

GAMBARAN PERKEMBANGAN ANTIBODI TERHADAP KOMPONEN PROTEIN CACING MIKROFILARIA MALAYI DARI TRANSMIGRAN DI SULAWESI TENGGARA

Basundari Sri Utami, Liliana Kurniawan, Robert Widjaja, Syahril Harun *

ABSTRACT

The immune response to microfilarial antigen in malayan filariasis was found more prominent in amicrofilaremic individuals than in the microfilaremic. It has been shown that in amicrofilaremic individuals antibody plays a role in reducing microfilaremiae. The targets antigens of antibody (IgG) were shown to be protein components of microfilariae with molecular weight of 75, 70 and 25 Kd.

This prospective study was aimed at detecting IgG against microfilariae in transmigrants, who had settled into an filarial endemic area.

Sera of 10 individuals at 8, 13, 26, 39 and 52 moths after settling, were examined by ELISA and Western Blott against microfilaria of B. malayi. Four out of 10 transmigrants showed IgG that recognized the protein components of 77, 70 and 31 Kd and were shown at 39, 52 and 8 months after settling respectively. The IgG against components of 77 and 70 Kd were revealed later than the one against 31 Kd.

PENDAHULUAN

Parasit filaria merupakan organisme yang kompleks baik ditinjau dari struktur organismenya maupun siklus hidupnya. Oleh karena itu usaha-usaha untuk mempelajari respon imun dari filariasis masih belum menunjukkan hasil yang memuaskan.

Di daerah endemis filariasis terdapat 2 kelompok penduduk : kelompok pertama adalah kelompok amikrofilaremik, dan kelompok kedua kelompok mikrofilaremik. Hasil penelitian imunologi filariasis menunjukkan bahwa, di dalam sera kelompok yang amikrofilaremik terdapat antibodi yang diduga bersifat protektif, karena kelompok ini tetap dalam keadaan amikrofilaremik meskipun tinggal di daerah endemis. Sebaliknya di dalam sera

kelompok mikrofilaremik tidak terdapat keadaan yang demikian. Antibodi ini dapat dari kelas IgM maupun IgG.^{1,2,3.}

Dengan metode hibridoma dan Western Blot, Canlas dan kawan-kawan⁴ telah dapat mendeteksi target dari antibodi yang dapat membunuh mikrofilaria malayi secara in vitro, dan dapat menurunkan mikrofilaremi pada gerbil. Target dari antibodi tersebut terletak pada permukaan tubuh cacing mikrofilaria, yaitu berupa komponen protein yang mempunyai berat molekul 75 dan 70 kilo dalton. Kazura dan kawan-kawan mengatakan bahwa setelah mencit diimunisasi dengan protein mikrofilaria malayi yang mempunyai berat molekul 25 kilo dalton, bila di inokulasi dengan mikrofilaria lebih tahan dibandingkan dengan mencit yang tidak diimunisasi⁵

* Pusat Penelitian Penyakit Menular, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Jakarta

Pada penelitian terhadap transmigran yang telah tinggal lama di daerah endemis filariasis malayi di pulau Buton, ditunjukkan bahwa di dalam sera kelompok transmigran yang amikrofilaremi cenderung ditemukan IgG yang dapat mengenal protein dari cacing mikrofilaria malayi dengan berat molekul 75, 70 dan 25 Kd⁶.

Penelitian ini dilakukan untuk mempelajari perkembangan antibodi terhadap komponen cacing mikrofilaria malayi khususnya terhadap berat molekul 75,70 dan 25 kilo dalton dihubungkan dengan lamanya seseorang terpapar oleh antigen filaria di daerah endemis.

BAHAN DAN CARA KERJA

Penelitian ini dilakukan secara prospektif terhadap sera transmigran asal pulau Jawa yang bermukim di daerah endemis filaria malayi di Kendari, Sulawesi Tenggara, Sera berasal dari 10 orang transmigran 8 bulan sejak tiba di tempat pemukiman (1982). Kemudian pemeriksaan di ulang pada masa tinggal berturut-turut 13 bulan (1983), 26 bulan (1984), 39 bulan (1986) dan 52 bulan (1987). Masing-masing sera tersebut diperiksa dengan teknik ELISA dan WESTERN BLOT

Persiapan Antigen :

Cacing mikrofilaria *B. malayi* di gunakan sebagai antigen pada tes ELISA dan WESTERN BLOT. Proses pembuatan antigen sesuai dengan metode yang dikerjakan oleh Basundari dkk.⁶ Kandungan protein diukur dengan cara Lowry; antigen disimpan dengan konsentrasi 800Ug/ml dan 1000 Ug/ml dalam alikuot pada 4⁰ (masing-masing untuk tes ELISA dan WESTERN BLOT).

Tes ELISA :

Untuk mendeteksi adanya anti mikrofilaria (IgG) di dalam serum, dilakukan tes ELISA (seperti yang telah dilakukan)⁶ Konsentrasi antigen yang dipakai adalah 0,5 Ug dalam 50 Ul coating buffer; pengenceran serum 1:200 dan konjugat anti human IgG (produksi Milles Yeda) dipakai dengan pengenceran 1:1000. Substrat yang dipakai adalah p-Nitrophenyl Phosphate Disodium produksi Sigma - Nilai absorpsi kandungan IgG dibaca pada ELISA reader setelah ditunggu 30 menit.

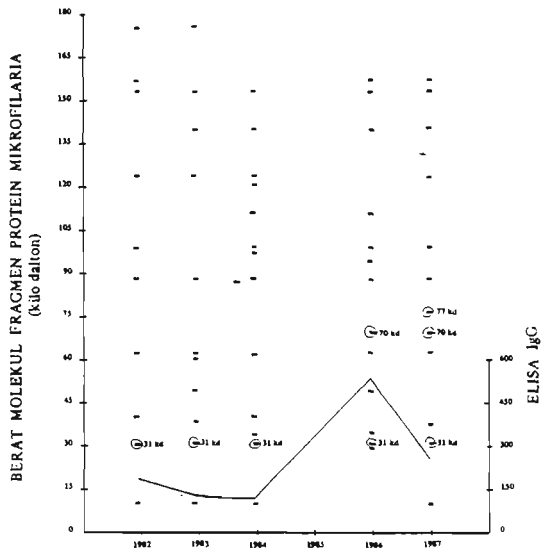
Tes WESTERN BLOT :

Untuk mengetahui kemampuan IgG dalam mengenal komponen protein mikrofilaria, dilakukan tes WESTERN BLOT.⁶ Konjugat yang dipakai adalah peroksidase anti human IgG (produksi Miles Scientific) dan substrat yang dipakai adalah 3'3' Diaminobenzidine, produksi Sigma. Tes yang positif ditunjukkan dengan adanya pita-pita coklat pada kertas nitroselulose. Berat molekul dari pita-pita tersebut ditentukan berdasarkan berat molekul standard.⁷

HASIL DAN PEMBAHASAN

Survey parasitologi menunjukkan bahwa sampai masa tinggal 52 bulan di daerah pemukiman tidak ditemukan transmigran dengan mikrofilaremi.

Kandungan IgG rata-rata dari 10 sera transmigran yang diperiksa, dan gambaran kemampuan IgG untuk mengenal komponen protein mikrofilaria terlihat pada gambar I. Kandungan IgG pada tes ELISA pada awal masa tinggal (1982) sampai 26 bulan (1984) menunjukkan titer 0,188;



Gambar I : Harga rata-rata kandungan IgG pada tes ELISA, dan gambaran kemampuan IgG dalam mengenal komponen protein mikrofilaria; dari 10 transmigran, tahun 1982, 1983, 1984, 1986, 1987.

- komponen protein mikrofilaria yang terdeteksi IgG
- grafik kandungan IgG

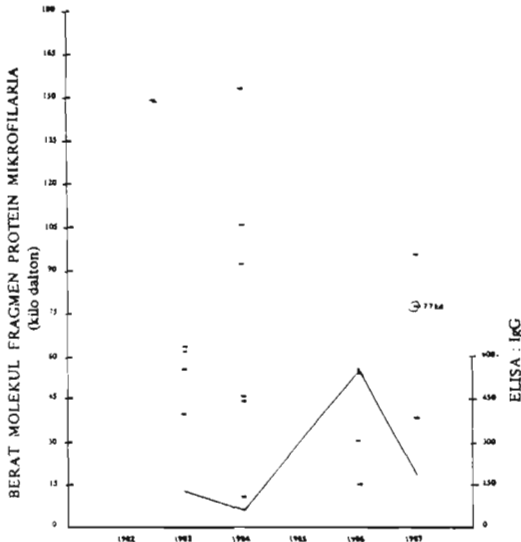
0,131; 0,123; kemudian meningkat menjadi 0,550 setelah masa tinggal 39 bulan (1986) dan turun kembali menjadi 0,260 setelah masa tinggal 52 bulan (1987). Meskipun kandungan IgG menunjukkan titer yang meningkat dari tahun ke tahun, tetapi hal ini tidak berarti bahwa kualitas antibodi tersebut juga meningkat; terbukti bahwa pada kandungan IgG rendah dan tinggi kemampuan mengenal komponen protein mikrofilarianya sama. Secara umum IgG tersebut selama 5 tahun (1982 – 1987) mengenal komponen dengan berat molekul berkisar antara 10 Kd – 170 Kd.

Terdapat 4 dari 10 orang transmigran yang dapat mengenal komponen 31 Kd, 70 Kd dan 77 Kd; sedangkan 6 orang yang lain tidak dapat mengenal komponen

tersebut. Transmigran tersebut adalah (M) mengenal komponen 77 Kd, transmigran (P) mengenal komponen 70 Kd, transmigran (U) dan (B) mengenal komponen 31 Kd. Terlihat bahwa komponen 31 Kd dikenal lebih awal (1982) daripada komponen 70 dan 77 Kd; sedangkan yang lebih lama yaitu kedua komponen yang terakhir ini dikenal setelah masa tinggal 39 dan 52 bulan (1986 dan 1987). Komponen protein mikrofilaria malayi yang diduga mempunyai sifat imunogenik adalah komponen 75, 70, dan 25 Kd^{4,5}. Pada penelitian ini tidak terlihat IgG yang mengenal komponen 25 dan 75 Kd seperti pada hasil penelitian Kazura dan Canlas; apakah komponen 31 dan 77 Kd yang terdeteksi oleh sera dari 4 orang ini mempunyai arti yang sama atau komponen tersebut merupakan komponen yang lain yang tidak dikenal oleh IgG dari gerbil dan mencit, perlu diteliti lebih lanjut.

Dari 10 transmigran yang diperiksa, 2 orang mempunyai IgG yang mengenal komponen protein mikrofilaria malayi yang mempunyai berat molekul 77 dan 70 kilo dalton (P dan M).

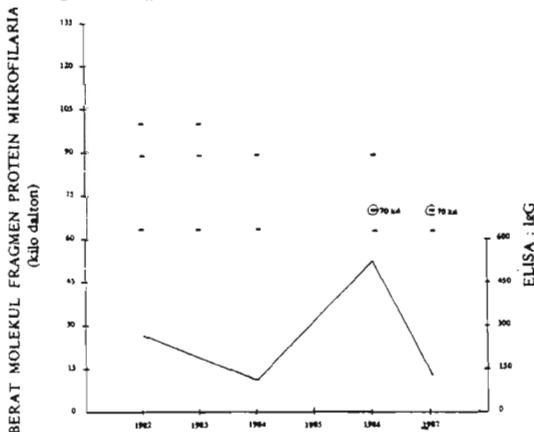
Gambar II adalah; kandungan IgG anti mikrofilaria dari transmigran M dan kemampuan IgG tersebut untuk mengenal komponen protein mikrofilaria. Terlihat bahwa kandungan IgG pada tes ELISA pada masa tinggal 13 bulan (1983) dan 26 bulan (1984) rendah, masing-masing 0,124 dan 0,059. Akan tetapi pada masa tinggal 39 bulan (1986) kandungan IgG naik menjadi 0,546 dan turun kembali setelah 52 bulan (1987) menjadi 0,185. Di sini terlihat bahwa kemampuan mengenal antigen berat molekul 77 Kd terlihat setelah masa tinggal 52 bulan (1987).



Gambar II : Harga kandungan IgG pada tes ELISA, dan gambaran kemampuan IgG dalam mengenal komponen protein mikrofilaria, dari transmigran M, tahun 1982, 1983, 1984, 1986, 1987.

- komponen protein mikrofilaria yang terdeteksi IgG
- grafik kandungan IgG

Gambar III adalah kandungan IgG anti mikrofilaria dari transmigran P dan gambaran kemampuan IgG untuk mengenal komponen protein mikrofilaria.

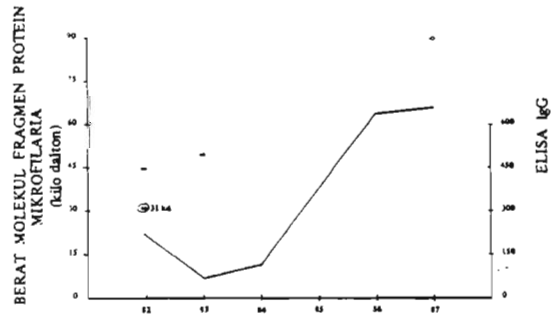


Gambar III : Harga kandungan IgG pada tes ELISA, dan gambaran kemampuan IgG dalam mengenal komponen protein mikrofilaria, dari transmigran P, tahun 1982, 1983, 1984, 1986, 1987.

- komponen protein mikrofilaria yang terdeteksi IgG
- grafik kandungan IgG

Di sini terlihat bahwa fluktuasi kandungan IgG mempunyai gambaran yang mirip dengan transmigran M. Pada masa tinggal 8 bulan (1982) sampai 26 bulan (1984) sebagai transmigran M mempunyai kandungan IgG 0,277, 0,185, 0,104. Setelah masa tinggal 39 bulan (1986) naik menjadi 0,517 dan masa tinggal 52 bulan (1987) menjadi 0,127. Komponen protein yang dikenal sejak 1982 sampai 1987 adalah berat molekul 63 Kd sampai 100 Kd. Sedangkan komponen 70 Kd dikenal setelah 39 bulan masa tinggal (1986) dan kemampuan ini tetap ada setelah masa tinggal 52 bulan (1987).

Dua transmigran yang lain mengenal komponen 31 Kd yaitu transmigran U dan B. Kandungan IgG anti mikrofilaria dan kemampuan mengenal komponen mikrofilaria dari transmigran U dapat dilihat pada gambar IV. Di sini terlihat bahwa



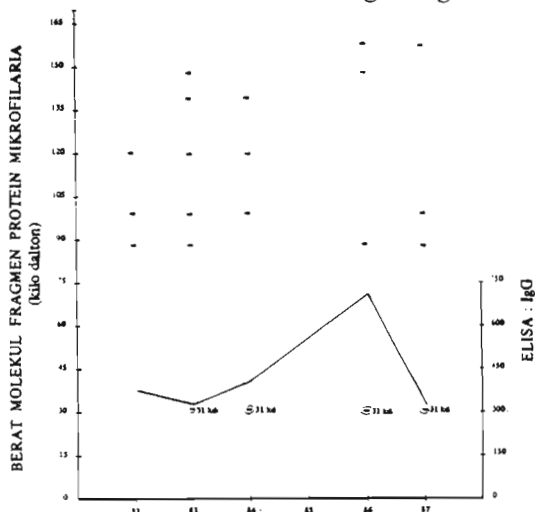
Gambar IV : Harga kandungan IgG pada tes ELISA, dan gambaran kemampuan IgG dalam mengenal komponen protein mikrofilaria dari transmigran U, tahun 1982, 1983, 1984, 1986, 1987.

- komponen protein mikrofilaria yang terdeteksi IgG
- grafik kandungan IgG

kandungan IgG pada masa tinggal 8 bulan (1982) sampai masa tinggal 26 bulan (1984) adalah 0,218, 0,062 dan 0,113. Kandungan IgG meningkat menjadi 0,642 (1986) dan 0,660 (1987). Ada 4 kompo-

nen yang dikenal pada 1982 yaitu komponen berat molekul 31, 45, 158, dan 172 Kd. Setelah masa tinggal 13 bulan (1983) kemampuan mengenal 31 Kd. hilang dan setelah masa tinggal 52 bulan (1987) hanya mengenal satu komponen protein dengan berat molekul 89 Kd.

Gambar V adalah kandungan IgG anti



Gambar V : Harga kandungan IgG pada tes ELISA, dan gambaran kemampuan IgG dalam mengenal komponen protein mikrofilaria dari transmigran B, tahun 1982, 1983, 1984, 1986, 1987.

- komponen protein mikrofilaria yang terdeteksi IgG
- grafik kandungan IgG

mikrofilaria dari transmigran B dan kemampuan mengenal komponen protein mikrofilaria. Terlihat bahwa transmigran B mempunyai kandungan IgG yang tidak terlalu rendah pada masa tinggal 8 bulan (1982) sampai 26 bulan masa tinggal (1984), yaitu 0,371, 0,325, dan 0,403 Setelah masa tinggal 39 bulan (1986) menjadi 0,714 dan turun kembali menjadi 0,326 setelah 52 bulan (1987). Komponen protein yang dikenal pada masa-masa tersebut bervariasi dari 31 Kd sampai 158 Kd. Yang menarik adalah, bahwa kemampuan

mengenal komponen berat molekul 31 Kd timbul pada masa tinggal 13 bulan (1982) dan tetap ada setelah masa tinggal 52 bulan (1987).

KESIMPULAN

Tidak terlihat ada hubungan antara tinggi atau rendahnya kandungan IgG anti mikrofilaria dengan kemampuan mendeteksi komponen protein mikrofilaria.

Empat dari 10 orang transmigran dapat mengenal komponen mikrofilaria malayi yang diduga dapat menurunkan mikrofilaremi (77, 70 dan 31 Kd) setelah 52 bulan di daerah endemis filariasis. Kemampuan mengenal komponen 31 Kd timbul lebih awal dari pada kemampuan mengenal komponen 70 dan 77 Kd.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada Prof. Dr. A.A. Loedin, dan dr. Iskak Koiman, yang telah membantu sehingga penelitian ini dapat terlaksana. Ucapan terima kasih juga kami sampaikan kepada Kepala Kantor Wilayah Departemen Kesehatan Sulawesi Tenggara dan Kepala Kantor P2M dan PLP dan staf di Sulawesi Tenggara yang telah membantu selama penelitian ini dilakukan. Ucapan terima kasih kami sampaikan juga kepada Dra. Hastini P. yang telah membantu dalam melakukan tes ELISA, dan kepada seluruh staf imunologi Pusat Penelitian Penyakit Menular kami ucapkan terima kasih sebesar-besarnya.

DAFTAR RUJUKAN

1. Piessens WF, Mc Greevy PB, Piessens PWG. (1980) Immune Responses In Human Infection with *Brugia malayi* : Specific cellular Unresponsiveness to Filarial Antigens. *J Clin Invest* (65) : 172-179.
2. Ottesen EA, Weller PF, Heck K. (1977) Specific Cellular Unresponsiveness In Human Filariasis. *Immunol* (33) : 413-421.
3. Mc Greevy PB, Ratiwayanto S, Tuti s, Mc Greevy MM, Dennis DT. (1980) *Brugia Malayi* Relationship between antigen sheath antibodies and amicrofilaria in Natives Living in Endemic Area of South Kalimantan Borneo. *A J Trop Med Hyg* (29) : 553-562.
4. Canlas M, Wade A, Lamontagne L, Piessens WF. (1984) A Monoclonal Antibody to surface antigens on microfilaria of *B. Malayi* Reduces microfilaremia in jirds. *A J Trop Med Hyg* (33) : 420-424.
5. Kazura JW, Cicirelo H, Forsyth K. (1986) Differential Recognition of a protective filarial antigen by antibodies from human with Bancroftian filariasis. *J Clin Invest* (77) : 1985 - 1992.
6. Basundari SU, Liliana K, Piessens WF, Hastini, Robert W. (1986) Enzyme Linked Immuno-transblotting Test pada transmigran di daerah endemik filariasis malayi di P. Buton. *CDK* (45) 1951.
7. Basundari SU. (1989) Teknik immuno-transblotting dan aplikasinya. *MEDIKA* (2) : 175 - 181.