengan antigen terlarut. Cara ini disebut aglutinasi pasif terbalik. Suatu modifikasi cara aglutinasi untuk mendeteksi antigen yang larut adalah test hambatan aglutinasi (*agglutination inhibition*). Pada cara ini serum atau cairan yang akan diperiksa direaksikan lebih dahulu dengan antibodi spesifik. Selanjutnya baru direaksikan dengan antigen yang dilekatkan pada suatu partikel. Antigen yang ada dalam serum atau cairan yang diperiksa akan mengikat antibodi spesifik, sehingga antibodi tidak mampu lagi bereaksi dengan antigen pada permukaan partikel hingga terjadi hambatan aglutinasi (hasil positif). Apabila dalam serum atau cairan yang diperiksa tidak terdapat antigen, maka antibodi yang bebas dapat bereaksi dengan antigen yang melekat pada permukaan partikel dan menimbulkan aglutinasi (hasil negatif) (Gambar 50).



### Gambar 50. Aglutinasi inhibisi

- Keterangan : 1) Hasil positif bila tidak ada aglutinasi  
2) Hasil negatif bila terjadi aglutinasi

Pada reaksi aglutinasi diperlukan perbandingan yang sesuai antara antigen dengan antibodi agar terjadi kompleks antigen-antibodi yang besar dan terlihat sebagai aglutinasi. Bila antigen berlebihan disebut dengan prozone yang memperlihatkan hasil anyaman menjadi negatif karena kompleks yang terbentuk kecil. Demikian juga bila antibodi berlebih maka akan timbul reaksi postzone yang memperlihatkan reaksi negatif ( kompleks kecil) ( Gambar 51).



Gambar 51. Reaksi aglutinasi

- Keterangan : 1) Reaksi *postzone* : perbandingan jumlah antibodi terlalu banyak dibanding antigen menyebabkan kompleks kecil dan hasil terlihat negatif  
2) Konsentrasi seimbang (*equivalent zone*) : perbandingan jumlah antibodi seimbang dengan antigen menyebabkan kompleks besar dan hasil terlihat positif  
3) Reaksi *prozone* : perbandingan jumlah antigen terlalu banyak dibanding antibodi menyebabkan kompleks kecil dan hasil terlihat negatif

# Topik 1

## Pemeriksaan aglutinasi untuk deteksi antigen

### A. DIREK AGLUTINASI : UJI KEHAMILAN

#### Penggunaan

Uji kualitatif untuk mendeteksi  $\beta$ HCG ( beta monoklonal ) pada manusia yang dalam urin

## Pengantar

Human Chorionic Gonadotropin (HCG) adalah substansi protein (hormon) glycoprotein yang disekresikan plasenta yang berkembang tak lama setelah proses fertilisasi/pembuahan. Pada kehamilan normal, HCG dapat dideteksi dalam serum 7 hari setelah pembuahan, bertambah dua kali lipat setiap 1,3-2 hari. Fungsi HCG salah satunya untuk menjaga rahim selama masa kehamilan dengan merangsang produksi progesteron. Progesteron menyiapkan rahim untuk kehamilan. Kadar hcg yang lebih tinggi pada ibu hamil biasanya terjadi pada hamil kembar atau hamil anggur ( mola).

Pada saat periode menstruasi pertama , konsentrasi HCG sekitar 100 mIU/mL dan mencapai puncak 100.000-200.000 mIU/mL yang terlihat di trimester pertama. HCG muncul segera setelah pembuahan dan kenaikan konsentrasi selama awal pertumbuhan kehamilan menjadikannya sebuah penanda yang sangat baik untuk deteksi awal kehamilan. Tingkat HCG serum sebanding dengan yang diamati pada awal kehamilan juga dapat dikaitkan dengan trofoblas atau neoplasma nontrophoblastic seperti mola hidatidosa, koriokarsinoma; untuk itu, kemungkinan penyakit tersebut harus disingkirkan sebelum dianggap hasil diagnostik HCG positif untuk kehamilan. Tes kehamilan dengan metode direk aglutinasi lateks yang cepat untuk mendeteksi HCG pada tingkat 0.3 IU/mL atau lebih tinggi. Tes ini menggunakan antibodi monoklonal terhadap HCG. Adanya HCG dalam urin akan menghasilkan aglutinasi dari reagen lateks dalam waktu 2 menit.

Hal-hal yang dapat mengganggu pemeriksaan :

1. Proteinuria yang menyebabkan inaktivasi aglutinasi anti-hCG.
2. Penyakit imunologi yang menyebabkan reaksi positif palsu akibat adanya interaksi antara IgM dengan reagen.
3. Kadar LH tinggi ( rangsangan pada hipofise anterior atau penggunaan obat penenang) menyebabkan reaksi positif palsu.
4. Pasca ooforectomi, menopause, hipotiroidisme atau gagal ginjal dapat menunjukkan hasil positif palsu.

Substansi lain yang juga diproduksi oleh wanita hamil adalah:

1. Follicle Stimulating Hormone (FSH) yang berperan menjaga perkembangan ovum sebelum ovulasi.
2. Luteinizing hormone (LH), bertanggung jawab dalam ovum dari ovarium untuk siap dibuahi.

## Prinsip

Uji kehamilan direk aglutinasi didasarkan pada reaksi antara antigen terlarut HCG dalam urin dengan reagensia partikel lateks yang dilapisi antibodi molekul HCG. Hasil reaksi positif terlihat gumpalan aglutinasi.

#### **Reagen dan bahan yang disediakan**

1. Latex reagen: suspensi lateks dilapisi anti-HCG monoklonal, yang mengandung 0,1% sodium azide
2. Kontrol positif
3. Kontrol negatif
4. *Drop stirrer*
5. Slide dengan latar warna hitam

#### **Hal yang harus diperhatikan**

1. Hanya untuk deteksi diagnostik di luar tubuh
2. Reagen tidak direkomendasikan digunakan melewati tanggal kedaluwarsa
3. Penyimpanan reagen pada suhu 2-8<sup>o</sup> C bila tidak digunakan dan tidak boleh dibekukan.
4. Sampel pasien harus ditangani dengan cara yang sama seperti bahan biologis berpotensi infeksius

#### **Penyimpanan dan stabilitas**

Menyimpan reagen ditetapkan pada suhu 2-8<sup>o</sup>C. Reagen stabil sampai tanggal kadaluarsa yang tertera pada label tersebut.

#### **Pengumpulan spesimen**

Urine- sampel harus dikumpulkan di tempat yang bersih, wadah kering, plastik atau kaca, tanpa bahan pengawet. Urin yang dikumpulkan sewaktu-waktu dapat digunakan. Namun, urine pertama pada pagi hari umumnya mengandung konsentrasi hormon tertinggi. Sampel urin dapat didinginkan (2-8<sup>o</sup> C) dan disimpan hingga 72 jam sebelum pengujian. Jika sampel didinginkan, maka sebelum pengujian harus disesuaikan dengan suhu kamar. Jika pada sampel urin terlihat adanya endapan harus disaring, disentrifugasi, atau dibiarkan mengendap dan aliquot yang jelas diperoleh untuk pengujian.

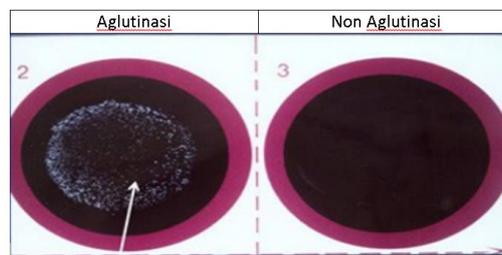
#### **Prosedur uji kualitatif**

1. Menggunakan dropstirer, tempatkan masing-masing satu tetes kontrol positif, kontrol negatif dan sampel urin ke lingkaran slide
2. Kocok reagen suspensi lateks. Tambahkan masing-masing satu tetes suspensi ke kontrol positif, kontrol negatif dan sampel urin.

3. Aduk dengan pengaduk sampai campuran benar-benar tersebar di seluruh lingkaran selama 30 detik.
4. Goyangkan slide secara lembut selama dua menit dan amati adanya aglutinasi. Pengamatan dengan sumber cahaya yang dinyalakan langsung di atas slide untuk memudahkan pengamatan aglutinasi. Bila dibiarkan terlalu lama akan terjadi pengeringan campuran sehingga dapat menyebabkan hasil yang salah. Tidak direkomendasikan menafsirkan hasil tes setelah tiga menit.

### Interpretasi hasil ( Gambar 52)

1. Positif: aglutinasi terjadi dalam dua menit
2. Negatif: tidak ada aglutinasi terjadi dalam waktu dua menit



Gambar 52. Hasil reaksi aglutinasi

### Catatan prosedural

Pegang botol dan pipet secara vertikal ketika mengeluarkan cairan untuk mempertahankan volume pengukuran yang tepat

### Keterbatasan prosedur

1. Reagen ini hanya dapat digunakan menggunakan sampel urin saja dan tidak bisa digunakan untuk sampel serum.
2. Konsentrasi HCG  $\geq 0,3$  IU/mL akan memberikan hasil tes positif (terlihat adanya aglutinasi). Konsentrasi HCG  $\leq 0,3$  IU/mL akan menghasilkan tes negatif
3. Sejumlah kondisi selain kehamilan termasuk penyakit trofoblas dan neoplasma nontrophoblastic tertentu menyebabkan peningkatan kadar HCG. Diagnosis ini harus dipertimbangkan jika sesuai dengan bukti klinis.
4. Seperti semua tes diagnostik, diagnosis klinis definitif tidak harus didasarkan pada hasil tes tunggal, tetapi harus dilakukan oleh dokter setelah semua temuan klinis dan laboratorium telah dievaluasi.
5. Ekskresi HCG sering menurun pada kasus kehamilan ektrauterin, toxemia. Keadaan seperti itu dapat menghasilkan hasil negatif palsu.
6. Uji tidak dipengaruhi oleh hormon digunakan untuk diagnostik atau tujuan terapi.

### **Kontrol Kualitas**

Disarankan bahwa kontrol positif dan negatif dimasukkan dalam setiap rangkaian tes.

### **Nilai yang diharapkan.**

Pria dan wanita sehat yang tidak hamil yang sehat tidak memiliki HCG terdeteksi dengan uji hamil cara direk. Konsentrasi HCG 0,3 IU/mL pada ibu hamil dapat dicapai sedini beberapa hari fertilisasi. Setelah trimester tiga, tingkat HCG cepat berkurang dan biasanya kembali normal dalam beberapa hari setelah kelahiran.

### **Karakteristik kinerja**

- A. Sensitivitas analitik : sensitivitas analisis uji hamil langsung telah ditetapkan pada 0,3 IU / ml HCG.
- B. Spesifisitas analitik: penambahan 600 IU /L LH, 1.000 mIU /L FSH dan 1.000 mIU/L dari TSH tidak berpengaruh (reaktivitas silang) pada spesimen positif atau negatif

### **Interferensi pengujian:**

Beberapa zat yang apabila ditambahkan pada HCG pada sampel urin, tidak menunjukkan reaksi silang.

Acetaminophen 20 mg/dL

Acetylsalicylic acid 20 mg/dL

Asam askorbat 20 mg/dL

Glukosa 2 g/dL

Kafein 20mg/dL

### **B. Pemeriksaan C-Reactive Protein**

Uji aglutinasi lateks untuk Penentuan C-reaktif protein dalam Serum secara kualitatif dan semi-kuantitatif dan digunakan pada *In vitro diagnostic* (IVD)

### **Metode**

Indirek aglutinasi, CRP didasarkan pada reaksi serologi antara protein C-reaktif manusia dari spesimen pasien /serum kontrol dengan antibodi CRP anti-manusia yang terikat pada partikel lateks yang sesuai. Reaksi positif ditunjukkan dengan aglutinasi jelas terlihat dari partikel lateks dalam lingkaran slide.

### **Komposisi**

LR      40 or 100      **Reagen Latex CRP (tutup berwarna putih)**

Suspensi berwarna biru dari partikel lateks polistirena yang dilapisi dengan antibodi monospecific CRP

Antibodi anti-manusia (kambing) 1.0%

PC 1.0 ml **Kontrol Serum Positif (tutup berwarna merah)**  
Kontrol siap untuk digunakan, mengandung konsentrasi CRP yang cukup untuk menghasilkan aglutinasi

NC 1.0 ml **Kontrol Serum Negatif (tutup berwarna hijau)**  
Kontrol siap untuk digunakan, non-reaktif dengan Reagen Latex

***Slide dengan 6 lingkaran dasar hitam***

GBS	100ml	<b>Glycine- buffer NaCl</b>	pH 8.2 ± 0.2
		Glysin	100 mmol/L
		NaCl	1 g/L

LR ( Latex Reagen), PC ( Positif Kontrol), NC (Negatif Kontrol) dan Glycine-buffer NaCl mengandung 0,095% sodium azida

**Stabilitas**

LR, PC, NC stabil sampai dengan tanggal kadaluwarsa bila disimpan pada 2-8°C. Reagensia tidak boleh dibekukan.

**Sampel**

Serum

Stabilitas -Lebih dari 24 Jam pada 2-8°C  
-Lebih dari 4 minggu pada -20°C

**Prosedur kerja**

**A. Uji Kualitatif (Uji Skrining)**

Letakkan dan hangatkan reagen lateks, kontrol positif, kontrol negatif dan sampel serum pada suhu kamar. Homogenkan reagen lateks dengan perlahan sebelum digunakan.

---

Pipet ke dalam lingkaran yang terpisah dari slide

Sampel serum 1 tetes  
 PC 1 tetes  
 NC 1 tetes  
 LR, tutup berwarna putih, tempatkan ke masing – masing 1 tetes sampel dan kontrol  
 Campur dengan batang **pengaduk** yang berbeda dan sebarkan cairan ke seluruh area lingkaran slide.  
 Goyangkan slide selama **2 menit** agar campuran berputar perlahan di dalam lingkaran atau tempatkan slide pada rotator otomatis pada 100 rpm.  
 Setelah **2 menit** baca hasil dibawah cahaya lampu terang.

(1 tetes : 40 uL/ 50 uL)

### Interpretasi hasil

Adanya aglutinasi menunjukkan kandungan CRP **lebih dari 6mg/L** dalam spesimen. Serum dengan hasil positif dalam tes skrining harus di uji ulang dalam tes semikuantitatif.

### B. Tes semi-kuantitatif

Pengenceran	CRP (mg/L dalam spesimen yang tidak diencerkan)
1 + 1 (1:2)	12
1 + 3 (1:4)	24
1 + 7 (1:8)	48
1 + 15 (1:16)	96
1 + 31 (1:32)	192

Lanjutkan tes seperti yang dijelaskan dalam bagian A

### Interpretasi hasil

Baca titer pada pengenceran terakhir dengan aglutinasi yang terlihat dan kalikan dengan faktor konversi (dilihat pada nilai sensitivitas reagen) untuk mendapatkan hasil dalam mg/L;

misalnya diperoleh pengenceran terakhir aglutinasi pada 1:16, maka titer CRP adalah  
 $16 \times 6 \text{ [mg/L]} = 96 \text{ [mg/L]}$

### **Sensitivitas**

Sensitivitas analitik tes CRP ini adalah 6mg/L .

### **Kontrol Kualitas**

Kontrol kualitas dilakukan dengan mengerjakan pemeriksaan terhadap positif control dan negative control, dan sedapat mungkin digunakan pada setiap seri pemeriksaan.

PC – aglutinasi nyata dalam waktu 2 menit.

NC – suspensi halus tanpa aglutinasi setelah 2 menit .

### **Nilai diagnostik**

Uji CRP merupakan indikator yang sensitif untuk proses inflamasi, misalnya untuk demam rematik dan fase akut arthritis rheumatoid. Penentuan titer CRP dapat digunakan dalam pengendalian terapi.

### **Karakteristik hasil**

Data hasil yang spesifik dapat ditemukan pada Laporan Verifikasi, bisa di akses melalui:

[www.human.de/data/gb/vr/lx-crp.pdf](http://www.human.de/data/gb/vr/lx-crp.pdf) atau [www.human-de.com/data/db/vr/lx-crp.pdf](http://www.human-de.com/data/db/vr/lx-crp.pdf)

### **Catatan**

1. Kontaminasi dan serum lipemik dapat menyebabkan reaksi non-spesifik dan untuk itu tidak boleh digunakan untuk pengujian.
2. Waktu reaksi lebih dari 2 menit dapat menyebabkan hasil positif palsu karena efek pengeringan.
3. Selama peneteskan pegang pipet secara vertikal!
4. Seperti semua metode diagnostik, diagnosis akhir tidak boleh dilakukan dengan menggunakan hasil uji tunggal, tetapi harus didasarkan pada korelasi lebih dari satu hasil tes dengan temuan klinis lainnya.
5. Semua reagen mengandung sodium azida Jangan menelan. Hindari kontak dengan kulit dan selaput lendir.
6. Kontrol positif telah diuji untuk HBsAg, HCV dan anti-HIV dan didapatkan hasil non-reaktif. Namun, terlepas dari hasil negatif semua reagen harus diperlakukan sebagai berpotensi infeksius dan menular.

### **C. Pemeriksaan Faktor Rheumatoid (RF)**

Faktor rheumatoid adalah suatu makroglobulin dalam serum yang memiliki sifat antibodi terhadap IgG. Selain dapat bereaksi dengan IgG dalam serum manusia, faktor rheumatoid

dapat juga bereaksi dengan IgG dalam serum kelinci. Faktor rheumatoid yang hanya bereaksi dengan IgG manusia biasanya terdapat pada penderita arthritis rheumatoid, tetapi mungkin juga terdapat pada penderita non rheumatoid dan beberapa penyakit lain, seperti hepatitis, sehingga pengujian ini tidak spesifik.

Oleh karena itu untuk mendeteksi faktor rheumatoid ada baiknya dilakukan dua jenis pengujian bersama-sama yaitu pengujian terhadap adanya anti IgG manusia dan pengujian terhadap adanya IgG kelinci (*tes Rose Waaler*). Kedua jenis pengujian ini dapat dilakukan dengan cara aglutinasi pasif dengan mereaksikan serum penderita dengan carrier yang disensitisasi dengan IgG yang berasal dari serum manusia maupun serum kelinci. Sebagai carrier dapat digunakan bermacam-macam partikel namun yang disukai adalah lateks dan eritrosit.

**Metode** : Aglutinasi indirek

**Prinsip:**

Uji RF-lateks adalah tes aglutinasi untuk deteksi langsung dan semikuantitatif dari Rheumatoid Faktor dalam serum. Antigen berupa factor rheumatoid dalam serum bereaksi dengan suspensi partikel lateks dilapisi dengan gamma globulin manusia membentuk aglutinasi.

**Presentasi kit reagen terdiri dari :**

- RF lateks
- Kontrol positif
- Kontrol negative
- Kartu/ slide uji yang dapat digunakan kembali.
- *Drop stirrer* / Pipet dan pengaduk

**Komposisi:**

RF Lateks (LR) : Lateks partikel dilapisi dengan gamma globulin manusia yang digunakan untuk mendeteksi 8 IU/mL factor rheumatoid.

Kontrol positif (PC) : Human Serum dengan pengawet Sodium Azide 0.95 g /L.

Kontrol negatif (NC) : Human Serum dengan pengawet Sodium Azide 0.95 g /L.

Walaupun semua komponen yang berasal dari manusia telah diuji dan didapatkan negatif keberadaan anti-HIV, anti-HCV serta HBsAg, dianjurkan bahwa mereka ditangani dengan hati-hati dan diperlakukan berpotensi infeksius dan menular.

## Stabilitas

LR, PC, NC stabil sampai dengan tanggal kadaluwarsa bila disimpan pada 2-8°C. Reagensia tidak boleh dibekukan.

## Sampel

Serum yang harus bebas dari kontaminasi, hemolisis dan lipaemia

### Stabilitas

-Lebih dari 24 Jam pada 2-8°C

-Lebih dari 4 minggu pada -20°C

## Peralatan tambahan

Rotator diatur pada 100 rpm.

## Prosedur Tes

### A. Uji Kualitatif (Uji Skrining)

Letakkan dan hangatkan reagen lateks, kontrol positif, kontrol negatif dan sampel serum pada suhu kamar. Homogenkan reagen lateks dengan perlahan sebelum digunakan.

---

Pipet ke dalam lingkaran yang terpisah dari slide

Sampel serum 1 tetes

PC 1 tetes

NC 1 tetes

LR, tutup berwarna putih, tempatkan ke masing – masing 1 tetes sampel dan kontrol

Campur dengan batang **pengaduk** yang berbeda dan sebarkan cairan ke seluruh area lingkaran slide.

Goyangkan slide selama **2 menit** agar campuran berputar perlahan di dalam lingkaran atau tempatkan slide pada rotator otomatis pada 100 rpm.

Setelah **2 menit** baca hasil dibawah cahaya lampu terang.

(1 tetes : 40 uL/ 50 uL)

## Interpretasi hasil

Adanya aglutinasi menunjukkan kandungan CRP **lebih dari 8 IU/L** dalam spesimen. Serum dengan hasil positif dalam tes skrining harus di uji ulang dalam tes semikuantitatif.

### B. Tes semi-kuantitatif

Pengenceran	RF (IU/L dalam spesimen yang tidak diencerkan)
1 + 1 (1:2)	16
1 + 3 (1:4)	32
1 + 7 (1:8)	64
1 + 15 (1:16)	128
1 + 31 (1:32)	256

Lanjutkan tes seperti yang dijelaskan dalam bagian A

### Interpretasi hasil

Baca titer pada pengenceran terakhir dengan aglutinasi yang terlihat dan kalikan dengan faktor konversi (dilihat pada nilai sensitivitas reagen) untuk mendapatkan hasil dalam IU/L;

misalnya diperoleh pengenceran terakhir aglutinasi pada 1:16, maka titer RF adalah  $16 \times 8 \text{ [IU/L]} = 128 \text{ [IU/L]}$

### Sensitivitas

Sensitivitas analitik tes RF ini adalah 8 IU/L .

### Kontrol Kualitas

Kontrol kualitas dilakukan dengan mengerjakan pemeriksaan terhadap positif control dan negatif kontrol, dan sedapat mungkin digunakan pada setiap seri pemeriksaan.

PC – aglutinasi nyata dalam waktu 2 menit.

NC – suspensi halus tanpa aglutinasi setelah 2 menit .

### Kontrol kualitas :

Setiap mengerjakan tes harus divalidasi dengan kontrol positif dan negatif .

### Prosedur Batasan :

- Penentuan diagnosis dengan metode ini tidak dapat berdasarkan hanya pada hasil tes ini, tetapi harus disertai dengan uji lain (yaitu uji RF-Waaler) bersama dengan pemeriksaan klinis.

- Hasil positif serum dari seseorang yang tampak sehat adalah 3-5%.
- Reaksi positif dapat terjadi dalam kondisi selain rheumatoid arthritis seperti mononukleosis, hepatitis, sifilis, serta pasien usia lanjut.

**Catatan :**

- Sensitivitas tes dapat berkurang pada saat suhu rendah. Hasil terbaik diperoleh pada suhu lebih dari 10° C
- Keterlambatan membaca hasil dapat mengakibatkan positif palsu tingkat RF.
- Hasil yang diperoleh dengan uji lateks tidak bisa dibandingkan dengan hasil yang diperoleh dengan uji Waaler Rose. Perbedaan dalam hasil tidak mencerminkan perbedaan antara teknik dalam kemampuan untuk mendeteksi faktor rheumatoid.

## Latihan

**Untuk dapat memperdalam pemahaman Anda mengenai materi di atas, kerjakanlah Latihan berikut! (Font: Calibri, size 12)**

- 1) Interaksi antigen-antibodi secara invitro yang merupakan dasar imunokimia dapat dibagi menjadi dua katagori.
- 2) Teknik aglutinasi terdiri dari aglutinasi direk, aglutinasi indirek, aglutinasi inhibisi, aglutinasi pasif.
- 3) Pada reaksi serologi dapat terjadi reaksi silang.

## Ringkasan

1. Istilah serologi awalnya merupakan ilmu yang mempelajari reaksi antara antigen dengan antibodi di dalam serum. Perkembangannya sampai saat ini dapat digunakan untuk berbagai spesimen seperti, darah, urin dll.
2. Reaksi serologi dapat digunakan untuk menentukan antigen atau antibodi jika salah satunya diketahui. Diantaranya untuk menentukan antigen terlarut (HCG), menentukan antigen dan antibodi ( pada pemeriksaan golongan darah), menentukan antigen (RF dan CRP), mennetukan antibodi ( ASTO, Widal, TPHA).
3. Reaksi serologi juga dapat digunakan untuk menentukan titer antigen atau antibodi.

## Tes 1

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

- 1) Hormon yang dideteksi pada pemeriksaan uji kehamilan dengan bahan pemeriksaan sampel urin pagi adalah ....
  - a. FSH
  - b. LH
  - c.  $\beta$ hCG
  - d. estrogen
  - e. progesteron
  
- 2) Reaksi sekunder antara antigen dengan antibodi dengan hasil terlihat seperti gumpalan dikenal dengan istilah ....
  - a. Presipitasi
  - b. Aglutinasi
  - c. Flokulasi
  - d. Fiksasi
  - e. Resistensi
  
- 3) Mekanisme antibodi yang menghambat dan menghilangkan racun pada sel yang memberikan efek patologi adalah ....
  - a. Netralisasi
  - b. Oponisasi
  - c. Aglutinasi
  - d. Presipitasi
  - e. Aktivasi
  
- 4) Di bawah ini merupakan jenis immunoglobulin dengan strukturnya pentamer adalah ....
  - a. Ig A
  - b. Ig D
  - c. Ig E
  - d. Ig G
  - e. Ig M
  
- 5) Seorang laki-laki berumur 50 tahun mengalami gejala sakit nyeri pada persendian. Sebelumnya ia telah melakukan pemeriksaan laboratorium untuk pemeriksaan asam urat dengan hasil normal, namun keluhan tidak kunjung sembuh. Dokter menyarankan melakukan pemeriksaan imunoserologi untuk diagnosis penyakit tersebut. Manakah jenis pemeriksaan yang tepat untuk diagnosa kasus di atas?

- a. RF
- b. ASO
- b. CRP
- c. RPR
- d. TPHA

6)Seorang wanita berusia 30 tahun mengalami sepsis. Hasil pemeriksaan laboratorium CRP kualitatif positif. Pemeriksaan dilanjutkan dengan tes semikuantitatif. Pengenceran terakhir yang memperlihatkan aglutinasi pada pengenceran 1/32. Diketahui sensitivitas reagen yang digunakan adalah 6 mg/dL.

Berapakah kadar CRP (mg/dL) pasien tersebut?

- a. 6
- b. 12
- c. 48
- d. 96
- e. 192

# Topik 2

## Pemeriksaan metode aglutinasi untuk deteksi antibodi

### A. TES FEBRILE ANTIGEN (WIDAL)

#### Pendahuluan

Untuk menentukan penyebab demam, dahulu pada setiap penderita demam dilakukan uji serologi untuk menyatakan adanya antibodi terhadap antigen penyebab demam (*febrile agglutinins*). Sejak awalnya reaksi Widal ditemukan sebagai uji serologi pada demam tifoid. Beberapa cara yang lebih mutakhir sudah ada namun di Indonesia agaknya reaksi Widal masih perlu dilakukan.

Dari 17 golongan berdasarkan antigen O yang dimiliki Salmonella, terdapat 5 golongan yang dapat menginfeksi manusia, yaitu golongan A, B, C, D dan E. Selain antigen O, Salmonella mempunyai antigen H yang terdapat pada flagella dan antigen Vi yang tidak dipakai untuk mendiagnosis tetapi hanya digunakan untuk mendeteksi carrier. Antigen H tahan terhadap formalin, tetapi tidak tahan terhadap panas, fenol atau alcohol. Sedangkan antigen O tidak terpengaruh oleh zat tersebut, dan kenyataan ini dipakai untuk memisahkan kedua jenis antigen ini.

Serotipe Salmonella yang sering dipakai di sini adalah : dari golongan A, yaitu *Salmonella paratyphi A* dengan antigen O dan H, dari golongan B, yaitu: *S. paratyphi B* dengan antigen O dan H, dari golongan C, yaitu *Salmonella paratyphi C* antigen O dan H dan *S. typhi* dari golongan D dengan antigen O dan H.

Salmonella merupakan bakteri yang ditemui secara luas disekeliling kita, sehingga memungkinkan seseorang terinfeksi tanpa diketahui. Hal ini menyebabkan pada diri seseorang yang tidak terinfeksi dapat ditemukan titer agglutinin 1: 40 atau 1: 80 masih dianggap normal. Selain itu kelompok *Enterobacteriaceae* lain diketahui dapat mengadakan reaksi silang dengan agglutinin O tetapi tidak dengan agglutinin H. Berkaitan dengan hal ini, interpretasi hasil widal hendaknya tidak dilakukan satu kali. Kenaikan titer sebesar 4 kali menunjukkan adanya infeksi. Titer agglutinin H tidak cepat menurun dan dapat bertahan hingga beberapa tahun.

## Tujuan Pemeriksaan

Suspensi antigen digunakan untuk mengidentifikasi dan mendeteksi antibodi spesifik dalam serum manusia secara kuantitatif untuk tujuan epidemiologi dan diagnostik, terutama dalam kasus demam dan infeksi enterik yang disebabkan oleh bakteri patogen *Salmonella*, *Rickettsiae* dan *Brucellae*.

## Manfaat klinis

Demam tifoid dan *Salmonellosis* menjadi endemik di banyak negara berkembang di dunia. Tes Widal adalah tes yang banyak digunakan untuk menunjukkan antigen *Salmonella* O dan H dalam serum pasien. Penggunaannya mudah dan dapat digunakan saat tidak tersedianya fasilitas mikrobiologi untuk melakukan kultur darah, sedangkan waktu yang bersamaan dibutuhkan konfirmasi hasil maka dari itu tes widal semakin banyak digunakan. Hal ini menyebabkan test widal banyak digunakan oleh para dokter. Penting untuk menindaklanjuti tes untuk menunjukkan 2-4 kali lipat titer yang menggambarkan infeksi saat ini.

## Peringatan Kesehatan dan Keselamatan :

- Hanya digunakan untuk diagnostik *in vitro*
- Semua sampel pasien dan reagen harus diperlakukan sebagai potensi infeksius dan pengguna harus memakai sarung tangan pelindung, pelindung mata dan jas laboratorium saat melakukan tes.
- Alat-alat yang dapat dipakai kembali harus di sterilisasi sesuai metode yang tepat.
- Bahan dan alat habis pakai harus diperlakukan sebagai limbah infeksius dan harus dibuang dengan diautoklaf atau dibakar.
- Tumpahan bahan berpotensi menular harus dibersihkan dan alat pembersih harus dilakukan seperti di atas. Sumber tumpahan harus disterilkan dengan disinfektan atau alkohol 70%.
- Reagen kontrol mengandung serum kelinci. Produk ini juga mengandung buffer termasuk natrium azida dan thiomersal sebagai pengawet.
- Jangan menghirup atau menelan aerosol. Bila percikan yang terjadi maka dicuci dengan air berlebih.

## Persyaratan analitis:

- ✓ Prosedur tes tidak boleh dimodifikasi.
- ✓ Biarkan semua reagen dan sampel berada pada suhu kamar (18-30<sup>0</sup> C) sebelum digunakan.
- ✓ Jangan menukar reagen dengan *batch* kit yang berbeda.
- ✓ Hindari reagen terkena cahaya untuk waktu yang lama.

- ✓ Reagen harus dibuang jika terjadi kontaminasi atau tidak menunjukkan aktivitas yang benar dengan kontrol.

## KOMPOSISI

Antigen demam untuk test Widal

Salmonella typhi H 5 ml

Salmonella H paratyphi B 5 ml

Salmonella typhi O 5 ml

Salmonella O paratyphi B 5 ml

Salmonella typhi Vi 5 ml

Kontrol positif 0.5 ml

Salmonella H paratyphi A 5 ml

Salmonella H paratyphi C 5 ml

Salmonella O paratyphi A 5 ml

Salmonella O paratyphi C 5 ml

kontrol negatif 0.5 ml

## Persiapan reagen

Reagen sudah siap digunakan untuk pemeriksaan.

## Stabilitas Reagen

Reagensia disimpan pada suhu  $2^{\circ}\text{C} - 8^{\circ}\text{C}$ , tidak boleh di. Sensitif terhadap cahaya. Jangan dibekukan. Dengan kondisi tersebut, karakteristik kinerja kit akan bertahan selama 36 bulan dari tanggal pembuatan. Lihat tanggal kadaluwarsa pada label kit.

## Peralatan yang dibutuhkan namun tidak tersedia di dalam kit

Tabung serologi, transfer pipet, saline 0,85%, waterbath, timer, slide dengan latar belakang putih

## Bahan Pemeriksaan

Direkomendasikan menggunakan serum segar yang diperoleh dari centrifugasi darah beku. Sampel dapat disimpan pada suhu  $2 - 8^{\circ}\text{C}$  selama 48 jam sebelum melakukan tes. Untuk waktu yang cukup lama serum harus dibekukan. Serum yang mengalami hemolisa, lipemik atau serum yang terkontaminasi tidak dapat digunakan.

## PROSEDUR

### Prinsip Metode

Reagen/Antigen ini dapat digunakan untuk tes cara slide dan cara tabung yang digunakan untuk mendeteksi aglutinin. Suspensi antigen yang berwarna dapat membunuh bakteri, warna pada antigen dapat memudahkan untuk pembacaan tes aglutinasi. Jika antibodi

homolog, maka akan tampak aglutinasi. Antigen yang berwarna biru khusus untuk antigen Salmonella somatik 'O', Proteus dan Brucella, sedangkan antigen yang berwarna merah, spesifik terhadap antigen Salmonella flagellar 'H'.

### **Uji penapisan**

1. Dengan menggunakan transfer pipet, diambil 0,08 mL serum ditambahkan diatas lingkaran berdiameter 3 cm.
2. Botol reagen dihomogenkan dengan baik, kemudian tambahkan satu tetes suspensi antigen kedalam serum.
3. Campur dengan baik menggunakan batang pengaduk dan goyangkan slide dengan cara memutarkannya selama satu menit.
4. Hasil diamati dengan melihat adanya aglutinasi yang dinyatakan positif.

### **Rapid Slide semikuantitatif test**

1. Dengan menggunakan sebuah pipet, sejumlah serum dipipet mulai 0,08 mL (80 uL), 0,04 mL (40 uL), 0,02 mL (20 uL), 0,01 mL (10 uL) dan 0,005 mL (5 uL) ditambahkan di atas lingkaran slide berdiameter 3 cm.
2. Botol reagen dihomogenkan dengan baik, kemudian tambahkan satu tetes tepat suspensi antigen ke dalam serum.
3. Campur dengan baik menggunakan batang pengaduk dan goyangkan slide dengan cara memutarkannya selama satu menit.
4. Hasil yang terjadi diamati.

### **Uji Aglutinasi Cara Tabung**

Semua hasil positif yang diperoleh melalui uji slide dapat dikonfirmasi menggunakan teknik berikut.

1. Disiapkan sebuah rak dengan 8 tabung plastik untuk setiap hasil antibodi yang positif.
2. Dengan menggunakan pipet, tambahkan 1,9 ml saline 0,85% ke dalam tabung pertama, dan 1,0 ml saline ke dalam tujuh tabung lainnya.
3. Pada tabung pertama ditambahkan 0,1 ml serum pasien. Campur dengan baik.
4. Dipipet 1,0 ml dari tabung pertama dan pindahkan pada tabung kedua. Campur dengan baik.
5. Lanjutkan pengenceran serial hingga tabung ketujuh. Buang 1,0 ml dari tabung ketujuh. Tabung kedelapan hanya akan berisi saline sebagai kontrol dan karena itu tidak mengandung serum apapun.
6. Tambahkan 1 tetes suspensi antigen yang telah dicampur homogen pada masing-masing tabung.
7. Inkubasi pada suhu berikut :

Antigen Salmonella 'O' dan Proteus = 50°C selama 4 Jam  
 Antigen Salmonella 'H' = 50°C selama 2 Jam

Dapat juga dilakukan dengan cara inkubasi semalaman di lemari es, lalu biarkan mencapai suhu kamar sebelum di baca

Hal ini sangat penting bahwa ketika tabung ditempatkan dalam waterbath, tingkat air harus sekitar 2/3 bagian ukuran tabung. Hal ini akan menjaga arus konveksi sehingga hasil akan terhindar dari hasil negatif palsu.

7. Periksa tabung setelah waktu inkubasi yang telah ditentukan lalu cek aglutinasinya. Titer yang akan diambil adalah tabung terakhir untuk menunjukkan aglutinasi.

**INTERPRETASI HASIL**

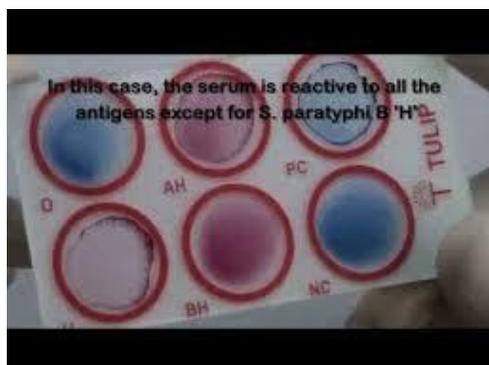
- **Uji Penapisan**

Titer 1/20 menunjukkan adanya aglutinasi.

- **Uji Rapid Slide semikuantitatif ( Gambar 7.10)**

Jika reaksi aglutinasi dapat diamati dengan perkiraan maka harus dilanjutkan dengan uji konfirmasi dengan cara tabung.

Volume (uL)	Titer
80	1:20
40	1:40
20	1:80
10	1:160
5	1:320



Gambar 53. Hasil pemeriksaan Rapid slide Widal

**Catatan:** perlu dilakukan pengenceran dalam tes slide untuk menghindari efek 'prozone' dimana konsentrasi reagen yang lebih tinggi dari serum dapat memberikan hasil negatif. Dengan dilakukan pengenceran dapat memberikan hasil yang positif.

- **Cara Tabung**

Hasil positif ditunjukkan dengan terjadinya aglutinasi yang jelas pada tabung. Hasil negatif dan kontrol tidak terjadi perubahan dan menunjukkan endapan berupa titik saat dilakukan sentrifugasi. Tabung tidak boleh dikocok.

Pengenceran terakhir yang masih menunjukkan aglutinasi menunjukkan titer dari sampel tersebut. Untuk Hasil negatif, tidak terjadi aglutinasi sedikitpun dari semua tabung.

Tabung ke	Titer
1	1:20
2	1:40
3	1:80
4	1:160
5	1:320
6	1:640
7	1:1280
8	kontrol negatif

### **Keterbatasan Prosedur**

Telah ditemukan bahwa banyak serotipe Salmonella memiliki antigen somatik O yang sama, aglutinasi dari salah satu antigen salmonella dengan serum manusia tidak harus diambil sebagai bukti infeksi oleh satu organisme tertentu, melainkan sebagai infeksi oleh organisme yang memiliki struktur antigenik.

Tes harus dibaca setelah waktu inkubasi yang direkomendasikan untuk menghilangkan kemungkinan hasil positif palsu.

Beberapa orang menunjukkan sisa titer antibodi tidak melebihi 1/80-1/160. Pasien juga dapat menunjukkan sisa antibodi dari infeksi sebelumnya atau dari imunisasi. Hasil titer tes tertinggi dari serangkaian tes dapat dinyatakan sebagai hasil. Penyakit hati kronis juga telah terbukti menyebabkan kenaikan titer antibodi salmonella.

### **Karakteristik**

Spesifisitas dan sensitivitas dari antigen febrile adalah 70%. Karena uji serologis dalam diagnosis infeksi Salmonella memiliki keterbatasan, maka kultur sampel yang tepat biasanya lebih memungkinkan untuk digunakan.

### **Kontrol kualitas**

Kontrol disediakan dalam kit dan harus digunakan secara berkala untuk memastikan bahwa tes ini valid.

#### **B. Uji Anti Streptolisin O (ASO/ ASTO)**

*Streptococcus* beta-hemolitik menghasilkan beberapa jenis antigen intraseluler dan ekstraseluler yang dapat merangsang pembentukan antibodi dalam darah penderita. Sebagai contoh streptolisin O yang dibentuk oleh grup A dan dapat menyebabkan lisis eritrosit, streptokinase yang dapat mengkatalisis perubahan plasminogen menjadi plasmin, enzim-enzim deoksiribonuklease B, hialuronidase, dan beberapa jenis enzim lain.

Diantara antigen –antigen itu yang paling penting adalah streptolisin O, karena 80% penderita yang terinfeksi dengan *Streptococcus* beta hemolitik grup A menunjukkan peningkatan titer ASO dalam darahnya. Penetapan titer ASO menjadi penting karena infeksi karena *Streptococcus* dapat menyebabkan komplikasi lain. Atau secara tidak langsung menimbulkan respons imunologik yang menimbulkan yang mengakibatkan kelainan dalam tubuh seperti demam rematik, glomerulonephritis akut, eritema nodosum.

Metode : Indirek lateks aglutinasi

#### **Prinsip :**

Tes ASO - lateks adalah deteksi anti-streptolisin (ASO) dengan test aglutinasi secara indirek dan semi-kuantitatif. Suspensi partikel lateks dilapisi dengan antigen Streptolisin O, dan menggumpal dengan adanya antibodi spesifik yang ada di dalam serum pasien dengan infeksi *Streptococcal β – hemolitik* (kelompok A dan C).

#### **Komposisi :**

- ASO Latex : Suspensi partikel lateks putih dilapisi dengan streptolisin O.  
Natrium azida 0,95 g / L .
- Kontrol positif : Stabil Serum  
Natrium azida 0,95 g / L .
- Kontrol negatif : Stabil Serum  
Natrium azida 0,95 g / L .

Walaupun kontrol yang telah diperoleh berasal dari manusia yang telah diuji dan ditemukan negatif keberadaan anti - HIV , HCV anti serta HBsAg , dianjurkan bahwa kontrol tersebut ditangani dengan hati-hati dan diperlakukan berpotensi menular .

**Penyimpanan:**

Reagen disimpan pada suhu 2 - 8°C .

Slide dan pipet dapat disimpan pada suhu kamar.

**Sampel :**

- Stabilitas serum selama 48 jam pada 2 - 8°C
- Sampel harus terbebas dari kontaminasi, hemolisis dan lipaemia.

**Bahan yang mungkin diperlukan tapi tidak disediakan :**

Rotator dengan kecepatan 100 r.p.m.

Pengencer : Saline normal untuk pengenceran sampel (9 g/L)

**Prosedur Uji Kualitatif :**

1. Tempatkan reagen dan sampel sampai suhu kamar.
2. Tempatkan 50µl sampel dan 1 tetes kontrol positif dan kontrol negatif ke dalam lingkaran yang terpisah pada slide.
3. Homogenkan reagen lateks dengan hati-hati.
4. Tambahkan satu tetes (50 uL) reagen lateks untuk setiap lingkaran di sebelah sampel yang akan diuji.
5. Campur dengan menggunakan dropstirer/pengaduk
6. Putar kartu pada 100 rpm selama 2 menit.

**Uji Semi Kuantitatif :**

Perkiraan semikuantitatif dari ASO dapat dilakukan dengan menggunakan 2 prosedur yang berbeda. Kedua prosedur menghasilkan hasil yang identik. Prosedur II harus menggunakan seri pengenceran yang lebih tinggi.

**Prosedur I :**

1. Dengan menggunakan pipet semi-otomatis, tambahkan 50µl dari 9 g/L saline ke lingkaran 2, 3, 4 dan 5 . Jangan menyebarkan saline.
2. Tambahkan 50 µl sampel pasien untuk lingkaran 1 dan 2.
3. Campur saline dan sampel dalam lingkaran 2 dengan membuat campuran naik turun dengan berhati-hati untuk menghindari pembentukan gelembung.

4. Pindahkan 50µl dari lingkaran 2 ke saline yang ada di lingkaran 3.
5. Lakukan pengenceran serial dengan cara yang sama sampai lingkaran terakhir. Selanjutnya pada lingkaran terakhir buang sebanyak 50µl.
6. Homogenkan reagen lateks dengan hati-hati.
7. Tambahkan satu tetes (50 uL) reagen lateks untuk setiap lingkaran di sebelah pengenceran sampel yang akan diuji.
8. Campur dengan menggunakan dropstirer/pengaduk
9. Putar kartu pada 100 rpm selama 2 menit.
10. Hasil diamati dengan melihat pengenceran terakhir yang masih memperlihatkan aglutinasi dan hasilnya dikalikan dengan sensitivitasnya.

Pengenceran	ASO IU / mL
Tanpa pengenceran	200
1 : 2	400
1 : 4	800
1 : 8	1600

Sensitivitas : 200 IU/mL

#### Prosedur II

Pengenceran	Sampel	Pengencer	Reagen Latex	ASO IU/mL (titer)
Tanpa pengenceran	50 µl		50 µl	200
1+1	50 µl	50 µl	50 µl	400
1+2	50 µl	100 µl	50 µl	600
1+3	50 µl	150 µl	50 µl	800
1+4	50 µl	200 µl	50 µl	1000
1+5	50 µl	250 µl	50 µl	1200
1+6	50 µl	300 µl	50 µl	1400
1+7	50 µl	350 µl	50 µl	1600

Sensitivitas : 200 IU/mL

**Kontrol kualitas :**

Setiap mengerjakan test harus divalidasi dengan kontrol positif dan negatif .

**Interpretasi hasil :**

- Hasil diamati secara makroskopik untuk ada atau tidak adanya gumpalan atau aglutinasi dalam 1 menit dari rotator.
- Adanya aglutinasi terlihat menunjukkan kandungan anti-streptolisin O  $\geq$  200 IU/mL.
- Serum titer didefinisikan sebagai pengenceran tertinggi menunjukkan aglutinasi positif . Perkiraan titer ASO ( IU/mL ) yang terdapat dalam sampel dapat diperoleh dengan mengalikan titer dengan batas sensitivitas ( 200 IU/mL ) . Sebagai contoh :  
ASO ( IU/mL ) = pengenceran tertinggi dengan reaksi positif x 200
- Titer ASO  $\leq$  200 IU/mL ditemukan pada 95 % dari populasi orang dewasa yang sehat , nilai yang lebih tinggi ( hingga 300 IU/mL ) dapat ditemukan pada anak.

**Keterbatasan prosedur :**

- Penentuan ASO tunggal tidak menghasilkan banyak informasi. Oleh karena itu disarankan agar titrasi kasus dilakukan pada interval dua mingguan selama 4 sampai 6 minggu untuk memastikan perjalanan penyakit .

**Catatan :**

1. Sensitivitas tes dapat dikurangi pada suhu rendah. Hasil terbaik diperoleh lebih dari 10°C .
2. Keterlambatan membaca hasil dapat mengakibatkan perkiraan titer ASO lebih tinggi ( positif palsu).
3. Uji Serologik terhadap Sifilis

Uji serologic terhadap sifilis dimulai dengan uji penyaring menggunakan antigen non treponemal, seperti VDRL atau RPR. Apabila dengan pengujian ini yang kemudian diulang diperoleh hasil nonreaktif, kemungkinan penderita tidak menderita sifilis. Namun apabila diduga penderita menderita sifilis laten atau lanjut , hendaknya dilakukan dengan tes konfirmasi yaitu uji treponemal-Abs, TPI, atauTPHA. Pada sifilis laten kemungkinan menunjukkan titer antibody nontreponemal yang rendah, bahkan 20-30% dapat menunjukkan hasil nonreaktif, sehingga diagnosis bisa salah apabila hanya dipakai uji nontreponemal.

Reaksi positif palsu yang mungkin ada pada tes antibody nontreponemal yaitu pada infeksi akut atau kronik seperti lepra lepromatosa, malaria, mononukleosis

infeksiosa, dan sistemik lupus eritematosus (SLE). Titer antibody yang meningkat menunjukkan kemungkinan sifilis dan sebaiknya dilakukan uji treponemal. Pada sifilis primer, titer antibody biasanya rendah kurang dari 1/32, sedangkan pada sifilis sekunder biasanya titer antibody lebih tinggi. Setelah terapi yang adekuat pada stadium ini, RPR biasanya menjadi nonreaktif dan ini merupakan indikator keberhasilan terapi. Apabila setelah 6-12 bulan titer meningkat lagi, kemungkinan reinfeksi atau ada kekambuhan.

Dalam menilai hasil uji serologic terhadap sifilis, perlu dipertimbangkan beberapa penyakit infeksi treponemal yang bukan venereal, seperti Yaws (frambusia) yang disebabkan *T. pertenue* dan pinta (patek) akibat *T. caratenum*. Kedua penyakit ini secara serologic tidak dapat dibedakan dengan sifilis.

### C. Uji flokulasi Rapid Plasma Reagin (RPR)

Uji flokulasi RPR digunakan untuk menentukan antibodi nontreponemal (regain). Antigen yang digunakan pada pengujian terdiri dari cardiolipin dan lechitin yang diekstraksi dari jantung sapi dan dimurnikan kemudian disuspensikan dalam alcohol. Untuk mempermudah reaksi, ke dalam suspensi antigen dalam alcohol ditambahkan kolesterol. Reagin mempunyai daya sifat mengubah daya larut antigen sehingga timbul flokulasi.

Prinsip :

Rapid Plasma Reagin adalah uji antibodi non-treponemal untuk mendeteksi regain. Reagin adalah antibodi non treponemal yang dibentuk pada orang yang terinfeksi sifilis. Antigen berupa suspensi karbon partikulat yang dilapisi dengan cardiolipin, yang dapat membentuk aglutinasi terhadap reagin yang terdapat dalam serum. Reaksi aglutinasi terlihat bentuk flokulasi hitam yang dapat dilihat secara makroskopik dan menunjukkan adanya antibodi tersebut dalam sampel yang diuji.

Komposisi :

Antigen Carbon RPR:

- a) Suspensi karbon yang stabil dilapisi dengan cardiolipin-cholesterol
- b) Natrium azida 0.95 g/L

Kontrol positif:

- a) Serum manusia
- b) Natrium azida 0.95 g/L

Kontrol negatif:

- a) Serum hewan

b) Natrium azida 0.95 g/L

Jarum Disposibel 16  $\mu$ L ( jarum hipodermik)

Slide uji dengan latar belakang putih.

Dropstirer/ pengaduk dan penetes.

Meskipun semua komponen yang ada berasal dari tubuh manusia yang telah diuji dan dipastikan negatif adanya anti-HIV, anti-HCV serta HBsAg, namun tetap dianjurkan bahwa sampel ditangani dengan hati-hati dan diperlakukan sebagai bahan infeksius yang dapat menular.

**Penyimpanan:**

Simpan reagen pada suhu 2-8°C. Slide dan pipet dapat disimpan pada suhu ruang.

**Sampel:**

- Serum atau plasma yang stabil selama 48 jam pada suhu 2-8°C.
- Sampel harus bebas dari kontaminasi dan hemolisis.
- Lipemia tidak akan mempengaruhi hasil pemeriksaan kecuali cukup parah untuk menyamarkan keadaan partikel antigen.

**Persiapan Reagen**

Homogenkan antigen karbon perlahan agar tercampur merata. Pindahkan antigen karbon ke dalam botol penetes. Beri label pada botol dengan antigen lot number, tanggal kadaluarsa dan tanggal pemindahan. Setelah antigen dipindahkan ke dalam botol, antigen akan stabil selama 3 bulan atau sampai waktu kadaluarsa.

**Peralatan Tambahan**

Rotator mekanik disetel pada kecepatan 100 rpm, dengan diameter lingkaran 2,0 cm.

**Prosedur Pemeriksaan: Pemeriksaan kualitatif**

1. Letakkan dan hangatkan reagen dan sampel pada suhu kamar.
2. Letakkan 50 $\mu$ l (1 tetes) sampel dan 1 tetes kontrol positif dan kontrol negatif pada lingkaran slide dengan latar putih.
3. Homogenkan carbon antigen secara perlahan.
4. Ratakan dan lebarkan sampel di setiap lingkaran menggunakan stirer.
5. Tambahkan 1 tetes antigen (menggunakan jarum hipodermik yang terpasang pada botol penetes) pada setiap lingkaran.

6. Putar slide/kartu menggunakan rotator pada kecepatan 100 rpm selama 8 menit

#### Uji Semi-kuantitatif:

1. Tambahkan 50  $\mu$ L saline ke dalam lingkaran 2, 3, 4, dan 5 menggunakan pipet semi-otomatis. Saline jangan diratakan.
2. Tambahkan 50  $\mu$ L sampel pasien ke dalam lingkaran 1 dan 2.
3. Campur saline dan sampel dalam lingkaran 2 dengan cara menghomogenkan naik-turun secara perlahan untuk menghindari adanya gelembung.
4. Pindahkan campuran 50  $\mu$ L dari lingkaran 2 ke saline yang ada pada lingkaran 3.
5. Lakukan pengenceran serial yang sama sampai lingkaran terakhir.
6. Ratakan sampel yang sudah diencerkan di seluruh area dari setiap lingkaran dimulai dari lingkaran 5 dan mundur secara berurutan sampai sampel di lingkaran 1.
7. Lanjutkan dengan tes kualitatif dari prosedur 5.

#### Kontrol kualitas:

Setiap tes yang dilakukan harus disertai dengan kontrol positif dan control negatif.

#### Pembacaan dan Interpretasi hasil:

Hasil pemeriksaan dapat diamati secara makroskopik, apakah ada atau tidak gumpalan/flokulasi sesaat setelah slide diambil dari rotator.

Pembacaan dihitung dan dilaporkan menurut kriteria sebagai berikut:

<b>Flokulasi yang terlihat</b>	<b>Pembacaan</b>	<b>Laporan</b>
Flokulasi sedang dan besar	R (Reaktif)	Reaktif
Flokulasi kecil	W (Weak reaktif)	Sedikit Reaktif
Tidak ada flokulasi	N (Negatif)	Non-reaktif

Serum yang reaktif dapat dilanjutkan dengan pengenceran secara semikuantitatif. Untuk titer dibuat pengenceran serial dua kali lipat dalam 9 g/L saline seperti yang dijelaskan di bagian prosedur kuantitatif sebelumnya. Titer serum yang dianggap sebagai pengenceran tertinggi menunjukkan hasil reaktif.

#### Karakteristik kinerja:

1. Uji yang mirip Cardiolipin non spesifik terhadap sifilis. Sampel yang teruji reaktif pada tes RPR harus dilanjutkan tes serologi yang lebih spesifik yaitu FTA-Abs, TPHA, untuk mengkonfirmasi hasil.
2. Sebaliknya, hasil yang non-reaktif dengan sendirinya mengesampingkan diagnosis sifilis.

3. Reaksi positif palsu biologis terjadi pada penyakit seperti infeksi mononucleosis, radang paru-paru dan toksoplasmosis, kehamilan dan penyakit autoimun.
4. Uji ini berguna dalam menentukan efektivitas terapi antibiotik.

**Catatan:**

1. Pada setiap akhir pengujian, jarum harus dilepas dari botol pengeluaran, dibilas dengan air suling dan dikeringkan.
2. Sensitivitas tes dapat berkurang pada suhu rendah. Hasil terbaik diperoleh pada suhu antara 23 °C - 29°C.
3. Penting untuk meletakkan jarum hipodermik dalam posisi vertikal ke slide/kartu, agar dapat memberikan jumlah antigen yang tepat.
4. Suhu tinggi dapat menyebabkan komponen uji mengering pada kartu dan memberikan hasil positif palsu. Jika perlu tempatkan kartu dibawah penutup yang lembab.

**D. Tes *Treponema Pallidum* Haemagglutination Assay (TPHA)**

Sifilis adalah penyakit kelamin yang disebabkan oleh mikroorganisme spirochaeta *Treponema pallidum*. Organisme ini tidak dapat di kultur dengan media buatan, diagnosis sifilis tergantung pada korelasi data klinis dengan antibodi spesifik yang ditunjukkan dengan uji serologi. Uji penyaringan serologi untuk sifilis menggunakan kardiolipin dan lecithin sebagai tes penyaringan namun hasil reaksi positif palsu sering terjadi karena tes menggunakan antigen non-treponema.

Uji TPI dan FTA-ABS adalah uji yang memanfaatkan organisme patogen *Treponema pallidum* sebagai antigen tapi uji ini mempunyai beberapa kesulitan untuk diagnosis serologi rutin. Uji TPI memerlukan *T. Pallidum* patogen hidup dan uji FTA-ABS memanfaatkan mikroskop flouresense. kedua uji ini membutuhkan keahlian yang tinggi.

Kit uji TPHA telah memperlihatkan kemudahan dan tes spesifik untuk mendiagnosis infeksi *Treponema*, memiliki spesifisitas mirip dengan tes TPI dan sensitivitas sebanding dengan tes FTA-ABS. Dan hanya membutuhkan peralatan laboratorium dan sangat sederhana serta mudah untuk dikerjakan.

Reagen TPHA digunakan untuk mendeteksi antibodi pada serum manusia untuk *Treponema pallidum* dengan metode indirek hemaglutinasi (IHA). Eritrosit burung yang diawetkan dilapisi dengan komponen antigen patogen *T. pallidum* (Nichol's strain). Tes Aglutinasi yang dihasilkan spesifik untuk *T. pallidum*, dan memperlihatkan pola karakteristik di dasar plate microtiter.

Reaksi non-spesifik dapat terjadi dan dapat dideteksi dengan menggunakan sel kontrol dengan komposisi eritrosit burung tidak dilapisi dengan antigen *T. pallidum*. Reaksi non-spesifik dapat juga diserap dan dihilangkan menggunakan kontrol ini. Hasil uji didapat setelah waktu inkubasi dalam waktu 45-60 menit dan pola aglutinasi sel keduanya mudah di baca dan tahan lama.

### **Penggunaan**

Kit Treponema Palidum Haemagglutination Assay (TPHA) dibuat untuk mendeteksi antibodi pada *Treponema pallidum* di dalam serum dan plasma manusia.

### **Peringatan dan perhatian**

Hanya digunakan untuk diagnosis in vitro

### **Peringatan Keamanan dan Kesehatan**

1. Setiap sampel pasien dan reagen harus diperlakukan sebagai bahan infeksius yang potensial dan pengguna harus menggunakan Alat Pelindung Diri (APD) seperti sarung tangan pelindung, pelindung mata dan jas lab saat melakukan tes.
2. Alat nondisposable harus disterilkan setelah digunakan dengan metode yang tepat.
3. Alat disposable harus diperlakukan sebagai limbah biohazard dan diautoklaf atau diinsenerasi.
4. Tumpahan bahan infeksius harus dibersihkan lalu dibuang. Daerah tumpahan harus disterilkan dengan disinfektan atau alkohol 70%. Jangan memipet menggunakan mulut.
5. Reagen kontrol mengandung serum manusia yang telah diuji dan ditemukan negatif - HIV, HCV dan HBsAg. Walaupun demikian reagen harus diperlakukan sebagai bahan infeksius dan tindakan pencegahan yang tepat harus diambil ketika menangani proses pembuangan. Produk ini juga mengandung garam penyangga yang berisi natrium azida sebagai pengawet, dan dapat dilihat pada lembar data keamanan bahan.

### **KOMPOSISI TPHA**

#### **Kit**

Sel uji	: eritrosit avian (burung) dilapisi dengan antigen <i>T.pallidum</i>
Sel kontrol	: eritrosit avian (burung)
Kontrol positif	: Serum positif dengan pengenceran 1:20.
Kontrol negatif	: Serum negatif
Buffer pengencer	

## TEMPAT DAN LAMA PENYIMPANAN

1. Kit reagen harus disimpan pada suhu 2-8<sup>0</sup>C pada posisi tegak samapai batas waktu kadaluarsa. Pada suhu tersebut, karakter kinerja kit akan dipertahankan selama 18 bulan dari tanggal pembuatan. Dapat dilihat tanggal kadaluarsa di dalam kit.
2. Reagen harus di buang jika terjadi kontaminasi atau tidak menunjukkan aktivitas yang sesuai dengan kontrol.
3. Reagen di setiap kit telah distandarkan untuk menghasilkan reaksi yang tepat dan reagen tidak boleh ditukar dengan batch reagen berbeda.

## Alat yang dibutuhkan namun tidak tersedia dalam kit

Pipet akurat/ Mikropipet untuk ukuran 10uL, 25uL, 75uL dan 190 uL.

Mikrotitrasi plate sumur-U.

## Persiapan sampel

- a. Sampel plasma atau serum harus bebas dari hemolisis dan kontaminasi.
- b. Sample dapat disimpan selama 7 hari pada suhu 2-8<sup>0</sup>C. Untuk penyimpanan sampel yang lebih lama seharusnya disimpan pada suhu -20<sup>0</sup>C.
- c. Hindari kontaminasi reagen dan pengenceran serum dengan saliva. Karena ini dapat membingungkan mirip dengan hasil positif dengan specimen yang seharusnya negatif.

## Prinsip :

Sel darah merah berfungsi sebagai pembawa antigen. Sel darah merah yang dilapisi antigen tertentu dapat digunakan untuk mengetahui adanya antibodi terhadap antigen tersebut di dalam serum pasien.

## PROSEDUR

### Metode Kualitatif

Setiap sampel membutuhkan 3 sumur plate mikrotitrasi:

1. Masukkan 190ul pengencer di sumur no.1
2. Tambahkan 10ul serum di sumur no.1
3. Dengan menggunakan mikropipet, campurkan/homogenkan isi sumur 1 dan pindahkan sebanyak 25ul ke sumur no.2 dan 25 uL ke sumur no.3
4. Pastikan bahwa sel uji/tes dan sel kontrol tersuspensi dengan baik. Tambahkan 75ul sel kontrol ke sumur 2. Tambahkan 75ul sel uji/tes ke sumur 3
5. Goyangkan mikroplate secara perlahan untuk menghomogenkan.
6. Inkubasi 45-60 menit pada suhu kamar

- Hal yang perlu diperhatikan adalah menghindarkan mikroplate dari panas, sinar matahari langsung dan sumber getaran
- Pembacaan hasil setelah inkubasi dan hasil tetap stabil selama 24 jam jika plate tertutup.

### Uji Kuantitatif

Setiap sampel membutuhkan 8 sumur plate mikrotitrasi, diberi label dari A sampai H

- Tambahkan 25ul pengencer pada sumur B sampai ke H
- Sebanyak 25ul serum pengenceran 1:20 dipindahkan dari tes skrining/ kualitatif untuk sumur A dan B
- Dipipet 25ul serum diencerkan dari sumur B dan serial diencerkan dari sumur B ke H dan membuang 25ul serum diencerkan dari sumur H
- Dipastikan bahwa sel-sel uji sudah secara menyeluruh disuspensi. Tambahkan 75ul sel uji/tes ke sumur A ke H. Ini akan memberikan pengenceran serum 1/80 di sumur A sampai 1/10240 sumur H
- Homogenisasi mikroplate secara perlahan hingga isi tercampur menyeluruh
- Inkubasi 45-60 menit pada suhu kamar  
Perhatian! Hindari plate dari panas, sinar matahari langsung dan sumber getaran
- Pembacaan hasil. Hasil tetap stabil selama 24 jam jika plate tertutup dan tindakan pencegahan di atas.

### HASIL

Hasil	Sel Tes	Sel Kontrol
Positif Kuat	Aglutinasia penuh menutupi dasar sumur	Tidak terdapat aglutinasi
Positif Lemah	Aglutinasia menutupi 1/3 dari dasar sumur	Tidak terdapat aglutinasi
Tak Tentu	Gumpalan merah menunjukkan pusat yang jelas	Tidak terdapat aglutinasi
Negatif	Tidak terdapat aglutinasi (eritrosit tersusun kompak di dasar sumur)	Tidak terdapat aglutinasi
Non-Spesifik	Reaksi positif	Reaksi positif

### Penyerapan reaksi non-spesifik

- Masukkan 100ul serum uji ke tabung kecil kemudian tambahkan 400ul sel kontrol. Homogenkan dengan baik dan diamkan selama 1 jam

2. Sentrifuge 15 menit pada 1000 rpm kemudian supernatannya di uji menggunakan metode kualitatif

Catatan: ketika mempersiapkan pengenceran, sampel 1/5 ini harus diperhitungkan. Jika hasil yang berulang kali tidak spesifik sampel harus diuji dengan metode lain misalnya, FTA-ABS

### **Interpretasi Hasil**

- a. Reaksi positif yang kuat dapat menunjukkan aglutinasi di dasar sel.
- b. Ketika sumur uji adalah positif, sumur kontrol juga harus diamati. Sel-sel kontrol harus mengendap kompak. Kontrol sel tidak boleh digunakan sebagai pembanding untuk pola serum non-reaktif karena sel kontrol memberikan pola yang lebih kompak daripada sel tes.
- c. Aglutinasi di sumur sel kontrol juga menunjukkan adanya aglutinin non-spesifik dalam sampel, pengujian harus dilaporkan invalid. Pada serum yg memberikan hasil ini dapat diserap dengan menggunakan sel kontrol seperti yang dijelaskan dengan cara absorpsi non-spesifik.

Reaksi meragukan dengan Uji Sel harus dilaporkan sebagai tidak pasti (Indeterminate). Hasil ini menunjukkan rendahnya tingkat antibodi pada sifilis primer awal. Sampel harus diuji ulang dengan tes kualitatif dikemudian hari untuk menentukan apakah ada atau tidaknya peningkatan titer. Juga dianjurkan untuk melakukan tes reagin dan atau tes konfirmasi lainnya (FTA-ABS) untuk melengkapi riwayat dari serum tes tersebut.

Antibodi Sifilis terdeteksi dalam tes TPHA bertahan setelah pengobatan berhasil. Oleh karena itu tes positif dapat mengindikasikan infeksi lama atau baru terjadi. Secara umum dengan uji serologis lainnya TPHA tidak bisa membedakan antara sifilis dan infeksi treponema patogen lain, misalnya Frambusia.

#### **Keterangan klinis harus selalu dipertimbangkan.**

Meskipun tes TPHA sangat spesifik, hasil positif palsu telah diketahui terjadi pada pasien yang menderita kusta, mononucleosis menular dan jaringan ikat tidak teratur. Untuk konfirmasi tes FTA-ABS harus digunakan, karena memungkinkan pembedaan antara IgG dan IgM antibodi awal. Uji FTA-ABS juga sangat berguna dalam sifilis sangat awal di mana tes haemagglutinasinya mungkin negatif. Untuk kontrol terapi disarankan untuk menggunakan tes kuantitatif seperti VDRL atau tes RPR.

### **KARAKTERISTIK KINERJA**

### **Kekhususan**

Dua penelitian independen pada 2900 donor sera masing-masing menunjukkan 100% konsensus dengan metode uji yang ada. Tingkat reaktif awal adalah 0,1%, dan tingkat reaktif ulang adalah 0%

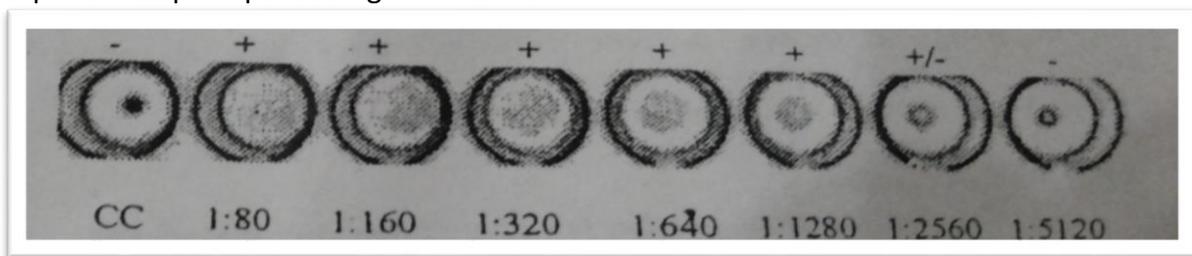
Sebuah studi independen pada 200 antenatal sera menunjukkan spesifisitas 100%. (Kepercayaan 95% 98,04-100%)

### **Sensitivitas**

Dalam studi penelitian pada 110 spesimen positif yang diketahui memberikan 100% hasil positif. (95% Kepercayaan 98,04-100%). Ini termasuk 2 spesimen negatif dengan uji TPHA tersedia secara komersial lain tapi positif oleh FTA dan IgM tes EIA tertentu.

### **Pengendalian Kontrol kualitas internal**

Kontrol positif dan negatif disediakan dan harus digunakan untuk memverifikasi tes. Dapat dilihat pada panduan gambar di bawah



Gambar 54. Hasil pengamatan pengenceran TPHA

- Setiap sampel memberikan aglutinasi kurang dari ditampilkan sebagai "+/-" di atas adalah negatif,
- Setiap sampel memberikan aglutinasi lebih besar daripada yang yang ditampilkan sebagai "+/-" diatas harus dicatat sebagai positif sementara, dan diulangi prosedur seperti di atas, tetapi dalam rangkap/duplo, menambahkan sel kontrol yang diberikan kepada satu seri sumur, dan sel uji yang lainnya.
- Jika aglutinasi tes uji lebih besar dibandingkan dengan sel kontrol, sampel positif untuk antibodi anti-treponemal, dan harus dilakukan pemeriksaan lebih lanjut untuk konfirmasi.
- Jika aglutinasi sel kontrol lebih besar atau sama dengan dengan sel tes, prosedur di bawah untuk penyerapan non - spesifik tertentu harus diterapkan.



**Gambar 55.** Hasil pemeriksaan tes TPHA

## Latihan

**Untuk dapat memperdalam pemahaman Anda mengenai materi di atas, kerjakanlah Latihan berikut!**

- 1) Hasil pemeriksaan serologi dapat dilaporkan secara kualitatif dan semi kuantitatif
- 2) Beberapa hal yang perlu diperhatikan pada manual kit instruction seperti prinsip reaksi, sampel, stabilitas penyimpanan, sensitivitas, spesifisitas, standar keamanan kesehatan dan keselamatan kerja.
- 3) Kontrol positif dan kontrol negatif digunakan sebagai validasi reagen.

## Ringkasan

1. Interaksi antara antibodi dan antigen merupakan dasar dari banyak assay diagnostik kualitatif dan kuantitatif.
2. Interaksi antigen-antibodi tergantung dari 4 jenis interaksi nonkovalen, ikatan hidrogen, ikatan ion, ikatan hidrofobik, dan interaksi van der Waals
3. Interaksi antara antigen larut dan antibodi yang dapat memacu presipitasi .
4. Interaksi antara partikel antigen dan agglutinin (antibodi yang menimbulkan aglutinasi) menimbulkan endapan yang dapat dilihat dengan mata dan merupakan dasar immun assay sederhana , cepat dan sensitif.

## Tes 2

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

1) Seorang ibu didiagnosa dokter menderita demam rematik akibat infeksi *Streptococcus β hemolitik*. Hasil pemeriksaan ASO kualitatif positif dan dilanjutkan semikuantitatif. Hasil pengamatan: Pada pengenceran  $\frac{1}{2}$ ,  $\frac{1}{4}$ ,  $\frac{1}{8}$ ,  $\frac{1}{16}$  didapatkan hasil aglutinasi, pada pengenceran  $\frac{1}{32}$  dan  $\frac{1}{64}$  didapatkan hasil non aglutinasi. Sensitivitas ASO adalah 200 IU/mL

Berapakah kadar ASO (IU/mL) dari pasien tersebut?

- A. 800
- B. 1600
- C. 3200
- D. 6400
- E. 12800

2) Seorang laki-laki berumur 25 tahun mengalami demam 5 hari. Sudah minum obat penurun panas, namun demamnya tak kunjung turun. Ia memeriksakan diri ke dokter dan diberi surat pengantar untuk melakukan pemeriksaan laboratorium. Diantaranya pemeriksaan widal rapid slide dengan hasil sebagai berikut ( untuk antigen O)

Serotype	volume serum pada slide				
	80 uL	40 uL	20 uL	10 uL	5 uL
<i>Salmonella typhi O</i>	+	+	+	+	-
<i>S. paratyphi AO</i>	+	+	-	-	-
<i>S. paratyphi BO</i>	-	-	-	-	-
<i>S. paratyphi CO</i>	+	+	+	+	+

Keterangan : + (aglutinasi) ; - (non aglutinasi)

Berapakah titer pemeriksaan widal terhadap antigen O tersebut ....

- A. *Salmonella typhi O* :  $\frac{1}{320}$ ; *S. paratyphi AO*:  $\frac{1}{80}$ ; *S. paratyphi BO*: -; *S. paratyphi CO* :  $\frac{1}{160}$
- B. *Salmonella typhi O* :  $\frac{1}{160}$ ; *S. paratyphi AO*:  $\frac{1}{80}$ ; *S. paratyphi BO*: -; *S. paratyphi CO* :  $\frac{1}{160}$
- C. *Salmonella typhi O* :  $\frac{1}{320}$ ; *S. paratyphi AO*:  $\frac{1}{40}$ ; *S. paratyphi BO*: -; *S. paratyphi CO* :  $\frac{1}{320}$
- D. *Salmonella typhi O* :  $\frac{1}{160}$ ; *S. paratyphi AO*:  $\frac{1}{80}$ ; *S. paratyphi BO*: -; *S. paratyphi CO* :  $\frac{1}{160}$

E. Salmonella typhi O : 1/160; S. paratyphi AO: 1/40; S. paratyphi BO: -; S paratyphi CO : 1/320

- 3) Regio variabel dari patogen/antigen dapat diikat antibodi disebut ....
- Agretop
  - Epitop
  - Paratrop
  - Surface
  - Imunogen

4) Pada pemeriksaan semikuantitatif RPR, didapatkan hasil sebagai berikut

Pengenceran	Hasil pengamatan
1: 2	+
1: 4	+
1: 8	+
1: 16	-
1: 32	-

Berapakah titer RPR di atas .....

- 5) Sel kontrol pada reagen TPHA berisi .....
- 6) Sel Tes pada reagen TPHA berisi .....

## Kunci Jawaban Tes

### Test Formatif 1

- C.
- B.
- A.
- E.
- A.
- E.

### Test Formatif 2

- C.
- E.
- B.

- 4) 1/8.
- 5) eritrosit avian (burung).
- 6) eritrosit avian (burung) dilapisi dengan antigen *T.pallidum*

## Glosarium

- Antigen : suatu zat yang merangsang respon imun, terutama dalam menghasilkan antibodi.
- Antibodi : glikoprotein dengan struktur tertentu yang disekresi dari limfosit B yang telah teraktivasi menjadi sel plasma, sebagai respon dari antigen tertentu dan reaktif terhadap antigen tersebut.
- Aglutinogen : antigen yang menggumpalkan antibodi (aglutinasi dan berbentuk partikel)
- Aglutinin : antibodi yang menggumpalkan sel ( aglutinasi) bereaksi dengan antigen berbentuk partikel (suspense) atau dengan yang diadsorbsikan pada partikel (sel darah merah, lateks)
- Antitoksin : antibodi terhadap toksin atau toksoid : bersifat netralisasi.
- Aviditas : Kekuatan keseluruhan dari interaksi antara 2 molekul, misalnya antigen dan antibodi.

- CRP : C-reactive Protein molekul, protein plasma yang berperan pada respons imun non spesifik terhadap infeksi bakteri.
- Determinan : bagian spesifik makromolekul antigen yang berikatan dengan antibodi. Sinonim nya adalah epitope.
- Flokulasi : interaksi antara antigen terlarut dengan antibodi yang terlihat sebagai partikel halus.
- Presipitin : antibodi yang menimbulkan presipitasi (pengendapan) dengan antigen berbentuk larutan.
- Serologi : studi serum (antibodi) dan reaksi dengan antigen. Biasanya dilakukan dalam diagnosis penyakit infeksi yang mencari antibodi spesifik.

## Daftar Pustaka

Abbas, Abul,K, 2010, Basic Immunology: Functions and disorders of the immune system, five edition, Saunders

Baratawidjaja, KG, 2009, Imunologi Dasar edisi ke 8 , Balai Penerbit FKUI, Jakarta

Kresna, SB, 2009, Imunologi: Diagnosis dan Prosedur Laboratorium, Balai Penerbit FKUI, Jakarta.

Mengko, Richard (Ed.) 2013, Instrumentasi Laboratorium Klinik, Penerbit ITB, Bandung

Playfair, J.H.L and Chain, B.M, 2012, Immunology At a Glance, edisi kesembilan; alih bahasa Winardini, Erlangga, Jakarta.

Roitt, Ivan etc, 2008, Immunology, seventh edition, Elsevier.

Rittenhouse-Olson, Kate: , 2017, Imunologi dan Serologi Klinis Modern: untuk kedokteran dan analisis kesehatan (MLT/CLT) ; alih bahasa , Dian Ramadhani ....[et al.], EGC, Jakarta.

Manual Kit instruction Uji kehamilan latex aglutinasi

Manual Kit instruction CRP latex aglutinasi

Manual Kit instruction RF latex aglutinasi

Manual Kit instruction ASTO latex aglutinasi

Manual Kit instruction Febrile antigen (Widal)

Manual Kit instruction RPR

Manual Kit instruction TPHA

# Bab 8

## PEMERIKSAAN METODE IMUNOKROMATOGRAFI

*Retno Martini Widhyasih, S.Si,M.Biomed.*

### Pendahuluan

**B**erbagai pemeriksaan komponen sistem imun telah dapat dikerjakan. Pada umumnya, biaya pemeriksaan tersebut masih sangat tinggi. Oleh karenanya perlu diketahui beberapa dasar pemeriksaan imunologi, agar dapat memilih jenis

pemeriksaan yang dibutuhkan. Ada pemeriksaan yang mutlak untuk diagnosis atau pemantauan penyakit, beberapa pemeriksaan diperlukan dalam subklasifikasi penyakit.

Tes laboratorium berbeda dalam sensitivitas dan spesifisitas. Untuk memperoleh hasil optimal, maka Sensitivitas suatu tes adalah proporsi penderita dengan penyakit yang menunjukkan tes positif. Hasil negatif adalah tes yang sangat sensitif dan dapat digunakan untuk menyingkirkan penyakit relevan. Tes hendaknya negatif pada individu sehat dan yang menderita penyakit lain, tetapi dengan gambaran klinis sama. Spesifisitas tes proporsi individu tanpa penyakit tertentu dengan tes negatif. Tes positif hanya terbatas pada penyakit yang dipermasalahkan dan tes dengan spesifisitas yang tinggi, digunakan untuk memastikan diagnosis klinis.

Banyak teknik laboratorium yang digunakan secara rutin dalam laboratorium. Pada pembahasan bab sebelumnya yaitu immunoassay tidak berlabel seperti aglutinasi dan presipitasi. Pengujian berdasarkan aglutinasi merupakan metode klasik untuk penetapan antibodi atau antigen. Banyaknya tempat pengikatan pada antibodi dan antigen menyebabkan terbentuknya kompleks besar ketika antibodi dan antigen bereaksi pada konsentrasi yang tepat.

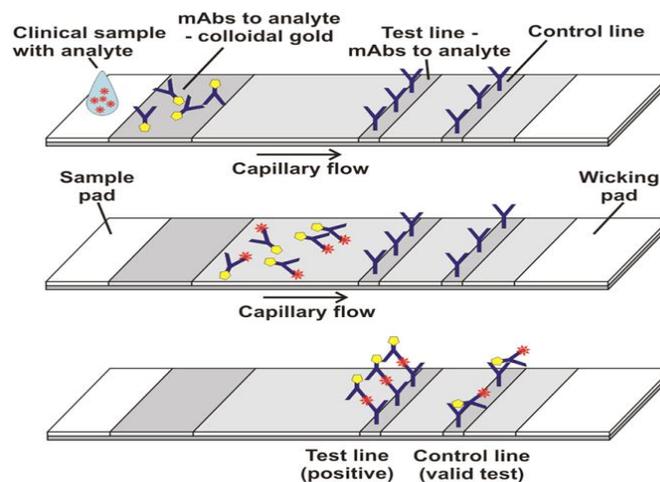
Pengembangan teknik pemeriksaan dalam bidang imunoserologi adalah Imunokromatografi, yang berasal dari kata "imunologi" dan "kromatografi". Imunologi adalah cabang ilmu kesehatan yang mencakup studi tentang semua aspek dari sistem kekebalan tubuh terutama dalam pemeriksaan adalah mengidentifikasi antigen atau antibodi. Sedangkan kromatografi adalah teknik dalam memisahkan molekul berdasarkan perbedaan berat pola pergerakan antara fase gerak dan fase diam untuk memisahkan komponen (berupa molekul) yang berada pada larutan. Molekul yang terlarut dalam fase gerak, akan melewati membran nitroselulosa/kolom sebagai fase diam. Sehingga imunokromatografi adalah teknik untuk memisahkan dan mengidentifikasi antigen atau antibodi yang terlarut dalam sampel.

Pemeriksaan di laboratorium klinik yang menggunakan teknik ini misalnya pemeriksaan anti HIV-1/2, HBsAg, Plasmodium/ Malaria, anti TBC, IgM/IgG Dengue, NS1 Ag Dengue, dan Ig M anti Salmonella. Selain untuk penyakit infeksi, teknik ini juga dapat digunakan untuk memeriksa senyawa lain seperti tes kehamilan, narkoba dalam urin, nikotin dalam urin.

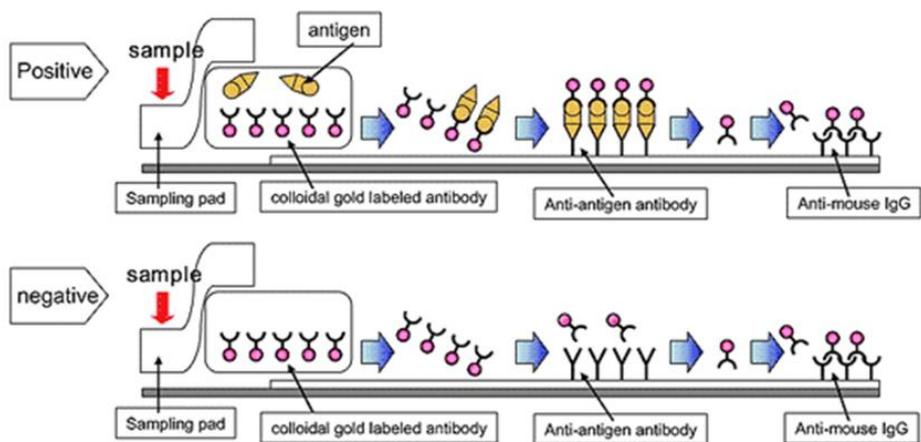
Metode ini dengan dasar Enzyme Immuno Assay dan tidak berbeda jauh dengan ELISA (Enzim Linked Immunosorbent Assay). Perbedaan yang terlihat adalah imunokromatografi dilakukan pada kertas kromatografi/ nitroselulosa sedangkan ELISA dilakukan pada tabung/ plate mikrotiter. Kertas kromatografi pada imunokromatografi biasa disebut test strip, karena bentuknya seperti strip, baik dalam kaset atau tanpa kaset. Gambar 8.4. menunjukkan contoh hasil reaksi yang terjadi pada sebuah test strip imunokromatografi.

Gambar 8.1 dan 8.2 memperlihatkan prinsip kerja dari imunokromatografi pada penentuan antigen yaitu :

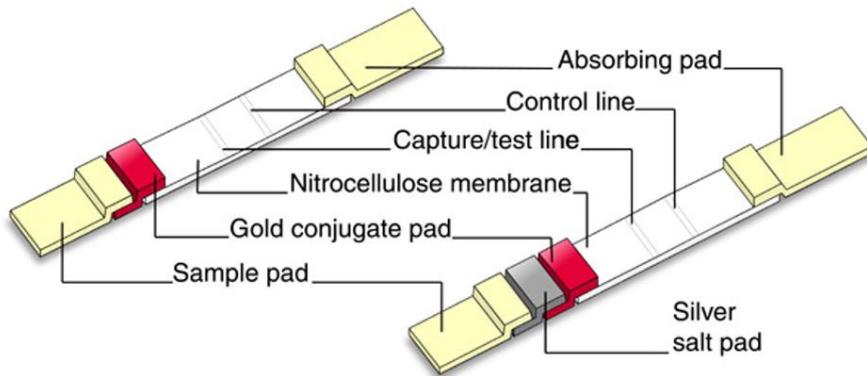
1. Sampel cair dijatuhkan/ diteteskan pada tempat sampel/ *sampling pad* , kemudian antigen dalam sampel akan bergerak membentuk imunokompleks dengan antibodi berlabel emas koloid (*colloidal gold labeled antibody*).
2. Senyawa kompleks tersebut bergerak bersama dengan cairan sampel, dan ketika terjadi kontak dengan antibodi yang menempel pada membran, selanjutnya akan membentuk senyawa imunokompleks dengan antibodi bergerak menghasilkan garis berwarna ungu merah.
3. Pemeriksaan dikatakan valid bila muncul garis pada kontrol, baik dengan garis test berwarna (positif) atau garis test tidak timbul warna (negatif). Bila tidak muncul garis pada kontrol, pemeriksaan dikatakan invalid dan harus diulang. Terbentuknya garis ungu pada area tes menunjukkan hasil positif ( Gambar 56).



Gambar 56. Skema strip test imunokromatografi



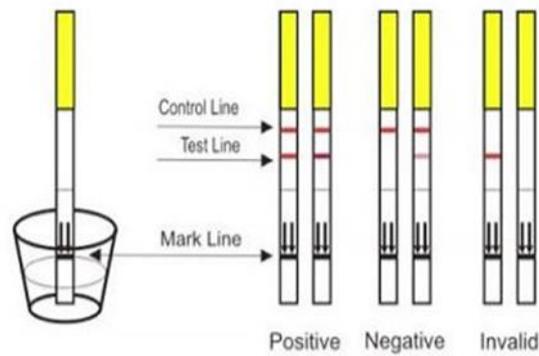
**Gambar 57.** Proses reaksi pada imunokromatografi



**Gambar 58.** Komponen pada Imunokromatografi

Pada gambar 58 di atas memperlihatkan komponen pada imunokromatografi yang meliputi :

- Sample pad bertindak sebagai spons dan menyimpan kelebihan cairan sampel.
- Conjugate (detektor) pad
- Membran selulosa
- Garis test
- Garis kontrol
- Absorbing pad



**Gambar 59.** Interpretasi hasil dan kontrol kualitas dari ICT

- Keterangan: - Positif = apabila garis kontrol berwarna dan garis tes berwarna.  
 - Negatif = apabila tidak muncul warna atau warna lemah di garis tes (garis kontrol harus berwarna sebagai validasi reagen).  
 - Invalid = Garis kontrol tidak menunjukkan warna ( reagen tidak valid), walaupun pada garis tes muncul atau tidak muncul warna.

Keuntungan dan kekurangan metode ini adalah :

- Format yang disukai oleh pemakai (teknisi laboratorium)
- Pembacaan secara makroskopik
- Waktu yang dibutuhkan untuk mendapatkan hasil tes amat singkat
- Stabil untuk jangka panjang dengan berbagai iklim
- Kerja amat praktis
- Hasil pemeriksaan hanya dapat dinyatakan kualitatif belum dapat menyatakan kuantitatif.



**Gambar 60.** Berbagai macam bentuk alat dengan dasar ICT



# Topik 1

## Pemeriksaan metode Imunokromatografi Test (ICT) untuk deteksi antibodi

### A. PEMERIKSAAN ANTI HIV 1/2

#### Pendahuluan

Beberapa pemeriksaan anti HIV-1/2 diantaranya SD BIOLINE HIV-1/2 3.0 merupakan uji imunokromatografi test untuk mendeteksi antibodi dari semua isotipe (IgG, IgM, IgA) secara kualitatif yang spesifik terhadap HIV-1 dan HIV-2 dalam serum, plasma, atau darah manusia.

SD BIOLINE HIV-1/2 3.0 berisi strip membran, yang masing-masing dilapisi dengan rekombinan HIV-1 dengan antigen pengikat (gp41, p24) pada tes pita region 1 dan rekombinan HIV-2 dengan antigen pengikat (gp36) pada tes pita region 2. Antigen rekombinan HIV-1/2 (gp41, p24 dan gp36) koloid konjugat emas dan sampel spesimen bergerak di sepanjang membran kromatografi ke garis tes (T) dan membentuk garis terlihat sebagai kompleks partikel emas antigen-antibodi-antigen dengan sensitivitas dan spesifisitas tingkat tinggi. Perangkat tes ini terdiri dari 1, 2 dan C, sebagai Garis Uji 1 (HIV-1), Garis Uji 2 (HIV-2) dan garis kontrol pada permukaan perangkat. Kedua garis uji dan garis kontrol dalam zona hasil tidak terlihat sebelum dimasukkan sampel apapun. Garis kontrol digunakan untuk kontrol prosedur (reagen). Garis kontrol seharusnya selalu muncul jika prosedur tes dilakukan dengan benar dan reagen tes pada garis kontrol bekerja.

#### **Strategi tes HIV**

Strategi pemeriksaan HIV yang digunakan adalah serial seperti yang direkomendasikan WHO dengan 3 strategi pemeriksaan, menggunakan 3 macam reagen yang berbeda. Sampel diperiksa dengan uji pertama, uji pertama menentukan apakah diperlukan uji selanjutnya. Pemilihan strategi tergantung 3 faktor : 1. Tujuan pemeriksaan, 2. Sensitivitas dan spesifisitas reagen, 3. Prevalensi HIV pada populasi yang diperiksa. Ketepatan hasil pemeriksaan meningkat jika kedua metode digunakan, karena hasil *false positive* mungkin terjadi pada keduanya. Keuntungan pengulangan pada ketepatan tes harus mempertimbangkan biaya. *UNAIS (United Nations Association International Service)* dan *WHO* merekomendasikan tiga strategi pemeriksaan untuk memaksimalkan ketepatan dan menekan biaya.

Algoritma tes HIV satu :

Semua darah/serum dilakukan tes dengan rapid tes satu, sebanyak satu kali. Semua hasil reaktif dinyatakan terinfeksi dan semua hasil negatif dinyatakan tidak terinfeksi. Strategi ini digunakan pada dua seting utama yaitu untuk penyaring darah dalam pelayanan transfusi dan untuk transplantasi organ. Pada algoritma ini digunakan reagen yang dapat mendeteksi HIV-1/HIV-2 serta memiliki sensitivitas yang tinggi (>99%), (Gambar 61).

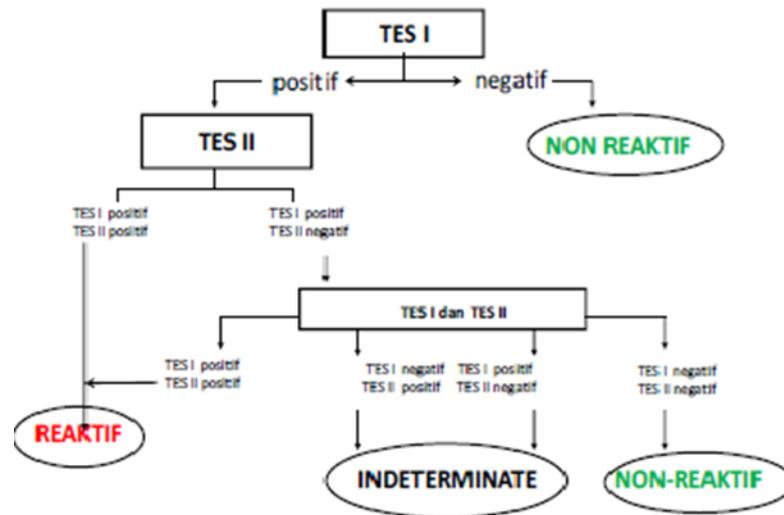


Gambar 61. Algoritma HIV strategi 1

Algoritma tes HIV dua :

Setelah hasil pemeriksaan pada tes satu dinyatakan reaktif harus diperiksa kedua kalinya dengan reagen yang berbeda dengan reagen ke satu, dalam kasus ini digunakan metodologi yang berbeda atau target peptida yang berbeda. Serum yang reaktif pada kedua reagen dinyatakan terinfeksi HIV sementara serum yang non reaktif pada tes kedua (terjadi perbedaan hasil pada tes satu dengan tes dua) harus diulang dengan reagen yang sama. Jika hasil tetap berbeda setelah pengulangan maka dinyatakan sebagai *indeterminate*. Strategi ini digunakan untuk tujuan surveilans dengan syarat reagen satu memiliki sensitivitas >99% dan reagen dua memiliki nilai spesifisitas >98% (Gambar 62).

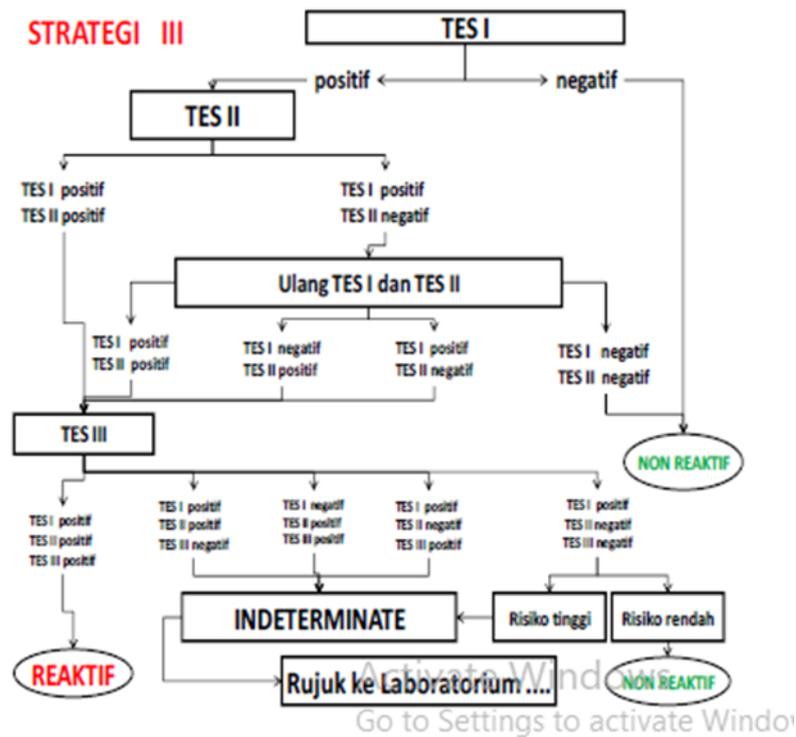
## STRATEGI II : Alur Pem Anti- HIV untuk Surveilans



Gambar 62. Algoritma HIV strategi 2

Algoritma tes HIV tiga :

Sama dengan algoritma dua pada tes yang ke tiga ini dilakukan pada semua hasil reaktif pada tes satu dan dua. Apabila pada tes ketiga didapatkan hasil yang reaktif dinyatakan terinfeksi HIV, apabila terjadi perbedaan hasil pada tes tiga dibandingkan dengan tes satu dan dua (misal tes satu dan tes dua reaktif sedangkan tes tiga non reaktif) dinyatakan sebagai *Indeterminate*. Strategi ini digunakan untuk tujuan penegakan diagnosa dengan syarat reagen satu memiliki sensitivitas >99% dan reagen dua memiliki nilai spesifisitas >98%, sedangkan reagen ketiga memiliki nilai spesifisitas >99%. Preparasi antigen atau prinsip tes dari masing-masing reagen harus berbeda. Angka *Indeterminate* tidak boleh melebihi 5%.



Gambar 63. Algoritma HIV strategi 3.

### Isi Kit

SD BIOLINE HIV-1/2 3.0 test kit berisi item berikut untuk melakukan pengujian tersebut.

1. Perangkat uji individual, dibungkus kantong foil dengan pengawet .
2. Larutan pengencer
3. Pipet kapiler 20 µl (pilihan), lancet (pilihan), swab alkohol (pilihan)
4. Petunjuk penggunaan

### Penyimpanan Kit dan Stabilitas

1. Perangkat uji harus disimpan pada suhu 1-30 ° C. Jangan menyimpan di lemari es.
2. Perangkat uji sensitif terhadap kelembaban serta panas.
3. Lakukan tes segera setelah melepaskan perangkat tes dari kantong foil.
4. Jangan menggunakannya melampaui tanggal kedaluwarsa.
5. Tanggal kadaluwarsa reagen kit berada pada bagian luar kemasan.
6. Jangan menggunakan test kit jika kantong foil rusak atau segel rusak.
7. Jangan menggunakan kembali perangkat tes yang sudah digunakan.

## Peringatan

1. Hanya digunakan untuk diagnostik in vitro saja.
2. Jangan makan atau merokok sambil menangani spesimen.
3. Kenakan sarung tangan pelindung saat menangani spesimen. Cuci tangan hingga bersih setelah selesai menangani spesimen.
4. Hindari percikan atau pembentukan aerosol.
5. Bersihkan tumpahan dengan seksama menggunakan desinfektan yang sesuai.
6. Dekontaminasi dan membuang semua spesimen, reaksi kit dan bahan yang berpotensi terkontaminasi, seolah-olah dianggap sebagai limbah infeksius, dan dibuang ke dalam wadah Biohazard.
7. Jangan mencampur dan menukar spesimen yang berbeda.
8. Antikoagulan seperti heparin, EDTA, dan natrium sitrat tidak mempengaruhi hasil.
9. Penggunaan sampel hemolitik, sampel yang mengandung Faktor Rheumatoid dan lipidemik, sampel ikterus dapat mengganggu hasil test.

## Pengambilan Spesimen, Penyimpanan Dan Tindakan Pencegahan

### 1. Darah

( Pengambilan Melalui Vena )

- Tampung darah vena yang diambil ke dalam tabung pengumpul (yang mengandung antikoagulan seperti heparin, EDTA, dan natrium sitrat).
- Jika spesimen darah tidak segera diuji, maka darah harus disimpan pada suhu 2-8°C.
- Bila disimpan pada suhu 2-8°C spesimen darah harus dapat bertahan dalam waktu 3 hari.
- Untuk periode penyimpanan lebih dari 3 hari, maka dianjurkan dilakukan pembekuan. Darah harus ditempatkan pada suhu kamar (1-30°C) sebelum digunakan.
- Menggunakan spesimen darah yang disimpan dalam jangka panjang lebih dari 3 hari dapat menyebabkan reaksi non-spesifik.

( Pengambilan Menggunakan Lanset )

- Bersihkan area yang akan ditusuk dengan kapas alkohol.
- Tekan ujung jari dan tusuk dengan lancet steril yang disediakan.

- Ambil pipet kapiler 20 µl yang disediakan, hisap tetesan darah menggunakan pipet, dan kemudian lepaskan tekanan untuk menarik darah ke dalam pipet kapiler sampai garis hitam.

## 2. Plasma atau Serum

- (Plasma) tampung darah vena ke dalam tabung penampung (mengandung antikoagulan seperti Heparin, EDTA, Natrium sitrate) dan kemudian darah dicentrifus (diputar) untuk mendapatkan spesimen plasma.
- (Serum) tampung darah vena ke dalam tabung penampung (TIDAK mengandung antikoagulan seperti heparin, EDTA, natrium sitrate) diamkan selama 30 menit untuk koagulasi darah dan kemudian darah dicentrifus (diputar) untuk mendapatkan spesimen serum dari supernatan.
- Jika spesimen plasma atau serum tidak segera diuji, mereka harus didinginkan pada suhu 2-8°C, untuk penyimpanan periode lebih dari 2 minggu dianjurkan dilakukan pembekuan. Spesimen harus ditempatkan pada suhu kamar (suhu 1-30°C) sebelum digunakan.
- Spesimen plasma atau serum yang mengandung endapan dapat menyebabkan hasil tes tidak konsisten. Spesimen tersebut harus diklarifikasi sebelum pengujian.

### Prosedur Tes (Lihat gambar)

1. Keluarkan perangkat tes dari kantong foil, letakkan di permukaan yang datar dan kering. (Gunakan pipet kapiler).
2. Tambahkan 20 ul dari spesimen darah yang telah diambil dengan pipet kapiler 20 ul ke dalam sumur sampel (s), (menggunakan mikropipet).
3. Bila menggunakan specimen plasma atau serum digunakan 10 ul dari plasma atau serum spesimen (20ul dari spesimen darah) ke dalam sampel sumur (s).
4. Tambahkan 4 tetes (sekitar 120 ul) dari larutan uji ke dalam sumur sampel (s).
5. Saat tes mulai bereaksi, maka akan melihat warna ungu bergerak melintas di kolom hasil. Hasil tes muncul pada 5-20 menit.

Perhatian: tidak membaca hasil tes setelah 20 menit. Pembacaan terlambat dapat memberikan hasil yang palsu.

### Interpretasi dari tes (lihat gambar)

1. Pita berwarna akan muncul di bagian kiri zona hasil untuk menunjukkan bahwa tes tersebut bekerja dengan benar. Pita ini disebut garis kontrol (C).
2. Warna pita akan muncul di bagian tengah dan kanan dari zona hasil. Garis ini adalah garis tes 2 dan garis tes 1 (2, 1).

Hasil negatif:

Jika hanya garis kontrol (C) dalam zona hasil menunjukkan hasil negatif.

Hasil positif:

1. Jika terdapat dua garis yang muncul pada garis kontrol (C) dan garis tes 1 (1) pada zona hasil maka mengindikasikan hasil yang positif untuk HIV -1
2. Jika terdapat dua garis yang muncul pada garis kontrol (C) dan garis tes 2 (2) dalam zona hasil mengindikasikan hasil yang positif untuk HIV -2
3. Kemunculan tiga garis, yaitu garis kontrol (C), garis tes 1 (1) dan garis tes 2 (2) dalam zona hasil menunjukkan hasil yang positif untuk HIV-1 dan HIV-2 atau
  - Jika intensitas warna dari garis tes 1 lebih gelap dari garis tes 2 pada zona hasil, maka dapat diinterpretasikan sebagai hasil positif untuk HIV-1.
  - Jika intensitas warna dari garis tes 2 lebih gelap dari garis tes 1 pada zona hasil, dapat diinterpretasikan sebagai hasil positif HIV-2.

Perhatian: Walaupun hasil yang positif untuk HIV-1 dan HIV-2 pada satu pasien adalah kasus yang jarang terjadi, hal tersebut mungkin terjadi karena ada homologi dalam urutan asam amino antara HIV-1 dan HIV-2. Untuk menentukan jenis virus atau mendiagnosis koinfeksi dengan akurat, harus melakukan tes konfirmasi seperti Western Blot, dll.

Hasil yang tidak valid:

Tidak ada garis kontrol (C) dalam hasil mengindikasikan hasil yang tidak valid. Atau mungkin karena tidak mengikuti prosedur tes dengan benar. Disarankan untuk melakukan uji ulang specimen.

### Keterbatasan Uji

1. Meskipun hasil positif dapat mengindikasikan infeksi virus HIV - 1 atau HIV - 2 , diagnosis AIDS hanya dapat dilakukan atas dasar klinis , jika seseorang terdefinisi seperti yang telah ditetapkan oleh pusat pengendalian penyakit . untuk sampel yang berulang kali diuji dan hasilnya positif , tes tambahan yang lebih spesifik harus dilakukan.
2. pengujian immunochromatographic saja tidak dapat digunakan untuk mendiagnosa AIDS bahkan jika antibodi terhadap resiko HIV - 1 dan HIV - 2 yang ada dalam spesimen pasien.

- Hasil negatif tidak menghilangkan kemungkinan infeksi HIV - 1 dan HIV - 2. spesimen mungkin berisi kadar antibodi HIV - 1 dan HIV - 2 yang lebih rendah.

### Karakteristik produk.

#### 1. Sensitivitas dan Spesifisitas

Sebanyak 699 sampel telah diuji oleh SD BIOLINE HIV-1/2 3.0 dan seperangkat anti HIV 1/2 ELISA. Hasil menunjukkan bahwa SD BIOLINE HIV-1/2 3.0 memiliki korelasi yang baik dengan perangkat ELISA. SD BIOLINE HIV-1/2 3.0 menunjukkan sensitivitas 100% (187/187) dan spesifisitas sebanyak 99,8% (511/512).

<i>Referensi</i>		<i>SD BIOLINE HIV-1/2 3.0</i>		<i>Hasil Total</i>
<i>Metode</i>	<i>Hasil</i>	<i>Positif</i>	<i>Negatif</i>	
<i>Commercial ELISA</i>	<i>Positif</i>	<i>187</i>	<i>0</i>	<i>187</i>
	<i>Negatif</i>	<i>1</i>	<i>511</i>	<i>512</i>
<i>HasilTotal</i>		<i>188</i>	<i>511</i>	<i>699</i>

#### 2. Ketelitian

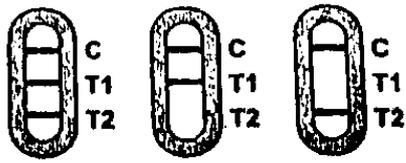
Intra run : reprodutifitas ditentukan dengan menguji 3 pengulangan yang berbeda dari 4 spesimen yang berbeda yang mengandung konsentrasi yang berbeda dari 3 antibodi berbeda dari SD BIOLINE HIV - 1/2 3.0 secara bersamaan . presisi mencapai 100 % .

Inter run : reprodutifitas ditentukan di hari yang berbeda dengan menguji 10 kali pengulangan dari 4 spesimen yang berbeda yang mengandung konsentrasi yang berbeda dari antibodi dengan SD BIOLINE HIV - 1/2 3.0. Presisi mencapai 100 % .

### Interpretasi Hasil

#### Positif :

Terbentuk dua atau tiga garis berwarna, satu pada zona garis Test 1 atau 2 (atau 1 dan 2) dan satu pada zona garis Control. Hal ini berarti pada serum, plasma, dan darah terdapat antibody HIV-1 atau 2. Garis warna pada zona 1 menandakan infeksi HIV-1, dan garis warna pada zona 2 menandakan infeksi HIV-2.



**Negatif :**

Terbentuk satu garis warna pada zona garis Control saja. Ini berarti pada serum, plasma dan darah tidak ada antibodi HIV.



**Invalid/Test gagal :**

Jika tidak timbul garis warna pada zona Control maka test dinyatakan gagal. Ulangi test dengan alat baru.



**Catatan penting:**

Hasil test tetap dianggap positif walaupun warna garis pada zona garis Test lebih gelap atau lebih terang daripada warna garis pada zona garis Control.

**B. Pemeriksaan IgM dan IgG Dengue Rapid tes**

Pendahuluan.

Virus Dengue, anggota dari Flaviviridae, termasuk virus RNA rantai tunggal. Terdapat 4 serotype (DEN 1-4) yang saling berhubungan erat, tetapi antigennya berbeda. Virus ini tersebar pada daerah tropis dan sub tropis dalam siklus yang melibatkan manusia dan nyamuk (*Aedes aegypti*), infeksi dari salah satu serotype tidak memberikan kekebalan protektif silang.

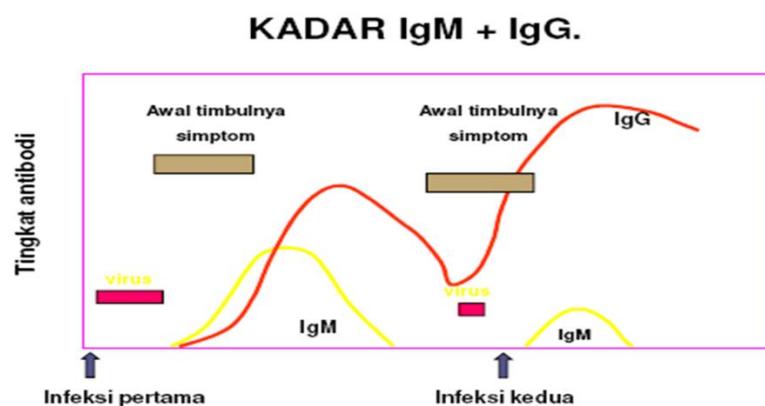
Virus dengue menghasilkan spektrum penyakit yang luas pada manusia, dari Demam Berdarah ringan (Dengue Fever) ke demam berdarah yang mengancam kehidupan (Demam Hemoragik Fever) dan syok syndrome (Demam Hemoragik Sindrom). Penyakit infeksi yang

disebabkan virus Dengue dengan manifestasi klinis demam, nyeri otot, dan atau disertai nyeri sendi yang disertai leukopenia, ruam, limfadenopati, trombositopenia.

Dalam serologi, dapat dilakukan dengan mengidentifikasi virus penyebab ( deteksi Antigen) atau melihat respon imun dengan melakukan deteksi terhadap IgM dan IgG.

IgM dan IgG ELISA merupakan metode yang banyak digunakan saat ini untuk memberikan diagnosis serologis spesifik. Antibodi IgM dapat dideteksi 3 hari setelah serangan penyakit, antibodi IgG kurang lebih sekitar 14 hari. Infeksi sekunder antibodi IgM dapat muncul dan antibodi IgG terdeteksi pada tingkat yang lebih tinggi.

IgG dapat digunakan untuk mendeteksi infeksi sekunder ( IgG merupakan immunoglobulin dominan yang ditemukan pada infeksi sekunder). IgM merupakan indikator dari infeksi primer atau akut. Apabila didapatkan IgM positif dan IgG positif menunjukkan adanya reinfeksi , dapat dengan serotipe yang berbeda.



**Gambar 64.** Respon imun primer dan sekunder dari infeksi virus Dengue

Keterangan:

1. Infeksi primer ditandai respon antibodi yang rendah dan lambat, pertama muncul IgM dan IgG muncul pada akhir minggu pertama demam.
2. Infeksi sekunder (individu dengan infeksi Dengue atau flavivirus lain sebelumnya) ditandai respon yang meningkat cepat secara eksponen dan antibodi bereaksi terhadap beberapa flavivirus. Tingginya IgG dapat dideteksi pada fase akut dan meningkat secara cepat dalam 2 minggu.

Reagensia dan material yang tersedia :

1. Cassete strip yang terbungkus dalam kemasan aluminium foil yang terdiri dari satu cassette dan satu pengering (silica gel).
2. Pipet penetes
3. Pengencer sampel (sesuai kit reagensia)
4. Lembar petunjuk pemakaian

Alat yang dibutuhkan namun tidak tersedia dalam kit yaitu timer, lancet untuk pengambilan darah.

Peringatan untuk penggunaan in vitro diagnostic:

1. Lembar petunjuk penggunaan harus dibaca sebelum melakukan pemeriksaan. Kesalahan dalam prosedur dapat menyebabkan hasil yang tidak sesuai/ salah.
2. Jangan membuka sealed reagensia bila tidak akan digunakan.
3. Jangan gunakan reagen yang telah kadaluarsa.
4. Sesuaikan reagen dengansuhu ruang ( 15-30<sup>0</sup> C) bila akan digunakan.
5. Jangan menggunakan serum darah yang hemolisis.
6. Gunakan Alat pelindung diri apabila akan bekerja. Cuci tangan sesudah melakukan pengujian.
7. Jangan minum, makan, merokok di area pengujian
8. Negatif dan positif kontrol harus tetap diperlakukan sebagai bahan berisiko infeksius.
9. Pipet yang telah digunakan dibuang melalui proses dekontaminasi.
10. Hasil tes dapat segera dibaca setelah 15 -20 menit. Pembacaan lebih dari 15-20 menit dapat menyebabkan hasil tidak sesuai.

Persiapan reagensia dan penyimpanan

- a. Semua reagensia sudah siap untuk digunakan
- b. Penyimpanan reagensia pada suhu 2-30 °C bila tidak digunakan.
- c. Bila disimpan pada suhu 2-8 °C, maka pada saat akan digunakan harus dikeluarkan dari suhu tersebut dan disesuaikan dengan suhu ruang sebelum akan digunakan.
- d. Cassete reagensia akan stabil sampai batas waktu kadaluarsa.
- e. Reagensia jangan disimpan beku atau di atas suhu 30 °C.

Spesimen

Plasma :

- a. Pengambilan specimen darah dapat digunakan vacutainer dengan antikoagulan EDTA, sitrat, heparin.
- b. Separasikan plasma menggunakan sentrifuge.
- c. Pisahkan plasma dan pisahkan dalam tabung dan di label.

Serum

- a. Pengambilan specimen darah dapat digunakan vacutainer tanpa antikoagulan.
- b. Diamkan sampai terbentuk bekuan.
- c. Separasikan serum menggunakan sentrifuge.
- d. Pisahkan serum dan pisahkan dalam tabung dan di label.

### Penyimpanan

- Bila tidak langsung diperiksa, maka disimpan 2-8°C selama 5 hari.
- Bila disimpan -20°C, dalam waktu yang lebih lama.
- Hindari untuk proses beku cair,
- Jangan gunakan specimen yang lipemik, hemolisis, untuk menghindari hasil yang tidak sesuai.

### Darah

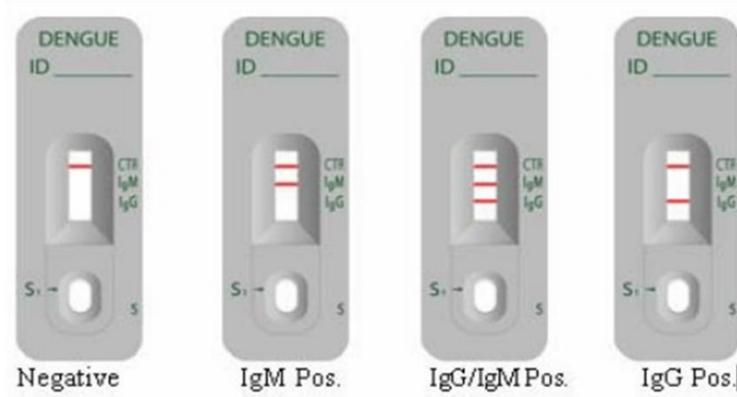
Darah yang dapat diambil dari kapiler atau vena.

Jangan gunakan darah yang hemolisis untuk pengujian.

Darah dapat disimpan pada refrigerator ( 2-8°C). Masa penyimpanan spesimen adalah 24 jam dan harus sudah dilakukan pemeriksaan.

Prosedur pemeriksaan ( menyesuaikan dengan kit insert yang digunakan )

- Bila specimen dan reagensia disimpan pada refrigerator, maka disesuaikan terlebih dahulu dengan suhu ruang sebelum dilakukan pengujian.
- Letakkan cassette pada permukaan yang datar dan bersih.
- Teteskkan secara vertical sebanyak 1 tetes menggunakan pipet kapiler (10 uL) dari serum/plasma atau specimen darah. Hindari terbentuknya gelembung. Selanjutnya teteskkan sebanyak 3 tetes ( 120 uL) pengencer sampel ke sumur specimen.
- Setel waktu selama 15-20 menit
- Hasil dapat dibaca setelah 15-20 menit



Gambar 65. Interpretasi Hasil pemeriksaan

### C. OnSite TB IgG/IgM combo Rapid Test

#### Penggunaan

OnSite TB IgG/IgM combo Rapid Test dengan teknik imunokromatografi yang dapat digunakan untuk mendeteksi IgM anti-*Mycobacterium tuberculosis* (M.TB) dan IgG anti M.TB dalam serum, plasma atau darah. Dapat digunakan untuk tes skrining dan diagnosis infeksi M.TB. Bila didapatkan hasil reaktif dengan test ini maka perlu dikonfirmasi dengan test lain dan juga dilihat manifestasi klinis dari pasien.

Tuberkulosis merupakan penyakit kronik yang disebabkan *M. tuberculosis*. Paru-paru merupakan target utama dari bakteri ini, namun juga dapat mengenai organ yang lain. Pada abad ke 20 diharapkan infeksi dapat menurun. Namun kondisi saat ini beberapa menjadi strains yang resisten terhadap obat, juga merupakan koinfeksi pada infeksi pasien dengan AIDS. Manifestasi klinis yang muncul dan hasil pemeriksaan radiologi dengan hasil konfirmasi pemeriksaan laboratorium pewarnaan BTA dengan specimen sputum serta kultur, merupakan pemeriksaan yang umum dilakukan dan merupakan perjalanan pemeriksaan untuk dapat mendiagnosis TB. Beberapa metode tersebut cukup membutuhkan waktu dalam pemeriksaannya juga mempunyai kelemahan seperti pada pasien yang tidak dapat mengumpulkan sputum sesuai kriteria.

Perkembangan ke teknik ICT untuk dapat mendeteksi IgM dan IgG-M.TB dalam serum, plasma atau darah dalam waktu 15 menit. IgM yang positif menunjukkan infeksi akut M.TB. Ketika hasil IgG positif menunjukkan infeksi kronis. Tes ini juga dapat mendeteksi pada orang dengan vaksinasi TB.

### **Prinsip test**

Onsite IgM dan IgG-M.TB combo rapid tes merupakan immunoassay dengan metode ICT lateral flow. Alat berupa cassette yang terdiri dari : 1) conjugate pad yang mengandung M.TB antigen yang dikonjugasikan dengan dengan colloidal gold (M.TB-conjugates), 2) strip membran nitroselulosa dengan 2 garis test ( garis IgM dan IgG) serta garis kontrol ( garis C). Garis M, disensitisasi/ dilapisi dengan monoclonal anti human IgM anti-M.TB dan garis G, dilapisi dengan reagen untuk mendeteksi IgG anti M.TB dan garis C dilapisi dengan goat anti rabbit IgG. Bila di dalam specimen terdapat antibodi, yang kemudian ditetaskan pada sumur specimen pada cassette, specimen akan bermigrasi dengan gaya kapilaritas sepanjang cassette. Bila di dalam specimen terdapat IgM anti M.TB maka akan berikatan dengan M.TB conjugate. Sehingga terjadi immunocompleks dan garis M akan berwarna dan mengindikasikan IgM positif. Prinsip yang sama akan terjadi bila di dalam specimen terdapat IgG. Sebaliknya bila di dalam specimen tidak terdapat antibodi baik IgM maupun IgG maka warna hanya akan muncul pada garis C (control), adanya ikatan immunocompleks antara goat anti-rabbit IgG/rabbit IgG gold conjugate.

Reagent dan material yang tersedia :

1. Strip yang terbungkus dalam kemasan aluminium foil yang terdiri dari satu cassette dan satu pengering (silica gel).
2. Pipet penates
3. Pengencer sampel
4. Lembar petunjuk pemakaian

Alat yang dibutuhkan namun tidak tersedia dalam kit yaitu timer, lancet untuk pengambilan darah.

Peringatan untuk penggunaan in vitro diagnostic:

1. Lembar petunjuk penggunaan harus dibaca sebelum melakukan pemeriksaan. Kesalahan dalam prosedur dapat menyebabkan hasil yang tidak sesuai/ salah.
2. Jangan membuka sealed reagensia bila tidak akan digunakan.
3. Jangan gunakan reagen yang telah kadaluarsa.
4. Sesuaikan reagen dengansuhu ruang ( 15-30<sup>0</sup> C) bila akan digunakan.
5. Jangan menggunakan serum darah yang hemolisis.
6. Gunakan Alat pelindung diri apabila akan bekerja. Cuci tangan sesudah melakukan pengujian.
7. Jangan minum, makan, merokok di area pengujian
8. Negatif dan positif kontrol harus tetap diperlakukan sebagai bahan berisiko infeksius.
9. Pipet yang telah digunakan dibuang melalui proses dekontaminasi.
10. Hasil tes dapat segera dibaca setelah 15 menit. Pembacaan lebih dari 15 menit dapat menyebabkan hasil tidak sesuai.

Persiapan reagensia dan penyimpanan

- a. Semua reagensia sudah siap untuk digunakan
- b. Penyimpanan reagensia pada suhu 2-30<sup>0</sup>C bila tidak digunakan.
- c. Bila disimpan pada suhu 2-8 <sup>0</sup>C, maka pada saat akan digunakan harus dikeluarkan dari suhu tersebut dan disesuaikan dengan suhu ruang sebelum akan digunakan.
- d. Cassete reagensia akan stabil sampai batas waktu kadaluarsa.
- e. Reagensia jangan disimpan beku atau di atas suhu 30<sup>0</sup>C.

Spesimen

Plasma :

- a. Pengambilan specimen darah dapat digunakan vacutainer dengan antikoagulan EDTA, sitrat, heparin.

- b. Separasikan plasma menggunakan sentrifuge.
- c. Pisahkan plasma dan pisahkan dalam tabung dan di label.

#### Serum

- a. Pengambilan specimen darah dapat digunakan vacutainer tanpa antikoagulan.
- b. Diamkan sampai terbentuk bekuan.
- c. Separasikan serum menggunakan sentrifuge.
- d. Pisahkan serum dan pisahkan dalam tabung dan di label.

#### Penyimpanan

- a. Bila tidak langsung diperiksa, maka disimpan 2-8<sup>0</sup> C selama 5 hari.
- b. Bila disimpan -20<sup>0</sup>C, dalam waktu yang lebih lama.
- c. Hindari untuk proses beku cair,
- d. Jangan gunakan specimen yang lipemik, hemolisis, untuk menghindari hasil yang tidak sesuai.

#### Darah

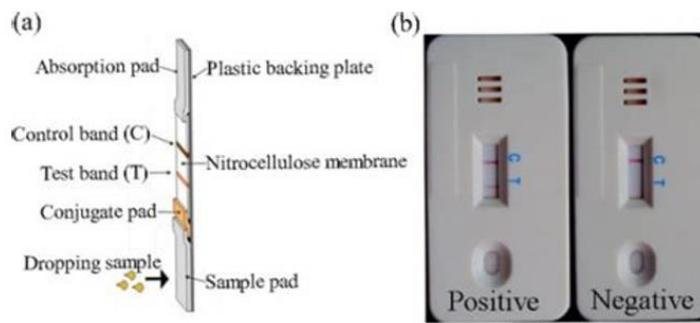
Darah yang dapat diambil dari kapiler atau vena.

Jangan gunakan darah yang hemolisis untuk pengujian.

Darah dapat disimpan pada refrigerator ( 2-8<sup>0</sup>C). Masa penyimpanan spesimen adalah 24 jam dan harus sudah dilakukan pemeriksaan.

#### Prosedur pemeriksaan ( menyesuaikan dengan kit insert yang digunakan )

1. Bila specimen dan reagensia disimpan pada refrigerator, maka disesuaikan terlebih dahulu dengan suhu ruang sebelum dilakukan pengujian.
2. Letakkan cassette pada permukaan yang datar dan bersih.
3. Teteskan secara vertical sebanyak 1 tetes ( 30-45 uL) dari serum/plasma atau 1 tetes ( 40-50 uL) bila menggunakan specimen darah. Hindari terbentuknya gelembung. Selanjutnya teteskan sebanyak 1 tetes ( 30-45 uL) pengencer sampel ke sumur specimen.
4. Setel waktu selama 15 menit
5. Hasil dapat dibaca setelah 15 menit.



Gambar 66. Interpretasi Hasil pemeriksaan

## Latihan

**Untuk dapat memperdalam pemahaman Anda mengenai materi di atas, kerjakanlah Latihan berikut!**

- 1) Dalam perkembangan teknik pemeriksaan serologi maka teknik imunokromatografi saat ini menjadi salah satu alternatif yang dapat digunakan dalam diagnostik penyakit. Jelaskan yang dimaksud dengan teknik imunokromatografi tersebut.
- 2) Berikan contoh aplikasi penggunaan pada diagnostik penyakit.
- 3) Jelaskan prinsip kerja teknik imunokromatografi.
- 4) Sebutkan komponen pada sistem teknik imunokromatografi ini.
- 5) Pada pemilihan reagensia ICT, salah satunya yang harus diketahui adalah karakteristik reagensia, yaitu sensitifitas analitik dan diagnostik serta spesifisitas analitik dan diagnostik. Jelaskan masing-masing istilah tersebut

## Ringkasan

1. Immunoassay berlabel telah meningkatkan sensitifitas dalam mendeteksi antibodi maupun antigen apabila dibandingkan dengan immunoassay tidak berlabel (aglutinasi) yang dibahas sebelumnya.
2. Assay berlabel awalnya adalah Radio Immuno Assay dan saat ini mulai banyak digantikan oleh immunoassay enzim (ELISA, EIA) fluorescen (IFA), Chemiluminescence (CMIA) dan saat ini yang banyak berkembang Immunokromatografi Teknik (ICT).

3. Saat ini hasil imunokromatografi dilaporkan secara kualitatif ( Positif-negatif) atau ( Reaktif- non reaktif) dan diamati secara makroskopik.

## Tes 1

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

- 1) Seorang ibu terdiagnosis dengan infeksi sekunder Dengue. Antibodi apakah yang harus diperiksa dalam kondisi tersebut?
- A. Ig A
  - B. Ig D
  - C. Ig E
  - D. Ig G
  - E. Ig M
- 2) Pada pemeriksaan anti HIV metode ICT dapat digunakan beberapa bahan pemeriksaan. Bahan pemeriksaan yang tidak tepat untuk pemeriksaan di atas adalah ....
- A. Serum
  - B. Urin
  - C. Plasma EDTA
  - D. Plasma sitrat
  - E. Plasma heparin
- 3) Diketahui kit ICT untuk pemeriksaan anti HIV mempunyai nilai sensitivitas dan spesifisitas sebagai berikut :
- Kit A : sensitivitas 98% dan spesifisitas 99 %
  - Kit B : sensitivitas 99,5 % dan spesifisitas 98%
  - Kit C : sensitivitas 98 % dan spesifisitas 100%
  - Kit D : sensitivitas 99 % dan spesifisitas 99 %
  - Kit E : sensitivitas 98,5 % dan spesifisitas 98,5 %
- Manakah reagen yang dapat digunakan untuk pemeriksaan anti HIV strategi satu ?
- A. Kit A dan kit C
  - B. Kit B dan kit D
  - C. Kit C dan kit E
  - D. Kit A dan kit B
  - E. Kit D dan kit E

- 4) Bahan desinfektan yang tepat untuk limbah cairan dari pemeriksaan serologi adalah....
- A. Hipoklorit 1 %
  - B. Hipoklorit 5 %
  - C. Hipoklorit 10 %
  - D. Lysol 5 %
  - E. Lysol pekat
- 5) Peran laboratorium dalam melakukan surveilans terhadap HIV adalah dengan melakukan pemeriksaan anti HIV strategi 2 WHO. Diketahui kit ICT untuk pemeriksaan anti HIV mempunyai nilai sensitivitas dan spesifisitas sebagai berikut :
- Kit A : sensitivitas 98 % dan spesifisitas 99 %
  - Kit B : sensitivitas 99,5 % dan spesifisitas 97 %
  - Kit C : sensitivitas 98 % dan spesifisitas 100 %
  - Kit D : sensitivitas 99 % dan spesifisitas 99 %
  - Kit E : sensitivitas 98,5 % dan spesifisitas 98,5 %
- Manakah reagen yang dapat digunakan untuk pemeriksaan anti HIV strategi dua ?
- A.Kit A
  - B.Kit B
  - C.Kit C
  - D.Kit D
  - E.Kit E
- 6) Ahli teknologi laboratorium medik menerima sampel dengan blanko permintaan pemeriksaan dari petugas pengambil spesimen. Untuk menghindari kesalahan data dan sampel , ATLM tersebut harus mengerti tata urutan penerimaan specimen
- Hal apakah yang pertama kali harus diverifikasi.....
- A. Identitas pasien
  - B. Kesesuaian spesimen
  - C. Parameter pemeriksaan
  - D. Jam pengambilan sampel
  - E. Tanggal penerimaan specimen

# Topik 2

## Pemeriksaan metode Imunokromatografi Test (ICT) untuk deteksi antigen

### A. UJI KEHAMILAN (PREGNANCY TEST)

Beberapa merk kit reagen ICT dapat digunakan untuk mendeteksi hormon hCG (human Chorionic Gonadotropin) dalam urin secara kualitatif dengan metode imunokromatografi yang cepat dan sensitif guna membantu diagnosa kehamilan lebih dini. Hormon hCG merupakan suatu substansi protein pada wanita yang diproduksi segera setelah terjadinya fertilisasi (pembuahan). Hormon ini dibentuk oleh trofoblast dan akan meningkat pada hari 9-12 sejak ovulasi. Pada kehamilan dini kadar hCG pada kadar 0.1 IU/mL dan meningkat mencapai puncak pada hari 60-70 kehamilan. Penetapan kadar hCG dalam urin berfungsi sebagai indikator kehamilan. Selain itu hCG berfungsi dalam mempertahankan korpus luteum (merupakan jaringan di ovarium yang menghasilkan progesteron). Progesteron berfungsi untuk memelihara dan mempertahankan proses kehamilan.

Hal-hal yang dapat mengganggu pemeriksaan :

1. Proteinuria yang menyebabkan inaktivasi anti-hCG.
2. Penyakit imunologi yang menyebabkan reaksi positif palsu akibat adanya interaksi antara IgM dengan reagen.
3. Kadar LH tinggi (rangsangan pada hipofise anterior atau penggunaan obat penenang) menyebabkan reaksi positif palsu.
4. Pasca ooforectomi, menopause, hipotiroidisme atau gagal ginjal dapat menunjukkan hasil positif palsu.

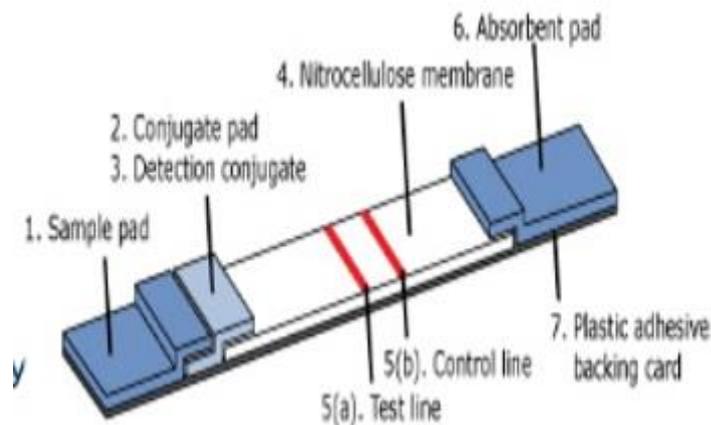
Substansi lain yang juga diproduksi oleh wanita hamil adalah:

1. Follicle Stimulating Hormone (FSH) yang berperan menjaga perkembangan ovum sebelum ovulasi.
2. Luteinizing hormone (LH), bertanggung jawab dalam ovum dari ovarium untuk siap dibuahi.

### Prinsip

Strip merupakan bantalan penyerap specimen, membran dan bantalan penyerap sisa reaksi. Bantalan penyerap specimen mengandung antibodi monoklonal Mouse- anti hCG yang dikonjugasi dengan zat warna Colloidal Gold. Zona test pada daerah membran diikat dengan antibodi Goat anti hCG dan zona kontrol dengan Goat anti mouse IgG.

Selama proses berlangsung, specimen urin dihisap oleh bantalan penyerap specimen dan mengalir melewati daerah membrane sampai mencapai bantalan penyerap sisa reaksi dengan gaya kapiler. Di dalam bantalan penyerap specimen, hCG dalam specimen urin akan diikat oleh gold conjugate, membentuk kompleks kemudian bergerak menuju daerah membran. Antibodi Goat anti-hCG, yang terikat pada zona test akan menangkap kompleks tersebut, membentuk sebuah garis berwarna merah muda yang menunjukkan adanya hCG dalam specimen urin. Tidak terbentuknya garis pada zona tes tersebut menunjukkan tidak terdeteksinya hCG dalam specimen urin. Sebuah garis berwarna merahmuda yang tampak pada zona kontrol memastikan bahwa Pregna strip berfungsi baik.



Gambar 67. Komponen tes ICT dengan prinsip *lateral flow*

Keterangan :

1. Tempat untuk mencelupkan specimen
2. Bagian yang ditemplei dengan conjugate
3. Bagian untuk mendeteksi conjugate
4. Membran nitroselulosa
5. Garis tes dan garis kontrol
6. Bantalan penyerap
7. Plastik penyerap di bagian bawah strip.

**Material yang disediakan dalam kit:**

Strip yang terbungkus dalam kemasan aluminium foil yang dilengkapi dengan pengering silica gel.

Lembar petunjuk pemakaian

Alat yang dibutuhkan namun tidak tersedia dalam kit yaitu wadah penampung urin.

### **Peringatan**

1. Strip hanya digunakan untuk pemeriksaan invitro
2. Strip yang sudah kadaluarsa tidak boleh digunakan.
3. Strip disimpan pada suhu 4-28<sup>o</sup>C , namun pada saat pemeriksaan suhunya harus sama dengan suhu ruang (20-30<sup>o</sup>C)
4. Jangan membuka pembungkus pregna strip sebelum tes siap untuk dilakukan.

### **Pengumpulan dan penyimpanan specimen**

Gunakan wadah gelas atau plastik untuk menampung specimen urin. Spesimen urin yang dikumpulkan sewaktu dapat dipakai untuk pengetesan, namun urin pagi menjadi lebih baik digunakan karena mengandung konsentrasi hCG lebih tinggi. Apabila tes tidak dapat dilakukan dengan segera, specimen urin dapat disimpan pada suhu 2-8 <sup>o</sup>C selama 72 jam. Sebelum dites, specimen urin tersebut harus disesuaikan suhunya dengan suhu ruangan, Apabila ada endapan yang jelas pada specimen urin maka specimen urin tersebut harus disaring, disentrifugasi atau dibiarkan mengendap untuk mendapatkan bagian yang jernih ( supernatant) untuk pengetesan. Apabila akan dilakukan pengiriman maka specimen dibawa diawetkan dengan trimersol atau sodium azide.

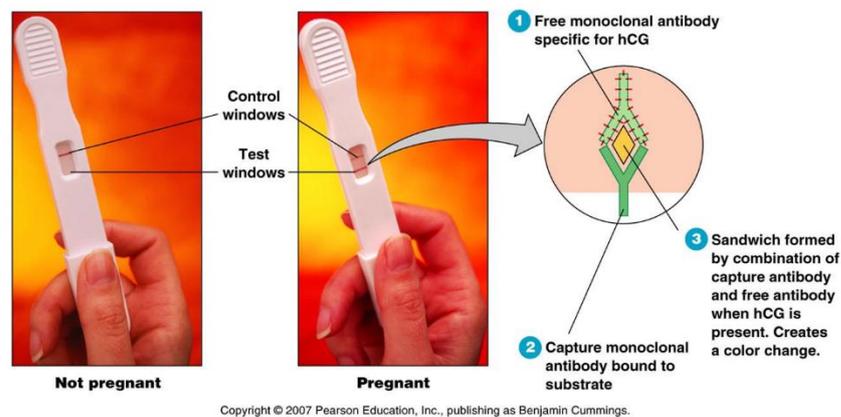
### **Prosedur pengujian**

1. Buka pembungkus Strip
2. Celupkan strip ke dalam wadah yang berisi specimen urin sampai tanda batas garis maksimum di bawah tanda panah.
3. Biarkan urin mengalir membasahi seluruh permukaan membran (30-60 detik) kemudian letakkan strip pada permukaan yang datar dan tunggu selama 2 menit untuk membaca hasil tes.

### **Pembacaan hasil**

Jangan membaca hasil tes lebih dari 3 menit dari waktu pengetesan.

1. Positif : muncul warna merah muda pada garis tes dan garis kontrol. Hasil ini menunjukkan positif hamil atau konsentrasi hCG dalam specimen urin yang diperiksa sama atau lebih besar dari batas sensitivitas tes ( $\geq 25$  mIU/mL)
2. Negatif : tidak muncul warna pada tes.
3. Invalid: tidak tampak garis merah pada zona tes atau zona kontrol atau hanya muncul warna merah muda di garis tes. Kemungkinan petunjuk pemakaian tidak diikuti dengan baik atau strip tidak berfungsi baik. Dalam hal ini specimen harus diulang pemeriksaan menggunakan strip yang baru.



**Gambar 68.** Contoh hasil pemeriksaan uji kehamilan

Karakteristik tes

### Sensitivitas :

Pregna strip dapat mendeteksi hCG dalam urin pada konsentrasi  $\geq 25$  mIU/mL. Pengujian sensitivitas hCG dilakukan pada konsentrasi lebih rendah dengan cara menambahkan hCG hingga konsentrasi 0,20,25,50 dan 100 mIU/mL ke dalam masing-masing specimen urin dari 60 wanita yang tidak hamil. Total specimen urin yang digunakan untuk pengujian sensitivitas adalah 300 dan dari hasil tes tersebut didapat seperti tabel di bawah ini :

hCG yang ditambahkan ke dalam specimen urin wanita yang tidak hamil (mIU/ml)	Hasil dari 60 spesimen yang dites		
	Positif	Meragukan	Negatif
0	0	0	60
20	0	3	57
25	60	0	0
50	60	0	0
100	60	0	0

### Spesifisitas

Spesifisitas Pregna strip ditentukan dengan cara mempelajari reaksi silang terhadap hL (Luteinizing hormone), hFSH (Follicle Stimulating Hormone) dan hTSH (Thyroid Stimulating Hormon). Hasil tes negative pada konsentrasi hLH 200 mIU/mL, hFSH dan hTSH 1000 mIU/mL.

### Pengujian terhadap zat pengganggu

Pengujian terhadap zat dengan konsentrasi tertentu di bawah ini bila ditambahkan ke dalam specimen urin yang mengandung 0 dan 25 mIU/mL hCG ternyata tidak mengganggu hasil tes dengan Pregna strip.

Asetaminofen	20 mg/dL	Glukosa	2000 mg/dL
Asam asetilsalisilik	20 mg/dL	Kafein	20 mg/dL
Asam askorbat	20 mg/dL	Parasetamol	20 mg/dL
Atropin	20 mg/dL	Protein	2000 mg/dL
Etanol	4000 mg/dL	pH	5-9

## B. PEMERIKSAN NS1 Antigen Dengue

### Pendahuluan

Pemeriksaan NS1 Ag Dengue digunakan bila muncul gejala klinis berupa demam pada hari ke 1-9. Tetapi pada hari ke 5 timbul pada umumnya mulai terbentuk IgM yang mungkin dapat menghambat reaksi. Pemeriksaan ini dapat mendeteksi virus dengue paling baik pada hari ke 1-4. Setelah hari ke 4 kadar NS1 antigen akan menurun dan akan hilang pada hari ke 9. Apabila pengambilan dilakukan setelah munculnya antibodi maka kadar virus dengue akan menurun. Diperlukan ketepatan dalam pemilihan waktu dan jenis pemeriksaan.

Prinsip :

Pada SD Bioline Dengue NS1 Antigen test dilapisi oleh 2 garis yaitu garis Test dan garis Kontrol. Garis tersebut belum dapat terlihat jika belum ditambahkan oleh sampel. Garis pada kontrol harus selalu muncul, hal itu menunjukkan bahwa prosedur tes dilakukan dengan benar (valid). Dengue NS1 antigen dapat mendeteksi antigen NS1 virus dengue dalam serum, plasma atau whole blood dengan sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi.

Bahan Pemeriksaan : Serum

Prosedur test ( sesuai dengan manual kit instruction yang digunakan)

1. Disiapkan alat dan bahan
2. Buka strip Dengue NS1 antigen
3. Diteteskan serum sebanyak 3 tetes (100  $\mu$ l) dengan menggunakan pipet tetes
4. Baca hasil, hasil tidak boleh dilaporkan lebih dari 20 menit

Interpretasi hasil :

- Negatif : tidak muncul warna merah muda pada garis pada tes dan dinyatakan valid bila pada garis pada kontrol berwarna merah muda.
- Positif : garis tes berwarna merah muda dan dinyatakan valid bila pada garis pada kontrol berwarna merah muda.
- Invalid : Bila tidak muncul warna merah muda pada garis pada kontrol

Contoh hasil positif : Adanya garis berwarna merah muda pada tes dan garis kontrol sebagai validasi reagen.



Gambar 69. Contoh hasil positif

### C. PEMERIKSAAN HBsAg

Hepatitis B adalah penyakit infeksi yang disebabkan oleh virus hepatitis B (HBV), yang mempengaruhi sekitar 5% populasi manusia di berbagai wilayah. Penyakit ini bisa terlihat tidak ada gejala, akut (dengan kasus hepatitis fulminan dan kematian), atau hepatitis kronis dengan kemungkinan degenerasi menjadi sirosis dan atau karsinoma hepatoselular dan kematian.

Penyakit ini biasa menular melalui pertukaran cairan tubuh antara individu sehat dan yang terinfeksi. Cara penularan bisa melalui jalur parenteral (serum yang terinfeksi, olahan darah, transfuse darah, dll), atau non parenteral (saliva, air mata, keringat, urin, semen, luka di kulit, dll).

Sejak ditemukannya antigen Australia oleh Blumberg tahun 1965, banyak penelitian dilakukan mengenai antigen ini dan hubungannya dengan penyakit hati. Saat ini antigen tersebut dikenal dengan *Hepatitis B surface Antigen* (HBsAg), yaitu suatu partikel yang merupakan lapisan permukaan virus hepatitis B. Hoofnagle yang mengutip Dane menggambarkan virus hepatitis B sebagai partikel Dane yang terdiri atas inti yang disebut *Hepatitis B core antigen* (HBcAg) dan suatu komponen yang melapisi permukaannya yang disebut HBsAg. Di dalam darah terdapat lebih banyak HBsAg yang bebas daripada partikel Dane sendiri. Beberapa antigen virus Hepatitis B adalah HBcAg, HBeAg, dan HBsAg. Sebagai akibat adanya antigen ini, juga menimbulkan antibodi dalam darah yang ditujukan terhadap masing-masing jenis antigen tersebut. Baik Antigen maupun antibodi merupakan seromarker Hepatitis B dan penetapannya dapat digunakan dalam menyatakan infeksi VHB dan perjalanan penyakitnya. Seromarker yang dapat ditetapkan dalam darah yaitu HBsAg, HBcAg, HBeAg, anti-HBs, anti-HBe, dan anti-HBc, sedangkan HBcAg hanya dapat ditemukan dalam hepatosit.

Pada Hepatitis akut, HBsAg ditemukan dalam serum sejak akhir masa inkubasi, kemudian kadarnya akan menurun pada saat penyembuhan. Menetapnya HBsAg dalam darah melebihi jangka waktu 6 bulan merupakan petunjuk hepatitis menjadi kronik atau penderita menjadi *carrier*. Anti HBs tidak muncul selama fase akut, tetapi mulai dapat dideteksi pada waktu konvalescen. Munculnya anti-HBs dinilai sebagai parameter penyembuhan atau imunitas. Sedangkan bila ditemukan HBsAg telah menghilang, sedangkan anti HBs belum dapat dideteksi yang disebut dengan *window period*.

Anti-HBc timbul dalam darah pada permulaan penyakit dan biasanya dijumpai bersama-sama HBsAg. Ditemukannya Anti-HBs dan anti-HBc dalam serum secara bersama-sama tanpa ditemukannya HBsAg menunjukkan seseorang telah sembuh, demikian juga bila ditemukan anti-HBs tanpa anti-HBc dapat berarti infeksi telah lama berlalu atau penderita telah mendapat vaksinasi.

Prinsip :

Pada HBsAg tes, strip membrane nitroselulosa dilapisi oleh 2 garis yaitu garis Test dan garis Kontrol. HBsAg dalam serum atau plasma bereaksi dengan colloidal gold- anti HBs conjugate pada garis tes. Garis tersebut belum dapat terlihat jika belum ditambahkan oleh sampel. Garis pada kontrol harus selalu muncul, hal itu menunjukkan bahwa prosedur tes dilakukan dengan benar (valid).

Bahan Pemeriksaan : Serum/ plasma

Bila akan ditunda maka simpan pada suhu 2-8<sup>0</sup> C. Penyimpanan lebih dari 3 hari dapat dilakukan pada suhu yang lebih rendah ( freezer).

Deteksi limit : 1 ng/mL

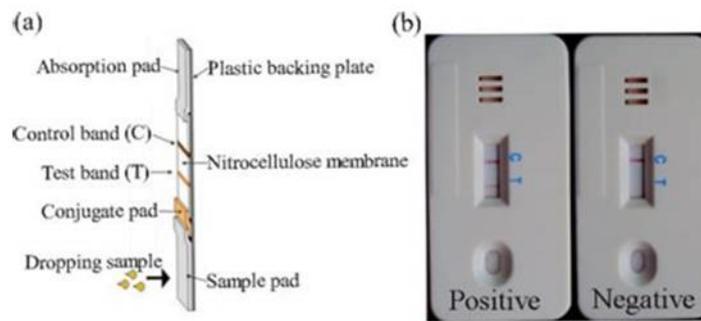
Prosedur test ( sesuai dengan manual kit instruction yang digunakan)

1. Disiapkan alat dan bahan
2. Buka strip HBs Ag
3. Diteteskan serum/ plasma sebanyak 3 tetes (100 µl) dengan menggunakan pipet tetes/ mikropipet.
4. Setelah 20 menit, dibaca hasil pemeriksaan dan hasil tidak boleh dilaporkan lebih dari 20 menit

#### **Peringatan**

1. Strip hanya digunakan untuk pemeriksaan invitro diagnostik
2. Strip yang sudah kadaluarsa tidak boleh digunakan.
3. Strip disimpan pada suhu 4-28<sup>0</sup>C , namun pada saat pemeriksaan suhunya harus sama dengan suhu ruang (20-30<sup>0</sup>C)
4. Jangan membuka pembungkus strip sebelum tes siap untuk dilakukan.
5. Gunakan Alat pelindung diri dan lakukan cuci tangan sesudah menyelesaikan pemeriksaan.
6. Hindari kontak dengan mata, kulit yang luka, dan membran mukosa.
7. Semua bahan tes dan material dibuang pada container biohazard.

Interpretasi hasil :



Gambar 70. Interpretasi hasil ICT

## Latihan

Untuk dapat memperdalam pemahaman Anda mengenai materi di atas, kerjakanlah Latihan berikut!

- 1) Tuliskan prinsip pemeriksaan NS1 Ag metode ICT
- 2) Jelaskan prinsip lateral flow ICT
- 3) Jelaskan cara melakukan validasi reagensia ICT

## Ringkasan

1. Tujuan melakukan suatu pemeriksaan antara lain untuk uji saring, diagnostic dan evaluasi hasil pengobatan sera surveilan. Tiap tujuan pemeriksaan membutuhkan sensitivitas dan spesifisitas yang berbeda-beda, sehingga perlu dipilih metode yang sesuai karena setiap metode mempunyai sensitivitas dan spesifisitas yang berbeda-beda.
2. Pada ICT, sensitivitas dan spesifisitas dapat ditingkatkan, namun beberapa faktor dapat mempengaruhi validasinya, sehingga setiap assay harus dievaluasi bersamaan dengan gambaran klinis pasien lainnya.
3. Enzyme Immuno Assay (EIA), diantaranya immunokromatografi dapat digunakan untuk menentukan antigen ataupun antibodi, bila salah satunya diketahui.
4. Substrat kromogenik pada ICT disebut colloidal gol

## Tes 2

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

- 1) Seorang wanita berumur 34 tahun mengalami keterlambatan menstruasi selama 5 hari. Ia ingin mengetahui apakah ia hamil. Apakah specimen terbaik untuk uji kehamilan?
- A. Urin pagi
  - B. Urin 24 jam
  - C. Urin nuchter
  - D. Urin sewaktu
  - E. Urin midstream
- 2) Seorang wanita berumur 35 tahun datang ke laboratorium membawa surat pengantar untuk tes kehamilan. Setelah dilakukan pemeriksaan urin pada wanita tersebut dengan metoda rapid test didapatkan hasil: garis kontrol = tidak terlihat warna, garis test = tidak terlihat warna. Apakah hasil test kehamilan wanita tersebut?
- A. Hasil valid : negatif
  - B. Hasil valid : positif
  - C. Hasil valid : positif palsu
  - D. Hasil valid : negatif palsu
  - E. Hasil invalid tidak dapat disimpulkan.
- 3) Pada penghitungan nilai spesifisitas dari suatu reagen HBs Ag diperoleh data sebagai berikut :

		HBs Ag X		Total
		Positif	Negatif	
Reference ELISA	Positif	150	1	151
Kit	Negatif	1	59	60
	Total	151	60	221

Berapakah nilai spesifisitas reagen HBs Ag tersebut ?

- A. 68.3 %
- B. 78.3 %

- C. 88.3 %
- D. 98.3 %
- E. 99.3 %

4) Pada penghitungan nilai sensitivitas dari suatu reagen HBs Ag diperoleh data sebagai berikut :

		HBs Ag X		Total
		Positif	Negatif	
Reference ELISA	Positif	150	1	151
Kit	Negatif	1	59	60
	Total	151	60	221

Berapakah nilai spesifisitas reagen HBs Ag tersebut ?

- A. 68.3 %
- B. 78.3 %
- C. 88.3 %
- D. 98.3 %
- E. 99.3 %

5) Stabilitas spesimen serum untuk pemeriksaan serologi bila disimpan di suhu 2-8 °C adalah selama ....

- A. 1 hari
- B. 3 hari
- C. 7 hari
- D. 14 hari
- E. 20 hari

# Kunci Jawaban Tes

## Test Formatif 1

- 1) D.
- 2) B.
- 3) B.
- 4) B.
- 5) D.
- 6) A.

## Test Formatif 2

- 1) A
- 2) E.
- 3) D.
- 4) E.
- 5) C.

# Glosarium

Imunokromatografi : teknik untuk memisahkan dan mengidentifikasi antigen atau antibodi yang terlarut dalam sampel.

Sensitivitas analitik : dapat diartikan sebagai batas deteksi , yaitu kadar terendah dari suatu analit yang dapat dideteksi oleh suatu metode.

Spesifisitas analitik : berkaitan dengan kemampuan dan akurasi suatu metode untuk memeriksa suatu analit tanpa dipengaruhi zat-zat lain.

Sensitivitas klinis : Positivitas diantara yang berpenyakit ( persentase hasil positif sejati diantara pasien –pasien yang berpenyakit). Sensitivitas yang baik apabila mendekati nilai 100%. Pemeriksaan dengan sensitivitas yang tinggi terutama dipersyaratkan pada pemeriksaan untuk tujuan skrining.

Spesifisitas klinis : persentase hasil negatif sejati diantara pasien-pasien yang sehat.

# Daftar Pustaka

Abbas, Abul,K, 2010, Basic Immunology: Functions and disorders of the immune system, five edition,Saunders,.

Baratawidjaja, KG, 2009, Imunologi Dasar edisi ke 8 , Balai Penerbit,FKUI, Jakarta.

Kresna, SB, 2009, Imunologi: Diagnosis dan Prosedur Laboratorium, Balai Penerbit FKUI, Jakarta.

Mengko, Richard (Ed.) 2013, Instrumentasi Laboratorium Klinik, Penerbit ITB, Bandung.

Playfair,J.H.L and Chain,B.M, , 2012, Immunology At a Glance, edisi kesembilan; alih bahasa Winardini, Erlangga, Jakarta,

Roitt, Ivan etc, , 2008, Immunology, seventh edition, Elsevier.

Rittenhouse-Olson, Kate: 2017Imunologi dan Serologi Klinis Modern: untuk kedokteran dan analis kesehatan (MLT/CLT) ; alih bahasa , Dian Ramadhani ....[et al.], EGC, Jakarta.

Depkes RI, 2004, Ditjen Pelayanan Medik, Pedoman Laboratorium yang benar.

Manual Kit instruction Uji kehamilan ICT

Manual Kit instruction NS 1 Ag ICT

Manual Kit instruction HBsAg ICT

Manual Kit instruction anti HIV1/2 ICT

Manual Kit instruction onsite IgM dan IgG TB

Manual Kit instruction anti IgM dan IgG Dengue

# Bab 9

## PEMERIKSAAN DENGAN PRINSIP ELISA/ECLIA

*Nina Marlina, S.Pd, M.Biomedik.*

### Pendahuluan

**E**nzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) merupakan pemeriksaan antigen atau antibodi menggunakan prinsip reaksi antigen dan antibodi yang bersifat spesifik. Untuk deteksi antigen atau antibodi yang lemah (sedikit) maka teknik yang lazim (standar) kurang peka. Penggunaan enzim sebagai katalisator reaksi kimia dapat meningkatkan kepekaan. Enzim yang mengubah substrat akan menghasilkan produk yang berlipat ganda. Antigen atau antibodi yang dilabel dengan enzim dapat direaksikan dengan substrat kromogenik membentuk warna sebagai indikator reaksi. Deteksi dilakukan secara visual atau dengan alat spektrofotometri dapat dilakukan. Penggunaan ELISA adalah untuk antigen atau antibodi yang diberi bentuk fase padat (solid phase).

Fase padat dapat digunakan :

1. Plastik, contoh : polystyrene dilapiskan dalam bentuk butir/partikel (beads), tabung atau dinding sumur ;
2. Batang gelas, *frosted glass beads, micro beads, sepharosa*.
3. Lembaran nitro selulosa, nylon atau kertas yang diaktifkan untuk imuno assay.

Metode-metode :

#### 1) Indirect techniques

Untuk deteksi antibodi spesifik dalam sampel.

- Antigen direkatkan pada fase padat + Antibodi (dalam sampel), inkubasi, cuci.
- Anti Immunoglobulin yang dilabel enzim ditambahkan, inkubasi, cuci.
- Retensi enzim diukur dengan menambahkan substrat.
- Aktivitas enzim berbanding lurus dengan konsentrasi antibodi dalam sampel.

Untuk deteksi Ig M gunakan anti Ig M (Class Capture Assay)

- Fase padat dilapisi anti Ig M.
- Tambah sampel, inkubasi, cuci.

- Tambah antigen (eq. Ag Rubella), inkubasi, cuci.
- Tambah antibodi yang dilabel enzim, inkubasi, cuci.
- Ukur aktivitas enzim yang tinggal dengan penambahan substrat.
- Aktivitas enzim berbanding lurus dengan kadar antibodi Ig M.

## 2) Sandwich Assay

- Antibodi imobilisasi pada fase padat.
- Sampel ditambahkan, inkubasi, cuci.
- Tambah antibodi yang dilabel enzim, inkubasi, cuci.
- Aktivitas enzim yang terikat diukur dengan penambahan substrat.
- Aktivitas enzim yang tinggal berbanding lurus dengan kadar antigen dalam sampel.

## 3) Competitive binding techniques

- Antigen direkatkan pada solid phase.
- Antibodi dalam sampel ditambahkan, inkubasi, cuci.
- Antibodi yang dilabel enzim ditambahkan, inkubasi, cuci.
- Aktivitas enzim yang terikat diukur dengan penambahan substrat.
- Aktivitas enzim yang terikat berbanding terbalik dengan kadar antibodi dalam sampel

Pada Bab 9 ini kita akan mempelajari mengenai ruang lingkup pemeriksaan dengan prinsip ELISA/ECLIA. Pelajarilah dengan seksama Bab 4 ini. Setelah mempelajari bab ini, mahasiswa akan mampu :

15. Menjelaskan pemeriksaan HBsAg metode sandwich ELISA
16. Menjelaskan pemeriksaan anti HIV metode indirect ELISA
17. Menjelaskan pemeriksaan antibodi Ig G / Ig M Rubella metode capture ELISA
18. Menjelaskan pemeriksaan Ig M Salmonella typhi O9 metode IMBI
19. Menjelaskan pemeriksaan Ig E dengan metode ECLIA

Manfaat mempelajari bab ini adalah membantu Anda untuk dapat memahami lebih dalam tentang prinsip, cara kerja, cara pembacaan, validasi dari pemeriksaan antigen atau antibodi berbagai metode ELISA/ECLIA sebagai dasar dalam upaya memahami pemeriksaan imunologi.

Agar memudahkan Anda mempelajari bab ini, maka materi yang akan dibahas terbagi menjadi 5 topik, yaitu:

1. Pemeriksaan HBsAg metode *sandwich* ELISA
2. Pemeriksaan anti HIV metode *indirect* ELISA
3. Pemeriksaan antibodi Ig G / Ig M Rubella metode *capture* ELISA
4. Pemeriksaan Ig M Salmonella typhi O9 metode IMBI

## 5. Pemeriksaan Ig E metode ECLIA

Selanjutnya agar Anda berhasil dalam mempelajari materi yang tersaji dalam Bab 9 ini, perhatikan beberapa saran sebagai berikut :

- a. Pelajari setiap topik materi secara bertahap
- b. Usahakan mengerjakan setiap latihan dengan tertib dan sungguh-sungguh.

Kerjakan tes yang disediakan dan diskusikan bagian-bagian yang sulit Anda pahami dengan teman sejawat atau tutor, atau melalui pencarian di internet.

# Topik 1

## Pemeriksaan ELISA untuk deteksi Antigen Pemeriksaan HBsAg

- Antigen permukaan virus hepatitis B (hepatitis B surface antigen, HBsAg) merupakan suatu antigen dari bagian luar / permukaan virus Hepatitis B.
- Bagian permukaan / *envelope* ini merupakan bagian yang melindungi virus Hepatitis B dari serangan sistem imun manusia. Virus Hepatitis B (VHB) adalah suatu virus yang termasuk keluarga Hepadnaviridae
- HBsAg merupakan petanda serologik infeksi virus hepatitis B pertama yang muncul di dalam serum dan mulai terdeteksi antara 1 sampai 12 minggu pasca infeksi, mendahului munculnya gejala klinik serta meningkatnya SGPT.
- Pada kasus yang akut, HBsAg akan hilang antara 3 sampai 6 bulan pasca infeksi sedangkan pada kasus kronis, HBsAg akan tetap terdeteksi sampai lebih dari 6 bulan.
- HBsAg positif yang persisten lebih dari 6 bulan didefinisikan sebagai pembawa (carrier). Sekitar 10% penderita yang memiliki HBsAg positif adalah carrier, dan hasil uji dapat tetap positif selama bertahun-tahun
- HBsAg positif dengan IgM anti HBc dan HBeAg positif menunjukkan infeksi virus hepatitis B akut.
- HBsAg positif dengan IgG anti HBc dan HBeAg positif menunjukkan infeksi virus hepatitis B kronis dengan replikasi aktif.  
HBsAg positif dengan IgG anti HBc dan anti-HBe positif menunjukkan infeksi virus hepatitis B kronis dengan replikasi rendah

Manfaat pemeriksaan HbsAg adalah

1. Diagnosa infeksi virus hepatitis B
2. Skrining darah di unit-unit transfusi darah
3. Digunakan pada evaluasi terapi hepatitis B kronis
4. Skrining kehamilan
5. Sebagai pemeriksaan skrining pra-vaksinasi Hepatitis B

Tujuan : Untuk mengetahui adanya HBsAg pada darah manusia yang dapat dideteksi dengan tehnik enzyme linked immunoassay (ELISA)

A.Prinsip : pencucian untuk menghilangkan pembungkus antigen terbentuk kompleks biotin dan streptavidin menghubungkan alkalin fosfat mengkatalisis hidrolis dan substrat menghasilkan fluoresensi, diukur pada panjang gelombang 450 nm. Intensitas dari fluoresensi sebanding dengan kualitas HBsAg pada serum

B. Metode : Sandwich ELISA

C. Bahan : Serum pasien

D. Reagen : Microelisa strip, wash buffer, larutan substrate, larutan conjugate, asam sulfat 2N

E. Alat : Mikropipet, tip kuning dan tip biru, tabung reaksi, tissue, seperangkat alat tes lainnya

F. Cara Kerja :

1. Siapkan microelisa strip sesuai dengan jumlah pemeriksaan
2. Pipet spesimen diluent 25 µl kedalam setiap sumur
3. Pipet sampel 100 µl masukan ke dalam sumur E1 dan seterusnya
4. Pipet kontrol negatif 100 µl, masukan ke dalam sumur A1, B1, C1
5. Pipet kontrol positif 100 µl masukkan ke sumur D1
6. Tutup dengan kertas seal, homogenkan plate secara perlahan
7. Inkubasi suhu 37°C selama 60 menit pada inkubator instrument
8. Tambahkan 50µl conjugated ke dalam setiap sumur yang berisi sampel atau kontrol
9. Inkubasi 37°C selama 60 menit pada inkubator instrument
10. Keluarkan dari inkubator, cuci 6x dengan washer instrument
11. Tambahkan 100 µl substrat ke dalam sumur yang berisi sampel/contoh
12. Inkubasi pada suhu kamar selama 30 menit
13. Tambahkan 100µl H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2N ke dalam setiap sumur yang berisi sampel/kontrol
14. Baca dengan reader instrument. Pembacaan dan interpretasi hasil meliputi pembacaan hasil, kualifikasi kontrol dan interpretasi hasil

Pemantapan Mutu

- Pemantapan mutu dilakukan sesuai dengan GLP (Good Laboratory Practice) disertai kurva kalibrasi untuk memverifikasi pemeriksaan yang dilakukan.

- Laboratorium harus melaksanakan prosedur pengendalian mutu yang sesuai untuk menjamin kualitas dan ketepatan semua aspek pekerjaan yang dilakukan dan dilaporkan . Bahan kontrol harus masuk ke dalam *acceptable range*.
- Validitas pemeriksaan harus dinilai terlebih dahulu sebelum hasil pemeriksaan dapat dibaca.Hindari penggunaan ulang *disposable tip* dan tempat penampung bahan pemeriksaan, karena penggunaan ulang tanpa pencucian yang sangat bersih menimbulkan *carry-over* dan memberikan hasil yang salah.

#### Elisa Reader

Yang perlu dikalibrasi :

- Linearitas alat
- Stabilitas pembacaan
- Ketepatan pembacaan
- Kalibrasi harus dilakukan:
- Pertama kali alat tersebut dipakai
- Setelah penggantian lampu
- Secara berkala untuk ketepatan pembacaan

Hal – hal yang harus diperhatikan

- Pengumpulan spesimen
- Penyimpanan dan penanganan spesimen
- Perlindungan diri
- Kondisi penyimpanan dan stabilitas reagen

## Latihan

**Untuk dapat memperdalam pemahaman Anda mengenai materi di atas, kerjakanlah Latihan berikut!**

1. Jelaskan prinsip pemeriksaan ELISA metode pada sandwich pemeriksaan HBsAg !
2. Jelaskan konjugat yang digunakan untuk pemeriksaan HBsAg tersebut !
3. Reagen apa yang digunakan untuk pencucian pada pemeriksaan tersebut ?
4. Warna apa yang timbul dari hasil pemeriksaan tersebut ?
5. Berapa panjang gelombang yang digunakan untuk mengukur warna hasil pemeriksaan tersebut ?

## Ringkasan

HBsAg merupakan petanda serologik infeksi virus hepatitis B pertama yang muncul di dalam serum dan mulai terdeteksi antara 1 sampai 12 minggu pasca infeksi. Fungsi dan Manfaat pemeriksaan HbsAg.

Diagnosa infeksi virus hepatitis B adalah

1. Diagnosa infeksi virus hepatitis B
2. Skrining darah di unit-unit transfusi darah
3. Digunakan pada evaluasi terapi hepatitis B kronis
4. Skrining kehamilan
5. sebagai pemeriksaan skrining pra-vaksinasi Hepatitis B

HBsAg dapat diperiksa menggunakan ELISA metode sandwich. Prinsip pemeriksaan adalah pencucian untuk menghilangkan pembungkus antigen terbentuk kompleks biotin dan streptavidin menghubungkan alkalin fosfat mengkatalisis hidrolis dan substrat menghasilkan fluoresensi, diukur pada panjang gelombang 450 nm. Intensitas dari fluoresensi sebanding dengan kualitas HBsAg pada serum

## Tes 1

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

1. Apa bahan pemeriksaan yang digunakan untuk pemeriksaan HBsAg ?
  - A. Darah.
  - B. Serum.
  - C. Plasma.
  - D. Cairan sendi.
  - E. Urin.
2. Apa metode yang digunakan untuk pemeriksaan HBsAg ?
  - A. Kompetitif.
  - B. Indirect.
  - C. Sandwich.
  - D. Capture.
  - E. ECLIA.
3. Tahapan yang penting pada pemeriksaan HBsAg adalah : ....

- A. Penambahan konjugat.
  - B. Pengeraman.
  - C. Pencucian.
  - D. Pengeraman dan pencucian.
  - E. Pembacaan pada ELISA reader.
4. Proses pemeriksaan HBsAg dilakukan pada fase padat menggunakan :
- A. Plastic tray.
  - B. Micro beads.
  - C. Kertas nilon
  - D. Frosted glass beads.
  - E. Tabung gelas.
5. Hasil ahir dari pemeriksaan HBsAg adalah :
- A. Terbentuk cairan yang berwarna.
  - B. Terbentuk cairan yang tidak berwarna.
  - C. Terbentuk pita pada kertas nilon.
  - D. Terbentuk dot pada kertas nilon.
  - E. Terbentuk fluorescen.
6. Cara pembacaan hasil pemeriksaan HBsAg diukur pada panjang gelombang :
- A. 700 nm.
  - B. 620 nm.
  - C. 540 nm.
  - D. 520 nm.
  - E. 450 nm.
7. Hasil positif pemeriksaan HBsAg adalah sebagai berikut :
- A.  $>$  cut off
  - B.  $\geq$  cut off
  - C.  $<$  cut off
  - D.  $\leq$  cut off
  - E. Daerah

## Topik2

# Pemeriksaan ELISA untuk deteksi Antibodi

## A. Pemeriksaan Anti HIV

HIV (*Human Immunodeficiency Virus*) adalah virus yang menyerang sistem kekebalan tubuh manusia dan melemahkan kemampuan tubuh untuk melawan penyakit. Kumpulan gejala penyakit akibat melemahnya sistem kekebalan tubuh inilah yang disebut *Acquired Immuno Deficiency Syndrome* (AIDS). Penyakit ini ditandai dengan adanya kelainan yang kompleks dari sistem pertahanan seluler tubuh dan menyebabkan korban menjadi sangat peka terhadap mikroorganisme oportunistik. Gangguan pada sistem kekebalan seluler akibat penyakit AIDS merupakan predisposisi bagi seorang individu untuk terjadinya neoplasia seperti Sarkoma Kaposi dan limfoma.

Pemberian anti retroviral (ARV) telah menyebabkan kondisi kesehatan para penderita menjadi jauh lebih baik. Infeksi penyakit oportunistik lain yang berat dapat disembuhkan. Namun obat-obat ini hanya berperan dalam menghambat replikasi virus tetapi tidak bisa menghilangkan virus yang telah berkembang.

Pemeriksaan antibodi menggunakan metode ELISA digunakan untuk mendeteksi antibodi yang dibuat tubuh terhadap virus HIV. Antibodi tersebut biasanya diproduksi mulai minggu ke 2, atau bahkan setelah minggu ke 12 setelah terpapar virus HIV.

Para ahli menganjurkan pemeriksaan ELISA dilakukan setelah minggu ke 12 sesudah melakukan aktivitas seksual berisiko tinggi atau tertusuk jarum suntik yang terkontaminasi.

Tes antibodi HIV ini terbagi dua tahap, yaitu tes Penyaringan dan tes Konfirmasi. Tes penyaringan dilakukan dengan metode ELISA dan tes konfirmasi dengan cara Western Blot. Hasil positif pada ELISA belum memastikan bahwa orang yang diperiksa telah terinfeksi HIV. Masih diperlukan pemeriksaan lain, yaitu Western Blot atau IFA, untuk mengkonfirmasi hasil pemeriksaan ELISA ini.

### ELISA Direct

Digunakan untuk mendeteksi dan mengukur konsentrasi antigen.

- . Pada ELISA direct, pertama microtiter diisi dengan sampel yang mengandung antigen yang diinginkan, kemudian microtiter dibilas untuk membuang antigen yang tidak menempel pada dinding lubang microtiter.
- . Antibodi yang telah ditautkan dengan enzim signal dimasukkan ke dalam lubang-lubang mikrotiter.
- . Ditambahkan substrat yang dapat bereaksi dengan enzim signal
- . Dihitung dengan menggunakan kolorimetri, chemiluminescent, atau fluorescent end-point.

### ELISA Indirect

Digunakan untuk mendeteksi dan mengukur konsentrasi antibodi

- Pada ELISA indirect, pertama microtiter diisi dengan larutan yang mengandung antigen spesifik,
- microtiter dibilas untuk membuang antigen yang tidak menempel pada dinding lubang microtiter.
- Kemudian larutan sampel yang mengandung antibodi yang diinginkan dimasukkan ke dalam lubang-lubang microtiter
- Mikrotiter kembali dibilas untuk membuang antibodi yang tidak berinteraksi dengan antigen spesifik
- Lalu ke dalam lubang microtiter dimasukkan larutan yang berisi antibodi sekunder spesifik tertaut enzim signal,
- Mikrotiter dibilas lagi untuk membuang antibodi sekunder tertaut enzim signal yang tidak berinteraksi dengan antibodi spesifik
- Ditambahkan substrat yang dapat bereaksi dengan enzim signal

#### ELISA Sandwich

Teknik ELISA jenis ini menggunakan antibodi primer spesifik untuk menangkap antigen yang diinginkan dan antibodi sekunder tertaut enzim signal untuk mendeteksi keberadaan antigen yang diinginkan.

- Pertama mikrotiter diisi dengan larutan yang mengandung antibodi penangkap
- Mikrotiter dibilas untuk membuang antibodi penangkap
- Larutan sampel yang mengandung antigen yang diinginkan dimasukkan ke dalam lubang-lubang mikrotiter
- Mikrotiter kembali dibilas untuk membuang antigen yang tidak bereaksi dengan antigen penangkap
- Dimasukkan larutan yang berisi antibodi detector
- Mikrotiter dibilas lagi untuk membuang antibodi detector yang tidak berinteraksi dengan antibodi spesifik
- Ditambahkan substrat yang dapat bereaksi dengan enzim signal,

ELISA sandwich memiliki tingkat sensitivitas tinggi terhadap antigen yang diinginkan akibat keharusan dari antigen tersebut untuk berinteraksi dengan kedua antibodi.

## Pemeriksaan HIV dengan SD HIV 1/ 2 ELISA 3.0

Prinsip : SD HIV 1/ 2 ELISA 3.0 mengandung mikroplet yang dilapisi antigen rekombinan HIV 1/2 (gp41, p24, gp36) pada well. Selama inkubasi awal, anti-HIV pada serum pasien diikat oleh antigen HIV 1/ 2. Setelah inkubasi ini, semua materi yang tidak terikat

dibuang dengan aspirasi dan pencucian.

Cara Kerja :

1. Siapkan strip well sebanyak 3 well. Well 3 untuk kontrol negatif, well 2 untuk kontrol positif dan well 1 untuk sampel.
2. Pippet 100 ul pengenceran sampel pada masing-masing well.
3. Tambahkan 50 ul control negatif pada well 3, control positif pada well 2, dan sampel pada masing-masing well.
4. Tutup mikroplate dengan parafilm dan kocok dengan baik pada vibrator mixer, pengocokan sangat penting untuk mendapatkan hasil yang baik.
5. Inkubasi selama 30 menit dalam suhu 37°C
6. Cuci well sebanyak 5 kali dengan 350 ul cairan pencuci, biarkan kurang lebih 10 detik waktu merendam pada masing-masing pencucian dan buang semua cairan dari well.
7. Pippet 100 ul enzim konjugat pada masing-masing well.
8. Tutup mikroplate dengan parafilm.
9. Inkubasi selama 30 menit dalam suhu 37°C
10. Cuci well sebanyak 5 kali dengan 350 ul cairan pencuci, biarkan kurang lebih 10 detik waktu merendam pada masing-masing pencucian dan buang semua cairan dari well.
11. Kocok secara perlahan TMB substrat A dan B dengan perbandingan 1:1 dan pippet 100 ul campuran substrat tersebut kedalam masing-masing well.
12. Kocok secara perlahan TMB substrat A dan B dengan perbandingan 1:1 dan pippet 100 ul campuran substrat tersebut kedalam masing-masing well.
13. Inkubasi selama 10 menit pada suhu ruangan
14. Pipet 100 ul larutan stopping pada masing-masing well.
15. Baca absorbansi dari well dengan bikromatik spektrofotometer pada 450 nm dengan panjang gelombang yang direkomendasikan pada 620 nm. Pembacaan harus selesai dalam 1 jam dari akhir pemeriksaan.

Tes Validasi

$$0.010 \leq A(\text{neg}) \leq 0.200$$

$$A(\text{pos}) \geq 1.000$$

Jika salah satu nilai absorbansi pada kontrol negatif keluar dari spesifikasi, nilai ini dapat diabaikan.

Kedua nilai absorbansi pada kontrol positif harus sesuai dengan spesifikasi.

Jika spesifikasi tidak terpenuhi, tes harus diulangi.

## Evaluasi

Hitung rata-rata absorban pada kontrol negatif, lalu hitung batas nilai dengan ditambah 0.300

$A(\text{neg}) + 0.300 = \text{batas nilai}$

Berdasarkan kriteria pada tes, sampel dikategorikan sebagai berikut :

$A(\text{sampel}) < \text{batas\_anti HIV } \frac{1}{2} \text{ Negatif}$

$A(\text{sampel}) \geq \text{batas\_anti HIV } \frac{1}{2} \text{ Positif}$

## Limitasi dan Interferensi

- i. Prosedur pemeriksaan, pencegahan, dan interpretasi hasil kit ini harus diikuti saat pemeriksaan
- ii. Sampel
- iii. Kit ini mendeteksi antibodi HIV pada serum manusia atau plasma dan ini dapat digunakan sebagai tes skrining
- iv. Kesalahan dalam penambahan spesimen dalam prosedur dapat mengakibatkan hasil negatif palsu. Pengulangan pemeriksaan harus dipertimbangkan jika terdapat kecurigaan klinis tentang adanya infeksi.

## Performance characteristic

SD HIV 1/2 ELISA 3.0 telah diperiksa dengan sampel klinis positif dan negatif diperiksa dengan anti-HIV  $\frac{1}{2}$  ELISA test.

Referensi		SD HIV 1 /2 ELISA 3.0		
Metode	Hasil	Positif	Negatif	Total Hasil
Elisa Komersial	Positif	345	0	345
	Negatif	2	990	992
Total Hasil		347	990	1337

**Sensivitas relatif: 100%, spesifitas relatif: 99,8%**

- Presisi

Presisi Within-run dan between run telah ditentukan dengan 10 kali pengulangan pemeriksaan dari 3 spesimen : negatif, positif lemah, dan positif kuat. Nilai CV(%) dari negatif, positif lemah, dan positif kuat berada dalam 10%.

#### Kelebihan

1. Teknik pengerjaan relatif sederhana
2. Relatif ekonomis (karena jenis a antibodi yang digunakan hanya satu saja, sehingga menghemat biaya untuk membeli banyak jenis antibodi)
3. Hasil memiliki tingkat sensitivitas yang cukup tinggi.
4. Dapat digunakan untuk mendeteksi keberadaan antigen walaupun kadar antigen tersebut sangat rendah (hal ini disebabkan sifat interaksi antara antibodi atau antigen yang bersifat sangat spesifik)

Dapat digunakan dalam banyak macam pengujian

#### Kelemahan Metode ELISA

1. Pemeriksaan ELISA hanya mendeteksi [antibodi](#), bukan antigen (akhir-akhir ini sudah ditemukan test ELISA untuk antigen).
2. Pemeriksaan ELISA hanya terhadap antigen jenis IgG. Penderita AIDS pada taraf permulaan hanya mengandung IgM, sehingga tidak akan terdeteksi. Perubahan dari IgM ke IgG membutuhkan waktu sampai 41 minggu.
3. Pada umumnya pemeriksaan ELISA ditujukan untuk HIV1. Bila test ini digunakan pada penderita HIV2, nilai positifnya hanya 24%. Tetapi HIV2 paling banyak ditemukan hanya di Afrika.
4. Masalah *false positive* pada test ELISA. Hasil ini sering ditemukan pada keadaan positif lemah, jarang ditemukan pada positif kuat. . Hal ini disebabkan karena morfologi HIV hasil biakan jaringan yang digunakan dalam test kemurniannya berbeda dengan HIV di alam.

## Pemeriksaan HIV ½ dari imunocomb

Tujuan : Uji kualitatif untuk mengetahui ada tidaknya antibodi HIV1 dan HIV2 dalam serum atau plasma pasien.

- A. Prinsip : Immunocomb II HIV 1 dan 2 bispot merupakan suatu pemeriksaan fase cair secara tidak langsung metoda Enzyme Imuno Assay (EIA). Fase solid adalah Comb dengan 12 gigi, setiap 3 gigi sensitif pada 3 titik: titik bagian atas adalah antibodi dari Human Immunoglobulin tersangka (kontrol internal), Titik bagian tengah terdiri dari peptida-peptida buatan HIV 2, Titik bagian bawah terdiri dari peptida-peptida buatan HIV-1. Piring/ plate memiliki 6 baris (A-F) dengan 12 sumur setiap baris, berisi larutan reagen siap pakai yang berbeda pada setiap langkah pemeriksaan. Pemeriksaan tersebut menunjukkan langkah dan perpindahan comb dari baris ke baris dengan proses inkubasi pada setiap langkahnya.

Antigen dalam spot direaksikan dengan antibodi dalam serum akan terbentuk kompleks antigen antibodi kemudian direaksikan dengan konyugat anti human IgG yang berlabel enzim akan terbentuk ikatan konyugat anti human IgG dan terakhir direaksikan dengan substrat kromogenik akan menghasilkan spot yang berwarna.

B. Metode : Immunocomb II HIV 1 dan 2 Bispot (ELISA).

C. Bahan : Serum pasien

D. Reagen : Immunocomb II HIV 1 dan 2 Bispot, terdiri dari:

1. Comb:

Comb dibungkus dengan kantung aluminium. Pada kit tersebut berisi 3 comb. Setiap comb memiliki 12 gigi, 1 gigi dapat digunakan untuk setiap pemeriksaan. Gigi tersebut sensitif dengan 3 areal reaktif. Titik titik bagian atas adalah antibodi dari Human Immunoglobulin tersangka (kontrol internal), Titik bagian tengah terdiri dari peptida-peptida buatan HIV 2 (Envelope Glikoprotein), Titik bagian bawah terdiri dari peptida-peptida buatan HIV-1. Untuk memulai pemeriksaan, sampel (serum) ditambahkan ke dalam lubang dari baris A plate tersebut. Comb dimasukkan ke dalam lubang dari baris A. Apabila terdapat antibodi HIV dalam sampel, maka secara khusus akan berikatan dengan peptida-peptida buatan dari titik bawah dan atau titik tengah dari gigi-gigi comb. (Gambar 1). Secara serentak imunoglobulin yang terdapat dalam sampel akan menangkap anti human imunoglobulin di titik bagian atas (kontrol internal), komponen yang tidak terlapisi dicuci dalam baris B. Di dalam baris C yang tertangkap dalam gigi-gigi tersebut akan bereaksi dengan anti human antibodi berlabel enzim alkali fosfatase. Di dalam 2 baris selanjutnya komponen yang tidak terlapisi terlepas melalui baris pencucian. Baris F: Lapisan alkali fosfatase akan bereaksi dengan komponen

kromogenik yang memberikan warna. Hasil yang tampak adalah spot (titik) yang berwarna abu-abu kebiruan di atas permukaan gigi-gigi dari comb tersebut.

## 2. Plate

Kit berisi 3 plate yang dilapisi oleh aluminium foil. Setiap plate (gambar 3) berisi seluruh reagen yang dibutuhkan untuk pemeriksaan. Plate tersebut terdiri dari 6 bagian (A-F) dengan 12 lubang setiap barisnya. Isi dari setiap baris adalah sebagai berikut:

- Baris A: cairan specimen/kontrol positif/kontrol negatif
- Baris B: Larutan Pencuci
- Baris C: Antibodi Anti Human Goat (tersangka) dilapisi Alkali fosfatase
- Baris D: Antibodi Anti Human Goat (tersangka) dilapisi Alkali Fosfatase
- Baris E: Larutan Pencuci
- Baris F : Larutan Substrat Kromogenik berisi 5 Bromo 4 Chloro 3 Indolyl Fosfat (BCIP) dan Nitro Blue Tetrazolium (NBT).

3. Kontrol Positif : Satu mL cairan plasma positif penderita sebagai antibodi HIV 1 dan 2, tidak aktif oleh Beta propiolakton, perlakuan panas.

4. Kontrol negatif : Satu mL cairan plasma negatif antibodi HIV

E. Alat : Perforator, dropper, sarung tangan, clinipet 50 uL dan tip kuning, stopwatch, kertas saring, label, plate Immunocomb II HIV ½ Bispot, comb.

F. Cara Kerja :

1. Semua komponen disiapkan
2. Sampel sebanyak 50 uL dipipet dengan mikropipet, lubangi satu sumur yang berlapis aluminium foil di baris A dari plate tersebut menggunakan tip pipet atau perforator dan sampel dimasukkan ke dalam sumur tersebut. Kemudian campur/ kocok beberapa kali.
3. Langkah yang sama dilakukan pada sampel lainnya. Kontrol positif dan kontrol negatif menggunakan sumur yang lain di baris A dengan tip yang berbeda.
  - a. Slipkan comb ke dalam sumur dari baris A tersebut yang sudah berisi spesimen dan kontrol, campur, tarik dan celupkan kembali comb ke dalam sumur beberapa waktu.
  - b. Biarkan selama 10 menit menggunakan stop watch, campur, lalu campurkan kembali sebanyak 2 kali selama proses inkubasi. Sebelum 10 menit lubangi aluminium foil baris B menggunakan perforator, jangan membuka dulu lubang-lubang yang lain.

- c. Setelah 10 menit, comb diambil dari baris A. Cairan menempel dan menyerap ke ujung sisir-sisir diletakkan di atas kertas serap bersih. Tidak boleh menyentuh permukaan atas dan gigi-gigi.
4. Pencucian pertama dilakukan pada baris B.
  5. Slipkan comb tersebut di atas ke dalam sumur-sumur pada baris B. Campur/ Aduk, tarik dan celupkan kembali comb secara berulang ke dalam lubang selama 10 detik. Pengadukkan diulangi beberapa waktu selama 2 menit, sementara itu sumur C dilubangi, setelah 2 menit comb ditarik dan cairan dibiarkan menempel dan menyerap seperti pada langkah 4 C.
  6. Pengikatan dengan konyugat (Baris C)
  7. Comb dislipkan ke dalam lubang baris C, campur comb beberapa waktu (10 detik), lakukan seperti langkah 4b. Baris D dilubangi, setelah 10 menit, comb ditarik, cairan menempel dan menyerap.
  8. Pencucian ke dua (Baris D)
  9. Comb dislipkan ke dalam sumur dari baris D, ulangi pengadukan selama 2 menit, selain itu lubang baris E. Setelah 2 menit, comb ditarik dan cairan menempel dan menyerap.
  10. Pencucian ke 3 (Baris E)
  11. Comb dislipkan ke dalam sumur dari baris E, pengadukan dilakukan secara berulang selama 2 menit. Sementara itu lubang baris F. Setelah 2 menit, comb ditarik dan cairan menempel dan menyerap.
  12. Reaksi Warna (Baris F)
  13. Comb dislipkan ke dalam sumur dari baris F. Campur seperti pada langkah 4a. Waktu diset selama 10 menit. Campur seperti langkah 4b. Setelah 10 menit comb ditarik.
  14. Penghentian reaksi (Baris E)
  15. Comb dislipkan ke dalam sumur baris E. Setelah 1 menit, comb ditarik dan dibiarkan mengering di udara.

Rangkuman Langkah Kerja:

Langkah	Baris	Proses
Reaksi Antigen Antibodi	A	Campur, Inkubasi selama 10 menit. Absorpsi
Pencucian	B	Campur/ Aduk, inkubasi selama 2 menit. Absorpsi

Ikatan dari konjugat	C	Campur, inkubasi selama 10 menit. Absorpsi
Ikatan dari monjugat	D	Aduk, inkubasi selama 2 menit. Absorpsi
Pencucian	E	Aduk, inkubasi selama 2 menit, Absorpsi
Reaksi Warna	F	Campur, inkubasi selama 10 menit
Penghentian Reaksi	E	Inkubasi 1 menit, keringkan di udara.

Hasil Pengamatan :

- Kontrol positif harus menghasilkan 3 titik di gigi-gigi comb.
- Kontrol negatif harus menghasilkan titik bagian atas (kontrol internal) dan tidak ada titik lain.
- Sampel harus menghasilkan titik bagian atas (kontrol internal). Hal tersebut menunjukkan bahwa sampel telah ditambahkan. Jika terdapat kondisi lain, selain ke 3 kondisi tersebut, maka hasil invalid dan sampel juga kontrol harus diganti.

H. Interpretasi Hasil

- Menunjukkan titik bagian atas (kontrol internal) mengidentifikasi bahwa sampel tidak memiliki antibodi dari HIV 1 dan HIV 2.
- Titik bagian tengah terwarnai mengindikasikan terdapat antibodi dari HIV 2.
- Titik bagian bawah terwarnai, mengindikasikan terdapat antibodi dari HIV 1.

Dalam kasus HIV 1 dan 2, dua titik akan ditemukan (titik atas sebagai kontrol internal). Kadang-kadang konsentrasi tinggi dari antibodi anti HIV 1 atau antibodi anti HIV 2 akan dihasilkan 2 titik.

## Latihan

**Untuk dapat memperdalam pemahaman Anda mengenai materi di atas, kerjakanlah Latihan berikut!**

1. Jelaskan prinsip pemeriksaan ELISA metode indirect pada pemeriksaan antibodi HIV ½ !
2. Jelaskan konjugat yang digunakan untuk pemeriksaan antibodi HIV ½ tersebut !

3. Reagen apa yang digunakan untuk pencucian pada pemeriksaan tersebut ?
4. Warna apa yang timbul dari hasil pemeriksaan tersebut ?
5. Berapa panjang gelombang yang digunakan untuk mengukur warna hasil pemeriksaan tersebut ?

## Ringkasan

HIV (*Human Immunodeficiency Virus*) adalah virus yang menyerang sistem kekebalan tubuh manusia dan melemahkan kemampuan tubuh untuk melawan penyakit. Pemeriksaan menggunakan metode ELISA dapat digunakan untuk mendeteksi antibodi yang dibuat tubuh terhadap virus HIV. Antibodi tersebut biasanya diproduksi mulai minggu ke 2, atau bahkan setelah minggu ke 12 setelah terpapar virus HIV. Cara melakukan pemeriksaan antibodi tersebut dapat digunakan metode indirect dari SD HIV 1/ 2 ELISA 3.0 atau dari imunocomb.

## Tes 2

**Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!**

1. Apa bahan pemeriksaan yang digunakan untuk pemeriksaan HIV 1/2 ?
  - A. Darah.
  - B. Serum.
  - C. Plasma.
  - D. Cairan sendi.
  - E. Urin.
2. Apa metode yang digunakan untuk pemeriksaan HIV 1/2 ?
  - A. Kompetitif.
  - B. Indirect.
  - C. Sandwich.
  - D. Capture.
  - E. ECLIA.
3. Tahapan yang penting pada pemeriksaan HIV ½ adalah : ....
  - A. Penambahan konjugat.
  - B. Pengeraman.
  - C. Pencucian.
  - D. Pengeraman dan pencucian.

- E. Pembacaan pada ELISA reader.
4. Proses pemeriksaan HIV dari SD HIV 1/ 2 ELISA 3.0 dilakukan pada fase padat menggunakan :
- A. Plastic tray.
  - B. Micro beads.
  - C. Kertas nilon
  - D. Frosted glass beads.
  - E. Tabung gelas.
5. Hasil ahir dari pemeriksaan HIV dari SD HIV 1/ 2 ELISA 3.0 adalah :
- A. Terbentuk cairan yang berwarna.
  - B. Terbentuk cairan yang tidak berwarna.
  - C. Terbentuk pita pada kertas nilon.
  - D. Terbentuk dot pada kertas nilon.
  - E. Tidak terbentuk dot pada kertas nilon.
6. Cara pembacaan hasil pemeriksaan HIV dari SD HIV 1/ 2 ELISA 3.0 diukur pada panjang gelombang :
- A. 700 nm.
  - B. 620 nm.
  - C. 540 nm.
  - D. 520 nm.
  - E. 450 nm.
7. Hasil positif pemeriksaan HIV dari SD HIV 1/ 2 ELISA 3.0 adalah sebagai berikut :
- A.  $>$  cut off
  - B.  $\geq$  cut off
  - C.  $<$  cut off
  - D.  $\leq$  cut off
  - E. Daerah cut off
8. Proses pemeriksaan HIV dari Imunocomb dilakukan pada fase padat menggunakan :
- A. Plastic tray.
  - B. Micro beads.
  - C. Kertas nilon
  - D. Frosted glass beads.

- E. Tabung gelas.
9. Hasil ahir pemeriksaan HIV dari Imunocomb adalah :
- A. Terbentuk cairan yang berwarna.
  - B. Terbentuk cairan yang tidak berwarna.
  - C. Terbentuk pita pada kertas nilon.
  - D. Terbentuk dot pada kertas nilon.
  - E. Tidak terbentuk dot pada kertas nilon.
10. Hasil positif pemeriksaan HIV dari Imunocomb adalah terbentuk :
- A. Dot pada tes.
  - B. Dot pada kontrol positif.
  - C. Dot pada kontrol positif.
  - D. Dot pada tes & kontrol positif.
  - E. Dot pada tes & kontrol positif; tidak ada dot pada kontrol negatif.

Cocokkanlah jawaban Anda dengan Kunci Jawaban Tes 2 yang terdapat di bagian akhir Bab 9 ini.

## Topik3

### Pemeriksaan antibodi Ig G / Ig M Rubella

**T**ORCH merupakan singkatan untuk beberapa penyakit infeksi yang terkait dengan meningkatnya risiko terjadinya kecacatan pada janin jika menginfeksi wanita hamil yaitu *Toxoplasma gondii*, Rubella, Cytomegalovirus (CMV) & Herpes simpleks virus (HSV).

Pemeriksaan laboratorium yang diperlukan untuk membantu mengetahui infeksi TORCH adalah menggunakan metode ELISA.

Cara Penularan TORCH bisa secara aktif maupun pasif.

Penularan secara aktif (didapat) disebabkan antara lain makan daging setengah matang yang berasal dari hewan yang terinfeksi, makan makanan yang tercemar oosista dari feses (kotoran) kucing yang menderita TORCH, transfusi darah (tropozoid), transplantasi organ atau cangkok jaringan (tropozoid, sista), kecelakaan di laboratorium yang menyebabkan TORCH masuk ke dalam tubuh atau tanpa sengaja masuk melalui luka hubungan seksual antara pria dan wanita juga bisa menyebabkan menularnya TORCH. Ibu hamil yang kebetulan terkena salah satu penyakit TORCH ketika mengandung, Air Susu Ibu (ASI) juga bisa sebagai penyebab menularnya penyakit TORCH. Sedangkan penularan secara pasif (bawaan) terjadi pada bayi melalui ibu yang terinfeksi TORCH pada masa kehamilan.

**T**Oxoplasmosis disebabkan oleh parasit yang disebut *Toxoplasma gondii*. Infeksi Toxoplasma berbahaya bila terjadi saat ibu sedang hamil atau pada orang dengan sistem kekebalan tubuh terganggu (misalnya penderita AIDS). Diagnosis Toxoplasmosis secara klinis sukar ditentukan karena gejala-gejalanya tidak spesifik atau bahkan tidak menunjukkan gejala (sub klinik). Oleh karena itu, pemeriksaan laboratorium mutlak diperlukan untuk mendapatkan diagnosis yang tepat.

**R**ubella disebabkan oleh virus Rubella, dapat menyerang anak-anak dan dewasa muda. Infeksi Rubella berbahaya bila terjadi pada wanita hamil muda, karena dapat menyebabkan kelainan pada bayinya. Tanda-tanda dan gejala infeksi Rubella sangat bervariasi untuk tiap individu, oleh karena itu, diagnosis infeksi Rubella yang tepat perlu ditegakkan dengan bantuan pemeriksaan laboratorium.

**C**ytomegalovirus (CMV) disebabkan oleh virus Cytomegalo, dan virus ini termasuk golongan virus keluarga Herpes, CMV dapat tinggal secara laten dalam tubuh dan CMV merupakan salah satu penyebab infeksi yang berbahaya bagi janin bila infeksi terjadi saat ibu sedang hamil. Jika ibu hamil terinfeksi, maka janin yang dikandung mempunyai risiko tertular. Pemeriksaan laboratorium sangat bermanfaat untuk mengetahui infeksi akut atau infeksi berulang

**H**erpes simpleks virus (HSV) disebabkan oleh Virus Herpes Simpleks tipe II (HSV II).

Bayi yang dilahirkan dari ibu yang terinfeksi HSV II biasanya memperlihatkan lepuh pada kulit, tetapi hal ini tidak selalu muncul sehingga mungkin tidak diketahui. Pemeriksaan laboratorium yang dapat dilakukan, yaitu dengan memeriksa adanya Anti-HSV II IgG dan IgM sangat penting untuk mendeteksi secara dini terhadap kemungkinan terjadinya infeksi oleh HSV II dan mencegah bahaya lebih lanjut pada bayi bila infeksi terjadi pada saat kehamilan.

Enzyme Link Immuno Sorbent Assay (ELISA) merupakan alat untuk uji serologis yang cepat dan sensitif juga spesifik terhadap hasil pemeriksaan maka, ELISA cocok digunakan untuk pemeriksaan TORCH.

Prinsip kerja dari ELISA adalah adanya ikatan antigen dengan antibodi spesifik. Ikatan antigen antibodi yang dilabel dengan enzim akan mengubah substrat yang akan memberikan warna, dan dibaca pada ELISA reader.

- A. Tujuan : Untuk mengetahui adanya antibodi Rubella pada serum manusia.
- B. Prinsip : Pemeriksaan Rubella dengan ELISA  
Antigen Rubella dilapiskan pada permukaan microwells. Serum pasien yang diencerkan ditambahkan pada wells, dan antibodi spesifik Rubella IgG/IgM jika terdapat pada serum pasien maka akan berikatan dengan antigen. Semua material yang tidak berikatan akan dicuci. Setelah menambahkan enzim konjugat akan berikatan dengan kompleks antibodi antigen. Kelebihan enzim konjugat akan dicuci dan tambahkan substrat TMB Chromogenic. Reaksi katalitik enzim konjugat akan terhenti pada waktu yang spesifik. Intensitas warna yang terbentuk sebanding dengan antibodi IgG/IgM dalam sampel.
- C. Metode : Indirect ELISA
- D. Bahan : Serum pasien
- E. Reagen : Kit Rubella dari reagen
- F. Cara Kerja :
1. Masukkan ke dalam sumur kontrol dan kalibrator 200  $\mu$ l
  2. Masukkan ke dalam sumur sampel, 200  $\mu$ l diluen + 20  $\mu$ l serum
  3. Inkubasi 45 menit pada suhu 37 o C
  4. Cuci sebanyak 6 kali
  5. Tambahkan antigen / antibodi kompleks sebanyak 100  $\mu$ l
  6. Inkubasi 45 menit pada suhu 37 o C
  7. Cuci sebanyak 6 kali
  8. Tambahkan TMB/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sebanyak 100  $\mu$ l
  9. Inkubasi 15 menit pada suhu 37 o C
  10. Tambahkan asam sulfat sebanyak 100  $\mu$ l
- G. Interpretasi Hasil
- Bila IgG (-) dan IgM (+)
- Kasus ini jarang terjadi, kemungkinan merupakan awal infeksi. Harus diperiksa kembali 3 minggu kemudian untuk melihat apakah IgG berubah menjadi (+). Bila tidak berubah, maka IgM tidak spesifik, yang bersangkutan tidak terinfeksi Toxoplasma.
- Bila IgG (-) dan IgM (-)

Belum pernah terinfeksi dan beresiko untuk terinfeksi.

Bila IgG (+) dan IgM (+)

Kemungkinan mengalami infeksi primer baru atau mungkin juga infeksi lampau tapi IgM nya masih terdeteksi (persisten=lambat hilang). Oleh sebab itu perlu dilakukan tes IgG affinity langsung pada serum yang sama untuk memperkirakan kapan infeksi terjadi, apakah sebelum atau sesudah hamil. Keadaan ini perlu dilanjutkan dengan pemeriksaan Aviditas IgG. Bila aviditas IgG tinggi, menunjukkan infeksi didapat lebih dari empat bulan yang lalu

Bila IgG (+) dan IgM (-)

Pernah terinfeksi sebelumnya. Bila pemeriksaan dilakukan pada awal kehamilan, berarti infeksi terjadi sebelum kehamilan dan saat ini telah memiliki kekebalan. Bagi penderita yang sudah pernah terpapar, nilai IgG tidak akan kembali ke angka negatif atau nol

Quality Control

Sebuah cek validasi dilakukan pada kontrol setiap saat kit digunakan untuk memverifikasi apakah kinerja dari assay memenuhi syarat.

Hasil pemeriksaan dibandingkan dengan data kontrol berikut :

<b>Kalibrator</b>	<b>Persyaratan</b>
Rubella IgM	$S/Co > 1.1$
CMV IgM	$S/Co > 1.1$
Toxo IgM	$S/Co > 1.5$
HSV 1 & 2 IgM	$S/Co > 1.1$

Ketika Calibrator digunakan memverifikasi cocok maka pemeriksaan dilanjutkan.

Persyaratan Kalibrator

Permasalahan

Sumur Blanko  $> 0.050$

OD 450 nm

Kontrol Rendah  $> 0.200$

OD 450 nm setelah variasi

koefisien blanko  $> 30\%$

Pemeriksaan

- Larutan substrat kromogen belum terkontaminasi selama pemeriksaan
- Proseder pencucian dan pengaturan pencucian telah divalidasi pada uji pra kualifikasi

Kalibrator RCH S/CO < 1.1  
Kalibrator Terhadap S/CO < 1.5

Kontrol Tinggi < 0.750  
OD 450 nm

- bahwa larutan pencuci yang tepat telah digunakan dan alat telah dicuci sebelum digunakan
- Bahwa tidak ada kesalahan yang telah dilakukan dalam prosedur pengujian (Pengisapan kontrol tinggi bukan kontrol rendah)
- Bahwa tidak ada kontaminasi dari kontrol rendah atau sumur dimana telah terjadi penghisapan karena penghisapan sample yang tinggi, terhadap tumpahan atau konjugat enzim.
- Bahwa mikropipet tidak terkontaminasi dengan sampel yang tinggi atau dengan konjugat enzim
- Bahw jarum pencuci tidak terhalang atau tersumbat
- Bahwa prosedur harus dilakukan dengan benar
- Bahwa tidak ada kesalahan terjadi ketika pengambilan kalibrator (contoh: tertukar dengan kontrol rendah)
- Bahwa prosedur pencucian dan pengaturan pencucian telah divalidasi pada persiapan pemeriksaan
- Bahwa tidak terjadi kontaminasi eksternal pada kalibrator
- Bahwa EIA telah dilarutkan dengan volume dan pelarut yang benar sesuai dengan petunjuk yang tertera
- Bahwa prosedur harus dilakukan dengan benar
- Bahwa tidak ada kesalahan terjadi ketika pengambilan kontrol (contoh: tertukar dengan kontrol rendah dengan kontrol tinggi)

- Bahwa tidak terjadi kontaminasi eksternal pada kalibrator
- Bahwa EIA telah dilarutkan dengan volume dan pelarut yang benar sesuai dengan petunjuk yang tertera

## Latihan

**Untuk dapat memperdalam pemahaman Anda mengenai materi di atas, kerjakanlah Latihan berikut!**

1. Jelaskan prinsip pemeriksaan ELISA metode indirect pada pemeriksaan antibodi IgM Rubella !
2. Jelaskan konjugat yang digunakan untuk pemeriksaan antibodi IgM Rubella tersebut !
3. Reagen apa yang digunakan untuk pencucian pada pemeriksaan IgM Rubella tersebut ?
4. Warna apa yang timbul dari hasil pemeriksaan IgM Rubella tersebut ?
5. Berapa panjang gelombang yang digunakan untuk mengukur warna hasil pemeriksaan IgM Rubella tersebut ?

## Ringkasan

TORCH merupakan singkatan untuk beberapa penyakit infeksi yang terkait dengan meningkatnya risiko terjadinya kecacatan pada janin jika menginfeksi wanita hamil yaitu Toxoplasma gondii, Rubella, Cytomegalovirus (CMV) & Herpes simpleks virus (HSV).

Pemeriksaan laboratorium yang diperlukan untuk membantu mengetahui infeksi TORCH adalah menggunakan metode ELISA.

Antibodi yang dibentuk terhadap Rubella dapat berupa Ig G atau Ig M. Teknik yang digunakan untuk pemeriksaan antibodi Ig M terhadap Rubella biasa digunakan metode Capture ELISA. Prinsipnya adalah pada plastic tray dilapiskan anti Ig M yang akan menangkap Ig M dari serum, kemudian ditambahkan antigen Rubella dari reagen, selanjutnya tambahkan konjugat anti

Rubella label enzim (Ig G), pada setiap tahap dilakukan proses pengeraman dan pencucian. Kemudian tambahkan substrat kromogenik sehingga enzim akan mengubah substrat maka terjadi perubahan warna dari cairan, dan untuk menyetop reaksi ditambahkan stopping solution. Warna cairan akan diukur pada panjang gelombang maksimal.

## Tes 3

**Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!**

1. Apa bahan pemeriksaan yang digunakan untuk pemeriksaan Ig M Rubella ?
  - A. Darah.
  - B. Serum.
  - C. Plasma.
  - D. Cairan sendi.
  - E. Urin.
2. Apa metode yang digunakan untuk pemeriksaan Ig M Rubella?
  - A. Kompetitif.
  - B. Indirect.
  - C. Sandwich.
  - D. Capture.
  - E. ECLIA.
3. Tahapan yang penting pada pemeriksaan Ig M Rubella adalah : ....
  - A. Penambahan konjugat.
  - B. Pengeraman.
  - C. Pencucian.
  - D. Pengeraman dan pencucian.
  - E. Pembacaan pada ELISA reader.
4. Proses pemeriksaan Ig M Rubella dilakukan pada fase padat menggunakan : ....
  - A. Plastic tray.
  - B. Micro beads.
  - C. Kertas nilon
  - D. Frosted glass beads.

- E. Tabung gelas.
5. Hasil ahir dari pemeriksaan Ig M Rubella adalah :
- A. Terbentuk cairan yang berwarna.
  - B. Terbentuk cairan yang tidak berwarna.
  - C. Terbentuk pita pada kertas nilon.
  - D. Terbentuk dot pada kertas nilon.
  - E. Tidak terbentuk dot pada kertas nilon.
6. Cara pembacaan hasil pemeriksaan Ig M Rubella diukur pada panjang gelombang :
- A. 700 nm.
  - B. 620 nm.
  - C. 540 nm.
  - D. 520 nm.
  - E. 450 nm.
7. Hasil positif pemeriksaan Ig M Rubella adalah sebagai berikut :
- A.  $>$  cut off
  - B.  $\geq$  cut off
  - C.  $<$  cut off
  - D.  $\leq$  cut off
  - E. Daerah cut off

Cocokkanlah jawaban Anda dengan Kunci Jawaban Tes 2b yang terdapat di bagian akhir Bab 9 ini



# Topik 4

## Pemeriksaan ECLIA untuk deteksi antibodi Pemeriksaan Ig E

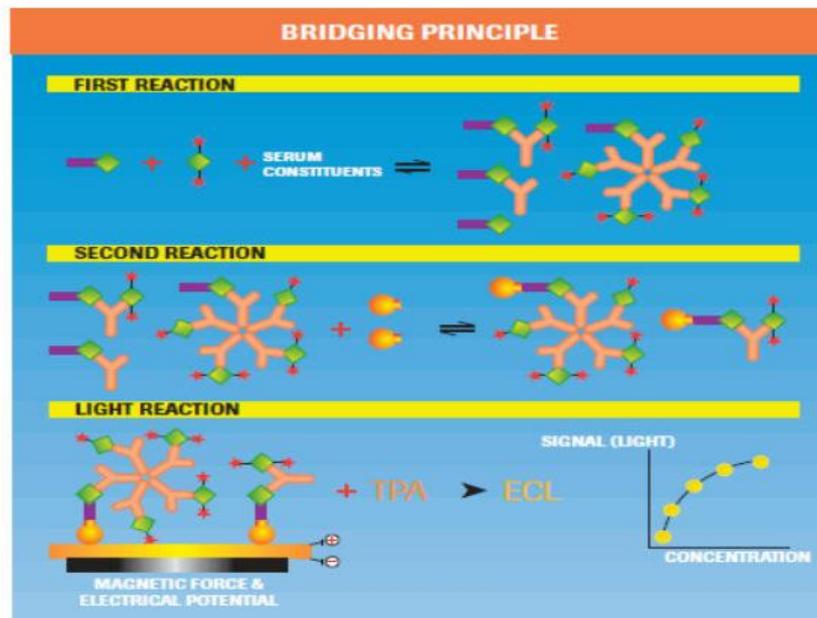
IgE merupakan Immunoglobulin E yang kadarnya meningkat pada infeksi cacing (berperan dalam imunitas parasit), selain itu IgE juga berhbungan terutama dengan reaksi alergi. Karena bila terdapat alergen maka akan diikat silang (cross linking) oleh 2 molekul IgE pada permukaan sel mast sehingga menimbulkan influk ion kalsium ke dalam sel, hal itu menurunkan kadar adenosin monofosfat siklik (CAMP) → Degranulasi sel mast.

Chemiluminescence adalah emisi atau pancaran cahaya oleh produk yang distimulus oleh sutau reaksi kimia atau kompleks cahaya. ECLIA menggunakan teknologi tinggi yang memberi banyak keuntungan dibandingkan dengan metode lain. Pada metode ini menggunakan prinsip sandwich, kompetitif, dan bridging.

Metode ECLIA ini menggunakan ruthenium(II) tris(bipyridyl)  $[Ru(bpy)_3^{2+}]$  sebagai labelnya dan bereaksi dengan tripropilamine (TPA) pada permukaan elektroda pada panjang gelombang 620 nm.

Tujuan : Untuk mengetahui adanya Ig E pada serum manusia.

- A.Prinsip : . IgE dalam bahan pemeriksaan akan berikatan dengan anti-IgE spesifik antibodi Biotin dan anti-IgE antibodi Ruthenium membentuk kompleks.
- . Penambahan Streptavidin coated mikropartikel akan menempel pada kompleks tsb.
  - . Kompleks yang terikat akan ditangkap oleh permukaan elektroda. Zat-zat yang tidak berikatan akan dicuci oleh procell.
  - . Emisi chemiluminescent akan diukur oleh photomultiplier dan hasil ditentukan menggunakan kurva kalibrasi.



Gambar 71. Prinsip Pemeriksaan Ig E

B. Metode : Sandwich ECLIA

C. Bahan : Serum pasien

D. Reagen : 1. Elecsys Ig E II Kit reagen tdd : - Streptavidin coated mikropartikel  
 - Anti IgE antibodi Biotin  
 - Anti IgE antibodi Ruthenium

2. IgE set

3. Elecsys PreciControl IgE

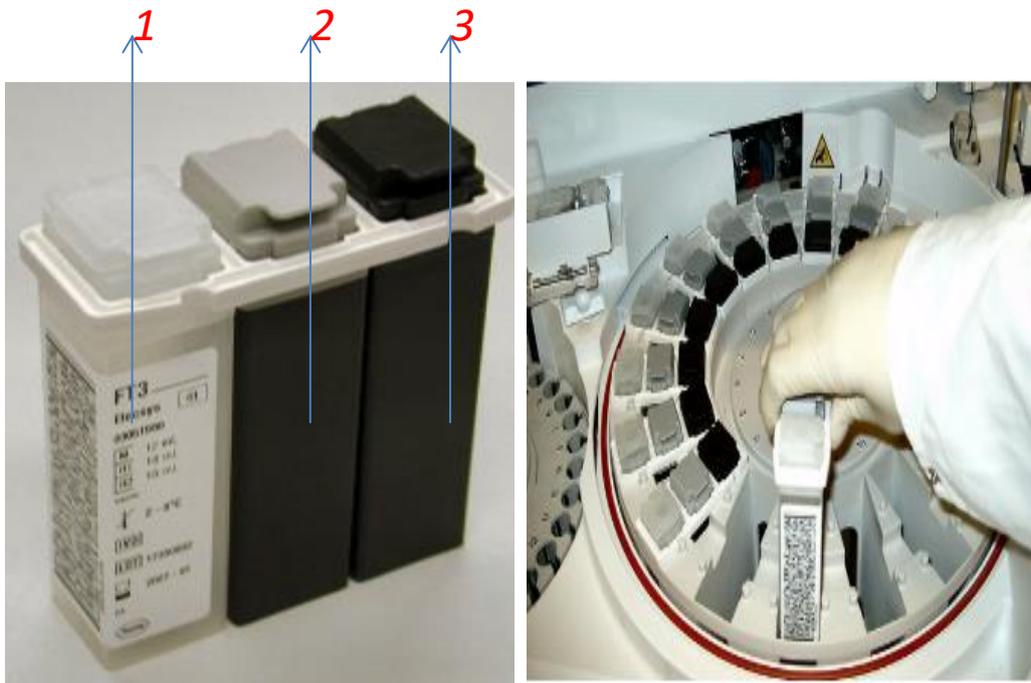
4. Procell, clean cell, sys wash, assay cup, assay tip

E. Alat : 1. Elecsys 2010 instrument

2. APD

F. Cara Kerja

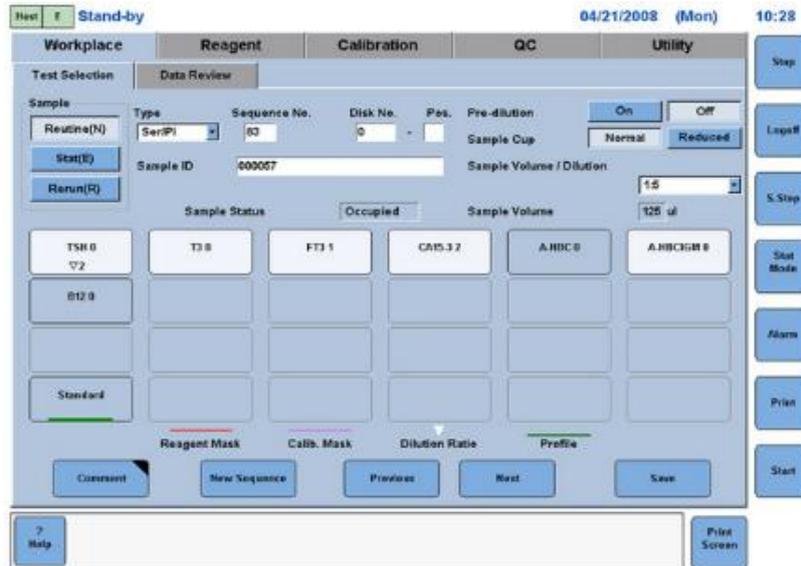
1. Sampel yang beku, reagensia, kalibrator, dan juga kontrol didiamkan di suhu ruangan (20° - 25°C), dan disiapkan menjadi larutan kerja sesuai petunjuk pada leaflet.
2. Reagensia diletakkan pada disk reagensia, kalibrator pada disk sampel. Lakukan kalibrasi reagen.
3. Letakkan kontrol dan sampel pada disk sampel. Lakukan pemeriksaan sampel.



1. *Suspensi Paramagnetic Microbeads (M)*
2. *Reagen 1*
3. *Reagen 2*

Sampel 50  $\mu$ l dimasukkan ke dalam Disk





1. Inkubasi pertama: antigen dari sampel (50  $\mu$ L), antibodi biotinilasi poliklonal spesifik  $\beta$ -CrossLaps dan antibodi monoklonal spesifik  $\beta$ -CrossLap yang telah dilabel dengan kompleks *ruthenium* membentuk kompleks.
2. Inkubasi kedua: setelah pembahan mikropartikel yang dilapisi oleh streptavadin terjadi kompleks antigen antibodi melalui interaksi biotin dan streptavadin.
3. Gabungan reaksi ini diaspirasikan kedalam sel pengukur elektrokimia dimana substansi yang tidak terikat dicuci dan kemudian dipindahkan oleh *buffer procell*, sedangkan kompleks imun yang terbentuk ditangkap secara magnetis. Aplikasi dari voltase ke elektroda kemudia menginduksi emisi cahaya *chemiluminesence* yang diukur dengan *photomultiplier*.

Hasil akan tertera pada komputer yang tersambung dengan alat.



F. Cara Kerja (sesuai petunjuk leaflet) :

1. Serum dimasukkan dalam cuvet sebanyak 15  $\mu$ L
2. Cuvet dimasukkan pada disk Elecsys 2010
3. Masukkan sampel ID di sampel ID, lalu tekan Enter
4. Masukkan nomor posisi sampel di disk position, lalu tekan Enter. Bila diperlukan, ganti no Sequence dan tentukan faktor pengenceran set dilution faktor. Posisi dan nomor sequence akan bertambah secara otomatis.
5. Tandai tes yang dipilih dengan menekan nama tes
6. Tekan new sampel untuk sampel selanjutnya
7. Tekan start.

G. Sensitivitas

Sensitivitas pemeriksaan : 0,25 ng/mL

H. Interpretasi Hasil

- Dewasa : < 100 IU/mL
- Neonatus : < 1.5 IU/mL
- < 1 tahun : < 15 IU/mL
- 1-5 tahun : < 60 IU/mL
- > 5-9 tahun : < 90 IU/mL

- >9-15 tahun : <200 IU/mL

## Latihan

Untuk dapat memperdalam pemahaman Anda mengenai materi di atas, kerjakanlah Latihan berikut!

- 1) Jelaskan prinsip pemeriksaan ECLIA metode pada pemeriksaan IgE !
- 2) Jelaskan konjugat yang digunakan untuk pemeriksaan IgE tersebut !
- 3) Reagen apa yang digunakan untuk pencucian pada pemeriksaan tersebut ?
- 4) Apa yang diukur dari hasil pemeriksaan tersebut ?
- 5) Berapa panjang gelombang yang digunakan untuk mengukur pancaran cahaya dari pemeriksaan tersebut ?

## Ringkasan

IgE merupakan Immunoglobulin E yang kadarnya meningkat pada infeksi cacing (berperan dalam imunitas parasit), selain itu IgE juga berhubungan terutama dengan reaksi alergi.

Prinsip pemeriksaannya adalah IgE dalam bahan pemeriksaan akan berikatan dengan anti-IgE spesifik antibodi Biotin dan anti-IgE antibodi Ruthenium membentuk kompleks. Penambahan Streptavidin coated mikropartikel akan menempel pada kompleks tsb. Kompleks yang terikat akan ditangkap oleh permukaan elektroda. Zat-zat yang tidak berikatan akan dicuci oleh procell. Emisi chemiluminescent akan diukur oleh photomultiplier dan hasil ditentukan menggunakan kurva kalibrasi.

## Tes 3

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

1. Apa bahan pemeriksaan yang digunakan untuk pemeriksaan Ig E ?
  - A. Darah.
  - B. Serum.
  - C. Plasma.

- D. Cairan sendi.
  - E. Urin.
2. Apa metode yang digunakan untuk pemeriksaan Ig E ?
- A. Kompetitif.
  - B. Indirect.
  - C. Sandwich.
  - D. Capture.
  - E. ECLIA.
3. Tahapan yang penting pada pemeriksaan Ig E adalah : ....
- A. Penambahan konjugat.
  - B. Pengeraman.
  - C. Pencucian.
  - D. Pengeraman dan pencucian.
  - E. Pembacaan pada ELISA reader.
4. Proses pemeriksaan Ig E dilakukan pada fase padat menggunakan :
- A. Plastic tray.
  - B. Micro beads.
  - C. Kertas nilon
  - D. Frosted glass beads.
  - E. Tabung gelas.
5. Hasil ahir dari pemeriksaan Ig E adalah :
- A. Terbentuk cairan yang berwarna.
  - B. Terbentuk cairan yang tidak berwarna.
  - C. Terbentuk pita pada kertas nilon.
  - D. Terbentuk dot pada kertas nilon.
  - E. Terbentuk cahaya
6. Cara pembacaan hasil pemeriksaan Ig E diukur pada panjang gelombang :
- A. 700 nm.

- B. 620 nm.
- C. 540 nm.
- D. 520 nm.
- E. 450 nm.

7. Hasil positif pemeriksaan Ig E adalah sebagai berikut :

- A.  $>$  cut off
- B.  $\geq$  cut off
- C.  $<$  cut off
- D.  $\leq$  cut off
- E. Daerah cut off

## Topik 5

# Pemeriksaan IMBI untuk deteksi antibodi Pemeriksaan Ig M *Salmonella typhi* O9

Demam tifoid akut atau tifus abdominalis adalah penyakit infeksi akut yang disebabkan oleh *Salmonella typhi*, menyerang pada saluran pencernaan. Penyakit ini dapat di deteksi dengan melakukan pemeriksaan antibodi jenis Ig M menggunakan metode *Immunoassay Magnetic Binding Inhibition* (IMBI)

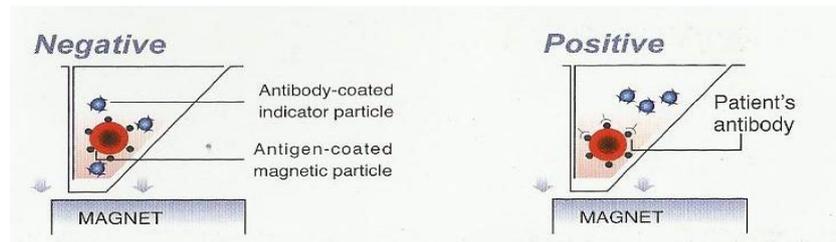
*Salmonella typhi* dapat dideteksi melalui antigen somatik (O), antigen flagella (H), dan antigen envelope (Vi), sedangkan faktor antigen O spesifik pada *Salmonella typhi* dan *paratyphi*. Informasi produk Tubex Typhoid Fever (Tubex TF) edisi III tahun 2016, merupakan pemeriksaan diagnostik *in vitro* semikuantitatif untuk deteksi demam tifoid, dengan adanya antibodi IgM terhadap antigen *Salmonella typhi* O9 lipopolisakarida (LPS) dalam serum menggunakan metode IMBI (*Immunoassay Magnetic Binding Inhibition*). Reaksi antara antigen lateks magnetic dan monoclonal antibodi lateks warna, ikatan inhibisi tersebut diseparasikan oleh daya magnetic. Tingkat inhibisi yang dihasilkan adalah setara dengan konsentrasi antibodi IgM *Salmonella typhi* dalam sampel dan hasilnya dibaca secara visual terhadap skala warna, dimana derajat kepositifan Tubex TF dinilai skor 0-2 negatif, >2 atau <4 borderline, 4-10 positif. Hasil *borderline* pemeriksaan dapat diulang atau dengan pengambilan sampel pada hari berikutnya. Penggunaan antigen lipopolisakarida O9 *Salmonella typhi* dalam reagen TubexTF ini berdasarkan teori, spesifisitasnya tinggi (>90%) karena sangat jarang ditemui antigen O9 ini di alam atau di antara mikroorganisme lain.

Deteksi antibodi IgM spesifik terhadap *Salmonella typhi*, pengujian anti lipopolisakarida IgM memberikan hasil antara tifoid dan non tifoid, IgM sendiri akan meningkat lebih awal tetapi juga lebih cepat menurun sesuai dengan fase akut infeksi, sedangkan IgG akan bertahan pada fase penyembuhan.

Tujuan : Untuk mengetahui adanya antibodi Ig M *Salmonella typhi* O9 pada serum tersangka demam tifoid akut.

A.Prinsip : Mendeteksi adanya antibodi anti-O9 *Salmonella typhi* dalam serum pasien dengan mengukur kemampuan serum antibodi Ig M dalam menghambat reaksi antara antigen berlabel partikel lateks magnetic (reagen coklat) dengan monoklonal antibodi berlabel lateks (reagen biru), tingkat inhibisi yang

dihasilkan setara dengan konsentrasi antibodi IgM dalam sampel. Hasil dibaca secara visual dengan membandingkan warna akhir reaksi terhadap skala warna.



**Gambar 72.** Metode Immunoassay Magnetic Binding Inhibition (IMBI)

B. Metode : *Immunoassay Magnetic Binding Inhibition (IMBI)*

C. Bahan : Serum pasien

D. Reagen : Reagen coklat berisi antigen berlabel partikel lateks magnetic.

Reagen biru berisi monoklonal antibodi berlabel lateks.

Kontrol negatif berisi serum normal.

Kontrol positif berisi serum mengandung Ig M *Salmonella typhi* O9.

E. Alat : 1. Mikropipet 90 ul

2. Mikropipet 45ul

3. Cover strip

4. Well strip

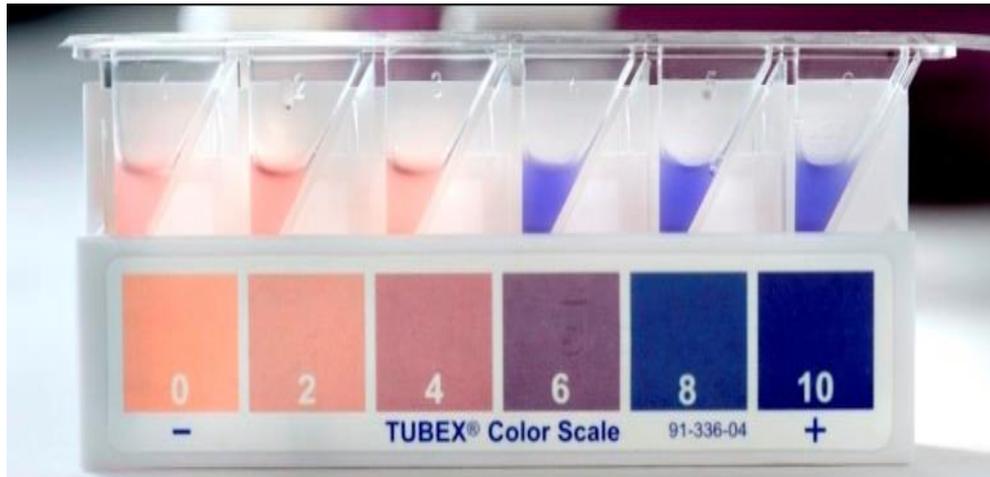
5. Separator magnetic

F. Cara Kerja (sesuai petunjuk leaflet) :

1. Memipet 45 ul reagen coklat pada well 1,2,3.
2. Menambahkan 45 ul specimen pada well 1, kontrol positif pada well 2, kontrol negative pada well 3.
3. Menghomogenkan menggunakan pipet (up and down 10x), jangan sampai berbusa. Laludiamkan 2 menit padasuhukamar.
4. Menambahkan 90 ul reagen biru padamasing-masing well
5. Menutup well dengan cover strip, lalu mencampurkannya dengan cara memegang well dengan ibu jari dan telunjuk.
6. Memosisikan well horizontal (90°) untuk mencampur well dengan maksimal.
7. Menghomogenkan selama 2 menit
8. Baca hasil reaksi menggunakan skala warna

G. Interpretasi hasil :

Kontrol Positif	$\geq 8$
Kontrol Negatif	$\leq 2$
Positif	4-10
Grey Zone	2-4
Negatif	0-2



**Gambar 73.** Contoh hasil pemeriksaan 1

H. Contoh hasil pemeriksaan :



**Gambar 74.** Contoh hasil pemeriksaan 2

Well 1 Kontrol positif menunjukkan skala 8

Well 2 Kontrol negatif menunjukkan skala 0

Well 3 Sampel menunjukkan skala 4

Well 4 sampel menunjukkan skala 3  
Well 5 dan 6 sampel menunjukkan skala 2

## Latihan

Untuk dapat memperdalam pemahaman Anda mengenai materi di atas, kerjakanlah Latihan berikut!

- 1) Jelaskan prinsip pemeriksaan Ig M *Salmonella typhi* O9 metode IMBI !
- 2) Jelaskan Reagen coklat pada pemeriksaan Ig M *Salmonella typhi* O9 tersebut !
- 3) Jelaskan Reagen biru pada pemeriksaan Ig M *Salmonella typhi* O9 tersebut !
- 4) Jelaskan interpretasi hasil pada pemeriksaan Ig M *Salmonella typhi* O9 tersebut !

## Ringkasan

IgM merupakan Immunoglobulin M yang dibentuk oleh sel B pada pemaparan pertama sehingga menunjukkan infeksi masih baru. Deteksi antibodi IgM spesifik terhadap *Salmonella typhi*, pengujian anti lipopolisakarida IgM memberikan hasil antara tifoid dan non tifoid, IgM sendiri akan meningkat lebih awal tetapi juga lebih cepat menurun sesuai dengan fase akut infeksi, sedangkan IgG akan bertahan pada fase penyembuhan.

## Tes 4

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

1. Tujuan pemeriksaan Tubex TF adalah mendeteksi :
  - A. Ig M *Salmonella typhi* O9
  - B. Ig G *Salmonella typhi* O9
  - C. *Salmonella paratyphi* AO
  - D. *Salmonella paratyphi* BO
  - E. *Salmonella paratyphi* CO
2. Apa bahan pemeriksaan yang digunakan untuk pemeriksaan Ig M *Salmonella typhi* O9?

- A. Darah.
  - B. Serum.
  - C. Plasma.
  - D. Cairan sendi.
  - E. Urin.
3. Apa metode yang digunakan untuk pemeriksaan Ig M *Salmonella typhi* O9?
- A. IMBI Kompetitif.
  - B. Indirect.
  - C. Sandwich.
  - D. Capture.
  - E. ECLIA.
4. Tahapan yang penting pada pemeriksaan Ig M *Salmonella typhi* O9 : ....
- A. Urutan penambahan reagen.
  - B. Pengeraman.
  - C. Jumlah reagen.
  - D. Jumlah serum.
  - E. Pembacaan secara visual.
5. Hasil positif dari pemeriksaan Ig M *Salmonella typhi* O9 adalah:
- A. Terbentuk cairan yang berwarna biru
  - B. Terbentuk cairan yang berwarna coklat
  - C. Terbentuk cairan yang tidak berwarna.
  - D. Terbentuk pita pada kertas nilon.
  - E. Terbentuk dot pada kertas nilon.
6. Hasil negatif dari pemeriksaan Ig M *Salmonella typhi* O9 adalah :
- A. Terbentuk cairan yang berwarna biru
  - B. Terbentuk cairan yang berwarna coklat
  - C. Terbentuk cairan yang tidak berwarna.
  - D. Terbentuk pita pada kertas nilon.
  - E. Terbentuk dot pada kertas nilon.

# Kunci Jawaban Tes

## Test Formatif 1

1. B
2. C
3. D
4. A
5. E
6. E

## Test Formatif 3

1. B
2. E
3. D
4. B
5. E
6. B
7. A

## Test Formatif 2 A

1. B
2. B
3. D
4. A
5. A
6. E
7. B
8. C
9. D
10. E

## Test Formatif 4

1. A
2. B
3. A
4. A
5. A
6. B

## Test Formatif 2 B

1. B
2. D
3. D
4. A
5. A
6. E
7. A

# Glosarium

## ELISA : *Enzyme Linked Immunosorbent Assay*

Cara kuantitatif untuk mengukur antigen yang diendapkan pada permukaan padat dengan menggunakan antibodi spesifik yang diikat dengan enzim kovalen. Jumlah antibodi yang diikat antigen sebanding dengan jumlah antigen yang ada dan ditentukan dengan cara spektrofotometris. Perubahan substrat jernih menjadi produk berwarna atas pengaruh enzim yang diikat.

## Sandwich ELISA

Metode ELISA yang digunakan untuk menentukan antigen dalam serum dengan cara diikat pada antibodi yang diimobilisasi pada fase padat dan antibodi yang dilabel enzim. Aktivitas enzim yang terikat diukur dengan penambahan substrat. Aktivitas enzim yang tinggal berbanding lurus dengan kadar antigen dalam sampel.

## Indirect ELISA

Metode ELISA yang digunakan untuk menentukan antibodi dalam serum dengan cara diikat pada antigen yang direkatkan pada fase padat dan anti immunoglobulin yang dilabel enzim. Retensi enzim diukur dengan menambahkan substrat.

*Aktivitas enzim berbanding lurus dengan konsentrasi antibodi dalam sampel.*

## Capture ELISA

Metode ELISA yang digunakan untuk deteksi Ig M dalam serum dengan menggunakan anti Ig M yang dilapiskan pada fase padat sehingga Ig M dalam sampel akan ditangkap kemudian, tambah antigen (misalnya Rubella) yang selanjutnya, ditambahkan antibodi yang dilabel enzim. Aktivitas enzim berbanding lurus dengan konsentrasi Ig M dalam sampel.

## Competitif ELISA

Metode ELISA yang digunakan untuk deteksi antibodi dalam serum dengan menggunakan antigen direkatkan pada fase padat. Antibodi dalam sampel ditambahkan. Kemudian antibodi yang dilabel enzim ditambahkan. Aktivitas enzim yang terikat diukur dengan penambahan substrat. Aktivitas enzim yang terikat berbanding terbalik dengan kadar antibodi dalam sampel.

## ECLIA : *Electrochemiluminescence Imuno Assay*

Cara kuantitatif untuk mengukur antigen yang diendapkan pada permukaan padat dengan menggunakan antibodi spesifik yang diikat dengan biotin dan antibodi yang diikat dengan rutenium. Kemudian biotin akan diikat oleh streptavidin yang dilapiskan pada mikropartikel. Kompleks yang terikat akan ditangkap oleh permukaan elektroda. Zat-zat yang tidak berikatan akan dicuci oleh procell. Emisi chemiluminescent akan diukur oleh photomultiplier dan hasil ditentukan menggunakan kurva kalibrasi.

**IMBI** : *Immunoassay Magnetic Binding Inhibition*

Metode yang digunakan untuk deteksi Ig M dalam serum dengan cara mengukur kemampuan serum antibodi Ig M dalam menghambat reaksi antara antigen berlabel partikel lateks magnetic dengan monoklonal antibodi berlabel lateks. Tingkat inhibisi yang dihasilkan setara dengan konsentrasi antibodi IgM dalam sampel.

Hasil dibaca secara visual dengan membandingkan warna akhir reaksi terhadap skala warna.

## Daftar Pustaka

*Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. Cellular and Molecular Immunology. 4 ed. Philadelphia. WB Saunders 2000.*

*Miller LE, Ludge FR, Peacock JE, Tomar RH. Manual of Laboratory . Immunology. 2ed. Philadelphia. Lea & Febiger 1991.*

*IDL Biotech A B. TUBEX TF Rapid Typhoid Detection. Biomma. Swedden 2015*

*COBAS E 411/ Elecsys 2010 operator Manual's book*

*COBAS e 6000 operator Manual's Book*



# IMUNOSEROLOGI

**PUSAT PENDIDIKAN SUMBER DAYA MANUSIA KESEHATAN**  
Badan Pengembangan dan Pemberdayaan  
Sumber Daya Manusia Kesehatan

Jl. Hang Jebat III Blok F3,  
Kebayoran Baru Jakarta Selatan - 12120

**Telp.** (021) 725 5429

**Fax.** (021) 739 8950