

**PENGARUH VAKSINASI BCG TERHADAP RASIO
IL-4/IFN- γ DAN PERBAIKAN GEJALA KLINIK
RINITIS ALERGI**

*(THE EFFECT OF BCG VACCINATION ON IL-4/IFN- γ RATIO AND THE
IMPROVEMENT OF CLINICAL SYMPTOMS IN ALLERGIC RHINITIS)*



Tesis

untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai derajat Sarjana S-2
dan memperoleh keahlian dalam bidang Ilmu Kesehatan Telinga Hidung
Tenggorok – Bedah Kepala dan Leher

Hadi Sudrajad

**PROGRAM PASCA SARJANA MAGISTER ILMU BIOMEDIK
DAN
PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS I ILMU KESEHATAN
TELINGA HIDUNG TENGGOROK- BEDAH KEPALA DAN LEHER
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG**

Maret

2006

TESIS

**PENGARUH VAKSINASI BCG TERHADAP RASIO IL-4/IFN- γ
DAN PERBAIKAN GEJALA KLINIK RINITIS ALERGI**

disusun oleh

Hadi Sudrajad

telah dipertahankan di depan Tim Penguji
pada tanggal 6 Maret 2006
dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Menyetujui,
Komisi Pembimbing

Pembimbing Utama

Pembimbing Kedua

Dr. Suprihati, SpTHT, MSc
NIP : 130 605 721

Dr. Edi Dharmana MSc, PhD, SpParK
NIP : 130 529 451

Ketua Program Studi
Ilmu Kesehatan Telinga Hidung Tenggorok –
Bedah Kepala dan Leher

Ketua Program Studi
Magister Ilmu Biomedik

Dr. Amriyatun, SpTHT
NIP : 130 529 456

Prof. Dr. H. Soebowo, SpPA(K)
NIP : 130 352 549

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan didalamnya tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan lembaga pendidikan lainnya. Pengetahuan yang diperoleh dari hasil penerbitan maupun yang belum / tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan di dalam tulisan dan daftar pustaka.

Semarang, 6 Maret 2006

Hadi Sudrajad

RIWAYAT HIDUP SINGKAT

A. Identitas

Nama : dr. Hadi Sudrajad
NIM Magister Biomedik : G4A 002007
NIM PPDS I IK THT-KL : G3L 001097
Tempat / tanggal lahir : Sukoharjo, 22 April 1966
Agama : Islam
Jenis kelamin : Laki –laki

B. Riwayat Pendidikan

1. SDN Demakan I : Lulus tahun 1977
2. SMPN Bekonang : Lulus tahun 1981
3. SMAN Karanganyar : Lulus tahun 1984
4. FK UNS Surakarta : Lulus tahun 1991
5. Program Pendidikan Dokter Spesialis I Ilmu Kesehatan Telinga
Hidung Tenggorok – Bedah Kepala dan Leher UNDIP Semarang
6. Program Pascasarjana Magister Ilmu Biomedik UNDIP Semarang.

C. Riwayat Pekerjaan

1. Dokter PTT Puskesmas Simpang Tiga, Kab. Pontianak : 1992 – 1995
2. Dokter PT Dipasena Citra Darmaja Kab. Tulang Bawang : 1995 – 2000
3. PNS Dinas Kesehatan Tk I Provinsi Kalimantan Barat : sejak 2001

D. Riwayat keluarga

1. Nama orang tua Ayah : Suwarno
Ibu : Sri Suyatini
2. Nama Istri : Titin Maria
3. Nama Anak : 1. Atika Sri Raharjani
2. Asrina Dwi Nugraheni.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa, yang telah memberi kesempatan bagi penulis untuk menyelesaikan tesis ini. Tesis ini merupakan sebagian persyaratan dalam mencapai derajat sarjana S-2 Magister Ilmu Biomedik dan memperoleh keahlian dalam bidang Ilmu Kesehatan Telinga Hidung dan Tenggorok - Bedah Kepala dan Leher Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Prof. Ir. Eko Budiarjo, MSc selaku Rektor Universitas Diponegoro.
2. Prof DR. Dr. Suharyo Hadisaputro, SpPD selaku Direktur Program Pasca Sarjana Universitas Diponegoro.
3. Prof. Dr. Kabulrachman, SpKK(K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
4. Dr. Budi Riyanto, MSc, SpPD, KPTI selaku Direktur RS Dr. Kariadi Semarang.
5. Prof. Dr. Soebowo, SpPA(K) selaku Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik.
6. Dr. Suprihati, Sp THT, MSc selaku Ketua Bagian IK THT- KL FK UNDIP / Kepala SMF K THT-KL RS Dr. Kariadi Semarang, sekaligus sebagai pembimbing utama, yang telah banyak memberikan bimbingan dan saran mulai dari ide penelitian, selama proses pelaksanaan sampai analisis dan penulisan tesis ini.

7. Dr.Edi Dharmana, MSc,PhD, SpParK sebagai pembimbing kedua, yang telah banyak memberikan saran dan perbaikan pada penulisan tesis ini.
8. Dr. Amriyatun, SpTHT selaku Ketua Program Studi IK THT – KL FK UNDIP yang telah memberikan saran dalam menyelesaikan tesis ini.
9. Prof. DR. Dr. Tjahjono, SpPA(K), FIAC ; Dr. Lysiani Suromo SpPK(K) ; Dr.Riece Hariyati SpTHT yang telah banyak memberi masukan dalam penyusunan tesis.
10. Para Guru Besar dan staf pengajar bagian IK THT – KL FK UNDIP / SMF K THT - KL RS Dr. Kariadi Semarang yang telah mendidik dan memberikan bekal keilmuan dan ketrampilan kepada saya.
11. Drg. Henry Setyawan, MSc yang telah membantu dalam analisis data tesis.
12. Istri dan anak-anak tercinta, kedua orang tua dan mertua, kakak dan adik yang telah banyak memberikan dukungan semangat dan doa yang tiada henti selama pendidikan maupun dalam penyelesaian tesis ini.
13. Semua penderita rinitis alergi yang dengan sukarela bersedia untuk mengikuti penelitian ini.
14. Seluruh sejawat residen, paramedis, dan semua pihak yang telah membantu dalam pelaksanaan dan penyelesaian tesis ini.

Kritik dan saran untuk tulisan ini sangat saya harapkan, karena tulisan ini masih jauh dari sempurna oleh karena keterbatasan saya. Terima kasih.

Semarang, 6 Maret 2006

Penulis.

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
ABSTRAK	xii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar belakang	1
1.2. Perumusan masalah	4
1.3. Tujuan penelitian	4
1.4. Manfaat penelitian	5
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1. Imunopatogenesis dan gejala rinitis alergi	6
2.2. Konsep keseimbangan Th 1 dan Th 2	11
2.3. Peran sitokin pada rinitis alergi	12
2.4. Hubungan BCG dengan penyakit alergi	17
2.5. Kerangka teori	21
2.6. Kerangka konsep	22
2.7. Hipotesis	22
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN	23
3.1. Jenis penelitian	23
3.2. Tempat dan waktu penelitian	23
3.3. Populasi dan sampel	23
3.4. Kriteria inklusi dan eksklusi	24
3.5. Variabel	25
3.6. Definisi operasional	25

3.7. Bahan dan alat penelitian	27
3.8. Cara kerja	28
3.9. Alur penelitian	30
3.10. Etika	31
3.11. Rancangan analisis data	31
3.12. Rincian jadwal penelitian	32
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	33
4.1. Hasil penelitian	33
4.2. Pembahasan	46
BAB 5. SIMPULAN DAN SARAN	53
5.1. Simpulan	53
5.2. Saran	53
DAFTAR PUSTAKA	54

DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
1. Distribusi usia dan lama keluhan	33
2. Distribusi sampel menurut usia, jenis kelamin, lama keluhan antar kelompok BCG dan kontrol	34
3. Distribusi kadar IL-4, IFN- γ , dan rasio IL-4/IFN- γ	35
4. Median kadar IL-4 sebelum dan sesudah pengobatan BCG dan kontrol	35
5. Median kadar IFN- γ sebelum dan sesudah pengobatan BCG dan kontrol	36
6. Median rasio IL-4/IFN- γ sebelum dan sesudah pengobatan BCG dan kontrol	37
7. Median skor gejala klinik sebelum dan sesudah 8 minggu kelompok pengobatan BCG	39
8. Median skor gejala klinik sebelum dan sesudah 8 minggu kelompok kontrol	39
9. Median perubahan skor gejala klinik sebelum dan sesudah 8 minggu pada kelompok pengobatan BCG dan kontrol	40
10. Median hari bebas gejala, hari nyaman dan hari minum obat selama waktu penelitian	44

DAFTAR GAMBAR

Nomor		Halaman
1.	Rangkaian proses aktivasi sel mast	9
2.	Peran IL-4 sebagai faktor yang menginduksi sekresi Ig E	13
3.	Grafik median kadar IL-4 pada kelompok BCG dan kontrol	36
4.	Grafik median kadar IFN- γ pada kelompok BCG dan kontrol	37
5.	Grafik median rasio IL-4/IFN- γ kelompok BCG dan kontrol	38
6.	Grafik median skor bersin setiap minggu kelompok BCG dan kontrol	41
7.	Grafik median skor rinore setiap minggu kelompok BCG dan kontrol	41
8.	Grafik median skor hidung tersumbat setiap minggu kelompok BCG dan kontrol	42
9.	Grafik median skor gatal setiap minggu kelompok BCG dan kontrol	43
10.	Grafik median skor gejala total setiap minggu kelompok BCG dan kontrol	43
11.	Grafik median hari bebas gejala, hari nyaman, dan hari minum obat antara kelompok BCG dan kontrol	44
12.	Grafik hari minum obat mingguan antara kelompok BCG dan kontrol	45

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Halaman
1. Prosedur pemeriksaan IFN- γ dan IL-4 (Pelikine)	58
2. Kuisisioner catatan penderita rinitis alergi	59
3. Kuisisioner catatan harian gejala hidung (pilek) oleh penderita	61
4. Surat pernyataan persetujuan peserta penelitian (<i>informed consent</i>)	62
5. Surat Ijin Penelitian	63

ABSTRAK

PENGARUH VAKSINASI BCG TERHADAP RASIO IL-4/IFN- γ DAN PERBAIKAN GEJALA KLINIK RINITIS ALERGI

Latar belakang : vaksinasi Bacillus Calmette-Guerin (BCG) pada manusia dapat menginduksi respon imun Th 1. Hubungan antara sistem imun sel Th 1 dan Th 2 bersifat timbal balik, yang berarti kenaikan respon imun sel Th 1 akan menghambat Th 2 dan sebaliknya. Rinitis alergi adalah suatu penyakit yang ditandai dengan dominasi respon Th 2, sehingga dengan pemberian vaksin BCG diharapkan terjadi penurunan dominasi respon Th 2.

Tujuan : untuk menilai pengaruh vaksinasi BCG pada rinitis alergi terhadap rasio IL-4/ IFN- γ , suatu prototipe sitokin sel Th 2 dan Th 1 dan manfaat kliniknya.

Metoda penelitian : suatu penelitian intervensi, *randomized control group pretest-posttest design*. Penderita rinitis alergi derajat sedang/berat pada kelompok BCG diberi suntikan BCG intrakutan 0,1 ml (2×10^5 CFU) dan kelompok kontrol diberi suntikan pelarut BCG pada hari pertama penelitian. Sebelum dan sesudah 8 minggu perlakuan dilakukan pemeriksaan kadar IL-4 dan IFN- γ . Skor gejala klinik dicatat oleh penderita setiap hari mulai sebelum perlakuan sampai selesai waktu pengobatan. Hari penderita minum obat selama waktu penelitian juga dicatat.

Hasil : 40 penderita rinitis alergi derajat sedang/berat (BCG = 21 ; kontrol = 19) termasuk dalam penelitian. Pada kelompok BCG kadar IL-4, IFN- γ , rasio IL-4/IFN- γ sebelum dan sesudah vaksinasi tidak terdapat perbedaan bermakna (IL-4 :19,7 dan 44,6 pg/ml ; IFN- γ : 1446,8 dan 1900,7 pg/ml ; rasio IL-4/IFN- γ : 0,016 dan 0,0,123). Pada kelompok kontrol kadar IL-4, IFN- γ , rasio IL-4/IFN- γ sebelum dan sesudah perlakuan juga tidak terdapat perbedaan bermakna (IL-4 :19,7 dan 44,6 pg/ml ; IFN- γ : 1446,8 dan 1900,7 pg/ml ; rasio IL-4/IFN- γ : 0,016 dan 0,123). Kadar IL-4, IFN- γ , rasio IL-4/ IFN- γ antar kelompok juga tidak terdapat perbedaan bermakna ($p > 0,05$). Skor gejala klinik sebelum dan sesudah perlakuan pada kelompok BCG dan kontrol terdapat perbedaan bermakna ($p < 0,01$), meskipun perubahan gejala klinik antar kelompok tidak terdapat perbedaan bermakna. Jumlah hari bebas gejala dan hari nyaman lebih tinggi pada kelompok BCG, meskipun perbedaan tidak bermakna. Jumlah hari minum obat pada minggu 1 dan 2 lebih rendah pada kelompok BCG dengan perbedaan bermakna ($p < 0,05$), meskipun secara keseluruhan tidak ada perbedaan bermakna.

Kesimpulan : vaksinasi BCG tidak dapat menurunkan rasio IL-4/IFN- γ dan tidak memperbaiki gejala rinitis alergi.

Kata kunci : rinitis alergi, vaksinasi BCG, rasio IL-4/IFN- γ .

ABSTRACT

THE EFFECT OF BCG VACCINATION ON IL-4/IFN- γ RATIO AND THE IMPROVEMENT OF CLINICAL SYMPTOMS IN ALLERGIC RHINITIS

Background : Bacillus Calmette-Guerin (BCG) vaccination in human induces Th 1 immune responses. Th 1 and Th 2 cells are reciprocally regulated, that means the increasing of Th 1 immune may be inhibited by Th 2 immune responses and vice versa. Allergic rhinitis is marked by a predominant Th 2 responses, so that BCG injection may reduce the domination of Th2 responses.

Objectives : To evaluate the effect of BCG vaccination on IL-4/IFN- γ ratio, as a prototype of Th 2 and Th 1 cytokine and its clinical benefits in allergic rhinitis patients.

Methods : This was 8 weeks clinical trial, randomized control group pre test-post test design. A moderate/severe grade of persistent allergic rhinitis patients divided into two groups. In first group, the samples received intracutaneous BCG injection of 0,1 ml (2×10^5 CFU), and the control group was administered by intracutaneous injection of BCG solution in the first day of the study. The IL-4 and IFN- γ level were measured before and after 8 weeks of treatment. The clinical symptoms were assessed by 0 – 3 scale everyday during the study, as well as the number medication days.

Results : 40 moderate/severe grade persistent allergic rhinitis patients were included this study (BCG = 21 ; control = 19). The IL-4, IFN- γ levels, as well as IL-4/IFN- γ ratio before and after treatment were not significantly different in BCG group (IL-4 :19,7 vs 44,6 pg/ml ; IFN- γ : 1446,8 vs 1900,7 pg/ml ; ratio IL-4/IFN- γ : 0,016 vs 0,0123), and also in control group (IL-4 : 19,7 vs 44,6 pg/ml ; IFN- γ : 1446,8 vs 1900,7 pg/ml ; ratio IL-4/IFN- γ : 0,016 vs 0,0123). The IL-4, IFN- γ levels, and IL-4/IFN- γ ratio between groups were not significantly different ($p > 0,05$). The clinical symptom scores pre and post treatment in both groups were decreased significantly ($p < 0,01$), however the improvement of clinical symptoms between group were not significantly different. The cumulative of asymptomatic and comfortable days were higher in BCG group although not significantly different. The medication days between groups at first and second weeks were significantly different ($p < 0,05$), however that differences were not significantly different at whole time of study.

Conclusions : The BCG vaccination did not decreased IL-4/IFN- γ ratio, as well as improving the clinical symptoms of allergic rhinitis.

Key words : allergic rhinitis, BCG vaccination, IL-4/IFN- γ ratio.

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 LATAR BELAKANG

Rinitis alergi merupakan penyakit alergi yang banyak dijumpai, tidak fatal, tetapi gejala-gejalanya dapat menurunkan konsentrasi, produktivitas kerja dan kelelahan yang dirasakan penderita.¹

Insiden rinitis alergi menurut kelompok kerja *Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma* (ARIA-WHO 2001) berkisar antara 1 – 18 %. Di Indonesia didapatkan angka yang bervariasi, sebagai gambaran insiden rinitis alergi di Jakarta sebesar 10 – 20 %, di Bandung penduduk usia lebih dari 10 tahun yang mempunyai gejala rinitis alergi sebanyak 9,8 %.¹ Di Semarang dengan menggunakan kuisioner *International Study of Asthma and Allergis in Children* (ISAAC) pada murid SLTP usia 13 –14 tahun didapatkan sebesar 18,6%.²

Sampai saat ini penatalaksanaan rinitis alergi meliputi pencegahan dengan cara menghindari kontak dengan alergen (*avoidance*), terapi medikamentosa dan imunoterapi. Masing-masing jenis pengobatan tersebut mempunyai kelemahan dan keterbatasan. Usaha menghindari kontak dengan alergen merupakan cara yang sederhana tetapi prakteknya sulit dilakukan. Terapi medikamentosa dengan antihistamin sebagai terapi simptomatis maupun kortikosteroid yang bersifat antiinflamasi hanya menghilangkan gejala, pemakaiannya relatif lama, dan masalah keterjangkauan harga obat. Imunoterapi memerlukan waktu pengobatan lama dengan suntikan yang berulang menyebabkan kesulitan dalam hal waktu,

beaya serta mengganggu aktivitas dan pekerjaan penderita. Untuk itu diperlukan suatu alternatif pengobatan baru yang lebih praktis, murah yang dapat mengobati atau mengurangi gejala rinitis alergi.

Dengan berkembangnya pengetahuan tentang alergi khususnya yang berhubungan dengan sistem imun, dimungkinkan pengobatan alergi dengan cara mengatur sistem imunitasnya (imunomodulasi). Telah diketahui bahwa sel T helper (sel Th 0) dapat berdeferensiasi menjadi sel Th 1 dan sel Th 2 dengan menghasilkan profil sitokin yang berlainan. Sel Th 2 menghasilkan sitokin, terutama interleukin 4 (IL-4) yang memegang peranan dalam penyakit alergi, sedang sel Th 1 menghasilkan interferon gamma (IFN- γ) yang berperan dalam imunitas seluler. Hubungan antara Th 1 dan Th 2 bersifat timbal balik (*reciprocal*), dimana kadar sitokin Th 1 yang lebih tinggi akan menghambat produksi sitokin Th 2 atau sebaliknya.³

Vaksinasi BCG (*Bacillus Calmette Guerin*) untuk tujuan imunoprolifaksis penyakit TBC masih efektif sehingga rutin dikerjakan pada bayi dan anak-anak. Vaksin BCG mengandung *muramyl dipeptida* dan protein BM 30 kDa yang mampu memicu pergeseran kearah polarisasi sel Th 1 (*Th 1 switching*) melalui aktivasi makrofag.⁴ Peningkatan sitokin terutama IFN- γ yang dihasilkan sel Th 1 selanjutnya akan menghambat produksi sitokin IL-4 yang dihasilkan sel Th 2, sitokin yang berperan dalam penyakit alergi.

Telah dilakukan beberapa penelitian yang mencoba mengubah dominasi respon sel Th 2 dengan memacu respon sel Th 1 sebagai pengobatan penyakit alergi. Pada tikus yang diinokulasi dengan vaksin BCG intranasal menunjukkan

kenaikan kadar IFN- γ dan penurunan IL-4 dan IL-5, yang akhirnya dapat menghambat eosinofilia saluran nafas akibat alergen.⁵ Secara *in vitro*, dengan mengisolasi sel monosit darah tepi yang telah diberi DNA *Mycobacterium bovis* BCG (MY-I) dari sukarelawan, terjadi kenaikan kadar IFN- γ yang bermakna dibanding dengan yang tidak diberi MY-I.⁶ Di Gambia telah diteliti pada bayi yang lahir langsung divaksinasi BCG dan tanpa diberi vaksinasi, setelah 2 bulan terlihat kadar IFN- γ yang meningkat pada bayi yang diberi vaksinasi dan kadar IFN- γ yang sangat rendah pada bayi tanpa vaksinasi, sedangkan produksi IL-4 tidak banyak dipengaruhi oleh vaksinasi.⁷ Di Wakayama, Jepang dimana vaksinasi BCG merupakan prosedur yang rutin dilakukan pada bayi/anak, diteliti hubungan antara respon tuberkulin terhadap kejadian atopik. Didapatkan hasil adanya hubungan terbalik yang kuat antara respon positif tuberkulin dengan kejadian atopik termasuk gejala-gejalanya, kadar Ig E dan profil sitokin Th 2. Respon tuberkulin positif mempunyai kadar IL-4 lebih rendah dan IFN- γ lebih tinggi secara signifikan.⁸ Penderita asma derajat sedang sampai berat, yang diberi vaksin BCG perkutan dibanding dengan plasebo, kelompok vaksinasi menunjukkan kenaikan fungsi paru secara bermakna dan menurunkan rasio IL-4/IFN- γ sputum secara bermakna, sedang skor gejala asma tidak berubah secara signifikan.⁹

Atas dasar kemampuan vaksin BCG untuk mengubah respon sel Th 2 dengan memacu respon sel Th 1, dan belum ada penelitian yang menilai pengaruh vaksin BCG pada penderita rinitis alergi, maka pada penelitian ini mencoba menilai

pengaruh vaksinasi BCG dosis 0,1 ml (2×10^5 CFU) secara intrakutan terhadap rasio kadar IL-4/IFN- γ dan perbaikan gejala klinik penderita rinitis alergi.

1.2 PERUMUSAN MASALAH

Berdasarkan uraian latar belakang tersebut, dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut :

1.2.1. Apakah vaksinasi BCG dapat menurunkan kadar IL-4 dan meningkatkan kadar IFN- γ , sehingga menurunkan rasio IL-4 / IFN- γ penderita rinitis alergi ?

1.2.2. Apakah vaksinasi BCG dapat memperbaiki gejala klinik penderita rinitis alergi ?

1.3 TUJUAN PENELITIAN

1.3.1 Tujuan umum : membuktikan pengaruh vaksinasi BCG dalam menurunkan kadar IL-4 dan meningkatkan kadar IFN- γ , serta perbaikan gejala klinik dalam pengobatan rinitis alergi.

1.3.2 Tujuan khusus :

1.3.2.1 Mendeskripsikan kadar IFN- γ dan IL-4 pada penderita RA sebelum dan sesudah mendapat BCG.

1.3.2.2 Mendeskripsikan kadar IFN- γ dan IL-4 pada penderita RA tanpa BCG.

1.3.2.3 Mendeskripsikan rasio IL-4/ IFN- γ pada penderita RA dengan BCG dan tanpa BCG.

1.3.2.4 Menganalisis beda kadar IL-4, IFN- γ dan rasio IL-4/IFN- γ penderita RA sebelum dan sesudah pemberian BCG dan tanpa BCG.

1.3.2.5 Menganalisis beda kadar IL-4, IFN- γ dan rasio IL-4/IFN- γ penderita RA antara yang diberi BCG dengan tanpa BCG.

1.3.2.6 Menganalisis beda perubahan gejala klinik penderita RA yang diberi BCG dengan tanpa BCG.

1.4 MANFAAT PENELITIAN

Manfaat penelitian ini adalah :

- 1.4.1 Diharapkan ditemukan metode alternatif pengobatan rinitis alergi.
- 1.4.2 Menjadi dasar penelitian berikutnya dengan mempertimbangkan waktu follow up penderita.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 IMUNOPATOGENESIS DAN GEJALA RINITIS ALERGI

Mukosa saluran nafas manusia selalu terpapar oleh berbagai macam alergen, pada penderita yang mempunyai bakat alergi, perubahan yang terjadi pada rinitis alergi dimulai dengan proses sensitisasi mukosa respirasi pada paparan alergen pertama, sampai terjadi gejala-gejalanya pada paparan alergen spesifik berikutnya. Sehingga reaksi alergi dapat dibedakan menjadi 2 fase yaitu fase sensitisasi dan fase elisitasi.¹⁰

2.1.1 Fase sensitisasi.

Alergen yang terhirup bersama udara nafas akan terdeposit dalam mukosa hidung yang kemudian diproses oleh makrofag atau sel dendrit yang berfungsi sebagai fagosit dan sel penyaji

antigen (*antigen presenting cell* /APC). Di dalam endosom alergen diproses menjadi bentuk fragmen peptida (berupa 7 sampai 14 asam amino) yang akan berikatan dengan molekul MHC (*major histocompatibility complex*) kelas II. Tempat sintesis MHC kelas II ini di vesikel Golgi. Dengan gerakan intraseluler, endosom yang mengandung peptida bergabung (*intersect*) dengan vesikel yang berisi molekul MHC kelas II dan membentuk ikatan non kovalen.

Fusi antara endosom dengan membran plasma akan mengekspresikan kompleks peptida dan MHC kelas II di permukaan sel penyaji.¹¹ Tipe polimorfik molekul MHC kelas II yang diekspresikan oleh tiap-tiap individu akan menentukan afinitas molekul terhadap peptida antigenik spesifik, yang akan berperan pada respon sistem imun terhadap protein spesifik.

Sel penyaji antigen ini berjalan melintasi adenoid, tonsil dan limfonodi regional. Pada area sel T limfonodi, antigen dipresentasikan kepada sel Th 0 yang baru keluar dari timus. Diduga sel Th 0 ini mengekspresikan tanda permukaan sel yang dapat membuat sel tersebut tinggal di pembuluh darah mukosa saluran nafas. Pada penderita dengan kecenderungan atopik, reseptor antigen spesifik sel Th 0 (TCR) bersama molekul CD4

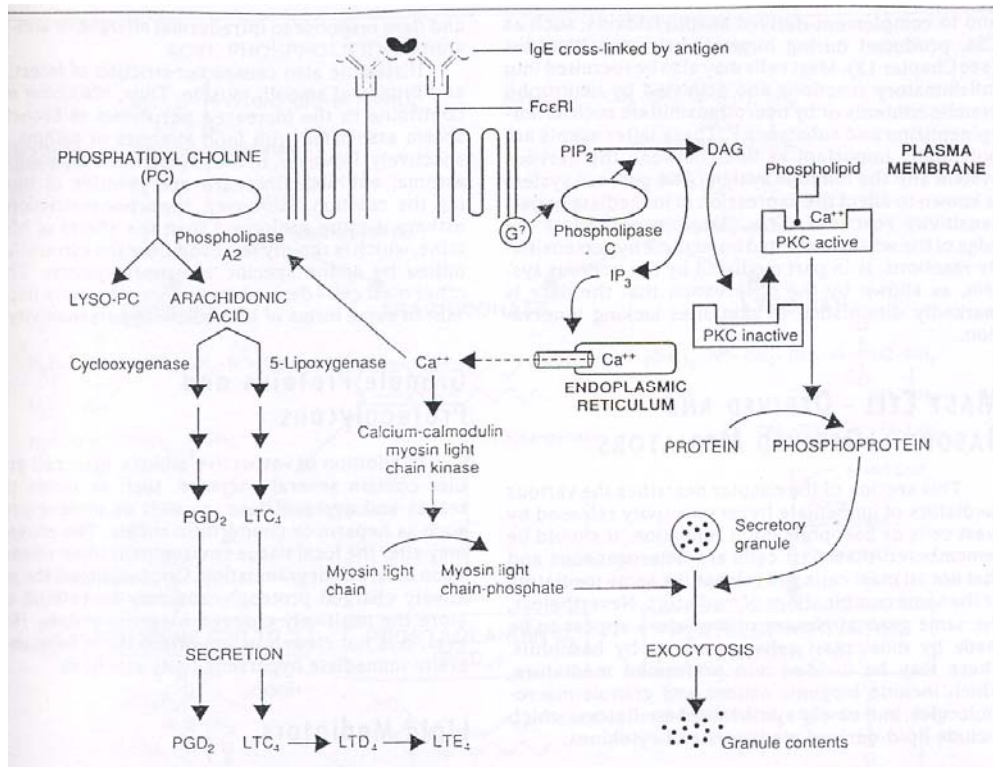
dapat mengenali peptida antigen yang dipresentasikan oleh MHC kelas II sel penyaji. Kontak simultan yang terjadi antara reseptor sel T (TCR) bersama CD4 dengan MHC kelas II, CD 28 dengan B7 serta molekul asesori pada sel T (CD2, LFA-1) dengan ligand pada sel penyaji antigen, memicu terjadinya rangkaian aktivitas pada membran sel, sitoplasma maupun nukleus sel T yang hasil akhirnya berupa produksi sitokin.^{12,13} Berdasar sitokin yang dihasilkan, sel T CD4⁺ dapat mengalami polarisasi menjadi sel Th 1 dan atau sel Th 2 yang tergantung dari tipe antigen, dosis, tipe sel APC, *microenvironment sitokin*, sinyal kostimulator yang diterima sel T dan faktor genetik.¹⁴ Pada individu yang atopik sel T CD4⁺ mengalami polarisasi menjadi sel Th 2 dan akan menghasilkan berbagai sitokin antara lain IL-3, IL-4, IL-5, IL-9, IL-10, IL-13, GM-CSF yang akan mempertahankan lingkungan pro atopik (terutama IL-4) yaitu menginduksi sel B yang memproduksi IgE dan menghambat produksi sitokin sel Th 1. Paparan alergen dosis rendah yang terus menerus dan presentasi alergen oleh sel penyaji antigen (APC) kepada sel B disertai adanya pengaruh sitokin IL-4 maka sel B akan memproduksi IgE yang terus bertambah yang akan

beredar bebas dalam sirkulasi, berikatan dengan reseptornya (*high affinity receptors*, FcεRI) di sel basofil dan sel mast, yang kemudian keluar dari sirkulasi berada dalam jaringan termasuk mukosa hidung. Dalam fase ini maka seseorang sudah dalam keadaan sensitif / tersensitisasi.¹²

2.1.2 Fase elisitasi.

Terjadinya gejala-gejala rinitis alergi ditandai dengan dimulainya aktivasi sel mast yang diakibatkan oleh paparan ulang alergen serupa pada mukosa yang sudah sensitif. Terjadi *cross-linking* pada molekul FcεRI, oleh karena adanya ikatan / *bridging* antara dua molekul IgE pada permukaan sel mast dengan alergen (multivalen / bivalen). Akibatnya terjadi aktivasi *guanosine triphosphate (GTP) binding (G) protein* yang mengaktifkan enzim *phospholipase C* untuk mengkatalisa *phosphatidyl inositol biphosphat (PIP2)* menjadi *inositol triphosphate (IP3)* dan *diacylglycerol (DAG)* pada membran PIP2. IP3 menyebabkan pelepasan ion calcium intraseluler (Ca^{2+}) dari retikulum endoplasma. Ca^{2+} di sitoplasma secara langsung mengaktifkan

beberapa enzim seperti *phospholipase A*, dan kompleks Ca^{2+} - calmodulin mengaktifkan enzim *myosin light chain kinase*. Ca^{2+} dan DAG bersama dengan membran phospholipid mengaktifkan *protein kinase C*. Sehingga hasil akhir aktivasi ini terbentuknya *lipid mediators (newly formed mediators)* seperti prostaglandin D2 (PGD2), leukotrien C4 (LCT4), dan *platelet activating factor* dan *exocytosis* sekresi granula yang berisi mediator kimia (*preformed mediators*) seperti histamin, triptase, bradikinin. Histamin merupakan mediator penting yang dihasilkan dari degranulasi sel mast, merupakan penyebab lebih dari 50% gejala rinitis alergi. Histamin dimetabolisme oleh *histamin N-methyltransferase (HMT)* pada sel epitel maupun endotel.^{11,12}



Gambar 1. Rangkaian proses aktivasi sel mast¹¹

Reseptor histamin H1 terdapat di sel endotel, yang apabila diinduksi dapat menyebabkan kenaikan permeabilitas kapiler dan rinore. Selain itu histamin juga terikat pada reseptor H1 di saraf *nociceptive* tipe C. Saraf ini secara luas bercabang di epitel dan submukosa. Neuron berasal dari cabang pertama dan ke dua nervus trigeminus. Salah satu fungsi penting dari saraf *nociceptive* mengaktifkan pusat gatal, menggerakkan reflek sistemik seperti bersin-bersin dan reflek parasimpatik yang mengakibatkan

peningkatan sekresi kelenjar. Gejala - gejala hidung gatal, rinore, kongesti dan bersin yang disebabkan pelepasan mediator kimia oleh sel mast akibat paparan alergen disebut reaksi fase cepat.¹²

Apabila mediator-mediator telah mengalami metabolisme dan dibersihkan dari mukosa, gejala-gejalanya akan berkurang. Tetapi setelah reaksi fase cepat, adanya pelepasan sitokin dan aktivasi sel endotel mengakibatkan terjadinya reaksi fase lambat yang terjadi antara 4 – 6 jam setelah paparan alergen dan menetap selama 24 – 48 jam. Keadaan ini secara klinik ditandai adanya penebalan mukosa hidung yang dapat dideteksi dengan adanya kenaikan resistensi *nasal air flow* dengan sedikit perubahan pada gejala hidung lainnya. Gambaran khas reaksi fase lambat ditandai tertariknya berbagai sel inflamasi khususnya eosinofil pada mukosa hidung. Kenaikan eosinofil dapat ditunjukkan dengan meningkatnya kadar *eosinophil cationic protein* (ECP) dan produk eosinofil lainnya pada sekresi hidung.¹²

Mekanisme tertariknya eosinofil sampai ke lokasi alergi dipengaruhi sekresi sitokin oleh sel mast, eosinofil dan sel Th 2, yang dapat meningkatkan ekspresi molekul adhesi endotel (IL-3,

IL-4, IL-5, GM-CSF) dan *eosinofil chemoattractant* (eotaxin, IL-5, RANTES). Oleh karena pengaruh IL-3, IL-5 dan GM-CSF dapat meningkatkan *survival* eosinofil di jaringan. Eosinofil dalam perjalanannya dari sirkulasi sampai ke lokasi alergi melalui beberapa tahap yaitu perpindahan eosinofil dari tengah ke tepi dinding pembuluh darah dan berikatan secara reversibel dengan sel endotel (*rolling*) yang disebabkan interaksi antara E-selectin dengan glikoprotein eosinofil. Selanjutnya oleh karena pengaruh sitokin (IL-4) terjadi peningkatan ekspresi molekul adhesi endotel seperti ICAM-1 (*inter cell adhesion molecule-1*), VCAM-1 (*vasculer cell adhesion molecule-1*). VCAM-1 bersifat spesifik terhadap perlekatan eosinofil karena eosinofil mengekspresikan VLA-4 yang akan berikatan dengan VCAM-1, sehingga ekspresi VCAM-1 meningkat pada rinitis alergi. Dengan adanya ikatan antara VCAM-1 dan VLA-4 ini eosinofil semakin kuat melekat pada endotel, kemudian terjadi perubahan bentuk dan diikuti migrasi eosinofil keluar dari pembuluh darah lewat celah antara sel endotel (*diapedesis*) untuk selanjutnya menuju lokasi alergi.^{12,15}

Tertariknya eosinofil ditempat alergi menyebabkan perubahan mukosa saluran nafas. Pengelepasan granula eosinofil yang

mengandung berbagai macam mediator kimia yaitu *major basic protein (MBP)*, *eosinophil cationic protein (ECP)*, *eosinofil-derived neurotoxin (EDN)* dan *eosinophil peroxidase (EPO)* yang berikatan dengan proteoglikan dan hyaluran membrana basalis menyebabkan disagregasi sel dan deskuamasi epitel. Protein ini juga merusak membran sel yang berakibat kematian sel. EDN dapat menginaktivasi saraf mukosa dan EPO menyebabkan kerusakan sel oleh karena radikal bebas.¹²

2.2 KONSEP KESEIMBANGAN TH 1 DAN TH 2

Menurut Mosmann dan Coffman (1986), pada klon sel Th (CD4⁺) mencit dapat dibagi atas 2 subset fungsional yaitu sel Th 1 dan sel Th 2, berdasarkan sitokin yang dihasilkan. Kemudian paradigma ini ternyata juga terjadi sel Th manusia.^{11,16} Sel Th 1 berperan penting pada imunitas seluler sedang sel Th 2 berperan dalam imunitas humoral dan penyakit alergi. Terjadi hubungan yang berlawanan antara sel Th 1 dan sel Th 2. Sel Th 1 menghasilkan sitokin IFN- γ dan IL-2 yang akan menstimulasi sel sitotoksik dan makrofag dalam imunitas seluler. Sebaliknya sel Th 2 menghasilkan sitokin IL-4, IL-10 dan sitokin lain (IL-3, IL-5, IL-13) yang menstimulasi sel B untuk menghasilkan imunoglobulin. Makrofag menghasilkan IL-12 yang menstimulasi perkembangan sel Th 1, sedangkan IL-4 menstimulasi perkembangan sel Th 2. Hubungan sitokin yang dihasilkan sel Th 1 dan sel Th 2

ini bersifat timbal balik, IFN- γ menghambat perkembangan sel Th 2 sedang IL-4 menghambat perkembangan dan aktivitas sel Th 1. IFN- γ dianggap prototipe sitokin sel Th 1 dan IL-4 merupakan prototipe sel Th 2, oleh karena disamping berefek pada sel target, kedua sitokin tersebut dapat meningkatkan diferensiasi sel Th 0 menjadi sel Th 1 dan sel Th 2.³

2.3 PERAN SITOKIN PADA RINITIS ALERGI

Sitokin adalah protein yang disekresi oleh sel yang bekerja pada sel penghasil sendiri (*autocrin*) atau pada sel target (*paracrin*). Istilah ini diperkenalkan oleh Stanley Cohen (1974) untuk merujuk suatu faktor yang diproduksi sel ('*cyto*') yang bekerja pada sel target. Sedang interleukin menunjukkan suatu sitokin yang diproduksi oleh suatu lekosit dan berefek pada lekosit itu sendiri atau lekosit yang lain.^{11,16} Terdapat sejumlah besar sitokin yang berperan pada alergi, namun yang akan dibahas hanya sebagian yang penting saja.

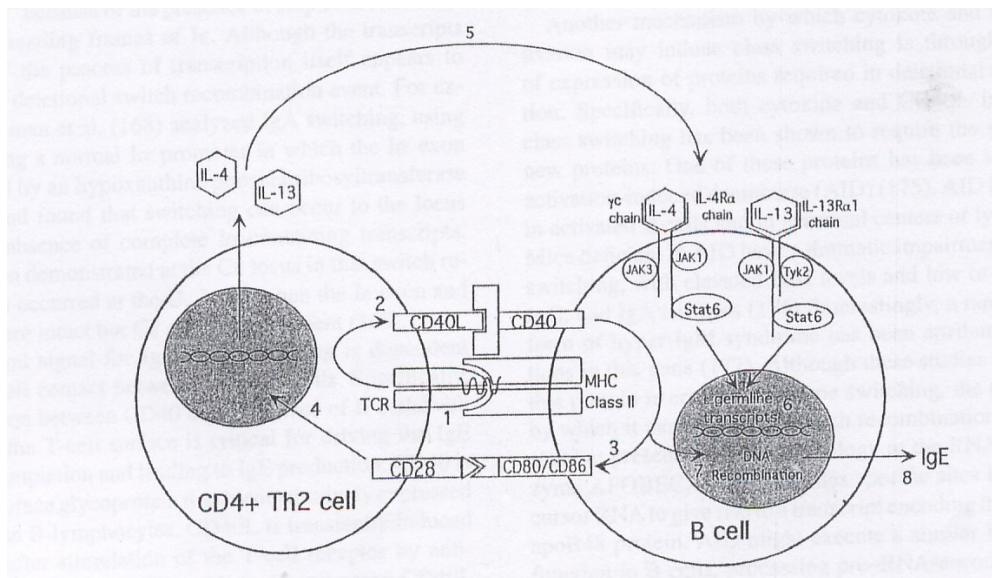
2.3.1 INTERLEUKIN – 4 (IL-4)

IL-4 pada manusia merupakan glikoprotein (terdiri 129 asam amino) dengan ukuran 18-20 kD yang diproduksi oleh sel T, sel mast dan basofil. Gen pengkode terletak pada kromosom 5 (5q23-31). Reseptornya sebagian besar terdapat pada

sel T dan sel B, sel mast, basophil, makrofag, dan sel endotel, yang terdiri protein IL-4R α dan γc dengan ukuran 145 kD. IL-4 mempunyai efek *pleiotropic*, produksinya cepat dan bersifat transien, dapat dideteksi dalam 1-5 jam dan ekspresinya hilang setelah 24 - 48 jam.^{11,16,17,18}

IL-4 merupakan sitokin yang memegang peranan penting dalam penyakit alergi, dengan beberapa fungsi antara lain :

1. Sebagai faktor yang memacu perkembangan dan diferensiasi sel B, yang akan menghasilkan IgE dan IG₄. Sitokin IL-4 yang diketahui sebagai sitokin yang menginduksi *IgE isotype switch* (sehingga disebut *IgE isotype switching factor*). Produksi IgE ini memegang peran utama dalam penyakit alergi. Selain itu pada sel B, IL-4 juga meningkatkan CD 23, MHC kelas II, IL-4R, CD40, IL-2R, dan Thy-1.^{11,17,19}



Gambar 2. Peran IL-4 sebagai faktor yang menginduksi produksi Ig E. ¹⁹

2. Faktor pertumbuhan (*autocrine*) untuk klon sel T CD4⁺ yang akan memproduksi IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13 dan berlawanan dengan klon sel yang menghasilkan IL-2, IFN- γ , dan limpotoxin. ^{11,17}
3. Meningkatkan reseptor high affinity Ig E pada sel mast. ²⁰
4. Meningkatkan reseptor low affinity IgE pada sel B dan sel mast. ²⁰
5. Meningkatkan ekspresi VCAM-1 pada sel endotel. ^{17,18,20}

2.3.2 INTERLEUKIN - 13 (IL-13)

IL-13 adalah suatu sitokin dengan ukuran 12 kD yang dihasilkan oleh sel T yang teraktivasi. Gen pengkode terletak pada kromosom 5_q31, bersama dengan kelompok sitokin IL-4, IL-5. Reseptor IL-13 adalah heterodimer terdiri rantai IL-4R α dan protein dengan berat 65-70 kD yang disebut IL-13R α 1, dan memerlukan protein binding IL-13R α 2. IL-13R diekspresikan pada sel makrofag, sel B, eosinofil, sel mast, sel endotel, fibroblast, epitel saluran nafas. ¹⁶

Efek biologik IL-13 memiliki sejumlah kemiripan dengan IL-4, oleh karena berbagi reseptor yang sama pada IL-4R. Kedua sitokin diketahui berperan pada kejadian alergi dengan mengatur *isotype class switching* pada sel B untuk menghasilkan Ig E, menginduksi ekspresi MHC kelas II dan CD 23, menginduksi VCAM 1, eotaksin, mengaktivasi sel mast dan eosinofil. ^{11,16}

2.3.3 INTERLEUKIN - 5 (IL-5)

IL-5 adalah sitokin dengan ukuran sekitar 20 kD yang diproduksi oleh sel T CD4⁺ dan sel mast yang teraktivasi. IL-5 berinteraksi dengan reseptor spesifik IL-5Rs suatu heterodimer yang mengandung IL-5R α dan rantai α β (CD 131) yang berbagi dengan GM-CSFR dan IL-3R.^{11,16}

Fungsi IL-5 yang paling penting adalah kemampuan untuk menstimulasi pertumbuhan dan diferensiasi eosinofil dan aktivasi sel eosinofil matur.¹¹ IL-5 juga bersifat kemotaktik terhadap eosinofil, menyebabkan sekresi eosinofil dan meningkatkan *antibody dependent cytotoxicity*. Mekanisme lain menyebabkan akumulasi eosinofil pada kelainan alergi dengan kemampuannya meningkatkan respon kemokin dan $\alpha_d \beta_2$ integrin pada eosinofil, yang mengakibatkan pengikatan terhadap VCAM-1 yang diekspresikan sel endotel dan selanjutnya terjadi migrasi eosinofil melewati celah endotel (*diapedesis*).^{11,16}

2.3.4 INTERFERON GAMMA (IFN- γ)

IFN- γ adalah suatu glikoprotein dengan ukuran 21 – 24 kD diproduksi oleh sel NK, sel Th 1 yang teraktivasi, dan sel sitotoksik. Gen pengkode terletak pada kromosom 12, reseptornya diekspresikan pada semua sel kecuali eritrosit. IFN- γ dikenal mempunyai efek antivirus dan antiproliferasi.^{11,16} Selain itu pada penelitian *in vitro* dapat meningkatkan IgG₂ dan menghambat respon Ig E.²¹

Beberapa fungsi dari IFN- γ antara lain :

- 1. aktivator yang poten pada fagosit mononuklear. Secara langsung menginduksi sintesis enzim yang diperantarai**

kerusakan saluran nafas, yang mengakibatkan makrofag memfagositosis mikroba.¹¹

2. meningkatkan ekspresi molekul MHC kelas I dan MHC kelas II.¹¹

3. aktivator poten terhadap sel NK, netrofil, sel endotel vaskuler.¹¹

Produksi IFN- γ oleh sel Th 1 yang teraktivasi ditentukan oleh pengaruh lingkungan mikrositokin yang ada (IL-12). IFN- γ dan IL-12 terlibat dalam keputusan polarisasi sel Th 0 ke sel Th 1, sedangkan IL-4 kearah sel Th 2.^{3,14}

2.3.5 INTERLEUKIN - 12 (IL-12)

IL-12 strukturnya suatu kovalen dimer dari peptida 35 dan 40 kD. Untuk produksinya, sel memerlukan cetakan dari dua gen, yaitu gen p35 dan p 40 yang terletak pada kromosom 3p12-13.2 (gen p35) dan kromosom 5q31-33 (gen 40). IL-12 diproduksi oleh sel dendrit, neutrofil, dan makrofag yang dipicu secara langsung oleh lipopolisakarida atau produk mikroorganisme patogen.^{11,22}

Beberapa fungsi penting dari IL-12 antara lain :

1. Merupakan mediator paling penting untuk menginduksi diferensiasi sel Th 0 menjadi sel Th 1 dan secara langsung memacu sekresi IFN- γ oleh sel Th 1. Sementara itu IL-12 secara aktif terpicu di dalam makrofag dan monosit oleh IFN- γ sehingga respon Th 1 distabilkan oleh suatu jalur *feedback* positif.¹¹

2. Salah satu pengatur imunitas seluler dengan mengaktifkan sel NK.^{11,16}

Gangguan kerja IL-12 mengakibatkan tidak ada respon Th 1 yang persisten, sementara itu produksi IL-12 oleh monosit dapat ditekan oleh sitokin IL-4.

Dari polarisasi sel Th 0 menjadi sel Th1 atau sel Th 2 dapat menjelaskan penyimpangan imunitas yaitu hubungan timbal balik antara imunitas humoral dan seluler, juga menjelaskan penyakit alergi sebagai akibat produksi sitokin yang berlebihan dari sel Th 2.

Sel Th 0 yang sudah mengalami diferensiasi penuh menjadi sel efektor Th1 atau Th 2 akan memproduksi sitokin yang relatif tetap, demikian juga sel Th memori yang sudah mengalami polarisasi. Sementara sel memori yang belum mengalami polarisasi, profil sitokin dapat dirubah sesuai dengan lingkungan mikrositokin yang ada, dengan demikian sel memori Th 2 dapat menghasilkan sitokin Th 1 jika diaktifkan bersamaan dengan IL-12 yang merupakan pemicu IFN- γ yang poten. Penemuan yang menunjukkan bahwa profil sitokin dari populasi sel memori relatif fleksibel dan dapat dirubah merupakan suatu konsep penting dan berarti untuk pengobatan penyakit alergi.¹⁴

2.4 HUBUNGAN BCG DENGAN PENYAKIT ALERGI

Sekarang diketahui adanya hubungan yang bersifat timbal balik antara sel Th 1 dan sel Th 2. Penyakit alergi terdapat dominasi sel Th 2 yang menghasilkan IL-4, IL-5 yang mengakibatkan peningkatan produksi Ig E dan inflamasi mukosa karena eosinofil. Sedangkan infeksi TBC dan vaksin BCG

merupakan pemicu polarisasi sel Th 1 yang kuat, lipoprotein mikobakteria terikat pada *Toll like receptors* (TLRs) makrofag dan interaksi ini menyebabkan peningkatan sintesis IL-12, dan kemudian diikuti *switching* ke arah sel Th 1 dan sekresi IFN- γ , sitokin yang menghambat mekanisme imun sel Th 2 pada penelitian *in vivo* maupun *in vitro*.²³ Hubungan antara infeksi TBC dan respon BCG dengan kejadian penyakit alergi telah diteliti pada hewan percobaan maupun manusia dengan menunjukkan hasil yang berbeda.

Pada studi ekologi internasional yang menghubungkan laporan jumlah tuberkulosis yang berasal dari WHO dengan prevalensi gejala atopik pada 235.477 anak usia 13-14 tahun yang didasarkan kuisioner tertulis dan video ISAAC didapatkan peningkatan jumlah angka TBC 25/100.000 yang dihubungkan dengan penurunan absolut *wheezing* sebesar 4.7%, juga gejala rinokonjungtivitis alergi 12 bulan terakhir berhubungan terbalik dengan angka TBC.²⁴

Di Jepang dilaporkan pada anak-anak terdapat hubungan terbalik antara respon tuberkulin dan kejadian penyakit atopi. Anak-anak umur 6–12 tahun yang mempunyai respon tuberkulin

negatif, gejala penyakit atopi didapatkan 3 kali lebih banyak dibanding anak-anak dengan respon tuberkulin positif, kadar sitokin IL-4 lebih tinggi dibanding IFN- γ yang lebih rendah dibanding anak-anak dengan respon tuberkulin positif.⁸ Di Finlandia infeksi tuberkulosis pada anak dan dewasa muda dilaporkan berpengaruh pada prevalensi asma persisten dan penyakit alergi lain, khususnya wanita yang pernah terinfeksi TBC pada saat berusia kurang dari 16 tahun, sedang pada laki-laki yang berbeda bermakna hanya prevalensi asma persisten.²⁵

Data dari penelitian mengenai hubungan terbalik antara mikobakteria dengan atopi pada hewan percobaan (tikus) menunjukkan hasil yang sama, bahwa paparan mikobakteria dapat menekan efek sel Th 2. Paparan terhadap tikus yang telah dibuat alergi dengan ovalbumin terhadap preparat mikobakteria yang berbeda menghasilkan penekanan terhadap respon sel Th 2.

Injeksi *heat killed Mycobactera vaccae* subcutan, suatu mikobakteria lingkungan menginduksi kuat sel Th 1, menghambat produksi Ig E dan IL-5 oleh *splenic cells*.²⁶ Injeksi BCG intravena meningkatkan sintesis IFN- γ dan menghambat fenomena imun sel Th 2 meliputi sekresi IL-4, IL-5 dan Ig E, Ig

G₁, eosinofilia pada jalan nafas, dan kepekaan terhadap ovalbumin.²⁷ Hambatan terhadap alergi ovalbumin pada penelitian ini berhubungan dengan waktu paparan mikobakteria hubungannya dengan prosedur sensitisasi ovalbumin (BCG diberikan sebelum atau bersamaan dengan sensitisasi ovalbumin), dosis organisme, cara pemberian (BCG intranasal lebih efektif menghambat sensitisasi ovalbumin daripada intraperitoneal dan subkutan).

Hubungan vaksin BCG sebagai pengganti infeksi TBC dengan penyakit atopi dilaporkan dengan hasil yang tidak seragam. Di Gambia dilaporkan bahwa vaksin BCG yang diberikan pada bayi baru lahir sampai usia 2 bulan meningkatkan respon imun sel Th 1 yang disertai kenaikan IFN- γ dan tidak terbentuk IL-4 yang berbeda bermakna dibanding kontrol. Sebaliknya pada bayi yang tidak diberi vaksin BCG pada usia 2-4 bulan terbentuk IL-4.

Respon Th 1 masih dapat dijumpai sampai 1 tahun setelah vaksinasi BCG, sehingga data ini menunjukkan bahwa vaksin BCG mengaktifkan sel memori sel T.⁷ Hasil yang berbeda didapat pada pemberian vaksin BCG pada bayi baru lahir di Jerman dibanding dengan bayi yang tidak diberi vaksin BCG

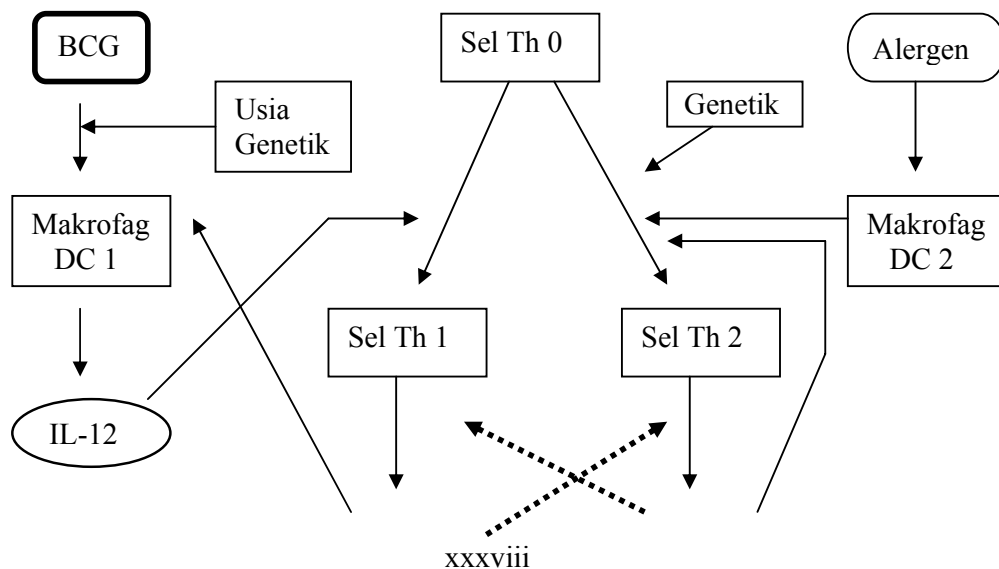
tidak ada perbedaan bermakna dengan kadar Ig E dan kejadian atopi.²⁸ Di Norwegia dilaporkan respon tuberkulin pada usia dewasa (20 – 44 tahun) yang diberi vaksin BCG pada usia 14 tahun tidak berhubungan dengan kejadian atopi yang dibuktikan dengan *skin prick test* dan kadar Ig E, disimpulkan oleh peneliti bahwa hubungan itu mungkin terjadi apabila paparan mikobakteria terjadi pada awal kehidupan, ketika pengaturan imun yang mendasar dapat terjadi.²⁹

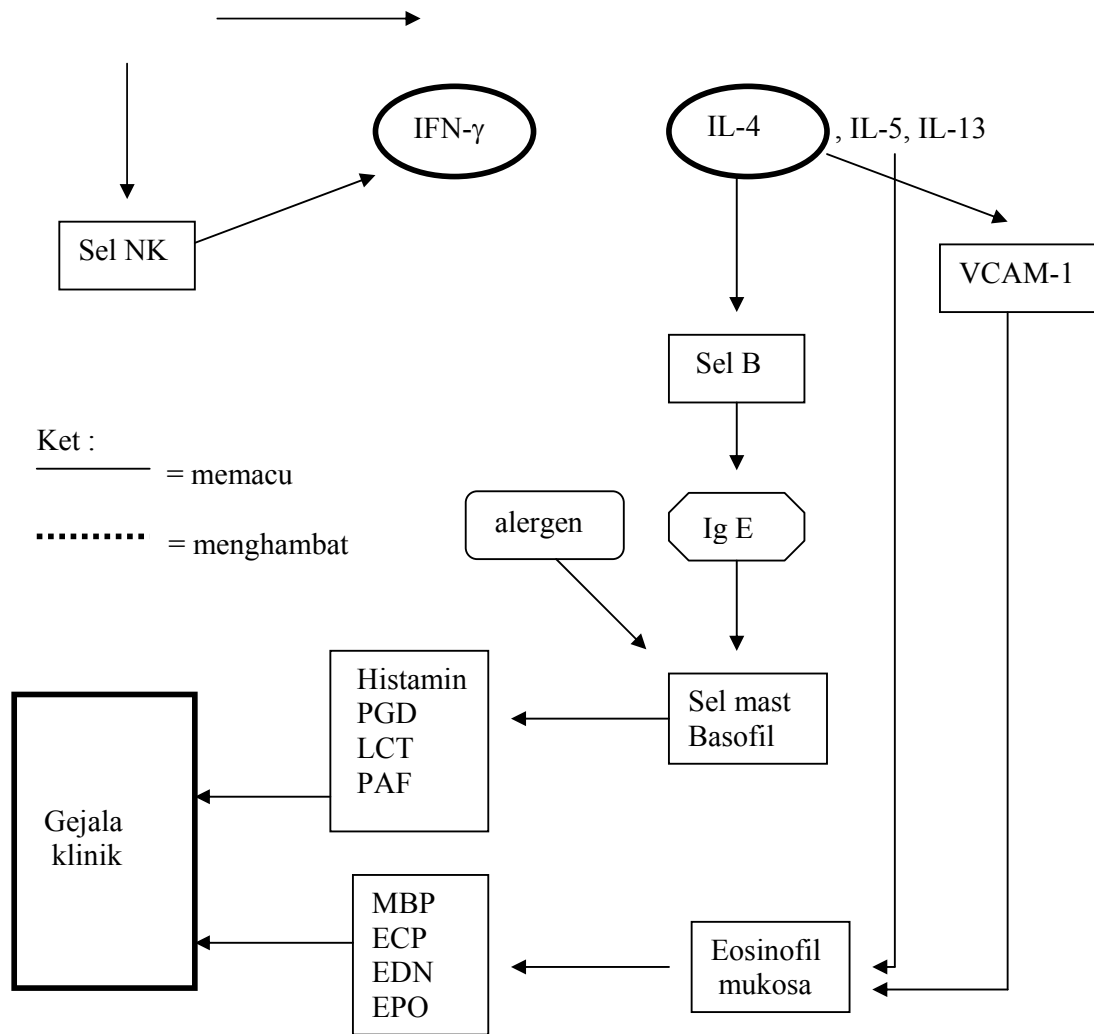
Injeksi suspensi *Mycobacterium vaccae* secara intradermal pada anak usia 5-18 tahun dengan dermatitis atopik derajat sedang-berat dilaporkan menghasilkan berkurangnya luas dermatitis secara bermakna pada evaluasi 1 dan 3 bulan setelah suntikan, tetapi tidak ada perubahan bermakna terhadap kadar Ig E dan jumlah eosinofil total dalam darah tepi.³⁰ Pemberian vaksin BCG perkutan dengan dosis $58,2 \times 10^7$ CFU pada penderita asma sedang-berat di Korea, dilaporkan dapat meningkatkan fungsi paru secara bermakna pada evaluasi 4, 8 dan 12 minggu, dan menaikkan rasio IFN- γ /IL-4.⁹

Pemberian vaksin BCG pada rinitis alergi belum pernah dilaporkan, tetapi pada penderita asma menghasilkan perbaikan

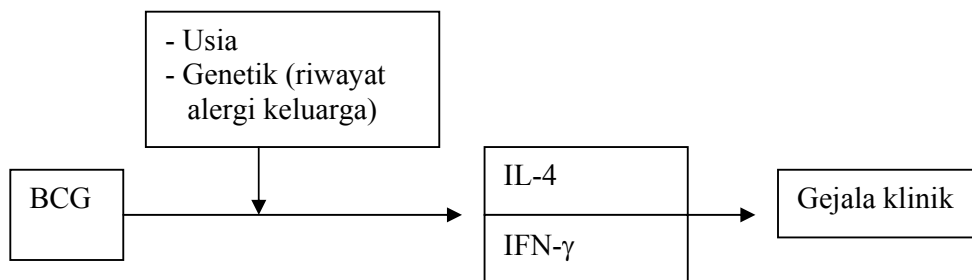
klinik yang bermakna.⁹ Berdasarkan efek pemberian vaksin BCG yang dapat menginduksi makrofag untuk menghasilkan sitokin IL-12 suatu sitokin yang dapat berperan mengubah polarisasi sel Th 0 ke sel Th 1, maka sitokin yang dihasilkan sel Th 1 (IFN- γ), akan dapat menghambat sitokin yang diproduksi sel Th 2 (IL-4). Sehingga penghambatan IL-4 ini dapat mencegah peningkatan Ig E dan menghambat migrasi eosinofil ketempat lokasi alergi, sehingga dapat menekan jumlah eosinofil mukosa. Mekanisme ini diharapkan dapat menyebabkan terjadinya perbaikan gejala klinik rinitis alergi.

2.5 KERANGKA TEORI





2.6 KERANGKA KONSEP



2.7 HIPOTESIS

Berdasarkan latar belakang permasalahan, tinjauan pustaka dan tujuan penelitian diajukan hipotesis sebagai berikut :

- 1. Vaksinasi BCG menurunkan kadar IL-4 dan meningkatkan kadar IFN- γ , sehingga dapat menurunkan rasio IL-4/ IFN- γ rinitis alergi.**
- 2. Vaksinasi BCG memperbaiki gejala klinik rinitis alergi.**

BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 JENIS PENELITIAN

Penelitian yang dilakukan merupakan penelitian intervensi dengan *randomized control group pretest – posttest design*. Studi ini mempelajari

pengaruh vaksin BCG pada rinitis alergi dengan menilai rasio IL-4/ IFN- γ dan perbaikan gejala klinik dibandingkan kontrol.

3.2 TEMPAT DAN WAKTU PENELITIAN

Penelitian dilakukan di klinik alergi bagian THT-KL RS Dr. Kariadi Semarang. Waktu penelitian : April 2004 sampai September 2005.

3.3 POPULASI DAN SAMPEL

3.3.1 Populasi kasus adalah semua penderita rinitis alergi derajat sedang-berat menurut kriteria WHO yang berobat di klinik alergi bagian THT RS Dr. Kariadi Semarang.

3.3.2. Cara pemilihan calon sampel

Pengambilan sampel dengan cara *consecutive sampling*. Pemilihan untuk tiap-tiap kelompok dipakai secara acak dengan menggunakan tabel random.

3.3.3. Besar sampel

Besar sampel untuk uji hipotesis terhadap rerata dua populasi adalah :³¹

$$n_1 = n_2 = 2 \left[\frac{(Z_\alpha + Z_\beta) S}{(x_1 - x_2)} \right]^2$$

S : simpang baku dua kelompok

$X_1 - X_2$: perbedaan klinis yang diinginkan

α : tingkat kemaknaan Z_β : *power*.

Menurut laporan penelitian Choi SL dan Koh YI⁹, dengan simpang baku dua kelompok sebesar 0,55 pg/ml, dan perbedaan kadar IL-4 = 0,5 pg/ml dianggap berarti, maka dengan $\alpha = 0,05$ dan $power = 80\%$ didapat $Z\alpha = 1,96$ $Z\beta = 0,842$; $S = 0,55$; $X1 - X2 = 0,5$
Didapatkan jumlah sampel satu kelompok (n) sebesar : 18,9 dibulatkan sebesar 19. Dengan perhitungan *drop out* 10 %, maka jumlah sampel masing - masing satu kelompok minimal 21.

3.4 KRITERIA INKLUSI DAN EKSKLUSI

3.4.1 Kriteria inklusi

- 1. Penderita dengan hasil test kulit + 3 (sama dengan kontrol histamin) atau lebih dengan satu atau lebih dari alergen.**
- 2. Pria dan wanita.**
- 3. Umur penderita 15 –50 tahun.**
- 4. Tes PPD (*mantoux*) negatif.**
- 5. Bersedia ikut penelitian.**

3.4.2 Kriteria eksklusi

1. Sedang dalam penggunaan kortikosteroid yang lama.
2. Menderita penyakit TBC aktif, asma aktif/berat, hipertensi.
3. Menderita penyakit kulit yang berat
4. Sebelumnya mendapat imunoterapi
5. Sedang hamil atau menyusui.

6. Kelainan anatomi (septum deviasi, konka hipertropi) yang mengganggu hasil terapi

3.4.3 Kriteria *drop out*

1. Terjadi efek samping obat yang berat.
2. Pindah/mengundurkan diri selama periode penelitian.

3.5 VARIABEL

1. Variabel terikat adalah kadar IL-4, kadar IFN- γ , rasio IL-4/IFN- γ dan perubahan gejala klinik rinitis alergi.

2. Variabel bebas adalah pemberian BCG.

3. Variabel pengaruh adalah usia dan riwayat alergi keluarga.

3.6 DEFINISI OPERASIONAL

1. Rinitis alergi derajat sedang-berat menurut WHO adalah rinitis alergi intermiten (gejala kurang dari 4 hari/minggu, atau kurang dari 4 minggu) atau persisten (lebih dari 4 hari/minggu, dan lebih dari 4 minggu) yang didapatkan satu atau lebih dari hal-hal sebagai berikut : 1). gangguan tidur, 2). gangguan aktivitas sehari-hari 3). gangguan pekerjaan atau sekolah 4). gejala yang dirasakan mengganggu.
2. Kadar IL-4 dalam penelitian ini adalah kadar IL-4 yang diambil dari PBMC subyek penelitian menggunakan metode ELISA dengan satuan pg/ml.
Skala pengukuran : rasio.

3. Kadar IFN- γ dalam penelitian ini adalah kadar IFN- γ yang diambil dari PBMC subyek penelitian menggunakan metode ELISA dengan satuan pg/ml.
Skala pengukuran : rasio.
4. Rasio IL-4/ IFN- γ dalam penelitian ini adalah perbandingan antara kadar IL-4 dengan kadar IFN- γ .
Skala pengukuran : rasio.
5. Gejala klinik rinitis alergi adalah penilaian terhadap 4 keluhan hidung yaitu hidung gatal, bersin, hidung berair dan hidung tersumbat. Kemudian dari 4 gejala tersebut dilakukan skoring dari 0 sampai 3 :
0 : tanpa gejala
1 (ringan) : ada gejala tetapi tidak mengganggu
2 (sedang) : gejala mengganggu tapi aktivitas dan tidur masih normal
3 (berat) : gejala dirasakan mengganggu aktivitas dan tidur.
Skala pengukuran : ordinal
6. Hari bebas gejala adalah jumlah hari selama waktu penelitian dimana skor tertinggi masing-masing gejala pada hari tersebut adalah 0 .
Skala pengukuran : rasio
7. Hari nyaman adalah jumlah hari selama waktu penelitian dimana skor tertinggi masing-masing gejala pada hari tersebut adalah 1.
Skala pengukuran : rasio
8. Hari minum obat adalah jumlah hari selama waktu penelitian dimana penderita pada hari tersebut minum obat yang diberikan peneliti (dekongestan dan antihistamin)

Skala pengukuran : rasio

9. Vaksin BCG dalam penelitian ini adalah pemberian vaksin BCG dengan dosis 0,1 ml secara intrakutan pada subyek penelitian.

Skala pengukuran : nominal

10. Respon tes tuberkulin (*Mantoux test*) adalah PPD (*Purified Protein Derivat*), yang disuntikkan intrakutan dengan dosis 0,1 ml. Hasilnya dibaca setelah 72 jam berupa indurasi dengan diameter dalam mm.

Kriteria pembacaannya adalah : 1) negatif : diameter indurasi kurang dari 5 mm 2). intermediate : 5 – 10 mm 3). positif : lebih dari 10 mm.

11. Riwayat alergi keluarga adalah ada tidaknya manifestasi penyakit alergi pada keluarga subyek penelitian.

Skala pengukuran : nominal.

12. Lama sakit dalam penelitian ini adalah lama sakit sebelumnya yang dinyatakan dalam satuan bulan. Skala pengukuran : rasio

3.7 BAHAN DAN ALAT PENELITIAN.

1. Ekstrak alergen untuk tes tusuk kulit buatan LAPI Jakarta. Dikerjakan dengan cara intrakutan, yaitu dengan menyuntikan ekstrak alergen sehingga timbul bentol (*wheal*) dan eritema. Sebagai kontrol positif dipakai larutan histamin dan kontrol negatif dipakai larutan buffer fosfat yang merupakan pelarut alergennya. Reaksi histamin positif diberi skor 3+, buffer fosfat skor (-). Berbagai macam alergen disuntikan di regio volar lengan bawah, ditunggu 15 menit. Reaksi dibandingkan dengan kontrol (+) dan (-). Reaksi yang timbul

sama dengan histamin diberi skor 3+, lebih besar dari histamin 4+, reaksi antara keduanya diberi nilai 2+ dan 1+.

- 2. Vaksin BCG yang digunakan adalah vaksin BCG kering yang mengandung kuman hidup dari biakan Bacillus Calmette & Guerin Institut Pasteur Paris No. 1173 P2 buatan Biofarma Bandung. Vaksin dilarutkan dengan pelarutnya kemudian disuntikkan intrakutan di regio deltoid kiri dengan dosis 0,1 ml, sampai membentuk *wheal* berdiameter 8 – 10 mm.**
- 3. Pelikine Compact Human IL-4 dan Human IFN- γ ELISA kit, untuk mengukur kadar IL-4 dan IFN- γ .**
- 4. Kuisisioner data penderita dan catatan harian penderita yang berisi pertanyaan tentang skor berat ringannya gejala-gejala hidung dan catatan minum obat.**
- 5. PPD RT 23 (Purified Protein Derivat) buatan Biofarma Bandung, untuk memeriksa reaksi tes tuberkulin (mantoux test).**

3.8 CARA KERJA

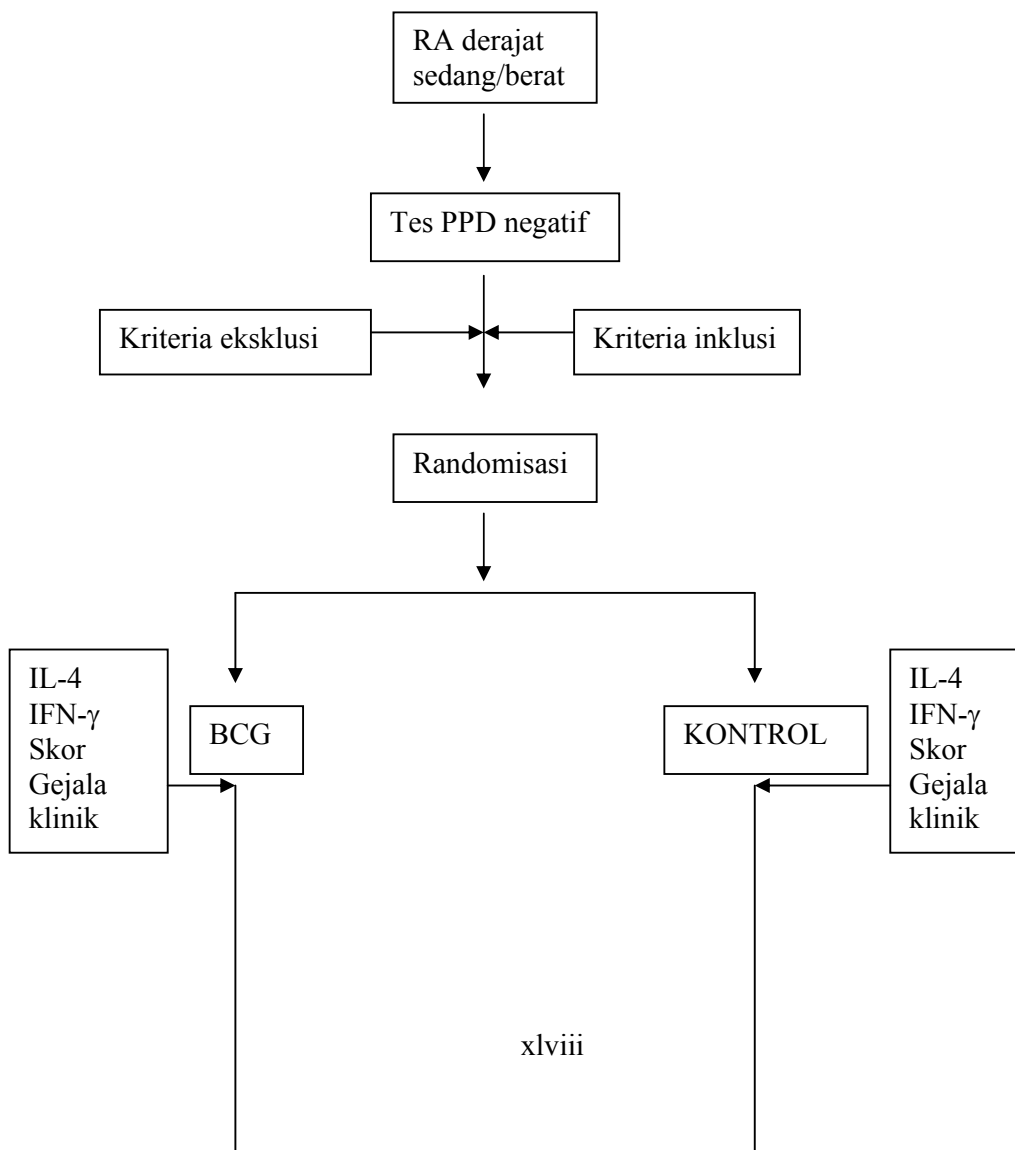
- 1. Penderita yang datang ke klinik alergi dan sesuai dengan derajat sedang-berat menurut kriteria WHO, dilakukan tes**

- alergi. Apabila hasilnya 3+ atau lebih dan memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi dimasukkan sebagai subyek penelitian.**
- 2. Kemudian dengan tabel random, dibagi menjadi kelompok perlakuan (vaksin BCG) dan kelompok kontrol.**
 - 3. Pada kedua kelompok dilakukan pengambilan darah untuk pemeriksaan kadar IL-4 dan IFN- γ , darah langsung dikirim ke laboratorium Biotek FK Undip. Juga dilakukan pencatatan skor gejala rinitis alergi berdasarkan panduan kuisioner. Kuisioner juga dibagi ke penderita untuk diisi tiap hari oleh penderita sampai waktu penelitian berakhir (8 minggu).**
 - 4. Pada kelompok perlakuan dilakukan penyuntikan vaksin BCG intrakutan di regio deltoid kiri dengan dosis 0,1 ml. Kelompok kontrol dilakukan penyuntikan dengan menggunakan pelarut BCG secara intrakutan sebanyak 0,1 ml. Keluhan setelah suntikan apabila ada ditulis pada kuisioner catatan harian yang dibawakan penderita.**
 - 5. Pada kedua kelompok dibawakan obat dekongestan dan antihistamin yang boleh diminum apabila subyek penelitian mengalami gejala hidung dan tidak bisa diatasi tanpa harus minum obat. Setiap minum obat harus ditulis di kuisioner.**

6. Subyek penelitian dianjurkan untuk kontrol minimal tiap dua minggu untuk menilai efek atau efek samping pengobatan.

7. Pada akhir penelitian (setelah 8 minggu dari tahap awal) dilakukan pengambilan ulang darah dan penghitungan jumlah hari bebas gejala dan hari nyaman berdasarkan skor gejala tertinggi tiap penderita pada pada kedua kelompok.

3.9 ALUR PENELITIAN



**8 minggu
skor gejala,
minum obat
dicatat setiap
hari**

**8 minggu
skor gejala,
minum obat
dicatat setiap
hari**

IL-4
IFN- γ
Skor gejala klinik

IL-4
IFN- γ
Skor gejala klinik

3.10 ETIKA

Dilakukan : - *informed consent*

**- penghentian penelitian apabila : pasien menolak
melanjutkan penelitian atau terjadi efek samping
obat yang merugikan penderita.**

3.11 RANCANGAN ANALISIS DATA

Analisis data dengan menggunakan program SPSS yang terdiri

dari :

1. Diskriptif :

- Variabel dengan skala kategorikal dinyatakan dalam distribusi frekwensi dan persentase.

- Variabel dengan skala numerik dinyatakan dalam median.

2. Analisis untuk uji hipotesis :

- Menguji perbedaan kadar IL-4, IFN- γ dan rasio IL-4/ IFN- γ dalam kelompok dengan *Wilcoxon ranks signed test*, dan antar kelompok dengan *Mann-Whitney U test*.

- Menguji perbedaan skor gejala klinik dalam kelompok dengan *Wilcoxon ranks signed test*, dan perubahan gejala klinik antar kelompok dengan *Mann-Whitney U test*.

- Perbedaan jumlah hari bebas gejala dan hari nyaman (*comfortable days*) dan jumlah hari minum obat antar kelompok digunakan *Mann-Whitney U test*.

3. Derajat kemaknaan apabila $p < 0,05$.

3.12 RINCIAN JADWAL PENELITIAN.

	B U L A N
--	------------------

KEGIATAN	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1. Persiapan	X											
2. Konsultasi	X											
3. Proposal	X											
4. Pengambilan data		X	X	X	X	X	X	X	X	X		
5. Tabulasi data											X	
6. Analisis data											X	
7. Penyusunan laporan											X	
8. Pembacaan laporan												X

BAB 4. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1 HASIL PENELITIAN

Penelitian dilakukan di klinik alergi Bagian / SMF THT-KL RS Dr. Kariadi Semarang. Dari 42 penderita rinitis alergi yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi serta bersedia mengikuti penelitian, 40 penderita menyelesaikan sampai akhir penelitian (21 penderita kelompok BCG dan 19 penderita kelompok kontrol), 2 penderita tidak melanjutkan oleh karena pindah alamat sehingga tidak dapat dihubungi dan satunya tidak bersedia kontrol kembali.

4.1.1 Karakteristik subyek penelitian

Secara deskriptif karakteristik sampel pada kedua kelompok digolongkan berdasarkan usia, jenis kelamin, riwayat alergi keluarga dan lama keluhan.

Tabel 1. Distribusi usia dan lama keluhan.

	Mean	SB	Median	Min	Max	<i>p</i>
Usia	26,2	7,81	23,5	15	44	0,010

tidak normal

Lama keluhan 49,8 34,96 36 6 120 0,010
 tidak normal

Shapiro – Wilk test

Dilihat dari perbedaan rerata dan median, serta besarnya angka simpang baku, tampak distribusi variabel usia dan lama keluhan tidak normal, hal ini dibuktikan dengan uji normalitas

Shapiro – Wilk yang bermakna ($p < 0,05$).

Tabel 2. Distribusi sampel menurut usia, jenis kelamin, lama keluhan dan riwayat alergi keluarga antara kelompok BCG dan kontrol.

Variabel	BCG (n = 21)	Kontrol (n = 19)
	<i>p</i>	
Median usia (tahun)	23	24
	0,696*	
Median lama keluhan (bulan)	36	39
	0,910*	
	Jenis kelamin (%)	
	0,343#	
Pria	7 (33,3)	10
	(52,6)	
Wanita	14 (66,7)	9 (47,4)
Riwayat alergi keluarga (%)		0,118#

Tidak ada	13 (61,9)	5 (26,3)
Ada	8 (38,1)	14 (73,7)

* *Mann Whitney U test*

test

Chi square

Distribusi berdasarkan usia antara dua kelompok tidak ada perbedaan bermakna ($p = 0,696$), lama keluhan antara dua kelompok tidak ada perbedaan bermakna ($p = 0,910$), jenis kelamin tidak ada perbedaan bermakna ($p = 0,343$), dan riwayat alergi keluarga tidak ada perbedaan bermakna ($p = 0,118$). Dengan demikian dapat dikatakan sampel pada kedua kelompok seimbang (Tabel 2).

4.1.2 Kadar IL-4 , IFN- γ dan rasio IL-4/IFN- γ

Dari jumlah sampel yang ada, tidak semua sampel dapat diperiksa kadar IL-4 dan IFN- γ . Kelompok BCG hanya 14 penderita dan kontrol hanya 9 penderita. Hal ini disebabkan antara lain oleh karena kultur darah yang tidak dapat diperiksa, hasil nilai pemeriksaan yang tidak terbaca, dan penderita yang menolak diambil darah yang kedua (pada minggu ke 8).

Tabel 3. Distribusi kadar IL-4, IFN- γ dan rasio IL-4/IFN- γ

	Mean	Median	SB	Min	Max	<i>p</i>
Distribusi						
IL-4	28,2	11,6	27,66	1,6	133,1	0,010
tidak normal						
IFN- γ	2347,9	1429,6	2630,56	205,9	8445	0,010
tidak normal						
Rasio IL4/IFN γ	0,0128	0,007	0,0118	0,0024		
0,057 0,010 tidak normal						
<i>Shapiro - Wilk test</i>						

Dilihat perbedaan mean dan median, serta besarnya simpang baku, tampak distribusi kadar IL-4, IFN- γ , rasio IL-4/IFN- γ tidak normal, hal ini dibuktikan dengan *Shapiro – Wilk test* yang bermakna ($p < 0,05$). Dengan demikian untuk analisis menggunakan statistik non parametrik yaitu untuk menilai perbedaan dalam kelompok menggunakan *Wilcoxon ranks signed test*, dan antar kelompok menggunakan *Mann Whitney U test*.

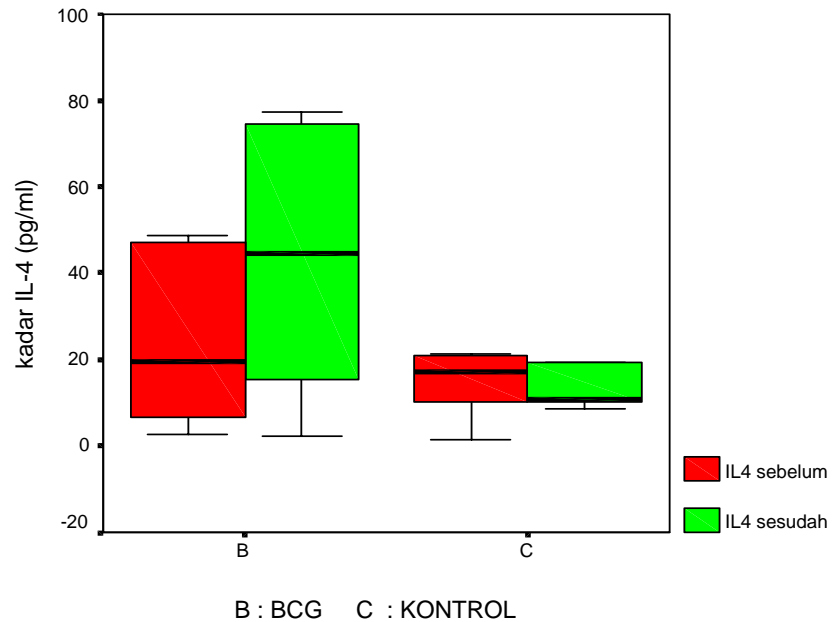
Tabel 4. Median kadar IL 4 sebelum dan sesudah pengobatan BCG dan kontrol.

BCG (n = 14) = 9)		Kontrol (n
IL-4 (pg/ml)		
sebelum	sesudah	sebelum
sesudah		

Median	19,7	44,6	15,5
		10,5	
Selisih kadar	8,2		4,7

Wilcoxon ranks signed test : dalam kelompok $p > 0,05$
Mann Whitney U test : antar kelompok $p > 0,05$

Hasil analisis median kadar IL-4 sebelum dan sesudah 8 minggu terjadi kenaikan pada kelompok BCG dan penurunan pada kontrol yang tidak bermakna (BCG $p = 0,136$; kontrol $p = 0,345$), untuk sebelum dan sesudah 8 minggu kelompok BCG dibanding kontrol juga tidak terdapat perbedaan bermakna (sebelum $p = 0,536$; sesudah $p = 0,241$), selisih kadar IL-4 kelompok BCG dibanding kontrol juga tidak berbeda bermakna ($p = 0,833$) (Tabel 4 dan gambar 3). Dengan demikian H1 yang menyatakan terdapat penurunan kadar IL-4 sesudah vaksinasi BCG pada rinitis alergi ditolak.



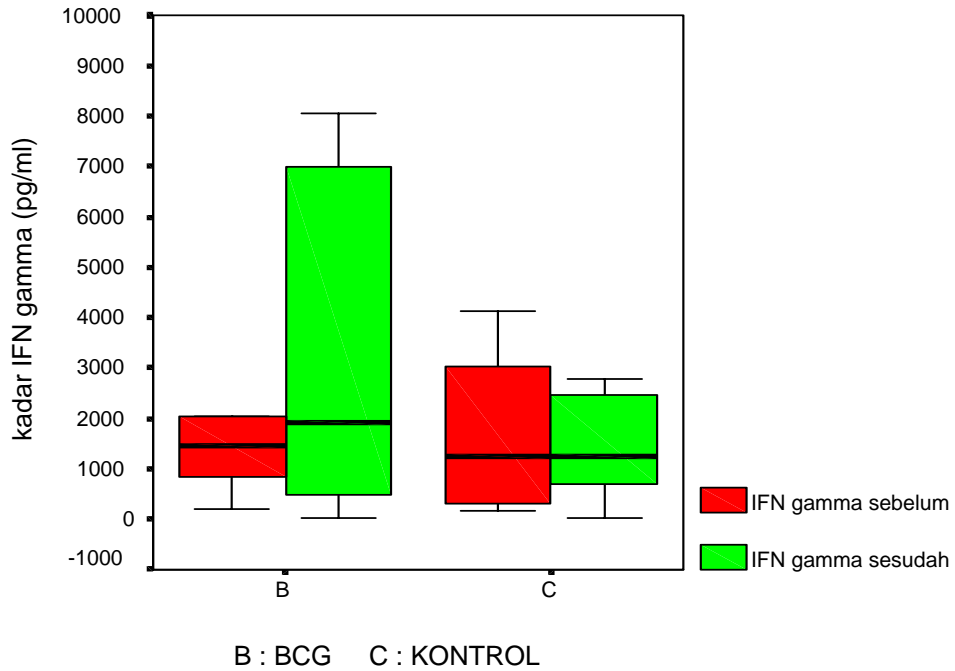
Gambar 3. Grafik median kadar IL-4 kelompok BCG dan kontrol

Tabel 5. Median kadar IFN- γ sebelum dan sesudah pengobatan BCG dan kontrol.

	BCG (n = 14) (n = 9)		Kontrol
	sebelum	sesudah	sebelum
Median	1446,8	1900,7	1699,4
		1250,5	
Selisih kadar	328,8		448,9

*Wilcoxon ranks signed test : dalam kelompok $p > 0,05$
Mann Whitney U test : antar kelompok $p > 0,05$*

Hasil analisis median kadar IFN- γ sebelum dan sesudah 8 minggu terjadi kenaikan pada kelompok BCG dan penurunan pada kontrol yang tidak bermakna (BCG $p = 0,975$; kontrol $p = 0,575$), untuk sebelum dan sesudah 8 minggu kelompok BCG dibanding kontrol juga tidak terdapat perbedaan bermakna (sebelum $p = 0,664$; sesudah $p = 0,600$), selisih kadar IFN- γ kelompok BCG dibanding kontrol juga tidak berbeda bermakna ($p = 0,682$) (Tabel 5 dan gambar 4). Dengan demikian H1 yang menyatakan terdapat kenaikan kadar IFN- γ sesudah vaksinasi BCG pada rinitis alergi ditolak.

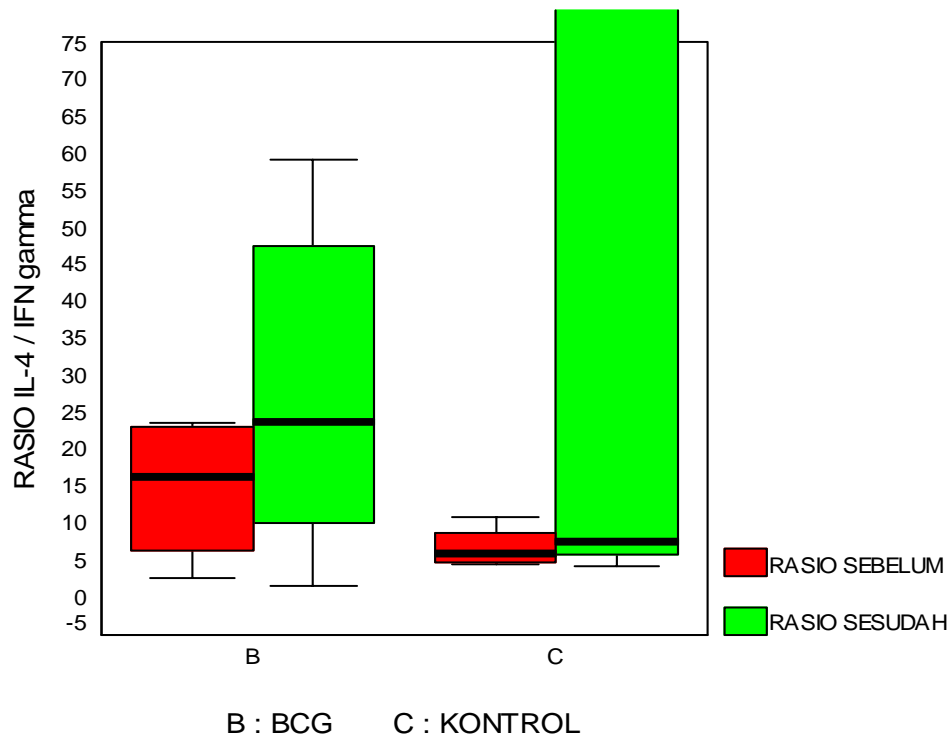


Gambar 4. Grafik median kadar IFN- γ kelompok BCG dan kontrol.

Tabel 6. Median rasio IL-4/IFN- γ sebelum dan sesudah pengobatan BCG dan kontrol.

	BCG (n = 14) (n = 9)		Kontrol
	sebelum	sesudah	sebelum
Median	0,016	0,023	0,006
		0,007	
Selisih rasio	0,0034		0,0004

*Wilcoxon ranks signed test : dalam kelompok $p > 0,05$
Mann Whitney U test : antar kelompok $p > 0,05$*



Gambar 5. Grafik median rasio IL-4/IFN- γ kelompok BCG dan kontrol (1000 X).

Hasil analisis median rasio IL-4/IFN- γ sebelum dan sesudah 8 minggu pada kelompok BCG dan kontrol terjadi kenaikan yang tidak bermakna (BCG $p = 0,480$; kontrol $p = 0,715$), untuk sebelum dan sesudah 8 minggu kelompok BCG dibanding kontrol juga tidak terdapat perbedaan bermakna (sebelum $p = 0,580$; sesudah $p = 0,135$), selisih rasio IL-4/IFN- γ kelompok BCG dibanding kontrol juga tidak berbeda bermakna ($p = 0,808$) (Tabel 6 dan gambar 5). Dengan demikian H1 yang menyatakan

terdapat penurunan rasio IL-4/ IFN- γ sesudah vaksinasi BCG pada rinitis alergi ditolak.

4.1.3 Skor Gejala Klinik (SGK)

Pada kelompok BCG median seluruh gejala sebelum dan sesudah 8 minggu tampak penurunan yang bermakna ($p < 0,05$) (Tabel 7).

Tabel 7. Median SGK sebelum dan sesudah 8 minggu kelompok vaksinasi BCG.

Gejala klinik	sebelum	sesudah	p
Bersin	2	1,2	< 0,001
Rinore	3	1,1	< 0,001
Tersumbat	3	0,9	< 0,001
Gatal	2	0,7	0,001
Gejala total	10	4	< 0,001

Wilcoxon ranks signed test

Pada kelompok kontrol median seluruh gejala sebelum dan sesudah 8 minggu tampak penurunan yang bermakna ($p < 0,05$)

(Tabel 8).

Tabel 8. Median SGK sebelum dan sesudah 8 minggu kelompok kontrol.

Gejala klinik	sebelum	sesudah	<i>p</i>
Bersin	3	1,6	< 0,001
Rinore	3	1,5	< 0,001
Tersumbat	3	1,6	0,001
Gatal	2	1	0,001
S G T	10	5,5	<0,001

Wilcoxon ranks signed test

Untuk menilai perbedaan masing – masing gejala antara kelompok BCG dengan kontrol, dihitung perubahan nilai SGK sebelum dan sesudah 8 minggu, kemudian hasilnya dianalisis.

Perubahan SGK antara kelompok BCG dibanding kontrol untuk gejala bersin, rinore, tersumbat, gatal, dan gejala total tidak ada perbedaan bermakna ($p > 0,05$), seperti tercantum pada

tabel 9. Dengan demikian H1 yang menyatakan terdapat perbaikan gejala klinik oleh vaksinasi BCG pada rinitis alergi ditolak.

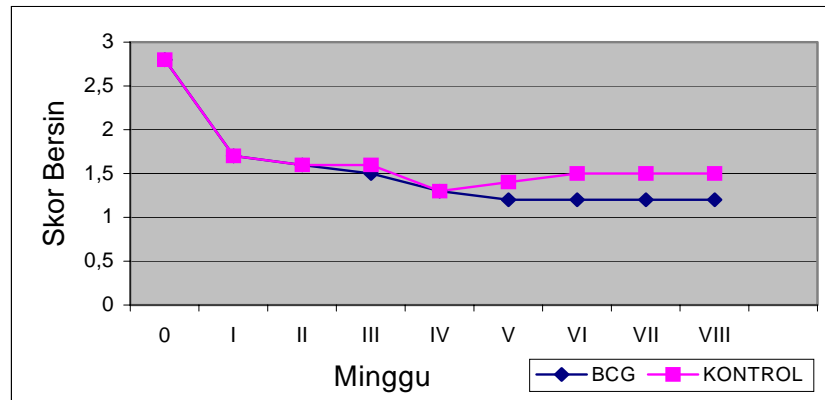
Tabel 9. Median perubahan SGK sebelum dan sesudah 8 minggu pada kelompok vaksinasi BCG dan kontrol.

Gejala klinik	BCG (n = 21)	kontrol (n =19)
	<i>p</i>	
Bersin	1,5 0,220	1,2
Rinore	1,4 0,145	1,1
Tersumbat	1,5 0,900	1,1
Gatal	1,2 0,265	0,8
Gejala Total	5,5 0,254	4,8

Mann Whitney U test

Untuk dapat lebih jelas melihat perbedaan gejala dibuat bentuk diagram garis untuk perubahan mingguan skor gejala

klirik untuk masing-masing gejala dan hasil analisis antar kelompok diperlihatkan pada gambar 6 – 10.

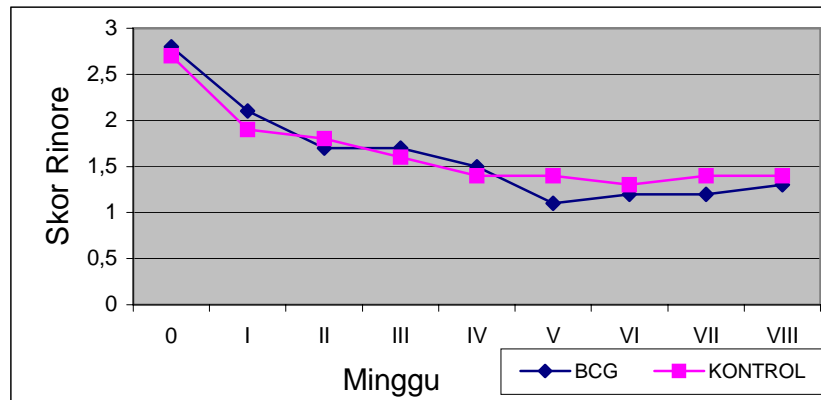


Gambar 6. Skor bersin setiap minggu selama pengobatan pada kelompok vaksinasi BCG dan kontrol (*Mann Whitney U test ; $p > 0.05$*).

Gejala bersin sebelum perlakuan dan pada minggu VIII pada kelompok BCG dan kelompok kontrol terjadi penurunan dengan perbedaan bermakna. Sedangkan gejala tiap minggu tidak terdapat perbedaan bermakna antara kelompok BCG dibanding kelompok kontrol (Gambar 6).

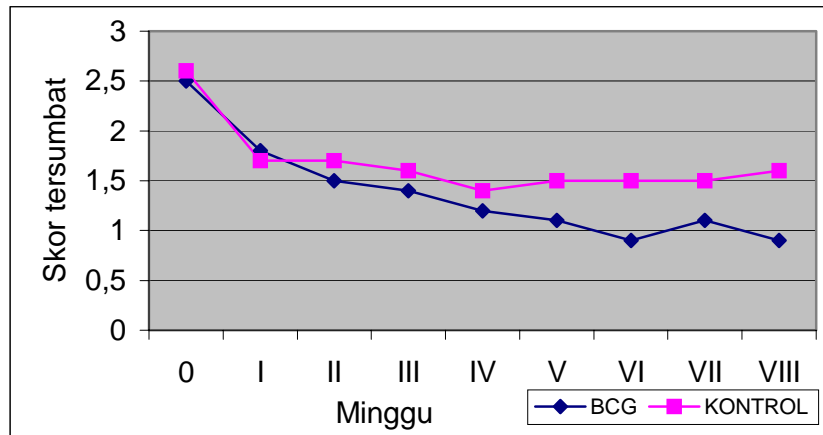
Pada gambar 7, tampak gejala rinore sebelum perlakuan dan pada minggu VIII pada kelompok BCG dan kelompok kontrol terjadi penurunan dengan perbedaan bermakna. Sedangkan

gejala tiap minggu tidak terdapat perbedaan bermakna antara kelompok BCG dibanding kelompok kontrol.



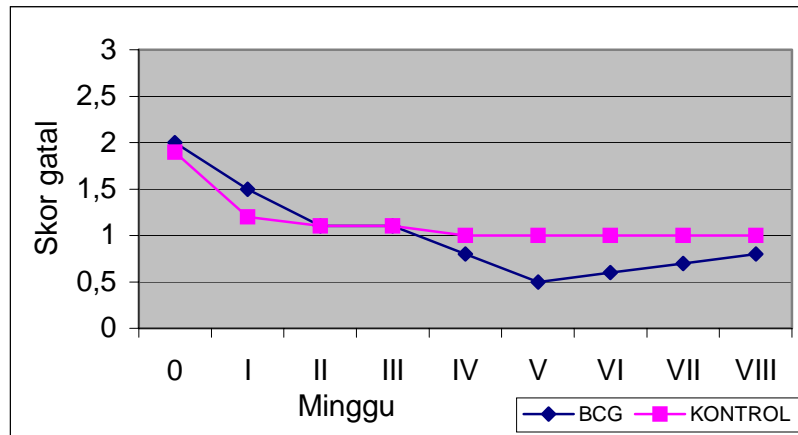
Gambar 7. Skor rinore setiap minggu selama pengobatan pada kelompok vaksinasi BCG dan kontrol (*Mann Whitney U test* : $p > 0,05$).

Pada gambar 8, tampak gejala hidung tersumbat sebelum perlakuan dan pada minggu VIII pada kelompok BCG dan kelompok kontrol terjadi penurunan dengan perbedaan bermakna. Sedangkan gejala tiap minggu, pada minggu VI dan VIII terdapat perbedaan bermakna antara kelompok BCG dibanding kelompok kontrol.



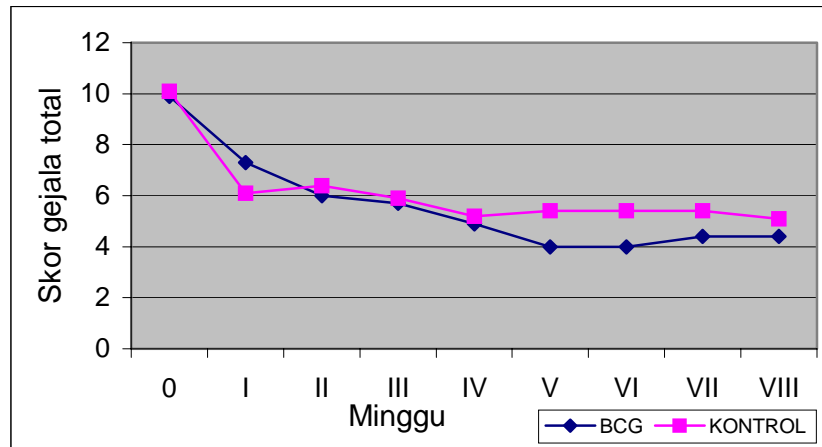
Gambar 8. Skor hidung tersumbat setiap minggu selama pengobatan pada kelompok vaksinasi BCG dan kontrol (*Mann Whitney U test* : $p = 0,036$ pada minggu VI ; $p = 0,027$ pada minggu VIII antar kelompok).

Pada gambar 9, tampak gejala gatal sebelum perlakuan dan pada minggu VIII pada kelompok BCG dan kelompok kontrol terjadi penurunan dengan perbedaan bermakna. Sedangkan gejala tiap minggu, tidak terdapat perbedaan bermakna antar kelompok BCG dibanding kelompok kontrol.



Gambar 9. Skor gatal setiap minggu selama pengobatan pada kelompok vaksinasi BCG dan kontrol (*Mann Whitney U test : $p > 0,05$*).

Pada gambar 10, tampak gejala total sebelum perlakuan dan pada minggu VIII pada kelompok BCG dan kelompok kontrol terjadi penurunan dengan perbedaan bermakna. Sedangkan gejala tiap minggu, pada minggu VI terdapat perbedaan bermakna antara kelompok BCG dibanding kelompok kontrol.



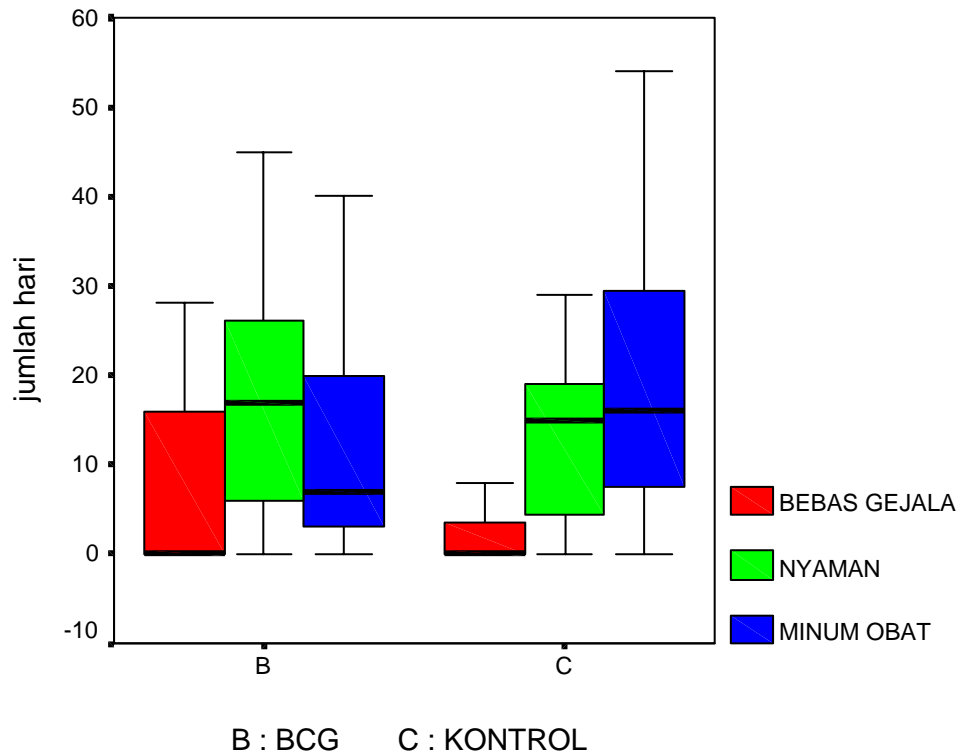
Gambar 10. Skor gejala total setiap minggu selama pengobatan pada kelompok vaksinasi BCG dan kontrol (*Mann Whitney U test* : $p = 0,039$ pada minggu VI antar kelompok).

4.1.4 Median hari bebas gejala, hari nyaman dan hari minum obat.

Tabel 10. Median bebas gejala, hari nyaman dan hari minum obat selama waktu penelitian.

Variabel	BCG	Kontrol
hari bebas gejala	0	0
	0,438	
hari nyaman	17	15
	0,238	
hari minum obat	7	16
	0,163	

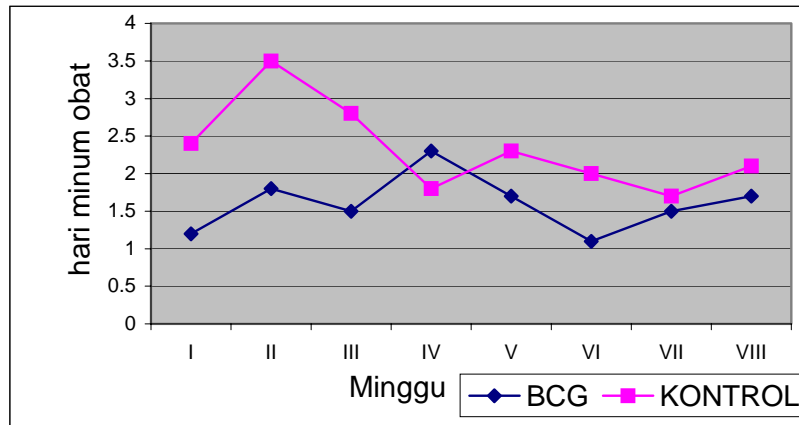
Mann Whitney U test



Gambar 11. Grafik median hari bebas gejala, hari nyaman, dan hari minum obat kelompok BCG dan kontrol.

Median hari bebas gejala pada kelompok BCG dibanding kontrol tidak terdapat perbedaan bermakna ($p = 0,438$). Median hari nyaman lebih tinggi pada kelompok BCG dibanding kontrol, perbedaan tidak bermakna ($p = 0,238$). Median hari minum obat lebih rendah pada kelompok BCG dibanding

kontrol, perbedaan tidak bermakna ($p = 0,163$) (Tabel 10 dan gambar 11).



Gambar 12. Hari minum obat mingguan kelompok vaksinasi BCG dan kontrol (*Mann Whitney U test* : $p = 0,048$ pada minggu I ; $p = 0,020$ pada minggu II).

Untuk hari minum obat perminggu antara kelompok BCG dan kontrol terdapat perbedaan yang bermakna pada minggu I ($p = 0,048$) dan minggu II ($p = 0,023$). Tetapi secara keseluruhan tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara kedua kelompok ($p = 0,193$), seperti tercantum pada gambar 12.

4.2 PEMBAHASAN

Manfaat vaksinasi BCG terhadap kejadian alergi telah dilaporkan pada beberapa penelitian epidemiologik^{7,8,9} maupun percobaan pada binatang.^{5,18} Meskipun demikian, beberapa peneliti masih meragukan manfaat klinik terapi ini.^{28,29} Penelitian eksperimental manfaat vaksinasi BCG pada manusia dengan mengukur profil sitokin Th 1 dan Th 2, maupun parameter klinik masih terbatas pada asma atau asma yang bersamaan dengan rinitis alergi.^{9,32, 33}

Pada penelitian rinitis alergi kali ini didapatkan : 1) kenaikan kadar IL-4 sesudah vaksinasi BCG dan penurunan pada kontrol yang tidak bermakna; 2) kenaikan kadar IFN- γ sesudah vaksinasi BCG, sementara itu terjadi penurunan pada kontrol meskipun tidak bermakna; 3) terjadi kenaikan rasio IL-4/IFN- γ pada kelompok BCG dan kontrol, meskipun tidak terdapat perbedaan yang bermakna.

Kenaikan kadar IL-4 pada kelompok BCG tidak sesuai dengan hasil penelitian terdahulu yang melaporkan terjadinya

penurunan kadar IL-4 setelah vaksinasi BCG.^{7,8,34} Hasil ini sesuai dengan penelitian Vargas dkk, yang menunjukkan kenaikan kadar IL-4 pada kelompok BCG meskipun tidak bermakna.³³ Kenaikan kadar IL-4 pada kelompok BCG kemungkinan oleh karena stimulasi kultur darah dengan PHA (phytohaemagglutinin). Hal ini didukung oleh penelitian yang melaporkan bahwa kultur darah yang distimulasi dengan PHA terjadi kenaikan kadar IL-4 secara bermakna pada penderita PPD negatif yang diberikan BCG.³⁵ Hal serupa juga dilaporkan di Cina bahwa pemberian BCG pada bayi baru lahir menunjukkan kenaikan proliferasi sitokin Th 1 dan Th 2.³⁶ Yang menjadi pertanyaan, mengapa kenaikan kadar IL-4 justru lebih tinggi pada kelompok BCG. Hal ini menunjukkan bahwa pengaruh BCG pada respon imun penderita alergi merupakan masalah yang lebih kompleks dari sekedar polarisasi kearah respon sel Th 1.³⁶ Silva dkk, melaporkan bahwa terdapat perbedaan respon imun vaksinasi DNA dengan BCG, karena DNA menginduksi hampir seluruhnya respon sitokin tipe Th 1, sedangkan BCG sebagian besar menginduksi komponen sel T non sitotoksik yang menghasilkan sitokin tipe Th 2. Selama pemberian

vaksinasi DNA atau BCG terjadi peningkatan yang seimbang sel T CD 4 dan CD 8 hsp65-reaktif di limpa. Tetapi setelah vaksinasi BCG, mayoritas sel adalah CD44^{lo} yang menghasilkan IL-4, sedangkan setelah vaksinasi DNA mayoritas sel adalah CD44^{hi} yang menghasilkan IFN- γ .³⁷

Pada kelompok BCG terjadi kenaikan kadar IFN- γ setelah vaksinasi, dan penurunan pada kelompok kontrol. Hasil ini sesuai dengan sebagian besar penelitian terdahulu bahwa vaksinasi BCG merupakan induktor terhadap respon sel Th 1.⁵⁻⁹ Mekanismenya melalui peran imunitas seluler antara lain dengan meningkatkan ekspresi CD40, CD80, CD86 dan MHC-II pada sel dendrit, dan mengaktifkan makrofag untuk menghasilkan IL-12, yang berakibat sel NK dan sel Th 1 mensekresi IFN- γ .^{23,36,38} Menurut Choi, dilaporkan bahwa ada hubungan yang erat antara respon tuberkulin dengan kadar IFN- γ setelah vaksinasi BCG.⁹ Pada penelitian ini sesudah vaksinasi BCG tidak dilakukan test PPD untuk melihat respon tuberkulin, yang juga merupakan salah satu keterbatasan penelitian, sehingga tidak dapat menilai hubungan antara respon tuberkulin dengan kadar IFN- γ .

Pada penelitian ini terjadi kenaikan rasio IL-4/IFN- γ pada kelompok BCG dan kelompok kontrol, tetapi tidak berbeda bermakna. Apabila dilihat rasio IFN- γ /IL-4 justru terjadi penurunan baik pada kelompok BCG maupun kontrol. Hasil ini tidak sesuai dengan penelitian Choi,⁹ yang melaporkan terjadi perbedaan rasio IFN- γ /IL-4 bermakna pada kelompok placebo ($p < 0,05$). Pada pemberian vaksinasi BCG ulangan satu tahun sesudahnya terjadi kenaikan rasio IFN- γ /IL-4 yang bermakna.³⁴ Terjadinya kenaikan rasio IL-4/IFN- γ secara teori menunjukkan konsep keseimbangan Th 1/Th 2 lebih dominan Th 2. Tetapi apakah pengaruh vaksinasi BCG pada penelitian ini gagal menghambat respon Th 2 yang lebih dominan? Sejak pertama kali ditemukan subset sel limfosit Th 1 dan Th 2 pada tikus tahun 1986, dan kemudian pada manusia, subset berikutnya telah ditemukan, yaitu sel T regulator (T reg ; CD4⁺CD25⁺). Sel T reg ini dapat menghambat respon sel Th 1 dan Th 2, sehingga secara aktif menghambat reaksi autoimun dan respon alergi. Mekanismenya dengan cara kontak antar sel (melalui CTLA-4 / *cytotoxic lymphocyte associated antigen-4*) dan juga melalui produksi IL-10 dan TGF- β . Interleukin-10 yang dihasilkan sel T

regulator ini berperan penting dalam menyeimbangkan sistem imun dalam mencegah dan mengobati penyakit alergi. ^{32,39,40,41,42}

Central unmethylated C-G dinucleotide (CpG)

oligodeoxynucleotides (ODNs) dikenal sebagai induktor respon Th 1 dan dapat menghambat respon Th 2 melalui produksi IFN- γ dan IL-10. Sementara itu IFN- γ yang diinduksi oleh CpG ODNs dihambat oleh IL-10, yang mengakibatkan mekanisme homeostasis kedalam keseimbangan Th 1 dan Th 2.³⁴ Dengan adanya konsep Th 1/Th 2 dan T reg ini maka vaksin yang lebih baik apabila vaksin dapat bekerja menginduksi kedua sel Th 1 dan T reg.^{34,40} Respon Th 1 dapat secara efisien menghambat respon Th 2 melalui IFN- γ dan sel T reg mengurangi respon anti alergi Th 1, sehingga menjamin keseimbangan yang baik pada respon proteksi (nonpatologik) Th 1.⁴⁰ Apakah vaksinasi BCG ini juga dapat menginduksi respon sel Th 1 dan sel T reg belum diketahui. Pada penelitian ini tidak diukur kadar IL-10 yang juga merupakan keterbatasan penelitian, sehingga diperlukan penelitian lanjutan untuk menjelaskan pengaruh vaksinasi BCG pada sitokin-sitokin lain pada rinitis alergi.

Pada imunitas terhadap tuberkulosis atau BCG, ternyata selain sel T CD4⁺ ada beberapa jenis sel T lain yang ikut berperan diantaranya sel T CD8⁺, sel T CD1 *restricted* dan sel limfosit T gamma-delta. Sel T gamma-delta merupakan mayoritas sel T pada darah tepi lembu, dan berperan signifikan terhadap respon imun terhadap tuberkulosis bovine. Pada manusia sel ini meningkat pada anergi dan penderita dengan test PPD negatif.

Dengan demikian respon terhadap BCG tidak dapat disederhanakan hanya dengan menilai respon sel T CD4⁺ saja.^{43,44}

Hal lain yang kemungkinan berpengaruh terhadap tidak terdapatnya perbedaan bermakna pada penurunan rasio IL-4/IFN- γ pada penelitian ini adalah sampel yang diperiksa/dinilai kadar IL-4 dan IFN- γ hanya sedikit (BCG 14 ; kontrol 9).

Penghitungan *power* statistik setelah penelitian dengan memasukkan nilai-nilai hasil penelitian ke dalam rumus yang semula digunakan untuk menghitung besar sampel didapatkan hasil sebesar 43,1 % (jumlah minimal sampel tiap kelompok sebesar 26 untuk mencapai power 80 %). Sehingga hal ini juga merupakan suatu keterbatasan penelitian.

Pada penelitian ini terjadi penurunan skor gejala klinik sebelum dan sesudah perlakuan pada kelompok BCG dan kontrol yang bermakna. Perubahan gejala klinik antar kelompok tidak terdapat perbedaan bermakna, meskipun didapatkan kecenderungan perubahan yang lebih besar pada kelompok BCG. Sedangkan skor gejala total mingguan pada kelompok BCG lebih rendah bermakna pada minggu ke enam saja. Hasil ini sesuai penelitian Choi, pada vaksinasi BCG penderita asma menurunkan skor gejala asma mingguan secara bermakna pada minggu ke tujuh, sedangkan pada kelompok placebo skor gejala asma mingguan tidak ada perbedaan bermakna.⁹ Penelitian di Cina dengan menggunakan polisakarida nukleotida BCG hasilnya berbeda, pada penderita asma yang bersamaan dengan rinitis alergi, skor gejala klinik rinitis alergi lebih rendah secara bermakna pada kelompok BCG pada hari ke 26 dan 72 (minggu ke empat dan ke sepuluh).³² Protein atau antigen mikobakterium BCG terikat pada TLRs makrofag, sehingga makrofag menjadi aktif. Makrofag yang aktif menghasilkan IL-12 yang menginduksi sel Th 1 dan sel NK untuk menghasilkan IFN- γ . Sitokin ini menghambat sitokin sel Th 2, sehingga mencegah

terbentuknya Ig E oleh sel B. Dengan demikian produksi mediator kimia seperti histamin yang menyebabkan gejala alergi akan berkurang.¹²

Jumlah hari bebas gejala (skor gejala 0) dan hari nyaman (skor gejala maksimal 1) selama waktu penelitian untuk kelompok BCG lebih banyak dibanding kelompok kontrol meskipun perbedaannya tidak bermakna. Jumlah hari minum obat lebih tinggi pada kelompok kontrol dibanding kelompok BCG, tetapi tidak berbeda bermakna. Cara penilaian ini merupakan parameter yang akurat untuk menilai manfaat pengobatan yang dirasakan penderita.⁴⁵ Seperti diketahui efek vaksinasi BCG maksimal pada minggu delapan sampai 16 setelah vaksinasi,⁹ sementara itu hasil penelitian ini dari perbaikan gejala klinik dan jumlah hari minum obat pada minggu pertama dan kedua lebih baik pada kelompok BCG daripada kontrol. Fenomena ini mungkin disebabkan efek boster, karena semua penderita sudah mendapatkan BCG sebelumnya yaitu sewaktu baru lahir dan kemungkinan adanya paparan kuman TBC dari lingkungan karena prevalensi TBC yang tinggi di Indonesia,

sehingga cepat memberikan respon pengenalan kembali dalam waktu satu minggu setelah vaksinasi BCG.⁹

Pada kelompok BCG memperlihatkan jumlah hari minum obat yang lebih sedikit, jumlah hari bebas gejala dan hari nyaman lebih banyak. Meskipun tidak bermakna, hasil tersebut memperlihatkan adanya kecenderungan manfaat klinik vaksinasi BCG pada rinitis alergi. Sedangkan profil sitokin Th 1 dan Th 2 pada penelitian ini tidak terpengaruh oleh pemberian BCG, sesuai dengan beberapa penelitian di Eropa,^{28,29,33} tetapi berbeda dengan hasil penelitian di Jepang,⁸ Korea⁹ dan Cina.³² Hal ini kemungkinan disebabkan faktor genetik, strain BCG, dan dosis vaksinasi yang berbeda.^{36,46} Pada penelitian ini digunakan vaksin BCG strain 1173 P2 Paris dosisnya 0,1 ml (2×10^5 CFU), sedangkan penelitian di Korea vaksin BCG strain 172 Tokyo dosisnya $58,2 \times 10^7$ CFU.⁹ Di Jepang dilaporkan adanya hubungan terbalik antara kejadian alergi dan respon tuberkulin, mungkin disebabkan karena anak - anak di Jepang mendapat program imunisasi BCG sebanyak tiga kali (sewaktu bayi, 6 tahun dan 12 tahun) dan dosis yang lebih besar.⁸ Suatu penelitian *in vitro* pada manusia dengan mengukur sekresi IFN- γ

dan proliferasi limfosit, dengan membandingkan dosis rendah ($1,6 \times 10^5$ CFU dan $3,2 \times 10^6$ CFU), dosis standar ($1,6 \times 10^8$ CFU) atau dosis tinggi ($3,2 \times 10^8$ CFU) disimpulkan bahwa dosis efektif vaksin BCG adalah lebih dari 10^8 CFU.⁴³ Untuk itu diperlukan suatu penelitian lanjutan dengan meningkatkan dosis BCG pada rinitis alergi.

BAB 5. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 SIMPULAN

5.1.1 Vaksinasi BCG tidak menurunkan kadar IL-4 pada rinitis alergi.

5.1.2 Vaksinasi BCG tidak meningkatkan kadar IFN- γ pada rinitis alergi.

5.1.3. Vaksinasi BCG tidak menurunkan rasio IL-4/ IFN- γ pada rinitis alergi.

5.1.4. Vaksinasi BCG tidak memperbaiki gejala klinik rinitis alergi.

5.2 SARAN

5.2.1 Perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan meningkatkan dosis vaksin BCG, dan menambah jumlah sampel.

5.2.2 Sejalan dengan berkembangnya pengetahuan di bidang alergi, khususnya penemuan subset sel T baru yang ikut berperan dalam alergi, perlu penelitian lanjutan dengan menilai pengaruh sitokin-sitokin lain yang berperan dalam rinitis alergi.

DAFTAR PUSTAKA

- 1. Madiapura T, Surachman S, Sumarman I, Boesoirie TS. Parameter keberhasilan- an pengobatan rinitis alergi. Otorhinolaryngologica Indonesiana 2003 ; 23 : 68-75.**
- 2. Suprihati, Nina I, Madiapura T, Sumarman I. Penatalaksanaan rinitis alergi sesuai WHO-ARIA. Konggres Nasional XIII PERHATI – KL. Bali. 2003 : 1-13.**
- 3. Holgate ST, Mavrolen G. The moleculer and cell biology of allergy. The Journal of Laryngology and Otology 1998 ; 112 : 1126-37.**

4. **Kentjono WA. Pengaruh vaksinasi BCG dengan cara modifikasi teknik skarifikasi multipel terhadap respon T helper dan respon radiasi pada karsinoma nasofaring. Otorhinolaryngologica Indonesiana 2003 ; 23 : 52-67.**
5. **Erb KJ, Holloway JW, Sobeck A, Moll H , Gros GL. Infection of mice with Mycobacterium bovis-Bacillus Calmette Guerin (BCG) supresses allergen-induced airway eosinophilia. J. Exp. Med 1998 ; 187 : 561-9.**
6. **Fujieda S, Iho S, Kimura Y, Sunaga H, Igawa H, Sugimoto C, et al. DNA from Mycobacterium bovis Bacillus Calmette-Guerin (MY-1) inhibits immunoglobulin E production by human lymphocytes. Am J. Respir. Crit. Care Med 1999; 160 : 2056-61.**
7. **Marchant A, Goetghebuer T, Ota MO, Wolfe I, Ceesay SJ, Groote DD, et al. Newborns develop a Th1- type immune response to Mycobacterium bovis Baccilus Calmette-Guerin vaccination . J Immunol 1999; 163: 2249-55.**
8. **Shirakawa T, Enamoto T, Shimazu S, Hopkin JM. The inverse association between tuberculin responses and atopic disorder. Science 1997; 275: 77-9.**
9. **Choi SI, Koh YI. Therapeutic effects of BCG vaccination in adult asthmatic patients : a randomized, controlled trial. Ann Allergy Asthma Immunol 2002 ; 88: 584-91.**
10. **von Bubnoff M, Geiger E, Beiber T. Antigen-presenting cells in allergy. J Allergy Clin Immunol 2001; 108:329-39.**
11. **Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. Celluler and moleculer immunology. Philadelphia :W.B. Saunders Company ; 1991.**
12. **Baraniuk JN. Pathogenesis of allergic rhinitis. J Allergy Clin Immunol 1997; 99 : S763-72.**

13. Lambrecht BN. Allergen uptake and presentation by dendritic cells. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2001 ; 1 : 51-9.
14. Umetsu DT, DeKruyff RH. T_{H1} and T_{H2} CD⁺ cells in human allergic disease. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 100:1-5.
15. Nalbone VP, Naclerio RM. Allergy and Immunology. In: Bailey BJ, Pillsbury III HC, Driscoll BP, editors. *Head and Neck Surgery-Otolaryngology*. Second edition. Philadelphia:Lippincott-Raven ; 1998 .p. 101-16.
16. Leonard WJ. Type I cytokines and interferons and their receptors. In : Paul WE, editor. *Fundamental Immunology*. Fifth edition. Philadelphia. Lippincott Williams & Wilkins; 2003 .p. 701-35.
17. Ryan JJ. Interleukin-4 and its receptor: essential mediators of the allergic response. *J Allergy Clin Immunol* 1997 ; 99 : 1-5.
18. Sanz MJ, Mutafchieva LM, Green P, Lobb RB, Feldmann M, Nourshargh S. IL-4 induced eosinophil accumulation in rat skin is dependent on endogenous TNF- α and α_4 integrin/VCAM-1 adhesion pathways. *J Immunol* 1998; 160 : 5637-45.
19. Karp MW, Hershey GKK. Immunological mechanisms of allergic disorders. In: Paul WE, editor. *Fundamental Immunology*. Fifth edition. Philadelphia. Lippincott Williams & Wilkins; 2003 .p. 1439-71.
20. Borish LC, Nelson HS, Lanz MJ, Claussen L, Whitmore JB, Agosti JM, et al. Interleukin - 4 receptor in moderate atopic asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med* 1999; 160 : 1816-23.
21. El-Naggar, Ukai, Takeuchi, Sakakura. Expression of interferon- γ , interleukin-4 and interleukin-5 mRNA in the nasal mucosal membrane of rats with allergic rhinitis. *Scandinavian Journal of Immunology* 1998; 47:554-62.

22. Sousa CR, Hieny S, Kersten TS, Jankovic D, Charest H, Germain RN, et al. In vivo microbial stimulation induces rapid CD40 ligand - independent production of interleukin-12 by dendritic cells and their redistribution to T cell areas. *J. Exp. Med* 1997; 186; 1819-29.
23. Atopy, asthma, and the mycobacteria (editorial). *Thorax* 2000; 55 : 443-5.
24. von Mutius E, Pearce N, Beasley R, Cheng S, von Ehrenstein O, Bjorkstein B, et al. International patterns of tuberculosis and the prevalence of symptoms of asthma, rhinitis, and eczema. *Thorax* 2000; 55 : 449-53.
25. von Hertzen L, Haahtela T. Could the risk of asthma and atopy be reduced by vaccine that induces a strong T-helper type 1 response ? *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol* 2000; 22: 139-42.
26. Wang J, Wakeham J, Harkness R, Xing Z. Macrophages are a significant source of type 1 cytokines during mycobacterial infection. *J Clin Invest* 1999; 103 : 1023-9.
27. Herz U, Gerhold K, Gruber C. BCG infection supresses allergic sensitization and development of increased airway reactivity in an animal model. *J Allergy Clin Immunol* 1998; 5:867-74.
28. Gruber C, Kulig M, Bergmann R, Holzmann IG, Wahn U, MAS-90 study group. Delayed hypersensitivity to tuberculin, total immunoglobulin E, spesific sensitization, and atopic manifestation in longitudinally followed early bacille Calmette-Guerin-vaccinated and nonvaccinated children. *Pediatrics* 2001; 107 : 36-47.
29. Omenaas E, Jentoft HF, Vollmer WM, Buist AS, Gulsvik A. Absence of relationship between tuberculin reactivity and atopy in BCG vaccinated young adults. *Thorax* 2000; 55: 454-8.

- 30. Arkwright PD, David TJ. Intradermal administration of a killed myco- bacterium vaccae suspension (SRL 172) is associated with improvement in moderate-to-severe disease. J Allergy Clin Immunol 2001; 107: 531-4.**
- 31. Madiyono B, Moeslichan S, Sastroasmoro S, Budiman I, Purwanto SH. Perkiraan besar sampel. Dalam: Sastroasmoro S, Ismael S, editors. Dasar-dasar metodologi penelitian klinis. Edisi ke 2. Jakarta. Sagung Seto: 2002 .p.259-86.**
- 32. Li J, Luo DF, Li SY, Sun BQ, Zhong NS. Efficacy of intramuscular BCG polysaccharide nucleotide on mild to moderate bronchial asthma accompanied with allergic rhinitis : a randomized, double blind, placebo-controlled study. Chin Med J 2005 ; 118 (19) : 1595-1603.**
- 33. Vargas MH, Bemal-Alcantara DA, Vaca MA, Franco-Marina F, Lascurain R. Effect of BCG vaccination in asthmatic schoolchildren. Pediatric Allergy and Immunology 2004 ; 15 (5) : 415-20.**
- 34. Choi SI, Koh YI. Effects of BCG revaccination on asthma. Allergy 2003 ; 58 (11) : 1114-6.**
- 35. Das SD, Narayanan PR, Kolappan C, Colston MJ. The cytokine response to Bacille Calmette Guerin vaccination in South India. Int J Tuberc Lung Dis 1998 ; 2 (10) : 836-43.**
- 36. Shen HH, Zhang GS, Wang PL. Mycobacterium bovis-Bacillus Calmette-Guerin and asthma. Chin Med J 2005 ; 118 (11) : 942-7.**
- 37. Silva CL, Bonato VLD, Lima VMF. DNA encoding individual mycobacterial antigens protects mice against tuberculosis. Braz J Med Biol Res 1999 ; 32 (2) : 231-4.**

38. Renz H, Herz U. The bidirectional capacity of bacterial antigens to modulate allergy and asthma. *Eur Respir J* 2002 ; 19 : 158–71.
39. Till SJ, Francis JN, Aria KN, Durham SR. Mechanisms of immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 2004 ; 113 : 1025–34.
40. Erb KJ, Wohlleben G. Novel vaccines protecting against the development of allergic disorders : a double-edged sword? *Current Opinion in Immunology* 2002 ; 14 : 633–43.
41. Larche M, Robinson DS, Kay B. The role of T lymphocytes in the pathogenesis of asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2003 ; 111 : 450–63.
42. Shi HZ, Qin XJ. CD4⁺ CD25⁺ regulatory T lymphocytes in allergy and asthma. *Allergy* 2005 ; 60(8) : 986–95.
43. Rook GAW, Seah G, Ustianowski A. M. tuberculosis : immunology and vaccination. *Eur Respir J* 2001 ; 17 : 537–57.
44. Rhodes SG, Hewinson RG, Vordermeier HM. Antigen recognition and immunomodulation by $\gamma\delta$ cells in bovine tuberculosis. *J Immunol* 2001 ; 166 : 5604 – 10.
45. Bertrand B, Jamart J, Marchal JL, Arendt C. Cetrizine and pseudoephedrine retard alone and in combination in the treatment of perennial allergic rhinitis : A double-blind multicentre study. *Rhinology* 1996 ; 34 : 91-6.
46. Pahari A, Welch S, Lingam S. BCG, tuberculin skin test-results and asthma prevalence in schoolchildren in North London. *Indian Pediatrics* 2002; 39 : 254-8.

Lampiran 1. Prosedur pemeriksaan IFN- γ dan IL-4 (produksi Pelikine)

- 1. Prosedur kultur sel : 10 ul PHA-P dimasukkan ke dalam mikrowel sebanyak 3 sumuran ditambah masing-masing 900 ml RPMI 1640 kemudian ditambah bloodcell 100 ul.
Untuk kontrol : 10 ul PBS dimasukkan ke dalam mikrowel sebanyak 1 sumuran ditambah masing-masing 900 ul RPMI 1640 kemudian ditambah bloodcell 100ml.
Dimasukkan ke dalam inkubator selama 24 jam, kemudian setelah 24 jam diambil supernatan dan disimpan di freezer dengan suhu – 80⁰ C.**
- 2. Hari pertama, dilakukan coating plate dengan monoklonal antibody IFN- γ dan IL-4 (capture), kemudian diinkubasi satu malam dalam suhu kamar.**
- 3. Hari kedua, cuci plate, kemudian dilakukan blocking, diinkubasi 1 jam pada suhu kamar.**
- 6 Ditambahkan rekombinan IFN- γ dengan konsentrasi masing-masing : 1800; 600; 200; 66,7 ; 22,2 ; 7,4 dan 2,5 pg/ml pada tiap-tiap sumuran.
Untuk rekombinan IL-4 dengan konsentrasi masing-masing : 450; 150; 50; 16,7; 5,6; 1,9; dan 0,6 pg/ml pada tiap-tiap sumuran.**

- 7 Sampel yang telah diencerkan, dimasukkan dalam sumuran yang telah ditandai.
- 8 Diinkubasi 1 jam pada suhu kamar, kemudian dicuci dengan buffer pencuci.
- 9 Dilakukan inkubasi dengan monoklonal antibody yang sudah diikat dengan biotin, diinkubasi selama 1 jam pada suhu kamar, kemudian dicuci.
- 10 Ditambahkan streptavidin-HRP conjugate, diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar, kemudian dicuci.
- 11 Ditambahkan enzymatic colour development, termasuk substrat blank, diinkubasi 30 menit pada suhu kamar di tempat gelap.
- 12 Ditambahkan stop enzymatic reaction
- 13 Dibaca pada ELISA reader dengan panjang gelombang 450 nm.

Lampiran 2. Kuisisioner catatan penderita rinitis alergi.

CATATAN PENDERITA RINITIS ALERGI

Tanggal :
No Kode

urut penderita :

2. Nama penderita :

3. Alamat lengkap :

4. U M U T :

5. Jenis kelamin : 1. laki-laki
2. wanita

6. Hasil tes kulit positif terhadap :

7. Debu rumah

8. Human dander

9. Mixed fungi

10. Mite cultur

11. Cat dander

12. Dog dander

13. Kecoa

7. La kit :

8. M n :

9. Riwayat alergi keluarga :

1. ayah

2. ibu

3. ayah dan ibu

4. saudara kandung

5. kakek / nenek

6. saudara ayah/ibu

7. tidak ada

10. Apakah pernah menderita TBC/berobat ke BP 4 sebelumnya :

1. tidak

2. ya, kapan :.....

11. Hasil tes Mantoux / PPD 5 TU :

1. diameter panjang bentol :mm

2. diameter pendek bentol :..... mm

Lampiran 3. Kuisisioner catatan harian gejala klinik oleh penderita.

CATATAN HARIAN GEJALA HIDUNG (PILEK) OLEH
PENDERITA

No. Tanggal

penderita :

2. Kode obat :

3. Nama penderita :

4. Alamat lengkap :

Catatlah beratnya keluhan pilek anda dengan cara penilaian sebagai berikut

Skor	deskripsi
0	tidak ada gejala / pilek
1	gejala pilek ringan, tidak mengganggu
2	gejala pilek mengganggu, tapi tak ganggu aktivitas atau tidur
3	gejala pilek mengganggu aktivitas dan tidur

Keluhan	Senin	Selasa	Rabu	Kamis	Jumat	Sabtu	Minggu
Hidung bersin							
Bersin							
Hidung berair							
Hidung sumbat							
Minum obat Berapa kali/hari							

Keluhan setelah suntik berupa							
-------------------------------	--	--	--	--	--	--	--

Lampiran 4. Surat pernyataan persetujuan peserta penelitian.

SURAT PERNYATAAN PERSETUJUAN
 PESERTA PENELITIAN
 (INFORMED CONSENT)

Yang bertandatangan di bawah ini :

N a m a

:.....

U m u r

:.....

Pekerjaan

:.....

A l a m a t

:.....

Setelah memperoleh penjelasan sepenuhnya serta memahami tentang tujuan, manfaat serta resiko yang mungkin timbul dalam penelitian berjudul :

“ Pengaruh vaksin BCG terhadap rasio IL-4/IFN- γ dan perubahan gejala klinik pada penderita rhinitis alergi”

**menyatakan setuju ikut serta / mengikutsertakan anak/adik saya
bernama :....., dalam penelitian dan
bersedia mematuhi semua ketentuan yang berlaku dalam
penelitian tersebut.**

Semarang,

.....

Peneliti,

Yang menyatakan,

(dr. Hadi Sudrajad)

**(.....)
Peserta/keluarga peserta**