

**RESPON IL-10 TERHADAP KEJADIAN ATOPI PADA ANAK
YANG TERINFEKSI CACING USUS**

TESIS

**FREGGY SPICANO JOPRANG
NPM 0606000125**



**UNIVERSITAS INDONESIA
FAKULTAS KEDOKTERAN
PROGRAM STUDI ILMU BIOMEDIK
KEKHUSUSAN PARASITOLOGI
JAKARTA
DESEMBER 2008**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

**Tesis ini adalah hasil karya sendiri,
dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk
telah saya nyatakan dengan benar.**

Nama : Freggy Spicano Joprang

NPM : 0606000125

Tanda Tangan :



Tanggal : 23 Desember 2008

HALAMAN PENGESAHAN

Tesis ini diajukan oleh

Nama : Freggy Spicano Joprang
NPM : 0606000125
Program Studi : Ilmu Biomedik Kekhususan Parasitologi
Judul Tesis : Respon IL-10 terhadap Kejadian Atopi pada Anak yang Terinfeksi Cacing Usus

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Magister Biomedik pada Program Studi Ilmu Biomedik Kekhususan Parasitologi Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia

DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Dr.dra. Taniawati Supali



Pembimbing II : Dr.drs.Heri Wibowo, MS



Penguji I : dr. Agnes Kurniawan, Phd, SpParK



Penguji II : dr. Alida Harahap, PhD, Sp.PK(K)



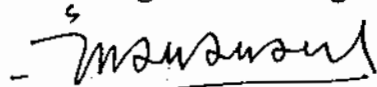
Penguji III : Prof.dr.Arwin A.P. Akib, SpA(K)



Ditetapkan di : Jakarta

Tanggal : 23 Desember 2008

Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedis



Dr.rer.physiol.dr.Septelia Inawati Wanandi

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur kehadiran Tuhan YME, karena hanya dengan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan ini. Tesis ini dilaksanakan sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan studi di Program Magister Ilmu Biomedik dalam Tesis yang berjudul **Respon IL-10 terhadap Kejadian Atopi pada Anak yang Terinfeksi Cacing** .

Dalam kesempatan ini, penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih yang setulusnya atas segala bentuk bantuan, baik berupa gagasan, bimbingan maupun koreksi karena berkat bantuan beliau baik berupa materi maupun dukungannya, saya bisa menyelesaikan tesis ini terutama kepada :

1. Dr. dr. Ratna Sitompul, Sp.M (K) sebagai dekan FKUI dan Prof dr Menaldi Rasmin Sp.P (K), FCCP sebagai Dekan periode 2004-2008 yang menerima saya sebagai mahasiswa biomedik .
2. Dr. rer. physiol.dr. Septelia Inawati W sebagai Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik yang telah memberikan pengarahan selama penulis menjalankan pendidikan.
3. Prof. dr. Saleha Sungkar, MS, DAP&E,SpParK sebagai Kepala Departemen Parasitologi FKUI.
4. Dra. Hendri Astuty, MS sebagai Ketua Kekhususan Parasitologi FKUI.
5. Dr. dra.Taniawati Supali dan Dr. drs. Heri Wibowo,MS sebagai dosen pembimbing dalam tesis ini. Terima kasih atas semua saran, bimbingan dan dukungan yang diberikan selama penulis mengerjakan tesis.
6. Prof. dr. Is Suhariah Ismid, DTM&H, SpParK yang telah membimbing, memberi saran selama penulisan tesis ini.
7. dr. Yenny Djuardi, dr. Aprilianto Eddy, dr. Firdaus, Henny dan Sudirman di Filariasis Center.
8. Seluruh staf pengajar dan karyawan di Departemen Parasitologi FKUI.
9. Gary Brice, Phd sebagai Kepala Unit Imunologi Namru2, dra. Sutanti Ratiwayanto, dan dra. Saraswati Soebianto serta staf dan karyawan di Unit Imunologi Namru2 atas bantuan dan kerjasamanya selama penulis melakukan penelitian di Namru2 Jakarta.

10. dr. Satya Juwana, SpKJ(K) sebagai Dekan FKUAJ periode 2004-2008, dr. Robby Makimian, MS sebagai kepala bagian Parasitologi FK Atmajaya, dr. Monika Yukiani dan dr. Leshmana Padmasutra sebagai staf Parasitologi FK Atmajaya. Terima kasih atas bimbingan dan dukungan moril selama penulis menjalankan pendidikan di FKUI.
11. Papa Bobby Joprang dan alm. mama Lianny Sondakh yang kusayangi sebagai orang tua yang begitu besar perannya dalam mendidik dan membimbing semenjak kecil.
12. Istriku tersayang dr. Laily Purnawati dan kedua anakku tersayang Patricia Bellatrix dan Jessica Alhena yang telah memberikan dukungan moril selama ini.
13. Kakakku Rigel Joprang dan adikku Donny Joprang yang sangat berperan dalam dukungan moril maupun materiil.
14. Teman-teman yang tidak bisa disebutkan namanya satu persatu. Dan semua guru yang telah mendidik semenjak kecil hingga sekarang. Serta semua pihak yang telah membantu selama penelitian dan penyusunan tesis ini.

Semoga semua pihak yang telah memberikan kebaikan kepada penulis akan senantiasa mendapat balasan dari Tuhan YME. Dengan rendah hati penulis menyadari bahwa tidak ada karya yang sempurna selain Maha Karya-Nya. Oleh karena itu kepada segenap pembaca karya kecil ini, penulis menghaturkan penghargaan dan ucapan terima kasih serta tidak menutup mata untuk koreksinya.

Jakarta, 23 Desember 2008

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Freggy Spicano Joprang
NPM : 0606000125
Program Studi : Pasca Sarjana Ilmu Biomedik
Departemen : Parasitologi
Fakultas : Kedokteran
Jenis Karya : Tesis

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia **Hak Bebas Royalti Noneksklusif** (*Non-exclusive Royalty-Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul:

Respon IL-10 terhadap Kejadian Atopi pada Anak yang Terinfeksi Cacing Usus

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalih media/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan mempublikasikan tugas akhir saya tanpa meminta izin dari saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Jakarta

Pada tanggal : 23 Desember 2008

Yang Menyatakan



(Freggy Spicano J)

ABSTRAK

Nama : Freggy Spicano Joprang
Program Studi : Ilmu Biomedik Kekhususan Parasitologi
Judul : Respon IL-10 terhadap Kejadian Atopi pada Anak yang Terinfeksi Cacing Usus

Beberapa penelitian menyatakan bahwa infeksi cacing usus dapat menekan atopi tetapi hal ini masih menjadi kontroversi. Pada infeksi cacing respon imun mengarah ke Th2 (IL-4, IL-5 dan IL-13) serta aktivasi Treg (IL-10 dan TGF- β) yang merupakan mediator anti-inflamasi. Respon imun Th2 juga terjadi terhadap atopi. Adanya infeksi cacing kronis akan meningkatkan kadar IL-10 yang akan menekan aktivasi Th2 sehingga menekan atopi. Penelitian ini merupakan *analytical cross-sectional study* yang bertujuan mengetahui respon IL-10 terhadap kejadian atopi pada anak-anak dengan kecacingan. Penelitian ini melibatkan 308 anak sekolah dasar yang berasal dari daerah Ende, Nangapanda dan Anaranda, Kabupaten Ende, Flores, Nusa Tenggara Timur. Sebanyak 207 subyek diperiksa tinja secara mikroskopis untuk mengetahui status infeksi cacing, 308 subyek dilakukan uji tusuk kulit (SPT) untuk mengetahui status atopi, 197 subyek diambil darahnya dan dikultur (PHA, Ascaris, kontrol) lalu diperiksa dengan Luminex untuk mengetahui kadar IL-10. Diperoleh hasil bahwa subyek pada daerah rural (Nangapanda, Anaranda) memiliki infeksi cacing usus lebih tinggi (Chi_square test=17,31; p=0,000) dibanding daerah urban (Ende). Subyek pada daerah urban memiliki prevalensi atopi lebih tinggi (OR=2,3 (95% CI=1,12-4,78), p=0,02) dibanding subyek di rural. Kadar IL-10 terhadap PHA pada subyek dengan atopi kacang lebih tinggi (OR=0,27 (95% CI=0,09-0,82); p=0,02) dibanding subyek tanpa atopi.

Kata kunci:

Interleukin 10 (IL-10), cacing usus, atopi, T regulatori (Treg).

ABSTRACT

Name : Freggy Spicano Joprang
Study Program : Biomedic Science (Major Parasitology)
Title : Response IL-10 to Atopy Manifestation from Children
with Intestinal Helminth Infection

Several studies reported that intestinal helminth infection suppressed the atopy, but there were still many controversial. Immune responses from intestinal helminth infection have been known skewing towards Th2 (IL-4, IL-5 dan IL-13) and Treg activation (IL-10 dan TGF- β). Immune response to atopy is also induced Th2 response immune. The elevation of IL-10 due to chronic intestinal helminth infection will suppress Th2 activation and reduced atopy. This study is an *analytical cross-sectional study*. The aim of the study is to determine IL-10 response in atopy manifestation from helminth infected children. A total of 310 children from elementary school at Ende (urban area), Nangapanda dan Anaranda (rural areas), Ende district, Nusa Tenggara Timur, participated in this study. Of this, 207 children were eligible for stool examination, 308 children were for skin-prick test (SPT) to determine their atopy status, 197 children were eligible for blood cultur examination (PHA, Ascaris, control) with Luminex to determine their IL-10 titer status. The results show that children who live in the rural area (Nangapanda, Anaranda) have higher prevalence of intestinal helminth infections (Chi_square test=17,31; p=0,000) than children living in the urban area (Ende). The prevalence of atopy is also higher in children living in urban (OR=2,3 (95% CI=1,12-4,78; p=0,02) than children in rural area. IL-10 response to PHA from children who are peanut SPT positive is higher (OR=0,27 (95% CI=0,09-0,82; p=0,02) than children without peanut atopy.

Key words:

Interleukin 10 (IL-10), Intestinal helminth, atopy, T regulatory (Treg)

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH.....	vi
ABSTRAK.....	vii
ABSTRACT.....	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
DAFTAR SINGKATAN.....	xiv
1 PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Perumusan Masalah.....	2
1.3 Hipotesis	3
1.4 Tujuan.....	3
1.5 Manfaat.....	3
2 TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Cacing usus.....	5
2.2 Respon imun tubuh terhadap infeksi cacing.....	6
2.3 Penyakit alergi.....	6
2.4 Hubungan infeksi cacing dan atopi.....	8
3 METODE PENELITIAN.....	10
3.1 Desain Penelitian.....	10
3.2 Lokasi Penelitian.....	10
3.3 Populasi dan Sampel Penelitian.....	10
3.4 Besar Sampel.....	11
3.5 Uji Tusuk Kulit (<i>Skin-prick-test</i>).....	12
3.6 Pemeriksaan Tinja.....	13
3.7 Kultur Darah.....	15
3.8 Pengukuran Kadar Sitokin IL-10.....	16
3.9 Definisi Operasional.....	20
3.10 Analisa Data.....	20
3.11 Alur Penelitian.....	21

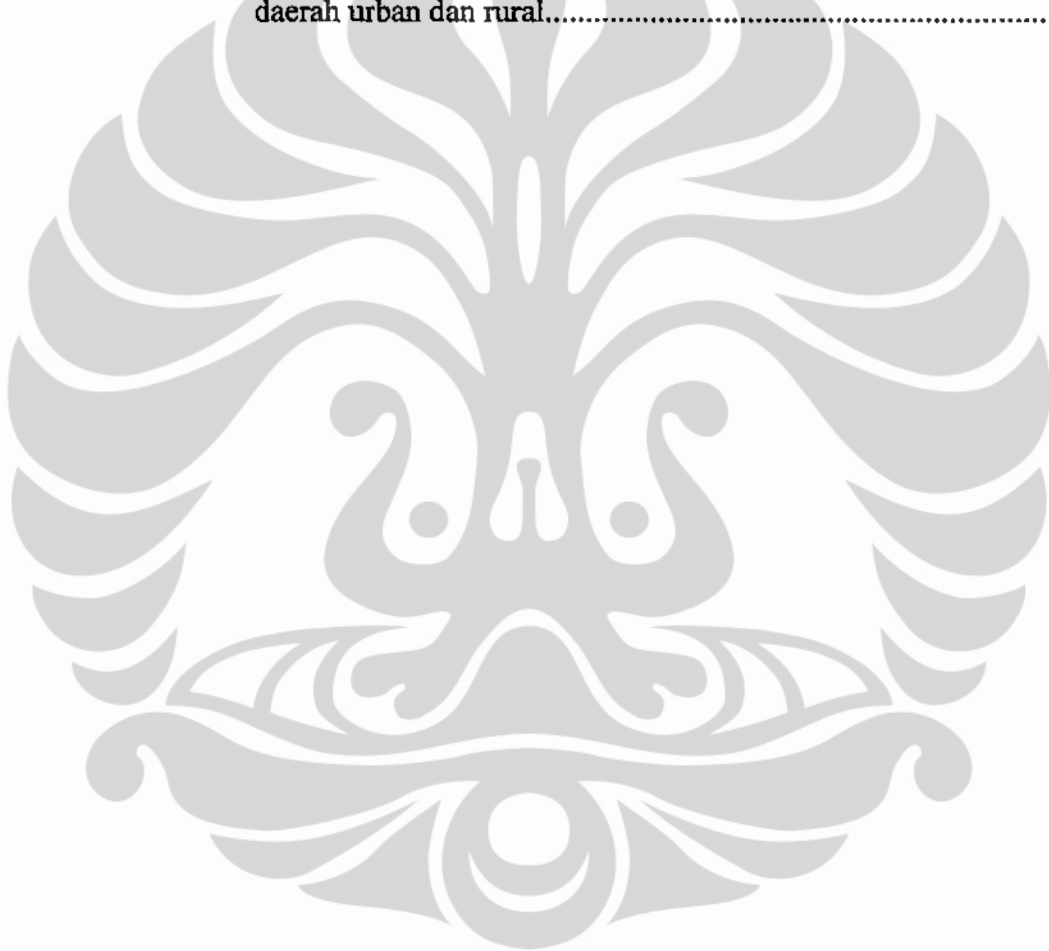
4	HASIL PENELITIAN.....	22
4.1	Karakteristik Responden.....	22
4.2	Status Infeksi Cacing.....	22
4.3	Distribusi infeksi cacing dan ekspresi IL-10 di daerah Urban dan Rural.....	23
4.4	Status Atopi.....	24
4.5	Ekspresi IL-10 terhadap PHA dengan kelompok atopi dan kelompok infeksi cacing.....	25
4.6	Hubungan IL-10 terhadap PHA dengan atopi kacang.....	27
4.7	Hubungan wilayah urban dan rural dengan status atopi kacang.....	28
4.8	Hubungan infeksi cacing dengan status atopi kacang.....	29
4.9	Hubungan status wilayah (urban dan rural), infeksi cacing serta kadar IL-10 terhadap PHA dan atopi kacang.....	29
4.10	Hubungan wilayah urban dan rural dengan status atopi tungau.....	30
4.11	Hubungan infeksi cacing dengan status atopi tungau.....	31
4.12	Hubungan IL-10 terhadap PHA dengan manifestasi atopi tungau....	31
4.13	Hubungan status wilayah (urban dan rural), infeksi cacing serta kadar IL-10 terhadap PHA dan atopi tungau.....	32
4.14	Hubungan wilayah urban dan rural dengan status atopi (kacang+tungau).....	33
4.15	Hubungan status infeksi cacing dengan status atopi (kacang+kacang).....	34
4.16	Hubungan IL-10 dengan status atopi (kacang+tungau).....	34
4.17	Hubungan status wilayah (urban dan rural), infeksi cacing serta IL-10 terhadap PHA dan atopi (kacang+tungau).....	35
5	PEMBAHASAN.....	37
6	KESIMPULAN DAN SARAN.....	41
	DAFTAR REFERENSI	42
	LAMPIRAN.....	45
	RIWAYAT HIDUP.....	56
	DRAFT ARTIKEL.....	

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1	Distribusi infeksi cacing pada anak sekolah.....	22
Tabel 4.2	Distribusi infeksi cacing pada anak SD yang tinggal di daerah urban dan rural.....	23
Tabel 4.3	Analisa perbandingan prevalensi infeksi cacing usus dari anak-anak SD yang tinggal di daerah urban dan rural.....	23
Tabel 4.4	Distribusi atopi responden.....	24
Tabel 4.5	Distribusi atopi kacang dan IL-10 terhadap PHA.....	27
Tabel 4.6	Distribusi atopi kacang pada anak-anak SD yang tinggal di daerah urban dan rural.....	28
Tabel 4.7	Distribusi atopi kacang dan infeksi cacing.....	29
Tabel 4.8	Hubungan status wilayah, infeksi cacing serta IL-10 terhadap PHA dan atopi kacang.....	30
Tabel 4.9	Distribusi atopi tungau pada anak-anak SD yang tinggal di daerah urban dan rural.....	31
Tabel 4.10	Distribusi atopi tungau dan infeksi cacing.....	31
Tabel 4.11	Distribusi atopi tungau dan IL-10.....	32
Tabel 4.12	Hubungan status wilayah, infeksi cacing serta IL-10 terhadap PHA dan atopi tungau.....	33
Tabel 4.13	Distribusi atopi (kacang+tungau) pada anak-anak SD yang tinggal di daerah urban dan rural.....	34
Tabel 4.14	Distribusi atopi (kacang+tungau) dan infeksi cacing.....	34
Tabel 4.15	Distribusi atopi (kacang+tungau) dan IL-10.....	35
Tabel 4.16	Hubungan status wilayah, infeksi cacing serta IL-10 terhadap PHA dan atopi (kacang+tungau).....	36

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Mekanisme perkembangan penyakit alergi pada saluran nafas.	7
Gambar 2.2	Mekanisme respon imun pada infeksi kronik parasit dalam menekan penyakit alergi pada saluran nafas	9
Gambar 4.1	Ekspresi IL-10 terhadap status wilayah.....	24
Gambar 4.2	Ekspresi IL-10 terhadap PHA pada kelompok infeksi cacung ..	25
Gambar 4.3	Ekspresi IL-10 terhadap PHA pada kelompok atopi tungau.....	26
Gambar 4.4	Ekspresi IL-10 terhadap PHA pada kelompok atopi kacang.....	26
Gambar 4.5	Distribusi atopi kacang dengan IL-10 terhadap PHA.....	27
Gambar 4.6	Distribusi atopi kacang pada anak-anak SD yang tinggal di daerah urban dan rural.....	28



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Analisa bivariat dan multivariat terhadap atopi tungau	45
Lampiran 2	Analisa bivariat dan multivariat terhadap atopi kacang.....	48
Lampiran 3	Analisa bivariat dan multivariat terhadap atopi (kacang+tungau).....	52



DAFTAR SINGKATAN

1. Th2 : *T helper 2*
2. Treg : *T regulatory*
3. IL : *Interleukin*
4. TGF β : *Transforming Growth Factor β*
5. IgE : *Immunoglobulin E*
6. Sel NK : *sel natural killer*
7. ADCC : *Antibody Dependent Cell mediated Cytotoxicity*
8. SPT : *Skin prick test*
9. APC : *antigen precenting cell*
10. IgG4 : *Immunoglobulin G 4*
11. PHA : *Phytohaemagglutinin*
12. *A.lumbricoides* : *Ascaris lumbricoides*
13. *T.trichiura* : *Trichuris trichiura*
14. OR : *Odds ratio*
15. CI : *Confidence interval*

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Sampai saat ini infeksi cacing usus masih menjadi masalah kesehatan di seluruh dunia terutama di negara-negara berkembang yang terletak di daerah tropis. Lebih dari 2 miliar orang di seluruh dunia terinfeksi cacing usus.¹ Infeksi cacing usus ini biasanya diderita oleh anak-anak usia sekolah dimana infeksi ini erat hubungannya dengan sanitasi individu dan kondisi lingkungan yang buruk serta sosial ekonomi yang rendah. Pada umumnya infeksi cacing usus bersifat kronis terutama pada penduduk yang tinggal di daerah endemis. Prevalensi infeksi cacing usus terbanyak disebabkan oleh spesies *Ascaris lumbricoides*, cacing tambang dan *Trichuris trichuria*.^{2,3}

Di Indonesia prevalensi infeksi cacing usus pada umumnya tinggi. Menurut survei epidemiologi yang dilakukan pada periode 1975 sampai 2003 dari berbagai daerah di seluruh Indonesia, didapatkan prevalensi *Ascaris lumbricoides* 14%-90%, *Trichuris trichuria* 1%-90% dan cacing tambang 18%-76%.⁴

Prevalensi penyakit alergi semakin meningkat di seluruh dunia terutama di negara-negara maju. Di negara berkembang prevalensi penyakit alergi lebih rendah dibandingkan negara maju. Prevalensi alergi ditemukan lebih tinggi di wilayah perkotaan (urban) dibandingkan daerah pedesaan (rural)⁵ dan peningkatan resiko ini diperkirakan karena perubahan berbagai faktor lingkungan, di antaranya adalah perubahan pola infeksi cacing.⁶

Infeksi cacing akan menstimuli respon imun lebih ke arah Thelper2 (Th2) dan mengaktivasi Tregulatori/Treg (ditandai dengan adanya Interleukin (IL-10)) yang merupakan mediator anti inflamasi^{3,7} sedangkan penyakit alergi terjadi peningkatan respon imun Th2 yang berlebihan. Pada infeksi cacing kronis respon imun Th2 yang berlebihan ini akan

ditekan dan hal ini berpengaruh terhadap berkurangnya kerentanan pada alergi.⁷

Berbagai penelitian menemukan bahwa terdapat hubungan antara infeksi cacing dengan alergi dimana infeksi cacing memiliki efek proteksi terhadap alergi. Penelitian yang dilakukan oleh Lynch dkk di Venezuela dan Cooper P J dkk pada daerah rural di Ekuador menemukan bahwa anak-anak sekolah yang tinggal di daerah rural yang endemis infeksi cacing usus memiliki prevalensi alergi yang rendah, sedangkan pada kelompok urban menunjukkan reaksi alergi yang tinggi.^{2, 8}

Hal ini mungkin dapat dijelaskan berdasarkan hipotesa higiene oleh Strachan dimana pada anak-anak dengan status sosio-ekonomi tinggi yang mempunyai higiene yang lebih baik, mendapat vaksinasi dan menggunakan antibiotik untuk mengobati penyakit infeksi, akan lebih rentan mendapatkan penyakit alergi dan penyakit autoimun.⁹

Penelitian oleh Palmer L J dkk pada daerah rural di China dan penelitian Obihara dkk di Afrika Selatan menemukan bahwa infeksi cacing *A.lumbricoides* akan meningkatkan resiko penyakit asma.^{10, 11} Meta analisis yang dilakukan oleh Leonardi-Bee dkk mengenai hubungan infeksi cacing dan alergi menunjukkan tidak adanya konsistensi data infeksi cacing usus dalam menekan alergi.¹² Sedangkan data penelitian mengenai infeksi cacing *Schistosoma* dan filaria yang dilakukan oleh Araujo dkk, van den Biggelaar dkk dan Meideros dkk menunjukkan hasil yang konsisten dalam menekan atopi.¹³⁻¹⁵

1.2. Perumusan Masalah

Indonesia merupakan negara berkembang, yang sebagian wilayahnya berkembang dengan menunjukkan karakteristik perkotaan (urban) dan sebagian wilayah masih menunjukkan karakteristik pedesaan (rural). Infeksi cacing usus oleh *A.lumbricoides*, *T.trichuria*, dan cacing tambang masih endemis pada beberapa wilayah di Indonesia.

Dari berbagai penelitian menunjukkan bahwa faktor-faktor seperti status infeksi cacing, status wilayah (urban dan rural) serta aktivasi Treg

(yang ditandai dengan ekspresi IL-10 dan TGF- β) berpengaruh terhadap kejadian atopi.

Penelitian mengenai hubungan antara kejadian atopi pada anak-anak yang tinggal di daerah endemis cacing usus masih kurang. Sehingga perlu dilakukan penelitian untuk melihat bagaimana interaksi antara infeksi cacing usus, status wilayah (urban, rural) dan ekspresi IL-10 dalam mempengaruhi kejadian atopi.

1.3. Hipotesis

Terdapat interaksi antara status infeksi cacing, status wilayah (urban-rural) dan ekspresi IL-10 terhadap kejadian atopi.

1.4. Tujuan

1.4.1. Tujuan Umum

Mengetahui interaksi antara status infeksi cacing, status wilayah (urban-rural) dan ekspresi IL-10 terhadap kejadian atopi

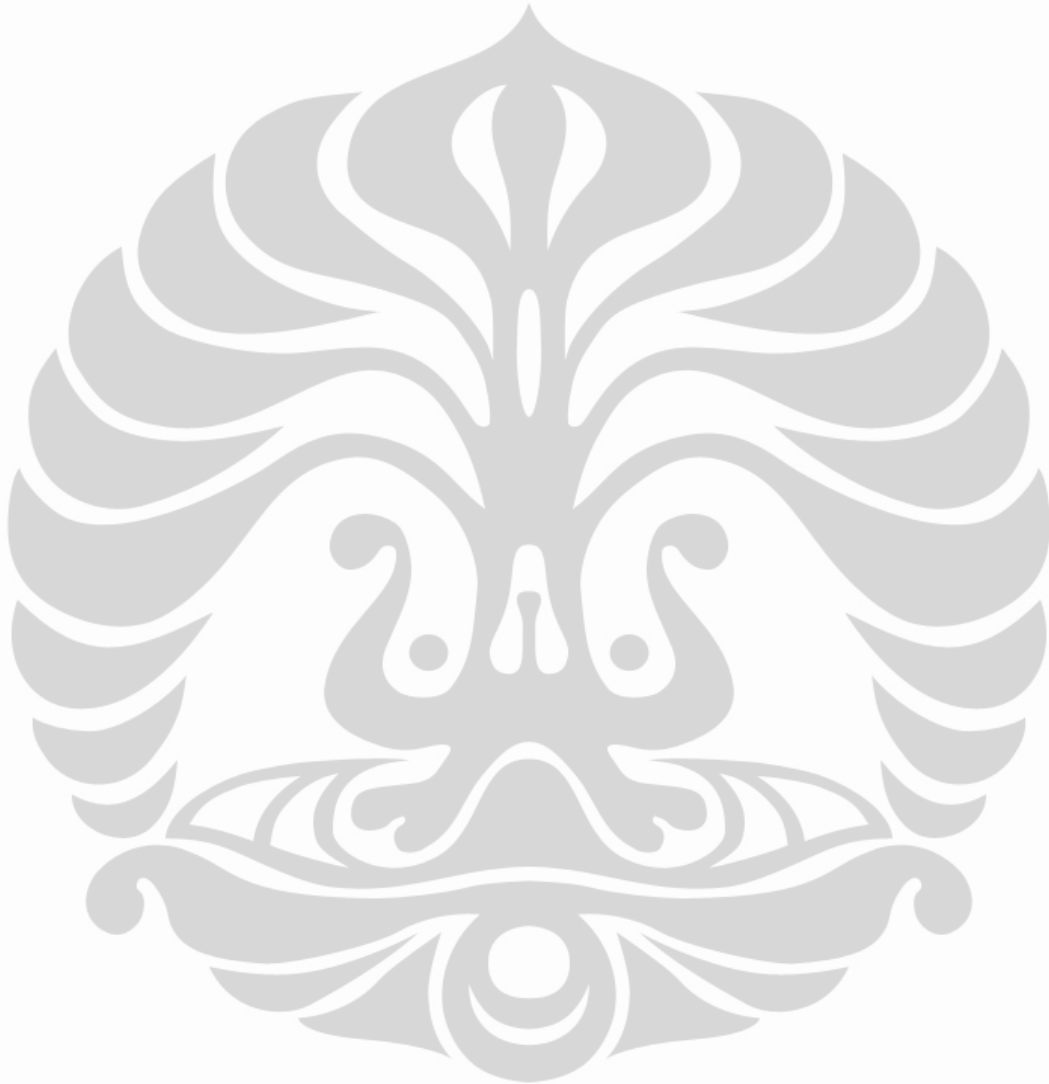
1.4.2. Tujuan Khusus

1. Membandingkan ekspresi IL-10 terhadap antigen Phytohaemagglutinin/PHA dan *A.lumbricoides* pada anak yang terinfeksi cacing dan yang tidak terinfeksi cacing.
2. Membandingkan proporsi atopi pada anak yang terinfeksi cacing dan yang tidak terinfeksi cacing.
3. Membandingkan ekspresi IL-10 pada anak yang tinggal di daerah urban dan rural.
4. Membandingkan proporsi atopi pada anak yang tinggal di daerah urban dan rural.
5. Menentukan variabel-variabel yang berpengaruh : infeksi cacing, wilayah (urban/rural) dan ekspresi IL-10 terhadap kejadian atopi.

1.5. Manfaat Riset

Diharapkan dengan mengetahui hubungan antara ekspresi IL-10 (respon imun seluler) pada anak-anak yang terinfeksi cacing usus

dengan atopi dapat meningkatkan pemahaman tentang berbagai faktor yang berhubungan dengan kerentanan hospes terhadap atopi/alergi.



BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Cacing usus

Cacing merupakan parasit multiseluler yang dapat menginfeksi manusia. Dalam tubuh manusia cacing hidup di dalam saluran limfe, pembuluh darah dan saluran pencernaan. Cacing tidak bereplikasi dalam tubuh manusia dan memiliki siklus hidup yang kompleks (perkembangan dari stadium telur/larva menjadi stadium dewasa) dimana pada organ target mereka akan bereproduksi. Cacing memiliki masa hidup yang panjang dalam tubuh hospes.¹⁶

Infeksi cacing usus masih endemis pada negara berkembang di daerah tropis. Prevalensi cacing usus yang terbanyak adalah *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichuria* dan cacing tambang.^{1,3} Transmisi cacing usus berkaitan erat dengan keadaan lingkungan dan sanitasi individu yang buruk. Pada umumnya anak-anak usia sekolah yang tinggal di lingkungan yang buruk dapat terinfeksi cacing usus secara tunggal maupun multipel. Sebagian besar tidak menunjukkan gejala klinis dan hanya sebagian kecil yang menunjukkan gejala ringan sehingga hal ini tidak disadari oleh sebagian besar penderita, dan hal ini menyebabkan infeksi cacing biasanya menjadi kronis.^{3,16}

Infeksi cacing *A.lumbricoides* dan *T.trichiura* terjadi karena menelan makanan yang terkontaminasi telur cacing yang infeksi. Kemudian telur masuk ke dalam usus kecil dan menetas menjadi larva yang lalu menginvasi ke dalam mukosa usus. Larva *T.trichiura* kemudian masuk ke usus besar dan menjadi cacing dewasa. Sedangkan larva *A.lumbricoides* akan masuk ke sistem portal lalu ke ventrikel kanan jantung dan terakhir di kapiler paru-paru. Disini larva mengalami perkembangan dan melakukan penetrasi mukosa kapiler dan masuk ke alveoli, bronkus kemudian tenggorokan dan masuk ke esophagus dan sampai di usus kecil, disini larva akan menjadi cacing dewasa.^{4,17}

Infeksi cacing tambang (*Necator americanus* dan *Ancylostoma duodenale*) terjadi karena larva filariform menembus kulit lalu masuk kapiler darah dan terbawa sampai ke kapiler paru. Dari sini perjalanan larva sama seperti larva *A.lumbricoides* dimana di usus halus larva menjadi cacing dewasa.^{4,17}

2.2. Respon imun tubuh terhadap infeksi cacing

Infeksi cacing akan merangsang respon imun hospes berkembang lebih ke arah Th2 yang ditandai dengan dihasilkannya sitokin IL-4, IL-5 dan IL-13 serta adanya peningkatan aktivasi Treg (IL-10, TGF- β) yang merupakan sitokin anti inflamasi serta adanya peningkatan IgE dan sel efektor spesifik seperti sel mast, eosinofil dan basofil.^{3,16} Intereukin-4 menstimuli sel B dengan bantuan sel Th2 memproduksi IgE poliklonal yang kemudian berikatan dengan sel mast serta menghambat aktivasi dari makrofag. Sedangkan IL-5 akan mengaktivasi maturasi eosinofil dan menstimuli perkembangan serta diferensiasi dari eosinofil. Interleukin 13 menstimuli produksi mukus dari sel epitel. Interleukin-10 menghambat aktivasi makrofag dan sel dendritik serta merangsang sel B memproduksi IgG4.^{18,19,21}

Respon imun tubuh terhadap infeksi cacing dapat juga melalui *antibody dependent cell mediated cytotoxicity* (ADCC), IgE melekat pada permukaan cacing, eosinofil kemudian melekat melekat melalui reseptor Fc, sehingga eosinofil teraktivasi dan melepaskan granula enzim yang dapat merusak cacing.^{19,20}

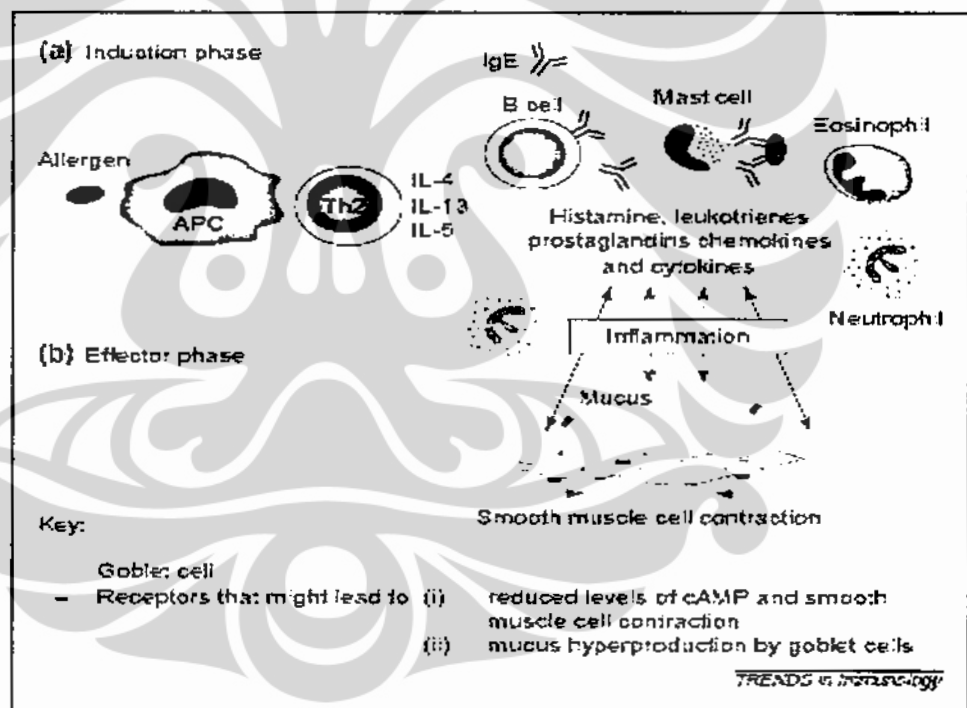
2.3. Penyakit alergi.

Prevalensi penyakit alergi semakin meningkat di negara-negara maju dimana lebih dari sepertiga anak-anak di negara maju menderita alergi. Menurut ISAAC (*The International study of asthma and allergies in childhood*) prevalensi penyakit alergi di negara-negara berkembang lebih rendah dibandingkan negara maju dan terdapat perbedaan antara

daerah perkotaan dan pedesaan di negara berkembang dimana prevalensi alergi di daerah perkotaan lebih tinggi dibandingkan daerah pedesaan.^{4,22}

Atopi ditandai dengan adanya peningkatan kadar IgE total dan IgE spesifik terhadap alergen lingkungan dan adanya respon hipersensitivitas yang dapat ditunjukkan dengan uji tusuk kulit/*skin prick test* (SPT) yang positif terhadap alergen. Sedangkan alergi ditandai dengan adanya gejala klinis yang timbul terhadap alergen.^{3,7,22}

Beberapa faktor lingkungan seperti polusi udara, paparan terhadap binatang yang merupakan alergen lingkungan dapat memicu sensitisasi alergi. Anak-anak dengan berat badan lahir rendah dan yang tinggal dalam keluarga yang besar dapat menurunkan resiko alergi.³



Gambar 2.1. Mekanisme perkembangan penyakit alergi pada saluran nafas.⁷

Perkembangan penyakit alergi pada saluran nafas (Gambar 2.1) dapat dibagi menjadi 2 fase yaitu fase induksi dan fase efektor. Pada fase induksi, alergen akan ditangkap oleh *antigen presenting cell* (APC) yang kemudian akan menstimuli respon imun seluler berkembang ke arah Th2,

yang akan menghasilkan sitokin-sitokin antara lain IL-4, IL-5 dan IL-13. IL-5 mempengaruhi perkembangan dan diferensiasi eosinofil. IL-13 menstimuli produksi mukus dari sel epitel. Sedangkan IL-4 akan menstimuli sel B memproduksi IgE yang kemudian menempel pada sel mast. Bila terjadi paparan kedua dari alergen maka alergen akan ditangkap oleh IgE yang menempel pada sel mast yang kemudian akan memicu terjadinya degranulasi sel mast yang mengeluarkan mediator-mediator pro inflamasi seperti histamin, leukotrien, kemokin prostaglandin dan sitokin. Pada fase efektor, mediator pro inflamasi tersebut akan menyebabkan inflamasi pada saluran nafas dan menyebabkan kontraksi otot polos saluran nafas.⁷

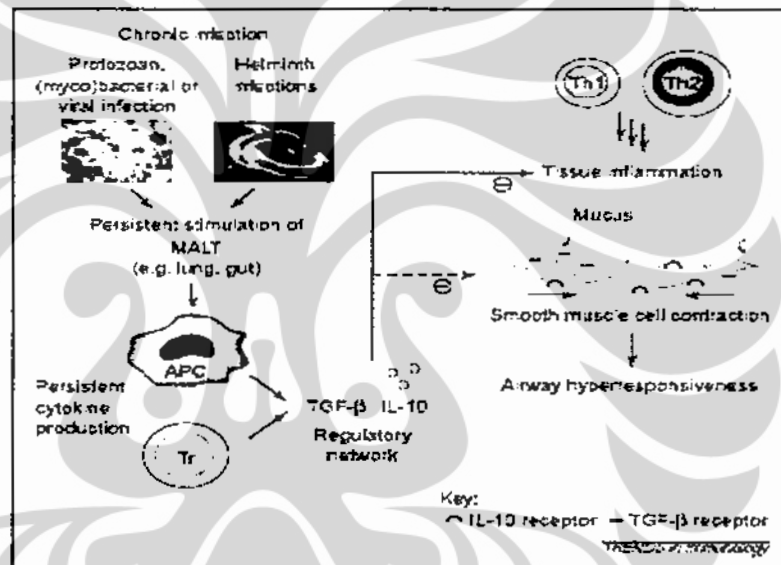
2.4. Hubungan antara infeksi cacing dan atopi.

Penyakit alergi lebih banyak ditemukan di negara industri dan jarang ditemukan pada daerah tropis dengan endemis cacing usus. Hal ini berhubungan dengan hipotesa higiene (Strachan) dimana paparan yang tinggi terhadap infeksi (termasuk infeksi cacing) akan menurunkan resiko atopi.²³

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa infeksi cacing usus dapat menekan resiko alergi. Pada penelitian oleh Lynch dkk di Venezuela, menunjukkan bahwa intensitas transmisi cacing usus memegang peranan dalam menentukan dampak infeksi cacing pada reaksi alergi. Di daerah dengan transmisi infeksi cacing usus rendah (kelompok urban dengan status sosio-ekonomi yang tinggi) menunjukkan reaksi alergi yang tinggi, sedangkan pada kelompok urban atau rural dengan transmisi yang tinggi menunjukkan reaksi alergi yang rendah. Pengobatan pada anak-anak urban yang tinggal di lingkungan yang buruk dan endemis infeksi cacing dapat meningkatkan reaksi alergi.⁸

Cooper P J dkk pada daerah rural di Ekuador menemukan bahwa anak-anak sekolah yang tinggal di daerah rural yang endemis infeksi cacing usus memiliki proteksi terhadap alergen uji kulit.⁶

Mekanisme infeksi cacing kronis dalam menekan penyakit alergi pada saluran nafas (Gambar 2.2) menunjukkan bahwa infeksi cacing kronis akan menstimuli mukosa saluran pencernaan dan paru-paru (misalnya pada *A.lumbricoides*) secara terus menerus. Kemudian akan menstimuli *antigen presenting cell* (APC) untuk mengaktivasi sel Treg yang akan menghasilkan IL-10 dan TGF- β yang merupakan sitokin anti inflamasi. Tingginya kadar IL-10 akan meredam proses inflamasi jaringan dan kontraksi otot polos yang merupakan akibat dari respon Th2 yang berlebihan. Pada akhirnya akan meredam reaksi hipersensitivitas pada saluran nafas.⁷



Gambar 2.2. Mekanisme respon imun pada infeksi kronik parasit dalam menekan penyakit alergi pada saluran nafas.

Penelitian oleh Kitagaki dkk pada model murine dengan asma yang diinfeksi dengan *Heligosomes polygorus* (cacing usus tanpa siklus sistemik) menunjukkan bahwa IL-10 memegang peranan penting dalam menekan timbulnya asma.²⁴

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan studi *cross-sectional* yaitu membandingkan prevalensi atopi pada anak-anak Sekolah Dasar yang terinfeksi cacing usus dengan yang tidak terinfeksi. Status infeksi cacing usus dilihat dari pemeriksaan tinja untuk cacing usus. Atopi dilihat dari uji tusuk kulit (SPT) yang positif. Kadar IL-10 diperiksa dengan menggunakan mesin Luminex 100IS.

3.2. Lokasi Penelitian

Penelitian dilakukan di kota Ende (SDK Ende) dan wilayah kerja puskesmas Nangapanda (SDK Nangapanda) dan Welamosa (SDK Anaranda), Kabupaten Ende, Flores, Nusa Tenggara Timur yang merupakan daerah endemis cacing usus dan bukan merupakan daerah endemis filaria. Pengambilan sampel dilakukan pada 3 Sekolah Dasar di SDK Ende, SDK Nangapanda, SDK Anaranda. Pengumpulan tinja dan pemeriksaan SPT dilakukan oleh staf bagian Parasitologi FKUI. Pemeriksaan laboratorium dilakukan di laboratorium Parasitologi FKUI. Penelitian ini telah disetujui oleh komite etik FKUI No. 194/PT02.FK/2006.

3.3. Populasi dan Sampel Penelitian

- Populasi target : anak-anak Sekolah Dasar dengan riwayat infeksi cacing yang tinggal di daerah urban dan rural.
- Populasi terjangkau : anak-anak Sekolah Dasar dengan riwayat infeksi cacing yang tinggal daerah urban dan rural di wilayah Ende, Flores, Propinsi Nusa Tenggara Timur.

- Sampel terjangkau : anak-anak Sekolah Dasar yang berasal dari wilayah urban (SDK Ende) dan daerah rural (SDK Nangapanda dan SDK Anaranda)
- Sampel terpilih : sampel dipilih berdasarkan teknik *consecutive sampling* terhadap anak-anak Sekolah Dasar kelas 4-6 (usia 10-12 tahun) yang berasal dari wilayah urban (SDK Ende) dan wilayah rural (SDK Nangapanda dan SDK Anaranda) yang telah menyetujui *informed consent*.

3.4. Besar Sampel

Perhitungan besar sampel minimal berdasarkan rumus untuk uji hipotesis terhadap 2 proporsi :

$$n1 = n2 = \frac{(Z_{1-\alpha/2}\sqrt{2PQ} + Z_{1-\beta}\sqrt{P_1Q_1 + P_2Q_2})^2}{(\Delta P)^2}$$

Keterangan :

n : besar sampel per kelompok

α : tingkat kemaknaan sebesar 5% = 0,05

Z_α : Z skor untuk α sebesar 0,05 adalah 1,96

β : 5% - 20%, biasanya 20% = 0,2 ; $1-\beta = 0,8$

$Z_{1-\beta}$: Z skor untuk β sebesar 0,8 adalah 0,842

P_1 : proporsi atopi pada kelompok yang tidak terinfeksi cacing

P_2 : proporsi atopi pada kelompok yang terinfeksi cacing

ΔP : perbedaan minimal yang secara klinis bermakna (ditentukan oleh peneliti) = 25%

P : rata² dari P_1 dan P_2 .

Jadi jumlah sampel minimal adalah 53 orang anak Sekolah Dasar per kelompok (kelompok terinfeksi cacing dan kelompok tidak terinfeksi cacing).

3.5. Uji tusuk kulit (*Skin-prick-test*)

Uji tusuk kulit (SPT) digunakan untuk menentukan ada tidaknya alergi terhadap alergen tertentu.

Alat dan bahan :

- Lanset (Megrosupra, Megro GmbH & Co.Kg)
- Alkohol 70%
- Kapas
- Tape transparan
- Penggaris
- Kertas data
- Tisu
- Alergen (HAL Allergy Benelux BV, Haarlem) :
 - Kacang (peanut)
 - Tungau (*Dermatophagoides pteronyssinus*)
- Kontrol positif (Histamin)
- Kontrol negatif (Fenol gliserol)

Cara Kerja :

- Daerah yang akan diuji (lengan bawah bagian volar) dibersihkan dengan kapas alkohol dan dibiarkan kering.
- Daerah yang akan ditetaskan alergen diberi tanda titik dengan spidol untuk sejumlah alergen yang akan diuji.
- Lalu ditetaskan alergen kacang, tungau, kontrol positif dan kontrol negatif di sebelah tanda titik.
- Pada tetesan alergen, ditusukkan lanset pada kulit dengan posisi 90°, setelah itu tetesan dikeringkan dengan tisu.
- Hasil berupa ada tidaknya *wheal* dibaca setelah 15 menit.
- Tepi *wheal* yang terbentuk ditandai dengan pena kemudian ditempelkan tape transparan, tape diangkat lalu dipindahkan ke atas kertas data.
- Diameter *wheal* diukur dengan 2 garis diameter, diameter pertama diambil pada jarak terluas dan diameter kedua diambil

tegak lurus diameter pertama. Hasil ukur *wheel* merupakan penjumlahan kedua diameter dibagi dua.

- Dikatakan positif bila diameter *wheel* ≥ 3 mm.

3.6. Pemeriksaan tinja

Pemeriksaan tinja dilakukan untuk mengetahui status infeksi cacing. Tinja diperiksa dengan teknik kultur harada mori untuk melihat larva cacing tambang. Kultur tinja dilakukan di Ende oleh tim parasitologi. Sisa tinja dicampur dengan 10% larutan formalin dan dibawa ke laboratorium Parasitologi FKUI untuk diperiksa dengan teknik konsentrasi.

1. Kultur Harada Mori :

Alat dan bahan :

- Kantong plastik es mambo dengan dasar kantong dibuat runcing pada salah satu sisi (dengan cara melipat bagian dasar kantong sehingga menjadi runcing, lalu bagian lipatan ditempel dengan tape transparan).
- Aquadest
- Kertas saring ukuran 13 x 120 mm dengan salah satu bagian ujung meruncing.
- Lidi.
- Tinja

Cara kerja :

- Apuskan tinja pada satu sisi bagian 1/3 tengah kertas saring dengan lidi
- Masukkan kertas saring tersebut ke dalam kantong plastik es mambo yang berisi 3 ml aquadest dan rendam ujung kertas saring yang berbentuk runcing sedalam 1 cm di bawah permukaan air.
- Bagian tepi atas kantong plastik direkatkan dengan cara dipanaskan.
- Biakan disimpan dalam kamar yang agak gelap pada suhu kamar selama 7 hari.

2. Teknik konsentrasi (formalin-ether) method

Alat dan bahan :

- Batang aplikator dari kayu
- Botol semprot 250 atau 500 ml (diisi formalin)
- Alat sentrifus untuk conical tube 15 ml
- Swab kapas
- Cover glass
- Corong
- Kasa
- Kaca objek
- Pipet Pasteur dengan bola karet
- Rak tabung
- Mikroskop
- Formalin 10%.
- Ether atau ethyl acetate
- Lugol's iodine 1% dalam botol yang diperlengkapi pipet
- NaCl fisiologis

Cara Kerja :

- Tambahkan 10 ml formalin 10% pada \pm 50 mg tinja, aduk dengan batang aplikator hingga didapatkan suspensi yang agak berkabut.
- Pasang kasa filter pada corong dan tempatkan corong pada mulut tabung sentrifus.
- Tuang suspensi tinja melalui kasa ke dalam tabung sentrifus hingga mencapai 7 ml.
- Buang kasa dengan residu di dalamnya.
- Tambahkan 3 ml ether atau ethyl acetate dan campur dengan baik selama 1 menit.
- Pindahkan suspensi kembali ke dalam tabung sentrifus, lalu sentrifus selama 1 menit (kecepatan maksimum).

- Lepaskan debris (sumbat lemak) yang menempel dengan batang aplikator, lalu buang supernatan dengan cara membalikkannya dengan cepat.
- Letakkan tabung di rak dan biarkan supernatan yang tersisa mengalir kebawah. Campur dengan baik dan teteskan (1 tetes) pada kaca objek dan tutup dengan cover glass, periksa di bawah mikroskop. Buat juga preparat dengan pewarnaan iodine.
- Gunakan pembesaran 10x dan 40x untuk memeriksa seluruh lapang pandang untuk telur, kista.

3.7. Kultur darah (*whole blood culture*)

Kultur darah dilakukan untuk mengukur ekspresi IL-10 terhadap antigen *A.lumbricoides* dan antigen PHA (Phytohaemagglutin) dan kontrol (medium). Kultur darah dilakukan langsung di Ende oleh tim Parasitologi FKUI. Sebelum dikirim ke Jakarta, supernatan dimasukkan ke dalam freezer -20°C, kemudian dikirim melalui pesawat dengan memasukkan supernatan ke dalam kotak pendingin yang diberi *dry ice*.

Alat dan bahan :

- *Plate 96 wells round-bottomed* (Nunc, Roskilde Plates)
- Inkubator CO₂
- Mikropipet
- RPMI
- Antibiotik (natrium penicillin, streptomycin), pyruvate-glutamat.
- Antigen *A.lumbricoides* dan PHA.

Cara kerja :

- Sebanyak 1 ml darah dengan antikoagulan heparin diambil dari setiap anak.
- Dalam keadaan steril dilakukan pengenceran 5 kali dengan menambahkan 4 ml RPMI. Sebagai media kultur RPMI sebelumnya telah ditambahkan antibiotik (natrium penicillin

100 U/ml, streptomycine 100 µg/ml), pyruvate 1 mM dan glutamate 2 mM.

- Masing-masing 100 µl darah yang telah diencerkan dimasukkan ke dalam setiap sumur pada *plate* kultur (Nunc, Roskilde Plates). Kultur pada sumur dilakukan duplo untuk tiap jenis antigen.
- Stimulasi dilakukan dengan menambahkan 100 µl antigen *A. lumbricoides* (konsentrasi 20 µg/ml), 100 µl PHA (konsentrasi 2 µg/ml) dan 100 µl medium sebagai kontrol negatif masing-masing ke dalam sumur yang berbeda.
- Masukkan seluruh *plate* kultur ke dalam inkubator (5% CO₂ dan 37°C), diinkubasi selama 3 x 24 jam.
- Supernatan yang diambil dari hasil kultur akan diperiksa kadar sitokin dengan Luminex.

3.8. Pengukuran kadar sitokin IL-10

Kadar IL-10 dalam sampel supernatan diukur dengan metode *multiplex bead assay* (Luminex) 100IS. Pengukuran dilakukan menggunakan *bead kit* dari Qiagen (USA), sesuai protokol dari produsen, di laboratorium Namru2 Jakarta.

1. *Coupling* protein antibodi anti IL-10 ke *carboxylated microspheres/beads*

Alat dan Bahan :

- *Activation Buffer* : 0,1M Sodium phosphate pH 6,2
- *Coupling Buffer* : MES (2-(N-morpholino) ethane sulfonic acid 50mM pH 5
- *Washing Buffer* : PBS pH 7,4 0,05% Tween20
- *Blockage/Storage Buffer* : Albumine, Bovine (BSA) fraction V (1% w/v) (SIGMA Cat# A-9647) dan sodium Azide (0,05% w/v) dalam Phosphate Buffer salinc pH 7,4 (SIGMA Cat# P-3813)
- *Carboxylated microspheres* (Xmap™ Technology)

- EDC (1-ethyl-3(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide-HCl) (Pierce, Rockford, Ill)
- Sulfo-NHS (N-hydroxysulfosuccinimide) (Pierce, Rockford, Ill)

Cara Kerja :

- Stok *microsphere* disentrifus 2400 x g selama 5 menit, *sonicate* dan di-*vortex* selama 20 detik.
- Ambil 200 μ l *microsphere*
- Sentrifus 10.000 x g selama 2 menit, buang supernatan.
- Tambahkan 80 μ l activation buffer, di-*vortex*, sentrifus 10.000 x g selama 2 menit, buang supernatan. Proses ini diulang sekali lagi. Terakhir ditambahkan 80 μ l *activation buffer*, *vortex*.
- Siapkan Sulfo NHS 50 mg/ml dan EDC 50mg/ml segera sebelum proses aktivasi *microsphere*.
- Masukkan 10 μ g dari sulfo NHS ke dalam *beads suspension*, lalu di *vortex*. Selanjutnya masukkan 10 μ g dari EDC ke dalam *beads suspension*, lalu di *vortex*.
- Inkubasi selama 20 menit dengan digoyang pada *plate shaker* dalam keadaan gelap.
- Sentrifus 10.000 x g selama 2 menit, buang supernatan.
- Tambahkan 500 μ l *coupling buffer* (MES), *vortex*, lalu sentrifus 10.000 x g selama 2 menit, buang supernatan. Ulangi sekali lagi proses di atas.
- Tambahkan 500 μ l IL-10 *capture Ab* ke dalam *activated bead* IL-10, di-*vortex*.
- Inkubasi selama 2 jam dengan digoyang pada *plate shaker* secara perlahan.
- Tambahkan 1 ml *washing buffer*, disentrifus 10.000 x g selama 2 menit, lalu supernatan dibuang. Ulangi lagi.
- Tambahkan 10 ml *storage buffer*, lalu di *vortex*.
- Campurkan 10 μ l *storage buffer* + 10 μ l *coupled bead* lalu masukkan pada kamar hitung \rightarrow faktor pengenceran 2x (1 : 1).

- Hitung Σ beads di bawah mikroskop.

Total microspheres = count (1 corner of 4 x 4 section) x (1 x 10⁴) x (dilution factor) x (resuspension volume in ml)

2. Luminex assay

Alat dan Bahan :

- *10X Sheath Fluid:*
 - 20 g sodium phosphate (Na₂HPO₄); SIGMA Cat# S-08760
 - 115 g Sodium chloride (NaCl); SIGMA Cat# S-9888
 - 24 ml of 10% (w/v) Sodium Azide; SIGMA Cat# S-8032
- *Blockage/Storage Buffer* : Albumine, Bovine (BSA) fraction V (1% w/v) (SIGMA Cat# A-9647) dan sodium Azide (0,05% w/v) dalam Phosphate Buffer saline pH 7,4 (SIGMA Cat# P-3813)
- *Washing Buffer* : Albumine, Bovine (BSA) fraction V (0,5% w/v) (SIGMA Cat# A-9647) dan Sodium Azide (0,05% w/v) dalam Phosphate Buffer saline pH 7,4 (SIGMA Cat# P-3813)
- Antigen-labelled microsphere (Xmap™ Technology)
- Detection antibody-biotin-conjugated anti-human IgG (H+L chains) (produced by : Kirkegaard & Perry, 2 Cesna Court, Gaithersburg, Maryland, USA)
- Substrate Streptavidin R phycoerythrin (STR-PE) (PE is a red dye) (Produced by : Molecular Probes; Eugene, Oregon, USA, Leiden, The Netherlands)

Cara Kerja :

- Menyiapkan *round bottomed microtitre plate 96-well* dan standar IL-10.
- Melakukan pengenceran standard IL-10 secara bertahap dua kali mulai konsentrasi tertinggi 5000 pg/ml hingga didapatkan 8 konsentrasi standard.
- Masukkan 25 µl standard (duplo) dan sampel ke dalam masing-masing sumur.

- Tambahkan 25 μ l *microsphere* ke dalam tiap-tiap sumur.
- Inkubasi selama 1 jam pada suhu ruangan dalam keadaan gelap dan digoyang pada *plate shaker* secara perlahan.
- Tambahkan 200 μ l *washing buffer* ke masing-masing sumur.
- Sentrifus 2400 rpm selama 5 menit
- Buang supernatan dengan membalikkan *plate* dengan cepat.
- Ulangi sebanyak 2 kali
- Tambahkan 25 μ l *detection antibody-biotin-conjugated anti-human IgG (H+L chains)* dengan pengenceran 1:200, divortex.
- Inkubasi selama 1 jam pada suhu ruangan dalam keadaan gelap dan digoyang pada *plate shaker* secara perlahan
- Tambahkan 200 μ l *washing buffer* ke masing-masing sumur.
- Sentrifus 2400 rpm selama 5 menit
- Buang supernatan dengan membalikkan *plate* dengan cepat.
- Ulangi sebanyak 2 kali
- Tambahkan 50 μ l Streptavidin R phycoerythrin (STR-PE) (1:50) ke masing-masing sumur.
- Inkubasi selama 30 menit pada suhu ruangan dalam keadaan gelap dan digoyang *plate shaker* secara perlahan.
- Baca dan analisa sampel dengan menggunakan mesin Luminex 100IS.

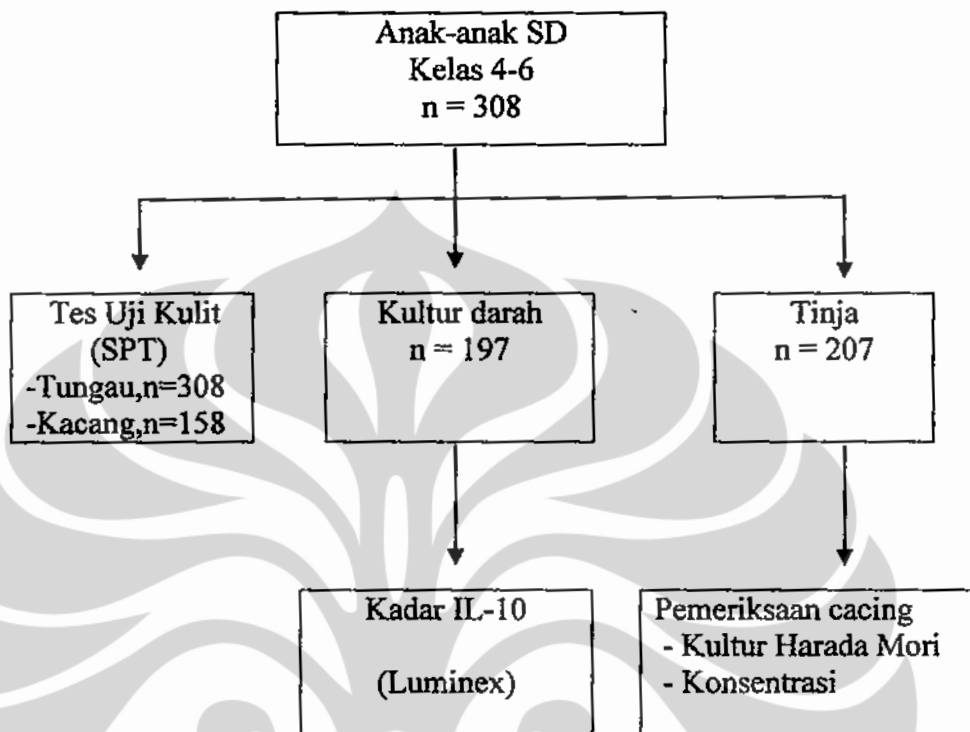
3.9. Definisi Operasional

Variabel	Definisi Operasional
Atopi	: Respon hipersensitivitas terhadap alergen lingkungan yang ditandai dengan reaksi positif terhadap SPT. Reaksi atopi positif jika hasil SPT positif yang ditandai adanya wheal ≥ 3 mm.
Infeksi cacing usus	: Ditemukan telur cacing (<i>A.lumbricoides</i> , <i>T.trichiura</i> , dan atau cacing tambang) pada pemeriksaan tinja.
IL-10	: Suatu sitokin yang bekerja sebagai anti inflamasi dan sebagian besar dihasilkan oleh Tregulatori.
Urban	: Subyek anak SD yang diambil dari wilayah perkotaan (Ende adalah ibukota kabupaten Ende) yang memiliki tingkat sosial-ekonomi, sanitasi dan higiene yang tinggi.
Rural	: Subyek anak SD yang diambil dari wilayah pedesaan yang memiliki tingkat sosial-ekonomi, sanitasi dan higiene yang rendah.

3.10. Analisa Data

Data dikumpulkan pada satu tabel induk kemudian diolah dengan komputer menggunakan program SPSS 15. Untuk melihat perbedaan proporsi atopi pada kelompok yang terinfeksi cacing usus dan kelompok yang tidak terinfeksi cacing usus digunakan uji Chi-square, dan untuk membandingkan rata-rata ekspresi IL-10 terhadap status wilayah (urban-rural), status infeksi cacing dan status atopi digunakan uji t independent, tetapi jika data tidak berdistribusi normal digunakan uji Mann_Whitney U. Uji bivariat dilakukan untuk melihat risiko masing-masing variabel bebas terhadap kejadian atopi. Untuk melihat pengaruh variabel bebas (status wilayah, infeksi cacing usus dan IL-10) terhadap variabel tergantung (atopi) digunakan analisis multivariat (*logistic regression*). *Odds ratio* (OR) yang lebih kecil dari 1 menunjukkan adanya efek supresi sedangkan OR lebih dari 1 menunjukkan peningkatan resiko. Uji statistik dikatakan bermakna bila $p < 0,05$.

3.10. Alur Penelitian



Anak-anak kelas 4-6 SD (usia 10–12 tahun) yang masuk pada hari itu diberikan penjelasan mengenai penelitian yang akan dilakukan. Lalu masing-masing siswa dibagikan pot plastik untuk tempat tinja dan kertas *informed consent*. Pada hari berikutnya siswa yang membawa tinja sebanyak 207 orang. Dan siswa yang bersedia dilakukan SPT terhadap alergen tungau sebanyak 308 dan SPT terhadap alergen kacang hanya tersedia alergen untuk 158 subyek penelitian. Siswa yang bersedia diambil darah untuk dilakukan kultur sebanyak 197 orang.

BAB IV HASIL PENELITIAN

4.1. Karakteristik Responden

Selama penelitian ini diperoleh sampel sebanyak 308 anak Sekolah Dasar kelas 4 sampai 6 yang berasal dari 3 sekolah : SDK Ende di wilayah Kota Ende yang merupakan daerah urban, dan SDK Nangapanda serta SDK yang berada di wilayah rural.

4.2. Status infeksi cacing

Dari 308 anak Sekolah Dasar berhasil diperiksa 207 (67,7%) tinja. Prevalensi infeksi cacing usus adalah 31,9% yang disebabkan oleh jenis cacing *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura* dan cacing tambang. Hasil pemeriksaan menemukan adanya subyek dengan infeksi tunggal maupun infeksi multipel. Prevalensi tertinggi disebabkan oleh infeksi cacing *A.lumbricoides* sebesar 21,3%. Prevalensi anak SD yang terinfeksi cacing usus dapat dilihat pada tabel 4.1.

Tabel 4.1. Distribusi infeksi cacing pada anak sekolah

Jenis infeksi	Jumlah/Total	Persentase(%)
Infeksi tunggal :		
- <i>Ascaris lumbricoides</i> (Al)	31/207	15
- <i>Trichuris trichiura</i> (Tt)	10/207	4,8
- Cacing tambang (Ct)	11/207	5,3
Infeksi multipel :		
- Al + Tt	9/207	4,3
- Al + Ct	4/207	1,9
- Tt + Ct	1/207	0,5
- Al + Tt + Ct	0/207	0
Total	66/207	31,9

4.3. Distribusi infeksi cacing dan ekspresi IL-10 di daerah urban dan rural

Hasil analisa terhadap masing-masing jenis cacing usus pada daerah urban dan rural pada tabel 4.2 menunjukkan bahwa infeksi cacing *A.lumbricoides*, *T.trichuria* dan cacing tambang lebih tinggi di daerah rural dibandingkan pada daerah urban.

Tabel 4.2. Distribusi infeksi cacing pada anak SD yang tinggal di daerah urban dan rural

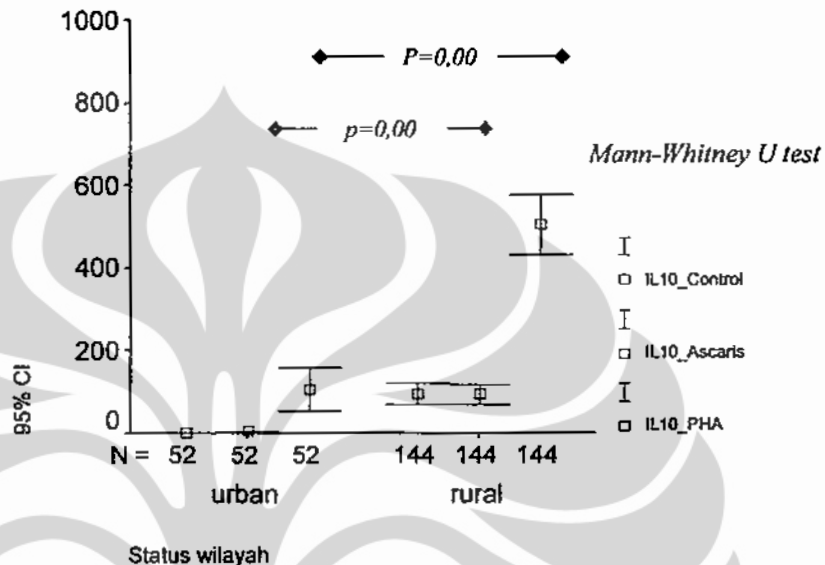
Jenis infeksi	Jumlah/Total/(%)	
	Urban	Rural
Infeksi tunggal :		
- <i>Ascaris lumbricoides</i> (Al)	3/50/(6,8%)	41/157/(26,1%)
- <i>Trichuris trichuria</i> (Tt)	1/50/(5%)	19/157/(12,1%)
- Cacing tambang (Ct)	0/50/(0%)	16/157/(10,2%)
Total	4/50(8%)	62/157(39,5%)

Hasil analisa terhadap semua jenis cacing usus pada tabel 4.3 menunjukkan bahwa prevalensi cacing usus di daerah rural (39,5%) signifikan lebih tinggi dibanding daerah urban (8,0%), Chi_square test = 17,31 ; p=0,000

Tabel 4.3. Analisa perbandingan prevalensi infeksi cacing usus dari anak-anak SD yang tinggal di daerah urban dan rural

	Status cacing		Total
	Positif	Negatif	
SD urban	4 8.0%	46 92.0%	50 100.0%
rural	62 39.5%	95 60.5%	157 100.0%
Total	66 31.9%	141 68.1%	207 100.0%

Hasil analisis ekspresi IL-10 terhadap status wilayah (urban-rural) seperti tertera pada gambar 4.1 menunjukkan bahwa ekspresi IL-10 terhadap PHA dan antigen *A.lumbricoides* pada anak yang tinggal di daerah rural signifikan lebih tinggi dibanding anak yang tinggal di daerah urban.



Gambar 4.1. Ekspresi IL-10 terhadap status wilayah.

4.4. Status atopi

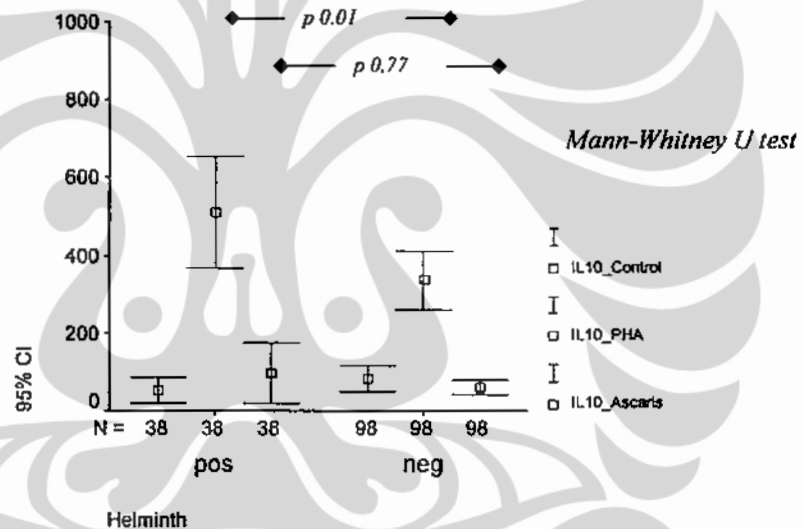
Prevalensi atopi pada anak SD dilihat dari uji tusuk kulit (SPT) yang positif terhadap 2 alergen yang diuji yaitu kacang dan tungau dapat dilihat pada tabel 4.4. Dari uji SPT terhadap alergen kacang yang dilakukan pada 158 (50,8%) anak SD diperoleh hasil SPT positif sebesar 25,9%. Sedangkan dari uji SPT terhadap alergen tungau yang dilakukan pada 308 (100%) anak SD diperoleh hasil SPT positif terhadap alergen tungau 27,9%

Tabel 4.4. Distribusi atopi responden

Jenis Atopi	Jumlah/Total	Persentase(%)
- kacang	41/158	25,9
- tungau	86/308	27,9

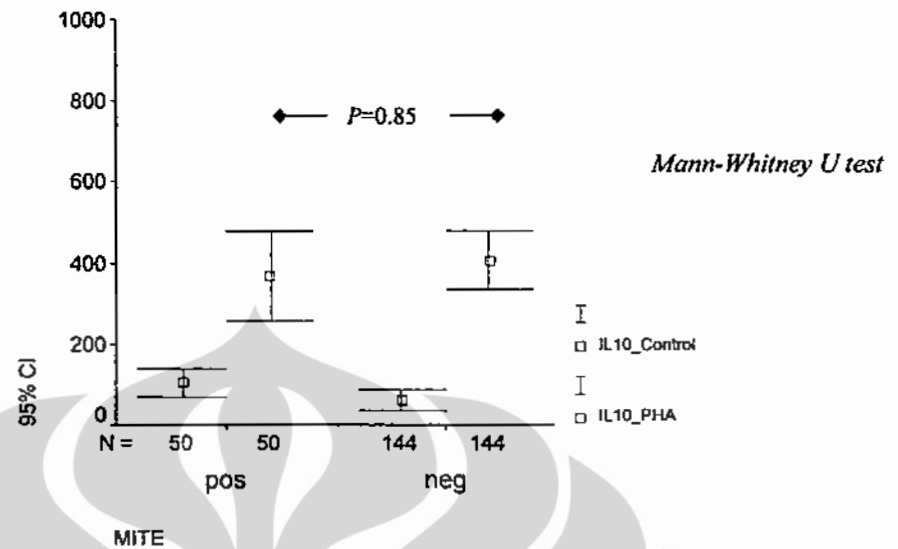
4.5. Ekspresi IL-10 terhadap PHA dengan kelompok atopi dan kelompok infeksi cacing.

Ekspresi IL-10 terhadap PHA dengan infeksi cacing menunjukkan bahwa kelompok yang terinfeksi cacing memiliki ekspresi IL-10 terhadap PHA yang signifikan lebih tinggi dibandingkan kelompok yang tidak terinfeksi cacing. Sedangkan ekspresi IL-10 terhadap antigen *A.lumbricoides* pada kelompok yang terinfeksi cacing menunjukkan kecenderungan yang lebih tinggi dibandingkan kelompok yang tidak terinfeksi cacing walaupun tidak signifikan ($p=0,77$). Ekspresi IL-10 terhadap PHA pada kelompok infeksi cacing dapat dilihat pada gambar 4.2.



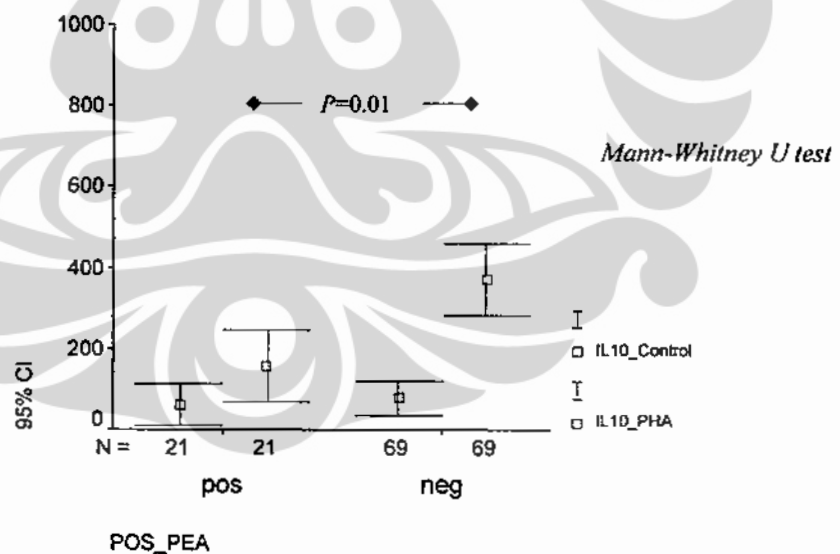
Gambar 4.2. Ekspresi IL-10 terhadap PHA pada kelompok infeksi cacing

Ekspresi IL-10 terhadap PHA pada kelompok dengan atopi tungau (Gambar 4.3) menunjukkan adanya kecenderungan peningkatan ekspresi IL-10 terhadap PHA pada kelompok tanpa atopi tungau dibandingkan kelompok dengan atopi tungau walaupun tidak berbeda bermakna ($p=0,85$).



Gambar 4.3. Ekspresi IL-10 terhadap PHA dengan atopi tungau

Ekspresi IL-10 terhadap PHA dengan atopi kacang (Gambar 4.4) menunjukkan adanya peningkatan ekspresi IL-10 terhadap PHA yang signifikan pada kelompok dengan atopi kacang dibanding kelompok tanpa atopi kacang ($p=0,01$).



Gambar 4.4. Ekspresi IL-10 terhadap PHA dengan atopi kacang.

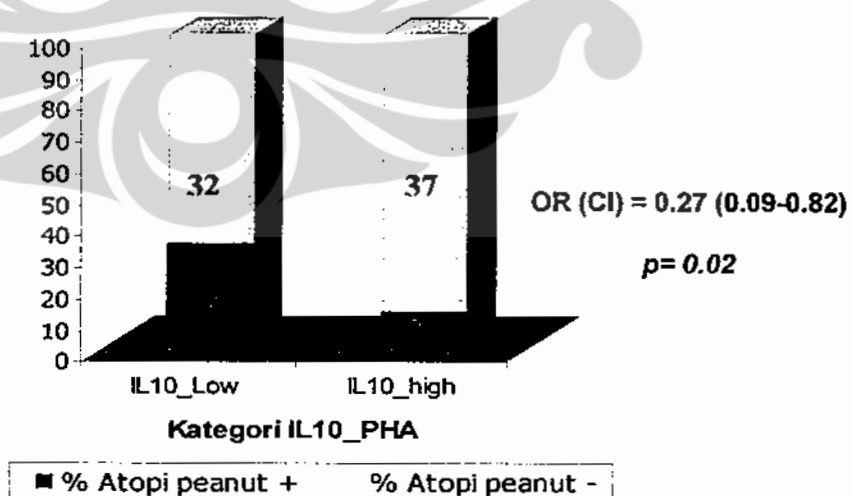
4.6. Hubungan ekspresi IL-10 terhadap PHA dengan atopi kacang

Kadar rata-rata ekspresi IL-10 terhadap PHA pada subyek adalah $397,37 \pm$ SD (425.77) pg/ml. Hasil analisa ekspresi IL-10 terhadap PHA dengan atopi kacang dilakukan setelah ekspresi IL-10 digolongkan menjadi ekspresi tinggi dan rendah dengan nilai *cut off point* berdasarkan nilai median 292,00. Pada tabel 4.5 menunjukkan kelompok dengan ekspresi IL-10 terhadap PHA yang tinggi signifikan lebih rendah terhadap risiko atopi kacang dibandingkan anak dengan ekspresi IL-10 yang rendah (11,9% vs 33,3%).

Tabel 4.5. Distribusi atopi kacang dan IL-10 terhadap PHA

		Atopi kacang		Total
		Positif	Negatif	
IL-10 _PHA	Tinggi	5 11,9%	37 88,1%	42 100%
	Rendah	16 33,3%	32 66,7%	48 100%
Total		21 23,3%	69 76,7%	90 100%

Hasil analisa terhadap distribusi atopi kacang dengan ekspresi IL-10 terhadap PHA pada gambar 4.5 menunjukkan kelompok dengan ekspresi IL-10 tinggi memiliki resiko atopi kacang 0,27 kali rendah dibanding kelompok dengan ekspresi IL-10 yang rendah.



Gambar 4.5. Distribusi atopi kacang dengan IL-10 terhadap PHA

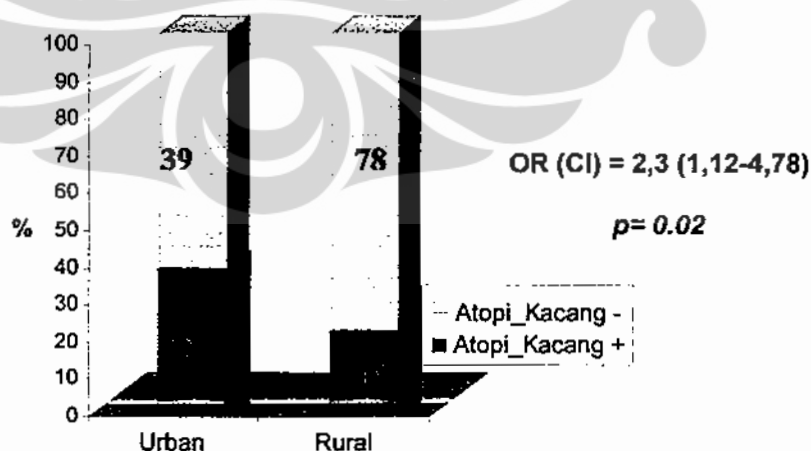
4.7. Hubungan wilayah urban dan rural dengan status atopi kacang

Hasil analisa status atopi kacang pada anak yang tinggal di daerah urban dan rural pada tabel 4.6 menunjukkan bahwa anak yang tinggal di daerah urban memiliki kejadian atopi kacang yang signifikan lebih tinggi dibandingkan anak yang tinggal di daerah rural (36,1% vs 19,6%).

Tabel 4.6. Distribusi atopi kacang pada anak-anak SD yang tinggal di daerah urban dan rural

		Atopi kacang		Total
		Positif	Negatif	
Wilayah	Urban	22 36,1%	39 63,9%	61 100%
	Rural	19 19,6%	78 80%	97 100%
Total		41 25,9%	117 74,1%	158 100%

Hasil analisa terhadap distribusi atopi kacang dengan status wilayah (urban-rural) pada gambar 4.6 menunjukkan kelompok anak yang tinggal di daerah urban memiliki resiko atopi kacang 2,3 kali lebih tinggi dibanding kelompok anak yang tinggal di rural.



Gambar 4.6. Distribusi atopi kacang pada anak-anak SD yang tinggal di daerah urban dan rural

4.8. Hubungan infeksi cacung dengan status atopi kacang

Hasil analisa anak dengan kejadian atopi kacang dengan status infeksi cacung pada tabel 4.7 menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan signifikan antara anak dengan atopi kacang yang terinfeksi cacung dengan yang tidak terinfeksi cacung (24,4% vs 24,4%).

Tabel 4.7. Distribusi atopi kacang dan infeksi cacung

		Atopi kacang		Total
		Positif	Negatif	
Cacing	Positif	10 24,4%	31 75,6%	41 100%
	Negatif	19 24,4%	59 75,6%	78 100%
Total		29 24,4%	90 75,6%	119 100%

4.9. Hubungan status wilayah (urban dan rural), infeksi cacung serta ekspresi IL-10 terhadap PHA dan atopi kacang

Untuk melihat variabel penting yang berperan dalam menentukan status atopi kacang maka dilakukan analisis uji bivariat dan multivariat yang tertera pada tabel 4.8. Hasil analisa bivariat pada hubungan wilayah dengan kejadian atopi kacang menunjukkan bahwa status wilayah mempengaruhi kejadian atopi kacang dimana kelompok yang tinggal di daerah urban memiliki resiko 2,31 kali lebih tinggi dibanding kelompok yang tinggal di daerah rural. Sedangkan status infeksi cacung tidak memiliki pengaruh terhadap kejadian atopi kacang. Status IL-10 terhadap PHA juga mempengaruhi kejadian atopi kacang dimana kelompok dengan ekspresi IL-10 terhadap PHA yang tinggi memiliki resiko 0,27 kali lebih rendah untuk mendapatkan atopi dibandingkan kelompok dengan ekspresi IL-10 yang rendah.

Hasil analisa multivariat dari seluruh variabel menunjukkan bahwa ekspresi IL-10 terhadap PHA merupakan faktor yang paling berpengaruh terhadap menurunnya kejadian atopi kacang.

Tabel 4.8. Hubungan status wilayah, infeksi cacung serta IL-10 terhadap PHA dan atopi kacang

Bivariat analisis		Atopi kacang		Jumlah	OR (CI) <i>P</i>
Variabel		Positif	Negatif		
Kategori					
Status wilayah	Urban	22	39	61	2,31 (1,12-4,77) <i>P</i> =0,02
	Rural	19	78	97	
	Jumlah	41	117	158	
Cacing usus	Positif	10	31	41	1,00 (0,41-2,41) <i>P</i> =0,99
	Negatif	19	59	78	
	jumlah	29	90	119	
IL-10_PHA	Tinggi	5	37	42	0,27 (0,08-0,82) <i>P</i> =0,02
	Rendah	16	32	48	
	Jumlah	21	69	90	
Multivariat analisis		Variabel berpengaruh terhadap atopi kacang			OR (CI) <i>P</i>
Variabel kandidat					
Status wilayah		IL-10_PHA			0,26 (0,07-0,91) <i>P</i> =0,03
Cacing usus					
IL-10_PHA					

4.10. Hubungan wilayah urban dan rural dengan status atopi tungau

Hasil analisa anak dengan atopi tungau yang tinggal di daerah urban dan rural pada tabel 4.9 menunjukkan bahwa anak yang tinggal di daerah urban cenderung lebih rendah kejadian atopinya dibandingkan anak yang tinggal di daerah rural walaupun tidak signifikan (21,4% vs 31,2%).

Tabel 4.9. Distribusi atopi tungau pada anak-anak SD yang tinggal di daerah urban dan rural

		Atopi tungau		Total
		Positif	Negatif	
Wilayah	Urban	22 21,4%	81 78,6%	103 100%
	Rural	64 31,2%	141 68,8%	205 100%
Total		86 27,9%	222 72,1%	308 100%

4.11. Hubungan infeksi cacing dengan status atopi tungau

Hasil analisa anak dengan atopi tungau dengan status infeksi cacing pada tabel 4.10 menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan signifikan antara anak dengan atopi yang terinfeksi cacing dengan yang tidak terinfeksi cacing (26,2% vs 27,9%).

Tabel 4.10. Distribusi atopi tungau dan infeksi cacing

		Atopi tungau		Total
		Positif	Negatif	
Cacing	Positif	17 26,2%	48 73,8%	65 100%
	Negatif	39 27,9%	101 72,1%	140 100%
Total		56 27,3%	149 72,7%	205 100%

4.12. Hubungan IL-10 terhadap PHA dengan manifestasi atopi tungau

Hasil analisa ekspresi IL-10 terhadap PHA dengan atopi tungau pada tabel 4.11 menunjukkan anak dengan ekspresi IL-10 terhadap PHA yang tinggi memiliki kecenderungan lebih rendah untuk mendapatkan atopi tungau dibandingkan anak ekspresi IL-10 yang rendah (23,7% vs 27,8%).

Tabel 4.11. Distribusi atopi tungau dan IL-10

		Atopi tungau		Total
		Positif	Negatif	
IL-10 _PHA	Tinggi	23 23,7%	74 76,3%	97 100%
	Rendah	27 27,8%	70 72,2%	97 100%
Total		50 25,8%	144 74,2%	194 100%

4.13. Hubungan status wilayah (urban dan rural), infeksi caceng serta ekspresi IL-10 terhadap PHA dan atopi tungau.

Untuk melihat variabel penting yang berperan dalam menentukan status atopi tungau maka dilakukan analisis uji bivariat dan multivariat yang tertera pada tabel 4.12. Hasil analisis bivariat menunjukkan bahwa pada hubungan wilayah dengan kejadian atopi tungau menunjukkan status wilayah memiliki kecenderungan dalam mempengaruhi kejadian atopi tungau dimana kelompok yang tinggal di daerah urban memiliki kecenderungan resiko 0,59 kali lebih rendah dibanding kelompok yang tinggal di daerah rural walau tidak signifikan. Sedangkan status infeksi caceng dan status IL-10 tidak memiliki pengaruh terhadap kejadian atopi tungau

Hasil analisa multivariat dari seluruh variabel menunjukkan bahwa ekspresi IL-10 terhadap PHA merupakan faktor yang berpengaruh terhadap menurunnya kejadian atopi tungau walau tidak signifikan.

Tabel 4.12. Hubungan status wilayah, infeksi cacang serta IL-10 terhadap PHA dan atopi tungau

Bivariat analisis		Atopi tungau		Jumlah	OR (CI) <i>P</i>
Variabel		Positif	Negatif		
Kategori					
Status wilayah	Urban	22	81	103	0,59 (0,34-1,04) <i>P</i> =0,07
	Rural	64	141	205	
	Jumlah	86	222	308	
Cacing usus	Positif	17	48	65	0,91 (0,47-1,78) <i>P</i> =0,79
	Negatif	39	101	140	
	jumlah	56	149	205	
IL-10 _PHA	Tinggi	23	74	97	0,80 (0,42-1,53) <i>P</i> =0,51
	Rendah	27	70	97	
	Jumlah	50	144	194	
Multivariat analisis		Variabel berpengaruh terhadap atopi tungau			OR (CI) <i>P</i>
Variabel kandidat					
Status wilayah		IL-10_PHA			0,47 (0,20-1,10)
Cacing usus					<i>P</i> =0,08
IL-10_PHA					

4.14 Hubungan wilayah urban dan rural dengan status atopi (kacang+tungau)

Hasil analisa anak dengan status atopi (kacang+tungau) yang tinggal di daerah urban dan rural pada tabel 4.13 menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan signifikan terhadap kejadian atopi antara anak yang tinggal di daerah urban dan anak yang tinggal di daerah rural (52,3% vs 56,3%).

Tabel 4.13. Distribusi atopi (kacang+tungau) pada anak-anak SD yang tinggal di daerah urban dan rural

		Atopi (kacang+tungau)		Total
		Positif	Negatif	
Wilayah	Urban	32 52,5%	29 47,5%	61 100%
	Rural	54 56,3%	42 43,8%	96 100%
Total		86 54,8%	71 45,2%	157 100%

4.15. Hubungan status infeksi cacing dengan status atopi (kacang+tungau)

Hasil analisa anak dengan status infeksi cacing terhadap kejadian atopi (kacang+tungau) pada tabel 4.14 menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan signifikan terhadap kejadian atopi antara anak yang terinfeksi cacing dengan yang tidak terinfeksi cacing (53,7 vs 57,1%).

Tabel 4.14. Distribusi atopi (kacang+tungau) dan infeksi cacing

		Atopi (kacang+tungau)		Total
		Positif	Negatif	
Cacing	Positif	22 53,7%	19 46,3%	41 100%
	Negatif	44 57,1%	33 42,9%	77 100%
Total		66 55,9%	52 44,1%	118 100%

4.16. Hubungan IL-10 dengan status atopi (kacang+tungau)

Hasil analisa ekspresi IL-10 terhadap PHA dengan atopi (kacang+tungau) pada tabel 4.15 menunjukkan terdapat perbedaan signifikan dimana anak dengan ekspresi IL-10 tinggi memiliki resiko atopi yang lebih rendah dibandingkan anak dengan ekspresi IL-10 rendah (26,2% vs 55,3%).

Tabel 4.15. Distribusi atopi (kacang+tungau) dan IL-10

		Atopi (kacang+tungau)		Total
		Positif	Negatif	
IL-10 _PHA	Tinggi	11 26,2%	31 73,8%	42 100%
	Rendah	26 55,3%	21 44,7%	47 100%
Total		37 41,6%	52 58,4%	89 100%

4.17. Hubungan status wilayah (urban dan rural), infeksi cacing serta IL-10 terhadap PHA dan atopi (kacang+tungau).

Untuk melihat variabel penting yang berperan dalam menentukan status atopi (kacang+tungau) maka dilakukan analisis uji bivariat dan multivariat yang tertera pada tabel 4.16. Hasil analisis bivariat menunjukkan bahwa pada hubungan wilayah dengan kejadian atopi (kacang+tungau) menunjukkan bahwa status wilayah tidak berpengaruh terhadap kejadian atopi (kacang+tungau). Status infeksi cacing usus juga tidak berpengaruh terhadap terjadinya atopi. Sedangkan status IL-10 terhadap PHA memiliki pengaruh terhadap atopi dimana kelompok dengan ekspresi IL-10 terhadap PHA yang tinggi memiliki resiko 0,28 kali lebih rendah untuk mendapatkan atopi dibandingkan kelompok dengan ekspresi IL-10 yang rendah.

Hasil analisa multivariat dari seluruh variabel menunjukkan bahwa ekspresi IL-10 terhadap PHA merupakan faktor yang paling berpengaruh secara bermakna terhadap menurunnya risiko atopi.

Tabel 4.16. Hubungan status wilayah, infeksi cacung serta IL-10 terhadap PHA dan atopi (kacang+tungau)

Bivariat analisis		Atopi (kacang+tungau)		Jumlah	OR (CI) <i>P</i>
Variabel		Positif	Negatif		
Kategori					
Status wilayah	Urban	32	29	61	1,16 (0,61-2,21) <i>P</i> =0,42
	Rural	54	42	96	
	Jumlah	86	71	157	
Cacing usus	Positif	22	19	41	1,15 (0,53-2,46) <i>P</i> =0,71
	Negatif	44	33	77	
	jumlah	66	52	118	
IL-10 _PHA	Tinggi	11	31	42	0,28 (0,11-0,70) <i>P</i> =0,005
	Rendah	26	21	47	
	Jumlah	37	52	89	
Multivariat analisis		Variabel berpengaruh terhadap atopi (kacang+tungau)			OR (CI) <i>P</i>
Variabel kandidat					
Status wilayah		IL-10_PHA			0,27 (0,09-0,75) <i>P</i> =0,01
Cacing usus					
IL-10_PHA					

BAB 5 PEMBAHASAN

Studi atopi pada penelitian ini dilakukan pada anak-anak sekolah dasar yang tinggal di daerah urban dan rural. Subyek penelitian yang berasal dari sekolah dasar pada daerah urban merupakan sekolah yang berada di wilayah perkotaan Ende yang secara umum mempunyai keadaan lingkungan, sanitasi, higiene dan status sosial ekonomi yang lebih baik dibandingkan dengan subyek penelitian yang berasal dari daerah rural. Infeksi cacing usus pada subyek yang berasal dari daerah rural 17,31 kali lebih tinggi dibanding tingkat infeksi cacing usus pada subyek yang berasal dari sekolah yang berada di daerah urban.

Cacing merupakan patogen yang dapat meregulasi sistim imun hospes dan mengaktivasi respon imun Th2 yang ditandai dengan tingginya IL-4, IL-5. Disamping Th2 cacing juga merupakan agen yang berpotensi mengaktivasi T regulatori, aktivasi Treg ditandai dengan tingginya produksi IL-10 dan TGF- β yang dalam sistim imun bekerja sebagai anti inflamasi. Indikasi aktivasi Treg pada anak terinfeksi cacing pada penelitian ini ditunjukkan dengan adanya peningkatan ekspresi IL-10 terhadap PHA yang signifikan pada kelompok yang terinfeksi cacing usus dibandingkan kelompok tanpa infeksi cacing usus. Namun demikian karena penelitian ini merupakan studi *cross sectional* sehingga tidak dapat menerangkan secara pasti apakah kenaikan IL-10 terhadap PHA dipicu oleh adanya infeksi cacing atau sebaliknya dimana peningkatan IL-10 terhadap PHA menyebabkan individu lebih rentan terhadap infeksi cacing. Sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh infeksi cacing terhadap aktivasi Treg.

Hasil analisa ekspresi IL-10 terhadap antigen *A.lumbricoides* dengan status wilayah (urban-rural) menunjukkan ekspresi IL-10 terhadap *A.lumbricoides* pada anak yang tinggal di daerah rural signifikan lebih tinggi dibanding anak yang tinggal di daerah urban. Sedangkan ekspresi IL-10 terhadap antigen *A.lumbricoides* pada kelompok terinfeksi tidak menunjukkan peningkatan yang signifikan dibandingkan kelompok yang tidak terinfeksi cacing walaupun tidak signifikan. Jika dibandingkan ekspresi IL-10 terhadap *A.lumbricoides* pada

daerah rural dan urban tampak bahwa daerah urban yang signifikan rendah infeksi cacingnya menunjukkan ekspresi IL-10 rendah, secara imunologi menggambarkan bahwa sebagian besar subyek dari daerah urban sel-sel imunnya belum pernah mengalami paparan antigen *A.lumbricoides*. Namun demikian setelah subyek dikelompokkan berdasarkan status infeksi cacing (yang diperiksa secara mikroskopik) tampak bahwa ekspresi IL10 terhadap *A.lumbricoides* pada kelompok terinfeksi cacing tidak signifikan lebih tinggi, hal ini terjadi karena ekspresi IL10 terhadap *A.lumbricoides* pada kelompok tidak terinfeksi cacing juga terjadi peningkatan. Peningkatan ekspresi IL10 terhadap *A.lumbricoides* pada kelompok tidak terinfeksi cacing ini menunjukkan bahwa subyek sebenarnya telah terpapar oleh antigen *A.lumbricoides* walaupun secara mikroskopik dinyatakan negatif serta sel sistim imunnya telah memiliki memori terhadap antigen *A.lumbricoides*, sehingga pada saat dilakukan kultur juga memberi respon yang relatif sama besar dengan kelompok terinfeksi cacing. Sehubungan dengan hal tersebut penentuan status infeksi cacing sebaiknya tidak hanya ditentukan secara mikroskopik namun sebaiknya juga ditentukan berdasarkan pemeriksaan imunologi (misalnya pemeriksaan terhadap adanya IgG4 anti *A.lumbricoides*).

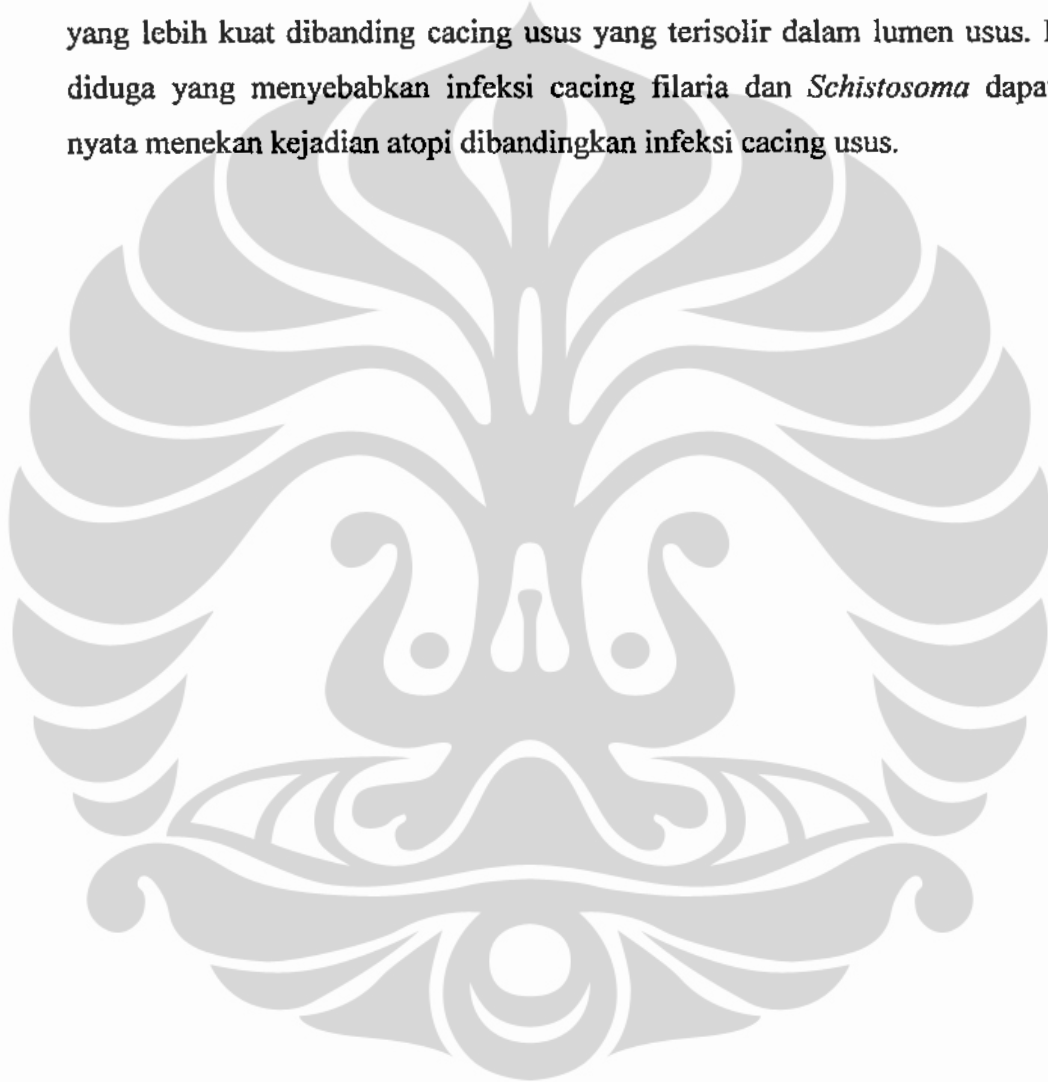
Faktor-faktor lain sehubungan dengan tidak berbedanya ekspresi IL-10 terhadap antigen *A.lumbricoides* pada subyek terinfeksi dan tidak terinfeksi cacing diduga berhubungan dengan hal berikut : hasil penelitian Dessire dkk menunjukkan bahwa tidak semua bagian tubuh cacing merupakan antigen yang dapat memberikan respon imun yang sama pada hospes. Dari hasil kultur pada sel-sel imun yang distimulasi oleh beberapa antigen yang dibuat dari beberapa bagian tubuh cacing dewasa *Schistosoma*, Dessire dkk menemukan bahwa hanya antigen yang dibuat dari bagian telur yang mampu mengaktivasi sel imun Treg yang ditandai dengan meningkatnya ekspresi IL-10.²⁵ Hasil penelitian oleh Doetze A dkk menunjukkan bahwa produksi IL-10 dan TNF- β oleh sel Treg terjadi pada infeksi cacing kronis.²⁶ Jadi produksi IL-10 terhadap *crude* antigen *A.lumbricoides* yang tidak meningkat secara signifikan pada kelompok anak terinfeksi cacing diduga berhubungan dengan kedua faktor diatas; pertama, stimulasi tidak menggunakan antigen *A.lumbricoides* yang tepat dari bagian tubuh

cacing yang dapat menstimulasi Treg dan kedua, kemungkinan tidak semua anak yang terinfeksi cacing berada dalam stadium infeksi kronis.

Hasil analisis uji SPT dalam penelitian ini menunjukkan bahwa kejadian atopi di daerah urban meningkat 2,3 kali lebih tinggi secara signifikan dibanding kejadian atopi di daerah rural. Karakteristik utama yang terdata dalam penelitian di kedua desa tersebut adalah status infeksi cacing dan ekspresi IL-10 hasil stimulasi sel-sel imun. Dari hasil pemeriksaan mikroskopik menunjukkan bahwa daerah rural memiliki tingkat infeksi cacing usus yang signifikan lebih tinggi dibanding daerah urban. Namun demikian untuk menyimpulkan bahwa keberadaan cacing usus merupakan faktor utama yang menekan kejadian atopi juga belum dapat dipastikan. Hal ini disebabkan adanya hasil analisis yang menunjukkan bahwa proporsi kejadian atopi pada kelompok anak terinfeksi cacing tidak signifikan lebih rendah dibanding kejadian atopi pada kelompok anak tidak terinfeksi cacing. Faktor IL-10 hasil stimulasi terhadap PHA merupakan faktor yang penting dalam menerangkan rendahnya kejadian atopi. Hasil analisis menunjukkan bahwa anak dari daerah rural memiliki ekspresi IL-10 terhadap antigen PHA dan antigen *A.lumbricoides* yang signifikan lebih tinggi dibanding anak yang berasal dari daerah urban. Hasil penelitian Yazdanbakhsh M yang menyatakan peran IL-10 sebagai sitokin antiinflamasi yang dapat meredam reaksi hipersensitifitas dan berhubungan dengan atopi⁷ dalam penelitian ini terbukti dari analisis bivariat yang menunjukkan bahwa kelompok anak yang memiliki ekspresi IL-10 yang dikategorikan tinggi memiliki resiko atopi (OR=0,27) atau berkisar 2,7 kali lebih rendah untuk menderita atopi dibanding anak yang memiliki ekspresi IL-10 yang rendah dari sel-sel imunnya. Kesesuaian hasil penelitian Kitagaki dkk yang menyatakan bahwa IL-10 memegang peranan penting dalam menekan resiko terjadinya atopi²⁴ diperkuat dalam penelitian ini. Hasil analisis multivariat untuk melihat faktor yang berpengaruh dalam menentukan rendahnya atopi dalam penelitian ini menunjukkan bahwa IL-10 merupakan faktor terkuat dalam menekan kejadian atopi dibanding dengan faktor wilayah (urban dan rural) dan faktor infeksi cacing.

Adanya kesesuaian teori yang mengatakan bahwa pada infeksi cacing kronis terdapat peningkatan aktivitas Treg yang memproduksi IL-10 yang

merupakan mediator anti inflamasi. IL-10 yang tinggi akan menekan aktivitas dari Th2 yang berlebihan pada kejadian atopi sehingga akan menurunkan angka kejadian atopi, keadaan ini tampaknya lebih nyata pada infeksi cacing filaria dan schistosomiasis.^{14,15} Filaria dan *Schistosoma* merupakan jenis infeksi cacing yang dilihat dari tempat hidupnya berada pada jaringan. Diduga jenis cacing yang hidup dalam jaringan mempunyai pajanan dan potensi regulasi terhadap sistim imun yang lebih kuat dibanding cacing usus yang terisolir dalam lumen usus. Hal ini diduga yang menyebabkan infeksi cacing filaria dan *Schistosoma* dapat lebih nyata menekan kejadian atopi dibandingkan infeksi cacing usus.



BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

1. Prevalensi anak yang terinfeksi cacing usus pada daerah rural signifikan lebih tinggi dibandingkan anak pada daerah urban.
2. Prevalensi SPT terhadap alergen kacang pada anak di daerah urban signifikan lebih tinggi dibandingkan anak di daerah rural.
3. Terdapat peningkatan ekspresi IL-10 terhadap PHA yang signifikan pada anak yang terinfeksi cacing usus dan anak yang tinggal di daerah rural. Ekspresi IL-10 terhadap antigen *A. limbricoides* signifikan meningkat pada kelompok anak yang tinggal di daerah rural yang memiliki endemisitas cacing usus yang tinggi.
4. Infeksi cacing usus memiliki kontribusi terhadap meningkatnya ekspresi IL-10 di daerah rural yang kemudian akan menurunkan risiko atopi.
5. Dari ketiga faktor yaitu status wilayah (urban-rural), status infeksi cacing dan ekspresi IL-10 terhadap PHA, hasil analisa menunjukkan bahwa ekspresi IL-10 terhadap PHA merupakan faktor yang paling dominan dalam menekan kejadian atopi.

6.2. Saran

1. Perlunya penggunaan antigen yang spesifik dari cacing *A. lumbricoides* untuk mengetahui lebih jelas pengaruh stimulasi sel imun terhadap aktivasi Treg (IL-10).
2. Perlu dilakukan diagnostik dengan indikator imunologi untuk melihat status dan tingkat kronisitas infeksi cacing usus.

DAFTAR REFERENSI

1. Bethony J, Brooker S, Albonico M, Geiger SM, Loukas A, Diemert D et al. Soil-transmitted helminth infections: Ascariasis, Trichuriasis, and Hookworm. *Lancet* 2006;367:1521-32
2. Cooper PJ, Chico ME, Bland M, Griffin GE, Nutman TB. Allergic symptoms, atopy, and geohelminth infections in a rural area of Ecuador. *Am J Respir Crit Care Med* 2003;168:313-7
3. Cooper PJ. Can intestinal helminth infection (geohelminth) affect the development and expression of asthma and allergic disease? *Clin Exp Immunol* 2002;128:398-404
4. Wahyuni S. General introduction. In: Helminth infections, allergic disorders and immune responses: studies in Indonesia. Leiden University; 2006.p.10-40
5. Weinberg EG. Urbanization and childhood asthma: an African perspective. *J Allergy Clin Immunol* 2000;105:224-31
6. Cooper P J, Chico ME , Rodrigues LC, Ordonez M, Strachan D, Griffin G E, et al. Reduced risk of atopy among school-age children infected with geohelminth parasites in a rural area of the tropics. *J Allergy and Clin Immunol* May 2003;995-1000
7. Yazdanbakhsh M, van den Biggelaar A, Maizels RM. Th2 responses without atopy: immunoregulation in chronic helminth infections and reduced allergic disease. *TRENDS in Immunology* 2001;22(7):372-7
8. Lynch NR, Hagel I, Perez M, Di Prisco MC, Lopez R, Alvarez N. Effect of anthelmintic treatment on the allergic reactivity of children in a tropical slum. *J Allergy Clin Immunol* 1993;92(3):404-11
9. Strachan DP. Hay fever, hygiene, and household size. *BMJ* 1989; 299:1256-60
10. Palmer LJ, Celedon JC, Weiss ST, Wang B, Fang Z, Xu X. *Ascaris lumbricoides* infection is associated with increased risk of childhood asthma and atopy in rural China. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 165:1489-93

11. Obihara CC, Beyers N, Gie RP, Hoekstra MO, Fincham JLL, Marais BJ et al. Respiratory atopic disease, *Ascaris*-immunoglobulin E and tuberculin testing in urban South African children. *Clin Exp Allergy* 2006; 36:640-8
12. Leonardi-Bee J, Pritchard D, Britton J. Asthma and current intestinal parasite infection systematic review and meta-analysis. *Am J Respir Crit Care Med* 2006;174:514-23
13. Araujo MI, Lopes AA, Medeiros M, Cruz AA, Sousa-Atta L, Sole D et al. Inverse association between skin response to aeroallergens and *Schistosoma mansoni* infection. *Int Arch Allergy Immunol* 2000; 123:145-8
14. van den Biggelaar AH, Rodrigues LC, van Ree R, van der Zee JS, Jans J, Hoek A et al. The prevalence of parasite infestation and house dust mite sensitization in Gabones schoolchildren. *Int Arch Allergy Immunol* 2001; 126:231-8
15. Medeiros J, Figueiredo JP, Almeida MC, Matos MA, Araujo MI, Cruz AA et al. *Schistosoma mansoni* infection is associated with a reduced course of asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2003;111:947-51
16. van Riet E, Hartgers FC, Yazdanbakhsh M. Chronic helminth infections induce immunomodulation: consequences and mechanisms. *Immunobiology* 2007;212:475-90
17. Supali T, Margono SS, Abidin SAN. Nematoda usus. Dalam: Sutanto I, Ismid IS, Sjarifuddin PK, Sungkar S editor. *Buku Ajar Parasitologi Kedokteran*. Edisi ke-4. Jakarta: Balai Penerbit FKUI 2008;6-31
18. Klion AD, Nutman TB. Immunity to parasitic worm. *Encyclopedia of Life Sciences* 2002:1-8
19. Abbas AK, Lichtman AH. Effector mechanisms of humoral immunity. In: *Cellular and molecular immunology* 5th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders;2005.p.318-44
20. Kresno SB. Respon imun pada infeksi. Dalam: *Imunologi: Diagnosis dan Produser Laboratorium*. Edisi ke-4. Jakarta: Balai Penerbit FKUI 2007; 161-86
21. Wilson MS, Maizels RM. Regulation of allergy and autoimmunity in helminth infection. *Clin Rev in Allergy&Immunology* 2003;26:35-49

22. Yazdanbakhsh M, Supali T, Rodrigues LC. Prevalence of atopic disorders in a developing world: pitfalls and opportunities (unpublished)
23. Yazdanbakhsh M, Wahyuni S. The role of helminth infections in protection from atopic disorders. *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology* 2005,5:1-5
24. Kitagaki K, Businga TR, Racila D, Elliot DE, Weinstock JV, Kline JN. Intestinal helminths protect in a murine model of asthma. *The Journal of Immunology* 2006,177:1628-35
25. van der Kleij D. Dendritic cells matured in the presence of schistosomal egg glycolipids induced the development of IL-10 producing regulatory T cells. In: *Schistosomal lipids and the human immune system: a novel host-parasite interplay*. Leiden University; 2003.p.138-61
26. Doetze A, Satoguina J, Burchard G, Rau T, Fleischer B, Hoerauf A. Antigen-specific cellular hyporesponsiveness in a chronic human helminth infection is mediated by Th3/Tr1-type cytokines IL-10 and TGF- β but not by a Th1 to Th2 shift. *Int Immunol* 2000;12:623-30

Lampiran 1. Analisa bivariat dan multivariat terhadap atopi tungau

Hubungan status wilayah dan atopi tungau

Crosstab

			mite		Total
			1	2	
urb_rur	urban	Count	22	81	103
		% within urb_rur	21.4%	78.6%	100.0%
		% of Total	7.1%	26.3%	33.4%
	rural	Count	64	141	205
		% within urb_rur	31.2%	68.8%	100.0%
		% of Total	20.8%	45.8%	66.6%
Total	Count	86	222	308	
	% within urb_rur	27.9%	72.1%	100.0%	
	% of Total	27.9%	72.1%	100.0%	

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	3.312 ^b	1	.069		
Continuity Correction ^a	2.840	1	.092		
Likelihood Ratio	3.411	1	.065		
Fisher's Exact Test				.080	.045
Linear-by-Linear Association	3.301	1	.069		
N of Valid Cases	308				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 28.76.

Variables in the Equation

Step	urb_rur	B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)	95.0% C.I. for EXP(B)	
								Lower	Upper
1	Constant	-.790	.151	27.464	1	.000	.454		1.044
	urb_rur	-.514	.284	3.275	1	.070	.598	.343	

a. Variable(s) entered on step 1: urb_rur.

Hubungan IL-10 dengan atopi tungau

Crosstab

			mite		Total
			1	2	
Kategori IL10 PHA , COP= 299 (Median)	high	Count	23	74	97
		% within Kategori IL10 PHA , COP= 299 (Median)	23.7%	76.3%	100.0%
		% of Total	11.9%	38.1%	50.0%
	low	Count	27	70	97
		% within Kategori IL10 PHA , COP= 299 (Median)	27.8%	72.2%	100.0%
		% of Total	13.9%	36.1%	50.0%
Total	Count	50	144	194	
	% within Kategori IL10 PHA , COP= 299 (Median)	25.8%	74.2%	100.0%	
	% of Total	25.8%	74.2%	100.0%	

(Lanjutan)

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	.431 ^b	1	.511		
Continuity Correction ^a	.243	1	.622		
Likelihood Ratio	.431	1	.511		
Fisher's Exact Test				.623	.311
Linear-by-Linear Association	.429	1	.513		
N of Valid Cases	194				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 25.00.

Variables in the Equation

Step	KAT_IL10	B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)	95.0% C.I. for EXP(B)	
								Lower	Upper
1	Constant	-.953	.227	17.683	1	.000	.386	.423	1.536

a. Variable(s) entered on step 1: KAT_IL10.

Hubungan infeksi cacing dengan atopi tungau

Crosstab

			mite		Total
			1	2	
helminth_1	yes	Count	17	48	65
		% within helminth_1	26.2%	73.8%	100.0%
		% of Total	8.3%	23.4%	31.7%
	no	Count	39	101	140
		% within helminth_1	27.9%	72.1%	100.0%
		% of Total	19.0%	49.3%	68.3%
Total		Count	56	149	205
		% within helminth_1	27.3%	72.7%	100.0%
		% of Total	27.3%	72.7%	100.0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	.065 ^b	1	.799		
Continuity Correction ^a	.007	1	.931		
Likelihood Ratio	.065	1	.798		
Fisher's Exact Test				.867	.469
Linear-by-Linear Association	.065	1	.799		
N of Valid Cases	205				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 17.76.

(Lanjutan)

Variables in the Equation

	B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)	95.0% C.I. for EXP(B)		
							Lower	Upper	
Step 1	helminth_1	-.086	.339	.065	1	.799	.917	.472	1.784
	Constant	-.952	.189	25.476	1	.000	.386		

a. Variable(s) entered on step 1: helminth_1.

Analisa multivariat terhadap atopi tungau

Variables in the Equation

	B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)	95.0% C.I. for EXP(B)		
							Lower	Upper	
Step 1	KAT_IL10	-.832	.459	3.278	1	.070	.435	.177	1.071
	urb_rur	-.492	.558	.778	1	.378	.611	.205	1.825
	helminth_1	-.278	.530	.270	1	.603	.759	.269	2.148
	Constant	-.697	.341	4.174	1	.041	.488		
Step 2	KAT_IL10	-.870	.454	3.688	1	.055	.419	.172	1.021
	urb_rur	-.448	.551	.660	1	.417	.639	.217	1.883
	Constant	-.753	.325	5.380	1	.020	.471		
Step 3	KAT_IL10	-.739	.427	2.998	1	.083	.477	.207	1.102
	Constant	-.908	.272	11.099	1	.001	.404		

a. Variable(s) entered on step 1: KAT_IL10, urb_rur, helminth_1.

Lampiran 2. Analisa bivariat dan multivariat terhadap atopi kacang

Analisa bivariat status wilayah dengan atopi kacang

Crosstab

			pos_pea		Total
			1.00	2.00	
urb_rur	urban	Count	22	39	61
		% within urb_rur	36.1%	63.9%	100.0%
		% of Total	13.9%	24.7%	38.6%
	rural	Count	19	78	97
		% within urb_rur	19.6%	80.4%	100.0%
		% of Total	12.0%	49.4%	61.4%
Total	Count	41	117	158	
	% within urb_rur	25.9%	74.1%	100.0%	
	% of Total	25.9%	74.1%	100.0%	

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	5.292 ^b	1	.021		
Continuity Correction ^a	4.469	1	.035		
Likelihood Ratio	5.197	1	.023		
Fisher's Exact Test				.026	.018
Linear-by-Linear Association	5.258	1	.022		
N of Valid Cases	158				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 15.83.

Variables in the Equation

Step		B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)	95.0% C.I. for EXP(B)	
								Lower	Upper
1	urb_rur	.840	.370	5.184	1	.023	2.318	1.122	4.778
	Constant	-1.412	.256	30.473	1	.000	.244		

a. Variable(s) entered on step 1: urb_rur.

(Lanjutan)

Analisa bivariat infeksi cacing dengan atopi kacang

Crosstab

			pos pea		Total
			1.00	2.00	
helminth_1	yes	Count	10	31	41
		% within helminth_1	24.4%	75.6%	100.0%
		% of Total	8.4%	26.1%	34.5%
	no	Count	19	59	78
		% within helminth_1	24.4%	75.6%	100.0%
		% of Total	16.0%	49.6%	65.5%
Total	Count	29	90	119	
	% within helminth_1	24.4%	75.6%	100.0%	
	% of Total	24.4%	75.6%	100.0%	

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	.000 ^b	1	.997		
Continuity Correction ^a	.000	1	1.000		
Likelihood Ratio	.000	1	.997		
Fisher's Exact Test				1.000	.583
Linear-by-Linear Association	.000	1	.997		
N of Valid Cases	119				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 9.99.

Variables in the Equation

Step	Variable	B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)	95.0% C.I. for EXP(B)	
								Lower	Upper
1	helminth_1	.002	.449	.000	1	.997	1.002	.415	2.416
	Constant	-1.133	.264	18.452	1	.000	.322		

a. Variable(s) entered on step 1: helminth_1.

(Lanjutan)

Analisa bivariat IL-10 dengan atopi kacang

Crosstab

		pos pea		Total	
		1.00	2.00		
Kategori IL10 PHA , COP= 299 (Median)	high	Count	5	37	42
		% within Kategori IL10 PHA , COP= 299 (Median)	11.9%	88.1%	100.0%
		% of Total	5.6%	41.1%	46.7%
	low	Count	16	32	48
		% within Kategori IL10 PHA , COP= 299 (Median)	33.3%	66.7%	100.0%
		% of Total	17.8%	35.6%	53.3%
Total		Count	21	69	90
		% within Kategori IL10 PHA , COP= 299 (Median)	23.3%	76.7%	100.0%
		% of Total	23.3%	76.7%	100.0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	5.750 ^b	1	.016		
Continuity Correction ^a	4.614	1	.032		
Likelihood Ratio	6.022	1	.014		
Fisher's Exact Test				.024	.015
Linear-by-Linear Association	5.686	1	.017		
N of Valid Cases	90				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 9.80.

Variables in the Equation

		B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)	95.0% C.I. for EXP(B)	
								Lower	Upper
Sjep	KAT_IL10	-1.308	.566	5.336	1	.021	.270	.089	.820
1	Constant	-.693	.306	5.125	1	.024	.500		

a. Variable(s) entered on step 1: KAT_IL10.

(Lanjutan)

Analisa multivariat IL-10, status wilayah, infeksi cacing dengan atopi kacang

Variables in the Equation

Step		B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)	95.0% C.I. for EXP(B)	
								Lower	Upper
Step 1	KAT_IL10	-1.548	.741	4.384	1	.037	.213	.050	.909
	urb_rur	.273	.683	.159	1	.690	1.314	.344	5.012
	helminth_1	.891	.741	1.447	1	.229	2.438	.571	10.411
	Constant	-.898	.484	3.443	1	.064	.407		
Step 2	KAT_IL10	-1.628	.712	5.227	1	.022	.196	.049	.793
	helminth_1	.836	.725	1.330	1	.249	2.308	.557	9.555
	Constant	-.773	.362	4.583	1	.033	.462		
Step 3	KAT_IL10	-1.327	.634	4.387	1	.036	.265	.077	.918
	Constant	-.654	.342	3.657	1	.058	.520		

a. Variable(s) entered on step 1: KAT_IL10, urb_rur, helminth_1.



Lampiran 3. Analisa bivariat dan multivariat terhadap atopi kacang+tungau

Analisa bivariat IL-10 dengan atopi (kacang dan tungau)

			MITE PEA		Total
			pos	neg	pos
Kategori IL10 PHA , COP= 299 (Median)	high	Count	11	31	42
		% within Kategori IL10 PHA , COP= 299 (Median)	26.2%	73.8%	100.0%
		% of Total	12.4%	34.8%	47.2%
	low	Count	26	21	47
		% within Kategori IL10 PHA , COP= 299 (Median)	55.3%	44.7%	100.0%
		% of Total	29.2%	23.6%	52.8%
Total	Count	37	52	89	
	% within Kategori IL10 PHA , COP= 299 (Median)	41.6%	58.4%	100.0%	
	% of Total	41.6%	58.4%	100.0%	

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	7.748(b)	1	.005		
Continuity Correction(a)	6.595	1	.010		
Likelihood Ratio	7.914	1	.005		
Fisher's Exact Test				.009	.005
Linear-by-Linear Association	7.661	1	.006		
N of Valid Cases	89				

a Computed only for a 2x2 table

b 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 17.46.

Variables in the Equation

		B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)	95.0% C.I. for EXP(B)	
		Lower	Upper	Lower	Upper	Lower	Upper	Lower	Upper
Step 1(a)	KAT_IL10	-1.250	.457	7.463	1	.006	.287	.117	.703
	Constant	.214	.293	.530	1	.467	1.238		

a Variable(s) entered on step 1: KAT_IL10.

(Lanjutan)

Analisa bivariat infeksi cacing usus dengan atopi (kacang+tungau)

Crosstab

			MITE PEA		Total
			pos	neg	pos
helminth_1	yes	Count	19	22	41
		% within helminth_1	46.3%	53.7%	100.0%
		% of Total	16.1%	18.6%	34.7%
	no	Count	33	44	77
		% within helminth_1	42.9%	57.1%	100.0%
		% of Total	28.0%	37.3%	65.3%
Total		Count	52	66	118
		% within helminth_1	44.1%	55.9%	100.0%
		% of Total	44.1%	55.9%	100.0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	.132(b)	1	.717		
Continuity Correction(a)	.028	1	.866		
Likelihood Ratio	.132	1	.717		
Fisher's Exact Test				.846	.432
Linear-by-Linear Association	.131	1	.718		
N of Valid Cases	118				

a Computed only for a 2x2 table

b 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 18.07.

Variables in the Equation

	B	S.E.		Wald		df	Sig.	Exp(B)		95.0% C.I. for EXP(B)	
		Lower	Upper	Lower	Upper			Lower	Upper	Lower	Upper
Step 1(a)											
helminth_1	.141	.389		.132	1	.717	1.152		.537	2.467	
Constant	-.288	.230		1.561	1	.212	.750				

a Variable(s) entered on step 1: helminth_1.

(Lanjutan)

Analisa bivariat status wilayah dengan atopi (kacang+tungau)

Crosstab

			MITE_PEA		Total
			pos	neg	pos
urb_rur	urban	Count	29	32	61
		% within urb_rur	47.5%	52.5%	100.0%
		% of Total	18.5%	20.4%	38.9%
	rural	Count	42	54	96
		% within urb_rur	43.8%	56.3%	100.0%
		% of Total	26.8%	34.4%	61.1%
Total	Count	71	86	157	
	% within urb_rur	45.2%	54.8%	100.0%	
	% of Total	45.2%	54.8%	100.0%	

urb_rur * MITE_PEA Crosstabulation

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	.216(b)	1	.642		
Continuity Correction(a)	.090	1	.764		
Likelihood Ratio	.216	1	.642		
Fisher's Exact Test				.742	.381
Linear-by-Linear Association	.215	1	.643		
N of Valid Cases	157				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 27.59.

Variables in the Equation

	B	S.E.		Wald		Sig.	Exp(B)		95.0% C.I. for EXP(B)	
		Lower	Upper	Lower	Upper		Lower	Upper	Lower	Upper
Step 1(a)	urb_rur	.153	.329	.216	1	.642	1.165	.612	2.219	
	Constant	-.251	.206	1.492	1	.222	.778			

a. Variable(s) entered on step 1: urb_rur.

(Lanjutan)

Analisa multivariat wilayah, helmith, IL-10 dan atopi(kacang+tungau)

		B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)	95.0% C.I. for EXP(B)	
		Lower	Upper	Lower	Upper	Lower	Upper	Lower	Upper
Step 1(a)	KAT_IL10	-1.672	.629	7.066	1	.008	.188	.055	.645
	urb_rur	.333	.646	.266	1	.606	1.395	.393	4.949
	helminth_1	-.705	.653	1.165	1	.280	.494	.137	1.777
	Constant	.962	1.733	.308	1	.579	2.616		
Step 2(a)	KAT_IL10	-1.563	.589	7.038	1	.008	.210	.066	.665
	helminth_1	-.758	.644	1.384	1	.239	.469	.133	1.657
	Constant	1.581	1.258	1.581	1	.209	4.862		
Step 3(a)	KAT_IL10	-1.302	.523	6.190	1	.013	.272	.098	.759
	Constant	.163	.330	.243	1	.622	1.176		

a Variable(s) entered on step 1: KAT_IL10, urb_rur, helminth_1.



UNIVERSITAS INDONESIA FAKULTAS KEDOKTERAN

Jalan Salemba Raya No. 6, Jakarta Pusat

Pos Box 1358 Jakarta 10430

Kampus Salemba Telp. 31930371, 31930373, 3922977, 3927360, 3912477, Fax. : 31930372, e-mail : office@fk.ui.ac.id

No: 194 /PT02.FK/ETIK/2006

KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK ETHICAL CLEARANCE

Panitia Tetap Penilai Etik Penelitian, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia dalam upaya melindungi hak asasi dan kesejahteraan subyek penelitian kedokteran, telah mengkaji dengan teliti protokol berjudul:

The Committee of The Medical Research Ethics of the Faculty of Medicine, University of Indonesia, with regards of the protection of human rights and welfare in medical research, has carefully reviewed the proposal entitled :

"PARASITIC INFECTIONS AND INFLAMMATORY DISEASE: THE WEB OF IMMUNE RESPONSES, HOST GENETICS AND ENVIRONMENTAL EXPOSURE".

Nama peneliti utama : Dr. TANIAWATI SUPALI
Name of the principal investigator

Nama institusi : PARASITOLOGI FKUI
Name of institution

dan telah menyetujui protokol tersebut di atas.
and approved the above mentioned proposal.



Jakarta, 11 September 2006.

Ketua
Chairman

Prof. Dr. dr. Agus Firmansyah, SpA(K).

RIWAYAT HIDUP



Nama Lengkap : Freggy Spicano Joprang
NPM : 0606000125
Jenis Kelamin : Laki-laki
Tempat/Tanggal Lahir : Jakarta, 21 Juli 1972
Agama : Katolik
Alamat : Taman Sunter Agung 2 Blok B-11
Jakarta Utara

Pekerjaan dan jabatan : Staf Parasitologi, F K Unika Atma Jaya
Alamat instansi : Jl. Pluit Raya no.2, Jakarta Utara

Riwayat Pendidikan

- SD : SD St. Fransiskus 3, Jakarta 1981 - 1987
- SMP : SMP St. Fransiskus 2, Jakarta 1987 - 1989
- SMA : SMA Kristen 3 BPK Penabur, Jakarta 1989 - 1991
- S1 : FK Unika Atma Jaya Jakarta 1991 - 2000

Riwayat Pekerjaan

- Tahun 1999 – 2001 : Dokter di klinik swasta Jakarta
Tahun 2001 – 2004 : Dokter PTT di RSUD Manembo-nembo Bitung, Sulut
Tahun 2004 – sekarang : Staf Pengajar Departemen Parasitologi di FK Atma Jaya
Jakarta

Sumber dana penelitian : KNAW-The Netherlands

Respon IL-10 terhadap Kejadian Atopi pada Anak yang Terinfeksi Cacing Usus Taniawati Supali, Freggy Spicano J, Heri Wibowo*

*Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia

Abstrak: Beberapa penelitian menyatakan bahwa infeksi cacing usus dapat menekan atopi tetapi hal ini masih menjadi kontroversi. Pada infeksi cacing respon imun mengarah ke Th2 (IL-4, IL-5 dan IL-13) serta aktivasi Treg (IL-10 dan TGF- β) yang merupakan mediator anti-inflamasi. Respon imun Th2 juga terjadi terhadap atopi. Adanya infeksi cacing kronis akan meningkatkan kadar IL-10 yang akan menekan aktivasi Th2 sehingga menekan atopi. Penelitian ini merupakan *analytical cross-sectional study* yang bertujuan mengetahui respon IL-10 terhadap kejadian atopi pada anak-anak dengan kecacingan. Penelitian ini melibatkan 308 anak sekolah dasar yang berasal dari daerah Ende, Nangapanda dan Anaranda, Kabupaten Ende, Flores, Nusa Tenggara Timur. Sebanyak 207 subyek diperiksa tinja secara mikroskopis untuk mengetahui status infeksi cacing, 308 subyek dilakukan uji tusuk kulit (SPT) untuk mengetahui status atopi, 197 subyek diambil darahnya dan dikultur (PHA, Ascaris, kontrol) lalu diperiksa dengan Luminex untuk mengetahui kadar IL-10. Diperoleh hasil bahwa subyek pada daerah rural (Nangapanda, Anaranda) memiliki infeksi cacing usus lebih tinggi (Chi_square test=17,31; p=0,000) dibanding daerah urban (Ende). Subyek pada daerah urban memiliki prevalensi atopi lebih tinggi (OR=2,3 (95% CI=1,12-4,78), p=0,02) dibanding subyek di rural. Kadar IL-10 terhadap PHA pada subyek dengan atopi kacang lebih tinggi (OR=0,27 (95% CI=0,09-0,82); p=0,02) dibanding subyek tanpa atopi.

Abstract: Several studies reported that intestinal helminth infection suppressed the atopy, but there were still many controversial. Immune responses from intestinal helminth infection have been known skewing towards Th2 (IL-4, IL-5 dan IL-13) and Treg activation (IL-10 dan TGF- β). Immune response to atopy is also induced Th2 response immune. The elevation of IL-10 due to chronic intestinal helminth infection will suppress Th2 activation and reduced atopy. This study is an *analytical cross-sectional study*. The aim of the study is to determine IL-10 response in atopy manifestation from helminth infected children. A total of 308 children from elementary school at Ende (urban area), Nangapanda dan Anaranda (rural areas), Ende district, Nusa Tenggara Timur, participated in this study. Of this, 207 children were eligible for stool examination, 308 children were for skin-prick test (SPT) to determine their atopy status, 197 children were eligible for blood culture examination (PHA, Ascaris, control) with Luminex to determine their IL-10 titer status. The results show that children who live in the rural area (Nangapanda, Anaranda) have higher prevalence of intestinal helminth infections (Chi_square test=17,31; p=0,000) than children living in the urban area (Ende). The prevalence of atopy is also higher in children living in urban (OR=2,3 (95% CI=1,12-4,78; p=0,02) than children in rural area. IL-10 response to PHA from children who are peanut SPT positive is higher (OR=0,27 (95% CI=0,09-0,82; p=0,02)) than children without peanut atopy.

Pendahuluan

Sampai saat ini infeksi cacing usus masih menjadi masalah kesehatan di seluruh dunia terutama di negara-negara berkembang yang terletak di

daerah tropis. Lebih dari 2 miliar orang di seluruh dunia terinfeksi cacing usus.¹ Infeksi cacing usus ini biasanya diderita oleh anak-anak usia sekolah dimana

infeksi ini erat hubungannya dengan hygiene individu dan sanitasi lingkungan yang buruk serta sosial ekonomi yang rendah. Umumnya infeksi cacing usus bersifat kronis terutama pada penduduk yang tinggal di daerah endemis. Prevalensi infeksi cacing usus terbanyak disebabkan oleh spesies *Ascaris lumbricoides*, cacing tambang dan *Trichuris trichuria*.^{2,3}

Menurut survei epidemiologi yang dilakukan pada periode 1975 sampai 2003 dari berbagai daerah di seluruh Indonesia, didapatkan prevalensi *Ascaris lumbricoides* 14%-90%, *Trichuris trichuria* 1%-90% dan cacing tambang 18%-76%.⁴

Prevalensi penyakit alergi semakin meningkat di seluruh dunia terutama di negara-negara maju. Di negara berkembang prevalensi penyakit alergi lebih rendah dibandingkan negara maju. Prevalensi alergi ditemukan lebih tinggi di wilayah perkotaan (urban) dibandingkan daerah pedesaan (rural)⁵ dan peningkatan resiko ini diperkirakan karena perubahan berbagai faktor lingkungan, di antaranya adalah perubahan pola infeksi cacing.⁶

Infeksi cacing akan menstimuli respon imun Thelper2 (Th2) dan Tregulatori/Treg (Interleukin (IL-10)) yang merupakan mediator anti inflamasi^{3,7} sedangkan penyakit alergi didasarkan pada peningkatan respon imun Th2 yang berlebihan. Pada infeksi cacing kronis respon imun Th2 yang berlebihan ini akan ditekan dan hal ini berpengaruh terhadap berkurangnya kerentanan pada alergi.⁷

Berbagai penelitian menemukan bahwa terdapat hubungan antara infeksi cacing dengan alergi dimana infeksi cacing memiliki efek proteksi terhadap alergi. Penelitian yang dilakukan oleh Lynch dkk di Venezuela dan Cooper P J dkk pada daerah rural di Ekuador menemukan bahwa anak-anak sekolah yang tinggal di daerah rural yang endemis infeksi cacing usus memiliki prevalensi alergi yang rendah, sedangkan pada kelompok urban menunjukkan reaksi alergi yang tinggi.^{2,8}

Hal ini mungkin dapat dijelaskan berdasarkan hipotesa hygiene oleh Strachan dimana pada anak-anak dengan status sosio-ekonomi tinggi yang mempunyai hygiene yang lebih baik, mendapat vaksinasi dan menggunakan antibiotik untuk mengobati penyakit infeksi, akan lebih rentan mendapatkan penyakit alergi dan penyakit autoimun.⁹

Penelitian oleh Palmer L J dkk pada daerah rural di China dan penelitian Obihara dkk di Afrika Selatan menemukan bahwa infeksi cacing *A.lumbricoides* akan meningkatkan resiko penyakit asma.^{10, 11} Meta analisis yang dilakukan oleh Leonardi-Bee dkk mengenai hubungan infeksi cacing dan alergi menunjukkan tidak adanya konsistensi data infeksi cacing usus dalam menekan alergi.¹² Sedangkan data penelitian mengenai infeksi cacing *Schistosoma* dan filaria yang dilakukan oleh Araujo dkk, van den Biggelaar dkk dan Meideros dkk menunjukkan hasil yang konsisten dalam menekan atopi.¹³⁻¹⁵

Cacing merupakan parasit multiseluler yang dapat menginfeksi manusia. Dalam tubuh manusia cacing hidup di dalam saluran limfe, pembuluh darah dan saluran pencernaan. Cacing memiliki masa hidup yang panjang dalam tubuh hospes.¹⁶

Infeksi cacing *A.lumbricoides* dan *T.trichiura* terjadi karena menelan makanan yang terkontaminasi telur cacing yang infeksi. Kemudian telur masuk ke dalam usus kecil dan menetas menjadi larva yang lalu menginvasi ke dalam mukosa usus. Larva *T.trichiura* kemudian masuk ke usus besar dan menjadi cacing dewasa. Sedangkan larva *A.lumbricoides* akan masuk ke sistem portal lalu ke ventrikel kanan jantung dan terakhir di kapiler paru-paru. Disini larva mengalami perkembangan dan melakukan penetrasi mukosa kapiler dan masuk ke alveoli, bronkus kemudian tenggorokan dan masuk ke esophagus dan sampai di usus kecil, disini larva akan menjadi cacing dewasa.^{4,17} Infeksi cacing tambang terjadi karena larva filariform

menembus kulit lalu masuk kapiler darah dan terbawa sampai ke kapiler paru. Dari sini perjalanan larva sama seperti larva *A.lumbricoides* dimana di usus halus larva menjadi cacing dewasa.^{4,17}

Menurut ISAAC (*The International study of asthma and allergies in childhood*) prevalensi penyakit alergi meningkat di negara maju. Di negara berkembang prevalensi alergi di daerah perkotaan lebih tinggi dibandingkan daerah pedesaan.^{4,22} Atopi ditandai dengan adanya peningkatan kadar IgE total dan IgE spesifik terhadap alergen lingkungan dan adanya respon hipersensitivitas yang dapat ditunjukkan dengan uji tusuk kulit/ *skin prick test* (SPT) yang positif terhadap alergen. Sedangkan alergi ditandai dengan adanya gejala klinis yang timbul terhadap alergen.^{3,7,22}

Perkembangan penyakit alergi pada saluran nafas dapat dibagi menjadi 2 fase yaitu fase induksi dan fase efektor. Pada fase induksi, alergen akan ditangkap oleh *antigen presenting cell* (APC) yang kemudian akan menstimuli respon imun seluler berkembang ke arah Th2, yang akan menghasilkan sitokin-sitokin antara lain IL-4, IL-5 dan IL-13. IL-5 mempengaruhi perkembangan dan diferensiasi eosinofil. IL-13 menstimuli produksi mukus dari sel epitel. Sedangkan IL-4 akan menstimuli sel B memproduksi IgE yang kemudian menempel pada sel mast. Bila terjadi paparan kedua dari alergen maka alergen akan ditangkap oleh IgE yang menempel pada sel mast yang kemudian akan memicu terjadinya degranulasi sel mast yang mengeluarkan mediator-mediator pro inflamasi seperti histamin, leukotrien, kemokin prostaglandin dan sitokin. Pada fase efektor, mediator pro inflamasi tersebut akan menyebabkan inflamasi pada saluran nafas dan menyebabkan kontraksi otot polos saluran nafas.⁷

Pada infeksi cacing kronis, akan menstimuli mukosa saluran pencernaan dan paru-paru (misalnya pada *A.lumbricoides*) secara terus menerus.

Kemudian akan menstimuli *antigen presenting cell* (APC) untuk mengaktivasi sel Treg yang akan menghasilkan IL-10 dan TGF- β yang merupakan sitokin anti inflamasi. Tingginya kadar IL-10 akan meredakan proses inflamasi jaringan dan kontraksi otot polos yang merupakan akibat dari respon Th2 yang berlebihan. Pada akhirnya akan meredakan reaksi hipersensitivitas pada saluran nafas.⁷

Penelitian oleh Kitagaki dkk pada model murine dengan asma yang diinfeksi dengan *Heligosomes polygorus* menunjukkan bahwa IL-10 memegang peranan penting dalam menekan timbulnya asma.²³

Indonesia merupakan negara berkembang, yang sebagian wilayahnya berkembang dengan menunjukkan karakteristik perkotaan (urban) dan sebagian wilayah masih menunjukkan karakteristik pedesaan (rural). Infeksi cacing usus oleh *A.lumbricoides*, *T.trichuria*, dan cacing tambang masih endemis pada beberapa wilayah di Indonesia. Dari berbagai penelitian menunjukkan bahwa faktor-faktor seperti status infeksi cacing, status wilayah (urban dan rural) serta aktivasi Treg (yang ditandai dengan ekspresi IL-10 dan TGF- β) berpengaruh terhadap kejadian atopi.

Tetapi penelitian mengenai hubungan antara manifestasi atopi pada anak-anak yang tinggal di daerah endemis cacing usus masih kurang. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui bagaimana interaksi antara infeksi cacing usus, status wilayah (urban, rural) dan ekspresi IL-10 dalam mempengaruhi kejadian atopi.

Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan studi *cross-sectional* yaitu membandingkan prevalensi atopi pada anak-anak Sekolah Dasar yang terinfeksi cacing usus dengan yang tidak terinfeksi. Status infeksi cacing usus dilihat dari pemeriksaan tinja untuk cacing usus.

Atopi dilihat dari uji tusuk kulit (SPT) yang positif. IL-10 diperiksa dengan menggunakan mesin Luminex.

Penelitian di lakukan di kota Ende (SDK Ende) dan wilayah kerja puskesmas Nangapanda (SDK Nangapanda) dan Welamosa (SDK Anaranda), Kabupaten Ende, Flores, Nusa Tenggara Timur yang merupakan daerah endemis cacing usus. Pengambilan sampel dilakukan pada 3 Sekolah Dasar di SDK Ende, SDK Nangapanda, SDK. Populasi dalam penelitian ini adalah anak-anak Sekolah Dasar kelas 4-6. Sampel dipilih secara *consecutive sampling*. Penelitian ini telah disetujui oleh Panitia Tetap Penilai Etik Penelitian, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Subyek penelitian mendapat *informed consent*

Perhitungan besar sampel minimal berdasarkan rumus untuk uji hipotesis terhadap 2 proporsi. Dari perhitungan berdasarkan rumus diperoleh jumlah sampel minimal sebesar 53 orang per kelompok.

Uji tusuk kulit (SPT) digunakan untuk menentukan ada tidaknya alergi terhadap alergen tertentu. Uji kulit dilakukan pada lengan bagian volar. Daerah yang akan diuji dibersihkan dengan kapas alkohol, lalu diteteskan alergen (HAL Allergy Benelux BV, Haarlem). Alergen yang digunakan adalah kacang, tungau, histamin (kontrol positif) dan kontrol negatif (fenol glicerol). Pada tetesan alergen, ditusukkan lanset (Megrosupra, Megro GmbH & Co.Kg) pada kulit dengan posisi 90°. Setelah itu tetesan dikeringkan dengan tisu. Hasil berupa ada tidaknya *wheal* dibaca setelah 15 menit. *Wheal* yang terbentuk ditandai dengan pena kemudian ditempelkan tape transparan, lalu dipindahkan ke atas kertas data. Diameter *wheal* diukur pada titik dengan jarak terluas dan tegak lurus lalu hasilnya dijumlahkan dan dibagi dua. Dikatakan positif bila diameter *wheal* \geq 3 mm.

Pada tinja segar dilakukan kultur harada mori untuk mengetahui infeksi cacing tambang. Sisa tinja

dicampur dengan 10% larutan formalin Kemudian dilakukan pemeriksaan tinja konsentrasi untuk ragam parasit yang menginfeksi anak-anak tersebut

Kultur darah dilakukan untuk mengetahui ekspresi IL-10 terhadap antigen PHA, *A.lumbricoides* dan kontrol (medium). Darah sebanyak 1 ml darah dari setiap anak pengenceran 5x dengan menambahkan 4 ml RPMI. Sebagai media kultur RPMI sebelumnya telah ditambahkan antibiotik (natrium penicillin 100 U/ml, streptomycine 100 µg/ml), pyruvate 1 mM dan glutamate 2 mM. Masing-masing 100 µl darah yang telah diencerkan dimasukkan ke dalam setiap sumur pada *plate* kultur (Nunc, Roskilde Plates). Kultur pada sumur dilakukan duplo untuk tiap jenis antigen. Stimulasi dilakukan dengan menambahkan 100 µl antigen *A. lumbricoides* (konsentrasi 20 µg/ml), 100 µl PHA (konsentrasi 2 µg/ml) dan 100 µl medium sebagai kontrol negatif masing-masing ke dalam sumur yang berbeda. Masukkan seluruh *plate* kultur ke dalam inkubator (5% CO₂ dan 37°C), diinkubasi selama 3 x 24 jam. Supernatan yang diambil dari hasil kultur akan diperiksa kadar sitokin dengan Luminex.

Kadar IL-10 dalam sampel supernatan diukur dengan metode *multiplex bead assay* (Luminex). Pertama dilakukan *coupling* protein antibodi anti IL-10 ke *carboxylated microspheres/beads*. Melakukan pengenceran standard IL-10 secara bertahap dua kali mulai konsentrasi tertinggi 5000 pg/ml hingga didapatkan 8 konsentrasi standard. Lalu masukkan 25 µl standard (duplo) dan sampel ke dalam masing-masing sumur. Tambahkan 25 µl *microsphere* ke dalam tiap-tiap sumur. Inkubasi selama 1 jam pada suhu kamar dalam keadaan gelap dan digoyang pada *plate shaker* secara perlahan. Tambahkan 200 µl *washing buffer* ke masing-masing sumur. Sentrifus 2400 rpm selama 5 menit Buang supernatan. Ulangi sebanyak 2 kali Tambahkan 25 µl *detection antibody-biotin-conjugated*

anti-human IgG (H+L chains) dengan pengenceran 1:200. Inkubasi selama 1 jam pada suhu ruangan dalam keadaan gelap. Tambahkan 200 μ l *washing buffer* ke masing-masing sumur. Sentrifus 2400 rpm selama 5 menit. Buang supernatan. Ulangi sebanyak 2 x. Tambahkan 50 μ l Strepavidin R phycoerythrin (STR-PE) (1:50) ke masing-masing sumur. Inkubasi selama 30 menit pada suhu ruangan dalam keadaan gelap. Baca dan analisa sampel dengan menggunakan mesin Luminex 100IS.

Data dikumpulkan pada satu tabel induk kemudian diolah dengan komputer menggunakan program SPSS 15. Untuk melihat perbedaan proporsi atopi pada kelompok yang terinfeksi cacing usus dan kelompok yang tidak terinfeksi cacing usus digunakan uji Chi-square, dan uji bivariat dilakukan untuk melihat risiko masing-masing variabel bebas terhadap kejadian atopi. Untuk melihat pengaruh variabel bebas (status wilayah, infeksi cacing usus dan IL-10) terhadap variabel tergantung (atopi) digunakan analisis multivariat (*logistic regression*). *Odds ratio* (OR) yang lebih kecil dari 1 menunjukkan adanya efek supresi sedangkan OR lebih dari 1 menunjukkan peningkatan resiko. Uji statistik dikatakan bermakna bila $p < 0,05$.

Hasil dan Pembahasan

Jumlah responden yang berhasil diikutsertakan dalam penelitian ini sebanyak 308 anak.

Sampel tinja yang berhasil diperiksa 207 (67,7%). Prevalensi infeksi cacing usus adalah cacing *A.lumbricoides* sebesar 21,3%. Prevalensi anak SD yang terinfeksi cacing usus dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Distribusi infeksi cacing pada anak sekolah

Jenis infeksi	Jumlah /Total	Persentase (%)
Infeksi tunggal: <i>A. lumbricoides</i> (Al)	31/207	15
<i>T. trichuria</i> (Tt)	10/207	4,8
Cacing tambang (Ct)	11/207	5,3
Infeksi multipel		
Al + Tt		
Al + Ct	9/207	4,3
Tt + Ct	4/207	1,9
Al + Tt + Ct	1/207	0,5
	0/207	0
Total	66/207	31,9

Hasil analisis terhadap masing-masing jenis cacing usus pada daerah urban dan rural pada tabel 2 menunjukkan bahwa infeksi cacing *A.lumbricoides*, *T.trichuria* dan cacing tambang lebih tinggi di daerah rural dibandingkan pada daerah urban.

Tabel 2. Distribusi infeksi cacing pada anak SD yang tinggal di daerah urban dan rural

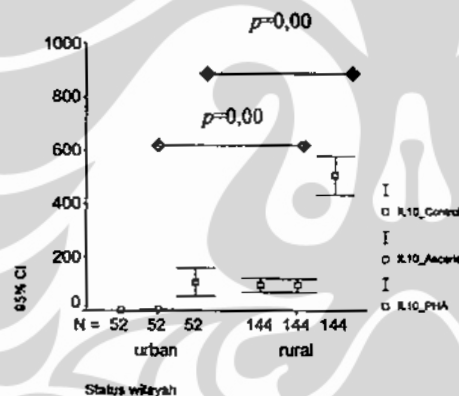
Jenis infeksi	Jumlah/Total/(%)	
	Urban	Rural
Infeksi tunggal :		
<i>A. lumbricoides</i> (Al)	3/50 (6,8%)	41/157 (93,2%)
<i>T. trichuria</i> (Tt)	1/50 (5%)	19/157 (95%)
Cacing tambang (Ct)	0/50 (0%)	16/157 (100%)
Total	4/50 (8%)	62/157 (39,5%)

Hasil analisis terhadap semua jenis cacing usus pada tabel 3 menunjukkan bahwa prevalensi cacing usus daerah rural (39,5%) secara signifikan lebih tinggi dibanding daerah urban (8,0%), Chi_square test = 17,31 ; $p = 0,000$

Tabel 3. Analisa perbandingan prevalensi infeksi cacing usus dari anak-anak SD yang tinggal di daerah urban dan rural

		Status cacing		Total
		Positif	Negatif	
SD	urban	4	46	50
	rural	62	95	157
Total		66	141	207
		31.9%	68.1%	100.0%

Hasil analisis ekspresi IL-10 terhadap status wilayah (urban-rural) seperti tertera pada gambar 1 menunjukkan bahwa ekspresi IL-10 terhadap PHA dan antigen *A.lumbricoides* pada anak yang tinggal di daerah rural signifikan lebih tinggi dibanding anak yang tinggal di daerah urban

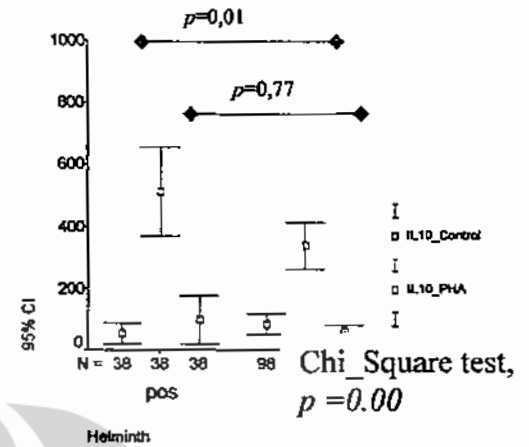


Gambar 1. Ekspresi IL-10 terhadap status wilayah

Prevalensi atopi pada anak SD dilihat dari uji tusuk kulit (SPT) yang positif terhadap 2 alergen yang diuji yaitu kacang dan tungau dapat dilihat pada tabel 4.

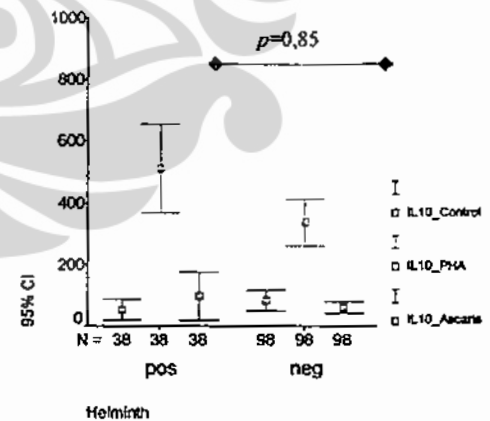
Tabel 4. Distribusi atopi responden

Jenis Atopi	Jumlah/ Total	Persentase (%)
kacang	41/158	25,9
tungau	86/308	27,9



Gambar 2. Ekspresi IL-10 terhadap PHA pada kelompok infeksi cacing

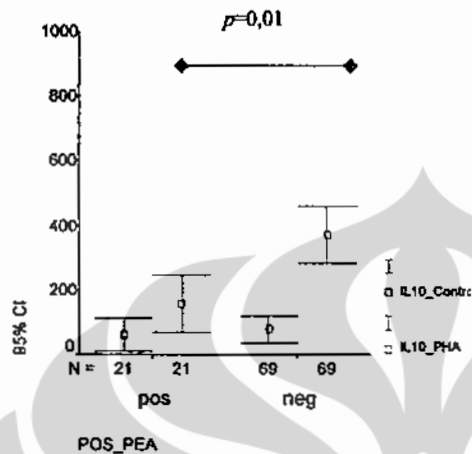
Ekspresi IL-10 terhadap PHA pada kelompok infeksi cacing (Gambar 2) menunjukkan bahwa kelompok yang terinfeksi cacing memiliki ekspresi IL-10 terhadap PHA yang lebih tinggi dibandingkan kelompok yang tidak terinfeksi cacing. Sedangkan ekspresi IL-10 terhadap antigen *Ascaris lumbricoides* pada kelompok yang terinfeksi cacing menunjukkan kecenderungan yang lebih tinggi dibandingkan kelompok yang tidak terinfeksi cacing walaupun tidak berbeda bermakna ($p=0,77$).



Gambar 3. Ekspresi IL-10 terhadap PHA pada kelompok atopi tungau

Ekspresi IL-10 terhadap PHA pada kelompok dengan manifestasi atopi tungau (Gambar 3) menunjukkan adanya kecenderungan peningkatan ekspresi IL-10 terhadap PHA pada kelompok tanpa

atopi tungau dibandingkan kelompok dengan atopi tungau walaupun tidak berbeda bermakna ($p=0,85$).



Gambar 4. Ekspresi IL-10 terhadap PHA pada kelompok atopi kacang

Ekspresi IL-10 terhadap PHA pada kelompok dengan manifestasi kacang (Gambar 4) menunjukkan adanya peningkatan signifikan ekspresi IL-10 terhadap PHA pada kelompok tanpa

		Atopi kacang		Total
		Pos	Neg	
Wilayah	Urban	22 36,1 %	39 63,9 %	61 100%
	Rural	19 19,6 %	78 80% %	97 100%
Total		41 25,9 %	117 74,1 %	158 100%

atopi kacang. Hal ini menunjukkan bahwa faktor IL-10 hasil stimulasi terhadap PHA merupakan faktor penting dalam menekan atopi.

Hasil analisa ekspresi IL-10 terhadap PHA pada kejadian atopi kacang pada tabel 5 menunjukkan anak dengan IL-10 yang tinggi memiliki resiko atopi yang lebih rendah secara signifikan dibanding anak dengan IL-10 yang rendah (11,9% vs 33,3%).

		Atopi kacang		Total
		Pos	Neg	
IL-10	Tinggi	5 11,9 %	37 88,1 %	42 100%
	Rendah	16 33,3 %	32 66,7 %	48 100%
Total		21 23,3 %	69 76,7 %	90 100%

Tabel 5. Distribusi atopi kacang dan IL-10 terhadap PHA

Hasil analisa anak dengan kejadian atopi yang tinggal di daerah urban dan rural pada tabel 6 menunjukkan bahwa anak yang tinggal di daerah urban memiliki risiko atopi kacang yang lebih tinggi secara signifikan dibanding anak yang tinggal di daerah rural (36,1% vs 19,6%).

Tabel 6. Distribusi atopi kacang pada anak-anak SD yang tinggal di daerah urban dan rural

Hasil analisa anak dengan atopi kacang dengan status infeksi cacic pada tabel 7 menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan signifikan antara anak dengan atopi kacang yang terinfeksi cacic dan yang tidak terinfeksi cacic (24,4% vs 24,4%).

Tabel 7. Distribusi atopi kacang dan infeksi cacic

		Atopi kacang		Total
		Pos	Neg	
Cacic	Pos	10 24,4%	31 75,6%	41 100%
	Neg	19 24,4%	59 75,6%	78 100%
Total		29 24,4%	90 75,6%	119 100%

Untuk melihat variabel penting yang berperan dalam menentukan status atopi kacang maka dilakukan analisis uji bivariat dan multivariat. Hasil analisa bivariat pada hubungan wilayah dengan atopi kacang menunjukkan bahwa status wilayah mempengaruhi kejadian atopi kacang dimana kelompok yang tinggal di daerah urban memiliki resiko 2,31 kali lebih tinggi dibanding kelompok yang tinggal di daerah rural. Sedangkan status infeksi caceng tidak memiliki pengaruh terhadap kejadian atopi kacang. Status IL-10 terhadap PHA juga mempengaruhi manifestasi atopi kacang dimana kelompok dengan ekspresi IL-10 terhadap PHA yang tinggi memiliki resiko 0,27 kali lebih rendah untuk mendapatkan atopi dibandingkan kelompok dengan ekspresi IL-10 yang rendah.

Hasil analisa multivariat dari seluruh variabel menunjukkan bahwa ekspresi IL-10 terhadap PHA merupakan faktor yang paling berpengaruh terhadap menurunnya manifestasi atopi kacang.

Hasil analisa anak dengan atopi tungau yang tinggal di daerah urban dan rural pada tabel 8 menunjukkan bahwa anak yang tinggal di daerah urban cenderung lebih rendah kejadian atopinya dibandingkan anak yang tinggal di daerah rural walaupun tidak signifikan (21,4% vs 31,2%).

Tabel 8. Distribusi atopi tungau pada anak-anak SD yang tinggal di daerah urban dan rural

		Atopi tungau		Total
		Pos	Neg	
C a c e n g	Pos	17 26,2%	48 73,8%	65 100%
	Neg	39 27,9%	101 72,1%	140 100%
Total		56 27,3%	149 72,7%	205 100%

Hasil analisa anak dengan atopi tungau dengan status infeksi caceng pada tabel 9 menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan signifikan antara anak dengan atopi tungau yang terinfeksi caceng dengan yang tidak terinfeksi caceng (26,2% vs 27,9%).

Tabel 9. Distribusi atopi tungau dan infeksi caceng

		Atopi tungau		Total
		Pos	Neg	
w i l a y a h	Urban	22 21,4%	81 78,6%	103 100%
	Rural	64 31,2%	141 68,8%	205 100%
Total		86 27,9%	222 72,1%	308 100%

Hasil analisa ekspresi IL-10 terhadap PHA dengan atopi tungau pada tabel 10 menunjukkan perbedaan signifikan dimana anak dengan ekspresi IL-10 yang tinggi memiliki risiko atopi tungau yang rendah dibanding anak dengan ekspresi IL-10 yang rendah (23,7% vs 27,8%).

Tabel 10. Distribusi atopi tungau dan IL-10

		Atopi tungau		Total
		Pos	Neg	
IL - 10	Tinggi	23 23,7%	74 76,3%	97 100%
	Rendah	27 27,8%	70 72,2%	97 100%
Total		50 25,8%	144 74,2%	194 100%

Hasil analisis bivariat menunjukkan bahwa status wilayah memiliki pengaruh terhadap kejadian atopi tungau dimana kelompok yang tinggal di daerah urban memiliki kecenderungan resiko 0,59 kali lebih rendah dibanding kelompok yang tinggal di daerah rural. Sedangkan status

infeksi cacang tidak memiliki pengaruh terhadap atopi tungau. Ekspresi IL-10 terhadap PHA mempengaruhi kejadian atopi tungau dimana kelompok dengan ekspresi IL-10 terhadap PHA yang tinggi memiliki kecenderungan resiko 0,8 kali lebih rendah untuk mendapatkan atopi dibandingkan kelompok dengan ekspresi IL-10 yang rendah.

Hasil analisa multivariat dari seluruh variabel menunjukkan bahwa ekspresi IL-10 terhadap PHA merupakan faktor yang berpengaruh terhadap menurunnya atopi tungau walau tidak signifikan.

Tabel 11. Distribusi atopi (kacang+tungau) pada anak-anak SD yang tinggal di daerah urban dan rural

		Atopi (kacang+tungau)		Total
		Pos	Neg	
W i l a y a h	Urban	32 52,5%	29 47,5%	61 100%
	Rural	54 56,3%	42 43,8%	96 100%
Total		86 54,8%	71 45,2%	157 100%

Hasil analisa anak dengan atopi (kacang+tungau) yang tinggal di daerah urban dan rural pada tabel 11 menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan (52,3% vs 56,3%).

Tabel 12. Distribusi atopi (kacang+tungau) dan infeksi cacang

		Atopi (kacang+tungau)		Total
		Pos	Neg	
Ca- cing	Pos	22 53,7%	19 46,3%	41 100%
	Neg	44 57,1%	33 42,9%	77 100%
Total		66 55,9%	52 44,1%	118 100%

Hasil analisa anak dengan atopi (kacang+tungau) dan status infeksi

cacing pada tabel 12 menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan signifikan antara anak dengan manifestasi atopi yang terinfeksi cacang dengan yang tidak terinfeksi cacang (53,7 vs 57,1%).

Tabel 13. Distribusi atopi (kacang+tungau) dan IL-10

		Atopi (kacang+tungau)		Total
		Positif	Negatif	
I L - 1 0	Tinggi	11 26,2%	31 73,8%	42 100%
	Rendah	26 55,3%	21 44,7%	47 100%
Total		37 41,6%	52 58,4%	89 100%

Hasil analisa IL-10 terhadap PHA dengan atopi (kacang+tungau) pada tabel 13 menunjukkan anak dengan IL-10 yang tinggi memiliki risiko atopi yang rendah secara signifikan dibanding anak dengan IL-10 yang rendah (26,2% vs 55,3%).

Hasil analisis bivariat menunjukkan bahwa pada hubungan wilayah dengan atopi (kacang+tungau) menunjukkan bahwa hanya ekspresi IL-10 terhadap PHA memiliki pengaruh terhadap kejadian atopi dimana kelompok dengan ekspresi IL-10 terhadap PHA yang tinggi memiliki resiko 0,28 kali lebih rendah untuk mendapatkan atopi dibandingkan kelompok dengan ekspresi IL-10 yang rendah.

Hasil analisa multivariat menunjukkan bahwa ekspresi IL-10 terhadap PHA merupakan faktor yang paling berpengaruh secara signifikan terhadap menurunnya kejadian atopi.

Indikasi aktivasi Treg pada anak terinfeksi cacang pada penelitian ini ditunjukkan dengan adanya peningkatan ekspresi IL-10 terhadap PHA yang signifikan pada kelompok terinfeksi cacang usus dibandingkan kelompok

tanpa infeksi usus. Namun demikian karena penelitian ini merupakan studi *cross sectional* sehingga tidak dapat menerangkan secara pasti apakah kenaikan IL-10 terhadap PHA dipicu oleh adanya infeksi cacing atau sebaliknya dimana peningkatan IL-10 terhadap PHA menyebabkan individu lebih rentan terhadap infeksi cacing.

Hasil stimulasi sel imun terhadap *crude* antigen *A.lumbricoides* pada subyek terinfeksi cacing usus dalam penelitian ini tidak menunjukkan adanya peningkatan IL-10 yang signifikan dibanding kelompok yang tidak terinfeksi cacing usus, keadaan ini diduga karena stimulasi yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan *crude* antigen dari cacing *A. lumbricoides*. Hasil penelitian Dessire dkk menunjukkan bahwa tidak semua bagian tubuh cacing merupakan antigen yang dapat memberikan respon imun yang sama pada hospes, hanya antigen yang dibuat dari bagian telur yang mampu mengaktifasi sel imun Treg yang ditandai dengan meningkatnya ekspresi IL-10.²⁴

Hasil penelitian oleh Doetze A dkk menerangkan bahwa produksi IL-10 dan TNF- β oleh sel Treg terjadi pada infeksi cacing kronis²⁵. Produksi IL-10 terhadap *crude* antigen *A.lumbricoides* yang tidak meningkat secara bermakna pada kelompok anak terinfeksi cacing diduga berhubungan dengan kedua faktor diatas; pertama, stimulasi tidak menggunakan antigen *A.lumbricoides* yang tepat dari bagian tubuh cacing yang dapat menstimulasi Treg dan kedua, kemungkinan tidak semua anak yang terinfeksi cacing berada dalam stadium infeksi kronis.

Untuk menyimpulkan bahwa keberadaan cacing merupakan faktor

utama yang menekan kejadian atopi juga belum dapat dipastikan. Hal ini disebabkan hasil analisis menunjukkan proporsi atopi pada kelompok anak terinfeksi cacing tidak signifikan lebih rendah dibanding kelompok anak tidak terinfeksi cacing. Namun demikian respon IL-10 yang signifikan tinggi terhadap antigen *A.lumbricoides* di daerah rural (endemik cacing usus) menunjukkan indikasi bahwa cacing usus memberikan kontribusi signifikan terhadap tingginya IL10 di daerah rural. Kemudian IL-10 yang akan menekan kejadian atopi.

KESIMPULAN

Prevalensi anak yang terinfeksi cacing usus pada daerah rural signifikan lebih tinggi dibandingkan anak di daerah urban. Prevalensi SPT terhadap alergen kacang pada anak di daerah urban lebih tinggi secara signifikan dibandingkan anak di daerah rural. Terdapat peningkatan ekspresi IL-10 terhadap PHA yang signifikan pada anak yang terinfeksi cacing usus. Ekspresi IL-10 terhadap antigen *A.lumbricoides* hanya signifikan meningkat pada subyek dari daerah rural yang memiliki endemisitas cacing yang tinggi. Infeksi cacing usus memiliki kontribusi terhadap meningkatnya respon IL10 di daerah rural yang akhirnya akan menurunkan resiko atopi. Peningkatan ekspresi IL-10 merupakan faktor yang paling dominan dalam menekan kejadian atopi.

Perlunya penggunaan antigen yang spesifik dari cacing *A.lumbricoides* untuk mengetahui lebih jelas pengaruh stimulasi sel imun terhadap aktivasi Treg (IL-10).

Daftar Pustaka

1. Bethony J, Brooker S, Albonico M, Geiger SM, Loukas A,

Diemert D et al. Soil-transmitted helminth infections : *Ascariasis, Trichuriasis, and hookworm. Lancet* 2006; 367:1521-32

2. Cooper PJ, Chico ME, Bland M, Griffin GE, Nutman TB. Allergic symptoms, atopy, and geohelminth infections in a rural area of Ecuador. *Am J Respir Crit Care Med* 2003;168:313-7
3. Cooper PJ. Can intestinal helminth infection (geohelminth) affect the development and expression of asthma and allergic disease? *Clin Exp Immunol* 2002;128:398-404
4. Wahyuni S. General introduction. In: Helminth infections, allergic disorders and immune responses: studies in Indonesia. Leiden University 2006;10-40
5. Weinberg EG. Urbanization and childhood asthma: an African perspective. *J Allergy Clin Immunol* 2000;105:224-31
6. Cooper PJ, Chico ME, Rodrigues LC, Ordonez M, Strachan D, Griffin GE et al. Reduced risk of atopy among school-age children infected with geohelminth parasites in a rural area of the tropics. *J Allergy and Clin Immunol May* 2003;995-1000
7. Yazdanbakhsh M, van den Biggelaar A, Maizels RM. Th2 responses without atopy: immunoregulation in chronic helminth infections and reduced allergic disease. *TRENDS in Immunology* 2001;22(7):372-7
8. Lynch NR, Hagel I, Perez M, Di Prisco MC, Lopez R, Alvarez N. Effect of anthelmintic treatment on the allergic reactivity of children in a tropical slum. *J Allergy Clin Immunol* 1993;92(3):404-11.
9. Strachan DP. Hay fever, hygiene, and household size. *BMJ* 1989;299;hal.1256-60.
10. Palmer LJ, Celedon JC, Weiss ST, Wang B, Fang Z, Xu X. *Ascaris lumbricoides* infection is associated with increased risk of childhood asthma and atopy in rural China. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;165:1489-93.
11. Obihara CC, Beyers N, Gie RP, Hoekstra MO, Fincham JLL, Marais BJ et al. Respiratory atopic disease, *Ascaris-immunoglobulin E* and tuberculin testing in urban South African children. *Clin Exp Allergy* 2006;36:640-8
12. Leonardi-Bee J, Pritchard D, Britton J. Asthma and current intestinal parasite infection systematic review and meta-analysis. *Am J Respir Crit Care Med* 2006;174:514-23
13. Araujo MI, Lopes AA, Medeiros M, Cruz AA, Sousa-Atta L, Sole D et al. Inverse association between skin response to aero-allergens and *Schistosoma mansoni* infection. *Int Arch Allergy Immunol* 2000;123:145-8
14. van den Biggelaar AH, Rodrigues LC, van Ree R, van der Zee JS, Jans J, Hoek A et al. The prevalence of parasite infestation and house dust mite sensitization in Gabonese schoolchildren. *Int Arch Allergy Immunol* 2001;126:231-8
15. Medeiros J, Figueiredo JP, Almeida MC, Matos MA, Araujo MI, Cruz AA et al. *Schistosoma mansoni* infection is associated with a reduced course of asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2003;111:947-51
16. van Riet E, Hartgers FC, Yazdanbakhsh M. Chronic helminth infections induce immunomodulation: consequences and mechanisms. *Immunobiology* 2007;212:475-90
17. Supali T, Margono SS, Abidin SAN. Nematoda usus. Dalam: Sutanto I, Ismid IS, Sjarifuddin PK, Sungkar S editor Buku Ajar Parasitologi Kedokteran ed.4.. Jakarta Balai Penerbit FKUI. 2008;6-31.
18. Klion AD, Nutman TB. Immunity to parasitic worm. *Encyclopedia of Life Sciences* 2002:1-8.
19. Abbas AK, Lichtman AH. Effector mechanisms of humoral