

1. VITAMIN A DEFICIENCY

2. IMMUNE RESPONSE

3. INTESTINAL MUCOSA

Diterbitkan untuk  
Ujian Tahap II

## DISERTASI

### PENGARUH DEFISIENSI VITAMIN A TERHADAP STATUS IMUN DAN RESPONS IMUN MUKOSA USUS PENELITIAN EKSPERIMENTAL PADA TIKUS WISTAR MELALUI PENDEKATAN IMUNOPATOBIOLOGIS

Dis  
Dik K 35/02  
KK  
Sud  
P =



MILIK  
PERPUSTAKAAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA

H.SUBIJANTO MARTO SUDARMO  
NIM. 099411517D

PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
1999

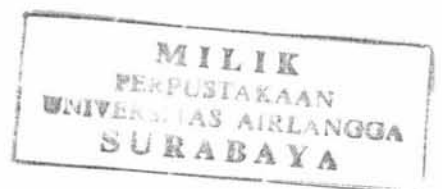
**PENGARUH DEFISIENSI VITAMIN A TERHADAP  
STATUS IMUN DAN RESPONS IMUN MUKOSA USUS  
PENELITIAN EKSPERIMENTAL PADA TIKUS WISTAR  
MELALUI PENDEKATAN IMUNOPATOLOGIK**

**DISERTASI**

Untuk memperoleh Gelar Doktor  
dalam Ilmu Kedokteran  
Pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga  
di bawah pimpinan Rektor Universitas Airlangga

**Prof.H.R.Soedarto, dr, DTM&H,PhD**

Untuk dipertahankan dihadapan  
Rapat Terbuka Senat Universitas Airlangga



Oleh :  
**H.Subijanto Marto Sudarmo**  
NIM.099411517D



**Lembar Pengesahan**

**Disertasi ini disetujui untuk diuji pada ujian tahap II**

**Tanggal 24 Agustus 1999**

**Oleh  
Promotor**

**Prof. Dr. H. Pitono Suparto, dr, SpA(K)**  
**NIP : 130 206 153**

**Ko-Promotor I**

**Prof. Marsetyawan HNE Soesatyo, dr, MSc, PhD**  
**NIP : 130 515 617**

**Ko-Promotor II**

**Dr. Suhartono Taat Putra, dr, MS**  
**NIP : 130 934 628**

Telah diuji pada ujian tertutup  
Tanggal 16 Agustus 1999

---

PANITIA PENGUJI DISERTASI

- Ketua : Prof.DR.dr.Hj. Yuliati HA SpPA FIAC
- Anggota :
  1. Prof.DR.dr.H. Pitono Soeparto SpA(K)
  2. Prof.Marsetyawan HNE Susatyo,dr, MSc,PhD
  3. Dr.Suhartono Taat Putra,dr, MS
  - 4 Prof.Dr.H.Agus Firmansyah,dr, SpA(K)
  - 5 Prof.Purnomo Suryohudoyo,dr
  - 6 Prof.Dr.H.Yoes Pryatna Dachlan,dr, MSc.
  7. Dr.M.Zainuddin, Apt

Ditetapkan dengan Surat Keputusan  
Rektor universitas Airlangga  
Nomor : 8229/J03/PP/1999  
Tanggal : 1 September 1999

## UCAPAN TERIMA KASIH

Pertama-tama saya ucapkan puji syukur kehadiran Allah yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga disertasi ini dapat diselesaikan.

Terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya serta rasa hormat saya sampaikan kepada Profesor Dr.H.Pitono Soeparto dr SpA(K) atas kesediaannya sebagai promotor, yang dengan penuh perhatian, pengertian dan kesabaran serta memberikan dorongan yang kuat, bimbingan dan saran sampai dengan selesainya disertasi ini.

Terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya saya sampaikan kepada Profesor Marsetyawan HNE Soesatyo dr, MSc, PhD sebagai Kopromotor I yang dengan penuh perhatian dan kesabaran telah memberikan dorongan, bimbingan dan saran penyusunan disertasi selama pendidikan Doktor .

Terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya saya sampaikan kepada Dr.Suhartono Taat Putra dr.MS sebagai Kopromotor II yang dengan penuh perhatian dan kesabaran telah memberikan bimbingan dan dorongan serta saran-saran dalam pelaksanaan penelitian dan penyusunan disertasi ini.

Dengan selesainya disertasi ini, perkenankanlah saya menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

Rektor Universitas Airlangga Profesor.H.Sudarto,dr, DTM&H, PhD dan mantan rektor Universitas Airlangga Profesor.H. Bambang Rahino Setokoesoemo, dr, atas kesempatan dan ijin yang telah diberikan kepada saya untuk mengikuti

dan menyelesaikan pendidikan Doktor pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

Direktur Program Pascasarjana Universitas Airlangga Profesor Dr. H. Soedijono, dr, SpTHT, atas kesempatan yang telah diberikan pada saya untuk mengikuti pendidikan program doktor pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

Staf pengajar di Program Pascasarjana Universitas Airlangga : Profesor. Bambang Rahino Setokoesoemo, dr., Prof. Abdul Gani S.H., Prof. Eddy Pranowo Soedibyo dr, MPH., Prof. Dr. Pitono Soeparto dr, SpA(K)., Prof. Ferdinandus dr., Widodo J. Pudjirahardjo, dr, M.S., MPH., DrPH., Fuad Amsyari, dr, MPH, PhD., Dr. M. Zainuddin, Apt., Dr. Sarmanu, drh., Dr.Suhartono Taat Putra, dr, MS., Prof. J. Glinka., Dr. Theodorus I. Setiawan., Prof. Sutandyo Wignyosubroto., dan Dr.Siti Pariani dr., yang telah memberikan tambahan bekal ilmu dan wawasan yang sangat berguna bagi perjalanan karier saya selanjutnya sebagai pendidik.

Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Profesor Dr.H.MS.Wijadi dr.SpTHT., dan mantan Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Profesor Dr.H.Askandar Tjokroprawiro dr, SpPD., yang telah memberikan kesempatan pada saya untuk mengikuti pendidikan program doktor pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

Direktur Rumah Sakit Umum Daerah Dr.Soetomo Surabaya Profesor H.Muhamad Dikman Angsar dr, SpOG., dan mantan direktur Rumah Sakit Umum Daerah Dr.Soetomo Porfesor.H.Karijadi Wirjoatmodjo dr, SpANK., yang telah

memberikan kesempatan kepada saya untuk mengikuti pendidikan program doktor pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

Kepala Laboratorium Ilmu Kesehatan Anak RSUD Dr.Soetomo / FK Universitas Airlangga Profesor Dr.H.Sugeng Sugijanto dr, DTM&H, SpA(K) dan mantan Kepala Laboratorium Ilmu Kesehatan Anak RSUD Dr.Soetomo / FK Universitas Airlangga Profesor.H.Subijanto Purwodibroto dr, SpA(K)., yang telah memberikan ijin kepada saya untuk mengikuti pendidikan program doktor pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

Kepala Laboratorium Ilmu Biokimia FK.Universitas Airlangga Profesor Purnomo Suryohudoyo dr, dan Profesor Utari Purnomo Suryohudoyo dr, yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk menggunakan fasilitas laboratorium Biokimia dan menggunakan kandang hewan percobaan untuk melaksanakan penelitian disertasi.

H.Prapto Sutjipto dr, H.Choirul Nidom drh, Sdr.Heri dan Sdr.Sodiq sebagai penanggung jawab dan pelaksana perawatan kandang hewan percobaan Laboratorium Biokimia FK.Unair.

Kepala Laboratorium Patologi Anatomi FK Unair Prof.Dr.Hj.Juliati Hood Assegaff dr, MS, SpPA, FIAC., Ketua seksi Patologi Anatomi RSUD Dr.Soetomo .Kusumowardojo dr, SpA., yang telah memberikan kesempatan untuk menggunakan fasilitas cryostat dalam pelaksanaan penelitian disertasi.

Ketua seksi Patobiologi laboratorium Patologi Anatomi, Dr.Suhartono Taat Putra dr, MS., dan seluruh staf yang telah memberikan bantuan sarana dan prasarana untuk menyelesaikan penelitian dan penulisan disertasi.

Kepala Laboratorium Gizi FK Universitas Airlangga Profesor Dr.Sri Kardjati dr, MSc yang telah memberikan bantuan sarana dan prasarana penggunaan HPLC untuk memeriksa kadar vitamin A dalam rangka menyelesaikan penelitian disertasi.

Kepala TDC Universitas Airlangga Profesor Dr.H.YoesPriyatna Dachlan MSc., Dr.H.Edy Bagus Warsito dr., Dadik drg., Bapak M.Kusen dan staf yang telah memberikan bantuan sarana dan prasarana untuk preparasi pemeriksaan vitamin A dalam rangka menyelesaikan penelitian disertasi.

Kepala Laboratorium Anatomi dan Histologi FK Universitas Airlangga H.Abdul Khamid Iskandar dr., dan Choirul Anwar drh., yang telah memberikan bantuan sarana dan prasarana untuk melakukan pemotretan hasil pemeriksaan imunohistokimia dalam rangka menyelesaikan penelitian disertasi.

Staf Seksi Gastroenterologi Hj.Liek Djupri dr, SpA(K), Resa Gunadi Ranuh dr, SpA., dan seluruh staf dan peserta PPDS I Laboratorium Ilmu Kesehatan Anak RSUD Dr.Soetomo / FK Universitas Airlangga dan ketua IDAI Jatim H.Teddy Ontoseno dr, wakil ketua H. Bambang Permono dr, serta seluruh pengurus IDAI Jatim yang telah banyak membantu terlaksananya pendidikan program doktor saya.

Ketut Suidiana drs, MS., dan Tania Ardiani dra, MS., yang telah banyak meluangkan waktu dan tenaganya untuk membantu pemeriksaan imunohistokimia dalam penelitian ini.

Sdr.Sumadi pelaksana tehniisi seksi Imunopatologi, Laboratorium Patologi Anatomi FK.Unair.

Sdr. Abdul Kholik, Ahli Madya bidang Statistik, staf Laboratorium Komputasi Jurusan Statistik Fakultas MIPA ITS yang telah membantu dalam analisis data penelitian untuk disertasi ini.

Dr. H. Zainuddin drs, Apt., Widodo Pudjirahardjo MPH, DrPh, Dr. F. M. Yudayana dr, SpPK., yang telah banyak membantu dan memberikan dorongan sehingga disertasi ini dapat diselesaikan.

Prof. Dr. Thomas Kardjito dr, SpP., Almarhum Profesor Dr. H. Noorachman dr, SpMK, Profesor Dr. Muljono Notosudirdjo dr, SpJ., Profesor Ferdinandus dr., Profesor Edy Pranowo dr, MPH., Profesor H. Sajid Darmodipuro dr, SpBS., Dr. Sunarko Setiawan dr, MS., Prof. Dr. Hj. Kusrieningrum Rochiman S Ir, MS., Dr. Irwan Setiabudi dr., Prof. Atasiati Idajadi dr., H. Fuad Amsyari dr, MPH, PhD., Dr. H. Slamet Prianto dr, SpTHT., H. Arjo Kencono dr, SpTHT., Profesor. Dr. H. Agus Firmansyah dr, SpA(K)., yang telah memberi bantuan, bimbingan dalam menyelesaikan disertasi ini.

Profesor. Dr. Med. H. Puruhito dr, SpBT yang telah banyak membantu dan memberikan dorongan untuk memperoleh beasiswa untuk belajar bidang Pediatric Gastroenterology di Jerman Barat.

Prof. Dr. Med. Klemen Stehr Kepala Kinder klinik der Universteit Erlangen Nurenberg, Prof. Dr. Med. Hams dan Privat Dozen Dr. Med. Groze sebagai Kepala seksi dan staf Gastroenterologi yang telah banyak membantu saya memberi wawasan bidang Gastroenterologi Anak.

Prof.Dr.Med.Demling dan Prof.Dr.Med.Fruhmorgan, Kepala Bagian dan staf Innere Medizine der Universiteit Erlangen Nurenberg yang telah memberi kesempatan saya untuk belajar diagnostik Gastroenterologi

Prof.Dr.Med. Burdelsky Kepala seksi Gastroenterologi Kinder Klinik der Univesiteit Hannover yang telah memberi kesempatan dan cara diagnostik Endoskopi penyakit gastrointestinal anak selama belajar di Jerman.

Prof.Dr.Walker Smith Lecturer in Pediatric Gastroenterology Children Hospital Queen Elyzabeth London yang telah memberi kesempatan singkat untuk belajar penyakit dan memberi wawasan bidang gastroenterologi Anak.

Prof.E.Lebenthal MD.PhD Chairman of Institute Pediatric Gastroenterology and Infant Nutrition Children Hospital Buffalo New York University at Buffalo yang telah memberi kesempatan untuk belajar bidang gastroentrologi anak terutama penelitian dengan menggunakan model hewan percobaan.

Samsul Hadi dr, SPOG ketua seksi bayi tabung Laboratorium Obsetri dan Ginekologi RS. Dr.Soetomo / FK Unair yang telah memberikan ijin untuk menggunakan freezer untuk penyimpanan sampel penelitian.

H.Moch.Djoko Basuki Ir Direktur PT Pockman Surabaya yang telah memberikan sumbangan pakan hewan percobaan selama penelitian.

Almarhum ayah dan ibu Sulaiman Marto Sudarmo, almarhum mertua H.Kusno Suparto, yang semasa hidupnya selalu memberi dorongan untuk maju dan mencapai pendidikan yang setinggi-tingginya



Isteri saya Ny.Sri Kuspraptini dan anak saya Doni Yudianto SH dan Dody Arifianto SH yang telah memberikan semangat dan dorongan untuk menyelesaikan pendidikan program doktor ini.

Keluarga, handai taulan dan semua pihak yang telah membantu baik langsung maupun tidak langsung telah ikut membantu dan memberikan doa kepada saya untuk menyelesaikan program pendidikan doktor ini

Akhir kata, semoga Allah SWT melimpahkan Rahmat dan Karunianya kepada semua pihak yang telah membantu saya dengan ikhlas dalam menyelesaikan pendidikan doktor ini.

Amien, amien ya robbal aalamin

## RINGKASAN

Sampai saat ini penyakit diare pada balita masih merupakan problem kesehatan baik pada tingkat global, regional dan nasional termasuk Indonesia, dengan angka kesakitan sebesar 3-6 kali serangan diare per tahun dengan angka kematian sebesar 4-5% per tahun, dari jumlah ini 76% terjadi pada anak di bawah satu tahun. 30-70% populasi anak yang menderita diare ternyata disertai defisiensi vitamin A baik secara subklinis atau klinis. Pemberian vitamin A dapat menurunkan angka kesakitan dan kematian akibat diare atau penyakit infeksi yang lain, namun sejauh ini imunopatobiogenesis yang mengungkap pengaruh vitamin A terhadap perubahan status dan respons imun dimukosa belum diketahui.

Upaya penanggulangan dan pencegahan diare dengan menggunakan berbagai macam konsep tidak memberikan hasil yang sesuai dengan harapan. Peneliti mempunyai asumsi kuat adanya faktor lain yang belum terungkap yang mungkin penting bagi pemecahan masalah dari penyakit diare pada anak balita terutama dibawah 2 tahun, yaitu yang berhubungan dengan sistem imun mukosa usus.

Sejauh ini pencegahan penyakit infeksi dengan imunisasi memberikan hasil yang cukup memuaskan, yang mencerminkan pentingnya status imun tubuh yang adekuat. Bila dikaitkan dengan sistem imun tubuh, diare merupakan perwujudan dari interaksi dan transaksi antara ketahanan imun mukosal dengan penyebab diare. Mengingat hal tersebut maka kondisi ketahanan imun mukosal yang terkait dengan vitamin A perlu dicermati lebih mendalam.

Kegagalan dalam penanggulangan dan pencegahan diare menumbuhkan pemikiran untuk mengembangkan metode pencegahan diare dengan membangun model yang berdasarkan ketahanan imun mukosa yang terkait dengan vitamin A.

Untuk mencapai tujuan tersebut perlu dilakukan penelitian eksperimental pada hewan sebagai model status imun dan respons imun mukosa dalam keadaan defisiensi vitamin A. Paradigma yang dipakai dalam penelitian ini adalah paradigma Patobiologi yang berkonsep *stress immunocompetent cells*, untuk mengempirkan variabel digunakan konsep morfofungsi.

Penelitian ini melibatkan 3 kelompok hewan coba, kelompok defisiensi vitamin A, kelompok defisiensi vitamin A yang mendapat terapi vitamin A dan kelompok kontrol. Untuk melihat respons imun mukosa, hewan coba dipapar dengan LPS. Variabel komponen respons imun yang diperiksa adalah: sel dendritik, sel NK, sel CD11b, sel T CD4, sel T CD8, STp IL-2, STp IFN $\gamma$ , STp IL-4, STp IL-10, SPp IgA, SPp IgG dan SPp IgM.

Perbedaan respons imun yang dicerminkan dari interaksi seluruh variabel komponen respons imun, dari masing-masing kelompok dilakukan analisis dengan uji statistik Manova, sedangkan untuk melihat interaksi aktifitas biologis dengan memperhitungkan kontribusi dari setiap komponen respons imun dilakukan uji diskreminan untuk mencari faktor pembeda terkuat dari komponen respons imun, sehingga faktor pembeda yang ditemukan dapat dipolakan. Pembuatan narasi yang cermat dari pola yang ditemukan dari masing-masing kelompok dapat disusun model

imunopatobiogenesis respons imun mukosa dan status imun mukosa serta perbaikannya setelah pemberian vitamin A.

Model imunopatobiogenesis respons imun dan status imun mukosa akibat defisiensi vitamin A dan perbaikan setelah pemberian vitamin A yang disusun dari hasil penelitian ini kemungkinan dapat dipakai sebagai dasar penanggulangan dan pencegahan diare serta pengembangan imunisasi peroral.

Hasil penelitian menunjukkan sebagai berikut :

1. Pada daerah efektor yang mendapat paparan LPS terdapat penurunan RIM dengan nilai kemaknaan uji Wilks sebesar 0.007 antara kelompok defisiensi vitamin A dengan kelompok kontrol. Terdapat perbaikan RIM yang signifikan antara kelompok defisiensi vitamin A yang telah mendapat terapi vitamin A dan kelompok defisiensi vitamin A dengan nilai kemaknaan uji Wilks sebesar 0.014. RIM antara kelompok kontrol dan kelompok defisiensi vitamin A yang telah mendapat terapi vitamin A tidak terdapat perbedaan yang signifikan dengan nilai kemaknaan uji Wilks sebesar 0.589
2. Pada daerah efektor mukosa yang tidak mendapat paparan LPS terdapat penurunan SIM yang signifikan antara kelompok defisiensi vitamin A dan kelompok kontrol dengan nilai kemaknaan uji Wilks sebesar 0.024. Setelah mendapat terapi vitamin A terjadi perbaikan SIM yang signifikan pada kelompok terapi dibandingkan dengan kelompok defisiensi vitamin A yang tanpa terapi dengan nilai kemaknaan uji Wilks sebesar 0.011. Antara kelompok kontrol

- dan kelompok defisiensi yang telah mendapat terapi vitamin A tidak terdapat perbedaan yang signifikan dengan nilai kemaknaan uji Wilks sebesar 0.142.
3. Pada daerah induktif yang mendapat paparan LPS terdapat penurunan RIM yang signifikan dengan nilai kemaknaan uji Wilks sebesar 0.023 antara kelompok defisiensi vitamin A dengan kelompok kontrol. Tidak terdapat perbedaan RIM yang signifikan antara kelompok defisiensi vitamin A yang telah mendapat terapi vitamin A dan kelompok defisiensi vitamin A dengan nilai kemaknaan uji Wilks sebesar 0.166. RIM antara kelompok kontrol dan kelompok defisiensi vitamin A yang telah mendapat terapi vitamin A tidak terdapat perbedaan yang signifikan dengan nilai kemaknaan uji Wilks sebesar 0.365.
  4. Pada daerah induktif mukosa yang tidak mendapat paparan LPS tidak terdapat perbedaan SIM yang signifikan antara kelompok defisiensi vitamin A dan kelompok kontrol dengan nilai kemaknaan uji Wilks sebesar 0.113. Setelah mendapat terapi vitamin A terjadi perbaikan SIM yang signifikan pada kelompok terapi dibandingkan dengan kelompok defisiensi vitamin A yang tanpa terapi dengan nilai kemaknaan uji Wilks sebesar 0.021. Antara kelompok kontrol dan kelompok defisiensi yang telah mendapat terapi vitamin A tidak terdapat perbedaan yang signifikan dengan nilai kemaknaan uji Wilks sebesar 0.259.
  5. Temuan model imunopatobiogenesis RIM pada daerah efektor kelompok defisiensi vitamin A yang mendapat paparan LPS menunjukkan adanya penurunan yang hebat dari imunitas humoral lokal yang dicerminkan oleh penurunan aktivitas biologis dengan kontribusi yang negatif dari IgA dan tidak adanya

kontribusi sama sekali dari IgM, walaupun ada kontribusi aktivitas biologis yang positif dari IgG tetapi tidak memberi nilai yang protektif pada ketahanan imunologis mukosa usus. Disisi yang lain terjadi penurunan yang hebat dari imun seluler yang tercermin dari tidak adanya kontribusi aktivitas biologis dari APC/sel dendritik dan penurunan aktivitas biologis sel NK namun masih memberikan kontribusi yang positif. Kontribusi aktivitas biologis positif dapat ditemukan pada sel T CD8. Setelah pemberian vitamin A terjadi perbaikan dari imun humoral lokal yang dicerminkan dari meningkatnya kontribusi aktivitas biologis yang positif dari IgA dan kontribusi yang negatif dari IgG tetapi tetap tidak terdapat kontribusi dari IgM. Tampaknya tidak banyak perubahan pada komponen imun seluler, yang terlihat dari tidak adanya kontribusi dari APC/dendritik dan CD11b dan terjadi penurunan kontribusi dari sel T CD8, namun ada perbaikan dari aktivitas biologis dari sel NK.

6. Temuan model imunopatobiogenesis SIM mukosa usus daerah efektor kelompok defisiensi vitamin A yang tidak mendapat paparan LPS menunjukkan adanya penurunan dari status imun sistem humoral dan sistem seluler yang serius. Pada imun seluler kontribusi aktivitas biologis yang positif dicerminkan oleh sel APC/dendritik, sedangkan komponen yang lain yaitu sel T CD8 dan sel NK tidak memberi kontribusi sama sekali bahkan CD11b memberikan kontribusi aktivitas biologis yang negatif. Demikian juga pada sisi imun humoral terjadi penurunan aktifitas biologis dengan kontribusi negatif dari IgA, kontribusi aktifitas biologis positif dari IgG dan IgM tidak meningkatkan kualitas SIM usus. Setelah

pemberian vitamin A terjadi perbaikan SIM usus yang dicerminkan dari aktivitas biologis dengan kontribusi positif dari IgA pada imun humoral lokal, walaupun terdapat aktivitas biologis dengan kontribusi positif dari IgG tetapi tidak banyak mempunyai arti pada sistem ketahanan imun mukosa. Setelah pemberian vitamin A imun seluler tidak mengalami perbaikan yang terlihat dari tidak adanya kontribusi dari sel NK dan sel T CD8, sedangkan APC/sel dendritik memberikan kontribusi dengan aktivitas biologis yang negatif. Aktivitas biologis dengan kontribusi positif diperankan oleh CD11b.

7. Temuan model imunopatobiogenesis RIM pada daerah induktif kelompok defisiensi vitamin A yang mendapat paparan LPS menunjukkan adanya penurunan imun humoral lokal yang dicerminkan oleh penurunan aktivitas biologis dari IgA, walaupun ada peningkatan aktifitas biologis dari IgG tetapi komponen ini tidak memberikan proteksi yang baik pada ketahanan sistem imun mukosa. Disisi yang lain imun seluler masih berfungsi baik, yang terlihat dari aktivitas biologis positif dari CD8 dan CD11b hal ini dimungkinkan oleh karena adanya stimulasi positif dari IL-2 yang mempunyai aktivitas biologis yang positif. Setelah pemberian vitamin A terjadi perbaikan sistem imun humoral lokal yang tercermin dari aktivitas biologis yang positif dari IgA yang berarti sistem ketahanan imun membaik, kontribusi aktivitas biologis positif dari IgG tidak banyak berpengaruh terhadap perbaikan imun humoral lokal, sedangkan imun seluler fungsinya tetap baik yang dicerminkan oleh aktivitas biologis positif CD8 dan CD11b.

8. Temuan model imunopatobiogenesis SIM pada daerah induktif kelompok defisiensi vitamin A yang tidak mendapat paparan LPS menunjukkan adanya penurunan imun humoral lokal yang tercermin dari penurunan aktivitas biologis dari IgA dan kontribusi aktivitas biologis negatif dari IgM, walaupun terdapat kontribusi dengan aktivitas biologis yang positif dari IgG tetapi tidak proteksi yang baik pada sistem imun mukosa. Untuk imun seluler terjadi juga penurunan yang dicerminkan oleh penurunan aktivitas biologis dari APC dan sel NK tetapi CD8 masih memberikan sumbangan aktivitas biologis yang positif. Setelah mendapat terapi vitamin A terjadi perbaikan sistem imun huoral lokal yang dicerminkan dengan aktivitas biologis positif dari IgA sedangkan untuk imun seluler terjadi juga perbaikan yang tercermin dari aktivitas biologis positif dari APC dan CD11b sebaliknya terjadi terjadi penurunan CD8.

Yang dapat disimpulkan dari temuan penelitian ini adalah :

- 1 Defisiensi vitamin A menurunkan SIM dan pemberian vitamin A meningkatkan SIM daerah efektor dan daerah induktif mukosa usus.
- 2 Defisiensi vitamin A menurunkan RIM dan pemberian vitamin A meningkatkan RIM daerah efektor dan daerah induktif mukosa usus.
- 3 Model imunopatobiogenesis SIM berbeda antara defisiensi vitamin A dan terapi vitamin A.
- 4 Model imunopatobiogenesis RIM berbeda antara defisiensi vitamin A dan terapi vitamin A



Dengan kesimpulan yang didapatkan, dapatlah diketahui bahwa vitamin A adalah suatu imunomodulator pada sistem imun mukosa dan paradigma Patobiologis yang berkonsep stress mucosal immunocompetent cell dapat dipakai untuk membuktikan dan mengungkapkan gangguan aktivitas biologis sistem imun mukosa usus yang mengalami defisiensi vitamin A dan yang diberikan terapi vitamin A. Hal ini merupakan sumbangan untuk pengembangan dan pengetrapan pengetahuan dan teknologi Kedokteran dalam hal penanggulangan dan pencegahan penyakit diare khususnya imunisasi peroral.

## ABSTRACT

**Keywords:** Vitamin A deficiency, stress immunocompetent cells, mucosal immune response, pathobiology, immunopathobiogenesis.

Diarrheal disease in infants and children remains a major health problem in the world, especially in developing countries including Indonesia, as is indicated by their high morbidity and mortality rate. Majority of diarrheal patients in developing countries are mostly accompanied by vitamin A deficiency, whether it is subclinically or manifested clinically.

Within 25 years various efforts have been attempted to prevent and eradicate diarrheal disease in infants and children. Numerous approaches, including rehydration, formula feeding, medication, hygiene and sanitation programs, which were not based on reliable concepts, have been tried without satisfying results.

It has been assumed that there are possibly other factors that may play an important role dealing with the high morbidity and mortality of diarrheal disease especially in developing countries. One of those factors proposed is the immune status of the mucosa of children suffering from diarrhea which will be the main concern of this study..

The objective of this study was to elucidate the immunopathobiogenesis of vitamin A deficiency in experimental animal models. The animals were divided into three groups, i.e., vitamin A deficient group, control group and vitamin A deficient

treated group. Each group consisted of 20 male Wistar strain rat. To evoke mucosal immune response, they were exposed to orally-given LPS.

Immune response variables used in this study were: dendritic cell, NK cell, neutrophyl CD11b, CD4 T cell, CD8 T cell, IL-2 producing T cell, IFNg producing T cell, IL-4 producing T cell, IL-10 producing T cell, IgA producing plasma cell, IgG producing plasma cell and IgM producing plasma cell.

The results of the study show that in efector sites vitamin A deficient group exposed to LPS showed significant decrease in mucosal immune response, compared to control group with Wilks value of 0.007. There was a significant improvement of mucosal immune response in vitamin A treated group, compared to vitamin A deficient group with Wilks value of 0.014. Comparison between control group and vitamin A treated group on mucosal immune response show no significant difference with Wilks value of 0.589. Without exposing to LPS, vitamin A deficient group shows declining mucosal immune status, compared to control group with Wilks value of 0.024. There was significant improvement of mucosal immunity status in vitamin A treated group compared to vitamin A deficient group (Wilks 0.011) and no significant difference compared to control group (Wilks 0.142).

The other results of the study show that in inductive sites vitamin A deficient group exposed to LPS showed significant decrease in mucosal immune response, compared to control group with Wilks value of 0.023. There was no significant improvement of mucosal immune response in vitamin A treated group, compared to vitamin A deficient group with Wilks value of 0.166. Comparison between control

group and vitamin A treated group on mucosal immune response show no significant difference with Wilks value of 0.365. Without exposing to LPS, vitamin A deficient group shows no significant difference on mucosal immun status, compared to control group with Wilks value of 0.113. There was significant improvement of mucosal immune status in vitamin A treated group compared to vitamin A deficient group (Wilks 0.021) and no significant difference compared to control group (Wilks 0.259).

In addition, this study also able to construct six immunopathobiogenesis models of mucosal immune status and response. Exposing vitamin A deficient group to LPS will significantly suppress the local humoral and cellular immune responses. Treatment with vitamin A improves the mucosal immune system. unexposed to LPS, vitamin A deficient group showed abnormal cellular and local humoral immunity status. Based on the finding of this study, it is concluded that vitamin A can act as an immunomodulator for mucosal immune system.

The six models of immunopathobiogenesis related to the mucosal immune status and response to vitamin A deficiency can be used as a new basic concepts for eradicating and preventing diarrheal disease in infants and children, in view of vitmin A compaign and development of oral immunization.

## DAFTAR ISI

|  |        |
|--|--------|
| Sampul Depan .....   | i      |
| Sampul Dalam .....   | ii     |
| Prasyarat .....  | iii    |
| Persetujuan .....  | iv     |
| Penetapan Panitia .....                                    | v      |
| Ucapan Terima Kasih .....                                  | vi     |
| Ringkasan .....  | xiii   |
| Abstract .....   | xxi    |
| DAFTAR ISI .....   | xxiv   |
| DAFTAR TABEL .....   | xxx    |
| DAFTAR GAMBAR .....  | xxxiii |
| DAFTAR LAMPIRAN .....                                      | xxxvi  |
| DAFTAR SINGKATAN .....                                     | xxxix  |
| DAFTAR ISTILAH .....                                       | xli    |
| BAB 1 PENDAHULUAN .....                                    | 1      |
| 1.1 Latar Belakang .....                                   | 1      |
| 1.2 Rumusan Masalah .....                                  | 4      |
| 1.3 Tujuan Penelitian .....                                | 4      |
| 1.3.1 Tujuan umum .....                                    | 4      |
| 1.3.2 Tujuan khusus .....                                  | 4      |
| 1.4 Manfaat Penelitian .....                               | 5      |
| 1.4.1 Manfaat ilmiah .....                                 | 5      |
| 1.4.2 Manfaat praktis .....                                | 5      |
| BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA .....                               | 7      |
| 2.1 Faktor-faktor yang mempengaruhi status vitamin A ..... | 7      |
| 2.1.1 Penyakit .....                                       | 7      |
| 2.1.2 Umur .....   | 8      |

|       |  |    |
|-------|--|----|
| 2.2   | Struktur dan cara kerja vitamin A .....                        | 9  |
| 2.3   | Aktifitas biologik vitamin A melalui regulasi ekspresi gene .. | 10 |
| 2.4   | Hubungan status vitamin A dan kekebalan .....                  | 11 |
| 2.5   | Mekanisme kerja retinoid pada sistem kekebalan .....           | 12 |
| 2.6   | Sistem imunitas mukosa .....                                   | 14 |
| 2.6.1 | Anatomi .....  | 14 |
| 2.6.2 | Fungsi .....   | 15 |
| 2.6.3 | Repertoire sel T.....  | 17 |
| 2.6.4 | Organisasi jaringan limfoid mukosa .....                       | 19 |
|       | A. Kumpulan jaringan limfoid mukosa .....                      | 20 |
|       | a. Peyer`s Patches .....                                       | 20 |
|       | 1. Sel M .....   | 21 |
|       | 2. Area Kubah.....   | 22 |
|       | 3. Folikel .....   | 22 |
|       | B. Jaringan limfoid tersebar .....                             | 23 |
|       | 1. Limfosit Intra Epitelial (IEL) .....                        | 23 |
|       | 2. Limfosit Lamina Propria .....                               | 24 |
|       | 3 Sel makrofag .....   | 25 |
|       | 4 Sel dendritik .....  | 25 |
|       | 5 Sel NK .....   | 27 |
|       | 6 Sel mast .....   | 27 |
| 2.7   | Respons imun mukosa .....                                      | 29 |
| 2.7.1 | Arti penting sistem imun mukosa .....                          | 29 |
| 2.7.2 | Tempat induksi respons imun mukosa .....                       | 31 |
| 2.7.3 | Ambilan antigen dan presentasi .....                           | 32 |
| 2.7.4 | Sel T helper di jaringa induksi mukosa .....                   | 32 |
| 2.7.5 | Peranan sel Th1 dan Th2 dalam respons imun mukosa .....        | 34 |
| 2.7.6 | Sel T helper di jaringan mukosa .....                          | 38 |
| 2.7.7 | Sel yang memproduksi imunoglobulin di mukosa usus .....        | 41 |

|        |   |    |
|--------|---|----|
| 2.7.8  | Distribusi sel yang memproduksi imunoglobulin .....   | 41 |
| 2.7.9  | Sitokin dalam sistem imun mukosa .....  | 42 |
| 2.7.10 | Sitokin yang mempengaruhi maturasi sel sel yang mengekspresi<br>IgA menjadi sel yang mensekresi IgA ..... | 43 |
|        | a. Interleukin 5 (IL-5) .....   | 43 |
|        | b. Interleukin 2 (IL-2) .....   | 44 |
|        | c. Interleukin 6 (IL-6) .....   | 45 |
| 2.7.11 | Sitokin yang menginduksi isotype switching ke IgA .....   | 45 |
| 2.7.12 | Immunoglobulin class switching .....  | 47 |
| 2.7.13 | Cara menginduksi respons imun mukosa usus .....   | 48 |
| 2.8    | Peranan status imunitas usus pada imunisasi peroral .....   | 51 |
| 2.8.1  | Keuntungan keuntungan dari IgA sekretori .....  | 53 |
| 2.8.2  | Sel yang membuat IgA dalam jaringan mukosa .....  | 53 |
| 2.8.3  | Tempat induksi .....  | 54 |
| 2.8.4  | Tempat efektor .....  | 54 |
| 2.9    | Pengujian terhadap komponen respons imun mukosa usus ...  | 55 |
| 2.9.1  | Respon imun seluler dan humoral di mukosa usus .....  | 55 |
| 2.9.2  | Neutrofil .....   | 56 |
| 2.9.3  | Basofil .....   | 58 |
| 2.9.4  | Eosinofil .....   | 58 |
| 2.9.5  | Sel mast .....  | 60 |
| 2.9.6  | Makrofag .....  | 61 |
| 2.9.7  | Sel dendritik .....   | 63 |
| 2.9.8  | Sel NK .....  | 64 |
| 2.9.9  | Sel supresor sitotoksik .....   | 66 |
| 2.9.10 | Sel T helper .....  | 66 |
| 2.9.11 | Sel yang memproduksi IL-2 .....   | 67 |
| 2.9.12 | Sel yang memproduksi IL-4 .....   | 68 |
| 2.9.13 | Sel yang memproduksi IL-5 .....   | 69 |

|  |           |
|--|-----------|
| 2.9.14 Sel yang memproduksi IL-6 .....                       | 69        |
| 2.9.15 Sel yang memproduksi IL-10 .....                      | 70        |
| 2.9.16 Sel yang memproduksi IL-12 .....                      | 71        |
| 2.9.17 Sel yang memproduksi INF $\gamma$ .....               | 71        |
| 2.9.18 Sel yang memproduksi TNF $\beta$ .....                | 73        |
| 2.9.19 Sel T CD4 .....                                       | 73        |
| 2.9.20 Sel T CD8 .....                                       | 75        |
| <b>BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN ..</b> | <b>80</b> |
| 3.1 Kerangka Konseptual .....                                | 80        |
| 3.2 Hipotesis .....  | 82        |
| <b>BAB 4 METODE PENELITIAN .....</b>                         | <b>83</b> |
| 4.1 Metode Penelitian .....                                  | 83        |
| 4.1.1 Jenis penelitian .....                                 | 83        |
| 4.1.2 Rancangan penelitian .....                             | 84        |
| 4.1.3 Pendekatan .....                                       | 85        |
| 4.2 Populasi, sampel, besar sampel .....                     | 85        |
| 4.2.1 Populasi .....   | 85        |
| 4.2.2 Sampel .....   | 86        |
| 4.2.3 Besar sampel .....                                     | 86        |
| 4.3 Tehnik pengambilan sampel .....                          | 87        |
| 4.4 Identifikasi dan Pengukuran Variabel .....               | 88        |
| 4.4.1 Skema hubungan antar variabel .....                    | 88        |
| 4.4.2 Klasifikasi variabel .....                             | 88        |
| 4.4.3 Definisi operasional variabel .....                    | 89        |
| 4.4.4 Materi penelitian .....                                | 90        |
| 4.5 Tatalaksana Penelitian .....                             | 90        |
| 4.5.1 Pemeliharaan hewan percobaan .....                     | 90        |
| 4.5.2 Persiapan uji hewan .....                              | 93        |
| 4.5.3 Penanganan selama pengujian .....                      | 94        |



|  |  |            |
|--|--|------------|
| 4.5.4  | Prosedur pengecatan imunohistokimia .....                  | 94         |
| 4.6  | Tempat dan Waktu Penelitian .....                          | 97         |
| 4.6.1  | Tempat penelitian .....                                    | 97         |
| 4.6.2  | Waktu penelitian .....                                     | 98         |
| 4.7  | Prosedur Pengambilan dan Pengumpulan data .....            | 99         |
| 4.8  | Pemeriksaan Respons Imun Mukosa .....                      | 100        |
| 4.9  | Tehnik Analisis Data .....                                 | 101        |
| 4.9.1  | Uji homogenitas .....                                      | 101        |
| 4.9.2  | Uji normalitas .....                                       | 101        |
| 4.9.3  | Uji konsistensi atau keajegan pengamatan .....             | 102        |
| 4.9.4  | Uji perbedaan antar kelompok sampel .....                  | 103        |
| 4.9.5  | Uji diskriminan .....                                      | 104        |
| 4.9.6  | Pembuatan pola respons imun mukosa usus .....              | 104        |
| 4.9.7  | Stimulasi respons imun mukosa usus .....                   | 105        |
| 4.9.8  | Cara pengukuran kadar vitamin A .....                      | 105        |
| <b>BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS .....</b> |  | <b>108</b> |
| 5.1  | Hasil penelitian .....                                     | 108        |
| 5.1.1  | Hasil pemeriksaan Imunohistokimia .....                    | 108        |
| 5.1.1  | Hasil pembuatan defisiensi vitamin A pada hewan coba ..... | 111        |
| 5.2  | Hasil Uji Statistik Sampel .....                           | 112        |
| 5.2.1  | Uji homogenitas sampel .....                               | 112        |
| 5.2.2  | Uji normalitas .....                                       | 112        |
| 5.2.3  | Uji konsistensi pengamatan .....                           | 112        |
| 5.2.4  | Hasil uji perbedaan antar kelompok sampel .....            | 116        |
| 5.2.5  | Uji diskriminan untuk identifikasi variabel pembeda .....  | 132        |
| 5.2.6  | Pembuatan pola gangguan respons imun mukosa usus .....     | 136        |
| <b>BAB 6 PEMBAHASAN .....</b>                    |  | <b>154</b> |
| <b>BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>          |  | <b>189</b> |
| 7.1  | Kesimpulan .....   | 189        |

|     |                      |     |
|-----|----------------------|-----|
| 7.2 | Saran .....          | 190 |
|     | DAFTAR PUSTAKA ..... | 191 |
|     | LAMPIRAN .....       | 203 |

## DAFTAR TABEL

|           |   |     |
|-----------|---|-----|
| Tabel 2.1 | : Komponen esensial sistem imun mukosa gasrointestinal ..   | 29  |
| Tabel 2.2 | : Sifat subset sel T murine ditempat induksi dan Efektor mukosa .....   | 50  |
| Tabel 2.3 | : Sel Th1 dan Th2 untuk regulasi respons Ig ... ..  | 50  |
| Tabel 4.1 | : Komposisi pakan tikus bebas vitamin A .....   | 92  |
| Tabel 4.2 | : Komposisi OMAVAC improved .....   | 93  |
| Tabel 4.3 | : Antibodi monoklonal spesifik .....  | 101 |
| Tabel 5.1 | : Tes konsistensi pengamat pertama dan pengamat kedua daerah induktif mukosa usus dengan paparan LPS .....  | 113 |
| Tabel 5.2 | : Tes konsistensi pengamat pertama dan pengamat kedua daerah induktif mukosa usus tanpa paparan LPS .....   | 113 |
| Tabel 5.3 | : Tes konsistensi pengamat pertama dan pengamat kedua daerah efektor mukosa usus dengan paparan LPS .....   | 114 |
| Tabel 5.4 | : Tes konsistensi pengamat pertama dan pengamat kedua daerah efektor mukosa usus tanpa paparan LPS .....  | 115 |
| Tabel 5.5 | : Komparasi komponen respons imun daerah efektor mukosa usus kelompok defisiensi vitamin A dan kelompok kontrol dengan paparan LPS .....          | 116 |
| Tabel 5.6 | : Komparasi komponen respons imun daerah efektor mukosa usus kelompok kontrol dan kelompok terapi vitamin A dengan paparan LPS .....              | 117 |
| Tabel 5.7 | : Komparasi komponen respons imun daerah efektor mukosa usus kelompok defisiensi vitamin A dan kelompok terapi vitamin A dengan paparan LPS ..... | 118 |
| Tabel 5.8 | : Komparasi komponen respons imun daerah efektor mukosa usus kelompok defisiensi vitamin A dan kelompok kontrol tanpa paparan LPS .....           | 119 |
| Tabel 5.9 | : Komparasi komponen respons imun daerah efektor  |     |

|            |   |     |
|------------|---|-----|
|            | mukosa usus kelompok kontrol dan kelompok terapi vitamin A tanpa paparan LPS .....  | 120 |
| Tabel 5.10 | : Komparasi komponen respons imun daerah efektor mukosa usus kelompok defisiensi vitamin A dan kelompok terapi vitamin A tanpa paparan LPS .....  | 121 |
| Tabel 5.11 | : Komparasi komponen respons imun daerah induktif mukosa usus kelompok defisiensi vitamin A dan kelompok kontrol dengan paparan LPS .....         | 122 |
| Tabel 5.12 | : Komparasi komponen respons imun daerah induktif mukosa usus kelompok kontrol dan kelompok terapi vitamin A dengan paparan LPS .....             | 123 |
| Tabel 5.13 | : Komparasi komponen respons imun daerah induktif mukosa usus kelompok defisiensi vitamin A dan kelompok terapi vitamin A dengan paparan LPS..... | 124 |
| Tabel 5.14 | : Komparasi komponen respons imun daerah induktif mukosa usus kelompok defisiensi vitamin A dan kelompok kontrol tanpa paparan LPS .....          | 125 |
| Tabel 5.15 | :. Komparasi komponen respons imun daerah induktif mukosa usus kelompok kontrol dan kelompok terapi vitamin A tanpa paparan LPS .....             | 126 |
| Tabel 5.16 | : Komparasi komponen respons imun daerah induktif mukosa usus kelompok defisiensi vitamin A dan kelompok terapi vitamin A tanpa paparan LPS.....  | 127 |
| Tabel 5.17 | : Harga rerata dan simpang baku variabel komponen respons imun mukosa usus dari 12 variabel di daerah induktif dengan paparan LPS .....           | 128 |
| Tabel 5.18 | : Harga rerata dan simpang baku variabel komponen respons imun mukosa usus dari 12 variabel di daerah induktif tanpa paparan LPS .....            | 129 |
| Tabel 5.19 | : Harga rerata dan simpang baku variabel komponen respons imun mukosa usus dari 12 variabel di daerah efektor dengan paparan LPS .....            | 130 |

|            |   |     |
|------------|---|-----|
| Tabel 5.20 | : Harga rerata dan simpang baku variabel komponen respons imun mukosa usus dari 12 variabel di daerah efektor tanpa paparan LPS .....                                 | 131 |
| Tabel 5.21 | : Rekapitulasi variabel pembeda komponen respons imun mukosa daerah induktif dengan paparan LPS .....   | 133 |
| Tabel 5.22 | : Rekapitulasi variabel pembeda komponen respons imun mukosa daerah induktif tanpa paparan LPS .....  | 134 |
| Tabel 5.23 | : Rekapitulasi variabel pembeda komponen respons imun mukosa daerah efektor dengan paparan LPS .....  | 135 |
| Tabel 5.24 | : Rekapitulasi variabel pembeda komponen respons imun mukosa daerah efektor tanpa paparan LPS .....   | 136 |
| Tabel 5.25 | : Pola komponen respons imun mukosa usus daerah induktif dengan paparan LPS dari kelompok defisiensi vitamin A, kelompok kontrol, dan kelompok terapi vitamin A ..... | 137 |
| Tabel 5.26 | : Pola komponen respons imun mukosa usus daerah induktif tanpa paparan LPS dari kelompok defisiensi vitamin A, kelompok kontrol, dan kelompok terapi vitamin A .....  | 139 |
| Tabel 5.27 | : Pola komponen respons imun mukosa usus daerah efektor dengan paparan LPS dari kelompok defisiensi vitamin A, kelompok kontrol, dan kelompok terapi vitamin A .....  | 141 |
| Tabel 5.28 | : Pola komponen respons imun mukosa usus daerah efektor tanpa paparan LPS dari kelompok defisiensi vitamin A, kelompok kontrol, dan kelompok terapi vitamin A .....   | 143 |

## DAFTAR GAMBAR

|             |   |     |
|-------------|---|-----|
| Gambar 3.1  | : Kerangka konseptual penelitian .....  | 80  |
| Gambar 4.1  | : Protokol cara pembuatan defisiensi vitamin A .  | 106 |
| Gambar 4.2  | : Rancangan penelitian .....  | 107 |
| Gambar 5.1  | : Grafik rerata setiap variabel komponen respons imun mukosa usus daerah induktif dengan paparan LPS .....            | 128 |
| Gambar 5.2  | : Grafik rerata setiap variabel komponen respons imun mukosa usus daerah induktif tanpa paparan LPS .....             | 129 |
| Gambar 5.3  | : Grafik rerata setiap variabel komponen respons imun mukosa usus daerah efektor dengan paparan LPS .....             | 130 |
| Gambar 5.4  | : Grafik rerata setiap variabel komponen respons imun mukosa usus daerah efektor tanpa paparan LPS .....              | 131 |
| Gambar 5.5  | : Grafik pola gangguan respons imun mukosa usus daerah induktif dengan paparan LPS .....                              | 138 |
| Gambar 5.6  | : Grafik pola gangguan respons imun mukosa usus daerah induktif tanpa paparan LPS .....                               | 140 |
| Gambar 5.7  | : Grafik pola gangguan respons imun mukosa usus daerah efektor dengan paparan LPS .....                               | 142 |
| Gambar 5.8  | : Grafik pola gangguan respons imun mukosa usus daerah efektor tanpa paparan LPS .....                                | 144 |
| Gambar 5.9  | : Model imunopatobiogenesis RIM usus kelompok defisiensi vitamin A, kelompok kontrol, kelompok terapi vitamin A ..... | 146 |
| Gambar 5.10 | : Model imunopatobiogenesis SIM usus kelompok defisiensi vitamin A, kelompok kontrol, kelompok terapi vitamin A ..... | 147 |

|             |  |     |
|-------------|--|-----|
| Gambar 5.11 | : Sediaan imunohistokimia dengan antibodi monoklonal terhadap CD8 pada daerah efektor mukosa dari kelompok defisiensi vitamin A tampak sel T CD8 dengan pembesaran 1000X ..                  | 148 |
| Gambar 5.12 | : Sediaan imunohistokimia dengan antibodi monoklonal terhadap CD4 pada daerah efektor mukosa dari kelompok defisiensi vitamin A tampak sel T CD4 dengan pembesaran 1000X ...                 | 148 |
| Gambar 5.13 | : Sediaan imunohistokimia dengan antibodi monoklonal terhadap sel Dendritik pada daerah efektor mukosa dari kelompok defisiensi vitamin A tampak sel Dendritik dengan pembesaran 1000X ..... | 149 |
| Gambar 5.14 | : Sediaan imunohistokimia dengan antibodi monoklonal terhadap sel NK pada daerah efektor mukosa dari kelompok kontrol tampak sel NK dengan pembesaran 1000X .....                            | 149 |
| Gambar 5.15 | : Sediaan imunohistokimia dengan antibodi monoklonal terhadap IL-2 pada daerah efektor mukosa dari kelompok kontrol tampak sel Sp IL-2 dengan pembesaran 1000X .....                         | 150 |
| Gambar 5.16 | : Sediaan imunohistokimia dengan antibodi monoklonal terhadap IFNg pada daerah efektor mukosa dari kelompok terapi vitamin A tampak sel Sp IFNg dengan pembesaran 1000X .....                | 150 |
| Gambar 5.17 | : Sediaan imunohistokimia dengan antibodi monoklonal terhadap IL-4 pada daerah efektor mukosa dari kelompok terapi vitamin A tampak sel Sp IL-4 dengan pembesaran 1000X .....                | 151 |
| Gambar 5.18 | : Sediaan imunohistokimia dengan antibodi monoklonal terhadap IL-10 pada daerah efektor mukosa dari kelompok kontrol tampak sel Sp IL-10 dengan pembesaran 1000X .....                       | 151 |
| Gambar 5.19 | : Sediaan imunohistokimia dengan antibodi monoklonal terhadap IgA pada daerah efektor mukosa dari kelompok terapi vitamin A tampak sel Sp IgA dengan pembesaran 1000X .....                  | 152 |

|             |  |     |
|-------------|--|-----|
| Gambar 5.20 | : Sediaan imunohistokimia dengan antibodi monoklonal terhadap IgG pada daerah efektor mukosa dari kelompok terapi vitamin A tampak sel Sp IgG dengan pembesaran 1000X .....  | 152 |
| Gambar 5.21 | : Sediaan imunohistokimia dengan antibodi monoklonal terhadap IgM pada daerah efektor mukosa dari kelompok terapi vitamin A tampak sel Sp IgM dengan pembesaran 1000X .....  | 153 |
| Gambar 5.22 | : Sediaan imunohistokimia dengan antibodi monoklonal terhadap CD11b pada daerah efektor mukosa dari kelompok terapi vitamin A tampak sel CD11b dengan pembesaran 1000X ..... | 153 |



## DAFTAR LAMPIRAN

|             |   |      |
|-------------|---|------|
| Lampiran 1  | : Prosedur pemeriksaan vitamin A dengan HPLC .....  | 203  |
| Lampiran 2  | : Pengecatan Imunohistokimia .....  | 205. |
| Lampiran 3  | : Uji homogenitas .....   | 206  |
| Lampiran 4  | : Uji IIDN .....  | 208  |
| Lampiran 5a | : Tes kadar vitamin A .....   | 218  |
| Lampiran 5  | : Tes konsistensi pengamat pertama dan pengamat kedua daerah induktif mukosa usus dengan paparan LPS .....  | 220  |
| Lampiran 6  | : Tes konsistensi pengamat pertama dan pengamat kedua daerah induktif mukosa usus tanpa paparan LPS .....   | 225  |
| Lampiran 7  | : Tes konsistensi pengamat pertama dan pengamat kedua daerah efektor mukosa usus dengan paparan LPS .....   | 227  |
| Lampiran 8  | : Tes konsistensi pengamat pertama dan pengamat kedua daerah efektor mukosa usus tanpa paparan LPS .....  | 229  |
| Lampiran 9  | : Komparasi komponen respons imun daerah efektor mukosa usus kelompok defisiensi vitamin A dan kelompok kontrol dengan paparan LPS .....          | 231  |
| Lampiran 10 | : Komparasi komponen respons imun daerah efektor mukosa usus kelompok kontrol dan kelompok terapi vitamin A dengan paparan LPS .....              | 234  |
| Lampiran 11 | : Komparasi komponen respons imun daerah efektor mukosa usus kelompok defisiensi vitamin A dan kelompok terapi vitamin A dengan paparan LPS ..... | 237  |
| Lampiran 12 | : Komparasi komponen respons imun daerah efektor mukosa usus kelompok defisiensi vitamin A dan kelompok kontrol tanpa paparan LPS .....           | 240  |
| Lampiran 13 | : Komparasi komponen respons imun daerah efektor mukosa usus kelompok kontrol dan kelompok terapi vitamin A tanpa paparan LPS .....               | 243  |

|             |  |     |
|-------------|--|-----|
| Lampiran 14 | : Komparasi komponen respons imun daerah efektor mukosa usus kelompok defisiensi vitamin A dan kelompok terapi vitamin A tanpa paparan LPS .....                     | 246 |
| Lampiran 15 | : Harga rerata dan simpang baku variabel komponen respons imun mukosa usus dari 12 variabel di daerah efektor dengan paparan LPS .....                               | 249 |
| Lampiran 16 | : Harga rerata dan simpang baku variabel komponen respons imun mukosa usus dari 12 variabel di daerah efektor tanpa paparan LPS .....                                | 254 |
| Lampiran 17 | : Pola komponen respons imun mukosa usus daerah efektor dengan paparan LPS dari kelompok defisiensi vitamin A, kelompok kontrol, dan kelompok terapi vitamin A ..... | 258 |
| Lampiran 18 | : Pola komponen respons imun mukosa usus daerah efektor tanpa paparan LPS dari kelompok defisiensi vitamin A, kelompok kontrol, dan kelompok terapi vitamin A .....  | 261 |
| Lampiran 19 | : Komparasi komponen respons imun daerah induktif mukosa usus kelompok defisiensi vitamin A dan kelompok kontrol dengan paparan LPS .....                            | 264 |
| Lampiran 20 | : Komparasi komponen respons imun daerah induktif mukosa usus kelompok kontrol dan kelompok terapi vitamin A dengan paparan LPS .....                                | 267 |
| Lampiran 21 | : Komparasi komponen respons imun daerah induktif mukosa usus kelompok defisiensi vitamin A dan kelompok terapi vitamin A dengan paparan LPS.....                    | 270 |
| Lampiran 22 | : Komparasi komponen respons imun daerah induktif mukosa usus kelompok defisiensi vitamin A dan kelompok kontrol tanpa paparan LPS .....                             | 273 |
| Lampiran 23 | : Komparasi komponen respons imun daerah induktif mukosa usus kelompok kontrol dan kelompok terapi vitamin A tanpa paparan LPS .....                                 | 276 |
| Lampiran 24 | : Komparasi komponen respons imun daerah induktif mukosa usus kelompok defisiensi vitamin A dan kelompok terapi vitamin A tanpa paparan LPS.....                     | 279 |

|             |   |     |
|-------------|---|-----|
| Lampiran 25 | : Harga rerata dan simpang baku variabel komponen respons imun mukosa usus dari 12 variabel di daerah induktif dengan paparan LPS .....                               | 282 |
| Lampiran 26 | : Harga rerata dan simpang baku variabel komponen respons imun mukosa usus dari 12 variabel di daerah induktif tanpa paparan LPS .....                                | 287 |
| Lampiran 27 | : Pola komponen respons imun mukosa usus daerah induktif dengan paparan LPS dari kelompok defisiensi vitamin A, kelompok kontrol, dan kelompok terapi vitamin A ..... | 291 |
| Lampiran 28 | : Pola komponen respons imun mukosa usus daerah induktif tanpa paparan LPS dari kelompok defisiensi vitamin A, kelompok kontrol, dan kelompok terapi vitamin A .....  | 294 |

## DAFTAR SINGKATAN

|         |   |
|---------|---|
| ADCC    | : <i>Antibody dependence cellular cytotoxicity</i>        |
| APC     | : <i>Antigen presenting cells</i>                         |
| DC      | : <i>Dendritic cell</i>                                   |
| BALT    | : <i>Bronchus associated lymphoid tissue</i>              |
| BCDF    | : <i>B cell differentiation factor</i>                    |
| BCGF    | : <i>B cell growth factor</i>                             |
| C       | : <i>Complement</i>                                       |
| CD      | : <i>Cluster differentiation</i>                          |
| CTL     | : <i>Cytolytic T lymphocyte</i>                           |
| DNA     | : <i>Deoxyribonucleic acid</i>                            |
| DTH     | : <i>Delayed type hypersensitivity</i>                    |
| FAE     | : <i>Follicle associated epithelium</i>                   |
| GALT    | : <i>Gut associated lymphoid tissue</i>                   |
| GM-CSF  | : <i>Granulocyte macrophage colony stimulating factor</i> |
| hRAR    | : <i>high Retinoic acid receptor</i>                      |
| IEL     | : <i>Intraepithelial lymphocyte</i>                       |
| IFN     | : <i>Interferon</i>                                       |
| Ig      | : <i>Immunoglobulin</i>                                   |
| IL      | : <i>Interleukin</i>                                      |
| Kda     | : <i>Kilo Dalton</i>                                      |
| LAK     | : <i>Lymphokine activated killer</i>                      |
| LFA     | : <i>Lymphocyte function antigen</i>                      |
| LT      | : <i>Lymphotoxin</i>                                      |
| LPL     | : <i>Lamina propria lymphocyte</i>                        |
| LPS     | : <i>Lipopolysaccharide</i>                               |
| M cell  | : <i>Membranous / Microfold cell</i>                      |
| MHC     | : <i>Major histocompatibility complex</i>                 |
| mRNA    | : <i>Messenger Ribonucleic acid</i>                       |
| NK cell | : <i>Natural killer cell</i>                              |
| PAF     | : <i>Platellet activating factor</i>                      |
| PL      | : <i>Phospholipase</i>                                    |
| PP      | : <i>Peyer's patches</i>                                  |
| pIgA    | : <i>Poly Immunoglobulin A</i>                            |
| RA      | : <i>Retinoic acid</i>                                    |
| RARE    | : <i>Retinoic acid responsive element</i>                 |
| RAR     | : <i>Retinoic acid receptor</i>                           |
| RXR     | : <i>Retinoic acid X receptor</i>                         |
| SC      | : <i>Secretory component</i>                              |
| SIgA    | : <i>Secretory Immunoglobulin A</i>                       |
| sIgA    | : <i>Surface Immunoglobulin A</i>                         |
| SKRT    | : <i>Sigi kesehatan rumah tangga</i>                      |

|                  |                                     |
|------------------|-------------------------------------|
| TCR              | : <i>T cell receptor</i>            |
| TGF              | : <i>Transforming growth factor</i> |
| TNF              | : <i>Tumor necrosis factor</i>      |
| TRF              | : <i>T cell replacing factor</i>    |
| Th               | : <i>T helper cell</i>              |
| Ts               | : <i>T suppressor cell</i>          |
| SPp IgA          | : Sel plasma penghasil IgA          |
| SPp IgG          | : Sel plasma penghasil IgG          |
| SPp IgM          | : Sel plasma penghasil IgM          |
| STIL-2           | : Sel T penghasil IL-2              |
| STp IFN $\gamma$ | : Sel T penghasil IFN $\gamma$      |
| STp IL-4         | : Sel T penghasil IL-4              |
| STp IL-10        | : Sel T penghasil IL-10             |
| Sel NK           | : Sel Natural Killer                |
| RIM              | : Respons Imun Mukosa               |
| SIM              | : Status Imun Mukosa                |

## DAFTAR ISTILAH

**Patobiologi** : adalah ilmu yang mempelajari perubahan biologik yang tidak lazim didalam tubuh akibat interaksi individu dengan lingkungannya yang merusak. Dalam suatu penelitian perubahan disebabkan akibat perlakuan (Hill, 1980).

**Paradigma Patobiologi** : adalah cara atau model berpikir untuk menalar segala perubahan biologik yang tidak lazim yang terjadi sebagai akibat dari tubuh yang berinteraksi dengan lingkungan yang merusak (Hill, 1980)

**Patobiogenesis** : adalah proses kejadian dari perubahan biologik yang merugikan akibat perlakuan yang diberikan (Hill,1990).

**Immunopatobiogenesis** : adalah proses kejadian dari perubahan imunobiologik yang merugikan akibat perlakuan yang diberikan (Putra 1990).

**Respons imun mukosal** : adalah respons imun dimukosa yang dibentuk oleh sistem imun mukosa (Kraehenbuhl, 1992; Ogra, 1994; Kelsall, 1999; McIntyre, 1999)

**Pola perubahan respons imun mukosal** : adalah pola yang terdiri atas komposisi perubahan variabel respons imun yang dominan dan saling melengkapi yang mencerminkan kontribusinya pada mekanisme proses biologik perubahan respons imun di mukosa. (Putra,1990)

**Pemeriksaan morfofungsi** : adalah pemeriksaan terhadap perubahan morfologi sel yang fungsional (Putra,1990)

**Stress immunocompetent cell** : adalah sel imunokompeten yang mengalami stres (Putra,1999 )

**SIM** (status imun mukosa) : adalah interaksi antara komponen sistem imun mukosa yang tidak mengalami paparan antigen atau imunogen

**RIM** (respons imun mukosa) : adalah interaksi antara komponen sistem imun mukosa yang mengalami paparan dengan antigen atau imunogen

## B A B 1

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Sampai saat ini penyakit diare pada balita masih merupakan problem kesehatan di berbagai negara sedang berkembang termasuk Indonesia. Hal ini terlihat dari angka kesakitan yang tinggi pada balita yaitu sebesar 100 juta per tahun, dengan episode 3-6 kali per tahun. (Snyder, 1982; Greenberg, 1991; Hillis, 1992), selain itu juga tampak pada angka kematian sebesar 4-5% per tahun, dan 80% diantaranya terjadi pada anak dibawah umur 2 tahun dan tertinggi di bawah umur 1 tahun. (Snyder, 1982; Teixeira, 1993). Di Indonesia hasil sigi menunjukkan, bahwa angka kesakitan sebesar 1-2 kali per tahun pada balita, dan tertinggi pada anak di bawah umur 1 tahun, sedang angka kematian sebesar 76 % terjadi pada anak dibawah umur 1 tahun. (SKRT, 1986). Hasil sigi berikutnya mendapatkan hasil, bahwa angka kesakitan sebesar 5 %-7% dengan kematian 1 balita setiap menit (Lubis, 1991; SKRT, 1992). Fakta di lapangan menunjukkan, bahwa anak yang mengalami kesakitan dan kematian oleh karena diare ternyata banyak yang menderita defisiensi vitamin A, baik secara klinis maupun subklinis, kondisi subklinis jumlahnya jauh lebih besar, 30 %-70 % di bawah standard WHO (Rahmatulah 1990, Tanumihardjo, 1992). Penelitian di lapangan menunjukkan bahwa pemberian vitamin A dapat menurunkan angka kesakitan dan kematian oleh karena diare (Sommer, 1983; Sommer, 1986; Sommer, 1987; Feachem, 1987; Rahmatulah, 1990; Ghana vast study, 1993; Lie, 1993 ), namun sejauh ini



imunopatobiogenesis yang mengungkap pengaruh vitamin A terhadap perubahan status dan respons imun di mukosa belum diketahui.

Untuk menurunkan angka kesakitan dan kematian diare telah banyak dilakukan dengan menggunakan berbagai macam konsep, antara lain konsep perbaikan cairan dan elektrolit, konsep malabsorpsi, konsep terapi antibiotika, konsep higiene sanitasi lingkungan dan perorangan, serta konsep perbaikan gizi. Walaupun telah menghabiskan biaya yang sangat besar, tetapi belum memberikan hasil yang memuaskan. Masalah yang dapat diungkap dari kegagalan penanganan diare adalah cara penanganan diare masih didasarkan pada konsep yang belum menyentuh akar permasalahan diare pada balita. Berdasar kenyataan tersebut dapat disimpulkan bahwa diare pada balita terutama di bawah umur 1 tahun masih merupakan masalah kesehatan yang perlu diselesaikan.

Upaya pencegahan penyakit dengan program imunisasi pada berbagai penyakit seperti difteri, tetanus, pertusis, campak, poliomyelitis, tuberculosis dan cacar pada masyarakat yang tidak banyak mengalami perubahan sosioekonomi, kultural dan perilaku sehat, tampaknya memberikan hasil yang menggembirakan. Hal ini terbukti dengan penurunan angka kesakitan dan kematian yang nyata, dengan biaya yang jauh lebih murah. Bila dicermati keberhasilan tersebut jelas ada kaitannya dengan sistem imun tubuh. Untuk keberhasilan pencegahan penyakit yang maksimal melalui imunisasi diperlukan adanya status imun tubuh yang adekuat, gangguan pada sistem imun tersebut akan menurunkan angka keberhasilan imunisasi. Berdasar fakta tersebut peneliti mempunyai asumsi yang kuat adanya

faktor lain yang penting yang mendasari kesulitan mengatasi masalah diare pada anak balita, yang sangat mungkin adalah perubahan sistem imun mukosa.

Dengan mengingat pada konsep ketahanan tubuh secara umum, bahwa diare merupakan perwujudan dari adanya interaksi dan transaksi antara ketahanan mukosal dengan penyebab diare, maka kondisi ketahanan mukosal terutama yang terkait dengan defisiensi vitamin A perlu dicermati lebih mendalam. Hal ini dimaksudkan agar penyakit diare dapat dicegah dengan memperbaiki sistem imun mukosa usus pada defisiensi vitamin A. Pengamatan terhadap kegagalan penanganan diare menumbuhkan pemikiran pengembangan suatu metode pencegahan diare yang lebih mendasar dengan membangun suatu model ketahanan tubuh yang berdasar pada sistem imun mukosa. Model tersebut diharapkan juga dapat dipakai sebagai dasar untuk pengembangan imunisasi peroral untuk upaya pencegahan penyakit yang *port of entry* nya melalui sistem mukosa. Hal ini mengingat bahwa keberhasilan imunisasi sangat diperlukan adanya dukungan status imun mukosa yang baik.

Mengingat anak Indonesia masih banyak yang mengalami defisiensi vitamin A, yang terutama belum tampak secara klinis (subklinis), maka model imunopatobiogenesis respons imun mukosa usus pada defisiensi vitamin A sangat penting diteliti. Dengan mengetahui model imunopatobiogenesis respons imun dan status imun mukosa usus dalam keadaan defisiensi vitamin A, dimungkinkan untuk pengembangan program penanggulangan dan pencegahan diare dengan imunisasi per oral yang lebih sesuai pada anak Indonesia.

Untuk menyelesaikan masalah tersebut peneliti akan melakukan penelitian dengan menggunakan hewan coba sebagai model gangguan status imun dan respons imun mukosa dalam keadaan defisiensi vitamin A. Paradigma yang dipakai dalam penelitian ini adalah paradigma Patobiologi yang berkonsep *stress immunocompetent cells* dan untuk mengemperikan berbagai variabel komponen respons imun digunakan konsep morfofungsi (Putra, 1990).

## **1.2 Rumusan Masalah**

1. Apakah ada penurunan status imun mukosa usus pada defisiensi vitamin A dan perbaikan setelah pemberian vitamin A ?
2. Apakah ada penurunan respons imun mukosa usus pada defisiensi vitamin A dan perbaikan setelah pemberian vitamin A ?
3. Apakah ada perbedaan model imunopatobiogenesis status imun mukosa usus pada defisiensi vitamin A dan pada pemberian vitamin A ?
4. Apakah ada perbedaan model imunopatobiogenesis respons imun mukosa usus pada defisiensi vitamin A dan pada pemberian vitamin A ?

## **1.3 Tujuan**

### **1.3.1 Tujuan Umum**

Untuk mengungkap model imunopatobiogenesis status imun dan respons imun mukosa usus pada defisiensi vitamin A dan pemberian vitamin A.

### **1.3.2 Tujuan Khusus**

1. Membuktikan penurunan status imun mukosa usus pada defisiensi vitamin A dan perbaikan setelah pemberian vitamin A.
2. Membuktikan penurunan respons imun mukosa usus pada defisiensi

vitamin A dan perbaikan setelah pemberian vitamin A.

3. Membuktikan perbedaan antara model imunopatobiogenesis status imun mukosa usus pada defisiensi vitamin A dan setelah pemberian vitamin A.
4. Membuktikan perbedaan antara model imunopatobiogenesis respons imun mukosa usus pada defisiensi vitamin A dan setelah pemberian vitamin A.

#### **1.4 Manfaat Penelitian**

##### **1.4.1 Untuk pengembangan ilmu pengetahuan dan teknologi Kedokteran**

1. Paradigma patobiologis yang berkonsep *stress immunocompetent cell* dapat dipakai untuk membuktikan dan mengungkapkan gangguan aktifitas biologis sistem imun mukosa usus yang mengalami defisiensi vitamin A dan terapi vitamin A.
2. Model imunopatobiogenesis yang terungkap pada penelitian ini dapat dipakai sebagai dasar untuk pengembangan konsep penanggulangan dan pencegahan penyakit diare pada balita.
3. Model imunopatobiogenesis tersebut dapat dikembangkan imunisasi peroral untuk pencegahan penyakit diare yang sesuai..

##### **1.4.2 Untuk penerapan ilmu pengetahuan dan teknologi Kedokteran**

1. Dengan imunisasi per oral program pemberantasan penyakit diare di Indonesia diharapkan dapat lebih berhasil.

2. Dengan mengetahui kaitan defisiensi vitamin A dengan respons imun mukosa usus dapat direncanakan kemungkinan program imunisasi per oral dengan mempertimbangkan peranan vitamin A..
3. Mendukung program pemerintah mengenai manfaat pemberian vitamin A pada masyarakat dari segi penjelasan ilmiah peranan vitamin A dalam pencegahan penyakit gastrointestinal.

## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. Faktor-faktor yang Mempengaruhi Status Vitamin A

##### 2.1.1. Penyakit

Penyakit mempengaruhi status vitamin A dalam tubuh, adalah dengan cara mengganggu absorpsi, penyimpanan, pemakaian oleh jaringan dan konservasi atau pemakaian kembali.

Absorpsi baik vitamin A maupun carotenoid tergantung pada pembentukan misel yang mengandung garam empedu (*bile salt*), pada pemecahan ester oleh lipase / esterase dan transfer misel ke dalam mukosa. (Olson, 1991)

Penyakit yang dapat mengganggu absorpsi vitamin A : malabsorpsi lemak, pankreatitis kronis, insufisiensi pankreas, cirrhosis bilier, cholestasis, diare kronis dan malnutrisi energi protein (Olson, 1991)

Penyimpanan dan transport vitamin A juga tergantung pada integritas hepar, penyakit hati, hepatitis, cirrhosis, kanker Ginjal bertanggung jawab terhadap reabsorpsi *Holo RBP* dan metabolisme *ApoRBP* oleh tubulus. Gangguan fungsi tubulus dan glomerulus akan mempengaruhi pengaturan metabolisme vitamin A.

Kepekaan terhadap infeksi meningkat pada defisiensi vitamin A. Berbagai macam infeksi juga mempengaruhi transport dan pemakaian vitamin A misalnya Hepatitis, campak, infeksi saluran pernafasan akut dan diare menurunkan kadar vitamin A dan RBP plasma (Olson, 1991)

Infestasi parasit juga mempengaruhi kadar plasma vitamin A. Akibat infestasi cacing, kadar vitamin A dapat menurun tinggal 1/3-1/4 dari normal. Anak-anak dan orang dewasa dengan infestasi cacing (*Ascariasis*) atau Giardiasis akan mengalami gangguan absorpsi vitamin A.

Parasit dalam intestinal akan mengganggu absorpsi vitamin A dan carotenoid, sedangkan parasite didalam hepar (fluke dan schistosoma) akan mengganggu penyimpanan vitamin A. (Olson, 1991)

### 2.1.2. Umur

Anak-anak terutama 6 bln. - 6 thn lebih sensitif terhadap defisiensi vitamin A dari pada orang dewasa (Olson, 1991) hal ini disebabkan oleh karena

- a. Anak-anak pada saat lahir mempunyai cadangan vitamin A sedikit.
- b. Pertumbuhan dan diferensiasi sel yang cepat selama 2 tahun pertama.
- c. Pada anak-anak yang muda, metabolisme nutrient lebih cepat.

Kadar retinol dan carotenoid dalam plasma pada manusia meningkat dengan meningkatnya umur.

Pada tikus absorpsi vitamin A lebih efisien pada umur yang lebih tua, mungkin oleh karena tipisnya *unstirred water layer*. Kecepatan penyimpanan vitamin A yang diberikan secara injeksi pada manusia terbalik dengan umurnya. Meskipun proses fisiologis dipengaruhi oleh umur, namun perubahan terhadap vitamin A tak terjadi tanpa adanya penyakit atau kesalahan pemberian makanan.

## 2.2. Struktur dan Cara Kerja Vitamin A

Vitamin A adalah semua senyawa yang mempunyai aktivitas vitamin A, termasuk di sini adalah vitamin A alkohol (retinol), vitamin A aldehyde (retinal) dan vitamin A asam (retinoic acid / RA).

Vitamin A alami dan analog sintetikanya disebut retinoid.

Retinoid mempunyai fungsi aktivitas biologik yang sangat luas : (Tsukida, 1993)

1. Untuk fungsi penglihatan, retinal dan photosentifitas ; mekanisme molekuler dan scotopic dan photopic vision.
2. Aktivitas sistemik dari vitamin A dan aktivitas metabolit *intermediar* nya meliputi bermacam-macam fungsi fisiologis.
3. Fungsi reproduksi dan morfogenesis yang meliputi transport protein ekstra, seluler, transfer protein sitoplasma intraseluler, fungsi sebagai *nuclear transacting factors* intraseluler, RAR dan RXR, morfogenesis.
4. Pencegahan kanker.
5. Fungsi biologi dari cis-retinoid.

Goss 1992 menyatakan fungsi retinoid yang meliputi retinol dan retinoic acid adalah untuk penglihatan, embriogenesis, modulasi sistem immune, untuk diferensiasi jaringan normal, jaringan premalignan dan malignan dan untuk supresi karsinogenesis.

Retinal dan RA berbeda hanya pada atom C15. Vitamin A1 dan vitamin A2 berbeda dalam cincin siklohexemilnya. Aktivitas biologik vitamin A tergantung pada integritas dan jumlah, serta posisi ikatan rangkap terkonjugasi dan rantai karbonnya.

Aktivitas biologik vitamin A2 hanya sekitar 1/2 aktivitas vitamin A1.



Isomer cis kurang aktif dibanding dengan isomer all trans. Isomer RA adalah 7 cis, 9 cis, 11 cis, 13 cis dan all trans (Allenby, 1993).

Aktifitas biologik vitamin A dilaksanakan melalui reseptor-reseptor didalam sel.

Bentuk reseptor retinoid molekuler adalah : *retinoic acid receptor* (RAR) yang dibagi menjadi beberapa jenis RAR  $\alpha$  , RAR  $\beta$  , RAR  $\gamma$  yang masing-masing masih dibagi lagi menjadi jenis 1 dan 2 ; misalnya RAR  $\alpha$ 1 , RAR  $\alpha$ 2 dan seterusnya dan kedua adalah retinoid X receptor (RXR) yang terdiri dari beberapa tipe, RXR  $\alpha$  , RXR  $\beta$  , RXR  $\gamma$  yang masih dibagi lagi menjadi jenis 1 dan 2.

Reseptor-reseptor ini tersebar pada sel-sel seluruh tubuh (Kanei, 1993 ; Fusakawa, 1993). All trans retinol adalah merupakan ligand untuk reseptor retinoic acid (RAR) dengan aktivitas yang tinggi. 9 cis retinoic acid berkaitan dengan retinoic X receptor (RXR). RAR sedangkan RXR adalah sub family dari steroid / thyroid, *nuclear receptor super family* sehingga dalam aktivitasnya dapat saling mempengaruhi (Lin, 1993 ; Folker, 1993 ; Huggenvik, 1993).

### **2.3. Aktivitas Biologik Vitamin A melalui Regulasi Ekspresi Gene**

Aktivitas biologik vitamin A dilaksanakan oleh 2 tipe reseptor tersebut diatas yaitu RAR dan RXR.

Reseptor-reseptor ini berfungsi sebagai faktor transkripsi (*transcription factor*) dengan cara mengikatkan / mengaktivasi pada retinoid acid responsive element (RARE) pada gene / DNA untuk memodulasi ekspresi gen (Miquel, 1992 ; Goss, 1992 ; Husman, 1992 ; Shen, 1993).

Dengan mapping genetik (*genetic mapping*) telah diketahui bahwa loki *Rxra*, *Rxrb*, *Rxrg*, mengcoding  $RXR \alpha$ ,  $RXR \beta$ ,  $RXR \gamma$ . Tidak ada loki *Rxr* yang kosegregasi satu dengan yang lain atau dengan loki retinoic acid receptor (*Rar*). *Rxra* terletak pada chromosome 2 dekat dengan centromere, *Rxrb* terletak di regio H-2 dari chromosome 17, dan *Rxrg* terikat pada *Pbx* gene bagian distal chromosome 1. Jadi *Rxr* tersebar dalam genome. (Hoopes, 1992)

Dalam keadaan defisiensi vit A, ekspresi RAR dan transglutaminase berubah diberbagai jaringan. Ekspresi RAR beta mRNA 80% lebih rendah dikandung kemih, otak, liver, paru-paru, trachea, sedangkan RAR  $\gamma$  mRNA 50% lebih rendah di kandung kemih, paru-paru dan trachea, dibandingkan dengan krontrol.

Ekspresi RAR  $\alpha$  mRNA 90% lebih rendah di otak dan 30% lebih tinggi di liver, ginjal, paru-paru dan usus.

#### **2.4. Hubungan Status Vitamin A dan Kekebalan**

Vitamin A / retinoid dan derivatnya adalah esential untuk proses biologi, misalnya untuk pertumbuhan, diferensiasi sel, interaksi antara sel dengan sel, sel dengan substrat. Vitamin A mempunyai kemampuan untuk meningkatkan pemantauan kekebalan (*immune surveillance*). Sejak ditemukan adanya reseptor untuk retinoic acid akhirnya dapat diketahui peranan retinoic acid dalam regulasi ekspresi gene.

Dari bukti klinik dan percobaan binatang dapat ditunjukkan bahwa defisiensi vitamin A dapat mempengaruhi kekebalan melalui beberapa mekanisme (Ross, 1992) :

1. Perubahan dalam limfopoisis dan maturasi limfosit.

2. Produksi sitokin abnormal.
3. Perubahan pada struktur sel membrane yang mempengaruhi reseptor untuk antigen, *accessory molecule / cytokine*.
4. Meningkatkan penetrasi bakteri, virus parasit melalui barier epitel.
5. Gangguan pembersihan (*clearance*) patogen oleh mekanisme sitotoksik dan fagositosis.

Secara morfologi defisiensi vitamin A akan menyebabkan perubahan pada organ limfoid, dimana thymus menjadi atropi dan terjadi pelepasan limfosit dari kortek, demikian juga lien menjadi atrofi dan juga splenosit berkurang jumlahnya.

Khrisnan, Gershwin, dan Nauss melaporkan bahwa jaringan limfonodi juga mengalami atropi, jumlah limfosit perifer berkurang (Maria, 1990; Yamamoto, 1991). Sebagai konsekuensinya fungsi kekebalan akan terganggu akibat defisiensi vitamin A. Pemberian vitamin A tidak hanya meningkatkan status imunitas pada keadaan defisiensi vitamin A tetapi juga dalam keadaan status vitamin yang cukup.

## **2.5. Mekanisme Kerja Retinoid pada Sistem Kekebalan**

Vitamin A mempunyai bermacam macam efek pada sistem kekebalan. Vitamin A tidak hanya meregulasi sintesis enzim dan ekspresi gene tetapi juga mengatur fungsi membran melalui pengaruhnya terhadap glikoprotein.

Peranan vitamin A pada sistem kekebalan sangat kompleks, beberapa diantaranya (Yamamoto 1991)

1. Retinoid merangsang aktivitas transglutaminase di makrofag. Ekspresi transglutaminase ini akan menyebabkan aktivasi hambatan sitostatik, regulasi

aktivasi ornithin decarboxylase yang dirangsang oleh *tumor promotion factor* dan dihambat oleh retinoid.

2. Retinoid meningkatkan aktivasi fagositosis dan potensiasi dengan IL-1 yang berguna untuk ekspresi *surface molecule* sel T.
3. Retinoid meningkatkan ekspresi reseptor IL-2.
4. Retinoid meningkatkan kadar  $\mu$  dan *k chain mRNA* di hibridoma sel B..

Jadi retinoid dapat memodulasi ekspresi gen.

Disamping itu retinoid juga mempengaruhi sistem kaskade protein kinase C yang berguna untuk sistem transduksi signal untuk respons sel (Ross, 1992; Ross, 1994)

Mengenai ekspresi gen, lebih jauh (Pohl, 1993) melaporkan hasil penelitiannya bahwa cara kerja retinoic acid melalui *nuclear retinoic acid receptor* (RARs) dimana bekerjanya seperti faktor yang meningkatkan induksi transkripsional pada ligand (*ligand inducible transcriptional enhancer factor*) dan RAR tersebut termasuk dalam steroid / *thyroid receptor superfamily*.

Pada manusia dan tikus terdapat tiga bentuk RAR (  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  ). Ekspresi RAR terbanyak di jaringan cerebellum, adrenal, testis, thyroid, thymus. Ekspresi RAR  $\beta$  terutama ditemukan di ginjal. Prostat, cortex cerebri, sedangkan RAR  $\gamma$  di ekspresikan terbanyak di kulit.

Analisis *steroid receptor gene* menunjukkan kesamaan struktur dan fungsi, yaitu *cystein rich DNA binding domain*.

*DNA binding domain* dari ke tiga RAR hampir identik, bahwa ketiganya mampu mengikat retinoic acid responsive element (RARE) yang identik baik in vitro

maupun *in vivo*. Dalam rangka pengikatan terhadap elemen responnya (RARE), RAR membentuk hetero dimer dengan reseptor X retinoid (RXR) yang merupakan *subfamily* dari reseptor retinoid.

Penelitian untuk melihat pengaruh dari RA terhadap sistem imune yang dijumpai oleh RAR dengan menggunakan transgenic mouse, sistem dan analisa dengan PCR dapat disimpulkan bahwa ekspresi berlebihan RAR (hRAR= high RAR) di sel T dapat memodulasi sistem imun seluler.

Tikus yang mengekspresikan h RAR  $\gamma$  transgene menunjukkan peningkatan (CD4) CD8 + sel sitotoksik di thymus dan limfonodus (Pohl 1993).

## **2.6. Sistem Imun Mukosa**

### **2.6.1 Anatomi**

Sistem imun mukosa di susun oleh jaringan limfoid yang terdapat di mukosa gastrointestinal, saluran pernafasan dan urogenital. Susunan tersebut dipengaruhi oleh kompleks antigen yang ada dalam permukaan mukosa.

Secara kuantitatif jaringan limfoid tubuh, sebagian besar terdapat di jaringan mukosa usus. Hal ini menunjukkan bahwa pentingnya respon imun lokal untuk mengatasi adanya rangsangan yang terus menerus dari agen patogen atau antigen yang normal memang terdapat pada permukaan mukosa.

Gambaran yang penting dari sistem imun mukosa dan berbeda dengan sistem imun sistemik adalah (Sigal 1994) :

- a. Sistem imun mukosa terdiri dari struktur yang khusus berupa jaringan limfoid terorganisir seperti Peyer's patches, tempat induksi respon imun mukosa dimulai.

- b. Adanya sel T yang mempunyai sifat meregulasi yang spesifik dan mempunyai kemampuan efektor (Mc Ghee, 1993; James, 1994).
- c. Sistem trafik sel dalam mukosa dimana pada mulanya sel di induksi di folikel mukosa kemudian mengalami resirkulasi dan migrasi ke jaringan limfoid yang tersebar di mukosa dibawah epitel, yang disebut *mucosal homing*.  
(James, 1994; Kraehenbuhl, 1992; Mc.Ghee, 1993; Sigal, 1994)
- d. Imunoglobulin yang paling berperan adalah *secretory IgA* (Knight, 1994; McIntyre, 1999)

### 2.6.2. Fungsi

Komponen komponen dalam sistem imun mukosa berfungsi bersama-sama untuk membangkitkan respon imun, dimana disatu pihak memberikan proteksi terhadap agen patogen yang berbahaya, tetapi dilain pihak toleran terhadap antigen dalam diet dan flora komensal pada permukaan mukosa.

Fungsi utama dari sistem imun mukosa adalah untuk pertahanan tubuh pada permukaan mukosa. Untuk fungsi ini bekerja sama dengan beberapa faktor-faktor protektif non imunologik seperti (Jacobowitz, 1988) :

- a. Adanya flora bakteri dalam lumen usus yang menghambat pertumbuhan bakteri patogen yang lain.
- b. Adanya peristaltik yang memelihara aliran isi usus, yang akan mengurangi interaksi antara patogen-patogen yang potensial dengan sel epitel.
- c. Adanya asam lambung dan garam empedu (*bile salt*) yang membuat lingkungan mikro (*microenvironment*) dalam usus tidak menguntungkan untuk pertumbuhan bakteri patogen.

- d. Adanya mukus yang membentuk barrier antara patogen dengan epitel.
- e. Adanya bahan-bahan lactoferin, lactoperoxidase dan lysozyme yang menghambat pertumbuhan mikroorganism

Untuk fungsi yang optimal dari pertahanan mukosa tergantung pada respon imun mukosa yang baik dan fungsi proteksi non imunologi yang adekuat.

Jadi fungsi yang penting dari sistem imun mukosa adalah untuk mencegah masuknya antigen melalui mukosa (*immune exclusion*).

### 2.6.3 Repertoire sel T

Yang dimaksud dengan repertoire sel T adalah jumlah total sel T yang spesifik untuk antigen yang berbeda beda dalam individu. Setiap repertoire dewasa dari sel T helper dan sel T sitolitik mempunyai dua sifat dasar yaitu; pertama *self MHC restricted*, yang dimaksud adalah sel T dapat mengenali dan memberikan respons terhadap fragmen peptida antigen asing hanya yang terkait dengan molekul *self major histocompatibility complex (MHC)*, kedua adalah repertoire sel T dewasa *self tolerant* yang dimaksud adalah sel T tidak memberi respons terhadap self antigen yang terkait dengan molekul MHC (Abbas, 1994; Austyn, 1994). Gangguan pada self tolerant akan memicu terjadinya autoimun.

Thymus adalah tempat maturasi sel T helper dan sel T sitolitik, gangguan pada proses maturasi dalam thymus akan menyebabkan defisiensi sel T dalam sirkulasi dan jaringan limfoid sehingga terjadi imunodefisiensi. Sisa involusi thymus masih cukup untuk tempat maturasi sel T.

Populasi prekursor sel T yang berasal dari susum tulang merupakan asal usul sel T yang belum mengekspresikan TCR dan molekul tambahan (*assecory molecule*) sehingga belum mempunyai kemampuan mengenali antigen dan fungsi efektor, migrasi kedalam thymus dimana sebagian sel akan terpicu tumbuh sedangkan yang lain mati. Didalam kortek thymus sebagian sel proliferasi dan yang lain mati, sel yang mengekspresikan MHC dan self tolerant yang tetap hidup. Sel yang bertahan hidup migrasi ke medula dan akhirnya dilepaskan ke perifer.



Selama proses maturasi dalam thymus terjadi diferensiasi sel T yang mampu mengekspresikan kompleks TCR melalui proses rearrangement genetik, disamping itu terjadi juga ekspresi CD4 dan CD8 yang memegang peranan penting pengenalan antigen dan aktivasi sel T. Maturasi fungsi kemampuan sel T helper dan sel T sitolitik terjadi bersamaan dan tergantung pada ekspresi molekul permukaan (*surface molecule*).

Proses seleksi pada repertoire sel T antigen asing spesifik, *self MHC-restricted T cells*, terjadi di thymus terhadap spesifitas yang luas yang telah dikode di *germline*. Semua individu sel T dalam genome nya mengandung susunan yang sama gene TCR, gene TCR ini mengkode banyak macam reseptor yang mampu mengenali peptide yang ber beda beda yang terkait dengan molekul MHC. Oleh karena prekursor sel T berasal dari susum tulang maka mampu untuk mengenali semua jenis protein self dan asing yang terkait dengan MHC. Setelah ber macam macam reseptor diekspresikan pada permukaan sel T yang sedang tumbuh dari klon yang berbeda-beda, akan terjadi proses seleksi. Seleksi positif adalah repertoire sel T menjadi self MHC restriction. Seleksi negatif adalah proses eliminasi atau inaktivasi klon yang autoreaktif sehingga sel yang dewasa adalah *self tolerant*. Penjelasan seleksi positif atau negatif dapat merujuk pada *affinity hypothesis* dan *altered ligand hypothesis* (Janeway,1994) Dapat disimpulkan bahwa seleksi pertumbuhan dan kematian ber macam macam sel menghasilkan *self MHC restricted, self antigen tolerant* dari repertoire sel T yang sudah dewasa (Abbas, 1994; Austyn, 1994).

#### 2.6.4 Organisasi jaringan limfoid mukosa

Sistem imun mukosa secara struktural merupakan bagian integral yang penting dari sistem imun, oleh karena luas permukaan mukosa pada tubuh manusia yang melapisi gastrointestinal, traktus respiratorius dan traktus urogenital mencapai luas 400 m<sup>2</sup> yang dilapisi oleh sel-sel epitel.

Pentingnya arti pertahanan mukosa ini terlihat dari banyaknya sel yang memproduksi antibodi yang jumlahnya melebihi yang ada di lien, limfonodi, sumsum tulang (*bone marrow*) secara keseluruhan.

Dari mukosa usus sendiri dapat diproduksi 5-15 gram imunoglobulin per hari lebih banyak dibandingkan dengan yang diproduksi di sirkulasi (Neutra 1992).

Sistem imun mukosa secara morfologi dan fungsional dapat dibagi menjadi 2 bagian utama (Kiyono, 1994; Croitoru, 1993; Kraehenbuhl, 1992).

- 1 Kumpulan jaringan limfoid mukosa (*organized lymphoid tissue*) GALT dan BALT.
- 2 Jaringan limfoid yang tersebar di mukosa (*diffuse lymphoid tissue*) terutama di lamina propria.

Kumpulan jaringan limfoid merupakan daerah limfoid aferen / induktif dimana antigen masuk ke dalam sistem dan menginduksi respon imun.

Jaringan limfoid tersebar adalah daerah limfoid eferen / efektor dimana antigen berinteraksi dengan sel-sel yang telah berdiferensiasi dan merangsang sekresi antibodi oleh sel B atau menginduksi reaksi sitotoksik oleh sel T. Lokasi daerah induktif dan efektor yang berdekatan merupakan satu kesatuan tetapi mempunyai

batas fungsional yang tegas. Kedua bagian dari sistem imun mukosa tersebut berhubungan dengan mekanisme *homing* mukosa, sehingga sel-sel yang telah mengalami sensitisasi dari folikel limfoid bergerak menuju daerah limfoid tersebar, setelah keluar melalui limfoid mesenterik ke dalam sirkulasi dan kembali ke mukosa (*diffuse lymphoid area*) dimana mereka dapat mengadakan interaksi secara baik dengan antigen. Perkembangan jaringan limfoid yang terorganisir (*organized lymphoid area*) dan daerah limfoid tersebar (*diffuse lymphoid area*) adalah sangat tergantung pada stimulasi antigen. Jumlahnya sangat sedikit dalam keadaan bebas kuman dan akan segera meningkat bila ada stimulasi antigen.

**a. Kumpulan jaringan Lymphoid Mukosa**

**(*Organized Mucosal Lymphoid Tissue/Mucosal Lymphoid Aggregate*)**

**Peyer's patches :**

Struktur Peyer's patches adalah terdiri dari regio kubah yang mengandung limfosit, makrofag, dendritik dan sejumlah kecil sel plasma dan regio Follicle (*B cells zone*) dengan 1 - 2 senter germinal (*germinal centre*) dan area parafolikuler (*T cells Zone*). Epitel yang menutupi kubah pada Peyer's patches adalah FAE : *follicle associated epithelium* adalah unik yaitu bukan epitel kolumnar tapi epitel kuboid dan hanya beberapa sel goblet. Oleh karena struktur tersebut, maka hanya sedikit mengandung mukus, yang sebenarnya berfungsi untuk menghalangi masuknya antigen. Struktur yang unik tersebut adalah sel-sel yang khusus untuk memasukkan antigen disebut sebagai *Microfold / membranous (M) cells*.

Folikel pada Peyer's patches mengandung senter germinal yang kaya akan sel B dengan IgA permukaan (*s-IgA+*). Sel B tidak mengalami diferensiasi menjadi sel plasma ditempat ini, sehingga Ig (antibodi) tidak diproduksi di PP. Jadi Peyer's patches adalah tempat induksi untuk IgA dan bukan tempat efektor untuk sintesis IgA (Mc Ghee, 1990; Croitoru, 1993; James, 1994).

GALT mengandung CD3 + T cells yang masak, dan hanya 60% adalah CD4+T Helper (TH) cells, juga terdapat CD8 + T cells yang masak dan cytotoxic (CTL) serta supressor (TS) cells. Sebagai tambahan adalah CD3 + CD4 - T cells yang mempunyai fungsi *contra supression* (Mc Ghee, 1990)

Kumpulan jaringan limfoid mukosa secara morfologi berbeda dengan sistem limfoid sistemik, dimana menerima antigen melalui epitel dan bukan melalui sirkulasi limfatik atau sirkulasi darah. Hal yang lebih khusus adalah antigen masuk melalui epitel yang khusus yang disebut *M cells (Membranous / microfold cells)* di dalam deretan epitel yang melapisi agregat limfoid

#### 1. Sel M

Adalah epitel yang rata, yang khas ditandai adanya *brush border* yang tidak berkembang, lapisan tipis glycocalix dan sitoplasma yang kaya vesikel pinositotik tetapi tidak mengandung enzyme proteolitik seperti halnya ditemukan pada epitel absorpsi.

Transport antigen oleh sel M melalui proses :

1. Pengikatan kepermukaan sel M melalui binding site
2. Pengambilan/pemasukan kedalam vesikel pinositotik

3. Transport vesikel di dalam sel
4. Pelepasan material dalam bentuk yang tak terdegradasi kedalam daerah di bawah epitel.

Transport ini berlaku untuk virus, bakteri, protozoa dan protein, jadi tidak selektif (Kato, 1994; Kraehenbuhl, 1992; Neutra, 1992).

## 2. Area Kubah

Daerah tepat dibawah epitel dari agregat limfoid disebut area kubah yang kaya akan sel-sel yang memiliki *major histocompatibility complex* (MHC) antigen antara lain, makrofag, sel dendritik dan sel B, sehingga mampu mempresentasikan antigen kepada sel T melalui TCR (Kraehenbuhl, 1992; Kelsall, 199; Stumbles, 1999). Sel M sendiri tidak mengekspresikan molekul MHC class II, oleh karena itu tidak terlibat dalam presentasi antigen.

## 3. Folikel

Di bawah area kubah adalah zona folikular terdiri dari senter germinal yang banyak mengandung sel B, meskipun beberapa sel T juga ditemukan sel B di daerah ini sampai 40% menampilkan IgA dalam permukaan sel (*surface IgA*). Jadi agregat limfoid dalam sistem imun mukosa merupakan tempat pengembangan sel B IgA, tetapi bukan tempat diferensiasi akhir untuk menjadi sel plasma IgA sebab sel B telah meninggalkan daerah tersebut sebelum menjadi sel plasma.

Daerah parafolikular (*Interfollicular*) diantara dan disekitar folikel banyak mengandung sel T terutama dari fenotip sel T CD8 + (Kelsall, 1999).

**b. *Diffuse Mucosal Lymphoid Tissue (Jaringan Limfoid Mukosa Tersebar)***

Jaringan limfoid mukosa tersebar (*Diffuse mucosal lymphoid tissue*) dari sistem imun mukosa terdiri dari populasi sel yang terdapat dalam 2 kompartemen yaitu Kompartemen limfosit intra epitelial (IEL) dan Kompartemen limfosit lamina propria (LPL).

**1. Limfosit Intra epitelial (IEL)**

IEL adalah populasi limfosit yang terletak di atas membran basalis di antara sel epitel. Meskipun populasi dari sel-sel ini lebih kecil dari populasi sel di lamina propria, dalam keadaan normal terdapat 6-40 IEL/100 sel epitel, jumlah tersebut meningkat dalam keadaan inflamasi..

IEL dari manusia, tikus (*Rat*), mencit (*Mice*) adalah limfosit T dimana 85% adalah CD8+ dan 15% CD4+. IEL intestinal dari tikus paling sedikit terdiri dari 2 populasi CD8+ yang pertama adalah  $\alpha / \beta$  CD8+ chains dan  $\alpha \beta$  TCR, sedangkan yang lain adalah  $\alpha / \alpha$  CD8+ chains dan  $\alpha / \beta$  atau  $\gamma \delta$  TCR yang tak memerlukan stimulasi oleh antigen dan cara mengenali antigen berbeda dengan  $\alpha / \beta$  CD8+ IEL (Kraehenbuhl, 1992; Lefrancois, 1994). IEL intestinal mempunyai fungsi aktivitas sitotoksik produksi sitokin, berfungsi sebagai T helper, jadi mempunyai fungsi immunoregulator (Fuji Hashi 1993).

Penelitian pada mencit melaporkan bahwa IEL mempunyai fungsi khusus efektor imun yaitu aktivitas sel NK, sitotoksitas sel spesifik (*specific cells cytotoxicity*), sekresi IFN  $\gamma$  yang dapat meningkatkan ekspresi  $\gamma / \delta$  TCR (Kelsall, 1999).

## 2. Limfosit Lamina Propria (LPL)

Populasi limfosit dalam LPL dalam bentuk sel B dan sel T dalam jumlah yang seimbang. Populasi sel B terutama dalam bentuk yang sudah berdiferensiasi menjadi sel plasma.

Pada mencit (*mice*) 40% limfosit lamina propria menghasilkan imunoglobulin terutama IgA isotype dan 25% mengekspresikan petanda sel T (*T cells marker*) yang terutama adalah sel Th2 CD4 (MCDonald, 1994)

Pada manusia sel T CD4 + mengekspresikan petanda sel memori (*memory cells marker*), yang tidak berproliferasi sebagai respon terhadap stimulasi antigen tetapi mensekresi limfokin yang melaksanakan fungsi bantuan.

Lamina propria adalah tempat utama untuk produksi IgA dimana sel B IgA (IgA B cells) yang datang dari organized lymphoid tissue (Peyer's patches) mengalami didiferensiasi menjadi sel plasma dibawah pengaruh IL-6 dari sel Th2.

Sel Th1 di lamina propria mensekresi IL-2 dan IFN  $\gamma$  yang berfungsi merangsang sel Th2 untuk berproliferasi. Kemudian sel Th2 memproduksi IL-5 dan IL-6 dan mungkin dengan bantuan sitokin yang lain merangsang diferensiasi sel B IgA (*IgA B cells*) menjadi sel plasma yang memproduksi IgA (*IgA producing plasma cells*). (Kraehenbuhl, 1992; Mc.Ghee, 1993; McIntyre, 1999).

Lamina propria juga banyak mengandung sel makrofag, sel dendritik, neutrofil, eosinofil dan sel mast. Sel T CD4 + di lamina propria mengadakan interaksi dengan

sel-sel tersebut dalam rangka meningkatkan kompetensinya untuk fagositosis dan destruksi mikroorganisme yang masuk.

### 3. Makrofag

Makrofag ditemukan tersebar diseluruh sistem imun mukosa, tetapi terkonsentrasi di bagian yang lebih superfisial dari mukosa tepat dibawah epitel.

Makrofag termasuk komponen yang penting dalam sistem imun mukosa, dimana sel tersebut memproses antigen dan menampilkannya melalui kompleks MHC class II.

Sel-sel tersebut mungkin berasal dari agregat limfoid mukosa (*mucosal lymphoid aggregate*). Dalam proporsi yang lebih banyak makrofag di lamina propria mengekspresikan MHC Class II dan petanda permukaan (surface marker) yang terkait dengan aktivitas sel fagositik. Sehingga sel-sel ini dalam keadaan teraktifasi (*high activated state*) daripada di jaringan limfoid yang lain. Makrofag ini juga memproduksi IL-1 dan IL-6 yang penting untuk diferensiasi sel B (McDonald, 1994; Stumbles, 1999).

### 4. Sel Dendritik

*Accesory cells* dalam sistem imun termasuk didalamnya adalah subset sel khusus yaitu sel APC yang disebut juga *immunostimulatory cells*, sel tersebut diperlukan untuk mempresentasikan antigen dan membawa signal ke *resting T cells*, hal ini penting untuk memulai respons imun. Sel yang sangat poten untuk membangkitkan respons imun adalah sel dendritik.(Austyn, 1994; Randolph, 1998; Bottomly, 1999; Rissoan, 1999)



Sel dendritik folikuler adalah sel APC non fagositik yang sangat penting, sel ini terdapat di jaringan limfoid folikuler dan sangat penting untuk mempresentasikan antigen ke sel T CD4 maupun sel B. Sel dendritik tersebut dapat dikenali secara spesifik dengan antibodi monoklonal R4/23 (Clancy, 1989)

*Lymphoid dendritic cells* (sel dendritik yang berasal dari jaringan limfoid) dapat diisolasi dari lien, limfodus, tonsil, thymus dan Peyer's patches dari spesies yang berbeda mencit, tikus dan manusia. Sel dendritik tersebut kurang mampu untuk melakukan fagositosis dan pinositosis hanya mengandung sedikit lisosom, ER (*endoplasmic reticulum*) dengan bentuk inti yang ireguler. Sel dendritik diproduksi di susum tulang, mengekspresikan CD45 *leucocyte common antigen*, tetapi tidak mengekspresikan Fc receptor, marker sel T (CD3), TCR (*T cell receptor*) maupun membrane immunoglobulin. Sel dendritik mengekspresikan sangat banyak *MHC class II molecule* dan *MHC class I molecule* yang bersifat menetap (*constitutive*) sedangkan ekspresi MHC class II pada makrofag bersifat *inducible* (tergantung adanya stimulasi). Sel dendritik mampu untuk menstimulasi resting T cell (sel T yang berasal dari binatang yang belum pernah mendapat paparan antigen) sedangkan sel APC yang lain hanya mampu untuk menstimulasi sel T yang aktif (sel T yang berasal dari jaringan limfoid yang telah mendapat paparan antigen) (Austyn, 1994; Stumbles, 1999). Sel dendritik imatur banyak terdapat disekitar masuknya antigen misalnya di mukosa usus terutama di Peyer's patches mempunyai kemampuan untuk menangkap tetapi tidak mempunyai kemampuan untuk mengaktifasi sel T. Setelah menjadi matur sel dendritik migrasi ke jaringan limfoid perifer yang tidak mampu

lagi menangkap antigen tetapi menjadi mampu untuk mengaktifasi *naïve / resting T cells*, jadi sel dendritik mempunyai kemampuan untuk membangkitkan respons imun sel T. (Bottomly, 1999; Stumbles, 1999)

## 5. Sel NK

Sel yang menampilkan NK marker (CD16, CD56) tersebar dalam lamina propria. Aktivitas sel NK di lamina propria lebih rendah daripada di tempat lain (lien, sel-sel darah tepi). Kurangnya aktivitas sel NK di lamina propria pada manusia oleh karena habitat pada manusia tak mendukung untuk stimulasi sel NK.

Sel dengan *lymphokine activated killer (LAK)* banyak ditemukan di lamina propria, yang termasuk dalam LAK cells adalah sel NK yang manifestasi sitotoksitasnya adalah antigen non spesifik bila dirangsang oleh IL-2. Oleh karena lamina propria kekurangan sel dengan *NK Markers*, aktivitas LAK didalam populasi ini dilaksanakan oleh sel T (Abbas, 1994).

Populasi LPL termasuk sel T CD8+ yang dapat diaktivasi oleh *allogenic cells*, anti CD3 antibodi dan antigen untuk memanifestasikan fungsi sitolitik dan supresor.

Sitotoksitas dilaksanakan oleh *CD57 negative cells* di lamina propria tetapi oleh *CD57 positive cells* di darah tepi.

Hal ini menunjukkan bahwa populasi sel sitolitik efektor mukosa (*mucosal cytolytic effector cell population*) berbeda dengan populasi di sistem imun sistemik

## 6. Sel mast

Mukosa banyak mengandung prekursor sel mast yang secara cepat dapat berdiferensiasi menjadi sel mast yang masak bila mendapat stimulasi yang adekuat.

Melalui mediator yang diproduksi, mempunyai mekanisme yang penting untuk membantu masuknya sel-sel inflamasi kedalam mukosa yang akan berpartisipasi dalam pertahanan lokal.

Pada manusia sel mast di jaringan mukosa mempunyai sedikit histamin dan trypticprotease sedangkan di jaringan ikat mengandung lebih banyak bahan tersebut. Perkembangan yang berbeda dari sel mast dalam 2 jaringan tersebut tergantung pada tipe sel dan sitokin yang ada dalam lingkungan tersebut.

Dalam hal ini prekursor sel mast akan berdiferensiasi menjadi sel mast dibawah pengaruh IL-3 yang disekresi oleh sel T sedangkan sel mast di jaringan ikat mendapat stimulasi dari faktor yang dikeluarkan oleh fibroblast. Jadi peranan dari sel mast mukosa dalam sistem imune mukosa terletak pada kemampuannya untuk proliferasi dibawah pengaruh signal dari sel T(Sigal, 1994).

**Tabel 1. Komponen esensial sistem imun mukosa gastrointestinal**

| Komponen                      | Fungsi  |  |
|-------------------------------|---|--|
|                               | <b>Struktur limfoid terorganisir (Peyer's patches)</b>                                  |  |
| Sel M                         | Transport antigen dari lumen usus   |  |
| Sel B                         | Surface IgM+ primer, tetapi berubah untuk membuat IgA                                   |  |
| Sel T                         |   |  |
| CD4                           | Precursor memory sel T, isotype switching dari sel B ke IgA                             |  |
| CD8                           | Precursor sitolitik sel T, T suppresor : oral tolerance                                 |  |
| Makrofag dan sel Dendritic    | Memproses dan mempresentasi antigen, produksi sitokin : IL-1, IL-6, TGF $\beta$         |  |
|                               | <b>Struktur limfoid tersebar (Lamina propria)</b>                                       |  |
| Sel B dan sel plasma          | Sintesis IgA  |  |
| Sel T                         |   |  |
| CD4                           | Sel memory Helper / efektor   |  |
| CD8                           | Efektor sitolitik sel T, IEL, fungsi sitolitik  |  |
| Makrofag                      | Pertahanan tubuh non spesifik, fagositosis, produksi sitokin<br>IL-1, IL-6, TNF $\beta$ |  |
| Sel Mast                      | Pertahanan tubuh : parasit, alergi usus   |  |
|                               | <b>Sel Epitel</b>   |  |
| Komponen sekresi HLA-class II | Reseptor dan mekanisme transport untuk IgA polimerik presentasi antigen                 |  |

Sigal 1994

## 2.7 RESPONS IMUN MUKOSA

### 2.7.1 Arti Penting Sistem Imunitas Mukosa

Permukaan mukosa pada manusia secara keseluruhan lebih luas dari lapangan basket, kurang lebih 400 m<sup>2</sup> (Neutra, 1992).

Imunitas humoral mukosa dilaksanakan oleh *secretory IgA* (sIgA) antibodies yang mewakili lebih dari 80% total imunoglobulin dari sekresi eksternal dan diproduksi

sebagai polymeric IgA oleh plasma sel yang terdapat di jaringan efektor mukosa. IgA mukosa terbanyak diproduksi dilamina propria traktus gastrointestinal dimana diperkirakan terdapat  $10^{10}$  sel plasma/ $m^2$  usus manusia (Brandtzaeg, 1989). Faktanya 2/3 total Imunoglobulin yang dibuat oleh mamalia adalah *IgA isotype*. Mengapa IgA yang diproduksi lebih banyak di efektor mukosa? Dan bagaimana regulasi produksi IgA yang sangat banyak ?.

Sel T adalah titik sentral yang penting dalam regulasi imunitas mukosa, termasuk respon IgA dan sel T helper (Th) adalah komponen terbesar dari sistem imunitas mukosa (Kiyono, 1994). Jadi respon IgA sangat tergantung pada sel T.

Sistem imun mukosa dibagi menjadi 2 bagian yang penting yang saling berhubungan.

Jaringan induksi di mukosa termasuk GALT dan BALT yang terletak di saluran cerna dan saluran pernafasan dimana selalu berhubungan dengan antigen. Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa stimulasi prekursor Th dan prekursor sel B IgA di GALT dengan antigen per oral akan menyebabkan penyebaran sel B dan sel Th kedalam jaringan efektor mukosa yaitu lamina propria di traktus gastrointestinal dan traktus respiratorius (Mc.Ghee, 1989; Kiyono, 1994).

Jaringan efektor mukosa mempunyai ciri-ciri :

1. Mengandung sel Th dan sel B dengan jumlah yang banyak dari IgA sel plasma.
2. Dilapisi oleh epitel sel yang memproduksi reseptor IgA polimerik (*secretory component*) yang mentransport PIgA ke luar mukosa.

Induksi sel B dan sel Th di GALT yang diikuti dengan perpindahan sel-sel tersebut kearah tempat efektor untuk pengembangan sistem imun mukosa disebut *Common Mucosal Immune System* (Mc.Ghee, 1990).

### 2.7.2 Tempat Induksi Respon Imun Mukosa

Peyer's patches adalah agregat limfoid yang terdapat di ileum dan colon yang meluas melalui lamina propria dan sub mukosa.

Patches ini tampak menonjol diantara villi usus dan pada permukaan serosa terlihat sebagai benjolan-benjolan kecil.

Pada manusia Peyer's Patches ini makin banyak jumlahnya dan makin besar ukurannya kearah usus halus bagian distal. Peyer's patches berbeda dengan limfonodus di tempat lain yaitu tanpa saluran limfe yang masuk (*afferent lymphatic*). Antigen dari lumen masuk melalui epitel yang melapisinya, sedangkan *efferent lymphatic* masuk kedalam limfonodi mesenterik.

Pada orang dewasa Peyer's Patches terdiri dari senter germinal yang banyak mengandung sel B dan zona interfolikuler yang banyak didominasi oleh sel T. Limfosit di daerah folikel sentral terdiri dari sel B yang memproduksi IgG, IgM, IgA dan IgE setelah berubah menjadi sel plasma didaerah efektor tetapi yang dominan adalah sel-sel yang memproduksi IgA.

Sedangkan sel T yang terdapat di sela-selanya dimana sel T helper CD4 dan makrofag yang terbanyak, yang berfungsi sebagai *antigen presenting cell* (APC) (Kiyono, 1994).

### 2.7.3 Ambilan Antigen dan Presentasi

Peyer's patches adalah tempat yang utama dimana dimulai respon imune lokal di usus. Di dalam Peyer's patches ini antigen dimasukkan dan dipresentasikan ke limfosit mukosa. Proses masuknya antigen adalah melalui epitel yang melapisi folikel tersebut dan mengantarkan antigen tersebut ke *APC* yang berdekatan.

Epitel yang memasukkan antigen tersebut ke usus, tak mengandung mikrovili tetapi diganti oleh micro fold sehingga sel tersebut disebut *M cell*. Sel M tersebut banyak mengandung vesikel di dalam sitoplasma nya yang berguna untuk mentransport antigen.

Virus dan bakteri serta protein yang larut dapat terikat pada sel M tersebut. Antigen yang ditransport melalui Peyer's Patches ini kemudian diambil oleh APC (*Antigen presenting cell*) yang banyak ditemukan area kubah misalnya sel makrofag, sel dendritik yang lebih dominan dan sel B yang akan memproses dan menampilkan antigen tersebut ke sel T melalui MHC class II yang akan memicu sel T (Mc. Ghee, 1990; Kelsall, 1999).

### 2.7.4 T helper Cells ditempat Jaringan Induksi Mukosa

Aktivisasi sel T helper oleh antigen yang telah diproses dalam bentuk peptide yang spesifik oleh APC. Pemrosesan dan penampilan antigen oleh APC adalah merupakan langkah awal untuk pengenalan antigen dan stimulasi yang spesifik terhadap sel T CD4 dan sel T CD8. Tahap ini adalah tahap yang kritis untuk membangkitkan respon imun, antigen yang utuh tak dapat dikenali oleh sel T helper

atau sel T sitotoksik, melainkan harus diproses lebih dahulu dan ditampilkan oleh sel yang mempunyai ekspresi MHC class II.

Yang termasuk APC di GALT adalah makrofag, sel B dan sel dendritik. APC di GALT memproses antigen di kompartemen endositosis menjadi peptide yang imunogenik yang kemudian ditampilkan oleh *MHC class II molecule*.

T helper adalah CD3 +  $\alpha\beta$  T cells receptor (TCR) dan kebanyakan (60%) adalah CD4+ cells, sel tersebut bereaksi dengan peptide epitope yang *terkait MHC class II molecule* di membrane APC. (Mc Ghee, 1990).

Kontak antara Th dan APC terjadi antara TCR dan peptide epitope yang ditampilkan oleh MHC class II membentuk ternary complex setelah diperkuat oleh ikatan CD4 molekul dengan MHC. Sistem pengenalan yang lain juga diperkuat oleh ikatan Th dan APC ini menyebabkan aktivasi sel Th melalui CD3 molekul yang selalu berikatan dengan TCR (Kiyono, 1994).

Sel Th yang telah teraktivasi akan memproduksi sitokin untuk menginduksi sel B masuk kedalam fase G1. untuk selanjutnya terjadi proliferasi, diferensiasi dan maturasi sel B menjadi sel plasma.

Sitokin IL-4, IL-5, IL-6 adalah produksi dari Th2 yang diperlukan untuk menginduksi ke tiga step tersebut. Akibat interaksi antara sel Th dan sel B yang bertidak sebagai APC juga akan menginduksi sel Th yang akan memproduksi sitokin dan ekspresi reseptor sitokin sehingga terjadi induksi sel Th masuk ke G1.

Induksi pertama kali sel Th oleh APC terjadi di Peyer's Patches, sedangkan memory B cells dan sel Th (Go) ditempat efektor mukosa yaitu lamina propria dari usus



halus yang mewakili tempat terjadinya interaksi Th - B cells yang menghasilkan IgA respons

IgA isotype specific T cells terdapat dalam jumlah yang banyak di Peyer's Patches, hal ini dapat menjelaskan mengapa IgA respon yang dominan di jaringan mukosa. Hal tersebut didukung oleh penelitian bahwa pemberian per-oral *T cells dependent antigen sheep red blood cells (SRBC)*, bakteri, protein yang larut akan menginduksi Peyer's patches dengan hasil akhir akan terjadi respon IgA di regio efektor mukosa (Kiyono, 1994; Kelsall, 1999).

Sel T CD 8+ juga terdapat di Peyer's patches, baik yang mempunyai aktivitas cytotoxic (CTL) dan supressor (Ts).

Sel T CD3+ CD4- juga ditemukan, yang berfungsi sebagai kontrasupresi. (Mc Ghee, 1990 ).

### **2.7.5 Peranan Sel Th1 dan Th2 dalam Respon Imun Mukosa**

Konsep mengenai dua macam subset Th didasarkan pada kriteria fungsi dengan menggunakan uncloned Th cells populasi dari murin.

Sel Th dibagi menjadi 2 macam sel Th1 dan sel Th2 dengan perbedaan dalam memberikan signal bantuannya terhadap sel B. (Taguchi, 1990; Kiyono, 1994).

Sel Th yang klasik memerlukan interaksi antara sel T dan sel B untuk memberikan efek bantuan terhadap sel B, dimana sel T respon terhadap antigen, sedangkan sel B mengenali molekul hapten.

Sel Th tipe ini disebut sebagai Th1 sedang subset sel Th yang lain adalah Th2 yang tidak memerlukan interaksi dengan MHC untuk signal bantuannya, tetapi hanya memperkuat signal (Kiyono 1994).

Kebanyakan sel Th adalah CD4+, yang mengenali peptide antigen yang ditampilkan oleh MHC class II ini sudah cukup untuk menginduksi aktivitasnya. Jadi perbedaan Th1 dan Th2 didasarkan pada interaksinya.

Konsep yang baru untuk fungsi Th1 dan Th2 diperkenalkan tahun 1986 yang didasarkan pada sitokin yang diproduksi (Romagnani, 1994).

Th1 mampu memproduksi IL2, IFN $\gamma$ , TNF $\beta$  sedangkan Th2 mensekresi IL-4, IL-5 dan IL-10 setelah stimulasi antigen. Sampai saat ini tak ada molekul permukaan (*surface molecule*) yang spesifik yang dapat membedakan Th1 dan Th2. Th1 dan Th2 dapat saling meregulasi (*cross regulation*) melalui sitokin yang diproduksinya. IL-2 yang diproduksi oleh Th1 dan IL-4 yang diproduksi Th2 adalah sitokin yang penting untuk pertumbuhan di kedua T cells tersebut.

IFN $\gamma$  yang diproduksi oleh Th1 meregulasi negatif terhadap fungsi Th2, sedangkan IL-10 yang disekresi oleh Th2 menghambat fungsi sel Th1 (Romagnani, 1994).

Kedua subset sel T dapat memberikan aktivitas helper terhadap sel B tetapi Th2 lebih efektif, hal ini disebabkan oleh perbedaan sitokin yang diproduksi oleh Th1 dan Th2. IFN $\gamma$  dengan dosis yang tinggi adalah immunosupresive dan menghambat respon sel B respon. Sel Th1 dapat membunuh sel B secara langsung, mungkin melalui limfotoksin dan IFN $\gamma$ . 2 molekul ini adalah sitokin yang kuat untuk eliminasi sel host yang telah terinfeksi melalui aktivasi makrofag dan aktivitas

sitolitik langsung. Sel Th1 mempunyai kemampuan yang baik untuk host defense terhadap parasit intra seluler (Romagnani, 1994).

IL-4, IL-5, IL-6 yang diproduksi oleh Th2 adalah faktor larut (soluble factor) yang kuat untuk aktivasi proliferasi pertumbuhan dan diferensiasi sel B. Th2 lebih merangsang untuk IgG, IgE, IgA respon dari pada Th1. IL-4 yang diproduksi oleh Th2 sangat penting untuk induksi sintesis IgE. Pemberian anti IL-4 atau IFN $\gamma$  akan menurunkan pembentukan IgE.

Jadi ada regulasi silang Th1 dan Th2 yang penting dalam *isotype specific* respon dimana IgE respon tergantung pada Th2 dan IL-4, sedangkan IFN $\gamma$  yang diproduksi sel Th1 regulasi negatif IL-4, sedangkan produksi IL-5 dan IL-6 oleh Th2 yang esensial untuk sintesis Ig tetap dipertahankan.

Sel Th2 meregulasi diferensiasi sIgA + B cells menjadi IgA secreting plasma cells, penambahan IL-5 atau IL-6 ke dalam kultur sel B dari Peyer's Patches yang telah distimulasi oleh LPS, akan menginduksi sintesis IgA, tetapi hal ini tak terjadi bila supernatant yang diberikan berasal dari klon sel Th1.

Sekarang para peneliti sepakat bahwa IL-5 dan IL-6 yang diproduksi oleh Th2 adalah sitokine yang esensial untuk perkembangan IgA plasma cells.

Walaupun IL-2 yang diproduksi oleh Th1 juga dapat meningkatkan sintesis Ig oleh sel B yang di stimulasi LPS tapi tidak sekuat IL-5 dan IL-6 (McGhee, 1989)

Penelitian-penelitian dengan menggunakan IFN $\gamma$  dan IL-5 specific elispot assay dan mRNA analisis dapat menunjukkan bahwa sel Th1 dan Th2 telah ada insitu, baik di tempat induksi atau effektor dari IgA sintesis.

Bila sel T CD3+, CD4+, CD8-, di isolasi dari Peyer's Patches dan lamina propria mukosa usus dan diperiksa untuk Th1 yang memproduksi IFN $\gamma$  dan Th2 yang memproduksi IL-5 akan dapat dilihat pola distribusi dari Th1 dan Th2.

Sejumlah sel T CD4+ yang memproduksi IFN $\gamma$  dan IL-5 selalu ditemukan di IgA effector site daripada di IgA inductive site (McGhee, 1989)

Di tempat induksi ditemukan dalam jumlah yang seimbang antara IFN $\gamma$  (Th1) dan IL-5 (Th2) producing cells, hal ini penting untuk regulasi silang dari kedua subset Th cells tersebut yang dapat menekan diferensiasi permukaan IgA (sIgA+ B cells).

Peyer's Patches sendiri banyak mengandung permukaan IgA (sIgA+ B cells) tetapi hanya sedikit Ig plasma cells (Kelsall, 1999). Penelitian-penelitian sebelumnya dapat menyimpulkan bahwa sel T CD4+ yang potensial dapat menjadi Th1 atau Th2 banyak ditemukan di IgA inductive site. Untuk menginduksi respon Th1 dan Th2 terhadap antigen spesifik IgA response diperlukan pemberian peroral T cells dependent antigen misalnya SRBC yang menginduksi terutama Th2 (IL-5) cells daripada Th1 (IFN $\gamma$ ) cells dalam kultur sel T yang berasal dari Peyer's patches.

Jadi pemberian peroral T cells dependent antigen lebih banyak menginduksi antigen specific Th2 cells di tempat induktif.

Sel Th2 yang telah teraktivasi akan meninggalkan Peyer's Patches dan migrasi ke IgA effektor site yaitu di lamina propria, dimana sel-sel tersebut dapat memproduksi IL-5 dan IL-6 yang diperlukan untuk merubah sIgA+ B cells menjadi IgA secretory plasma cells. Di tempat efektor banyak ditemukan Th2 (IL-5) daripada Th1 (IFN $\gamma$ ) cells (Kelsall, 1999).

### 2.7.6 Sel Th di Jaringan Efektor Mukosa

Masuknya antigen melalui sel M atau follicle associated epithelial (FAE) cells kedalam GALT / BALT akan menyebabkan stimulasi antigen tersebut terhadap sel B dan limfosit selanjutnya sel tersebut meninggalkan jaringan induktif IgA melalui eferen limfatik, masuk ke sirkulasi selanjutnya limfosit-limfosit ini akan menempati (home) di jaringan efektor yaitu lamina propria gastrointestinal tract, respiratory tract dan reproduktif tract serta jaringan glandula exocrine melalui *common mucosal immune pathway*.

Lamina propria gastrointestinal tract adalah bagian paling besar dari jaringan efektor mukosa ( Brandtzaeg 1988).

Lamina propria usus terutama mengandung sel B (termasuk sel-sel plasma), limfosit T dan makrofag, disamping itu terdapat juga eosinofil dan sel mast.

Sel B mewakili 20-40% dari sel di lamina propria dan hampir 80% sel plasma memproduksi IgA yang tampak berlebihan pada sekresi eksternal mukosa usus. Sel limfosit T yang terdapat di lamina propria 50% adalah CD3 + T cells sebagian besar CD3 + T cells adalah CD4 + CD8- T cells ( 40 - 60% dari CD3+ T cells ) dan ratio CD4 : CD8 : 2-3 :1 (Brandtzaeg, 1988)

CD4+ T cells ini mempunyai kemampuan untuk membantu produksi Ig oleh sel B dimana produksi IgA lebih banyak daripada IgG, IgM . Fungsi bantuan untuk IgA isotype oleh CD4+ T cells di jaringan efektor lebih kuat dari pada oleh CD4+ T cells di limfonodi mesenterik.

Kanaf melaporkan bahwa CD4+ T cells di lamina propria usus dapat dibagi menjadi 2 yaitu :

1. Helper inducer (Leu8- dan 2H4+ ) phenotype dan
2. Suppressor inducer (Leu8+ dan 2H4+) phenotype yang didasarkan pada expressi leu8 dan 2H4+ (Kiyono 1994).

Sel T CD4+ di lamina propria lebih lebih banyak dengan *phenotype helper inducer* bila dibandingkan dengan daerah perifer yang lebih banyak type *CD4+ T cells supressor inducer* yang menekan produksi Ig.

CD4+ T helper yang aktif dan jumlah yang banyak dari IgA plasma cells hampir selalu ditemukan di jaringan efektor lamina propria mukosa usus maka disimpulkan bahwa Th2 cells banyak ditemukan di jaringan efektor tersebut.

Bila CD4+ T cells yang di isolasi dari lamina propria murine yang normal dan dilakukan pengujian untuk *IFN $\gamma$  producing Th1 cells* dan *IL-5 secreting Th2 cells* dengan elispot maka ditemukan bahwa Th2 lebih banyak dari Th1 cells dengan perbandingan Th1 : Th2 : 1 : 3. Jadi jumlah yang lebih besar dari IL-5 producing Th2 cells yang terdapat di jaringan efektor IgA, dimana sel T tersebut diaktivasi *invivo* sebagai respon terhadap antigen. Walaupun jumlah sel Th2 dan Th1 berbeda di lamina propria keduanya mengalami aktivasi dan memproduksi sitokinnya untuk regulasi IgA respon.

Di samping di lamina propria sel T juga banyak ditemukan di intraepithel compartment mukosa usus. IEL mengekspresikan TCR dari jenis  $\alpha\beta$  dan  $\gamma$  dan pada murine IEL yang mengandung CD8+ T cells yang memproduksi sitokin

IFN $\gamma$  Th1 dan IL-5 Th2 yang seimbang IEL T cells juga dapat berfungsi sebagai immunoregulator untuk respon Ig.

TCR  $\alpha\beta$  T cells dapat memberikan fungsi bantuan untuk IgA respon, sedangkan TCR  $\gamma\delta$  T cells dapat memberikan proteksi atau memperkuat TCR  $\alpha\beta$  T cells dalam hal adanya toleransi oral untuk mempertahankan respon IgA yang adekuat sebagai barier mukosa (Fuji Hashi, 1993).

### 2.7.7 Sel yang Memproduksi Immunoglobulin di Mukosa Usus

#### *(Ig producing cells)*

Diferensiasi akhir dari sel B adalah sebagai *Ig producing blast* dan plasma cells yang disebut sebagai *immunocyte*, yang memproduksi dimer dan polymer IgA (pIgA). Polymeric IgA (pIgA) mengandung 15 KDA poly peptide yang disebut  $\gamma$  chain hal ini yang memungkinkan untuk berkaitan dengan SC (*Secretory component*) yang diproduksi oleh sel epitel (Mc.Ghee, 1994; Brandtzaeg, 1994).

Sel B yang telah mendapat "*first signal*" (signal pertama) oleh stimulasi antigen di GALT, migrasi dengan sel T yang telah masuk melalui mesentric lymphnode ke sirkulasi darah perifer. Kedua type memory cells tersebut melalui extravasasi masuk kedalam mukosa usus ( MC.Ghee, 1994; Brandtzaeg, 1994).

"*Second signal*" yang dimodulasi oleh bermacam-macam sel yang mengekspresikan HLA class II molecule yang diregulasi oleh limfosit T yang menyebabkan maturasi akhir dari sel B menjadi *Ig producing immunocyte*. Tujuan dari fungsi immunoregulasi adalah membangkitkan ikatan SC dan poly Ig. Yang membentuk sIgA dan sIgM antibodi untuk dapat ditransfer keluar mukosa.

Peyer's Patches adalah sumber utama dari precursor sel B yang akhirnya berkembang menjadi *Ig. producing immunocyte*.

### 2.7.8 Distribusi Sel yang Memproduksi Ig (*Ig Producing Cells*)

*Ig producing cells* termasuk blast dan sel plasma banyak ditemukan di mukosa usus, diperkirakan  $10^{10}$  cells di dapat dalam  $1 \text{ m}^2$  usus dewasa terutama pada usus bagian atas dan bawah. 80% sel penghasil Ig. di dalam tubuh berada di mukosa



usus (Brandtzaeg, 1988). Meningkatnya umur tidak mengurangi kapasitas Ig producing cells di mukosa usus.

Distribusi sel penghasil Ig di mukosa usus adalah heterogen, dimana 79% sel penghasil IgA, 18% sel penghasil IgM, 3% sel penghasil IgG ditemukan di mukosa jejunum bagian atas. Sebanyak 84% sel penghasil IgA, 11% sel penghasil IgM, 5% sel penghasil IgG ditemukan di mukosa ileum dan 90% sel penghasil IgA, 6% sel penghasil IgM, 4% sel penghasil IgG ditemukan di mukosa usus besar (Brandzaeg, 1994). Sedangkan IgD dan IgE producing cell tak banyak ditemukan di mukosa usus.

#### **2.7.9 Sitokin Dalam Sistem Imun Mukosa**

Ekspresi Ig isotype spesifik diatur oleh sitokin yang bekerja baik mempengaruhi *heavy chain class* maupun menstimulir maturasi sel B yang mengekspresikan isotype tertentu.

Sistim imun mukosa berbeda dengan organ limfoid sekunder dalam hal dominasi sekresi IgA kedalam mukosa, hal demikian dapat terjadi oleh karena adanya isotype switching ke IgA dan maturasi sel membrane yang mengekspresikan IgA menjadi sel yang mensekresi IgA.

Sel prekursor yang mensekresi IgA terutama banyak terdapat di Peyer's patches, sedangkan sel plasma yang mensekresi IgA banyak ditemukan juga di lamina propria. Sitokin yang berperan dalam stimulasi tersebut diproduksi secara lokal di mukosa usus dan hal ini membuat suasana yang kondusif (*microenvironment*) untuk

terjadi respon sekresi IgA. Penelitian menunjukkan bahwa regulasi isotipe *in vitro* sama dengan *in vivo* (Lebman, 1994; Husband, 1999).

#### **2.7.10 Sitokin yang mempengaruhi maturasi sel-sel yang mengekspresi IgA menjadi sel yang mensekresi IgA.**

##### **a. Interleukin 5 (IL-5)**

Metode yang dipakai untuk melihat efek sitokin terhadap ekspresi isotipe adalah kultur sel B yang telah distimulir dengan LPS (*Lipopolysacharide*).

IL-5 dapat meningkatkan 4 - 5x sekresi IgA dari kultur sel B yang di stimulasi dengan LPS. Penambahan IL-4 kedalam kultur sel B tersebut dapat lebih meningkatkan sekresi IgA, tetapi penambahan IL-4 saja tanpa stimulasi LPS tidak banyak berpengaruh terhadap produksi/sekresi IgA. Kedua sitokine tersebut IL-5, IL-4 di produksi oleh Th2 cells. Penambahan IL-5 kedalam kultur sel B dari Peyer's patches atau lien yang telah distimulasi dengan LPS akan menyebabkan kenaikan 3 - 5 x lipat sekresi IgA. Mekanisme IL-5 dalam meningkatkan sekresi IgA dapat dilihat dengan memakai beberapa sistim kultur yang berbeda-beda. Sebagai ganti dari sel B yang dstimulasi dengan LPS dapat dipakai sel B yang di stimulasi dengan autoreactive sel T helper yaitu Th1 yang tak memproduksi IL-5, IL-4 yang dapat menstimulasi poliferasi tetapi hanya sedikit merangsang sekresi Imunoglobulin.

Dalam kultur sel T yang telah distimulasi, sel B dari Peyer's patches lebih banyak mensekresi IgA dari pada sel B lien.

Kebanyakan IgA yang disekresi dalam kultur tersebut berasal dari populasi m IgA<sup>+</sup>. Hal ini menunjukkan bahwa IL-5 menstimulasi maturasi precursor IgA dan bukan pada tingkat *heavy chain class swiching IgA*.

Salah satu sifat dari GALT adalah adanya aktivasi kronik pada senter germinal di Peyer's Patches, sehingga sel-sel m IgA<sup>+</sup> di Peyer's selalu mengalami aktivasi (Lebman 1994).

IL-5 *invivo* menginduksi populasi sel mIgA<sup>+</sup> (sel-sel yang mengekspresikan IgA) yang telah teraktivasi untuk mensekresi IgA yang banyak. Meskipun Peyer's Patches merupakan sumber dari precursor sel-sel yang mensekresi IgA tetapi maturasi tak terjadi disini. IL-5 menstimulasi maturasi sel sel yang mengekspresikan IgA menjadi sel yang mensekresi IgA, yang terjadi di luar lingkungan Peyer's patches.

Menurut Tominaga 1991 transgenic mice yang membawa gene IL-5 mempunyai kadar yang tinggi serum IL-5, IgA, IgM (Lebman, 1994).

#### **b. Interleukin 2 (IL-2)**

Menurut Coffman, 1987, sitokine, IL-1, IL-3, GM-CSF (*Granulocyte-Macrophage Colony Stimulating Factor*) dan IFN $\gamma$  tidak mempengaruhi sekresi IgA dalam kultur sel B yang distimulasi dengan LPS sedangkan IL-2 dapat meningkatkan 2-3 sekresi IgA dalam kultur tersebut (Lebman 1994). IL-2 juga merangsang sekresi IgA dari sel B yang berasal dari Peyer's patches yang dirangsang oleh sel T, tetapi tidak dari sel B yang berasal dari lien.

Sekresi IgA dalam kultur berasal dari populasi sel mIgA+, yang dipicu oleh IL-2 berfungsi untuk maturasi sel mIgA+ menjadi sel plasma yang mensekresi IgA. Sebenarnya IL-2 sendiri kurang efektif bila dibandingkan dengan kombinasi IL-4 + IL-5 untuk stimulasi sekresi IgA. Jadi sitokin yang berasal dari Th1 dan Th2 mempunyai peranan untuk diferensiasi akhir dari sel yang mengekspresikan mIgA (Husband, 1999).

### c. Interleukin-6 (IL-6)

IL-6 yang di produksi oleh makrofag. mempunyai aktivitas yang luas dalam jaringan limfoid dan non limfoid. IL-6 menginduksi sekresi IgA lebih tinggi dari pada IL-5 terhadap sel B dari Peyer's Patches. Kombinasi IL-5 dan IL-6 sangat efektif untuk menginduksi sekresi IgA, dari pada masing-masing IL-5 atau IL-6. Meskipun IL-6 menginduksi mIgA+ untuk mensekresi IgA tetapi tidak meningkatkan sekresi IgG dan IgM dalam kultur sel B dari Peyer's patches. IL-6 tidak merangsang mIgA- mensekresi IgA hal ini menunjukkan bahwa IL-6 tidak menstimulasi isotype switching ke IgA. Jadi ketiga macam sitokin IL-2, IL-5, IL-6 mempunyai peranan penting untuk maturasi sel yang mengekspresikan mIgA+ menjadi sel yang mensekresi Ig. (Husband, 1999)

#### 2.7.11 Sitokin yang menginduksi isotype switching ke IgA

Transforming Growth Factor  $\beta$  (TGF $\beta$ ) adalah 25-kDa peptide yang tersebar dalam mukosa mempunyai aktivitas yang pleiotropik. TGF $\beta$  dapat menghambat proliferasi T cell (human) dan sekresi imunoglobulin dan mencegah

maturasi pre sel B menjadi mature sel B (murni) dapat dikatakan bahwa TGF $\beta$  adalah immunosupresive, diproduksi oleh fibroblast (Lebman 1994).

Kim dan Kogno 1990 melaporkan bahwa penambahan TGF $\beta$  kedalam sel B yang telah distimulasi dengan LPS akan meningkatkan 5-10 kali sekresi IgA dan penurunan sekresi IgM (Lebman, 1994)

Penambahan IL-2 dan TGF $\beta$  kedalam sel B yang telah distimulasi dengan PLS akan meningkatkan sekresi IgA yang telah lebih besar daripada kombinasi dari rangsangan masing-masing sitokine saja, hal ini menunjukkan bahwa IL-2 sinergistik dengan TGF $\beta$  untuk membangkitkan respon IgA (Lebman 1994).

Sonoda 1989 dalam penelitiannya melaporkan bahwa IL-5 sinergistik dengan TGF $\beta$  untuk meningkatkan sekresi IgA (Lebman 1994). TGF $\beta$  berfungsi untuk stimulasi isotype switching ke IgA, TGF $\beta$  mampu untuk meningkatkan sekresi IgA oleh sel IgA<sup>-</sup>, tetapi menghambat sekresi IgA oleh sel mIgA<sup>+</sup>. Penelitian pada tingkat seluler menunjukkan bahwa TGF $\beta$  mempunyai efek untuk menstimulasi isotype switching ke IgA. TGF $\beta$  meningkatkan proporsi sel mIgA<sup>+</sup> (Lebman 1994).

Penambahan IL-2 kedalam kultur yang mengandung LPS dan TGF $\beta$  tidak meningkatkan proporsi sel IgA<sup>+</sup> dan tidak menghalangi hambatan proliferasi oleh TGF $\beta$ . Penambahan IL-2 kedalam kultur yang mengandung TGF $\beta$  menyebabkan kenaikan 10-20 kali sekresi IgA. Kombinasi TGF $\beta$  dan IL-2 menyebabkan transisi dari mIgA<sup>-</sup> menjadi IgA<sup>+</sup> menjadi sel yang mensekresi IgA (Lebman, 1994). Dalam keadaan defisiensi vitamin A akan terjadi gangguan regulasi TGF $\beta$  (Glick, 1991)

TGF $\beta$  dapat meningkatkan 20 kali sel yang mensekresi IgA, penambahan IL-2 kedalam kultur yang mengandung TGF $\beta$  akan meningkatkan sekresi IgA tapi tidak meningkatkan jumlah sel yang mensekresi IgA. Jadi TGF $\beta$  menginduksi isotype switching ke IgA dan IL-2 menginduksi diferensiasi akhir sel yang mengekspresi mIgA.

Analisis molekuler menunjukkan bahwa sitokin dari sel T helper mempunyai peranan penting untuk membangkitkan respon IgA pada mukosa.

Heavy chain class switching memerlukan rekombinasi antara switch (S) region yang terletak 51 dengan masing-masing *heavy chain locus* (CH).

Rekombinasi juxtaposes, suatu regio variable yang spesifik (VH) dengan CH yang baru. Rekombinasi ini sebetulnya didahului oleh transkripsi germ line Transkripsi ini mulai dari 51 ke regio S dimana rekombinasi diarahkan dan proceed down stream melalui regio constant (Knight 1994).

#### 2.7.12 *Imunoglobulin class switching*

Ekspresi IgA adalah hasil dari class switching, dimana C $\alpha$  gene didalam lymphocyte B yang mengekspresikan IgM, IgD di rearranged ke regio downstream dan rearranged VDJ gene.

Van schwedler 1990 selama *isotype switching* ke IgA gene 51 C $\mu$ , C $\delta$ , C $\gamma$ , C $\epsilon$  dan switch C $\alpha$  gene dan 31 dari gene VDJ dihilangkan germ line (Knight, 1994).

*Isotype switch* hanya terjadi dengan rekombinasi antara *switch sequence* yang ditemukan 51 dari masing-masing CH gene kecuali C $\delta$ .

Switching diregulasi oleh *switch region* dengan rekombinasi sedangkan cara rekombinasi sendiri belum diketahui. Induksi IgA isotype switching dilakukan oleh TGF $\beta$ . Coffman 1989 melaporkan bahwa penambahan TGF $\beta$  kedalam kultur sel B dari murine spleen dan Peyer's patches yang telah distimulasi dengan LPS akan meningkatkan produksi IgA 10x lipat (Knight, 1994) dikatakan bahwa TGF $\beta$  berfungsi sebagai *isotype spesific factor* untuk produksi IgA.

### 2.7.13 Cara menginduksi respon imun mukosa usus

Untuk menginduksi respon imun mukosa dapat digunakan antigen LPS (*Lipopolysacharide*) (Soesatyo, 1990; Soesatyo, 1992; Dobbelteent, 1991; Sigal 1994, Chow 1995, Reife 1995, Zheng 1995) LPS adalah komponen glikolipid dari sel bakteri gram negatif, yang merupakan endotoksin. Cara kerja LPS melalui lipid A moiety (Chow 1995).

LPS akan menempel pada monosit, makrofag atau dendritik melalui reseptor pada sel membran yaitu CD14, interaksi ini akan optimal bila ada faktor plasma (protein). Disamping itu LPS juga dapat berikatan dengan reseptor yang lain, tetapi peranan reseptor ini dalam signaling membran akan aktivasi makrofag belum jelas, tidak seperti halnya dengan CD14 yang sudah jelas.

Peristiwa intraseluler sebagai respon terhadap stimulasi LPS dilaksanakan oleh phospholipase C (PLC), PLA2, PLD, proteinkinase.

Stimulasi LPS terhadap makrofag akan menyebabkan aktivasi protein kinase C (*protein tyrosine kinase*) yang menjembatani produksi sitokin, proliferasi dan deferensiasi sel (Chow, 1995).

Sitokin yang diproduksi antara lain IFN  $\gamma$ , dan akan lebih meningkat bila terdapat BSA (Zheng, 1995), IL-2 (*proinflammatory cytokine*) yang memodulasi respon imun adaptif. IL-2 adalah induktor yang poten untuk memproduksi IFN  $\gamma$ , oleh sel T helper dan sel NK (Max, 1996; Hilken, 1996).

IFN akan meningkatkan kemampuan sel-sel fagositik untuk memproduksi IL-2 dan *proinflammatory cytokine* yang lain (Durum, 1993)

Setelah distimulasi oleh LPS sel APC akan terinduksi untuk transkripsi IL-12 p40 gene yang mengkode heavy chain heterodimer IL-12, sedangkan IFN  $\gamma$ , langsung, menginduksi transkripsi IL-12 p35 gene yang mengkode light chain IL-12 (Max, 1996). Untuk menginduksi respon imun dapat digunakan polysaccharide (Soesatyo, 1990; Soesatyo, 1990; Dobbelsteen, 1994), lipopolysaccharide (Kelsall, 1999; Stumbles, 1999; Elson, 1999) dosis LPS yang dipakai berkisar 2-10 mg/kg bb (Arden, 1995; Barsig, 1995), 1-2 mg/kg bb (Sugahara, 1996; Zingarelli, 1995), 5 mg/kg bb (Uchiba, 1995). Route pemberian dapat melalui intravena, intra peritoneal, intratracheal, intra PP ataupun per oral.



**Table 2.2 : Sifat subset sel T murine ditempat induksi dan efektor mukosa**

| Jaringan Mucosa      | Frekuensi Sel T CD3 % | Ekspresi TCR % |                | Frekuensi Sel T CD4+ %(a) | Ratio % Th1: Th2 | Ratio % CD4:CD8 |
|----------------------|-----------------------|----------------|----------------|---------------------------|------------------|-----------------|
|                      |                       | $\alpha\beta$  | $\gamma\delta$ |                           |                  |                 |
| Tempat induksi (PP)  | 23-35                 | >90            | 1-5            | 60-65                     | 1:1              | 2:1             |
| Tempat efektor (LP)  | 40-60                 | >95            | 1-5            | 55-60                     | 1:2-3            | 2:1             |
| Intraepitheial (IEL) | 80-90                 | 35-45          | 45-65          | 5-10                      | 1:1(b)           | 1:7-8           |

a. Frekuensi sel CD4+T dalam fraksi sel CD3+T

b. Sel IEL CD8+ dibagi menjadi sel penghasil IFN $\gamma$  dan sel T penghasil IL-5 (Kiyono, 1994)

**Table 2.3 : Sel Th1 dan Th2 untuk regulasi respons Ig**

| Th subset | Produksi sitokin                    | Pengaruh terhadap respons IgA   |
|-----------|-------------------------------------|---|
| Th1       | IL-2<br>IFN $\gamma$<br>TGF $\beta$ | Meningkatkan sintesis IgA ,sinergistik IL-5 dan TGF $\beta$ meningkatkan sintesis IgA<br>Regulasi negatif sel Th2<br>Menginduksi IgA isotype switching  |
| Th2       | IL-4<br>IL-5<br>IL-6<br>IL-10       | Terlibat dalam IgA isotype switching, meningkatkan IL-5 menginduksi sintesis IgA<br>Induksi diferensiasi slg+ B cells ke sel plasma sinergistik dengan TGF $\beta$ untuk meningkatkan produksi IgA<br>Induksi maksimum sintesis IgA melalui pengaruh pada sel IgA+B dan induksi sekresi IgA oleh sel plasma<br>Regulasi negatif Th1 |

Kiyono 1994

## **2.8 Peranan status imunitas mukosa usus pada imunisasi per oral**

Kebanyakan infeksi, virus, bakteri, parasit masuk kedalam tubuh melalui jaringan mukosa. Infeksi dengan organisme yang patogen akan menyebabkan penyebaran penyakit yang menyebabkan kematian, terutama pada bayi dan anak yang menderita penyakit infeksi gastrointestinal dan saluran pernafasan.

Dengan kemajuan imunologi dan biologi molekuler memungkinkan pengembangan teknik untuk membuat vaksin terhadap penyakit bakteri, virus, parasit untuk membentuk imunitas yang profektif.

Dengan perbaikan sistem pelepasan antigen untuk tujuan imunisasi akan merangsang usaha-usaha untuk produksi vaksin yang efektif yang dapat memberikan respons imun yang berlangsung lama. Meskipun telah dicapai kemajuan yang pesat mengenai vaksin untuk mencegah penyakit, kebanyakan keberhasilan tersebut dalam lingkup imunisasi parenteral. Induksi respons imun humoral yang keberhasilannya akan diukur dengan meningkatnya titer antibodi spesifik dalam serum penderita telah banyak dilakukan untuk penyakit yang port of entry nya baik melalui sistemik maupun mukosal, hal ini dapat dibenarkan dalam usaha mencegah penyakit infeksi misalnya tetanus, malaria dimana agen infeksius masuk kedalam tubuh melalui route parenteral, tetapi kebanyakan agen infeksius penyebab infeksi masuk tubuh melalui permukaan mukosa, misalnya difteri, pertusis, campak, diare, tifus.

Sebenarnya telah lama dipikirkan bahwa lokasi imunisasi adalah paralel dengan tempat terjadinya infeksi dan tempat masuknya mikroorganisme.

Penelitian-penelitian sebaiknya diarahkan untuk meningkatkan status imunitas jaringan mukosa melalui imunisasi per oral sehingga mirip infeksi alami.

Tantangan-tantangan penelitian tentunya akan diarahkan untuk lebih efektif untuk memanipulasi imunitas mukosa yang terkait dengan presentasi antigen, regulasi imun, dan penyebaran respons imun yang protektif.

Saat ini telah banyak diketahui bahwa sel-sel efektor di jaringan mukosa yang sebenarnya sangat berbeda dengan sel-sel efektor di sistemik, hal ini yang menyebabkan gambaran sel-sel imune mukosa menjadi unik dan usaha-usaha memanipulasi sel-sel tersebut diharapkan dapat memberikan proteksi jangka panjang melalui induksi imunisasi mukosa (Manganaro, 1994).

Yang paling penting dari faktor humoral yang protektif di mukosa adalah antibodi yang diproduksi secara lokal dalam bentuk *secretory IgA (SIgA)*, yang diinduksi, di transport dan diregulasi oleh suatu mekanisme yang sangat berbeda dengan regulasi pada imunitas sistemik. Semua isotype Ig pada cairan sekresi eksternal distribusinya jauh berbeda dengan yang diukur pada serum. IgA yang dominan pada cairan sekresi adalah oleh karena transport yang selektif dari IgA polimerik oleh reseptor yang spesifik yaitu *secretory component (S.C)*, (komponen sekresi), dimana S.C tersebut di ekskresikan pada permukaan bermacam-macam sel epitel. Transudasi pasif dari Ig yang berasal dari plasma kedalam jaringan mukosa terutama dalam bentuk IgA, IgG, IgD, IgE monomerik.

Sedangkan IgA polimerik pada cairan sekresi berasal dari produksi lokal oleh sel-sel plasma. Pemberian secara intravena IgA polimerik yang dilabel radioaktif ditemukan sangat sedikit di cairan sekresi mukosa usus dan mukosa hidung ( Mc Ghee, 1990).

S.C yang berikatan dengan polimerik IgA diekresikan ke permukaan epitel mukosa, jadi SC mempunyai peranan penting dalam transport IgA.

IgA polimerik (telah digabungkan oleh J chain) yang diproduksi oleh sel plasma sub epitel akan bereaksi dengan S.C pada permukaan dalam sel epitel melalui ikatan nonkovalen, kompleks ini akan distabilisasi dengan membentuk jembatan disulfide.

Komplek SC IgA polimerik di transport dalam bentuk vesikel melalui sel epitel, yang memerlukan waktu 30 menit untuk sampai kedalam permukaan epitel.

S.C sendiri bertindak sebagai reseptor membrane untuk ligand IgA.

Setelah selesai transport reseptor tersebut tetap terikat pada IgA sehingga tidak dapat di pakai lagi (Tomasi, 1994)

### **2.8.1 Keuntungan dari IgA sekretori**

IgA bergabung dengan antibodi isotype yang lain, yang akan berinteraksi dengan spektrum yang luas dari antigen bakteri, virus, parasit dengan spesifisitas yang tinggi. IgA dalam cairan sekresi yang dalam bentuk dimerik atau tetramerik (dengan 4 atau 8 tempat pengikat antigen) sehingga mempunyai aviditas yang lebih besar dari pada IgA monomerik. IgA polimerik menetralsir virus lebih efektif dari pada IgA monomerik dan memungkinkan untuk aglutinasi bakteri lebih baik. Disamping menetralsir virus, IgA juga menetralsir toxin, bakteri, enzim.

Dengan adanya S.C yang berikatan dengan IgA, maka kompleks tersebut menjadi lebih tahan terhadap perusakan oleh enzim proteolitik sehingga fungsional lebih menguntungkan dari pada Ig isotype lain yang tanpa S.C (McGhee, 1990; Tomasi, 1994)

### **2.8.2. Sel-sel yang membentuk IgA dalam jaringan mukosa.**

Sel-sel yang memproduksi Ig (*Ig Producing Cells*) ditemukan di jaringan lymphoid dan non lymphoid.

Sumsum tulang dan jaringan mukosa mengandung jumlah terbesar di sel-sel yang memproduksi Ig. Mendekati jumlah  $10^{10}$  sel-sel pembuat Ig terdapat didalam 1 meter usus manusia. Lebih 75% sel-sel tersebut ditemukan di mukosa usus ini adalah jauh melebihi dan jumlah kombinasi dari sumsum tulang, lien, limfonodi ( $2.5 \times 10^{10}$ ). Sejumlah besar studi imunohistokimia menunjukkan bahwa 65 - 90% sel-sel yang memproduksi Ig akan memproduksi IgA, jadi 2/3 total produksi Ig didalam tubuh adalah IgA (Mc Ghee, 1990).

### **2.8.3. Tempat Induksi**

#### **Peyer's Patches**

Para peneliti sepakat bahwa agregat limfoid Peyer's Patch adalah titik sentral untuk induksi sel T dan sel B setelah imunisasi. Peyer's patch terletak dibawah lapisan epitel khusus yang banyak mengandung sel M. Sel M lebih porus dari pada sel epitel yang melapisi vili dan kripte, sehingga lebih mudah dilewati antigen dari lumen usus yang akan di proses secara imunologis (McGhee, 1993; Kelsall, 1999).

### **2.8.4. Tempat efektor**

#### **Lamina Propria dan Epitelium**

Kebanyakan sel imun, sel T dan sel B yang berasal dari intestin akan masuk kedalam saluran limfe dan mencapai kelenjar mesenterium (*mesenteric lymphnodes*) dan akhirnya mengikuti aliran limfe masuk kedalam sirkulasi, selanjutnya mengalami proses homing akan tersebar didalam beberapa jaringan mukosa yang berbeda-beda. Sel-sel ini akan ditemukan di lamina propria dan epitelium yang merupakan bagian efektor dari respon imun mukosa (McGhee 1993).

Lamina propia usus mengandung sejumlah besar sel plasma dan beberapa sel B yang hampir semuanya memproduksi IgA. Ditemukan juga banyak sel T yang kebanyakan mengekspresikan CD4 helper T cells. Dalam epitel mukosa usus, 4-6 dari 10 sel epitel adalah limfoid. 85% dari sel-sel ini mengekspresikan reseptor sel T dan tidak ditemukan adanya sel B dalam populasi epitel tersebut. Kompartemen ini juga mengandung sel NK antivirus atau *cytolytic T lymphocytes (CTLs)* dan beberapa prekursor sel mast yang juga penting untuk imunitas terhadap infeksi lokal.

## **2.9 Pengujian terhadap komponen respon imun di mukosa usus**

### **2.9.1. Respon imun seluler non spesifik di mukosa usus**

Respon inflamasi, seperti halnya respon imun dapat dibangkitkan oleh sel-sel neutrofil, eosinofil, basofil, makrofag, sel mast, platelet, endotelium dan protein dalam sirkulasi, komponen koagulasi, komplemen, fibrinolisis.

Respon inflamasi seluler adalah suatu mekanisme dimana tubuh melawan infeksi dan memperbaiki jaringan yang rusak. Manifestasi klinik akan tergantung pada lokasi inflamasi dan jenis sel dalam respon inflamasi. Untuk mempercepat aktivasi sel-sel dalam respon inflamasi telah tersedia mediator-mediator inflamasi yang belum siap pakai dan yang siap pakai yang tersimpan didalam granula sitoplasma atau sebagai fosfolipid didalam membrane sel. Dalam respon inflamasi dapat dibedakan 2 macam sel yaitu : *short lived circulating inflammation cells*; neutrofil eosinofil dan basofil, dan sel-sel yang telah ada dalam jaringan yaitu : *long lived resident non circulating inflammatory cells*, sel mast dan makrofag ( Sigal, 1994).

Neutrofil dan makrofag mempunyai fungsi mensekresi mediator-mediator inflamasi yang meningkatkan permeabilitas pembuluh darah dan faktor khemotaktik yang

merekrut sel-sel inflamasi sehingga membantu fagositosis atau efek langsung terhadap sel target.

### 2.9.2. Neutrofil

Polimorphonuclear neutrofil adalah leukosit yang paling dominan dalam sirkulasi dan keberadaanya hanya singkat saja, sejak dibentuk di sumsum tulang dan aktivitas fagositik dan mikrobial dalam jaringan yang inflamasi (Sigal, 1994; Abbas, 1994). Neutrofil terutama bertanggung jawab untuk pertahanan tubuh yang normal melawan invasi mikroorganisme dan merupakan elemen seluler yang utama pada kebanyakan inflamasi akut.

Sitoplasma neutrofil mengandung granula yang merupakan enzim yang poten yang akan membunuh atau merusak mikroorganisme. Untuk melaksanakan tugasnya di jaringan, neutrofil dilengkapi kemampuan untuk melekat pada dinding pembuluh darah dan bergerak ke arah partikel yang akan dicerna (chemotaxis) dan melakukan fagositosis, degranulasi dan opsonisasi. Neutrofil mempunyai inti yang bersegmen 2-5, dengan chromatin yang padat tanpa mempunyai nukleoli.

Dengan pengecatan Wright, granula berwarna pink, sedangkan granula pada eosinofil berwarna bright orange dan pada basofil berwarna purple black.

Mediator inflamasi terhadap endotel sehingga lebih adhesive terhadap neutrofil. Pelekatan ini melalui reseptor glikoprotein yang masuk didalamnya adalah CR3 reseptor (C3BI) dan *lymphocyte function antigen* (LFA1). Adanya reseptor untuk komponen matrix extraceluler laucinin dan fibronectin, neutrofil akan lebih mudah melekat pada jaringan dan bakteri.

Adanya faktor khemotaksis yang berasal dari bakteri, makrofag, limfosit, trombosit dan sel mast walaupun dalam jumlah yang kecil (nanomolar), neutrofil akan memberikan respon dengan meningkatkan pelekatan dan jumlah *chemotactic factor receptor*, dan akan melepaskan isi dari granula sitoplasma dan siap untuk proses *oxidative burst*.

Dalam keadaan normal neutrofil tak ditemukan di jaringan, kecuali bila ada proses inflamasi. Disamping kemampuan tersebut diatas, neutrofil mempunyai kemampuan untuk fagositosis, pinositosis dan membentuk vesikel fagositik (*phagosome*).

Dengan adanya fagositosis ini bakteri akan didegradasi oleh enzim.

Kemampuan fagositosis akan dirangsang oleh adanya komplemen C3b dan antibodi IgG. Selama proses fagositosis, membrane granula sitoplasmik dari neutrofil akan mengadakan fusi dengan membrane dari vakuola fagositik, yang membentuk *phagolysosome*.

Proses degranulasi yang melepaskan isi granula sitoplasmik akan masuk kedalam *phagolysosome*. Pembentukan *phagolysosome* adalah sangat penting untuk pertahanan tubuh dimana bakteri yang telah dicerna akan dibunuh di dalam *phagolysosome*. Pelepasan granula sitoplasmik juga dapat terjadi keluar dari sel neutrofil dalam bentuk protease yang dapat mengaktifasi komplemen, membangkitkan kinin, meningkatkan permeabilitas pembuluh darah, degradasi kolagen, elastin, sehingga pengaruhnya cukup signifikan dalam inflamasi. Bila dilihat dari molekul permukaan, lekosit mengandung  $\beta 2$  integrin yang membentuk 4 anggota famili (CD18) yang terkait dengan rantai  $\alpha$  integrin :  $\alpha L$  (CD11a), yang



diekspresikan pada semua leukosit,  $\alpha$ M (CD11b) dan  $\alpha$ X (CD11c) yang terutama diekspresikan oleh sel PMN (Poupon, 1999)

### 2.9.3. Basofil

Basofil adalah neutrofil yang beredar, dimana mempunyai sifat-sifat dan fungsi seperti sel mast jaringan. Basofil yang mempunyai ukuran 5-7  $\mu$ m adalah granulosit yang terkecil. Basofil mempunyai reseptor terhadap IgE dan membentuk granula yang mengandung histamin tetapi lebih sedikit dari sel mast, tidak seperti sel mast basofil hanya terdapat didalam sirkulasi, tak didapatkan di jaringan, kecuali bila ada proses inflamasi (Sigal, 1994; Abbas, 1994).

### 2.9.4. Eosinofil

Jumlah eosinofil dalam sirkulasi 1 - 2% dari leukosit yang beredar, merupakan bagian kecil dari total body eosinofil. Jangka hidup eosinofil adalah pendek 6 - 12 jam, sedangkan di jaringan dapat beberapa hari. Bila dalam sirkulasi terdapat 1 eosinofil berarti dalam sumsum tulang terdapat 200 eosinofil dan yang terdapat di jaringan sebesar 500. Dalam satu sel eosinofil terdapat 200 granula sitoplasmik, ini hanya 1/10 dari granula yang terdapat di neutrofil. Ukuran eosinofil 12 - 17  $\mu$ m, sedikit lebih besar dari neutrofil. Dalam granula sitoplasmik terdapat peroxidase dan 3 macam jenis protein yang salah satunya adalah mempunyai intensitas terhadap eosin. Eosinofil mengandung reseptor terhadap IgE ( $Fc \epsilon R II$ ) yang mempunyai ikatan yang sangat lemah terhadap IgE bila dibandingkan dengan ( $Fc \epsilon R I$ ) reseptor pada sel mast terhadap IgE, sedangkan reseptor  $Fc \gamma R$  terhadap IgG juga lemah.

Hampir 10 - 30% eosinofil dari individu yang normal mempunyai IgG reseptor, selain memiliki reseptor terhadap IgE dan IgG eosinofil juga memiliki reseptor terhadap komplemen sebanyak 40 - 50% dibandingkan dengan 90% reseptor terhadap komplemen pada neutrofil. Jumlah reseptor ini meningkat pada infeksi cacing, atopi dan sindroma hipereosinofilik. Faktor khematotik dan faktor aktivasi eosinofil berasal dari sel mast, monosit. Limfosit T yang meregulasi fungsi efektor dari eosinofil untuk membunuh cacing. Oleh karena parasit tak dapat dicerna oleh eosinofil, maka fungsi sitotoksik terhadap parasit diperlukan *parasite - cells contact*. Eosinofil akan berkumpul di sekitar parasit yang terdapat di dalam jaringan, dan akan mengeluarkan granula sitoplasmik untuk membunuh parasit. Meskipun eosinofil mampu melakukan fagositosis tetapi tak efisien dibandingkan dengan neutrofil (Sigal, 1994).

### 2.9.5. Sel Mast

Sel mast adalah sel didalam jaringan, yang memegang peranan penting dalam inflamasi yang dijembatani oleh IgE. Sel-sel tersebut banyak ditemukan di jaringan kulit,  $10^4$  sel mast /  $\text{mm}^3$ , terdapat  $10^6$  sel/gram jaringan paru-paru, gastrointestinal, mukosa hidung, sel-sel tersebut akan cepat bereaksi terhadap adanya inhalant dan antigen yang dimakan, sehingga akan mensekresi mediator inflamasi yang kuat, yang menyebabkan permeabilitas pembuluh darah yang meningkat, kontraksi otot, sekresi mukus, mengeluarkan *chemofactor* untuk eosinofil, neutrofil dan sel-sel mononuklear.

Sel Mast mengandung resptor dengan aktivitas yang tinggi terhadap IgE ( $\text{Fc } \epsilon \text{ R I}$ ) dan granula sitoplasmik yang berisi histamin (50 - 200 granula) per sel. Meskipun sel mast dan basofil mengandung granula dan histamin dan reseptor dengan afinitas yang tinggi terhadap IgE, tetapi sel mast berbeda dengan basofil dalam hal morfologi, mediator-mediator, dan sensitifitas terhadap obat (Sigal 1994). IgE terikat pada reseptor spesifik pada permukaan sel mast. Bilamana reseptor-reseptor yang telah mengikat molekul IgE mengadakan *cross link* dengan mengikat antigen maka sel mast akan diaktivasi. Peristiwa efektor pada sel mast adalah degranulasi granula yang mengandung histamin, protease, carboxypeptidase, dan hiporin dan peristiwa efektor yang kedua adalah produksi dan pelepasan mediatro-mediator untuk inflamasi PGD<sub>2</sub>, LTB<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub> dan PAF, serta cytokin  $\text{TNF}\alpha$ ,  $\text{TGF}\beta$ , IL-1, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6) (James 1994).

Identifikasi sel mast dengan mikroskop biasa dapat diketahui bahwa dengan pengecatan toluidin blue, granula nya mengandung proteoglycan akan berwarna metachromic red atau violet. Granula pada sel mast mengandung lebih banyak histamin  $5 \mu\text{gram} / 10^6$  sel dari pada basofil yang hanya  $1 \mu\text{gram} / 10^6$  sel.

Sel mast mukosa pada tikus berbeda dengan sel mast pada jaringan ikat dalam hal ketergantungannya terhadap sel T, mediator-mediator, proteoglycan, protease, dan respon terhadap neuropeptide, obat-obat anti allergen. Sel mast di mukosa usus banyak mengandung *tryptase* sedangkan disubmukosa mengandung *tryptase* dan *chymase* (Sigal, 1994)

#### 2.9.6. Makrofag

Makrofag bekerja sama dengan neutrofil mempunyai peranan yang sangat penting untuk pertahanan tubuh terhadap infeksi, dengan mekanisme mencerna dan membunuh mikroorganisme dan mensekresi faktor-faktor yang terlibat dalam pertahanan tubuh dan inflamasi. Fungsi penting yang lain dari makrofag adalah sebagai antigen presenting cells (APC) dalam proses respon imun.

Seperti halnya neutrofil, makrofag mempunyai kemampuan fagositosis dan mempunyai granula yang mengandung enzim hidrolitik dan memproduksi *toxic oxygen metabolite*. Makrofag mempunyai jangka hidup yang lebih lama dari neutrofil, dapat ber-diferensiasi insitu, respon terhadap stimulan eksternal agak lambat dan baru ada dalam inflamasi setelah 8 - 12 jam. Makrofag dapat menggunakan kembali phagolysome untuk menyusun membrane plasma. Makrofag yang telah teraktivasi akan menunjukkan perbedaan dalam hal morfologi,

metabolisme dan fungsi dari *resting macrophage*, dan mempunyai kemampuan meningkat untuk membunuh bakteri intraselular atau sel tumor.

Selama proses infeksi, limfosit T yang telah disensitisasi oleh antigen dari mikroorganisme akan mensekresi  $\gamma$  interferon ( $IFN \gamma$ ) yang akan mengaktifkan makrofag. Jadi induksi aktivasi makrofag melalui proses imunologi spesifik sedangkan ekspresi aktivasinya adalah non spesifik untuk aktivitas mikrobial.

Makrofag akan tertarik (migrasi) ke tempat inflamasi oleh adanya faktor khemotaktik yang berasal dari serum (Csa), limfosit, neutrofil, fibroblas. Disamping berfungsi sebagai sel fagositik mempunyai fungsi regulasi dan sekresi..

Makrofag mempunyai kemampuan untuk mensekresi 100 macam mediator untuk respon terhadap inflamasi. Secara umum dikatakan bahwa spektrum antimicrobial dari makrofag melebihi neutrofil. Fungsi yang lain dari makrofag adalah anti tumor, regulasi fungsi imune, penyembuhan luka (Abbas, 1994). Terdapat banyak phenotype makrofag yang berbeda-beda. Konversi makrofag yang kurang diferensiasi menjadi bentuk yang lebih diferensiasi dipengaruhi oleh sitokin dan mediator-mediator lain.  $IFN\gamma$  menginduksi diferensiasi makrofag responsif menjadi *antigen presenting macrophages* yang tak dapat lagi berpoliferasi.

Dibawah pengaruh LPS (*bacterial lipopolysacharide*) *antigen presenting macrophages* dapat berubah menjadi *tumoricidal macrophages* yang dapat membunuh sel tumor.

### 2.9.7 Sel dendritik

Sel dendritik adalah termasuk sel APC non fagositik yang penting. Banyak ditemukan di jaringan folikel limfoid dan sangat esensial untuk mempresentasikan antigen terhadap sel T CD4+ maupun sel B. Sel ini dapat dikenali dengan pemeriksaan imunohistokimia dengan menggunakan antibodi monoklonal spesifik, misalnya R4/23 (Clancy, 1989). Sel APC yang sangat poten untuk membangkitkan respons imun adalah sel dendritik ( Austyn, 1994; Randolp, 1998; Bottomly, 1999; Rissoan, 1999; Kelsall, 1999).

Dalam respons imun mukosa, antigen atau mikroorganisme yang tertelan akan ditransportasikan dari lumen usus ke regio dibawah kubah (SED) di Peyer's patches melalui sel khusus (sel M) yang terdapat di FAE (*follicular associated epithelium*). Didaerah ini antigen akan bertemu sel dendritik, makrofag, sel T CD4+ dan sel B. Interaksi pertama kali terjadi antara sel dendritik dan sel T atau sel T dan sel B. Alternatif yang lain, sel dendritik imatur didaerah ini memfagositosis mikroorganisme atau mengambil antigen larut (soluble antigens) selanjutnya migrasi ke regio interfolikuler atau masuk ke folikel sel B untuk memulai respons imun pada daerah ini. Akibat dari interaksi ini adalah senter germinal (GC) yang ditandai dengan kemampuan untuk memproduksi IgA, dimana didaerah ini tersedia lingkungan yang untuk terjadinya class switching dari sIgM+ B cell menjadi sIgA+ B cell, sehingga sel B matur banyak ditemukan didaerah ini tanpa diferensiasi lebih lanjut. Setelah mengalami homing baru terjadi diferensiasi menjadi sel plasma yang mensekresi IgA yang penting untuk pertahanan imun mukosa. Keluaran lain yang penting dari masuknya antigen kedalam Peyer's patches dan bertemu dengan sel

dendritik adalah terjadinya aktivasi dan diferensiasi sel T CD4+ di area SED, suatu daerah yang kaya sel dendritik. Alternatif yang lain, aktivasi terjadi di regio interfolikuler setelah sel dendritik migrasi ke daerah tersebut, dimana makrofag juga banyak ditemukan. Disamping itu sel T CD4+ secara tersebar juga ditemukan difolikel sel B yang juga dapat diaktivasi oleh sel dendritik yang juga ditemukan di daerah ini. Sel T CD8+ Peyer's patches banyak ditemukan di regio interfolikuler yang tampaknya dapat diaktivasi oleh sel dendritik dan makrofag (Kelsall, 1999).

Seperti halnya dengan sel B, sel T akan keluar dari Peyer's patches melalui proses homing yang akan menempati lamina propria. Di daerah ini sel T yang distimulasi oleh sel dendritik dan makrofag akan mensekresi sitokin yang esensial untuk diferensiasi sel B dan regulasi respons imun. Hal yang sebaliknya adalah sel T Peyer's patches mampu untuk memproduksi sitokin supresif TGF $\beta$  dan IL-10 yang diinduksi oleh dosis rendah antigen protein larut setelah sel tersebut mengalami proses homing dan bertemu kembali dengan antigen (Kelsall, 1999)

### 2.9.8 Sel NK

Sel NK adalah subset dari limfosit yang berasal dari prekursor di sumsum tulang. Sel NK yang mature banyak ditemukan di darah, sumsum tulang, dan lien tetapi sedikit di limfonodi atau thymus. Sel NK dapat diidentifikasi dengan adanya *differentiation antigen* yaitu CD56, dan CD16 tetapi tak mengandung CD3 / TCR. Kebanyakan sel NK matur adalah limfosit granula besar - *large granular lymphocyte* (LGL). Pada individu yang normal dalam darah tepi terdapat 10 - 15% sel NK

dan hanya 1 - 2 % di lien. Tidak seperti CTL, sel NK mengenali dan membunuh tumor tanpa memerlukan pengenalan oleh MHC antigen pada sel target.

Aktivitas sel NK ini penting untuk pemantauan imun (*immune surveillance*), untuk mencegah metastase tumor melalui darah. Fungsi penting yang lain sel NK adalah pertahanan terhadap infeksi virus, sel NK hanya membunuh sel-sel yang telah terinfeksi oleh virus dengan cara aktivasi ikatan (*cross linking*) antara kompleks imunoreseptor NKG2D dan DAP10 pada sel NK dan ligan MICA pada sel yang terinfeksi dan bukan sel normal yang tanpa infeksi virus (Hackman M, 1999; Bauer S, 1999; Wu J, 1999).

Oleh karena sel NK tak memerlukan pemaparan sebelumnya oleh antigen untuk responnya, maka penting untuk pertahanan terhadap virus pada saat periode latent sebelum munculnya antibodi dan antigen spesifik CTL. Sel NK yang memiliki antigen spesifik dan tidak memerlukan *immune memory* setelah pemaparan yang pertama terhadap virus.

Aktivitas yang lain dari sel NK adalah menjembatani *antibody dependence cellular cytotoxicity* (ADCC), suatu mekanisme dimana sel efektor sitotoksik dapat membunuh target cells yang telah di lapisi oleh antibodi. Pengikatan dan signal transduksi terjadi melalui reseptor pada permukaan sel yang mengikat Fc Ig (Tizard, 1995). ADCC memberikan mekanisme sel NK untuk menggunakan *antigen binding specificity antibody* untuk aktivitas killing. Sel NK dapat diaktivasi oleh sitokin untuk meningkatkan aktivasi sitotoksik dan proliferasi, misalnya oleh IL-2.

Phenomena ini disebut sebagai *lymphokine activated killer (LAK) activity*. IL-2 disamping meningkatkan aktivitas sitotoksitas, bekerja juga sebagai faktor



pertumbuhan dan menginduksi proliferasi. Aktivitas sitotoksik sel NK juga dapat dirangsang oleh IFN  $\alpha$  dan hanya sedikit oleh IFN  $\gamma$ , hal ini penting pada infeksi virus (Abbas, 1994).

### 2.9.9 Cytotoxic Suppressor cells ( Sel supresor sitotoksik )

Sel T CD4-8<sup>+</sup> melaksanakan kebanyakan fungsi antigen spesifik sitotoksitas, kemampuan untuk membunuh sel yang lain yang dianggap asing, misalnya sel-sel yang terinfeksi virus. Molekul sel T CD4-8<sup>+</sup> mengenali peptide yang terikat oleh MHC class I pada permukaan sel target. Selama infeksi dengan virus peptide dan virus terikat pada molekul MHC didalam sitoplasma dari sel-sel yang terinfeksi virus dan kemudian di transport kepermukaan sel yang akan dikenali oleh *cytotoxic T cells* (CTL).

Sebagai akibat aktivasi sel T CD4-8<sup>+</sup> akan melepaskan sitokin (IL-2, IFN  $\gamma$  ) yang akan meningkatkan respons imun oleh sel B dan limfosit T. Selain fungsi sel T sitotoksik CD4-8<sup>+</sup> juga dapat mensupresi respons imun melalui pelepasan mediator-mediator yang larut, yang akan mempengaruhi fungsi dari sel yang lain. Oleh karena fungsi ini, sel T CD4-8<sup>+</sup> disebut juga T cytotoxic-suppressor subset (Tc/s) (Lefrancois, 1994; Abbas, 1994).

### 2.9.10 Helper T cells

Limfosit T CD4<sup>+</sup> 8<sup>-</sup> adalah subset yang termasuk dalam Helper/inducer T (Th atau Th/i) cells, oleh karena kemampuannya untuk meningkatkan respon sel B dan memperkuat sel T CD4- 8<sup>+</sup>. Dalam keadaan tertentu sel T CD4<sup>+</sup> 8<sup>-</sup> dapat juga melaksanakan fungsi sitotoksik dan supresor respons imun. Sel T CD4<sup>+</sup> 8<sup>-</sup>

mengenali peptide antigen yang terikat oleh molekul MHC (glycoprotein) class II pada permukaan APC. Setelah terikat dengan peptide antigen MHC, sel T CD4+ 8- teraktivasi dan berproliferasi. Sel T CD4+ 8- yang aktif mensekresi faktor-faktor yang mempengaruhi fungsi efektor yang dilaksanakan oleh leukosit yang lain, misalnya akan mensekresi IL-2 yang merupakan faktor pertumbuhan (growth factor) untuk proliferasi sel-sel yang tak tergantung pada sel T yang lain dan memperkuat aktivitas sitotoksik dari CTL dan sel NK (Abbas, 1994). IL-4 juga disekresi oleh sel T yang diaktivasi oleh antigen, dan memperkuat pertumbuhan sel B dan sel T serta memperkuat fungsi CTL dan menginduksi ekspresi Fc receptor untuk IgE pada sel B dan monosit. Disisi lain IL-4 juga dapat menghambat aktivasi sel B dan sel NK oleh IL-2. Sitokin yang lain IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6 GM-SCF (*granulocyte macrophages colony stimulating factor*), TNF dan IFN juga diproduksi oleh limfosit T CD4+ 8- yang distimulasi oleh antigen spesifik. Jadi limfosit T CD4+ 8- membuat faktor regulasi, baik yang meningkatkan maupun menekan fungsi dari keseluruhan sistim imun (Abbas, 1994).

### **2.9.11 Sel-sel yang memproduksi IL-2**

IL-2 diproduksi oleh sel T yang teraktivasi, thymocyte, limfosit granula besar yang teraktivasi, IL-2 adalah protein (15.4 k Da) yang mempengaruhi sel T yang aktif tetapi kurang pengaruhnya terhadap sel B, demikian juga terhadap sel NK yang menyebabkan sel-sel ini berproliferasi dan berfungsi sitotoksik. Limfosit mempunyai reseptor dengan afinitas rendah, sedang dan tinggi, yang hal ini disebabkan oleh adanya kombinasi dari rantai peptide yang berbeda-beda.

Reseptor dengan afinitas tinggi adalah heterodimer yang disusun oleh P55 moiety (tac antigen) sedang P75 moiety yang berikatan dengan IL-2, dengan afinitas intermediate. Reseptor IL-2 juga ditemukan di sel B, makrofag, monosit (Lebman, 1994). Berbagai macam stimuli dapat menginduksi sintesis IL-2 misalnya : antigen spesifik, antibodi yang bereaksi dengan molekul dipermukaan sel yang penting untuk aktivasi CD3 dan CD2. Sintesis IL-2 dihambat oleh kortikosteroid, dan prostaglandin (Abbas, 1994; Husband, 1999)

#### **2.9.12 Sel-sel yang memproduksi IL-4**

IL-4 diproduksi oleh sel T, sel mast. Fungsi utamanya adalah untuk merangsang proliferasi, diferensiasi sel T, dan sel B, meningkatkan sintesis IgG, IgE oleh sel B, dan merangsang diferensiasi sel Th2. IL-4 pertama-tama ditemukan sebagai faktor yang meningkatkan proliferasi sel B, sitokin tersebut diproduksi oleh Th2 dan dapat mempengaruhi ekspresi MHC class II molecule, ekspresi CD23, dan regulasi reseptor IL-4 sendiri. Hal ini akan menyebabkan sel B memberikan respon terhadap sitokin yang lain dan interaksi dengan sel yang lain (Lebman, 1994; Husband, 1999).

IL-4 juga mempunyai peranan untuk diferensiasi isotype B cells. Sel B yang distimulasi oleh LPS (*Lyphopolysacharide*) dan adanya IL-4 akan mengekspresikan IgG1. Induksi ekspresi IgG1 oleh IL-4 dihambat oleh IFN $\gamma$ .

Sebenarnya tak hanya IL-4 saja yang penting untuk diferensiasi isotype dari sel B tetapi sitokin yang lain juga berperan. Pada tikus IL-4 mempengaruhi proliferasi

makrofag dan sel mast. Jadi IL-4 mempunyai fungsi yang luas sebagai growth factor dan diferensiasi faktor terhadap berbagai macam sel (Abbas, 1994; Husband, 1999)

### 2.9.13 Sel-sel yang memproduksi IL-5

IL-5 diproduksi oleh sel T, sitokin ini menyebabkan proliferasi dan diferensiasi sel B untuk produksi antibodi (James, 1994; Abbas, 1994, Leberman, 1994; Husband, 1999). IL-5 disebut juga sebagai *T cells replacing factor* (TRF) atau *B cell growth factor II* (BCGF II). IL-5 juga mempunyai efek isotope spesifik yaitu aktivasi sel B oleh LPS dimana terdapat IL-5 akan meningkatkan produksi IgA, tetapi bukan IgG. Seperti halnya IL-4, IL-5 juga mempunyai efek terhadap diferensiasi eosinofil dan juga meningkatkan kapasitas sel T sitotoksik melalui mekanisme induksi ekspresi reseptor IL-2.

### 2.9.14 Sel-sel yang memproduksi IL-6

IL-6 diproduksi oleh makrofag, sel T dan sel B, sel endotel, sel epitel, fibroblast. Nama lain dari sitokin ini adalah *B cell differentiation factor* (BCDF/BSF2) IFN $\beta$  2 (James, 1994, ). Fungsi dari IL-6 adalah induksi maturasi akhir dari sel B menjadi sel plasma yang memproduksi antibodi (Leberman, 1994; Abbas, 1994; Husband, 1999). IL-6 mempunyai peranan yang penting dalam pertahanan tubuh yaitu merangsang sekresi imunoglobulin oleh sel B, *produksi acute phase protein* oleh sel-sel hati, merangsang pertumbuhan bermacam-macam sel B (myeloma cells, hybridoma cells, maturasi megakariosit, diferensiasi neuron) (James, 1994). Disamping itu IL-6 bersama-sama dengan IL-1, IFN $\gamma$  mempunyai peranan penting dalam inflamasi.

### 2.9.15 Sel-sel yang memproduksi IL-10

IL-10 diproduksi oleh sel T subclass tipe Th2, sel B, monosit, makrofag setelah stimulasi oleh antigen atau produk-produk bakteri. Produksi IL-10 akan dihambat oleh IL-4 dan IFN $\gamma$  (Abbas, 1994; Husband, 1999) Aktivitas IL-10 pada makrofag adalah regulasi negatif (*down regulate*) ekspresi MHC class II molecule dan menghambat makrofag untuk memproduksi sitokin IL-1, IL-6, IL-8 setelah dirangsang oleh LPS atau IFN $\gamma$ . Fungsi lain yang penting IL-10 adalah menghambat produksi sitokin oleh sel T Th1 dan sel NK serta merangsang pertumbuhan sel B, sel T dan sel mast. IL-10 dapat merubah respons imun dari tipe *delayed type hypersensitivity* menjadi *antibody type*. Nama lain dari IL-10 adalah cytokine synthesis inhibitory factor (CSIF), mast cell growth factor (MCGF), lymphocyte growth promoting factor (Abbas, 1994). IL-10 juga menghambat makrofag untuk memproduksi IL-1, IL-6, IL-8 setelah dirangsang oleh LPS atau IFN $\gamma$ .

### 2.9.16 Sel-sel yang memproduksi IL-12

IL-12 adalah sitokin yang terutama diproduksi oleh sel dendritik, sel makrofag dan sel B, yang mendorong diferensiasi kearah sel Th1 juga merupakan stimulus yang poten untuk produksi IFN $\gamma$  oleh sel NK, tetapi potensinya lemah pada sel T untuk produksi IFN $\gamma$  (Kelsall, 1999). IL-10 dan IL-4 regulator negatif yang potent untuk produksi IL-12 oleh makrofag (Howard, 1993; Abbas, 1994).

### 2.9.17 Sel-sel yang memproduksi interferon (IFN $\gamma$ )

IFN $\gamma$  adalah aktivator yang poten untuk makrofag dan monosit, yang memperkuat aktivitas mikrobisidal dan tumorisidal (Howard, 1993; Abbas, 1994). Fungsi yang lain adalah meregulasi ekspresi Fc reseptor dengan afinitas yang tinggi untuk IgG pada monosit dan makrofag.

Untuk fungsi imunoregulasi, IFN $\gamma$  mampu memodulasi ekspresi class I dan class II MHC antigen pada bermacam-macam tipe sel, misalnya APC (monosit, makrofag, sel dendritik). Sebagai konsekuensi dari regulasi ekspresi class II MHC antigen adalah akan memperkuat dan mempercepat respon imun dalam fase kognitif (Howard, 1993; Abbas, 1994). Dalam hal respon imun, IFN $\gamma$  mampu meregulasi mekanisme efektor imun yang spesifik dengan cara aktivitasnya terhadap sel T helper, sel T sitotoksik dan sel B. IFN $\gamma$  akan meningkatkan induksi subpopulasi sel Th1, yang meregulasi *cell mediated immunity*. (Howard, 1993; Brandtzaeg, 1994). Hal yang sebaliknya IFN $\gamma$  akan menghalangi induksi, proliferasi, dan fungsi efektor dari subpopulasi sel Th2, yang meregulasi komponen-komponen imunitas humoral.

Meskipun IFN $\gamma$  mempunyai bermacam-macam aktivitas stimulasi , termasuk induksi ekspresi MHC antigen dan aktivasi makrofag, tetapi juga mempunyai aktivitas inhibisi termasuk pengaruhnya terhadap replikasi virus, menghambat proliferasi sel-sel bone marrow, supresi IL-9 yang menginduksi proliferasi sel B dan produksi antibodi (Fitch, 1990).

Pada murin IFN $\gamma$  secara selektif meningkatkan produksi *complement fixing cytotoxic IgG2a antibody*, melalui mekanisme meningkatkan precursor IgG2a+cells dan meningkatkan IgG2a+daughter cells. Dalam konsentrasi yang tinggi, IFN $\gamma$  secara nonspesifik menghambat produksi semua Ig isotype. (Howard, 1993).

IFN $\gamma$  juga meningkatkan respon imun sitotoksik dengan cara aktivasi langsung sel NK dan sel T sitotoksik. IFN $\gamma$  disebut juga immune atau tipe II interferon, suatu homodimeric glycoprotein yang mengandung 21-24 kD subunit. (Abbas, 1994).

Sel-sel yang memproduksi IFN $\gamma$  adalah Th0, Th1 CD4 +helper T cells, sel T CD8+ dan sel NK. (Howard, 1993; Abbas, 1994).

Transkripsi secara langsung dimulai sebagai akibat aktivasi dan antigen dan IL-2, IL-12. Efek akhir dari aktifitas IFN $\gamma$  adalah mendorong sel Th1 dan makrofag dalam reaksi inflamasi dan supresi sel Th2 serta reaksi dari eosinofil.

Pada mencit (mice) yang menderita kerusakan gene untuk IFN $\gamma$  , akan terjadi beberapa defek imunologis, lebih sensitif terhadap infeksi bakteri intraseluler yang tak dapat dihilangkan oleh karena gangguan aktivasi makrofag, berkurangnya produksi nitric oxide oleh makrofag, berkurangnya kadar IgG2a dan IgG3a

berkurangnya ekspresi class II MHC molecule pada makrofag, dan gangguan fungsi sel NK. (Abbas, 1994).

### **2.9.18 Sel-sel yang memproduksi TNF $\beta$**

TNF $\beta$  disebut juga lymphotoxin atau cytotoxic factor yang merupakan 25 kD glycoprotein yang diproduksi oleh subset sel Th1 CD4 $^+$  dan sel T sitotoksik CD8 $^+$ , setelah diaktivasi oleh antigen atau mitogen yang dipresentasikan oleh class I MHC, atau oleh sel B setelah diaktivasi oleh produk-produk bakteri misalnya LPS. (Howard, 1993; Abbas, 1994). Komponen aktif dari bakteri gram negatif adalah lipopolysacharide (LPS) molekul, disebut juga endotoxin, yang berasal dari dinding bakteri. Dalam kadar yang sedikit, LPS merangsang fungsi fagositosis monosit dan bekerja juga sebagai polyclonal aktifator sel B, suatu pertahanan tubuh yang mengeliminasi bakteri. IFN $\gamma$  yang diproduksi oleh sel T memperkuat sintesis TNF oleh sel mononuklear fagosit yang distimulasi oleh LPS.

TNF $\beta$  mempunyai efek terhadap bermacam-macam aktifitas biologi, induksi proliferasi dari bermacam-macam sel untuk membunuh yang lain, faktor yang menstimulasi sel B, merangsang proliferasi fibroblast, merupakan mediator sitotoksik untuk fungsi sitolitik sel T, helper-killer sel T, sel NK, sel LAK (Howard, 1994; Abbas, 1994).

### **2.9.19 CD4 $^+$ T cells ( Sel T CD4 $^+$ )**

CD4 adalah glycoprotein transmembrane dengan ukuran 55 kD, yang diekspresikan sebagai monomer pada permukaan sel T (sel T perifer), thymocyte (Abbas, 1994), sel T Peyer's patches (Mc Ghee, 1990; Kelsall,1999; McIntyre,



1999). Pada manusia juga ditemukan pada monosit dan makrofag. Fungsi dari sel T CD4+ pada awalnya ditunjukkan kemampuan anti CD4 antibodies untuk mengblokir MHC class II antigen yang menstimulasi sel T CD4+ baik in vivo atau in vitro.

Molekul CD4 mempunyai 2 fungsi penting dalam aktivasi sel T,

1. Molekul CD4 bertindak sebagai a *cell - cell adhesion molecule* dengan afinitasnya yang lebih spesifik untuk molekul MHC class II. Ikatan CD4 dengan molekul MHC class II akan menstabilisasi dan memperkuat interaksi antigen yang diekspresikan oleh molekul MHC class II pada APC dengan sel T melalui TCR.
2. Molekul CD4 merupakan signal transduksi atau memfasilitasi *TCR complex mediated signal transduction* pada ikatan molekul MHC class II yang mengakibatkan respon dari sel T (Abbas, 1994; ).

**a. Heterogenitas fungsi dari CD4+ T cells (Sel T CD4+)**

Telah diketahui ada hubungan timbal balik antara *cell mediated immunity* (CMI) dan imunitas humoral. Imunisasi sering kali mengoptimalkan respon DTH dan produksi antibodi yang rendah, atau sebaliknya.

Kenyataannya bahwa DTH dan produksi antibodi dilaksanakan oleh sel T CD4+.

Sel T CD4+ sendiri menunjukkan heterogenitas fungsi dari populasi sel T helper yang terbagi menjadi 2 macam menurut sitokin yang diproduksi (Taguchi, 1990; Abbas, 1994; Romagnani, 1997)

**b. Pola sitokin CD4+ T cells (Sel T CD4+) (mencit).**

Subset sel T helper dengan fungsi yang berbeda beda dalam sintesis sitokin, dikenali dari *clonal Th cells line* pada mencit. Subset tersebut adalah Th1 dan Th2

yang dibedakan dari produksi sitokin nya, klon Th1 yang teraktivasi membuat IL-2, IFN $\gamma$  , TNF $\beta$  , sedangkan klon sel Th2 membuat IL-4, IL-5, IL-6, IL-9 dan IL-10 pada mencit. Sitokin IL-3, GM-CSF (*Granulocyte Macrophage Colony Stimulating Factor*) dibuat oleh kedua subset. Oleh karena aktivitas sel T CD4+ dilaksanakan oleh sitokin yang diproduksinya, maka kedua subset tersebut mempunyai fungsi yang berbeda. Sel Th1 menjembatani DTH, mengaktivasi makrofag, dan melaksanakan bermacam-macam fungsi yang terkait dengan cell mediated immunity, walaupun membantu sel B tetapi peranannya kecil (Taguchi, 1990; Abbas, 1994). Sebaliknya Th2 lebih efisien dalam menstimulasi produksi Ig dan tidak menjembatani DTH atau *cell mediated immunity* yang lain (Abbas, 1994; Romagnani, 1997).

Subset ketiga adalah Th0 yang memproduksi IL-2, IL-4, IL-5, dan IFN $\gamma$  .

Klon dengan phenotype ini kebanyakan secara in vitro berasal dari sel T in vivo yang tak dirangsang, atau keberadaannya hanya sementara, selama proses pembentukan klon, mungkin sel Th0 merupakan prekursor Th1, Th2 (Romagnani, 1997). Dengan stimulasi antigen sel Th in vivo akan menjadi Th1, Th2, yang dibedakan dari sitokin yang diproduksi. Beberapa macam antigen atau patogen menstimulasi populasi Th dengan pola sitokin nya yang mirip dengan clone Th1, Th2.

#### **2.9.20 CD8+ T cells (Sel T CD8+)**

Struktur molekul CD8 bervariasi diantara spesies dan mempunyai tingkat yang berbeda-beda dalam proses maturasi dari sel T.

Sel T pada darah manusia, molekul CD mengandung ikatan disulfide heterodimer dari 2 macam glycoprotein 32-34 kD yang disebut CD8 IFN $\alpha$  dan CD8 $\beta$  atau homodimer CD8 $\alpha$ . Kebanyakan antibodi yang dipakai untuk mengenali epitope CD8 manusia adalah CD8 $\alpha$ . Pada mencit (mice) molekul CD8 tersusun dari heterodimer homologus terhadap CD8 $\alpha\beta$  heterodimer. CD8 $\alpha$  dan CD8 $\beta$  adalah anggota dari Ig superfamily dengan N terminal extracelular Ig V like domin, connecting peptide, hydrophobic transmembrane region, dan basic cytoplasmic tail dari 25-27 amino acids (Abbas, 1994).

Molekul CD8 mempunyai fungsi :

1. CD8 melaksanakan *cell - cell adhesion molecule* melalui ikatan dengan nonpolymorphic immunoglobulin like  $\alpha 3$  domain dari class I MHC restricted T cell (CTL dengan sel target, yang menampilkan antigen melalui *class I MHC molecule*. Anti CD8 antibody dapat mengeblok pembentukan ikatan *class I MHC restricted CTL cell* dan *class I MHC expressing target cell*, sehingga menghambat aktivitas sitolitik.
2. Molekul CD8 menstranduksi signal atau memfasilitasi TCR : CD3 mediated signal transduction melalui ikatan class I MHC molecule sehingga akan merangsang respon fungsional dari class I MHC - restricted T cells. Koagregasi CD8 dan TCR complex dengan bifunctional monoclonal antibodies akan meningkatkan aktivasi sel T, sedangkan pemisahan CD8 dari TCR complex akan menghambat aktivasi sel T (Abbas, 1994; Tizard, 1995).

## Respons imun

Respons imun adalah suatu tahapan proses kejadian yang teregulasi dengan sangat kompleks yang melibatkan beberapa tipe sel, sel yang menampilkan antigen (APC antigen presenting cells), sel T (*thymus derived lymphocytes*), sel B (*bone marrow derived lymphocytes*) sel - sel tersebut mengadakan interaksi satu sama lain baik langsung atau melalui mediator interleukin. Sistem imun dapat berhubungan dengan sistem komplemen, sistem pembekuan dan sistem fibrinolitik. (Stites, 1991; Kulby, 1992; Austyn, 1994; Tizard, 1995; Peackman, 1997; Stites, 1997;)

Untuk membangkitkan respons imun yang efektif diperlukan adanya antigen (Ag) yang bersifat asing dan ditampilkan sedemikian rupa oleh *antigen presenting cells* (APC) yang sebelumnya telah mengalami proses yang cukup kompleks sehingga mudah dikenali oleh sistem imun sebagai ancaman, antigen ditampilkan secara efisien oleh *antigen presenting cells* (APC) akan dikenali oleh sel T helper. Sel T helper tersebut menjadi aktif yang selanjutnya akan memicu aktivasi sel limfosit yang lain, yaitu sel B dan sel T sitotoksik. Limfosit yang telah aktif akan mengadakan proliferasi dan menjalankan fungsi efekturnya yang spesifik..dengan tujuan akhir untuk melenyapkan antigen baik yang bebas maupun yang terkait dengan sel. Setiap step ini diregulasi oleh sistem signal yang terdapat dalam sel sistem imun yang dibangkitkan dari lingkungannya. Signal ditangkap oleh sel melalui reseptor untuk Ag, reseptor untuk sitokin, reseptor untuk protein matrik ekstraseluler, dan reseptor untuk molekul permukaan sel (*cells surface molecules*) yang diekspresikan oleh limfosit, APC, dan sel endotel atau sel epitel.(Tizard, 1995; Stites, 1997). Sel yang menerima signal akan memberikan respon bermacam macam

dalam bentuk aktivasi, proliferasi dan diferensiasi sel efektor dan relokasi dari sel atau produknya ketempat dimana harus menjalankan fungsinya. Signal tersebut harus ditransduksikan melalui membran plasma dan sitoplasma untuk mencapai nukleus, dengan tujuan akhir untuk aktivasi transkripsi, translasi dan produksi akhir spesifik protein biologis (Stites, 1997).

### **Respons imun mukosa**

Sistem imun mukosa yang memberi perlindungan gastrointestinal tract sangat unik, sistem ini tampaknya tidak tergantung pada sistem imun sistemik. (Brandtzaeg 1989, Cebra, 1994; Kelsall, 1999). Limfosit yang melapisi mukosa usus harus mampu bertahan terhadap serangan infeksi patogen, sedangkan dilain pihak harus mengijinkan absorpsi partikel makanan yang mungkin bersifat antigenik. Pemberian antigen secara parenteral akan mengaktifasi limfosit, sedangkan pemberian antigen yang sama per oral akan menyebabkan supresi respons imun sistemik. Pusat regulasi sistem imun mukosa terletak pada sel T yang terdapat di epitel, *intraepithelial lymphocyte (IEL)*, di lamina propria, *lamina propria lymphocyte (LPL)*, dan di Peyer`s patches sel T di zona interfolikuler PP (Cebra, 1994; Kelsall, 1999)). Peranan yang utama adalah membantu diferensiasi sel B menjadi plasma sel yang terutama memproduksi IgA dan membangkitkan sel T supresor.

Untuk membangkitkan respons imun mukosa, antigen yang masuk akan berinteraksi dengan barrier epitel mukosa. Patogen akan mengadakan replikasi di permukaan mukosa dan sebagian mengadakan penetrasi kedalam epitel dan mengadakan replikasi didalam host. Sel target yang dituju adalah sel M yang terdapat pada permukaan Peyer`s patches.

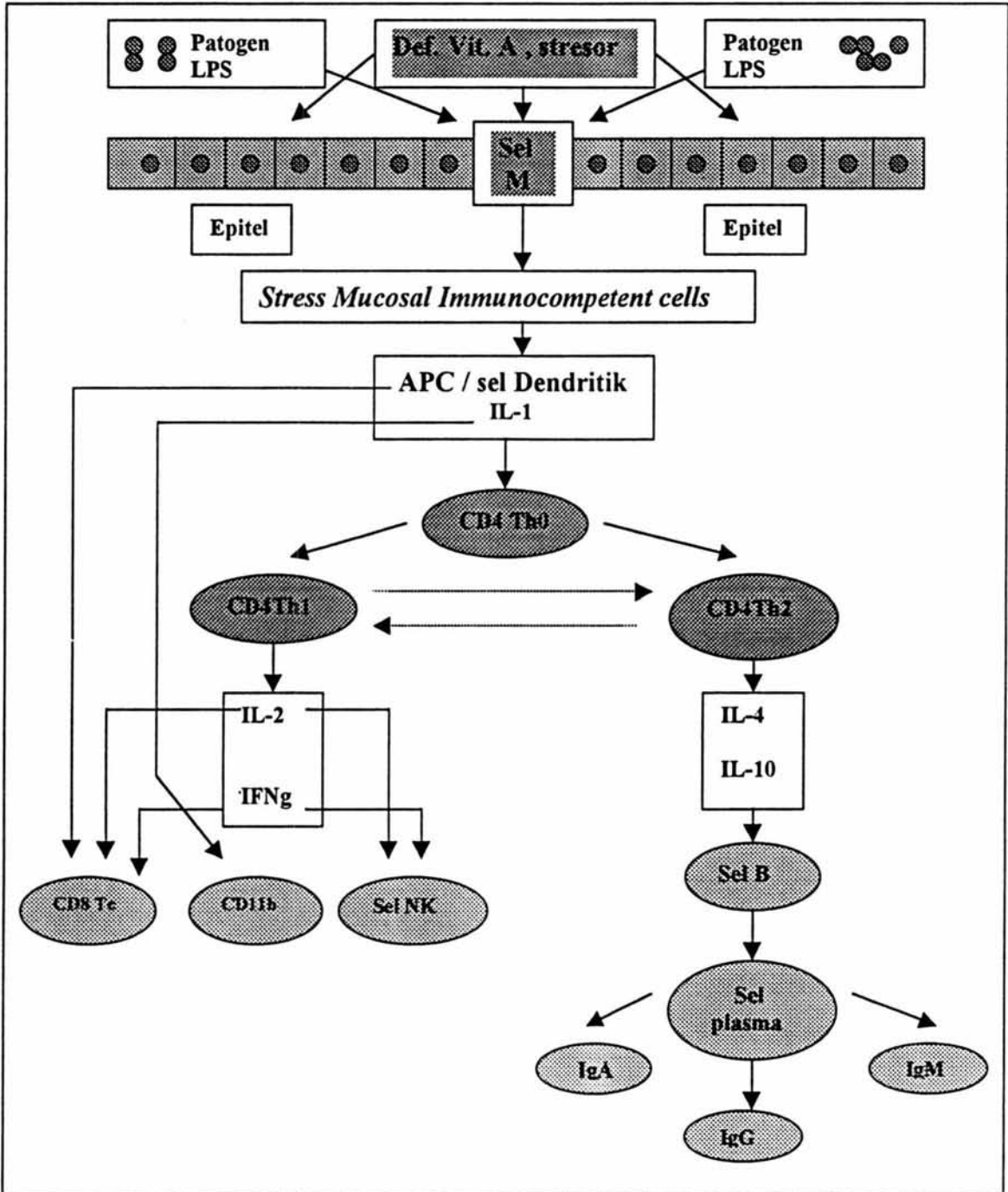
Peyer's patches disebut sebagai daerah khusus untuk memulai respons imun mukosal. sehingga disebut sebagai daerah induksi. ( Soesatyo, 1990; Dobbelsteen, 1994; James, 1994; Kelsall, 1999)

Setelah menempel pada sel M patogen akan mengalami internalisasi oleh sel M, hal ini merupakan tahap awal mekanisme sampling antigen untuk membangkitkan respons imun mukosa. Pemilihan perlekatan yang lebih kuat terhadap sel M didaerah Peyer's patches dibandingkan perlekatan terhadap enterocyte dicirikan melalui mekanisme spesifik induksi pembentukan *actin pedestral structure* pada permukaan apical sel M. Kebanyakan patogen mempunyai mekanisme perlekatan spesifik terhadap sel M misalnya, E.coli, Salmonella, Shigella, dan kebanyakan *enteric viral pathogens*.(James, 1994). Makromolekul, molekul kecil atau partikel, maupun protozoa juga dapat diambil oleh sel M (Soesatyo, 1990; James, 1994). Jadi sel ini mempunyai kapasitas untuk transport berbagai macam patogen yang berada didalam lumen usus masuk kedalam jaringan limfoid dibawahnya. Meskipun sel M mampu untuk mengambil hampir semua macam patogen dari lumen, tetapi dalam keadaan normal proses transport berjalan sangat selektif, flora usus normal tidak terambil oleh sel M tanpa adanya proses patologis. Patogen yang sampai di jaringan limfoid Peyer's patches berarti respons imun mukosal usus telah dimulai. Patogen akan bertemu dengan sel dendritik (DC), sel makrofag, sel T CD4+ dan sel B, dimana terjadi interaksi antara DC dan sel T, atau sel T dan sel B. Alternatif yang lain adalah DC prematur memfagositosis mikroorganisme atau mengambil antigen yang larut dan migrasi ke regio interfolikular atau ke folikel sel B dan memulai respons imun didaerah ini (Kelsall, 1999)

BAB 3

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konseptual Penelitian



### Penjelasan kerangka konseptual

Kerangka konseptual penelitian tersebut diatas merupakan pegangan dan pengarah untuk melakukan penelitian yang menggunakan paradigma patobiologis sistem imun mukosa yang berkonsep pada *stress immunocompetent cells*.

Paradigma patobiologi adalah model berpikir yang didasarkan pada perubahan biologis yang merugikan sebagai akibat dari interaksi antara individu dan lingkungannya, dalam hal ini pengertian individu termasuk juga individu sel yang mengadakan interaksi dengan lingkungannya. Pengertian konsep *stress cell* yang dimaksud adalah adanya interaksional dan transaksional antara sel dan lingkungannya. Sel imunokompeten akan mengalami stres sebagai akibat dari lingkungan yang kekurangan vitamin A. sehingga sel tersebut akan mengalami perubahan perilaku dan fungsi bilamana mendapat paparan dengan antigen. dengan akibat terjadinya perubahan respons imun yang dilaksanakan oleh sel imunokompeten.

Untuk mendapatkan variabel yang bersumber dari kerangka konseptual penelitian digunakan rancangan *ekperimental* dengan jenis *the post test only control group design*

Untuk mengempirikan variabel yang ada pada kerangka konsep menjadi data penelitian yang dapat dianalisis, digunakan prosedur imunohistokimia yang mendasarkan pada konsep morfofungsi. (Putra 1990)

Untuk melihat gangguan respons imun pada mukosa maka perlu dibandingkan antara kelompok yang mengalami defisiensi vitamin A, kelompok kontrol dan kelompok defisiensi vitamin A yang telah mendapat terapi vitamin A yang masing masing setelah mendapat paparan dengan antigen (LPS).



Untuk menggambarkan perubahan respons imun mukosa sebagai akibat dari pengaruh defisiensi vitamin A (*stressor*) dibuat pola.

### 3.2 Hipotesis Penelitian

1. Ada penurunan status imun mukosa usus pada defisiensi vitamin A dan perbaikan setelah pemberian vitamin A
2. Ada penurunan respons imun mukosa usus pada defisiensi vitamin A dan perbaikan setelah pemberian vitamin A
3. Ada perbedaan model imunopatobiogenesis status imun antara mukosa usus yang defisiensi vitamin A dan yang mendapat terapi vitamin A.
4. Ada perbedaan model imunopatobiogenesis respons imun antara mukosa usus yang defisiensi vitamin A dan yang mendapat terapi vitamin A .

## B A B 4

### METODE PENELITIAN

#### 4.1. Metode Penelitian

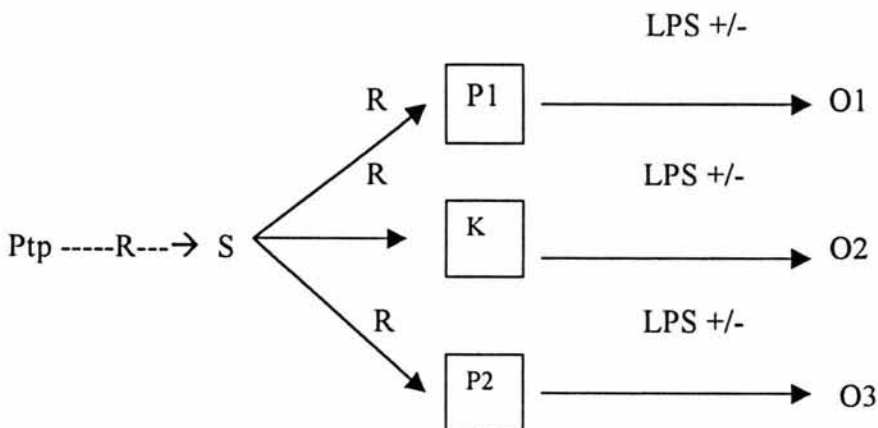
##### 4.1.1 Jenis penelitian

Jenis penelitian yang digunakan untuk melaksanakan penelitian ini adalah studi eksperimental murni. Rancang bangun penelitian jenis ini adalah sangat baik untuk melihat suatu efek perlakuan dan menghasilkan data dengan kualitas tinggi. Pada studi ini paparan dapat direkyasa oleh peneliti.pada subyek yang telah ditentukan (Pudjirahardjo, 1993). Digunakannya studi eksperimental ini oleh karena peneliti akan melihat pengaruh paparan defisiensi vitamin A terhadap respons imun mukosa usus, paparan tersebut diberikan pada kelompok perlakuan defisiensi vitamin A (def.A) dan kelompok perlakuan defisiensi vitamin A yang diberikan terapi vitamin A (terapi A) yang dibandingkan dengan kelompok kontrol, untuk selanjutnya dicari perbedaan respons imun antara kelompok perlakuan (def.A) dan kontrol serta kelompok (terapi A) dan kelompok kontrol. Randomisasi dilakukan pada saat pembagian sampel pada kelompok. Kelompok kontrol diperlukan disini untuk menambah validitas data penelitian (Pudjirahardjo,1993; Zainuddin, 1999) Data didapatkan dengan pengamatan dan hasil pengamatan dianalisa secara statistik inferensial dan dijelaskan hubungan antar variabelnya.

#### 4.1.2 Rancangan penelitian

Untuk memecahkan masalah penelitian digunakan studi eksperimental dengan rancangan *The post test only control group design*.

Rancangan tersebut dipilih dengan asumsi bahwa di dalam suatu populasi tertentu tiap unit populasi adalah homogen yaitu semua karakteristik antar unit populasi adalah sama. Pengukuran awal tidak dilakukan oleh karena dianggap sama untuk semua kelompok yang berasal dari satu populasi, sehingga dapat dikembangkan rancangan eksperimental tanpa ada pengukuran awal (pretes) tetapi hanya pengukuran akhir (Pudirahardjo, 1993; Zainuddin, 1999).



Keterangan :

Ptp : Populasi tikus putih (100 ekor)

S : Sampel (60 ekor)

R : Randomisasi tikus putih

P1 : Kelompok tikus putih yang dibuat defisiensi vitamin A

K : Kelompok kontrol

P2 : Kelompok tikus putih yang dibuat defisiensi vitamin A yang kemudian

diberi terapi vitamin A

O1,O2,O3 : Observasi dalam kelompok setelah diberi perlakuan

LPS : Paparan antigen dengan menggunakan *Lipopolysaccharide*

#### **4.1.3 Pendekatan**

Dalam penelitian ini digunakan paradigma patobiologis yang berkonsep *stress immunocompetent cells*, sel imunokompeten yang mengalami stres akibat defisiensi vitamin A. Sel tersebut akan mengalami perubahan respons imun mukosal setelah mendapat paparan antigen. Perubahan tersebut secara morfofungsi akan dapat dipolakan untuk mengetahui kontribusi dari masing masing variabel respons imun terhadap aktifitas biologisnya. Oleh karena variabel respons imun banyak (multivariabel) maka uji statistiknya akan menggunakan analisis multivariat dan analisis diskreminan.

Pola gangguan respons imun mukosa dianalisis dari :

1. Hasil uji diskreminan P1
2. Hasil uji diskreminan P2
3. Hasil uji diskreminan K untuk perbandingan

#### **4.2 Populasi, sampel dan besar sampel**

##### **4.2.1 Populasi**

Populasi penelitian adalah tikus putih jenis Wistar yang dibeli dari pusat pengembangan hewan penelitian Yogyakarta.

#### 4.2.2 Sampel

Sampel penelitian menggunakan tikus putih jenis Wistar secara fisik dipilih yang jantan dan sehat dengan berat badan berkisar 100 gram. Pemilihan tikus yang berumur 3 minggu dimaksudkan masih bayi tetapi sudah disapih yang akan dibuat defisiensi vitamin A dan dipilih hanya jenis jantan supaya tidak terjadi kehamilan yang dapat mengacaukan penelitian.

Untuk meyakinkan bahwa semua anggota kelompok berasal dari populasi yang homogen maka dilakukan randomisasi dengan metode simple random sampling dengan menggunakan tabel random. Dari 100 ekor populasi tikus putih diperoleh 60 ekor. Sample penelitian dibagi secara random menjadi 3 kelompok.

Kelompok I : Kelompok perlakuan : hewan coba dibuat defisiensi vitamin A.

Kelompok II : Kelompok kontrol : hewan coba diberi makanan normal.

Kelompok III : Kelompok perlakuan : hewan coba dibuat defisiensi vitamin A dan kemudian diterapi dengan vitamin A.

Masing-masing kelompok sebanyak 20 ekor dibagi menjadi 2 subkelompok (10 ekor setiap subkelompok), dimana subkelompok 1 diberi stimulasi dengan LPS dan subkelompok 2 tanpa diberi stimulasi LPS.

#### 4.2.3 Besar sampel (Hulley, 1988)

Uji banding 2 kelompok Estimasi mean

Pertanyaan penelitian adalah membandingkan pengaruh defisiensi vitamin A dan tanpa defisiensi vitamin A terhadap respons imun mukosa usus pada tikus. Variabel tergantung (salah satu) adalah jumlah sel plasma penghasil IgA diperkirakan  $75/\text{mm}^2$

mukosa usus (60% dari normal) dengan SD : 8. Peneliti akan mampu untuk mengetahui perbedaan sebanyak 10% atau lebih dari mean sel plasma penghasil IgA diantara kedua group.

Besarnya nilai  $\alpha$  (two tailed) = 0.05 dan power = 0.80.

Hipotesis alternatif : ada perbedaan mean sel plasma penghasil IgA antara defisiensi vitamin A dan tanpa defisiensi vitamin A. Effect size = 7.5 (10% X 75)

Standardized effect size = effect size dibagi SD =  $7.5 / 8 = 0.9$

$\alpha$  (two tailed) = 0.05  $\beta = 1 - 0.8 = 0.2$  ( $\beta = 1 - \text{power}$ ).

Dengan melihat tabel ditemukan besar sampel adalah 19. Dibulatkan 20.

#### 4.3 Tehnik Pengambilan Sampel

Penggunaan metode *simple random sampling* didasarkan pada alasan bahwa walaupun populasi tikus putih dalam kandang pemeliharaan diusahakan dalam kondisi yang sama dalam hal makanan dan minuman, situasi kandang, jenis, spesies, dan umur tetapi masih terdapat perbedaan (variasi) berat badan. Perbedaan berat badan setara dengan perbedaan sel sel imunokompeten dalam tubuh.

Randomisasi pengambilan sampel dilakukan dengan menggunakan tabel bilangan random : populasi tikus yang berumur 3 minggu dengan berat badan berkisar 100 gram, diberi nomor mulai dari 001 sampai 100.

Oleh karena terdiri dari 3 kelompok maka dipakai :

Kelompok ( P1 ) A : untuk digit 1 - 3

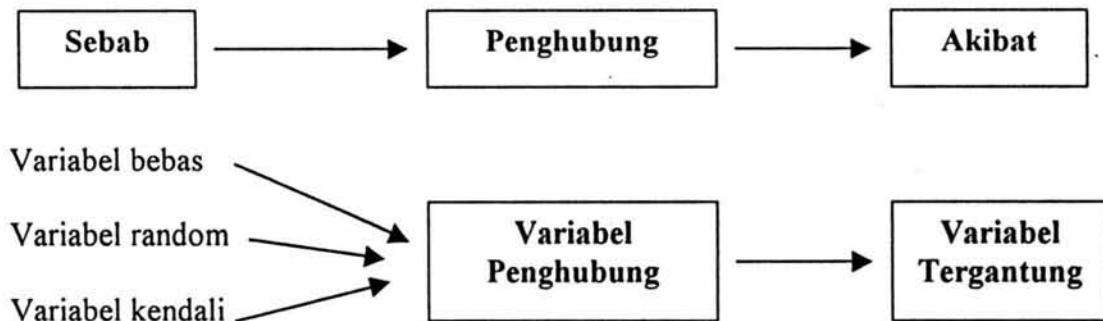
Kelompok ( K ) B : untuk digit 4 - 6

Kelompok ( P2 ) C : untuk digit 7 - 9 digit 0 diabaikan

Sehingga diperoleh 20 ekor tiap kelompok.

#### 4.4 Identifikasi dan Pengukuran Variabel

##### 4.4.1 Skema hubungan antar variabel



##### 4.4.2 Klasifikasi variabel penelitian

1. **Variabel bebas** : a) Defisiensi vitamin A, pembuatan hewan coba menjadi defisiensi vitamin A dengan pemberian diet khusus yang tidak dan sedikit mengandung vitamin A dengan menggunakan protokol khusus kemudian diterapi dengan vitamin A. b) Paparan dengan LPS untuk membangkitkan respons imun.
2. **Variabel random** : Berat badan dan umur tikus putih.
3. **Variabel kendali** : 1.tikus putih jantan (Wistar), 2.kandang tikus, 3.pakan pelet, 4.Minuman air, 5.pemeliharaan tikus putih, 6.metode pemeriksaan, cara pemberian dan dosis bahan paparan.
4. **Variabel penghubung** : Cara kerja LPS dalam membangkitkan respons imun.
5. **Variabel tergantung** : Variabel tergantung adalah variabel yang akan diteliti. Variabel tersebut adalah variabel yang dapat mencerminkan konsep *stress immunocompetent cells* sehingga terjadi perubahan respons imun mukosa. Variabel yang dimaksud adalah : (1) APC/Sel dendritik, (2) Sel CD11b, (3) Sel NK, (4) Sel T

CD4, (5) Sel T CD8, (6) STp IFN $\gamma$ , (7) STp IL-2, (8) STp IL-4, (9) STp IL-10, (10) SPp IgA, (11) SPp IgG, (12) SPp IgM.

#### 4.4.3 Definisi operasional variabel

1. Paparan LPS adalah : Pemberian larutan LPS 50 $\mu$ g/ml dengan dosis 250 $\mu$ g/kg bb melalui sonde. Paparan LPS tersebut dimaksudkan untuk membangkitkan respons imun pada sistem imun mukosa.
2. Defisiensi vitamin A adalah : kadar vitamin A plasma < 20  $\mu$ g/dl
3. Paradigma Patobiologis pada sistem imun mukosa yang berkonsep *stress immunocompetent cell* adalah model berfikir yang berdasar pada perubahan biologis sistem imun mukosa yang merugikan yang disebabkan oleh karena sel immunokompeten mengalami stres.
4. Daerah induktif adalah : daerah mukosa usus yang mengandung Peyer`s patches, yang pada pemeriksaan mikroskop tampak sebagai kumpulan jaringan limfoid
5. Daerah efektor adalah : daerah mukosa usus diluar Peyer`s patches
6. SIM (status imun mukosa) adalah : interaksi antara komponen sistem imun mukosa usus yang tidak mendapat paparan LPS
7. RIM (respons imun mukosa) adalah : interaksi antara komponen sistem imun mukosa usus yang mendapat paparan LPS
8. Immunopatobiogenesis adalah : proses kejadian respons imun yang tidak lazim.
9. Immunopatobiogenesis pada defisiensi vitamin A adalah : proses kejadian perubahan respons imun yang tidak lazim pada defisiensi vitamin A.
10. Pendekatan morfofungsional adalah suatu pendekatan yang berdasarkan konsep



patobiologik dan imunopatologik yang bertujuan untuk dapat mengungkapkan perubahan-perubahan pada sejumlah komponen respons imun yang dicerminkan dari perubahan imunopatologiknya (Putra, 1990).

Pendekatan yang digunakan untuk menampilkan variabel yang diteliti dalam penelitian ini adalah pendekatan morfofungsional.

#### **4.4.4 Materi Penelitian**

1. Hewan yang dipakai dalam penelitian ini adalah tikus putih strain Wistar yang diperoleh dari pusat pengembangan hewan percobaan UGM. Tikus putih yang berumur 3 minggu yang baru lepas dari penyapihan.  
Untuk unit analisisnya digunakan mukosa usus yang mengandung Peyer's patches yang diproses secara imunohistokimia untuk menampilkan variabelnya.
2. Vitamin A tablet produk dari Kimia Farma. Tiap Tablet mengandung 6000 IU.
3. LPS adalah *Lipopolysaccharide* yang berasal dari E.Coli serotype 026B6 suatu endotoksin yang dipakai untuk membangkitkan respons imun pada sistem imun mukosa yang dibeli dari Sigma.
4. Antibodi monoklonal spesifik, dibeli dari berbagai sumber di luar negeri.

#### **4.5 Tata laksana Penelitian**

##### **4.5.1 Pemeliharaan hewan percobaan**

Tikus putih dipelihara sebaik baiknya menurut persyaratan yang telah ada untuk memperoleh kondisi dan persyaratan yang sesuai untuk penelitian imunologi.

Tikus putih yang telah dipilih secara random dimasukkan kedalam kandang selama 1 minggu supaya terjadi penyesuaian lingkungan yang stabil sebelum dipakai untuk pengujian penelitian.

#### 1. Kandang hewan percobaan

Tikus putih dimasukkan kedalam bak plastik yang berukuran 50 x 40 x 20 cm, ditutup dengan anyaman kawat, dasar bak diberi alas sekam.

Sebelum digunakan bak tersebut dibersihkan dengan alkohol 70%, sedangkan sekam dioven pada suhu 160 derajat Celcius selama 2 jam dan disimpan dalam tempat yang bersih dan rapat. Bak / kurungan tikus tersebut ditempatkan dalam kandang hewan coba yang telah memenuhi syarat di Laboratorium Biokimia FK.Unair.

#### 2. Makanan hewan percobaan

Selama pemeliharaan dan pengujian hewan coba tikus putih diberikan makanan khusus untuk kelompok defisiensi vitamin A dan makanan normal untuk kelompok kontrol. Bahan baku pakan tikus dibeli dari PT.Pockpan Surabaya.

Makanan tikus diberikan secara *ad libitum*, ditempatkan disetiap kurungan tikus sesuai dengan kelompoknya, kelompok defisiensi vitamin A, kelompok kontrol, untuk kelompok terapi setelah selesai pembuatan defisiensi vitamin A kemudian diberikan terapi vitamin A.

**Tabel 4.1 Komposisi pakan tikus bebas vitamin A**

| Jenis bahan  | Perbanding<br>an bahan | Protein | Lemak | Kalori   | Metionin | Lisin | Vit.A |
|--------------|------------------------|---------|-------|----------|----------|-------|-------|
|              |                        | %       | %     | Kkal/ kg | %        | %     | IU/gr |
| Beras *      | 35                     | 11      | 12    | 3,300    | 0,18     | 0,49  | 0     |
| Tepung ikan  | 21,5                   | 60      | 7     | 2,860    | 1,5      | 3,9   | 0     |
| B.kedelai    | 8,5                    | 41      | 7,6   | 2,310    | 1,6      | 2     | 0     |
| T.terigu     | 18                     | 25      | 7     | 3,000    | 0,42     | 1,37  | 0     |
| Kacang hijau | 8                      | 25,7    | 1,4   | 2,370    | 0,25     | 1,52  | 0     |
| M.babi       | 2                      | -       | 90,4  | 7,700    | -        | -     | -     |
| MBM          | 5                      | 45      | 8,5   | 1,716    | 0,53     | 2,2   | -     |
| Di Cap       | 1                      |         |       |          |          |       |       |
| Premix ***   | 1                      |         |       |          |          |       |       |
| Jumlah       | 100                    | 29,32   | 9,85  | 29,65    | 0,65     | 1,68  | 0     |

\* Berdasarkan pada formulasi tesis Ishananto

\*\*\* Premix, formula improved OMFAC (CIBA- GEIGY Ltd Basel Switcherland

Diet bebas vitamin A : formula bebas vitamin A

Diet rendah vitamin A : formula bebas vitamin A + vit.A 2 – 2.5 mcg / gram makanan (2000 – 2500 mcg /kg makanan)

Diet normal : formula bebas vitamin A + vit.A 4 – 5 mcg / gram makanan (5000 mcg / kg makanan)

**Tabel 4.2 Komposisi OMAVAC improved (Ciba Geigy Basel Switcherland****Komposisi : Protein 27%, Lemak 2.8%, Serat 5%, Ca 0.75%, P 0,8%, Nacl 1%**

| Kandungan asam amino % |      | Tiap kg mengandung : µg |       |
|------------------------|------|-------------------------|-------|
| Alanina                | 0.75 | B1                      | 4000  |
| Arginina               | 1.3  | B2                      | 23000 |
| Asam aspartat          | 1.2  | B6                      | 12000 |
| Sistina                | 0.5  | B12                     | 2     |
| Asam glutamat          | 2    | Asam pantotenat         | 8000  |
| Glisina                | 2.5  | PP                      | 50    |
| Histidina              | 0.6  | Asam folat              | 500   |
| Isoleusina             | 1.15 | Biotin                  | 300   |
| Leusina                | 1.8  | E                       | 20    |
| Lisina                 | 0.8  | Kolina                  | 2000  |
| Metionina              | 0.4  | Inositol                | 3000  |
| Fenilalanina           | 0.75 | Besi                    | 240   |
| Prolina                | 0.6  | Tembaga                 | 30    |
| Serina                 | 0.5  | Mangan                  | 25    |
| Treonina               | 0.9  | Seng                    | 60    |
| Triptofan              | 0.21 | Kobalt                  | 50    |
| Tirosina               | 0.65 | Selenium                | 200   |
| Valina                 | 1.35 |                         |       |

OMAVAC improved suatu pelengkap makanan unggas dan ternak yang baru yang diproduksi dan dipasarkan melalui berbagai uji biologis, kaya akan asam amino pada tingkat protein yang tinggi.

### 3. Minuman hewan uji

Selama pemeliharaan dan pengujian hewan coba diberikan minum air ad libitum yang ditaruh dalam botol yang ditempatkan diatas kurungan..

#### 4.5.2 Persiapan hewan uji

Tikus putih diambil secara random dimasukan kedalam kandang hewan coba, 20 ekor untuk kelompok defisiensi, 20 ekor untuk kelompok kontrol dan 20 ekor untuk kelompok defisiensi yang mendapat terapi vitamin A. Pembuatan defisiensi vitamin A sesuai dengan protokol (Sirisinha 1980). Setiap hari tikus putih ditimbang

dan konsumsi makanan diukur setiap 3 hari, secara fisik setiap hari diamati kesehatannya untuk melihat ada yang sakit atau tidak. Proses pembuatan defisiensi vitamin A memerlukan waktu 3 bulan.

#### **4.5.3 Penangan selama pengujian**

Setelah proses pembuatan defisiensi selesai kelompok III diberikan terapi vitamin A secara oral dengan dosis 2 x 500 $\mu$ g vitamin A dengan interval 1 hari.

Untuk membangkitkan respons imun mukosa setiap tikus putih diberikan paparan dengan LPS sebanyak 2 x 250  $\mu$ g/kg bb secara perorane dengan interval 7 hari. Jumlah tikus putih yang diberi paparan dengan LPS sebanyak 10 ekor (1/2 jumlah dari masing masing kelompok). Tiga hari kemudian setelah paparan dengan LPS yang terakhir tikus putih dimatikan dengan cara pembiusan yang sebelumnya diambil darahnya untuk pemeriksaan kadar vitamin A.

Kemudian dibuka perutnya untuk diambil usus halus bagian ileum yang banyak mengandung Peyer's patches yang secara makroskopik dicirikan sebagai benjolan kecil berwarna keputihan. Ileum yang mengandung Peyer's patches dipotong kecil kecil selanjutnya disimpan dalam suhu -80 derajat Celcius sebelum dilakukan pemeriksaan imunohistokimia dilaboratorium seksi Patobiologi, Laboratorium Patologi Anatomi FK Unair.

#### **4.5.4 Prosedur pengecatan imunohistokimia**

Sebelum dilakukan penyayatan dengan Cryostat sampel jaringan segar diblok dengan medium blok tissue tek II, untuk mendapatkan sayatan yang bagus setebal 8  $\mu$ m (5-10  $\mu$ m) suhu dalam ruang Cryostat dipertahankan - 25 s/d - 30 derajat

Celcius. Setelah disayat sampel dikeringkan dalam suhu ruangan selama 10 menit kemudian difiksasi dengan aceton 100% selama 10 menit kemudian disimpan sebelum dilakukan pemeriksaan imunohistokimia.

Sampel dalam slide dibatasi dengan Dako Pen, kemudian ditetesi dengan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3% selama 2-3 menit selanjutnya direndam dalam PBS (PH 7.2-7.4) selama 1-2 menit, diulang sebanyak 3 kali. Kemudian ditetesi dengan tripsin ditunggu 6 menit pada suhu 37 derajat C, dicuci dengan PBS 3 kali masing masing 1-2 menit. Tahap selanjutnya sampel ditetesi dengan antibodi primer (yang dikehendaki) inkubasi selama 30 menit pada suhu kamar, kemudian dicuci dengan PBS 1-2 menit, diulangi sebanyak 3 kali. Tahap berikutnya adalah ditetesi dengan antibodi sekunder (*Biotynilated antibody label* sering disebut *Link antibody*), inkubasi selama 15 menit kemudian dicuci dengan PBS 3 menit diulang 3 kali. Tahap berikutnya adalah ditetesi dengan streptavidin diinkubasikan selama 15 menit, kemudian dicuci dengan PBS 3 menit diulang 3 kali. Tahap berikutnya sampel ditetesi dengan larutan Chromogen (2 ml substrat ditambah 1 tetes Chromogen ) diinkubasikan selama 5 menit kemudian dicuci dengan PBS 3 menit diulang 3 kali, dibilas dengan aquadestilata dan dicuci dengan air kran..Setelah selesai tahap ini sampel direndam dalam larutan HE Meyer selama 10-15 menit kemudian dicelupkan 10 kali dalam air, kemudian dijernihkan dengan xylol.. Tahap terakhir adalah sampel ditetesi mounting medium dengan entelan dan ditutup cover glass, untuk pemeriksaan mikroskop (Soesatyo M, 1990; Yuliati, 1997).

Bahan untuk pemeriksaan imunohistokimia (metode indirek 3 tahap / LSB)

1. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3%
2. Tripsin 0.025%
3. Antibodi monoklonal terhadap variabel yang diperiksa lihat tabel.
4. PBS mines (PH : 7,4)
5. Streptavidin peroksidase
6. Chromogen (DAB)
7. Meyer`s Haematoxylin
8. Ethanol
9. Xylol
10. Entelan

Peralatan mikroskop

Mikroskop yang dipakai pada penelitian ini adalah merk Nikon yang dilengkapi dengan lensa untuk pembesaran 40x, 100x, 1000x, graticulae 10 x 10.

Daerah pengamatan

Daerah induktif : adalah Peyer`s patches, suatu daerah kumpulan jaringan limfoid yang berbatas jelas, mengandung germinal senter.

Daerah efektor : adalah lamina propria, daerah mukosa usus diluar daerah induktif.

Cara penghitungan sel :

Pada pemeriksaan mikroskop tahap awal adalah untuk orientasi daerah yang akan diperiksa digunakan pembesaran 40x sehingga tampak daerah induktif dan daerah efektor, selanjutnya digunakan pembesaran 400x – 1000x untuk identifikasi sel yang dimaksud. Pewarnaan dengan chromogen (DAB) akan memberikan warna kecoklatan pada sel yang mengandung antigen antibodi kompleks.

Sel yang berada didaerah induktif seluruhnya dihitung jumlahnya dengan bantuan graticulae yang berukuran 10 x 10 kotak, demikian juga seluruh sel yang berada didaerah efektor juga dihitung. Sel yang dimaksud adalah sel yang mengandung sitoplasma yang berwarna kecoklatan. Sel yang dinilai positif adalah warna kecoklatan berbentuk bulat lonjong yang hampir mengisi seluruh sitoplasma atau hanya berbentuk bulan sabit. Sel yang diidentifikasi adalah sesuai dengan monoklonal antibodi spesifik yang dipakai. Pada penelitian ini menggunakan kontrol negatif internal (internal negative control), dimana sel berwarna biru yang berarti tidak mengandung antigen antibodi kompleks.

#### **4.6 Tempat dan Waktu Penelitian**

##### **4.6.1 Tempat penelitian**

Penelitian dikerjakan di :

1. Laboratorium Biokimia FK Unair untuk pembuatan defisiensi vitamin A pada hewan coba dan pengambilan sample penelitian setelah hewan coba dimatikan.



2. Seksi Patologi Anatomi, Laboratorium Patologi Anatomi FK Unair di RS.Dr.Soetomo untuk mengerjakan sayatan sampel penelitian dengan cryostat.
3. Laboratorium TDC FK Unair untuk mengerjakan preparasi pemeriksaan vitamin A.
4. Laboratorium Anatomi dan Histologi FK Unair untuk melakukan pemotretan hasil pengecatan imunohistokimia.
5. Seksi Patobiologi, Laboratorium Patologi Anatomi FK Unair untuk melakukan pengecatan imunohistokimia.

#### **4.6.2 Waktu penelitian**

Waktu penelitian samapai selesainya pelaporan hasil penelitian memerlukan waktu selama 36 bulan dengan rincian sebagai berikut :

1. Studi Pustaka 6 bulan
2. Persiapan bahan penelitian 4 bulan
3. Persiapan tempat penelitian 2 bulan
4. Pembuatan kurungan tikus 2 bulan
5. Pelaksanaan penelitian hewan coba 5 bulan
6. Pemeriksaan imunohistokimia 5 bulan
7. Pemeriksaan kadar vitamin A 4 bulan
8. Pengumpulan, pengolahan dan analisis hasil penelitian 4 bulan
9. Penulisan hasil penelitian 4 bulan

#### **4.7 Prosedur Pengambilan atau Pengumpulan Data**

Prosedur pengambilan atau pengumpulan data telah dimulai sejak awal proses penelitian. Mulai dari randomisasi hewan coba untuk memperoleh kelompok kelompok perlakuan, prosedur pembuatan defisiensi vitamin A, setiap hari tikus putih selalu ditimbang berat badannya, jumlah makanan yang dimakan dihitung, pemeriksaan fisik tikus putih untuk melihat adanya kesakitan, prosedur pemberian terapi vitamin A, paparan antigen LPS, cara mematikan hewan coba dan proses pengambilan darah untuk pemeriksaan kadar vitamin A, dan pengambilan usus halus Ileum yang mengandung Peyer's Patches dipakai sebagai unit analisis untuk pemeriksaan imunohistokimia. Semua hal tersebut diatas dilakukan secara lege artis untuk memperoleh data penelitian yang akurat dengan prosedur pemeriksaan imunohistokimia..

##### **Unit analisis**

Bahan yang dipakai untuk analisis diambil dari jaringan mukosa usus bagian ileum, dimana banyak mengandung Peyer's Patches.

Jaringan yang didapat dimasukkan ke dalam botol yang langsung dimasukan ke dalam deep freezer dengan suhu - 80<sup>0</sup> C. Untuk menampilkan semua variabel maka untuk analisis jaringan segar dilakukan perwarnaan imunohistokimia, dengan reagen antibodi monoklonal terhadap sel dendritic, sel NK, sel neutrofil CD11b, sel T CD4, sel T CD8, sel Th1 yang mensekresi IL-2, sel Th1 yang mensekresi IFN $\gamma$ , sel Th2 yang mensekresi IL-4, sel yang mensekresi IL-10, sel plasma penghasil Ig A, Ig G,

Ig M. Antibodi monoklonal yang digunakan untuk mengekspresikan variabel adalah *Species specific monoclonal antibodies to animal immunoglobulins*.

#### 4.8 Pemeriksaan Respons Imun Mukosa

Pemeriksaan respons imun mukosal dilakukan pada daerah induktif dan daerah efektor mukosa usus pada kelompok defisiensi vitamin A, kelompok kontrol, dan kelompok defisiensi vitamin A yang mendapat terapi vitamin A baik yang mendapat paparan antigen LPS untuk membangkitkan respons imun mukosa ataupun yang tidak mendapat paparan, data yang diperoleh adalah data post test.

Spesifikasi LPS : Lipopolysacharides, lyophilized powder from E Coli serotype 026 : B6 100 mg Contain > 10000 endotoxin units per mg lipopolysacharide

No product : L 8274 (Sigma).

Pemeriksaan pengecatan imunohistokimia dilakukan dengan memakai jaringan segar mukosa usus halus daerah ileum yang mengandung Peyer's Patches untuk memeriksa semua variabel komponen respons imun.

Variabel yang diperiksa adalah : APC(Sel dendritik), Sel NK, Sel neutrofil CD11b, Sel T CD4, Sel T CD8, STp IL-2 (Sel T penghasil IL-2), STp IFN $\gamma$  (Sel T penghasil IFN $\gamma$ ), STp IL-4 (Sel T penhasil IL-4), STp IL-10 (Sel T penghasil IL-10), SPp IgA (Sel Plasma penghasil IgA), SPp IgG (Sel Plasma penghasil IgG), dan SPp IgM (Sel Plasma penghasil IgM).

Spesifikasi antibodi monoklonal yang dipakai untuk pengecatan imunohistokimia adalah :

**Tabel 4.3 Antibodi monoklonal spesifik yang dipakai**

| Antibodi monoklonal clone | Spesivitas               | Produksi dari                               |
|---------------------------|--------------------------|---|
| OX 62                     | Sel dendritik            | R&D   |
| 10/78                     | Sel NK                   | R&D   |
| WT5                       | Sel neutrofil CD11b      | R&D   |
| OX35                      | Sel T CD4                | R&D   |
| OX 8                      | Sel T CD8                | R&D   |
| A38-3                     | Sel T penghasil IL-2     | R&D   |
| 2975-01S                  | Sel T penghasil IFNg     | Biosource International                     |
| OX 81                     | Sel T penghasil IL-4     | R&D   |
| A5-4                      | Sel T penghasil IL-10    | R&D   |
| RTA-14                    | Sel plasma penghasil IgA | Sigma                                       |
| RG 88                     | Sel plasma penghasil IgG | ImmunoChemicals<br>Sigma                    |
| RTM-32                    | Sel plasma penghasil IgM | ImmnuoChemicals<br>Sigma<br>ImmunoChemicals |

#### 4.9 Tehnik Analisis Data

Untuk analisis data dilakukan langkah sebagai berikut :

##### 4.9.1 Uji homogenitas

Untuk meyakinkan bahwa data berasal dari populasi homogen, dilakukan uji homogenitas. Variabel yang diuji homogenitasnya adalah berat badan tikus pada saat awal dan akhir yang menggunakan uji anova.

##### 4.9.2 Uji normalitas

Untuk mengetahui apakah data yang diperoleh berasal dari distribusi normal dilakukan uji normalitas.

Variabel yang diuji dari daerah induktif adalah :

APC(Sel dendritik), Sel NK, Neutrofil CD11b, Sel T CD4, Sel T CD8, STp IL-2 (Sel T penghasil IL-2), STp IFN $\gamma$  (Sel T penghasil IFN $\gamma$ ), STp IL-4 (Sel T penghasil IL-4), STp IL-10 (Sel T penghasil IL-10), SPp IgA (Sel Plasma penghasil IgA), SPp IgG (Sel Plasma penghasil IgG), dan Spp IgM (Sel Plasma penghasil IgM).

Variabel yang diuji dari daerah efektor adalah :

APC(Sel Dendritik), Sel NK, Sel neutrofil CD11b, Sel T CD4, Sel T CD8, STp IL-2 (Sel T penghasil IL-2), STp IFN $\gamma$  (Sel T penghasil IFN $\gamma$ ), STp IL-4 (Sel T penghasil IL-4), STp IL-10 (Sel T penghasil IL-10), SPp IgA (Sel plasma penghasil IgA), SPp IgG (Sel plasma penghasil IgG), dan SPp IgM (Sel plasma penghasil IgM).

Pengujian dengan menggunakan, Histogram-Kolmogorov dan Normal Probability Plot. Pengujian ini perlu dilakukan untuk memenuhi prasyarat supaya data dapat dianalisis dengan *Multivariate Analysis* .

#### 4.9.3 Uji konsistensi atau keajegan pengamatan

Pemeriksaan variabel respons imun mukosa dilakukan oleh pengamat I (Peneliti) kemudian diberi kode baru dan dilakukan pemeriksaan ulang oleh pengamat II. Untuk mengetahui apakah tidak ada perbedaan dalam pemeriksaan oleh pengamat I (Peneliti) dan pengamat II, dilakukan uji konsistensi dengan uji statistik manova.

Variabel yang diuji dari daerah induktif adalah :

APC(Sel dendritik), Sel NK, Sel neutrofil CD11b, Sel T CD4, Sel T CD8, STp IL-2 (Sel T penghasil IL-2), STp IFN $\gamma$  (Sel T penghasil IFN $\gamma$ ), STp IL-4 (Sel T penghasil

IL-4), STp IL-10 (Sel T penghasil IL-10), SPp IgA (Sel plasma penghasil IgA), SPp IgG (Sel plasma penghasil IgG), dan SPp IgM (Sel plasma penghasil IgM).

Variabel yang diuji dari daerah efektor adalah :

APC(Sel dendritik), Sel NK, Sel neutrofil CD11b, Sel T CD4, Sel T CD8,STp IL-2 (Sel T penghasil IL-2), STp IFN $\gamma$  (Sel T penghasil IFN $\gamma$ ), STp IL-4 (Sel T penghasil IL-4), STp IL-10 (Sel T penghasil IL-10), SPp IgA (Sel plasma penghasil IgA), SPp IgG (Sel plasma penghasil IgG), dan SPp IgM (Sel plasma penghasil IgM).

#### **4.9.4 Uji perbedaan antar kelompok sampel**

Untuk menguji adanya perbedaan status imun maupun respons imun mukosa antar kelompok yang mengalami defisiensi vitamin A, kelompok kontrol dan kelompok defisiensi vitamin A yang telah mendapat terapi vitamin A yang mendapat paparan antigen LPS atau tidak mendapat paparan dilakukan uji statistik manova. Pengujian ini dimaksudkan untuk mengetahui adanya perbedaan respons imun mukosa antar kelompok, kelompok defisiensi vitamin A , kelompok kontrol, dan kelompok defisiensi vitamin A yang telah mendapat terapi vitamin A, serta untuk melihat perbedaan respons imun mukosa dari kelompok defisiensi vitamin A terhadap kelompok kontrol dan kelompok defisiensi vitamin A yang telah mendapat terapi vitamin A terhadap kelompok kontrol, kelompok defisiensi vitamin A terhadap kelompok yang telah mendapat terapi vitamin A. Variabel respons imun mukosa yang diuji adalah dari daerah induktif baik yang mendapat paparan antigen LPS maupun yang tidak mendapat paparan dan daerah efektor baik yang mendapat

paparan antigen LPS maupun yang tidak mendapat paparan. Variabel respons imun tersebut adalah :

APC(Sel dendritik), Sel NK, Sel neutrofil CD11b, Sel T CD4, Sel T CD8, STp IL-2 (Sel T penghasil IL-2), STp IFN $\gamma$  (Sel T penghasil IFN $\gamma$ ), STp IL-4 (Sel T penghasil IL-4), STp IL-10 (Sel T penghasil IL-10), SPp IgA (Sel plasma penghasil IgA), SPp IgG (Sel plasma penghasil IgG), dan SPp IgM (Sel plasma penghasil IgM).

#### 4.9.5 Uji diskreminan

Untuk menguji variabel respons imun mukosa yang merupakan variabel pembeda terkuat dan untuk memperoleh nilai kontribusi (*Coefficient Fisher*) maka dilakukan uji diskreminan. Variabel respons imun mukosa yang diuji adalah dari daerah induktif maupun daerah efektor baik yang mendapat paparan antigen LPS maupun yang tidak.

Variabel respons imun tersebut adalah :

APC(Sel dendritik), Sel NK, Sel neutrofil CD11b, Sel T CD4, Sel T CD8, STp IL-2 (Sel T penghasil IL-2), STp IFN $\gamma$  (Sel T penghasil IFN $\gamma$ ), STp IL-4 (Sel T penghasil IL-4), STp IL-10 (Sel T penghasil IL-10), SPp IgA (Sel plasma penghasil IgA), SPp IgG (Sel plasma penghasil IgG), dan SPp IgM (Sel plasma penghasil IgM).

Hasil uji ini dipakai untuk membuat pola respons imun dan status imun mukosa.

#### 4.9.6 Pembuatan pola respons imun mukos ausus

Untuk pembuatan pola respons imun mukosa dilakukan langkah langkah pengujian sebagai berikut : uji statistik manova dari data respons imun mukosa dari kelompok perlakuan; kelompok defisiensi vitamin A dan kelompok defisiensi

vitamin A yang telah mendapat terapi vitamin A terhadap kelompok kontrol. Data yang didapat dianalisis dengan uji diskriminan metode stepwise akan diperoleh hasil variabel pembeda dengan koefisien kontribusi yang besar. Variabel variabel ini dipakai untuk membuat pola respons imun mukosa. Pola ini dipakai untuk memprediksi aktifitas biologis komponen respons imun yang digabung dengan kerangka konseptual digunakan untuk menyusun imunopatobiogenesis respons imun dan status imun mukosa dalam keterkaitannya dengan defisiensi vitamin A.

#### **4.9.7 Stimulasi respons imun mukosa usus**

Untuk membangkitkan respons imun mukosa usus ketiga kelompok diberikan stimulasi antigen dengan menggunakan lipopolysacharide (LPS) E Coli (Sigma) secara peroral sebanyak 2 kali dengan interval 7 hari.

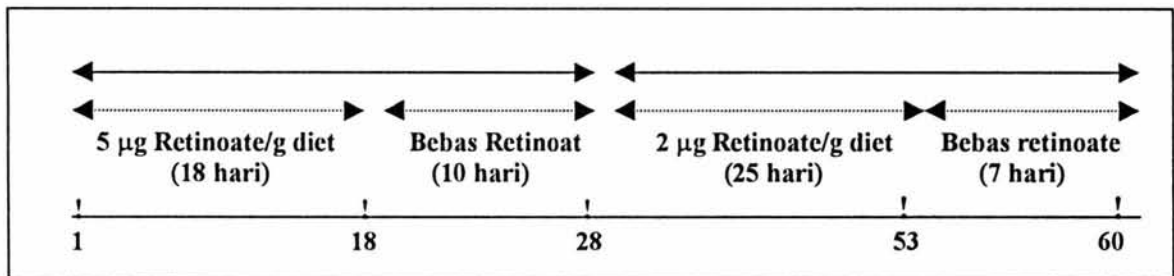
Lipopolysacharides, lyophilized powder from E Coli serotype 026 : B6 100 mg Contain > 10000 endotoxin units per mg lipopolysacharide. No product : L 8274 (Sigma).

#### **4.9.8 Cara pengukuran kadar vitamin A :**

Sampel diambil dari serum dan analisis menggunakan HPLC. Pemeriksaan tersebut dilakukan di TDC dan dilaboratorium seksi Patobiologi Laboratorium Patologi Anatomi FK. Unair.

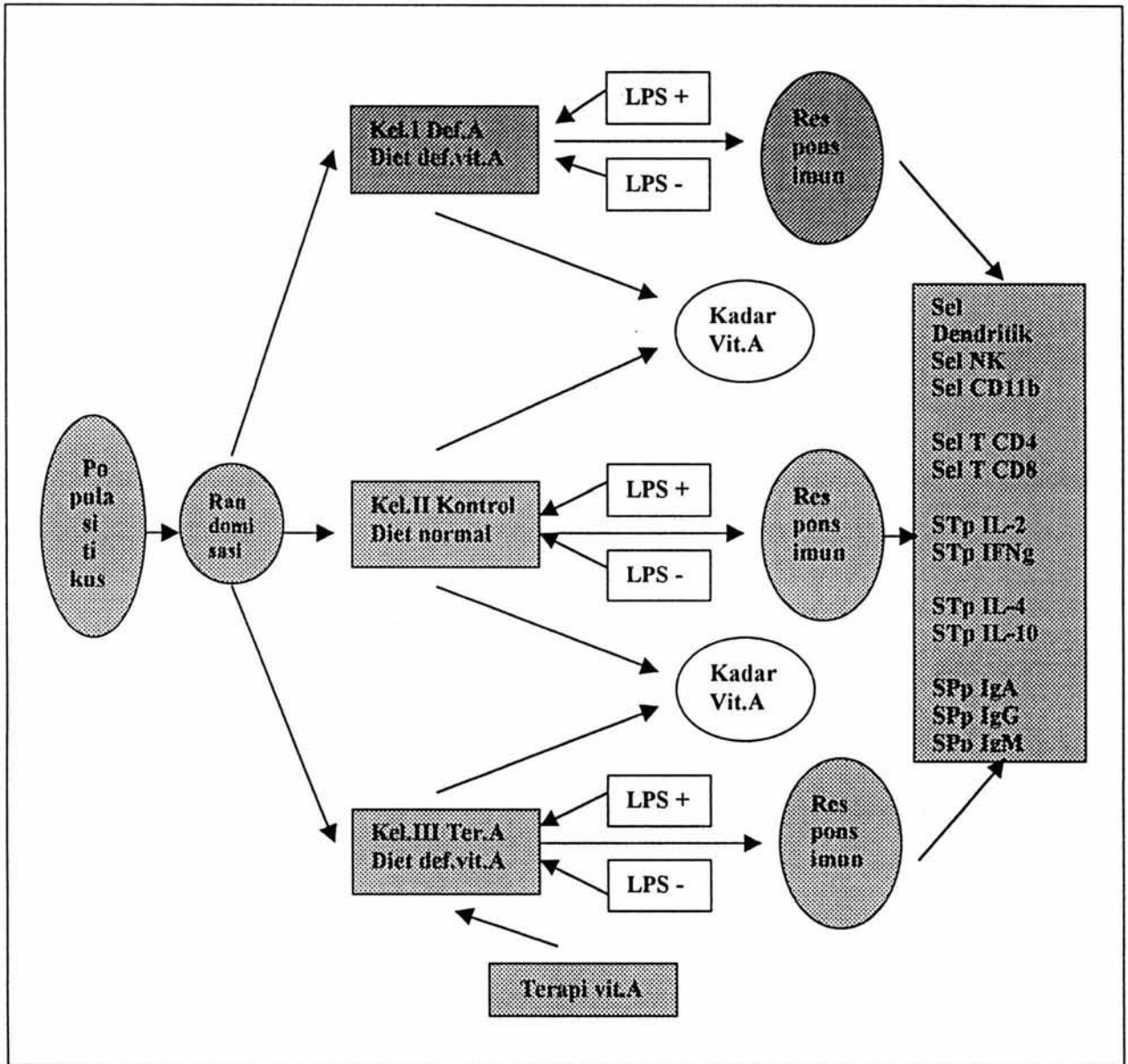
Semua kegiatan penelitian dilakukan di FK. Unair, Laboratorium Patologi Anatomi, Laboratorium Anatomi-Histologi, Laboratorium Biokimia dan Seksi Patobiologi, Laboratorium Patologi Anatomi FK Unair dan Laboratorium TDC FK Unair Surabaya





**Gambar 4.1 : Protokol cara pembuatan defisiensi vitamin A untuk percobaan hewan (Sirisinha 1980)**

Sebelum masuk keprotokol ini sudah diberikan diet bebas vitamin A selama 3 minggu



Gambar 4.2 : Rancangan Penelitian

## B A B 5

### HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS

#### 5.1 Hasil Penelitian

##### 5.1.1 Hasil Penelitian Imunohistokimia

1. Sel dendritik, adalah sel APC yang dalam memproses dan menampilkan antigen dalam kaitannya dengan MHC lebih kuat dari makrofag, tetapi dalam hal fagositosis makrofag lebih poten. Sebagai sel APC, sel dendritik ditemukan di daerah induktif dan daerah efektor mukosa usus (Kelsall, 1999). Pada penelitian ini dengan pengecatan imunohistokimia yang menggunakan antibodi monoklonal terhadap sel dendritik dan DAB ditemukan sel dendritik di daerah induktif dan efektor, dengan warna sitoplasma kecoklatan seperti tampak pada gambar 5.13.
2. Sel NK, adalah sel yang mampu melisis sel target tanpa lebih dahulu mengalami sensitisasi. Sel ini merupakan bagian dari imunitas natural (alami), mengekspresikan reseptor Fc untuk IgG sehingga mempunyai peranan penting pada ADCC (*antibodi dependent cell mediated cytotoxicity*). Sel tersebut tidak banyak ditemukan dalam mukosa (Kelsall, 1999). Pada penelitian ini untuk mengenali sel tersebut digunakan antibodi monoklonal yang spesifik terhadap sel tersebut Tabel 4.2. Sitoplasma akan berwarna kecoklatan seperti terlihat pada gambar 5.14.
3. Sel T CD4, adalah sel yang mempunyai peranan penting dalam sistem imun termasuk sistem imun mukosa. Sel T di lamina propria yang terutama adalah sel T CD4, dapat memproduksi IL-2, IFN $\gamma$ , IL-4, IL-5 dan lain lain sitokin. Sel tersebut ditemukan di daerah induktif dan di lamina propria, sel tersebut bersifat sangat aktif

dalam memproduksi sitokin tetapi daya proliferasinya rendah. Dengan antibodi monoklonal spesifik dapat mengenali sel tersebut dengan sitoplasma yang berwarna kecoklatan seperti terlihat pada gambar 5.12.

4. Sel T CD8, adalah sel yang mempunyai kemampuan sitolitik. Dibandingkan dengan sel T CD4 jumlah sel tersebut lebih sedikit ditemukan di daerah induktif dan daerah efektor. Sel tersebut dapat dikenali dengan antibodi spesifik terhadap CD8, sitoplasma berwarna kecoklatan oleh karena menggunakan DAB pada pengecatan imunohistokimia seperti terlihat pada gambar 5.11.

5. Sel T penghasil IL-2 (STp IL-2), adalah sel Th1 yang memproduksi IL-2. Belum ada cara yang langsung dapat mengenali sel Th1, untuk mengenali sel tersebut dengan cara memeriksa sitokin yang dihasilkannya. Sel tersebut sebenarnya termasuk dalam kelompok sel T CD4 yang banyak ditemukan di mukosa usus dan mempunyai peranan penting dalam regulasi sistem imun di mukosa. Untuk mengenali sel tersebut dapat digunakan antibodi monoklonal spesifik untuk IL-2, yang dengan pengecatan imunohistokimia terlihat sitoplasma yang berwarna kecoklatan seperti terlihat pada gambar 5.15.

6. STp IFN $\gamma$  (sel T penghasil IFN $\gamma$ ), adalah termasuk kelompok sel T CD4, melihat sitokin yang diproduksi termasuk dalam kelompok sel Th1, sel ini sangat penting untuk regulasi sistem imunitas seluler. Untuk mengenali sel Th1 ini secara tidak langsung melalui deteksi sitokin yang diproduksi, IFN $\gamma$ . Dengan antibodi monoklonal yang spesifik terhadap IFN $\gamma$  pada pengecatan imunohistokimia dengan

DAB akan tampak sitoplasma yang berwarna kecoklatan seperti terlihat pada gambar 5.16.

7. STp IL-4 (sel T penghasil IL-4), sel ini termasuk dalam kelompok sel Th2 yang sangat penting untuk regulasi sistem imun mukosa terutama jalur lokal humoral.. Untuk mendeteksi sel tersebut secara tidak langsung melalui salah satu sitokin yang diproduksi yaitu IL-4 dengan menggunakan antibodi monoklonal yang spesifik. Pada pengecatan imunohistokimia dengan DAB sitoplasma akan berwarna kecoklatan seperti terlihat pada gambar 5.17.

8. STp IL-10 (sel T penghasil IL-10), seperti halnya STp IL-4, sel ini termasuk dalam kelompok sel Th2 yang penting pada sistem imun mukosa terutama untuk jalur imunitas humoral. Melalui IL-10 sebagai sitokin yang diproduksi Th2 dapat dideteksi dengan antibodi monoklonal pada pengecatan imunohistokimia, sitoplasma berwarna kecoklatan seperti terlihat pada gambar 5.18.

9. SPp IgA (sel plasma penghasil IgA), adalah sel yang memproduksi IgA yang sangat penting dalam sistem imun mukosa, penggabungan dengan komponen sekresi akan dikeluarkan kedalam lumen usus yang bertanggung jawab terhadap ketahanan imunologis mukosa usus. Untuk mendeteksi sel tersebut digunakan antibodi monoklonal spesifik terhadap IgA, pengecatan imunohistokimia dengan DAB sitoplasma sel plasma tampak berwarna kecoklatan seperti terlihat pada gambar 5.19.

10. SPp IgG (sel plasma penghasil IgG), sel tersebut didapatkan di mukosa usus tetapi jumlahnya tidak sebanyak sel plasma penghasil IgA, tidak terlalu banyak berperan dalam sistem ketahanan imunologis mukosa. Dengan antibodi monoklonal

spesifik terhadap IgG yang pada pengecatan imunohistolimia dengan DAB tampak sitoplasma sel plasma berwarna kecoklatan seperti terlihat pada gambar 5.20.

11. SPP IgM (sel penghasil IgM), seperti halnya IgG, sel penghasil IgM didapatkan di mukosa usus tetapi jumlahnya tidak sebanyak sel plasma penghasil IgA, tidak terlalu banyak berperan dalam sistem ketahanan imunologis mukosa. Dengan antibodi monoklonal spesifik terhadap IgM yang pada pengecatan imunohistolimia dengan DAB tampak sitoplasma sel plasma berwarna kecoklatan seperti terlihat pada gambar 5.21

12. Sel PMN CD11b (sel Polymorphonuclear (netrofil) CD11b),  $\beta 2$  integrin leukosit membentuk membentuk 4 anggota famili yang mengandung rantai  $\beta 2$  (CD18), yang terkait dengan rantai  $\alpha$  integrin :  $\alpha L$  (CD11a), yang diekspresikan oleh leukosit,  $\alpha M$  (CD11b) dan  $\alpha X$  (CD11c) yang terutama diekspresikan oleh sel PMN, dan rantai  $\alpha d$  integrin yang diekspresikan oleh leukosit. Dengan antibodi monoklonal spesifik terhadap CD11b dapat dikenali PMN dalam mukosa usus, yang dengan pengecatan imunohistokimia yang menggunakan DAB sitoplasma berwarna kecoklatan seperti terlihat pada gambar 5.22.

### 5.1.2 Hasil Pembuatan defisiensi vitamin A

Pembuatan defisiensi vitamin A pada hewan coba mengikuti protokol seperti pada gambar 4.1 dengan waktu 3 bulan, didapatkan hasil terjadinya defisiensi vitamin A yang mendapat paparan LPS pada kelompok I (def.vit.A) (rerata kadar vitamin A : 8.920 mcg/dl), dan perbaikan pada kelompok III (rerata kadar vitamin A

: 41.597 mcg/dl) dan kelompok II (kontrol) (rerata kadar vitamin A : 55.078 mcg/dl) dengan nilai kemaknaan F sebesar 0.000. Untuk yang tidak mendapat paparan LPS pada kelompok I (def.vit.A) (rerata kadar vitamin A : 8.530 mcg/dl), dan perbaikan pada kelompok III (rerata kadar vitamin A : 37.402 mcg/dl) dan kelompok II (kontrol) (rerata kadar vitamin A : 49.793 mcg/dl) dengan nilai kemaknaan F sebesar 0.000.

## **5.2 Hasil Uji Statistik Sampel**

### **5.2.1 Uji homogenitas sampel**

Untuk meyakinkan bahwa sampel kelompok berasal dari populasi yang homogen dilakukan uji statistik dengan anova. Oleh karena sampel berumur sama, uji homogenitas dilakukan terhadap berat badan. Uji tersebut menghasilkan koefisien F : .147. Tak terdapat perbedaan yang bermakna berarti populasi homogen.

### **5.2.2 Uji normalitas**

Untuk membuktikan bahwa data yang akan dianalisis mempunyai distribusi normal maka dilakukan uji normalitas dengan *Normal probability plot* (paper) atau IIDN (*Identical Independency Normality*). Hasil dapat dilihat pada lampiran 4. Dengan melihat grafik pada frequency histogram dan normal probability plot maka dapat disimpulkan bahwa data data berdistribusi normal.

### **5.2.3 Uji konsistensi pengamatan**

Untuk menguji apakah pengamatan setiap variabel yang dilakukan oleh peneliti sudah benar maka dilakukan uji konsistensi terhadap hasil pengamatan yang dilakukan oleh pengamat kedua yang sudah pakar dalam bidangnya, dengan uji Manova. Hasil uji tersebut dapat dilihat pada tabel dibawah ini.

**Tabel 5.1 Tes konsistensi pengamat pertama dan pengamat kedua daerah induktif mukosa usus dengan paparan LPS**

| Variabel | Kel.def.vit.A |       |            |       | Kel.kontrol |       |            |       | Kel.terapi vit.A |       |            |       | Tes signifikan |
|----------|---------------|-------|------------|-------|-------------|-------|------------|-------|------------------|-------|------------|-------|----------------|
|          | Pengamat1     |       | Pengamat 2 |       | Pengamat 1  |       | Pengamat 2 |       | Penamat 1        |       | Pengamat 2 |       |                |
|          | Mean          | SD    | Mean       | SD    | Mean        | SD    | Mean       | SD    | Mean             | SD    | Mean       | SD    |                |
| DC       | 3.100         | 1.449 | 2.500      | .972  | 3.500       | 2.224 | 2.200      | 1.398 | 4.300            | .949  | 2.500      | 1.179 | .416           |
| NK       | 2.900         | 1.729 | 2.400      | 1.075 | 2.700       | 2.163 | 2.500      | 1.434 | 3.900            | .994  | 2.200      | .919  | .235           |
| CD 11b   | 1.600         | .699  | 1.200      | .632  | 1.300       | .483  | 1.400      | .516  | 2.100            | .738  | 1.500      | .850  | .239           |
| CD4      | 6.000         | 3.590 | 3.300      | 1.767 | 5.400       | 2.547 | 3.600      | 1.506 | 5.300            | 3.129 | 4.300      | 2.830 | .603           |
| CD8      | 5.600         | 3.502 | 3.200      | 2.700 | 4.700       | 3.498 | 3.300      | 3.268 | 3.300            | 1.418 | 1.700      | 1.418 | .835           |
| IL-2     | 2.700         | 1.160 | 2.500      | 1.354 | 4.300       | 5.677 | 5.200      | 7.729 | 2.300            | 1.418 | 1.900      | 1.449 | .863           |
| IFNg     | 3.100         | 2.132 | 3.000      | 2.055 | 5.300       | 2.541 | 4.300      | 3.093 | 3.700            | 2.163 | 2.400      | 1.350 | .690           |
| IL-4     | 1.800         | 1.033 | 1.700      | .949  | 4.500       | 1.509 | 3.500      | 2.550 | 4.900            | 3.247 | 4.400      | 4.088 | .852           |
| IL-10    | 2.200         | 1.135 | 2.100      | 1.197 | 2.100       | 1.524 | 1.800      | 1.033 | 2.100            | 1.835 | 1.900      | 1.921 | .978           |
| IgA      | 1.100         | .316  | 1.100      | .316  | 2.100       | 1.595 | 1.600      | 1.578 | 1.700            | .675  | 1.300      | .675  | .712           |
| IgG      | 1.200         | .422  | 1.100      | .316  | 1.300       | .483  | 1.200      | .422  | 1.200            | .422  | 1.100      | .316  | 1.000          |
| IgM      | 2.100         | 1.449 | 2.000      | 1.414 | 2.000       | 1.247 | 2.200      | 1.619 | 1.900            | .876  | 1.700      | .949  | .878           |

Tes univariat variabel 1-12 sig.of F : .999

Tes multivariat sig.of F (Wilk) : .983

Tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara pengamat pertama dan pengamat kedua dalam pengamatan ketiga kelompok, lampiran 5

Uji konsistensi Pengamat pertama dan Pengamat kedua dengan menggunakan uji manova dan anova tidak ditemukan perbedaan yang bermakna dari ketiga kelompok penelitian, sehingga data untuk analisis dapat diambil dari pengamat pertama.

**Tabel 5.2 Tes konsistensi pengamat pertama dan pengamat kedua daerah induktif mukosa usus tanpa paparan LPS**

| Variabel | Kel.def.vit.A |        |            |        | Kel.kontrol |       |            |       | Kel.terapi vit.A |       |            |       | Tes signifikan |
|----------|---------------|--------|------------|--------|-------------|-------|------------|-------|------------------|-------|------------|-------|----------------|
|          | Pengamat1     |        | Pengamat 2 |        | Pengamat 1  |       | Pengamat 2 |       | Penamat 1        |       | Pengamat 2 |       |                |
|          | Mean          | SD     | Mean       | SD     | Mean        | SD    | Mean       | SD    | Mean             | SD    | Mean       | SD    |                |
| DC       | 1.300         | 1.059  | .900       | 1.197  | 4.200       | 2.348 | 1.700      | 1.418 | 2.100            | .994  | 1.700      | .675  | .028           |
| NK       | 1.900         | 1.197  | 1.100      | 1.370  | 3.500       | 1.958 | 1.900      | 1.449 | 1.900            | 1.197 | 2.100      | 1.524 | .163           |
| CD 11b   | .800          | .632   | .600       | .516   | 1.400       | .843  | 1.600      | 1.265 | 1.500            | .850  | 1.500      | .850  | .763           |
| CD4      | 5.600         | 7.648  | 4.900      | 9.231  | 4.600       | 2.413 | 2.900      | 2.885 | 1.800            | 1.687 | 1.900      | 1.912 | .862           |
| CD8      | 6.500         | 9.778  | 3.500      | 8.985  | 4.300       | 2.452 | 1.400      | 1.075 | 2.200            | 1.398 | 1.200      | .422  | .815           |
| IL-2     | 1.200         | .789   | .700       | .675   | 1.100       | .568  | 1.100      | .316  | 1.800            | 1.476 | 1.800      | 1.476 | .655           |
| IFNg     | 6.300         | 16.083 | 6.500      | 17.418 | 3.200       | .919  | 2.200      | 1.549 | 2.800            | 1.476 | 1.700      | .949  | .973           |
| IL-4     | 1.100         | .876   | 1.200      | 1.229  | 2.900       | 1.729 | 1.900      | 1.969 | 3.300            | 2.058 | 3.200      | 2.098 | .564           |
| IL-10    | .800          | .632   | .700       | .675   | 3.600       | 6.535 | 1.400      | .966  | 1.400            | .966  | 1.300      | .675  | .389           |
| IgA      | 1.000         | .000   | 1.000      | .000   | 1.200       | .422  | 1.200      | .422  | 1.400            | .843  | 1.100      | .316  | .467           |
| IgG      | 1.200         | .632   | 1.200      | .632   | 1.000       | .000  | 1.000      | .000  | 1.100            | .316  | 1.000      | .000  | .895           |
| IgM      | 1.000         | .943   | .900       | 1.197  | 2.000       | 1.563 | 2.300      | 2.111 | 1.300            | .675  | 1.100      | .316  | .807           |



Tes univariat variabel 1-12 sig.of F : 1 000.

Tes multivariat sig.of F (Wilk) : .680

Tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara pengamat pertama dan pengamat kedua dalam pengamatan ketiga kelompok, lampiran 6

Uji konsistensi Pengamat pertama dan Pengamat kedua dengan menggunakan uji manova dan anova tidak ditemukan perbedaan yang bermakna dari ketiga kelompok penelitian, sehingga data untuk analisis dapat diambil dari pengamat pertama.

Untuk daerah efektor data yang diperoleh oleh pengamat pertama juga dilakukan tes konsistensi dengan hasil pengamat kedua, hasil tersebut dapat dilihat pada tabel dibawah ini.

**Tabel 5.3 Tes konsistensi pengamat pertama dan pengamat kedua daerah efektor mukosa usus dengan paparan LPS**

| Variabel | Kel.def.vit.A |        |            |        | Kel.kontrol |        |            |        | Kel.terapi vit.A |        |            |        | Tes signifikan |
|----------|---------------|--------|------------|--------|-------------|--------|------------|--------|------------------|--------|------------|--------|----------------|
|          | Pengamat1     |        | Pengamat 2 |        | Pengamat 1  |        | Pengamat 2 |        | Penamat 1        |        | Pengamat 2 |        |                |
|          | Mean          | SD     | Mean       | SD     | Mean        | SD     | Mean       | SD     | Mean             | SD     | Mean       | SD     |                |
| DC       | 9.500         | 3.308  | 4.800      | 3.225  | 9.700       | 7.409  | 7.700      | 5.355  | 10.700           | 4.191  | 6.800      | 2.936  | .646           |
| NK       | 6.100         | 3.479  | 3.600      | 2.366  | 9.800       | 3.553  | 6.700      | 4.945  | 12.200           | 4.367  | 6.900      | 2.470  | .448           |
| CD 11b   | 6.500         | 2.121  | 4.300      | 2.359  | 11.100      | 7.445  | 8.700      | 8.557  | 10.700           | 6.183  | 10.900     | 7.415  | .764           |
| CD4      | 20.200        | 17.022 | 11.300     | 11.917 | 31.800      | 24.603 | 26.600     | 23.651 | 26.100           | 14.940 | 23.100     | 15.438 | .879           |
| CD8      | 24.000        | 19.195 | 12.000     | 15.100 | 23.500      | 23.382 | 18.500     | 23.033 | 11.800           | 9.484  | 6.400      | 6.363  | .774           |
| IL-2     | 4.600         | 1.647  | 4.600      | 5.060  | 25.500      | 16.828 | 19.600     | 11.825 | 22.300           | 17.613 | 18.900     | 19.433 | .795           |
| IFNg     | 10.500        | 4.673  | 5.300      | 5.438  | 17.300      | 7.675  | 15.100     | 7.047  | 22.800           | 17.383 | 27.000     | 27.980 | .577           |
| IL-4     | 4.900         | 1.524  | 5.000      | 8.969  | 20.300      | 14.989 | 14.300     | 10.520 | 15.000           | 10.077 | 14.800     | 13.122 | .602           |
| IL-10    | 3.200         | .919   | 3.400      | 4.502  | 18.500      | 15.883 | 7.400      | 5.038  | 18.300           | 16.614 | 17.000     | 23.433 | .373           |
| IgA      | 3.600         | 2.459  | 2.100      | 1.595  | 14.200      | 7.569  | 8.600      | 6.114  | 13.100           | 10.049 | 10.500     | 9.992  | .644           |
| IgG      | 5.300         | 2.111  | 22.900     | 2.331  | 8.300       | 4.809  | 8.100      | 6.951  | 9.600            | 6.535  | 11.700     | 8.782  | .475           |
| IgM      | 8.200         | 3.190  | 7.800      | 8.053  | 11.100      | 6.540  | 11000      | 7.958  | 8.900            | 4.654  | 9.300      | 5.658  | .979           |

Tes univariat variabel 1-12 sig.of F : .996

Tes multivariat sig.of F (Wilk) : .340

Tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara pengamat pertama dan pengamat kedua dalam pengamatan ketiga kelompok, lampiran 7

Melihat pada hasil uji statistik anova dan manova tidak ditemukan adanya perbedaan yang bermakna antara pengamat pertama dan pengamat kedua dari variabel variabel ketiga kelompok dari daerah efektor yang mendapat paparan LPS, dengan demikian untuk analisis dapat digunakan data dari pengamat pertama.

**Tabel 5.4 Tes konsistensi pengamat pertama dan pengamat kedua daerah efektor mukosa usus tanpa paparan LPS**

| Variabel | Kel.def.vit.A |        |            |        | Kel.kontrol |        |            |        | Kel.terapi vit.A |        |            |        | Tes signifikan |
|----------|---------------|--------|------------|--------|-------------|--------|------------|--------|------------------|--------|------------|--------|----------------|
|          | Pengamat1     |        | Pengamat 2 |        | Pengamat 1  |        | Pengamat 2 |        | Penamat 1        |        | Pengamat 2 |        |                |
|          | Mean          | SD     | Mean       | SD     | Mean        | SD     | Mean       | SD     | Mean             | SD     | Mean       | SD     |                |
| DC       | 8.400         | 1.955  | 5.400      | 2.633  | 12.600      | 7.749  | 7.900      | 6.420  | 6.300            | 2.163  | 9.600      | 6.346  | .041           |
| NK       | 12.800        | 19.188 | 3.900      | 2.470  | 9.800       | 5.371  | 9.000      | 8.718  | 7.100            | 4.228  | 8.600      | 6.004  | .196           |
| CD11b    | 1.900         | .568   | 1.300      | .675   | 7.000       | 3,621  | 6.300      | 4.968  | 10.000           | 8.000  | 11.200     | 9.739  | .841           |
| CD4      | 14.100        | 14.806 | 15.200     | 25.703 | 28.200      | 24.091 | 15.400     | 13.023 | 27.400           | 28.147 | 32.600     | 36.704 | .497           |
| CD8      | 13.400        | 14.447 | 6.200      | 8.942  | 20.800      | 27.967 | 4.600      | 3.169  | 22.300           | 25.215 | 29.500     | 45.569 | .340           |
| IL-2     | 4.400         | 1.174  | 2.600      | .699   | 6.500       | 5.255  | 3.300      | 2.710  | 19.100           | 13.503 | 20.000     | 16.793 | .772           |
| IFNg     | 7.000         | 4.522  | 5.900      | 8.999  | 21.200      | 18.438 | 9.900      | 8.439  | 29.600           | 22.152 | 33.400     | 29.478 | .393           |
| IL-4     | 5.500         | 2.915  | 4.700      | 4.191  | 18.600      | 16.043 | 11.100     | 10.450 | 34.200           | 28.990 | 33.900     | 26.942 | .782           |
| IL-10    | 3.900         | 3.446  | 1.900      | 1.197  | 9.400       | 7.214  | 5.000      | 4.243  | 10.900           | 10.806 | 15.400     | 14.569 | .223           |
| IgA      | 1.300         | .483   | 1.600      | .843   | 5.600       | 1.713  | 3.600      | 2.503  | 7.100            | 4.458  | 8.900      | 9.362  | .399           |
| IgG      | 2.300         | .823   | 1.500      | .527   | 3.900       | 1.287  | 4.200      | 2.616  | 5.700            | 4.347  | 8.300      | 6.651  | .296           |
| IgM      | 3.000         | 1.414  | 2.300      | 2.359  | 5.100       | 2.923  | 3.600      | 2.413  | 15.900           | 20.108 | 18.000     | 23.180 | .895           |

Tes univariat variabel 1-12 sig.of F : .723

Tes multivariat sig.of F (Wilk) : .647

Tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara pengamat pertama dan pengamat kedua dalam pengamatan ketiga kelompok, lampiran 8

Oleh karena tidak ada perbedaan yang bermakna dalam pengamatan variabel variabel dari ketiga kelompok oleh pengamat pertama dan pengamat kedua maka data untuk analisis diambil dari pengamat pertama.

#### 5.2.4 Hasil uji perbedaan antar kelompok sampel

Untuk melihat perbedaan antar kelompok sampel dilakukan uji beda anova (*Univariate analysis of variance* dan manova. (*multivariate analysis of variance*).

Variabel yang diuji adalah variabel tergantung dari respons imun mukosa usus daerah induktif dan daerah efektor yang masing masing dengan paparan LPS dan tanpa paparan LPS.

**Tabel 5.5** Komparasi komponen respons imun daerah efektor mukosa usus kelompok defisiensi vitamin A dan kelompok kontrol dengan paparan LPS

| Varia<br>Bel | Kelompok def.vit.A |              | Kelompok kontrol |              | Signifikan<br>si |
|--------------|--------------------|--------------|------------------|--------------|------------------|
|              | Rerata             | Simpang baku | Rerata           | Simpang baku |                  |
| DC           | 9.500              | 3.308        | 9.700            | 7.409        | 0.939            |
| NK           | 6.100              | 3.479        | 9.800            | 3.553        | 0.030            |
| CD 11b       | 6.500              | 2.121        | 11.100           | 7.445        | 0.077            |
| CD4          | 20.200             | 17.022       | 31.800           | 24.603       | 0.236            |
| CD8          | 24.000             | 19.195       | 23.500           | 23.382       | 0.959            |
| IL2          | 4.600              | 1.647        | 25.500           | 16.828       | 0.001            |
| IFNG         | 10.500             | 4.673        | 17.300           | 7.675        | 0.028            |
| IL4          | 4.900              | 1.524        | 20.300           | 14.989       | 0.005            |
| IL10         | 3.200              | 0.919        | 18.500           | 15.883       | 0.007            |
| IgA          | 3.600              | 2.459        | 14.200           | 7.569        | 0.001            |
| IgG          | 5.300              | 2.111        | 8.300            | 4.809        | 0.088            |
| IgM          | 8.200              | 3.190        | 11.100           | 6.154        | 0.202            |

Analisis lengkap lihat lampiran 9  
Multivariate tests of significance (S=1, M=51/2, N=2)  
Wilks test of Sig. of F : 0.007

Dari 12 variabel komponen respons imun yang ditampilkan 6 variabel dengan analisis univariat menunjukkan tidak ada perbedaan antara kelompok defisiensi

vitamin A dan kelompok kontrol dari variabel sel dendritik, sel CD11b, sel T CD4, sel T CD8, SPp IgG dan SPp IgM sedangkan sisa variabel lain menunjukkan perbedaan yang signifikan, hal demikian menunjukkan bahwa defisiensi vitamin A mempunyai pengaruh yang tidak sama terhadap komponen respons imun. Analisis secara keseluruhan dari variabel respons imun dengan analisis multivariat menunjukkan perbedaan yang sangat signifikan hal tersebut dapat disimpulkan bahwa respons imun pada defisiensi vitamin A daerah efektor dengan paparan LPS mengalami penurunan.

**Tabel 5.6** Komparasi komponen respons imun daerah efektor mukosa usus kelompok kontrol dan kelompok terapi vitamin A dengan paparan LPS

| Variabel | Kelompok kontrol |              | Kelompok terapi vitamin A |              | Signifikan si |
|----------|------------------|--------------|---------------------------|--------------|---------------|
|          | Rerata           | Simpang baku | Rerata                    | Simpang baku |               |
| DC       | 9.700            | 7.409        | 10.700                    | 4.191        | 0.715         |
| NK       | 9.800            | 3.553        | 12.200                    | 4.367        | 0.194         |
| CD 11b   | 11.100           | 7.445        | 10.700                    | 6.183        | 0.897         |
| CD4      | 31.800           | 24.603       | 26.100                    | 14.940       | 0.539         |
| CD8      | 23.500           | 23.382       | 11.800                    | 9.484        | 0.160         |
| IL2      | 25.500           | 16.828       | 22.300                    | 17.613       | 0.683         |
| IFNG     | 17.300           | 7.675        | 22.800                    | 17.383       | 0.372         |
| IL4      | 20.300           | 14.989       | 15.000                    | 10.077       | 0.336         |
| IL10     | 18.500           | 15.883       | 18.300                    | 16.614       | 0.978         |
| IgA      | 14.200           | 7.569        | 13.100                    | 10.049       | 0.785         |
| IgG      | 8.300            | 4.809        | 9.600                     | 6.535        | 0.619         |
| IgM      | 11.100           | 6.154        | 8.900                     | 4.654        | 0.379         |

Test signifikansi dengan univariate F-tests with (1, 18) D.F. efek kelompok

Tidak terdapat perbedaan yang bermakna dari semua variabel

Analisis lengkap lihat lampiran 10

Multivariate tests of significance (S=1, M=51/2, N=2)

Wilks test of Sig. of F : 0.589

Hasil uji anova dan manova untuk semua variabel komponen respons imun mukosa menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan. Hal ini dapat disimpulkan bahwa setelah mendapat terapi vitamin A respons imun mukosa membaik, fungsi menjadi normal kembali, sehingga dapat dikatakan bahwa vitamin A sebagai imuno-modulator.

**Tabel 5.7** Komparasi komponen respons imun daerah efektor mukosa usus kelompok defisiensi vitamin A dan kelompok terapi vitamin A dengan paparan LPS

| Varia<br>Bel | Kelompok def.vit.A |        | Kelompok terapi vitamin A |        | Signifikan<br>si |
|--------------|--------------------|--------|---------------------------|--------|------------------|
|              | Mean               | SD     | Mean                      | SD     |                  |
| DC           | 9.500              | 3.308  | 10.700                    | 4.191  | 0.486            |
| NK           | 6.100              | 3.479  | 12.200                    | 4.367  | 0.003            |
| CD 11b       | 6.500              | 2.121  | 10.700                    | 6.183  | 0.057            |
| CD4          | 20.200             | 17.022 | 26.100                    | 14.940 | 0.421            |
| CD8          | 24.000             | 19.195 | 11.800                    | 9.484  | 0.088            |
| IL2          | 4.600              | 1.647  | 22.300                    | 17.613 | 0.005            |
| IFNG         | 10.500             | 4.673  | 22.800                    | 17.383 | 0.044            |
| IL4          | 4.900              | 1.524  | 15.000                    | 10.077 | 0.006            |
| IL10         | 3.200              | 0.919  | 18.300                    | 16.614 | 0.010            |
| IgA          | 3.600              | 2.459  | 13.100                    | 10.049 | 0.009            |
| IgG          | 5.300              | 2.111  | 9.600                     | 6.535  | 0.063            |
| IgM          | 8.200              | 3.190  | 8.900                     | 4.654  | 0.699            |

Test signifikansi dengan univariate F-tests with (1,18) D.F. efek kelompok

Terdapat perbedaan yang bermakna dari sebagian besar variabel (60%)

Analisis lengkap lihat lampiran 11

Multivariate tests of significance (S=1, M=51/2, N=2)

Wilks test of Sig. of F : 0.014

Dari hasil uji statistik tersebut menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara kedua kelompok atas variabel sel NK, Sp IL-2, Sp IFN $\gamma$ , Sp IL-4, Sp IL-10, Sp IgA dengan univariat analisis, sedangkan keseluruhan variabel dengan multivariat analisis berbeda bermakna antara kelompok defisiensi dan kelompok yang telah mendapat terapi vitamin A. Dari hasil tabel diatas dapat disimpulkan

bahwa terjadi perbaikan fungsi respons imun mukosa setelah mendapat terapi vitamin A sebagai imunomodulator..

**Tabel 5.8** Komparasi komponen respons imun daerah efektor mukosa usus kelompok defisiensi vitamin A dan kelompok kontrol tanpa paparan LPS

| Varia<br>Bel | Kelompok def.vit.A |        | Kelompok kontrol |        | Signifikan<br>si |
|--------------|--------------------|--------|------------------|--------|------------------|
|              | Mean               | SD     | Mean             | SD     |                  |
| DC           | 8.400              | 1.955  | 12.600           | 7.749  | 0.114            |
| NK           | 12.800             | 19.188 | 9.800            | 5.371  | 0.640            |
| CD 11b       | 1.900              | 0.568  | 7.000            | 3.621  | 0.000            |
| CD4          | 14.100             | 14.806 | 28.200           | 24.091 | 0.132            |
| CD8          | 13.400             | 14.447 | 20.800           | 27.967 | 0.467            |
| IL2          | 4.400              | 1.174  | 6.500            | 5.255  | 0.233            |
| IFNG         | 7.000              | 4.522  | 21.200           | 18.438 | 0.029            |
| IL4          | 5.500              | 2.915  | 18.600           | 16.043 | 0.020            |
| IL10         | 3.900              | 3.446  | 9.400            | 7.214  | 0.043            |
| IgA          | 1.300              | 0.483  | 5.600            | 1.713  | 0.000            |
| IgG          | 2.300              | 0.823  | 3.900            | 1.287  | 0.004            |
| IgM          | 3.000              | 1.414  | 5.100            | 2.923  | 0.056            |

Test signifikansi dengan univariate F-tests with (1,18) D.F. efek kelompok  
Terdapat perbedaan yang bermakna dari sebagian besar variabel (60%)  
Analisis lengkap lihat lampiran 12  
Multivariate tests of significance (S=1, M=51/2, N=2)  
Wilks test of Sig. of F : 0.024

Untuk daerah efektor mukosa yang tidak mendapat paparan LPS terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok defisiensi vitamin A dan kelompok kontrol atas variabel, sel CD11b, STp IFN $\gamma$ , SPp IL-4, STp IL-10, SPp IgA, SPp IgG, sedangkan keseluruhan variabel dengan analisis multivariat terdapat perbedaan yang signifikan dengan nilai kemaknaan Wilk sebesar 0.024

Dari tabel tersebut diatas dapat disimpulkan bahwa status imunitas mukosa usus didaerah efektor mengalami penurunan atau kualitas yang lebih rendah dari normal.



**Tabel 5.9** Komparasi komponen respons imun mukosa usus daerah efektor kelompok kontrol dan kelompok terapi vitamin A tanpa stimulasi LPS

| Varia<br>Bel | Kelompok kontrol |              | Kelompok terapi vit.A |              | Signifikan<br>si |
|--------------|------------------|--------------|-----------------------|--------------|------------------|
|              | Rerata           | Simpang baku | Rerata                | Simpang baku |                  |
| DC           | 12.600           | 7.749        | 6.300                 | 2.163        | 0.023            |
| NK           | 9.800            | 5.371        | 7.100                 | 4.228        | 0.228            |
| CD 11b       | 7.000            | 3.621        | 10.000                | 8.000        | 0.294            |
| CD4          | 28.200           | 24.091       | 27.400                | 28.147       | 0.946            |
| CD8          | 20.800           | 27.967       | 22.300                | 25.215       | 0.901            |
| IL2          | 6.500            | 5.255        | 19.100                | 13.503       | 0.013            |
| IFNG         | 21.200           | 18.438       | 29.600                | 22.152       | 0.369            |
| IL4          | 18.600           | 16.043       | 34.200                | 28.990       | 0.154            |
| IL10         | 9.400            | 7.214        | 10.900                | 10.806       | 0.719            |
| IgA          | 5.600            | 1.713        | 7.100                 | 4.458        | 0.334            |
| IgG          | 3.900            | 1.287        | 5.700                 | 4.347        | 0.225            |
| IgM          | 5.100            | 2.923        | 15.900                | 20.108       | 0.110            |

Test signifikansi dengan univariate F-tests with (1,18) D.F. efek kelompok  
Tidak terdapat perbedaan yang bermakna dari sebagian besar variabel, kecuali DC,IL2

Analisis lengkap lihat lampiran 13.

Multivariate tests of significance (S=1, M=51/2, N=2)

Wilks test of Sig. of F : 0.142

Untuk daerah efektor mukosa usus yang tidak mendapat paparan LPS hanya terdapat perbedaan variabel sel dendritik dan STp IL-2 antara kelompok kontrol dan kelompok yang telah mendapat terapi vitamin A, sedangkan dengan analisis multivariat atas semua variabel tidak terdapat perbedaan yang bermakna dengan nilai kemaknaan Wilk sebesar 0.142

Dari tabel tersebut diatas dapat disimpulkan bahwa kualitas status imunitas mukosa menjadi normal setelah mendapat terapi vitamin A.

**Tabel 5.10** Komparasi komponen respons imun daerah efektor mukosa usus kelompok defisiensi vitamin A dan kelompok terapi vitamin A tanpa paparan LPS

| Variabel      | Kelompok def.vit.A |              | Kelompok terapi vit.A |              | Signifikan si |
|---------------|--------------------|--------------|-----------------------|--------------|---------------|
|               | Rerata             | Simpang baku | Rerata                | Simpang baku |               |
| <b>DC</b>     | 8.400              | 1.955        | 6.300                 | 2.163        | 0.035         |
| <b>NK</b>     | 12.800             | 19.188       | 7.100                 | 4.228        | 0.371         |
| <b>CD 11b</b> | 1.900              | 0.568        | 10.000                | 8.000        | 0.005         |
| <b>CD4</b>    | 14.100             | 14.806       | 27.400                | 28.147       | 0.203         |
| <b>CD8</b>    | 13.400             | 14.447       | 22.300                | 25.215       | 0.346         |
| <b>IL2</b>    | 4.400              | 1.174        | 19.100                | 13.503       | 0.003         |
| <b>IFNG</b>   | 7.000              | 4.522        | 29.600                | 22.152       | 0.005         |
| <b>IL4</b>    | 5.500              | 2.915        | 34.200                | 28.990       | 0.006         |
| <b>IL10</b>   | 3.900              | 3.446        | 10.900                | 10.806       | 0.067         |
| <b>IgA</b>    | 1.300              | 0.483        | 7.100                 | 4.458        | 0.001         |
| <b>IgG</b>    | 2.300              | 0.823        | 5.700                 | 4.347        | 0.026         |
| <b>IgM</b>    | 3.000              | 1.414        | 15.900                | 20.108       | 0.058         |

Test signifikansi dengan univariate F-tests with (1, 18) D.F. efek kelompok

Terdapat perbedaan yang bermakna dari sebagian besar variabel, (65%)

Analisis lengkap lihat lampiran 14.

Multivariate tests of significance (S=1, M=51/2, N=2)

Wilks test of Sig. of F : 0.011

Dengan analisis univariat terdapat perbedaan yang bermakna atas variabel sel

dendritik, sel CD11b, STp IL-2, STp IFN $\gamma$ , STp IL-4, SPp IgA, SPp IgG antara

kelompok defisiensi vitamin A dan kelompok terapi vitamin A, sedangkan untuk

keseluruhan variabel analisis multivariat menunjukkan hasil yang signifikan dengan

nilai Wilk sebesar 0.011. Dari tabel tersebut diatas dapat disimpulkan bahwa terapi

vitamin A memberikan modulasi positif terhadap status imunitas mukosa sehingga

kualitas status imunitas mukosa kembali normal.



**Tabel 5.11** Komparasi komponen respons imun daerah induktif mukosa usus kelompok defisiensi vitamin A dan kelompok kontrol dengan paparan LPS

| Variabel      | Kelompok def.vit.A |              | Kelompok kontrol |              | Signifikan si |
|---------------|--------------------|--------------|------------------|--------------|---------------|
|               | Rerata             | Simpang baku | Rerata           | Simpang baku |               |
| <b>DC</b>     | 3.100              | 1.449        | 3.500            | 2.224        | 0.639         |
| <b>NK</b>     | 2.900              | 1.729        | 2.700            | 2.163        | 0.822         |
| <b>CD 11b</b> | 1.600              | 0.699        | 1.300            | 0.483        | 0.279         |
| <b>CD4</b>    | 6.000              | 3.590        | 5.400            | 2.547        | 0.672         |
| <b>CD8</b>    | 5.600              | 3.502        | 4.700            | 3.498        | 0.572         |
| <b>IL2</b>    | 2.700              | 1.160        | 4.300            | 5.677        | 0.394         |
| <b>IFNG</b>   | 3.100              | 2.132        | 5.300            | 2.541        | 0.050         |
| <b>IL4</b>    | 1.800              | 1.033        | 4.500            | 1.509        | 0.000         |
| <b>IL10</b>   | 2.200              | 1.135        | 2.100            | 1.524        | 0.870         |
| <b>IgA</b>    | 1.100              | 0.316        | 2.100            | 1.595        | 0.068         |
| <b>IgG</b>    | 1.200              | 0.422        | 1.300            | 0.483        | 0.628         |
| <b>IgM</b>    | 2.100              | 1.449        | 2.000            | 1.247        | 0.870         |

Test signifikansi dengan univariate F-tests with (1,18) D.F. efek kelompok

Tidak terdapat perbedaan yang bermakna dari sebagian besar variabel, (80%)

Analisis lengkap lihat lampiran 19

Multivariate tests of significance (S=1, M=51/2, N=2)

Wilks test of Sig. of F : 0.023

Analisis statistik dengan univariat tes menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan. Dari komponen respons imun mukosa daerah induktif yang mendapat paparan LPS kecuali STp IFN $\gamma$  dan STp IL-4, tetapi analisis keseluruhan variabel dengan multivariat memberikan hasil tes yang signifikan dengan nilai kemaknaan Wilk sebesar 0.023. Dari tabel tersebut diatas disimpulkan bahwa akibat defisiensi vitamin A akan menurunkan respons imun didaerah induktif. .

**Tabel 5.12** Komparasi komponen respons imun daerah induktif mukosa usus kelompok kontrol dan kelompok terapi vitamin A dengan paparan LPS

| Variabel | Kelompok kontrol |              | Kelompok terapi vit.A |              | Signifikan si |
|----------|------------------|--------------|-----------------------|--------------|---------------|
|          | Rerata           | Simpang baku | Rerata                | Simpang baku |               |
| DC       | 3.500            | 2.224        | 4.300                 | 0.949        | 0.309         |
| NK       | 2.700            | 2.163        | 3.900                 | 0.994        | 0.128         |
| CD 11b   | 1.300            | 0.483        | 2.100                 | 0.738        | 0.010         |
| CD4      | 5.400            | 2.547        | 5.300                 | 3.129        | 0.938         |
| CD8      | 4.700            | 3.498        | 3.300                 | 1.418        | 0.256         |
| IL2      | 4.300            | 5.677        | 2.300                 | 1.418        | 0.294         |
| IFNG     | 5.300            | 2.541        | 3.700                 | 2.163        | 0.147         |
| IL4      | 4.500            | 1.509        | 4.900                 | 3.247        | 0.728         |
| IL10     | 2.100            | 1.524        | 2.100                 | 1.853        | 1.000         |
| IgA      | 2.100            | 1.595        | 1.700                 | 0.675        | 0.475         |
| IgG      | 1.300            | 0.483        | 1.200                 | 0.422        | 0.628         |
| IgM      | 2.000            | 1.247        | 1.900                 | 0.876        | 0.838         |

Test signifikansi dengan univariate F-tests with (1,18) D.F. efek kelompok

Tidak terdapat perbedaan yang bermakna dari sebagian besar variabel, kecuali CD11b

Analisis lengkap lihat lampiran 20

Multivariate tests of significance (S=1, M=51/2, N=2)

Wilks test of Sig. of F : 0.365

Antara kelompok kontrol dan kelompok terapi vitamin A atas variabel komponen respon imun mukosa usus daerah induktif yang mendapat paparan LPS analisis univariat tidak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan kecuali variabel sel CD11b, sedangkan analisis keseluruhan variabel antara kedua kelompok tidak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan dengan nilai kemaknaan Wilk sebesar 0.365. Dari data pada tabel tersebut diatas dapat disimpulkan bahwa akibat pemberian terapi vitamin A terjadi perbaikan respons imun di daerah induktif mukosa usus.

**Tabel 5.13** Komparasi komponen respons imun daerah induktif mukosa usus kelompok defisiensi vitamin A dan kelompok terapi vitamin A dengan paparan LPS

| Varia<br>Bel | Kelompok def.vit.A |              | Kelompok terapi vit.A |              | Signifikan<br>si |
|--------------|--------------------|--------------|-----------------------|--------------|------------------|
|              | Rerata             | Simpang baku | Rerata                | Simpang baku |                  |
| DC           | 3.100              | 1.449        | 4.300                 | 0.949        | 0.042            |
| NK           | 2.900              | 1.729        | 3.900                 | 0.994        | 0.130            |
| CD 11b       | 1.600              | 0.699        | 2.100                 | 0.738        | 0.137            |
| CD4          | 6.000              | 3.590        | 5.300                 | 3.129        | 0.648            |
| CD8          | 5.600              | 3.502        | 3.300                 | 1.418        | 0.070            |
| IL2          | 2.700              | 1.160        | 2.300                 | 1.418        | 0.499            |
| IFNG         | 3.100              | 2.132        | 3.700                 | 2.163        | 0.540            |
| IL4          | 1.800              | 1.033        | 4.900                 | 3.247        | 0.010            |
| IL10         | 2.200              | 1.135        | 2.100                 | 1.853        | 0.886            |
| IgA          | 1.100              | 0.316        | 1.700                 | 0.675        | 0.020            |
| IgG          | 1.200              | 0.422        | 1.200                 | 0.422        | 1.000            |
| IgM          | 2.100              | 1.449        | 1.900                 | 0.876        | 0.713            |

Test signifikansi dengan univariate F-tests with (1,18) D.F. efek kelompok  
Tidak terdapat perbedaan yang bermakna dari sebagian besar variabel, kecuali DC,IL-4,IgA

Analisis lengkap lihat lampiran 21

Multivariate tests of significance (S=1, M=51/2, N=2)

Wilks test of Sig. of F : 0.166

Komponen respons imun mukosa daerah induktif dengan paparan LPS tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok defisiensi dan kelompok terapi vitamin A kecuali atas variabel sel dendritik, STp IL-4 dan SPp IgA dengan menggunakan analisis univariat, sedangkan keseluruhan variabel dengan analisis multivariat tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan antara kedua kelompok dengan nilai kemaknaan Wilk sebesar 0.166. Dari tabel tersebut diatas dapat disimpulkan bahwa respons imun daerah induktif dalam keadaan defisiensi vitamin A ataupun setelah mendapat terapi vitamin A tidak banyak mengalami perubahan yang berarti induksi respons imun tetap terjadi.

**Tabel 5.14** Komparasi komponen respons imun daerah induktif mukosa usus kelompok defisiensi vitamin A dan kelompok kontrol tanpa paparan LPS

| Varia<br>Bel | Kelompok def.vit.A |              | Kelompok kontrol |              | Signifikan<br>si |
|--------------|--------------------|--------------|------------------|--------------|------------------|
|              | Rerata             | Simpang baku | Rerata           | Simpang baku |                  |
| DC           | 1.300              | 1.059        | 4.200            | 2.348        | 0.002            |
| NK           | 1.900              | 1.197        | 3.500            | 1.958        | 0.041            |
| CD 11b       | 0.800              | 0.632        | 1.400            | 0.843        | 0.089            |
| CD4          | 5.600              | 7.648        | 4.600            | 2.413        | 0.698            |
| CD8          | 6.500              | 9.778        | 4.300            | 2.452        | 0.499            |
| IL2          | 1.200              | 0.789        | 1.100            | 0.568        | 0.749            |
| IFNG         | 6.300              | 16.083       | 3.200            | 0.919        | 0.550            |
| IL4          | 1.100              | 0.876        | 2.900            | 1.729        | 0.009            |
| IL10         | 0.800              | 0.632        | 3.600            | 6.535        | 0.194            |
| IgA          | 1.000              | 0.000        | 1.200            | 0.422        | 0.151            |
| IgG          | 1.200              | 0.632        | 1.000            | 0.000        | 0.331            |
| IgM          | 1.000              | 0.943        | 2.000            | 1.563        | 0.100            |

Test signifikansi dengan univariate F-tests with (1,18) D.F. efek kelompok  
Tidak terdapat perbedaan yang bermakna dari sebagian besar variabel, kecuali  
DC, IL4

Analisis lengkap lihat lampiran 22

Multivariate tests of significance (S=1, M=51/2, N=2)

Wilks test of Sig. of F : 0.113

Analisis univariat atas komponen respons imun daerah induktif yang tidak mendapat paparan LPS untuk kelompok defisiensi vitamin A dan kelompok kontrol tidak terdapat perbedaan yang bermakna kecuali variabel sel dendritik dan STp IL-4, sedangkan analisis multivariat untuk keseluruhan variabel juga tidak menunjukkan adanya perbedaan antara kedua kelompok dengan nilai Wilk sebesar 0.113. Dari data dalam tabel tersebut diatas dapat disimpulkan bahwa akibat defisiensi vitamin A tidak banyak mempengaruhi kualitas status imun mukosa usus di daerah induktif.

**Tabel 5.15** Komparasi komponen respons imun daerah induktif mukosa usus kelompok kontrol dan kelompok terapi vitamin A tanpa paparan LPS

| Varia<br>Bel | Kelompok kontrol |              | Kelompok terapi vit.A |              | Signifikan<br>si |
|--------------|------------------|--------------|-----------------------|--------------|------------------|
|              | Rerata           | Simpang baku | Rerata                | Simpang baku |                  |
| DC           | 4.200            | 2.348        | 2.100                 | 0.994        | 0.018            |
| NK           | 3.500            | 1.958        | 1.900                 | 1.197        | 0.041            |
| CD 11b       | 1.400            | 0.843        | 1.500                 | 0.850        | 0.795            |
| CD4          | 4.600            | 2.413        | 1.800                 | 1.687        | 0.008            |
| CD8          | 4.300            | 2.452        | 2.200                 | 1.398        | 0.030            |
| IL2          | 1.100            | 0.568        | 1.800                 | 1.476        | 0.179            |
| IFNG         | 3.200            | 0.919        | 2.800                 | 1.476        | 0.476            |
| IL4          | 2.900            | 1.729        | 3.300                 | 2.058        | 0.644            |
| IL10         | 3.600            | 6.535        | 1.400                 | 0.966        | 0.306            |
| IgA          | 1.200            | 0.422        | 1.400                 | 0.843        | 0.511            |
| IgG          | 1.000            | 0.000        | 1.100                 | 0.316        | 0.331            |
| IgM          | 2.000            | 1.563        | 1.300                 | 0.675        | 0.210            |

Test signifikansi dengan univariate F-tests with (1,18) D.F. efek kelompok  
 Tidak terdapat perbedaan yang bermakna dari sebagian besar variabel, kecuali  
 DC, NK, CD4, CD8  
 Analisis lengkap lihat lampiran 23  
 Multivariate tests of significance (S=1, M=5, N=21/2)  
 Wilks test of Sig. of F : 0.259

Analisis statistik univariat atas variabel komponen respons imun mukosa daerah induktif tanpa paparan LPS antara kelompok kontrol dan kelompok terapi vitamin A tidak menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna kecuali 4 variabel, sel dendritik, sel NK, sel T CD4 dan sel T CD8, walaupun demikian analisis keseluruhan variabel tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan antara kedua kelompok dengan nilai kemaknaan Wilk sebesar 0.259. Dari data dalam tabel tersebut diatas dapat disimpulkan bahwa pemberian terapi vitamin A mempengaruhi perubahan kualitas status imun mukosa usus di daerah induktif, sehingga tidak berbeda dengan kontrol.

**Tabel 5.16** Komparasi komponen respons imun daerah induktif mukosa usus kelompok defisiensi vitamin A dan kelompok terapi vitamin A tanpa paparan LPS

| Varia<br>Bel | Kelompok def.vit.A |              | Kelompok terapi vit.A |              | Signifikan<br>si |
|--------------|--------------------|--------------|-----------------------|--------------|------------------|
|              | Rerata             | Simpang baku | Rerata                | Simpang baku |                  |
| DC           | 1.300              | 1.059        | 2.100                 | 0.994        | 0.099            |
| NK           | 1.900              | 1.197        | 1.900                 | 1.197        | 1.000            |
| CD 11b       | 0.800              | 0.632        | 1.500                 | 0.850        | 0.051            |
| CD4          | 5.600              | 7.648        | 1.800                 | 1.687        | 0.142            |
| CD8          | 6.500              | 9.778        | 2.200                 | 1.398        | 0.186            |
| IL2          | 1.200              | 0.789        | 1.800                 | 1.476        | 0.272            |
| IFNG         | 6.300              | 16.083       | 2.800                 | 1.476        | 0.502            |
| IL4          | 1.100              | 0.876        | 3.300                 | 2.058        | 0.006            |
| IL10         | 0.800              | 0.632        | 1.400                 | 0.966        | 0.118            |
| IgA          | 1.000              | 0.000        | 1.400                 | 0.843        | 0.151            |
| IgG          | 1.200              | 0.632        | 1.100                 | 0.316        | 0.660            |
| IgM          | 1.000              | 0.943        | 1.300                 | 0.675        | 0.424            |

Test signifikansi dengan univariate F-tests with (1,18) D.F. efek kelompok  
Tidak terdapat perbedaan yang bermakna dari semua variabel, kecuali IL4

Analisis lengkap lihat lampiran 24

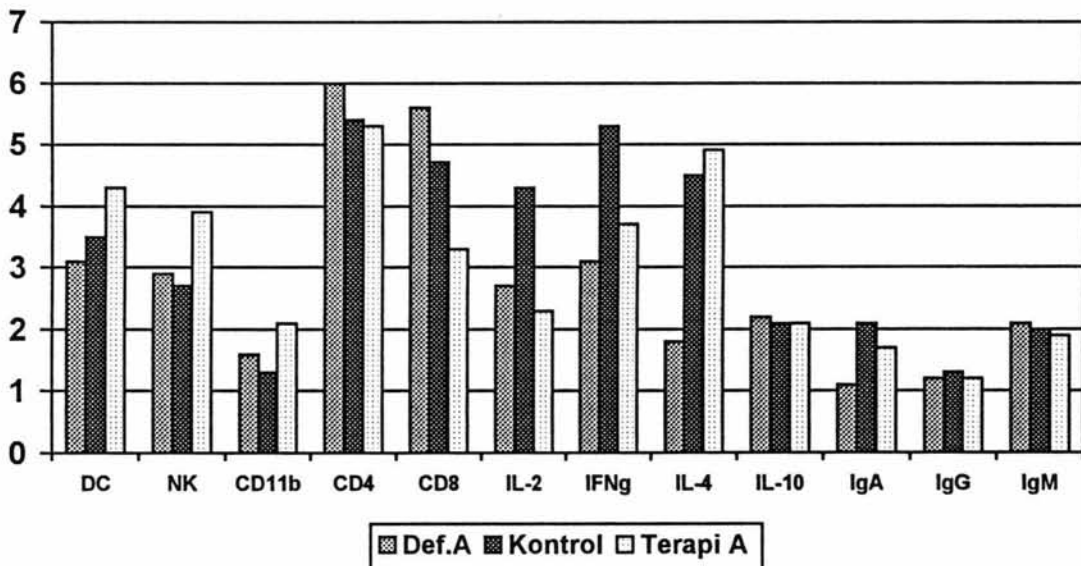
Multivariate tests of significance (S=1, M=5, N=21/2)

Wilks test of Sig. of F : 0.021

Dengan analisis univariat atas variabel komponen respons imun mukosa daerah induktif tanpa paparan LPS menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok defisiensi vitamin A dan kelompok terapi vitamin A kecuali sel Sp IL-4, namun demikian dengan menggunakan analisis multivariat terhadap seluruh variabel komponen respons imun menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antara kedua kelompok dengan nilai kemaknaan Wilk sebesar 0.021. Dari data dalam tabel tersebut diatas dapat disimpulkan bahwa pemberian vitamin A dapat memperbaiki kualitas status imun mukosa daerah induktif.

**Tabel 5.17 Harga rerata dan simpang baku variabel komponen respons mukosa usus dari 12 variabel di daerah induktif dengan paparan LPS. Lampiran 25**

| Variabel | Kel.Def.vit.A |        | Kel.Kontrol |        | Kel.Terapi vit.A |        |
|----------|---------------|--------|-------------|--------|------------------|--------|
|          | Rerata        | S.baku | Rerata      | S.baku | Rerata           | S.baku |
| DC       | 3.100         | 1.449  | 3.500       | 2.224  | 4.300            | .949   |
| NK       | 2.900         | 1.729  | 2.700       | 2.162  | 3.900            | .994   |
| CD11b    | 1.600         | .699   | 1.300       | .483   | 2.100            | .738   |
| CD4      | 6.000         | 3.590  | 5.400       | 2.547  | 5.300            | 3.129  |
| CD8      | 5.600         | 3.502  | 4.700       | 3.498  | 3.300            | 1.418  |
| IL-2     | 2.700         | 1.160  | 4.300       | 5.677  | 2.300            | 1.418  |
| IFNg     | 3.100         | 2.132  | 5.300       | 2.541  | 3.700            | 2.163  |
| IL-4     | 1.800         | 1.033  | 4.500       | 1.509  | 4.900            | 3.247  |
| IL-10    | 2.200         | 1.135  | 2.100       | 1.524  | 2.100            | 1.853  |
| IgA      | 1.100         | .316   | 2.100       | 1.595  | 1.700            | .675   |
| IgG      | 1.200         | .422   | 1.300       | .483   | 1.200            | .422   |
| IgM      | 2.100         | 1.449  | 2.000       | 1.247  | 1.900            | .876   |

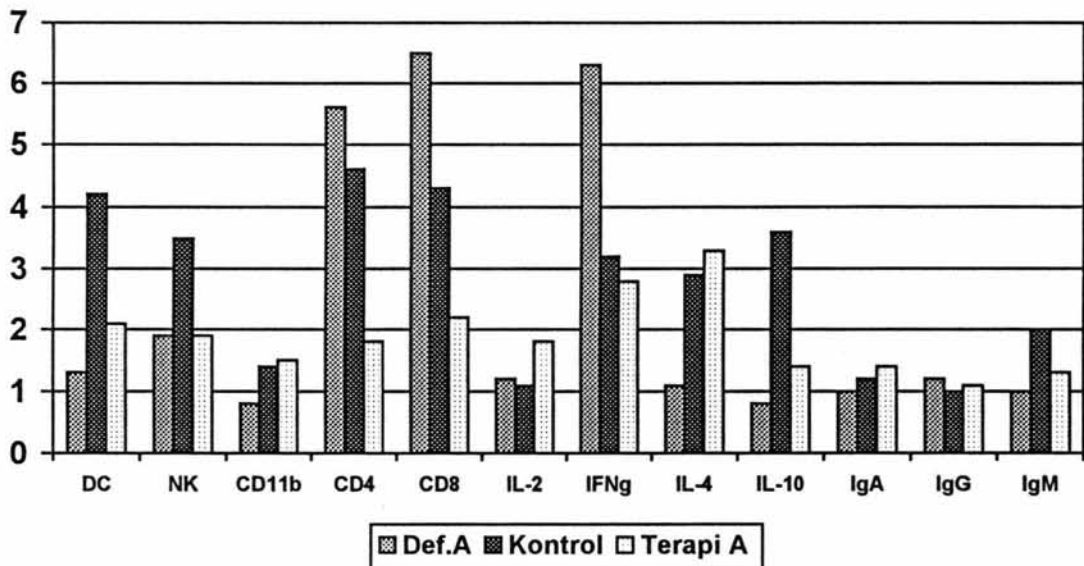


**Gambar 5.1 : Grafik rerata setiap variabel komponen respons imun mukosa daerah induktif dengan paparan LPS**



**Tabel 5.18 Harga rerata dan simpang baku variabel komponen respons imun mukosa usus dari 12 variabel di daerah induktif tanpa paparan LPS. Lampiran 26**

| Variabel | Kel.Def.vit.A |        | Kel.Kontrol |        | Kel.Terapi vit.A |        |
|----------|---------------|--------|-------------|--------|------------------|--------|
|          | Rerata        | S.baku | Rerata      | S.baku | Rerata           | S.baku |
| DC       | 1.300         | 1.059  | 4.200       | 2.348  | 2.100            | .994   |
| NK       | 1.900         | 1.197  | 3.500       | 1.958  | 1.900            | 1.197  |
| CD11b    | .800          | .632   | 1.400       | .843   | 1.500            | .850   |
| CD4      | 5.600         | 7.648  | 4.600       | 2.413  | 1.800            | 1.687  |
| CD8      | 6.500         | 9.778  | 4.300       | 2.452  | 2.200            | 1.340  |
| IL-2     | 1.200         | .789   | 1.100       | .568   | 1.800            | 1.476  |
| IFNg     | 6.300         | 16.083 | 3.200       | .919   | 2.800            | 1.476  |
| IL-4     | 1.100         | .876   | 2.900       | 1.729  | 3.300            | 2.056  |
| IL-10    | .800          | .632   | 3.600       | 6.635  | 1.400            | .966   |
| IgA      | 1.000         | .000   | 1.200       | .422   | 1.400            | .843   |
| IgG      | 1.200         | .632   | 1.000       | .000   | 1.100            | .316   |
| IgM      | 1.000         | .943   | 2.000       | 1.563  | 1.300            | .675   |

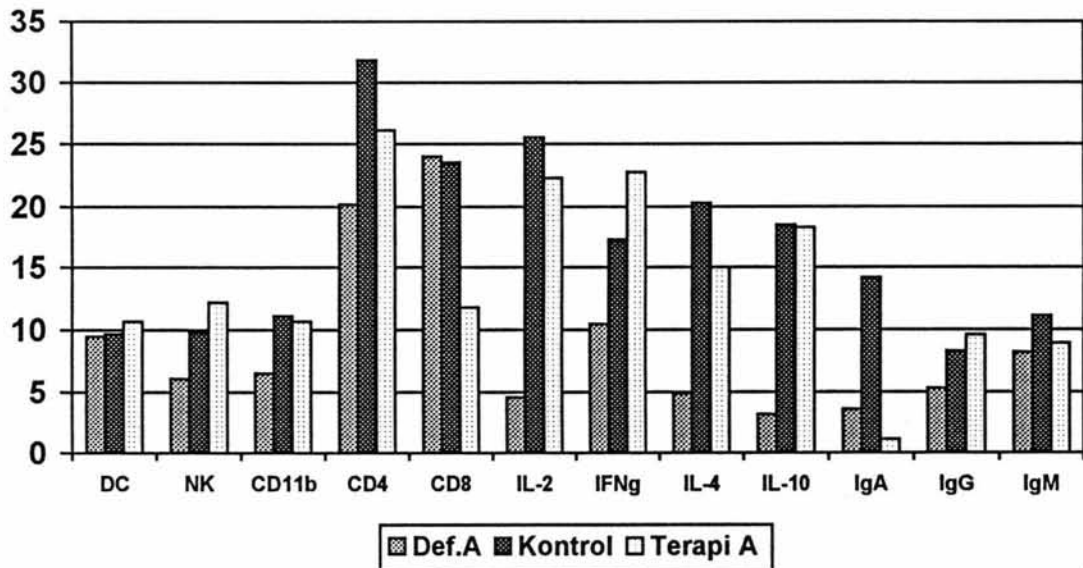


**Gambar 5.2 : Grafik rerata setiap variabel komponen respons imun mukosa daerah induktif tanpa paparan LPS**



**Tabel 5.19 Harga rerata dan simpang baku variabel komponen respons imun mukosa usus dari 12 variabel di daerah efektor dengan paparan LPS. Lampiran 15**

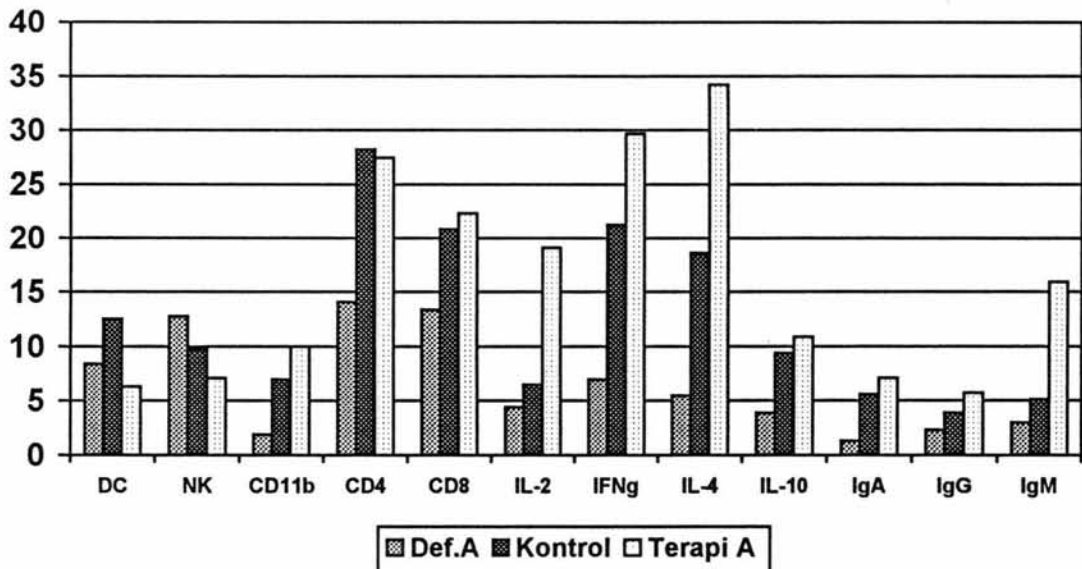
| Variabel | Kel.Def.vit.A |        | Kel.Kontrol |        | Kel.Terapi vit.A |        |
|----------|---------------|--------|-------------|--------|------------------|--------|
|          | Rerata        | S.baku | Rerata      | S.baku | Rerata           | S.baku |
| DC       | 9.500         | 3.308  | 9.700       | 7.409  | 10.700           | 4.191  |
| NK       | 6.100         | 3.479  | 9.800       | 3.553  | 12.200           | 4.367  |
| CD11b    | 6.500         | 2.121  | 11.100      | 7.445  | 10.700           | 6.183  |
| CD4      | 20.200        | 17.022 | 31.800      | 24.603 | 26.100           | 14.940 |
| CD8      | 24.000        | 19.195 | 23.500      | 23.382 | 11.800           | 9.484  |
| IL-2     | 4.600         | 1.647  | 25.500      | 16.828 | 22.300           | 17.613 |
| IFNg     | 10.500        | 4.673  | 17.300      | 7.675  | 22.800           | 17.383 |
| IL-4     | 4.900         | 1.524  | 20.300      | 14.989 | 15.000           | 10.077 |
| IL-10    | 3.200         | .919   | 18.500      | 15.883 | 18.300           | 16.614 |
| IgA      | 3.600         | 2.459  | 14.200      | 7.569  | 13.100           | 10.049 |
| IgG      | 5.300         | 2.111  | 8.300       | 4.809  | 9.600            | 6.535  |
| IgM      | 8.200         | 3.190  | 11.100      | 6.154  | 8.900            | 4.654  |



**Gambar 5.3 : Grafik rerata setiap variabel komponen respons imun mukosa daerah efektor dengan paparan LPS**

**Tabel 5.20 Harga rerata dan simpang baku variabel komponen respons imun mukosa usus dari 12 variabel di daerah efektor tanpa paparan LPS Lampiran 16**

| Variabel | Kel.Def.vit.A |        | Kel.Kontrol |        | Kel.Terapi vit.A |        |
|----------|---------------|--------|-------------|--------|------------------|--------|
|          | Rerata        | S.baku | Rerata      | S.baku | Rerata           | S.baku |
| DC       | 8.400         | 1.956  | 12.600      | 7.449  | 6.300            | 2.163  |
| NK       | 12.800        | 19.188 | 9.800       | 5.371  | 7.100            | 4.228  |
| CD11b    | 1.900         | .568   | 7.000       | 3.621  | 10.000           | 8.000  |
| CD4      | 14.100        | 14.806 | 28.200      | 24.091 | 27.400           | 28.147 |
| CD8      | 13.400        | 14.447 | 20.800      | 27.967 | 22.300           | 25.215 |
| IL-2     | 4.400         | 1.174  | 6.500       | 5.255  | 19.100           | 13.503 |
| IFNg     | 7.000         | 4.522  | 21.200      | 18.438 | 29.600           | 22.152 |
| IL-4     | 5.500         | 2.915  | 18.600      | 16.043 | 34.200           | 28.990 |
| IL-10    | 3.900         | 3.446  | 9.400       | 7.214  | 10.900           | 10.806 |
| IgA      | 1.300         | .483   | 5.600       | 1.713  | 7.100            | 4.458  |
| IgG      | 2.300         | .823   | 3.900       | 1.287  | 5.700            | 4.347  |
| IgM      | 3.000         | 1.414  | 5.100       | 2.923  | 15.900           | 20.108 |



**Gambar 5.4 : Grafik rerata setiap variabel komponen respons imun mukosa daerah efektor tanpa paparan LPS**

### 5.2.5 Uji Diskreminan Untuk Identifikasi Variabel Pembeda

Uji dengan metode ini sangat diperlukan untuk menentukan variabel yang mana dari komponen respons imun mukosa yang mengadakan interaksi satu sama lain mempunyai kontribusi yang paling besar dalam interaksi tersebut sehingga nilai kontribusi ini dapat dipakai sebagai faktor pembeda terkuat dari ketiga kelompok, kelompok defisiensi vitamin A, kelompok kontrol, kelompok terapi vitamin A.

Untuk tujuan tersebut diatas analisis diskreminan dilakukan terhadap seluruh variabel komponen respons imun dan status imun mukosa usus yang secara fungsional dikelompokkan menjadi kelompok respons imun dan status imun mukosa usus daerah induktif baik dengan paparan maupun tanpa paparan LPS dan kelompok respons imun dan status imun mukosa usus daerah efektor baik dengan maupun tanpa paparan LPS.

Analisis diskreminan dengan metode stepweis dilakukan terhadap variabel komponen respons imun mukosa daerah induktif dengan paparan LPS dengan menampilkan 12 variabel, sel dendritik, sel NK, sel CD11b, sel T CD4, sel T CD8, STp IL-2, STp IFN $\gamma$ , STp IL-4, STp IL-10, SPp IgA, SPp IgG, SPp IgM melalui 9 step analisis diperoleh hasil 7 variabel pembeda terkuat yaitu, sel dendritik, sel T CD8, STp IL-2, STp IL-4, SPp IgA, SPp IgG, dan sel CD11b dengan Wilks' lambda sebesar .29482 dan  $\alpha = .0104$

Hasil rekapitulasi dapat dilihat pada tabel berikut :

**Tabel 5.21 Rekapitulasi variabel pembeda komponen respons imun mukosa daerah induktif dengan paparan LPS**

| Step | Action Entered   | Action Removed   | Vars In | Wilks' Lambda | Sig   |
|------|------------------|------------------|---------|---------------|-------|
| 1    | STp IL-4         |                  | 1       | .68732        | .0063 |
| 2    | Sel CD11b        |                  | 2       | .52121        | .0017 |
| 3    | STp IL-2         |                  | 3       | .46508        | .0029 |
| 4    | SPp IgA          |                  | 4       | .40684        | .0035 |
| 5    | STp IFN $\gamma$ |                  | 5       | .36523        | .0052 |
| 6    | Sel T CD8        |                  | 6       | .34061        | .0100 |
| 7    | Sel dendritik    |                  | 7       | .31869        | .0182 |
| 8    | SPp IgG          |                  | 8       | .27977        | .0204 |
| 9    |                  | STp IFN $\gamma$ | 9       | .29482        | .0104 |

Dari tabel rekapitulasi ini dapat dilihat bahwa setelah melalui 9 step analisis variabel STp IFN $\gamma$  harus diambil, maka terdapat 7 variabel pembeda terkuat. Dengan 7 variabel tersebut yang dipakai bersama sama memberikan kekuatan pembeda sebesar 76.67%, sedangkan dengan keseluruhan 12 variabel yang dipakai bersama sama memberikan pembeda sebesar 80%.

Analisis diskriminan dengan metode stepweis dilakukan terhadap variabel komponen respons imun mukosa daerah induktif tanpa paparan LPS dengan menampilkan 12 variabel, sel Dendritik, sel NK, sel CD11b, sel T CD4, sel T CD8, STp IL-2, STp IFN $\gamma$ , STp IL-4, STp IL-10, SPp IgA, SPp IgG, SPp IgM, melalui 10 step analisis diperoleh hasil 10 variabel pembeda terkuat yaitu, sel Dendritik, STp IL-4, SPp IgA, sel T CD8, sel CD11b, STp IFN $\gamma$ , SPp IgG, STp IL-2, STp IL-10, SPp IgM dengan Wilks' lambda sebesar .15368 dan  $\alpha = .0036$

Hasil rekapitulasi dapat dilihat pada tabel berikut :

**Tabel 5.22 Rekapitulasi variabel pembeda komponen respons imun mukosa daerah induktif tanpa paparan LPS**

| Step | Action Entered   | Action Removed | Vars In | Wilks' Lambda | Sig   |
|------|------------------|----------------|---------|---------------|-------|
| 1    | Sel Dendritik    |                | 1       | .60458        | .0011 |
| 2    | SPp IL-4         |                | 2       | .47034        | .0005 |
| 3    | SPp IgA          |                | 3       | .39507        | .0005 |
| 4    | Sel T CD8        |                | 4       | .34185        | .0006 |
| 5    | Sel CD11b        |                | 5       | .30061        | .0009 |
| 6    | STp IFN $\gamma$ |                | 6       | .26492        | .0013 |
| 7    | SPp IgG          |                | 7       | .24013        | .0022 |
| 8    | STp IL-2         |                | 8       | .20041        | .0020 |
| 9    | STp IL-10        |                | 9       | .17097        | .0022 |
| 10   | SPp IgM          |                | 10      | .15368        | .0036 |

Dengan 10 variabel pembeda terkuat tersebut yang dipakai secara bersama memberikan kekuatan pembeda sebesar 80%, sedangkan dengan keseluruhan 12 variabel memberikan kekuatan pembeda sebesar 90%.

Analisis diskriminan dengan metode stepweis dilakukan terhadap variabel komponen respons imun mukosa daerah efektor dengan paparan LPS dengan menampilkan 12 variabel, sel dendritik, sel NK, sel CD11b, sel T CD4, sel T CD8, STp IL-2, STp IFN $\gamma$ , STp IL-4, STp IL-10, SPp IgA, SPp IgG, SPp IgM, melalui 9 step analisis diperoleh hasil 9 variabel pembeda terkuat yaitu, sel NK, SPp IL-4, STp IL-2, SPp IgA, SPp IgG, STp IL-10, STp IFN $\gamma$ , sel T CD8, sel T CD4 dengan Wilks' lambda sebesar .10008 dan  $\alpha = .0000$

Hasil rekapitulasi dapat dilihat pada tabel berikut :

**Tabel 5.23** Rekapitulasi variabel pembeda komponen respons imun mukosa daerah efektor dengan paparan LPS

| Step | Action Entered   | Action Removed | Vars In | Wilks' Lambda | Sig   |
|------|------------------|----------------|---------|---------------|-------|
| 1    | Sel NK           |                | 1       | .67602        | .0051 |
| 2    | STp IL-4         |                | 2       | .49413        | .0009 |
| 3    | STp IL-2         |                | 3       | .40380        | .0006 |
| 4    | SPp IgA          |                | 4       | .34508        | .0007 |
| 5    | SPp IgG          |                | 5       | .19332        | .0000 |
| 6    | STp IL-10        |                | 6       | .14280        | .0000 |
| 7    | STp IFN $\gamma$ |                | 7       | .12505        | .0000 |
| 8    | Sel T CD8        |                | 8       | .10900        | .0000 |
| 9    | Sel T CD4        |                | 9       | .10008        | .0000 |

Dengan 9 variabel terkuat dari hasil analisis diskreminan dipakai bersama sama akan memberi kekuatan pembeda sebesar 86.67% sedangkan keseluruhan variabel dipakai bersama sama tidak meningkatkan kekuatan pembeda masih tetap sebesar 86.67%.

Analisis diskreminan dengan metode stepweis dilakukan terhadap variabel komponen respons imun mukosa daerah efektor tanpa paparan LPS dengan menampilkan 12 variabel, sel dendritik, sel NK, sel CD11b, sel T CD4, sel T CD8, sel Sp IL-2, sel Sp IFN $\gamma$ , sel Sp IL-4, sel Sp IL-10, sel Sp IgA, sel Sp IgG, sel Sp IgM, melalui 10 step analisis diperoleh hasil 8 variabel pembeda terkuat yaitu, sel Sp IgA, sel dendritik, sel Sp IFN $\gamma$ , sel Sp IgG, sel Sp IgM, sel Sp IL-10, sel CD11b, sel Sp IL-2. Dengan nilai Wilks' lambda sebesar .05333 dan nilai  $\alpha = .0000$

Hasil rekapitulasi analisis diskreminan dapat dilihat pada tabel berikut :

**Tabel 5.24 Rekapitulasi variabel pembeda komponen respons imun mukosa daerah efektor tanpa paparan LPS**

| Step | Action Entered   | Action Removed | Vars In | Wilks` Lambda | Sig   |
|------|------------------|----------------|---------|---------------|-------|
| 1    | PSp IgA          |                | 1       | .53362        | .0002 |
| 2    | STp IL-2         |                | 2       | .32058        | .0000 |
| 3    | Sel Dendritik    |                | 3       | .21126        | .0000 |
| 4    | STp IFN $\gamma$ |                | 4       | .17056        | .0000 |
| 5    | SPp IgG          |                | 5       | .11560        | .0000 |
| 6    | SGp IgM          |                | 6       | .08784        | .0000 |
| 7    |                  | STp IL-2       | 5       | .09122        | .0000 |
| 8    | STp IL-10        |                | 6       | .06669        | .0000 |
| 9    | Sel CD11b        |                | 7       | .05858        | .0000 |
| 10   | STp IL-2         |                | 8       | .05333        | .0000 |

Dengan 8 variabel pembeda terkuat yang dipakai bersama sama dapat memberi kekuatan pembeda sebesar 93.33%, sedangkan keseluruhan variabel tidak menambah kekuatan pembeda tetap sebesar 93.33%.

### 5.2.6 Pembuatan Pola Gangguan Respons Imun Mukosa Usus

Untuk dapat mengungkap dan menjelaskan masalah imunopatobiogenesis gangguan respons imun dan status imun mukosa akibat adanya defisiensi vitamin A maka pada penelitian ini yang menggunakan paradigma Pabiologis yang berkonsep *stress mucosal immunocompetent cells*, perlu dibuat pola gangguan respons imun dan status imun mukosa kelompok defisiensi vitamin A, respons imun dan status imun mukosa pada kelompok kontrol dan pada kelompok terapi vitamin A. Untuk dapat membuat pola tersebut diperlukan harga kontribusi diskreminan dari setiap variabel komponen respons imun mukosa yang saling interaksi. Pola yang dibuat adalah pola respons imun mukosa daerah induktif dan daerah efektor. Variabel yang

diuji adalah variabel tergantung respons imun dan status imun mukosa dengan uji manova dan diskreminan.

**Tabel 5.25 Pola komponen respons imun mukosa usus daerah induktif dengan paparan LPS dari kelompok defisiensi vitamin A, kelompok kontrol dan kelompok terapi vitamin A**

| Variabel     | Kel.def.vit.A |        | Kel.kontrol |        | Kel.terapi vit.A |        | Tes sig. |
|--------------|---------------|--------|-------------|--------|------------------|--------|----------|
|              | Rerata        | S.baku | Rerata      | S.baku | Rerata           | S.baku |          |
| DC           | -.346         | .162   | 1.286       | .817   | 4.214            | .930   | .000     |
| NK           |               |        |             |        |                  |        |          |
| CD11b        | 6.972         | 3.047  | 5.275       | 1.960  | 12.461           | 4.378  | .000     |
| CD4          |               |        |             |        |                  |        |          |
| CD8          | 4.278         | 2.676  | 1.952       | 1.453  | .962             | .413   | .001     |
| IL-2         | .252          | .109   | 2.541       | 3.356  | 1.002            | .618   | .044     |
| IFN $\gamma$ |               |        |             |        |                  |        |          |
| IL-4         | 1.194         | .685   | 6.306       | 2.115  | 7.324            | 4.854  | .000     |
| IL-10        |               |        |             |        |                  |        |          |
| IgA          | -.602         | .173   | 2.9930      | 2.225  | 2.079            | .825   | .000     |
| IgG          | 7.463         | 2.622  | 3.878       | 1.441  | 1.813            | .637   | .000     |
| IgM          |               |        |             |        |                  |        |          |

Keterangan : lampiran 27

Rerata : harga rerata diskreminan dari setiap variabel komponen respons imun.

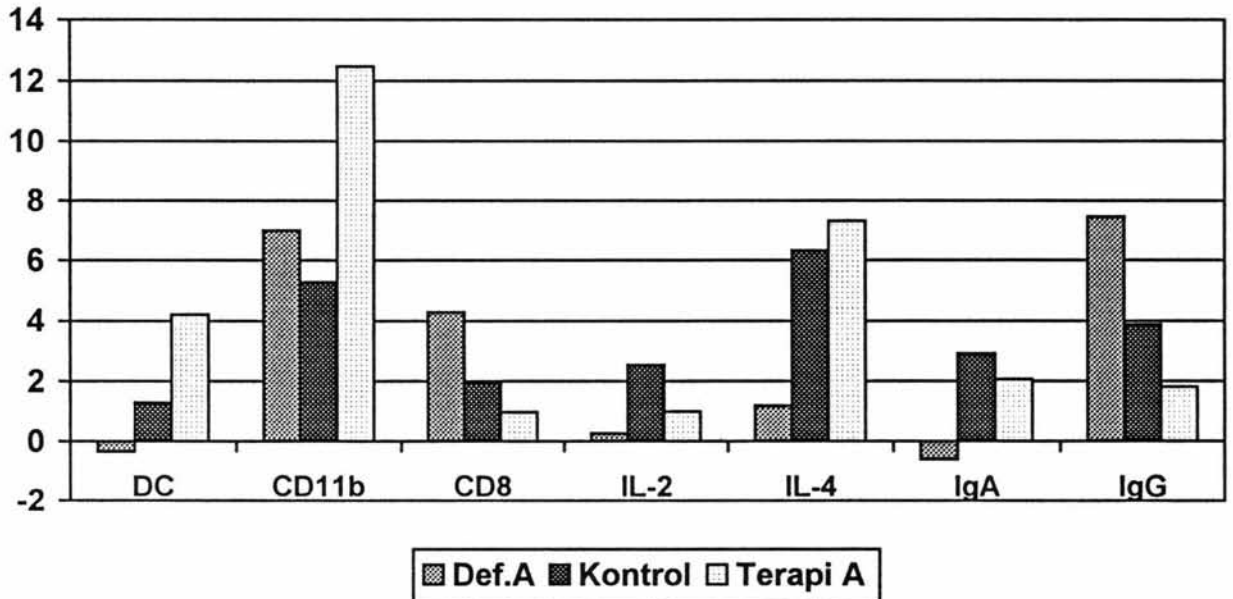
Simpang baku : simpang baku diskreminan dari setiap variabel komponen respons imun.

Sel dendritik, sel CD11b, sel T CD8, STp IL-2, STp IL-4, SPp IgA, dan SPp IgG adalah variabel pembeda terkuat.

Dengan 7 variabel tersebut yang diperoleh dari analisis diskreminan menunjukkan nilai Wilks' sebesar 0.01586 dan taraf signifikansinya sebesar .000. Dapat



disimpulkan bahwa terdapat perbedaan pola dari ketiga kelompok tersebut pada daerah induktif yang diberikan paparan dengan LPS.



**Gambar 5.5 Grafik pola respons imun mukosa daerah induktif dengan paparan LPS**

Dari tabel 5.25 dan gambar 5.5 mencerminkan bahwa pada daerah induktif yang mendapat paparan LPS pada kelompok defisiensi vitamin A sel dendritik dan SPp IgA terletak pada titik terendah dengan nilai  $-0.346$  dan  $-0.602$  menyusul variabel STp IL-2 dengan nilai  $0.252$  sedangkan variabel yang lain relatif masih baik. Pada kelompok terapi vitamin A variabel terendah pada sel T CD8 dan SPp IgG dengan nilai  $1.453$  dan  $1.441$ .

**Tabel 5.26 Pola komponen respons imun mukosa usus daerah induktif tanpa paparan LPS dari kelompok defisiensi vitamin A, kelompok kontrol dan kelompok terapi vitamin A**

| Variabel     | Kel.def.vit.A |        | Kel.kontrol |       | Kel.terapi vit.A |       | Tes sig. |
|--------------|---------------|--------|-------------|-------|------------------|-------|----------|
|              | Mean          | SD     | Mean        | SD    | Mean             | SD    |          |
| DC           | .026          | .021   | 8.119       | 4.538 | 1.416            | .671  | .000     |
| NK           |               |        |             |       |                  |       |          |
| CD11b        | 2.975         | 2.352  | 5.745       | 3.461 | 8.172            | 4.630 | .012     |
| CD4          |               |        |             |       |                  |       |          |
| CD8          | 7.120         | 10.711 | .591        | .337  | .272             | .173  | .032     |
| IL-2         | -2.068        | 1.360  | -2.017      | 1.041 | -.713            | .585  | .011     |
| IFN $\gamma$ | -3.443        | 8.789  | -.215       | .062  | -.244            | .129  | .280     |
| IL-4         | .821          | .654   | 3.282       | 1.956 | 6.098            | 3.802 | .000     |
| IL-10        | -.156         | .124   | .526        | .955  | -.293            | .202  | .007     |
| IgA          | 4.294         | .000   | 7.327       | 2.575 | 10.039           | 6.047 | .008     |
| IgG          | 16.301        | 8.592  | 8.686       | .000  | 10.548           | 3.032 | .009     |
| IgM          | -3.277        | 3.089  | -3.907      | 3.054 | -4.253           | 2.208 | .736     |

Tes univariat variabel 1-12 sig.of F : .000

Tes multivariat sig.of F (Wilk) : .000

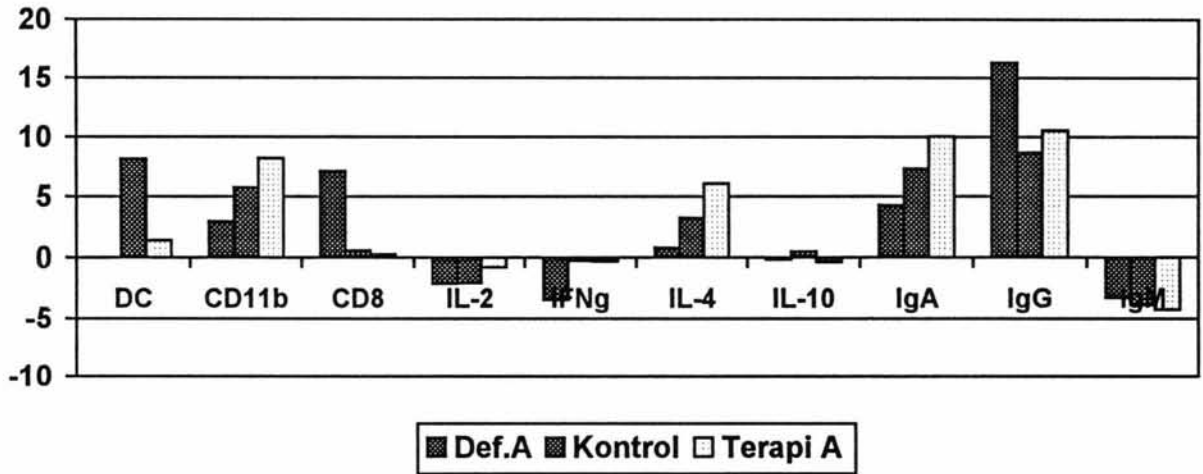
Keterangan : lampiran 28

Rerata : harga rerata diskreminan dari setiap variabel komponen respons imun.

Simpang baku : simpang baku diskreminan dari setiap variabel komponen respons imun.

Sel Dendritik, sel CD11b, sel T CD8, STp IL-2, STp IFN $\gamma$ , STp IL-4, STp IL-10, SPp IgA, dan SPp IgG dan SPp IgM adalah variabel pembeda terkuat.

Dengan 10 variabel tersebut yang diperoleh dari analisis diskreminan menunjukkan nilai Wilks' sebesar 0.03342 dan taraf signifikansinya sebesar .000. Dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan pola dari ketiga kelompok tersebut pada daerah induktif yang tidak diberikan paparan dengan LPS.



**Gambar 5.6 Grafik pola gangguan respons imun mukosa usus daerah induktif tanpa paparan LPS**

Dari tabel 5.26 dan gambar 5.6 mencerminkan bahwa pada daerah induktif yang tidak mendapat paparan LPS pada kelompok defisiensi vitamin A sel dendritik pada titik terendah dengan nilai .026 dan STp IL-2, STp IFN $\gamma$ , STp IL-10, SPp IgM terletak pada titik negatif dengan nilai -2.068, -3.443, -.156, dan -3.277 sedangkan variabel yang lain relatif masih baik tertinggi pada SPp IgG. Pada kelompok kontrol terdapat negatif untuk STp IL-2, STp IFN $\gamma$  dan SPp IgM. Pada kelompok terapi vitamin A variabel negatif pada STp IL-2, STp IFN $\gamma$ , STp IL-10, SPp IgM dengan nilai -.713, -.244, -.293, -4.253.

**Tabel 5.27 Pola komponen respons imun mukosa usus daerah efektor dengan paparan LPS dari kelompok defisiensi vitamin A kelompok kontrol dan kelompok terapi vitamin A**

| Variabel     | Kel.def.vit.A |       | Kel.kontrol |        | Kel.terapi vit.A |        | Tes sig. |
|--------------|---------------|-------|-------------|--------|------------------|--------|----------|
|              | Mean          | SD    | Mean        | SD     | Mean             | SD     |          |
| DC           |               |       |             |        |                  |        |          |
| NK           | 3.206         | 1.828 | 17.183      | 6.229  | 20.311           | 7.269  | .000     |
| CD11b        |               |       |             |        |                  |        | .        |
| CD4          | .217          | .183  | 4.539       | 3.511  | 2.891            | 1.655  | .001     |
| CD8          | 1.524         | 1.219 | -1.485      | 1.478  | -.996            | .801   | .000     |
| IL-2         | .275          | .099  | 14.532      | 9.590  | 9.087            | 7.177  | .000     |
| IFN $\gamma$ | .243          | .108  | -3.552      | 1.576  | -.915            | .698   | .000     |
| IL-4         | .261          | .081  | 11.727      | 8.659  | 6.813            | 4.577  | .000     |
| IL-10        | -.379         | .109  | -11.041     | 9.479  | -8.649           | 7.852  | .006     |
| IgA          | -.118         | .081  | 27.150      | 14.472 | 17.589           | 13.493 | .000     |
| IgG          | .333          | .133  | -19.530     | 11.315 | -16.764          | 11.413 | .000     |
| IgM          |               |       |             |        |                  |        |          |

Tes univariat variabel 1-12 sig.of F : .000

Tes multivariat sig.of F (Wilk) : .000

Keterangan : lampiran 17

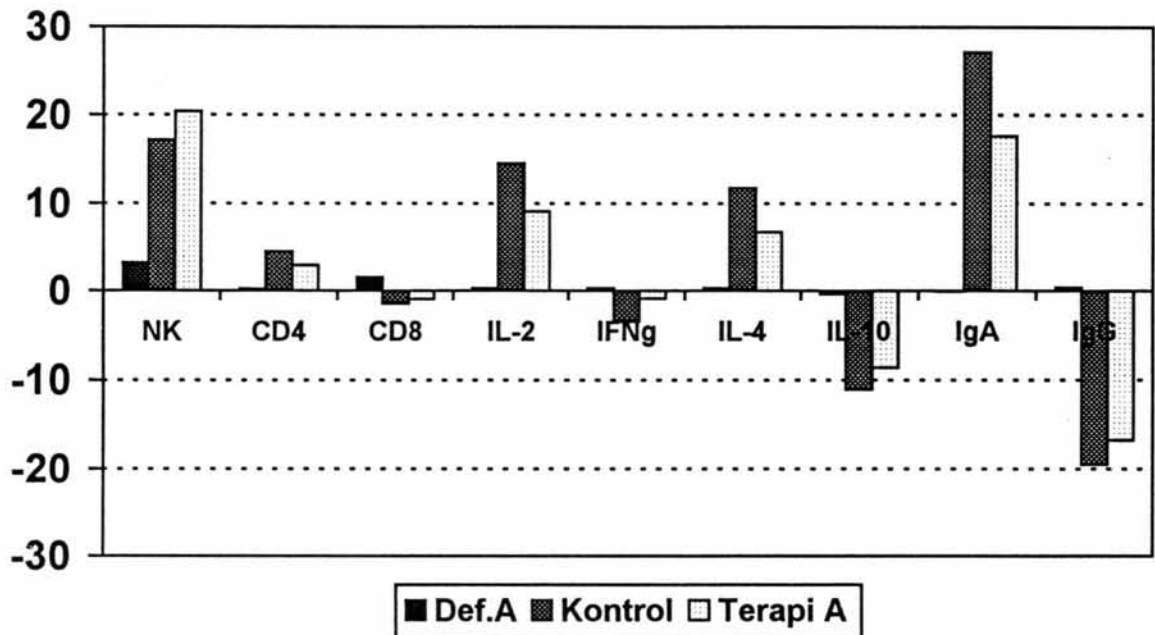
Rerata : harga rerata diskreminan dari setiap variabel komponen respons imun.

Simpang baku : simpang baku diskreminan dari setiap variabel komponen respons imun.

Sel NK, sel T CD4, sel T CD8, STp IL-2, STp IFN $\gamma$ , STp IL-4, STp IL-10, SPp IgA, dan STp IgG adalah variabel pembeda terkuat.

Dengan 9 variabel tersebut yang diperoleh dari analisis diskreminan menunjukkan nilai Wilks' sebesar 0.02092 dan taraf signifikansinya sebesar .000. Dapat

disimpulkan bahwa terdapat perbedaan pola dari ketiga kelompok tersebut pada daerah efektor yang diberikan paparan dengan LPS.



**Gambar 5.7** Grafik pola gangguan respons imun mukosa usus daerah efektor dengan paparan LPS

Dari tabel 5.27 dan gambar 5.7 mencerminkan bahwa pada daerah efektor yang mendapat paparan LPS pada kelompok defisiensi vitamin A sel Sp IL-10 dan sel Sp IgA terletak pada nilai negatif dengan nilai  $-0.379$  dan  $-0.118$  sedangkan komponen yang lain walaupun mempunyai nilai rendah tapi pada level positif tertinggi sel NK dan sel T CD8. Pada kelompok kontrol terdapat nilai negatif untuk sel T CD8, STp IFN $\gamma$  dan STp IL 10 dan SPp IgM. Pada kelompok terapi vitamin A variabel negatif pada sel T CD8, STp IFN $\gamma$ , STp IL-10, SPp IgG.

**Tabel 5.28 Pola komponen respons imun mukosa usus daerah efektor tanpa paparan LPS dari kelompok defisiensi vitamin A , kelompok kontrol dan kelompok terapi vitamin A**

| Varia<br>bel | Kel.def.vit.A |       | Kel.kontrol |       | Kel.terapi vit.A |       | Tes<br>sig. |
|--------------|---------------|-------|-------------|-------|------------------|-------|-------------|
|              | Mean          | SD    | Mean        | SD    | Mean             | SD    |             |
| DC           | 9.286         | 2.161 | 8.508       | 5.232 | -1.304           | .448  | .000        |
| NK           |               |       |             |       |                  |       |             |
| CD11b        | -.902         | .270  | 4.170       | 2.157 | 8.196            | 6.557 | .000        |
| CD4          |               |       |             |       |                  |       |             |
| CD8          |               |       |             |       |                  |       |             |
| IL-2         | 2.238         | .597  | .865        | .699  | 6.587            | 4.657 | .000        |
| IFN $\gamma$ | -2.985        | 1.928 | -2.933      | 2.551 | 2.864            | 2.144 | .000        |
| IL-4         |               |       |             |       |                  |       |             |
| IL-10        | -.015         | .013  | 1.532       | 1.176 | -5.844           | 5.794 | .000        |
| IgA          | -2.093        | .778  | 11.951      | 3.655 | 3.398            | 2.134 | .000        |
| IgG          | 4.105         | 1.469 | -7.526      | 2.483 | 6.753            | 5.150 | .000        |
| IgM          | .925          | .436  | -1.768      | 1.013 | -1.893           | 2.393 |             |

Tes univariat variabel 1-12 sig.of F : .000

Tes multivariat nilai Wilks' .01052 taraf sig.of F : .000

Keterangan : lampiran 18

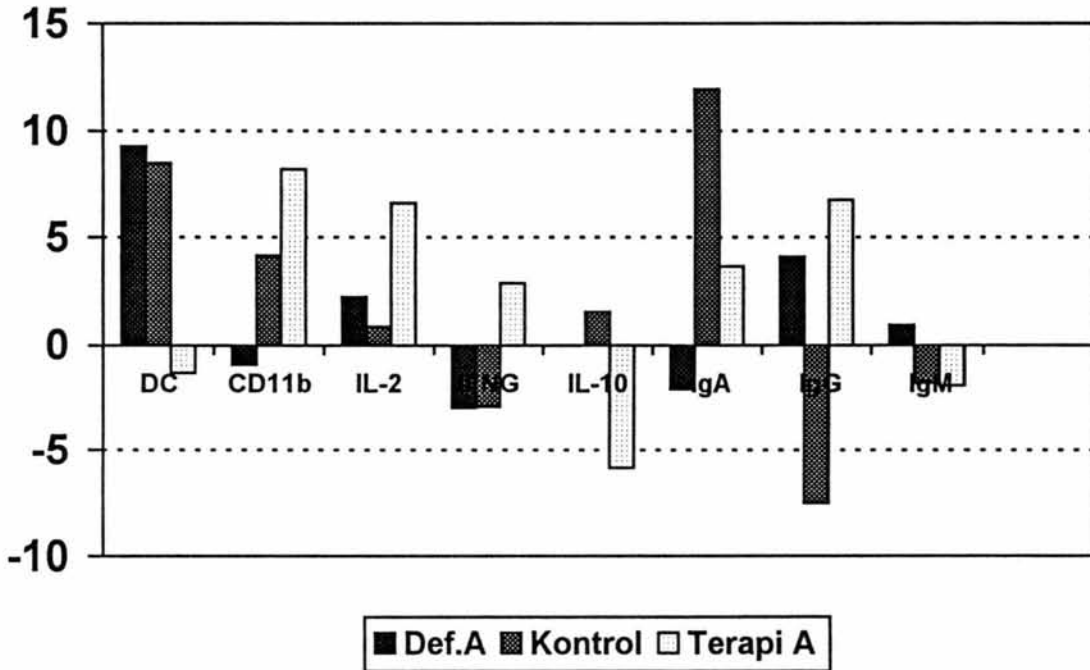
Rerata : harga rerata diskreminan dari setiap variabel komponen respons imun.

Simpang baku : simpang baku diskreminan dari setiap variabel komponen respons imun.

Sel dendritik, sel CD11b, STp IL-2, STp IFN $\gamma$ , STp IL-10, SPp IgA, dan SPp IgG dan SPp IgM adalah variabel pembeda terkuat.

Dengan 8 variabel tersebut yang diperoleh dari analisis diskreminan menunjukkan nilai Wilks' sebesar .01052 dan taraf signifikansinya sebesar .000. Dapat

disimpulkan bahwa terdapat perbedaan pola dari ketiga kelompok tersebut pada daerah efektor yang tidak mendapat paparan dengan LPS.

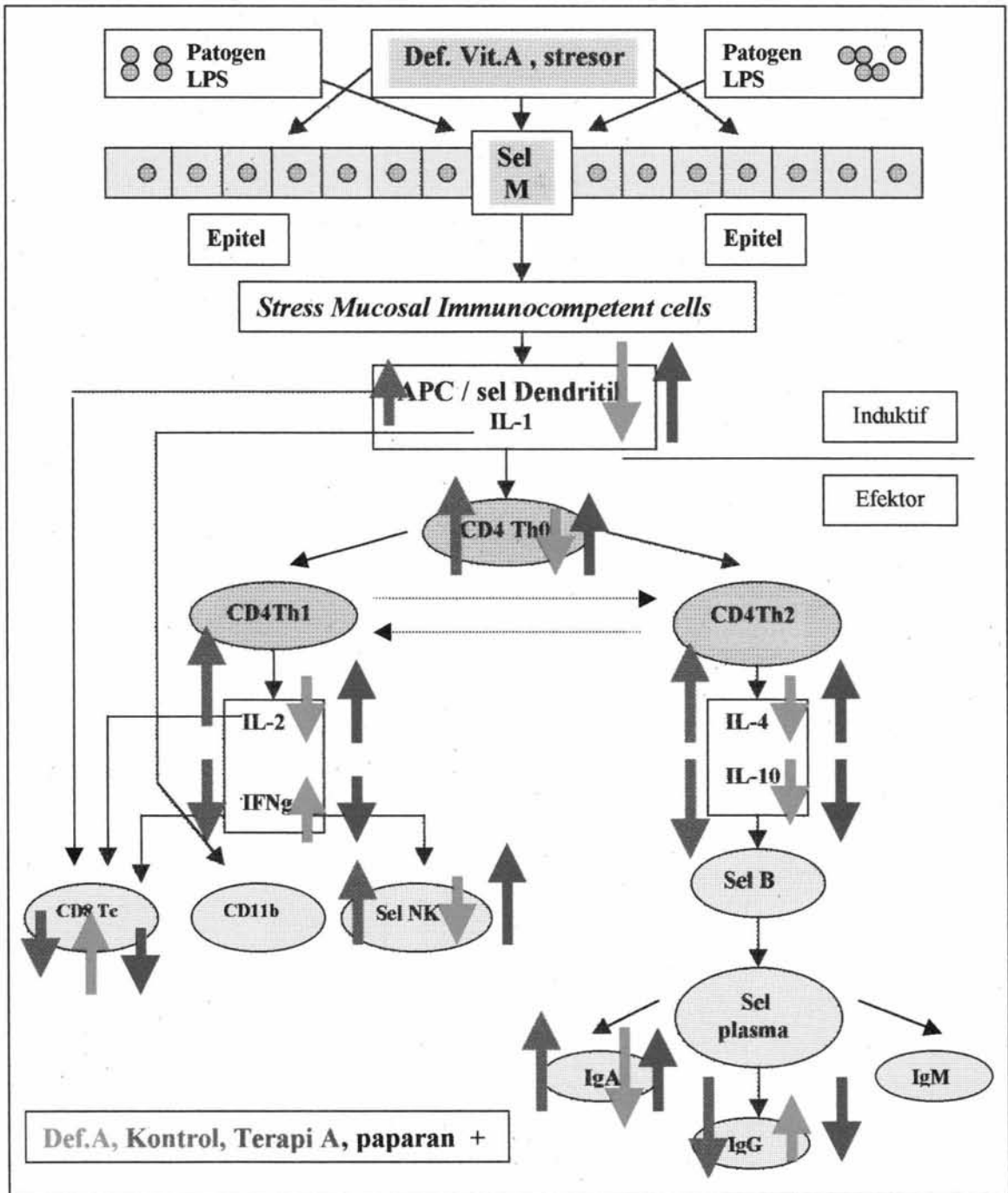


**Gambar 5.8 Grafik pola respons imun mukosa usus daerah efektor tidak mendapat paparan LPS**

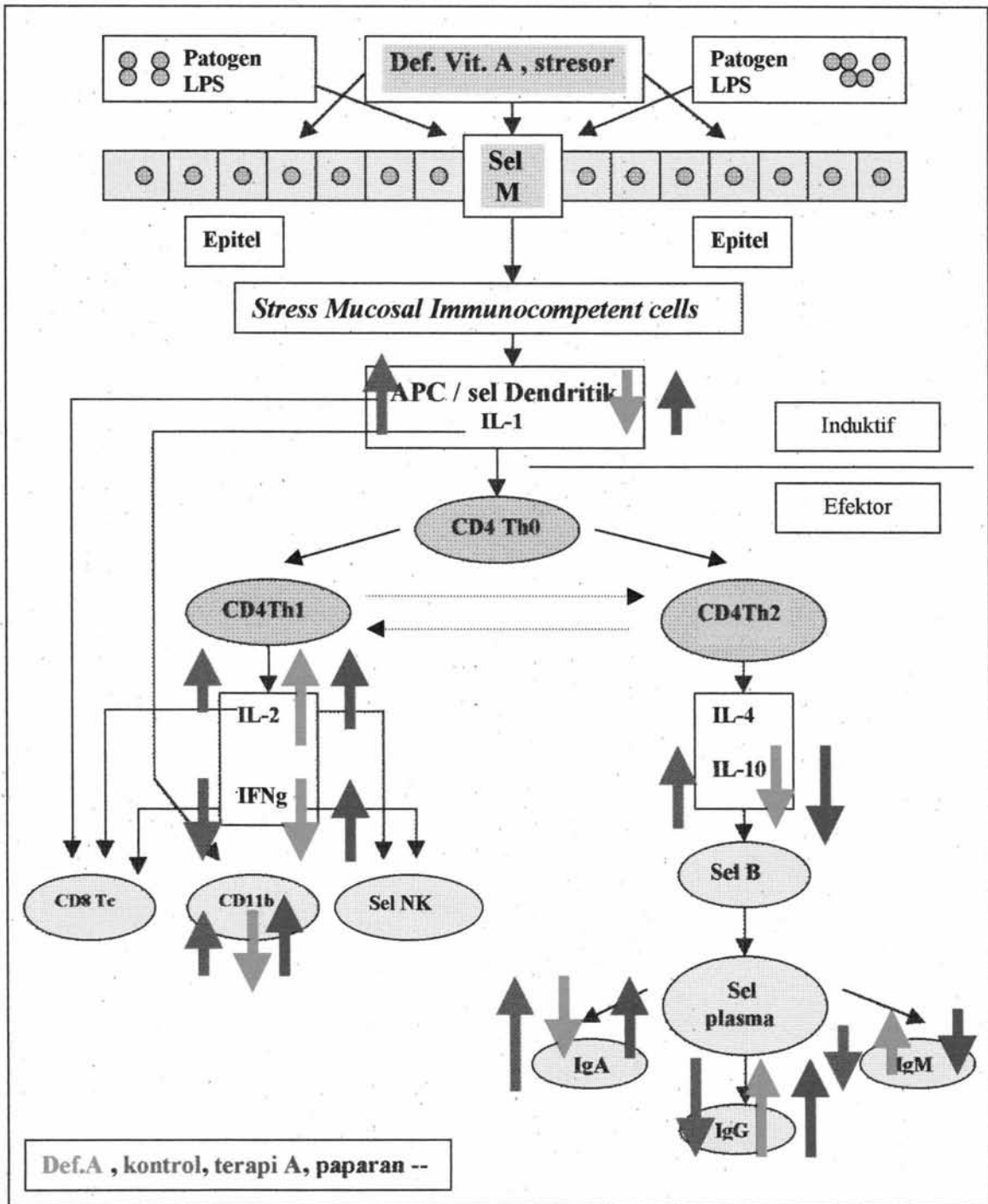
Dari tabel 5.28 dan gambar 5.8 mencerminkan bahwa pada daerah efektor yang tidak mendapat paparan LPS pada kelompok defisiensi vitamin A sel CD11b, STp IFN $\gamma$ , STp IL-10 dan SPp IgA terletak pada nilai negatif dengan nilai -0.902 , -2.985, -0.015, -2.093 sedangkan komponen yang lain walaupun mempunyai nilai rendah tapi pada level positif tertinggi sel dendritik dan SPp IgG. Pada kelompok kontrol

terdapat nilai negatif untuk STp IFN $\gamma$  dan SPp IgG dan SPp IgM, nilai tertinggi untuk sel IgA dan sel Dendritik. Pada kelompok terapi vitamin A variabel negatif pada sel dendritik, STp IL-10, SPp IgM.

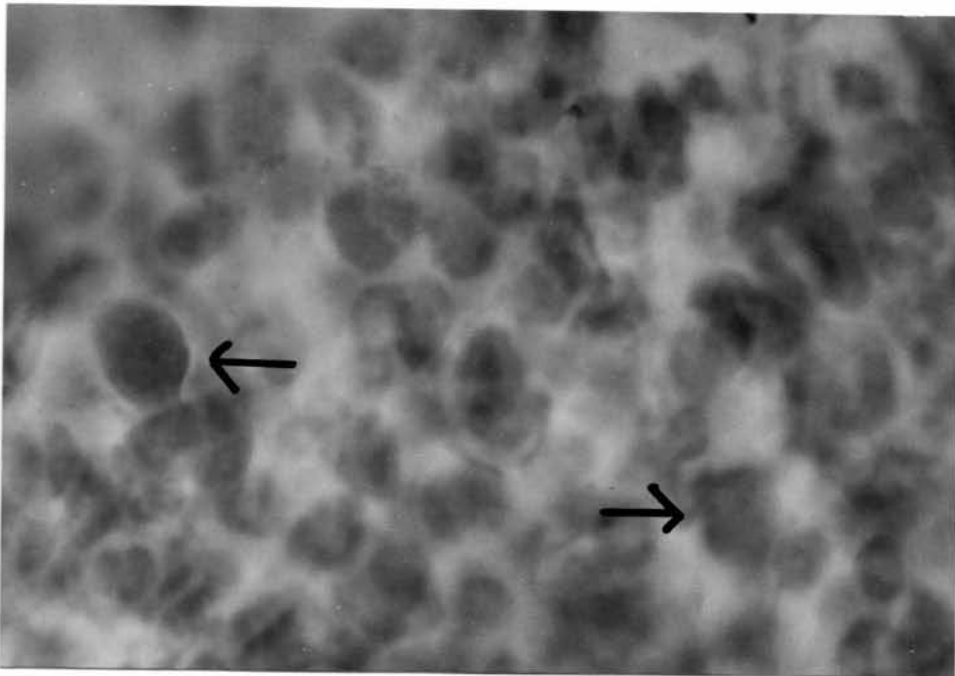




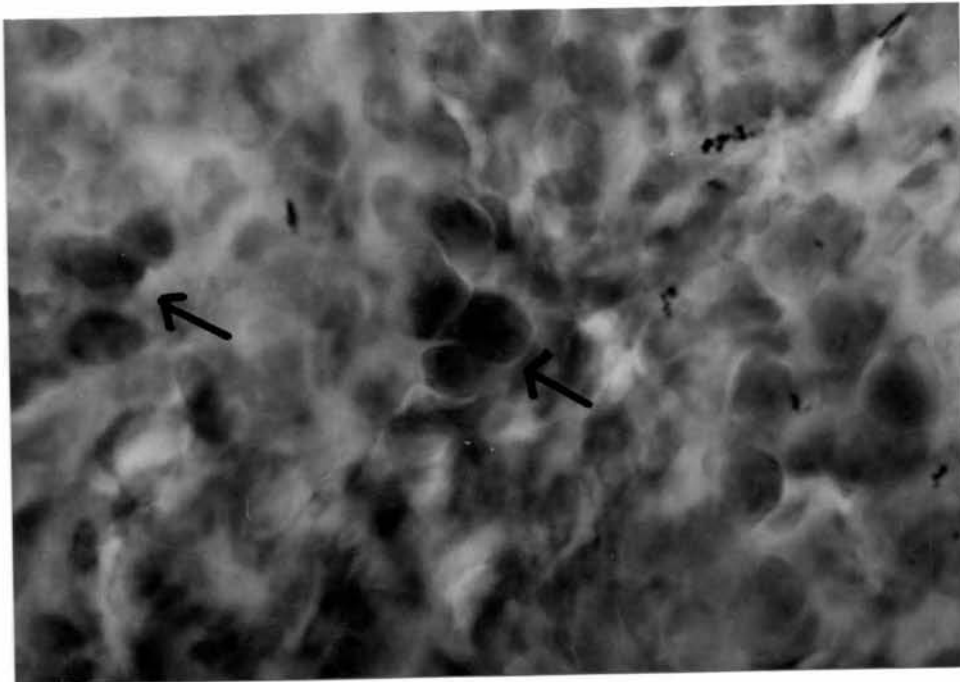
**Gambar 5.9 : Model imunopatobiogenesis respons imun mukosa usus kel.Def.A, kel.Kontrol, kel.terapi A**



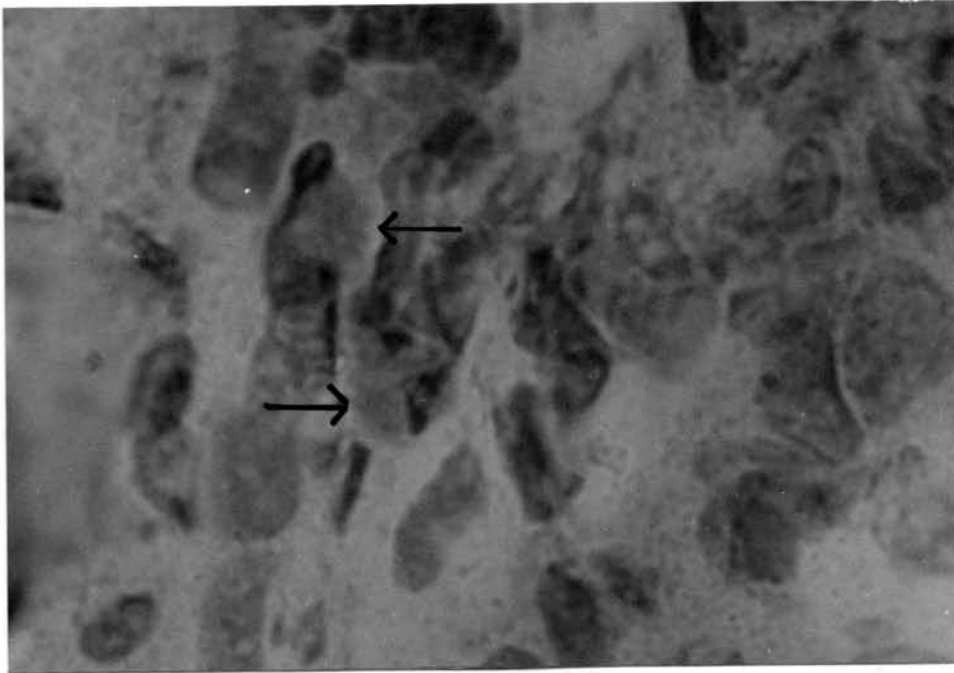
**Gambar 5.10 : Model imunopatobiogenesis status imun mukosa usus  
Kel. Def.A, kel.kontrol, kel.terapi A**



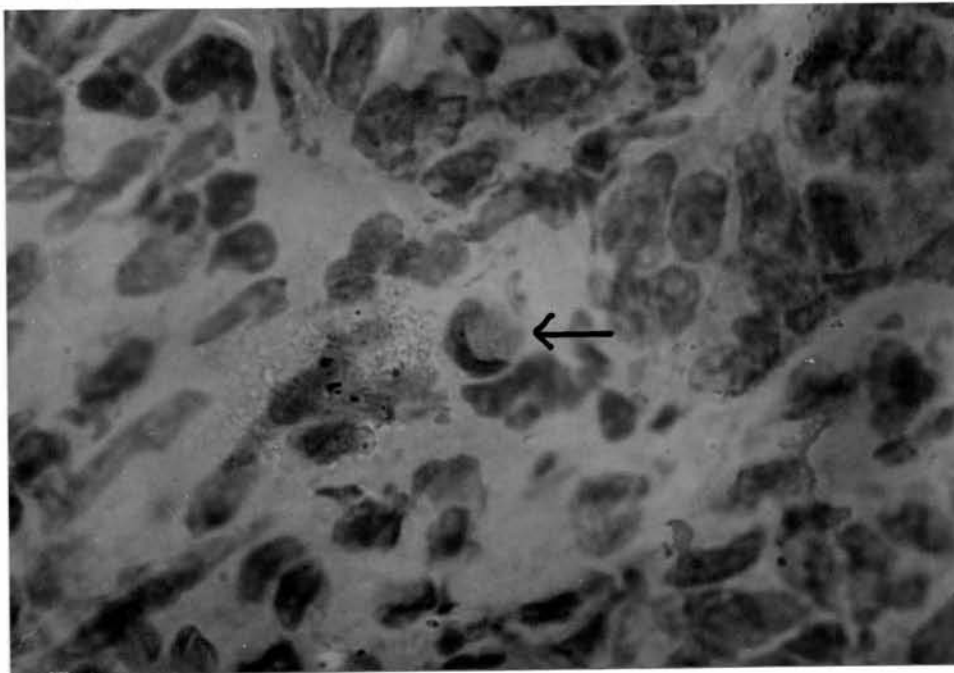
**Gambar 5.11 : Sediaan imunohistokimia dengan antibodi monoklonal terhadap CD 8 pada daerah efektor mukosa dari kelompok defisiensi vitamin A, tampak sel T CD8 dengan sitoplasma berwarna kecoklatan. Pembesaran 1000X**



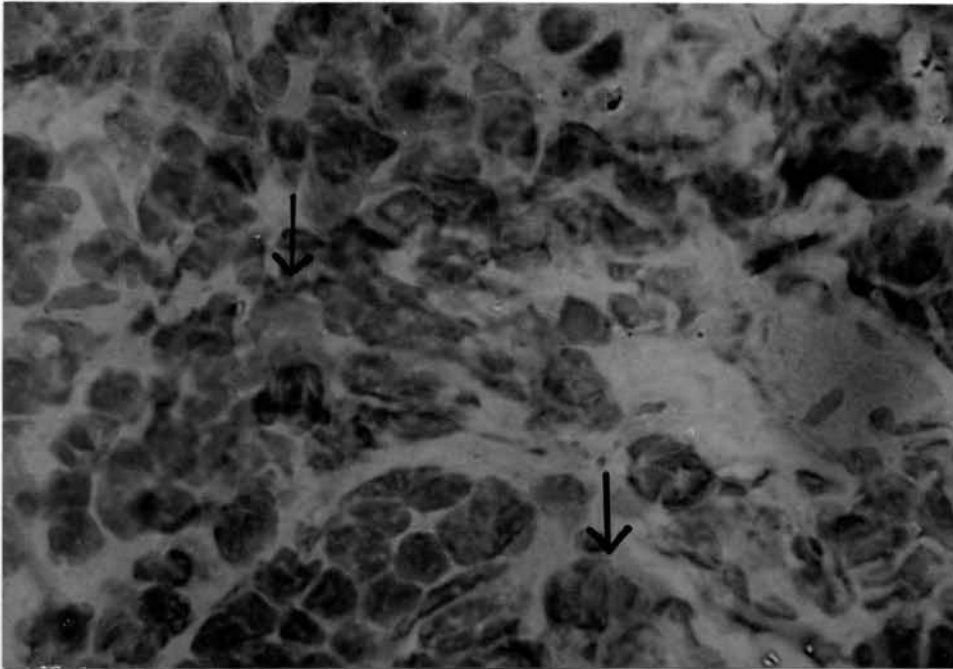
**Gambar 5.12 : Sediaan imunohistokimia dengan antibodi monoklonal terhadap CD 4 pada daerah efektor mukosa dari kelompok defisiensi vitamin A, tampak sel T CD4 dengan sitoplasma berwarna kecoklatan. Pembesaran 1000X**



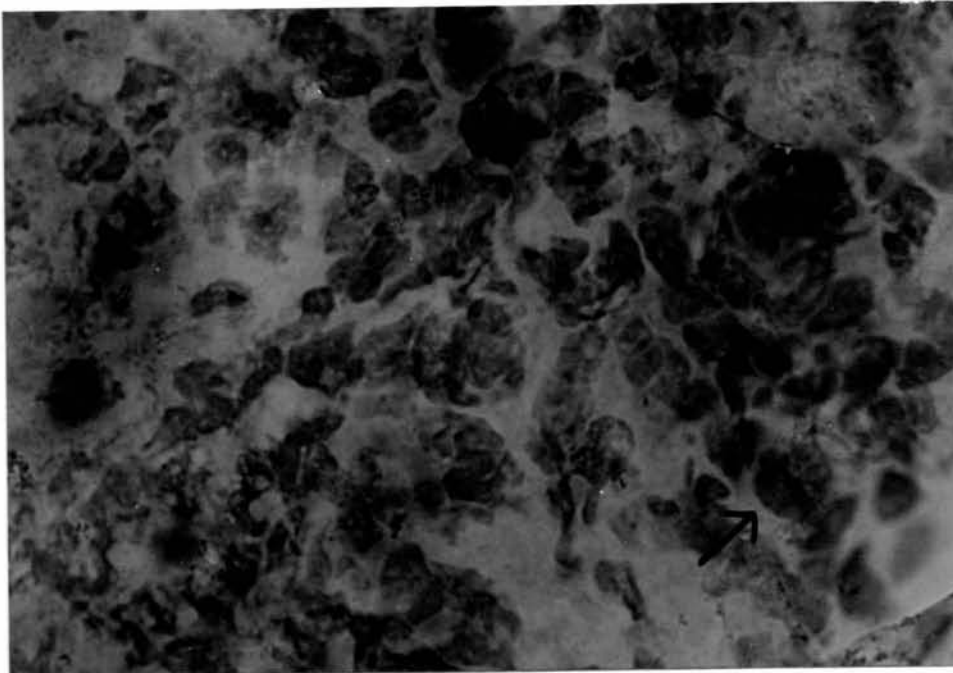
**Gambar 5.13 : Sediaan imunohistokimia dengan antibodi monoklonal terhadap sel Dendritik pada daerah efektor mukosa dari kelompok defisiensi vitamin A, tampak sel Dendritik dengan sitoplasma berwarna kecoklatan. Pembesaran 1000X**



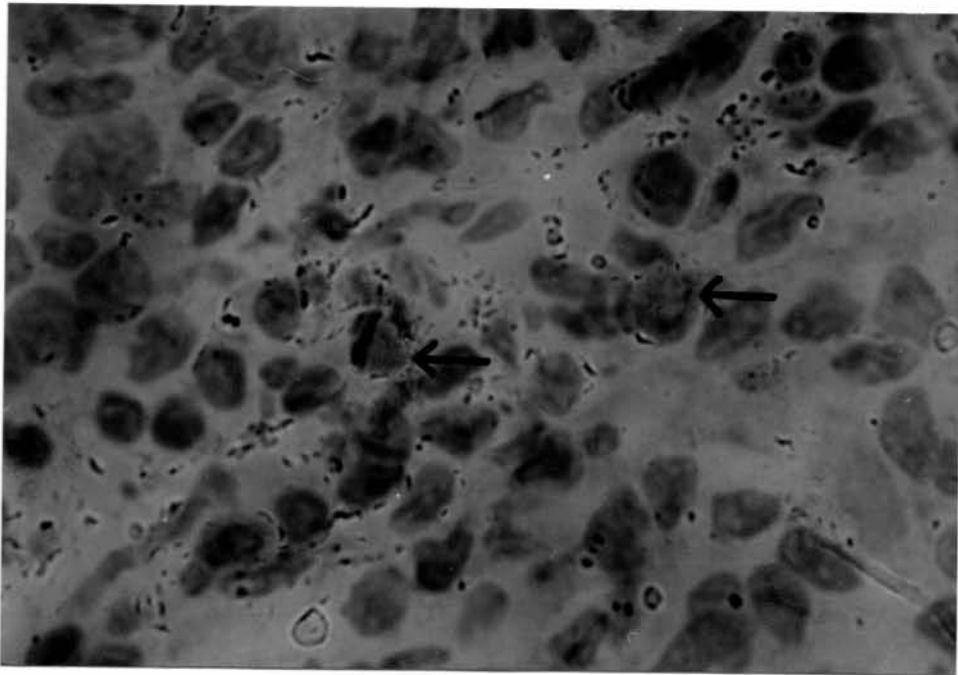
**Gambar 5.14 : Sediaan imunohistokimia dengan antibodi monoklonal terhadap sel NK pada daerah efektor mukosa dari kelompok kontrol, tampak sel NK dengan sitoplasma berwarna kecoklatan. Pembesaran 1000X**



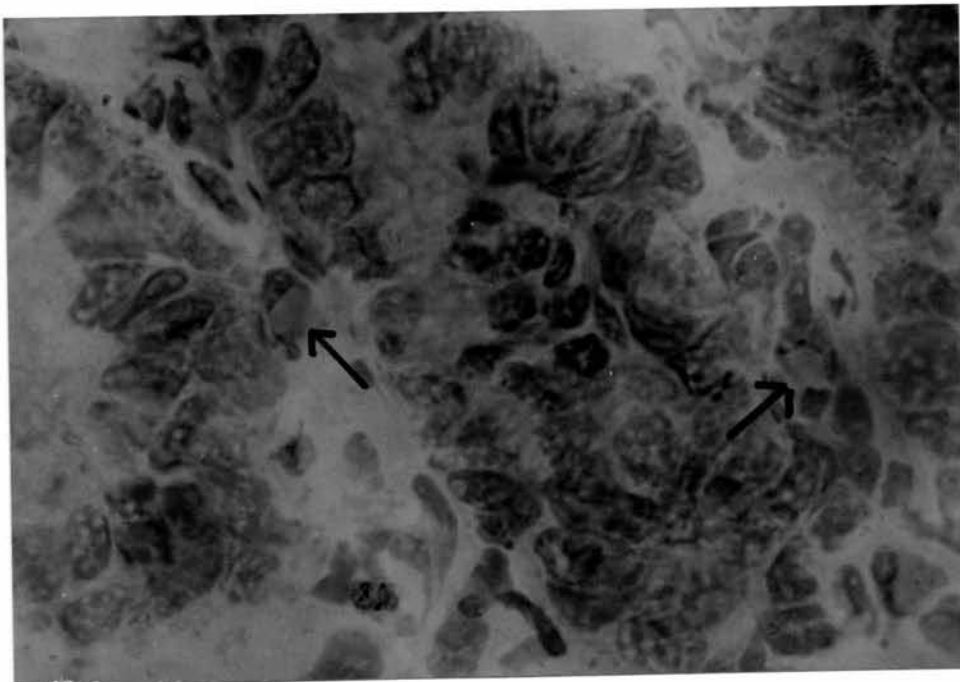
**Gambar 5.15 :** Sediaan imunohistokimia dengan antibodi monoklonal terhadap IL-2 pada daerah efektor mukosa dari kelompok kontrol, tampak STp IL-2 dengan sitoplasma berwarna kecoklatan. Pembesaran 1000X



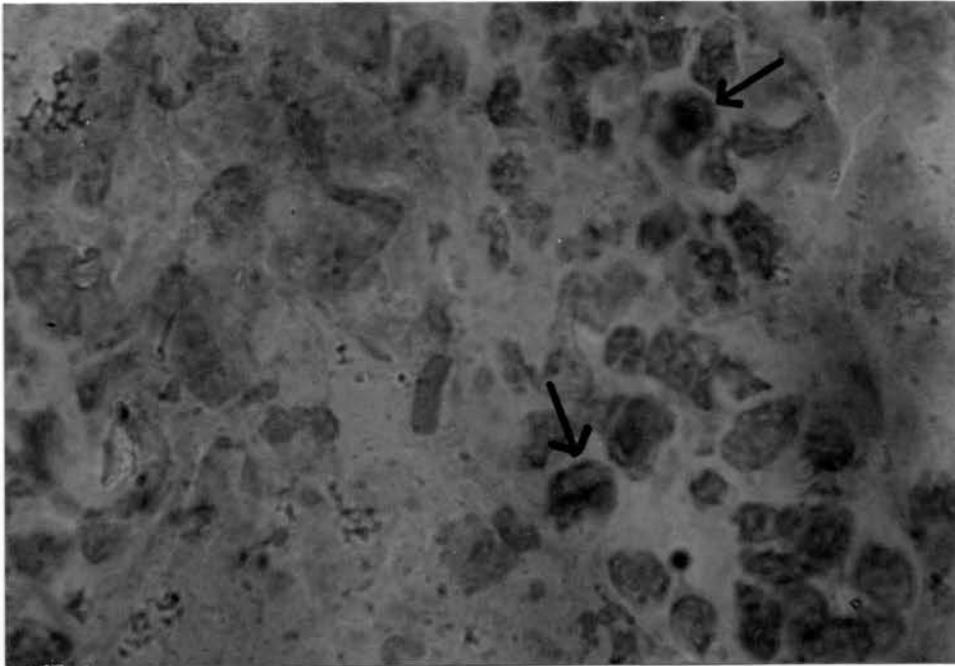
**Gambar 5.16 :** Sediaan imunohistokimia dengan antibodi monoklonal terhadap IFN $\gamma$  pada daerah efektor mukosa dari kelompok terapi vitamin A, tampak STp IFN $\gamma$  dengan sitoplasma berwarna kecoklatan. Pembesaran 1000X



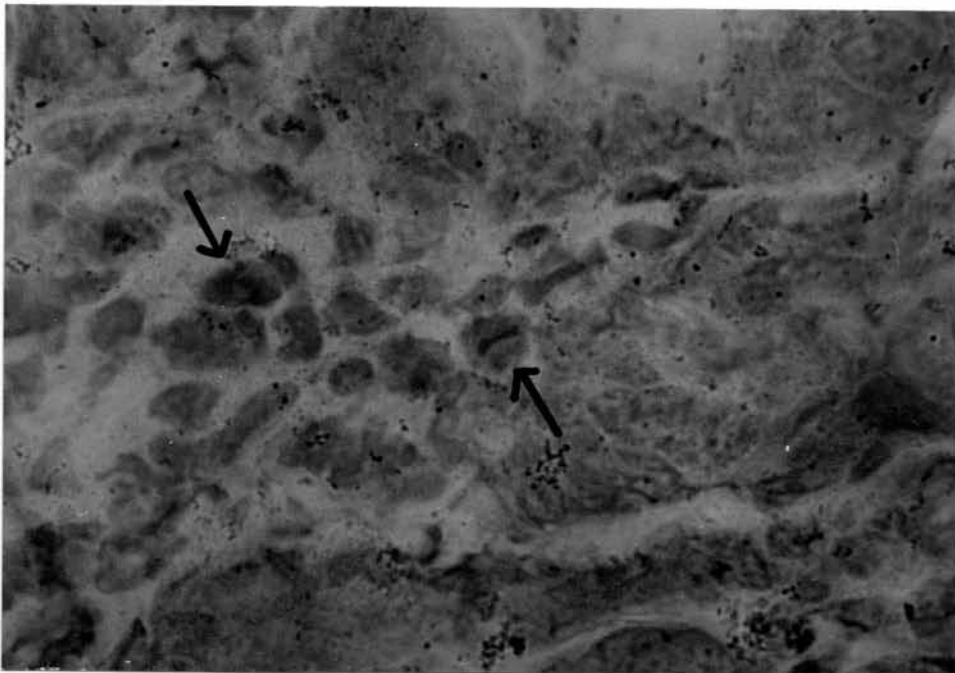
**Gambar 5.17 :** Sediaan imunohistokimia dengan antibodi monoklonal terhadap IL-4 pada daerah efektor mukosa dari kelompok terapi vitamin A, tampak STp IL-4 dengan sitoplasma berwarna kecoklatan. Pembesaran 1000X



**Gambar 5.18 :** Sediaan imunohistokimia dengan antibodi monoklonal terhadap IL-10 pada daerah efektor mukosa dari kelompok kontrol, tampak STp IL-10 dengan sitoplasma berwarna kecoklatan. Pembesaran 1000X

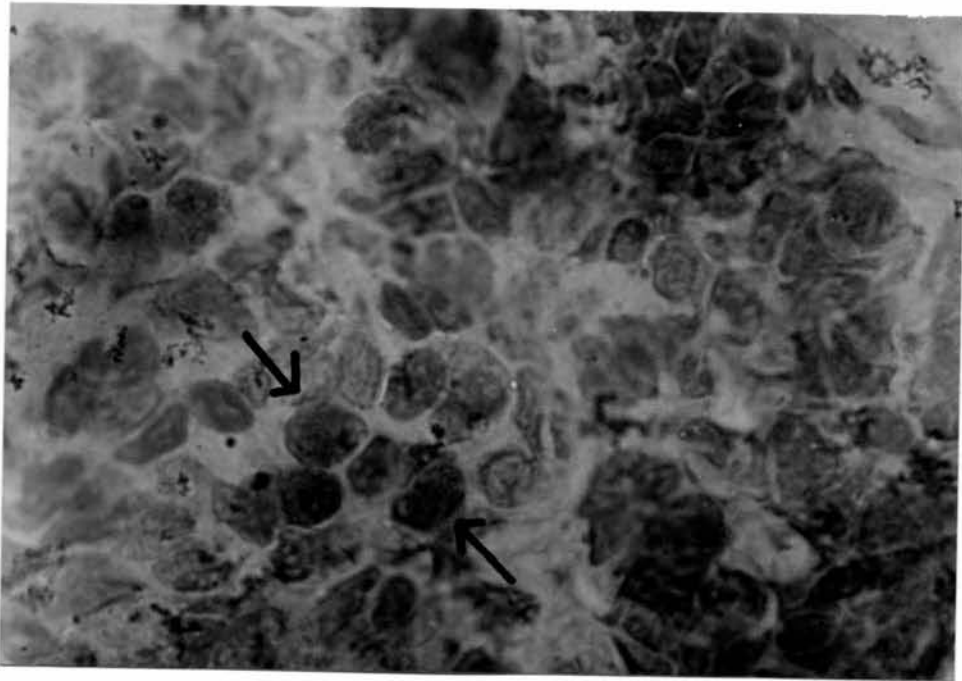


**Gambar 5.19 :** Sediaan imunohistokimia dengan antibodi monoklonal terhadap IgA pada daerah efektor mukosa dari kelompok terapi vitamin A, tampak SPP IgA dengan sitoplasma berwarna kecoklatan. Pembesaran 1000X

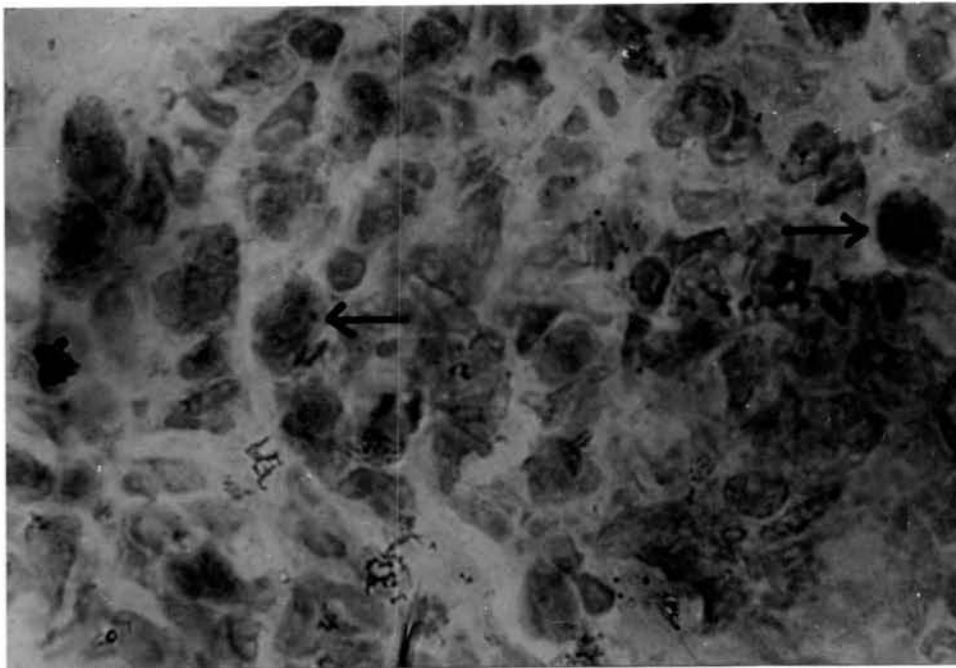


**Gambar 5.20 :** Sediaan imunohistokimia dengan antibodi monoklonal terhadap IgG pada daerah efektor mukosa dari kelompok terapi vitamin A, tampak SPP IgG dengan sitoplasma berwarna kecoklatan. Pembesaran 1000X





**Gambar 5.21 :** Sediaan imunohistokimia dengan antibodi monoklonal terhadap IgM pada daerah efektor mukosa dari kelompok terapi vitamin A, tampak SPP IgM dengan sitoplasma berwarna kecoklatan. Pembesaran 1000X



**Gambar 5.22 :** Sediaan imunohistokimia dengan antibodi monoklonal terhadap CD 11b pada daerah efektor mukosa dari kelompok terapi vitamin A, tampak sel PMN CD11b dengan sitoplasma berwarna kecoklatan. Pembesaran 1000X



## B A B 6

### PEMBAHASAN

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengungkap imunopatobiogenesis gangguan respons imun mukosa usus akibat adanya pengaruh defisiensi vitamin A. Untuk mencapai tujuan tersebut dibuat rancangan penelitian eksperimental dengan rancangan *post test only control group design* yang dilakukan pada tikus putih jenis Wistar. Penelitian ini tidak dapat dilakukan pada manusia oleh karena untuk mendapatkan unit sampel penelitian subyek harus dimatikan, oleh karena itu penelitian dilakukan pada hewan coba sebagai model penelitian.

Penelitian ini dirancang dalam 3 kelompok yang diberikan perlakuan yang berbeda, kelompok defisiensi vitamin A, kelompok terapi vitamin A dan kelompok kontrol. Maksud pembagian tersebut supaya dapat membandingkan respons imun yang dicerminkan dari pola respons imunopatobiologik dari masing masing kelompok perlakuan yang dibandingkan dengan kontrol.

Penelitian eksperimental adalah jenis penelitian yang dapat menghasilkan data dan hasil penelitian dengan kualitas dan validitas yang tinggi dengan tingkat akurasi yang sukar dicapai bila menggunakan rancangan penelitian yang lain (Pudjihardjo 1993). Paparan yang ada merupakan hasil rekayasa peneliti, dalam hal ini paparan adalah perlakuan membuat defisiensi vitamin A untuk dilihat pengaruhnya terhadap respons imun mukosa.

Untuk memenuhi persyaratan supaya memperoleh hasil penelitian yang akurat dengan validitas yang tinggi maka pada data penelitian dilakukan uji awal untuk melihat apakah populasi penelitian bersifat homogen, maka dilakukan uji

homogenitas dengan anova, ternyata pada penelitian ini sampel memang homogen, hasil tes anova terhadap berat badan tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan nilai kemaknaan F sebesar 0.147 (Lampiran 3)

Data yang dipakai untuk analisa statistik adalah variabel komponen respons imun yang terdiri dari 12 variabel, untuk mengekspresikan variabel tersebut digunakan metode pengecatan imunohistokimia dengan menggunakan antibodi monoklonal yang spesifik untuk masing masing variabel, cara pemeriksaan tersebut telah diakui keakuratannya (Soesatyo, 1990; Dobbelsteen, 1994; Shi, 1995; Juliati, 1997)

Untuk mengetahui bahwa sampel berasal dari distribusi yang normal, dilakukan uji normalitas dengan normal probability plot ternyata hasilnya normal. (Lampiran 4).

Paradigma Patobiologi yang berkonsep imunopatobiologi mukosal yang ber konsep *stress mucosal immunocompetent cell* digunakan sebagai arahan atau pegangan untuk dapat mengungkap imunopatobiogenesis respons imun pada mukosa usus dimana komponen respons imun adalah sel imunokompeten mukosa usus yang sedang mengalami stres akibat defisiensi vitamin A.

Paradigma Patobiologi didefinisikan sebagai cara atau model berpikir untuk menalar segala perubahan biologik yang tidak lazim yang terjadi sebagai akibat dari tubuh yang berinteraksi dengan lingkungan yang merusak (Hill, 1980).

Seiring dengan penggunaan paradigma Patobiologi untuk memecahkan masalah penelitian maka pemanfaatan kerangka konseptual penelitian adalah sangat penting dan diperlukan untuk memperoleh variabel penelitian. Supaya dapat mengungkapkan variabel penelitian menjadi data penelitian maka konsep

morfofungsi dipilih untuk mengempirkan data penelitian tersebut dalam bentuk komponen respons imun (sel imunokompeten) yang sedang melakukan aktivitas fungsi biologisnya ber interaksi satu dengan yang lain dalam melaksanakan fungsi respons imun (Putra, 1990).

Untuk mengetahui pengaruh defisiensi vitamin A terhadap respons imun mukosa yang dapat dibangkitkan dengan paparan terhadap *Lipopolysaccharide* (LPS : bagian antigen didalam bakteri gram negatif yang merupakan endotoksin) (Soesatyo, 1990; Dobbelsteen, 1994) maka dipilih uji statistik yang dapat mengukur adanya fungsi interaksi diantara komponen-komponennya (variabel) untuk dibedakan diantara kelompok penelitian yaitu uji beda multivariat (Manova). Untuk mengetahui besarnya kontribusi aktivitas biologis dari masing masing variabel yang terkait dengan status imun dan respons imun mukosa usus yang mengalami defisiensi vitamin A maka satu tahap berikutnya perlu dilakukan uji diskreminan. Hasil dari analisis tersebut dalam bentuk besarnya kontribusi aktivitas biologisnya dapat dipolakan. Untuk dapat membuat pola maka harga rerata masing masing variabel pembeda dari komponen respons imun perlu dikalikan dengan besaran nilai kontribusinya yaitu koefisien Fisher yang mencerminkan besarnya peran dan kontribusi antar variabel komponen respons imun dalam mekanisme interaksi biologik yang sedang terjadi. Dengan membuat narasi yang cermat dan tajam dari pola yang diperoleh maka dapat diungkapkan imunopatobiogenesis status imun dan respons imun mukosa usus akibat pengaruh dari defisiensi vitamin A.

Pola yang terbentuk dari hasil penelitian ini adalah pola imunopatobiologik status imun dan respons imun mukosa usus pada daerah induktif dan daerah efektor

mukosa usus. Pola tersebut adalah pola imunopatobiologik defisiensi vitamin A, pola imunopatobiologik terapi vitamin A dan pola normal pada kelompok kontrol. Pola yang dibahas adalah pola imunopatobiologik pada daerah induktif dan daerah efektor mukosa usus. Pola imunopatobiologik diharapkan dapat menjelaskan imunopatobiogenesis status imun dan respons imun pada mukosa usus atau proses kejadian mengapa status imun dan respons imun mukosa usus akibat defisiensi vitamin A mengalami gangguan. Dan setelah mendapat terapi vitamin A status imun dan respons imun tersebut akan mengalami perbaikan.

Untuk menjelaskan hipotesis dan membuktikan tujuan penelitian diperlukan penjelasan yang didasarkan pada hasil penelitian.

**Respons imun mukosa (RIM) usus pada daerah efektor yang mendapat paparan LPS.**

Hasil penelitian menunjukkan bahwa secara keseluruhan respons imun mukosa (RIM) usus pada kelompok defisiensi vitamin A berbeda secara bermakna dengan respons imun kelompok kontrol dengan nilai kemaknaan Wilks' sebesar 0.007 dimana terjadi penurunan RIM kelompok defisiensi vitamin A dengan nilai komponen respons imun yang lebih rendah.(Tabel 5.5). Peneliti lain melaporkan adanya penurunan respons imun sistemik akibat pengaruh defisiensi vitamin A (Semba 1993, Wiedermann 1993, Arora 1994, Cantorna 1994, Zhao 1994, Pasatiempo 1992). Penelitian ini menemukan penurunan RIM usus.akibat defisiensi vitamin A..Hal tersebut dapat dilihat pada komponen respons imun sel NK, STp IL-2, STp IFN $\gamma$ , STp IL-4, STp IL-10 dan SPp IgA yang menurun secara nyata. Penurunan sel NK juga dilaporkan oleh peneliti lain dan akan terjadi aktivitas

normal kembali setelah pemberian vitamin A (Bowman, 1990). SPp IgA (3.600) menurun secara signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol (14.200) hal ini didukung oleh penelitian Sirisinha 1980 dimana terjadi penurunan S-IgA pada cairan di lumen usus pada tikus yang menderita defisiensi vitamin A. Pada penelitian ini terjadi penurunan dari STp IFN $\gamma$ , hal ini agak berbeda dengan yang dilaporkan oleh peneliti lain dimana terjadi peningkatan IFN $\gamma$  sistemik pada tikus dengan defisiensi vitamin A yang mendapat paparan dengan parasit *Trichinella spiralis* (Carman, 1991; Carman, 1992; Cantorna, 1994). Tampaknya defisiensi vitamin A mempunyai pengaruh negatif terhadap sel imunokompeten secara tidak merata, tetapi pada umumnya terjadi penurunan. Walaupun beberapa komponen respons imun secara terpisah tidak berbeda bermakna dengan univariat tes tapi tetap mempunyai nilai yang lebih rendah pada defisiensi vitamin A, sel dendritik, neutrofil CD11b, sel T CD4, sel T CD8, SPp IgG, SPp IgM dibandingkan dengan kelompok normal. Stephensen 1993 melaporkan hasil penelitiannya bahwa akibat defisiensi vitamin A akan menurunkan respons imun sistemik IgG dan IgM dan akan terjadi perbaikan setelah pemberian vitamin A (Chun, 1992). Walaupun terjadi penurunan sel dendritik akibat defisiensi vitamin A, tetapi tampaknya sel tersebut masih mampu untuk membangkitkan respons imun mukosa.

**Respons imun mukosa (RIM) usus pada daerah induktif yang mendapat paparan LPS.**

Pada penelitian ini menunjukkan bahwa pada daerah induktif mukosa usus terjadi penurunan RIM (respons imun mukosa) pada kelompok defisiensi vitamin A dibandingkan kelompok kontrol dengan derajat kemaknaan Wilk sebesar 0.023

(tabel 5.11) Terjadi penurunan yang signifikan dari komponen STp IFN $\gamma$  dan STp IL-4 dengan nilai 3.100 dan 1.800 dibandingkan dengan nilai 5.300 dan 4.500 pada kelompok kontrol, demikian juga terjadi penurunan pada komponen sel dendritik, STp IL-2, SPp IgA. Walaupun terjadi penurunan sel dendritik masih mampu untuk membangkitkan respons imun dalam keadaan defisiensi vitamin A.

Hal yang sebaliknya terjadi peningkatan dari komponen sel NK, sel netrofil CD11b, sel T CD4, sel T CD8 pada kelompok defisiensi vitamin A tetapi kenaikan tersebut tidak signifikan. Tampaknya komponen yang bertanggung jawab atas *innate immunity dan cell mediated immunity* masih dipertahankan. Fakta ini menunjukkan bahwa defisiensi vitamin A mempunyai pengaruh yang selektif pada daerah induktif mukosa usus. Melihat pada penjelasan diatas dapat disimpulkan secara umum bahwa defisiensi vitamin A menurunkan RIM usus baik pada daerah efektor maupun pada daerah induktif.(analisis multivariat signifikan).

**Status imun mukosa (SIM) usus pada daerah efektor mukosa usus yang tidak mendapat paparan LPS**

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada kelompok defisiensi vitamin A menunjukkan penurunan status imun mukosa (SIM) usus secara signifikan bila dibandingkan dengan kelompok kontrol dengan nilai kemaknaan Wilks' sebesar .024 (tabel 5.8). Seluruh komponen respons imun menurun, kecuali komponen sel NK justru terjadi peningkatan walaupun tidak signifikan, tetapi secara keseluruhan terjadi penurunan SIM usus pada jalur imunitas seluler. Demikian juga terjadi penurunan yang signifikan pada imunitas humoral lokal terutama penurunan SPp IgA. Pada daerah ini yang tidak mendapat paparan LPS ratio CD4/CD8 sebesar

$14.1/13.4 = 1.05$  dibandingkan dengan ratio CD4/CD8 pada kelompok normal sebesar  $28.200 / 20.800 = 1.4$  gambaran demikian disebut sebagai gangguan SIM akibat abnormalitas pada subset sel T. (Semba 1993).

***Status imun mukosa (SIM) usus pada daerah induktif yang tidak mendapat paparan LPS***

Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan SIM usus yang signifikan antara kelompok defisiensi vitamin A dengan kelompok kontrol, walaupun terjadi penurunan mayoritas dari komponen respons imun pada kelompok defisiensi vitamin A tetapi sedikit terjadi peningkatan dari komponen sel T CD4 dan sel T CD8. Tampaknya paparan dengan LPS merupakan hal yang penting untuk membangkitkan respons imun, hal ini dapat terlihat fakta bahwa walaupun terjadi penurunan komponen respons imun pada kelompok defisiensi vitamin A tetapi tidak berbeda bermakna dengan kelompok kontrol (tabel 5.14) defisiensi vitamin A tidak terlalu banyak mengganggu daerah induktif, tetapi begitu mendapat paparan dengan LPS akan terjadi penurunan respons imun (tabel 5.11). Tanpa adanya paparan dengan LPS sebenarnya respons imun mukosa memang sudah terjadi oleh karena peranan dari flora normal didalan lumen usus.

*Defisiensi vitamin A menyebabkan penurunan RIM baik daerah efektor maupun daerah induktif, dan terjadi penurunan SIM daerah efektor dan terjadi penurunan SIM daerah induktif walaupun tidak signifikan akibat defisiensi vitamin A.*

Untuk menjelaskan hipotesis dan tujuan penelitian akan digunakan hasil penelitian sebagai berikut



*Perbaikan respons imun mukosa (RIM) usus daerah efektor mukosa usus yang mendapat paparan LPS setelah mendapat terapi vitamin A.*

Dari tabel 5.7 dapat dilihat bahwa ada perbedaan yang signifikan dengan nilai kemaknaan Wilks` sebesar .014 antara kelompok defisiensi vitamin A dengan kelompok terapi vita-min A. Jelas terlihat adanya perbaikan dari seluruh komponen respons imun. Terjadi perbaikan dari *innate immunity (non specific arm of the immune system)* yang terutama didominasi oleh peranan dari sel NK, hal ini didukung oleh penelitian bahwa dengan pemberian vitamin A pada tikus yang mengalami defisiensi vitamin A akan meningkatkan jumlah dan fungsi sel NK, sifat sitotoksitas dari sel tersebut berkaitan dengan persentasi sel NK, vitamin A dikatakan penting untuk mempertahankan jumlah dan aktifitas sel NK tetapi bukan untuk aktifasi sel tersebut (Bowmann, 1990; Zhao, 1994; Zhao, 1995). Dalam keadaan defisiensi vitamin A terjadi juga penurunan aktifitas sitotoksik dari CTL (*cytotoxic T lymphocyte*) yang mendapat paparan dengan patogen virus. Meningkatnya frekuensi sel dendritik setelah mendapat terapi vitamin A menunjukkan adanya perbaikan aktivitas dari sel tersebut, hal ini akan mendukung fungsi sel tersebut dalam imunitas alami.

*Cells mediated immunity* yang dicerminkan dengan ratio CD4 / CD8 mengalami perbaikan setelah pemberian vitamin A dari 0.84 menjadi 2.2. Penemuan ini didukung oleh hasil penelitian Semba 1993 dimana anak yang menderita defisiensi vitamin A setelah mendapatkan terapi vitamin A akan terjadi perbaikan ratio CD4 / CD8 (*cell mediated immunity*) hal ini menunjukkan terjadi perbaikan dari populasi sel Th1 dan Th2 (Wiedermann, 1993; Cantorna, 1994)



Akibat pemberian terapi vitamin A akan terjadi juga perbaikan dari RIM jalur imunitas humoral lokal (*local humoral immunity*) terutama yang didominasi oleh SPp IgA yang meningkat tajam (signifikan) dari 3.600 menjadi 13.100, penemuan ini sesuai dengan laporan penelitian bahwa imunitas humoral lokal pada mukosa didominasi oleh peranan dari SPp IgA yang memproduksi S IgA. (Sirisinha, 1980; Knight, 1994; Mc Intyre, 1999).

Pemberian vitamin A juga akan memperbaiki respons imun IgG oleh karena terjadinya perbaikan fungsi dari sel T helper (Carman, 1991; Chun, 1992; Stephensen, 1993) hal ini sesuai dengan hasil penelitian ini dimana terjadi peningkatan frekuensi SPp IgG setelah mendapat terapi vitamin A.

Bila dibandingkan respons imun pada kelompok kontrol dengan kelompok terapi tidak terdapat perbedaan yang signifikan terlihat dari nilai kemaknaan Wilks' sebesar .589 (tabel 5.6). Peningkatan frekuensi melebihi frekuensi normal dari beberapa komponen respons imun, sel dendritik, sel NK, STp IFNg, SPp IgG dan peningkatan frekuensi yang masih dibawah normal dari komponen respons imun, sel CD11b, sel T CD4, sel T CD8, STp IL-2, STp IL-4, SPp IgA dan SPp IgM walaupun demikian perbedaan tidak signifikan. Perbaikan yang tidak merata tersebut menunjukkan pengaruh vitamin A tidak merata pada sel imunokompeten.

#### *Respons imun mukosa (RIM) usus daerah induktif yang mendapat paparan LPS setelah terapi vitamin A*

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa didaerah induktif yang mendapat paparan LPS tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok defisiensi vitamin A dan kelompok terapi vitamin A dengan nilai kemaknaan Wilks' sebesar

.166 (tabel 5.13) Hal ini menunjukkan bahwa daerah tersebut tidak terlalu banyak dipengaruhi oleh defisiensi vitamin A walaupun beberapa komponen respons imun secara terpisah menunjukkan adanya perbedaan, sel dendritik, STp IL-4, dan SPp IgA dimana terjadi peningkatan frekuensi dari sel tersebut.

Dengan merujuk pada tabel 5.12 terlihat bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dan kelompok terapi vitamin A dengan nilai Wilks' tset of significant of F sebesar .365. Beberapa komponen sel dendritik, sel NK, sel CD11b, STp IL-4 frekuensinya melebihi normal, hal demikian menunjukkan bahwa pada daerah induktif baik dalam keadaan defisiensi maupun setelah mendapat terapi vitamin A fungsi imunitas alami (*innate immunity*) masih tetap dipertahankan.

**Perbaikan status imun mukosa (SIM) usus daerah efektor tanpa paparan LPS setelah mendapat terapi vitamin A.**

Hasil penelitian menunjukkan bahwa status imun mukosa (SIM) daerah efektor yang tidak mendapat paparan LPS terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok defisiensi vitamin A dan kelompok kontrol dengan nilai kemaknaan Wilks' sebesar .011 (tabel 5.10). Setelah terapi terjadi perbaikan pada sebagian besar frekuensi dari komponen respons imun kecuali pada komponen *innate immunity* dimana frekuensi sel dendritik dan sel NK masih lebih rendah sedangkan frekuensi sel CD11b terjadi perbaikan yang signifikan, tetapi sebenarnya fungsi *innate immunity* banyak ditentukan oleh peranan sel APC (sel dendritik) dan sel NK. Pada daerah ini vitamin A mempunyai pengaruh yang besar terhadap fungsi respon imun mukosa. Pada daerah yang sama yang mendapat paparan, RIM jalur *innate immunity*

lebih baik dari yang tidak mendapat paparan, hal ini menunjukkan bahwa *innate immunity* setelah terapi vitamin A menjadi lebih responsif terhadap paparan LPS. dapat dilihat pada tabel 5.7 dari komponen *innate immunity*.

Dengan melihat pada tabel 5.9 terlihat bahwa pada daerah efektor tanpa paparan LPS tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok terapi vitamin A dengan kemaknaan nilai Wilks' sebesar .142 bahkan terjadi frekuensi yang melebihi kelompok kontrol atas sel netrofil CD11b, sel T CD8, STp IL-2, STp IFN $\gamma$ , STp IL-4, STp IL-10 dan sel sel yang bertanggung jawab pada imunitas humoral lokal tetapi kenaikan tersebut tetap tidak signifikan, hal ini menunjukkan bahwa setelah mendapat terapi status imunitas kembali normal.

**Perbaikan status imun mukosa usus (SIM) daerah induktif tanpa paparan LPS setelah mendapat terapi vitamin A**

Hasil penelitian yang merujuk pada tabel 5.16 menunjukkan bahwa terdapat perbedaan status imun mukosa (SIM) daerah induktif tanpa paparan yang signifikan antara kelompok defisiensi vitamin A dan kelompok yang mendapat terapi vitamin A dengan kemaknaan nilai Wilks' sebesar .021. Walaupun terjadi perbaikan kenaikan frekuensi komponen respons imun tetapi juga terjadi penurunan frekuensi dari beberapa komponen respons imun, sel T CD4, sel T CD8, STp IFN $\gamma$ , namun demikian secara interaksi fungsional SIM berbeda bermakna.

Dengan mengikutsertakan data penelitian seperti pada tabel 5.15 terlihat adanya perbedaan yang tidak signifikan SIM daerah induktif yang tidak mendapat

paparan LPS antara kelompok kontrol dan kelompok terapi vitamin A tidak signifikan dengan kemaknaan nilai Wilks' .259.

Secara individual sel dendritik, sel NK, sel T CD4 dan sel T CD8 secara signifikan belum dapat mencapai normal. Fenomena demikian menunjukkan bahwa dengan terapi vitamin A tidak dapat memperbaiki secara bersama sama komponen respons imun pada daerah induktif yang tidak mendapat paparan LPS setelah terapi dengan vitamin A belum sepenuhnya membaik terlihat dari masih terdapatnya gangguan SIM pada jalur imunitas alami dan jalur *cell mediated immunity*, tetapi secara keseluruhan fungsi respons imun sebagai akibat interaksi dari seluruh komponen respons terjadi perbaikan hal ini terbukti tidak terdapatnya perbedaan yang bermakna dengan kelompok kontrol. Penemuan ini didukung oleh peneliti lain dimana pemberian terapi vitamin A dapat menormalisir kembali SIM pada keadaan defisiensi vitamin A. (Cantorna, 1994; Zhao, 1994; Zhao, 1995; Bowmann, 1990; Chun, 1992)

Kesimpulan yang dapat diambil bahwa dengan terapi vitamin A terjadi perbaikan SIM daerah efektor dan daerah induktif.

*Pemberian terapi vitamin A terjadi perbaikan RIM daerah efektor, sedangkan RIM daerah induktif tidak banyak mengalami perubahan. SIM untuk daerah efektor dan daerah induktif mengalami perbaikan setelah mendapat terapi vitamin A.*

Dengan analisis statistik yang tepat dan penjelasan yang lengkap dapat disimpulkan bahwa tujuan penelitian pertama dan kedua dapat dicapai dan hipotesis pertama dan kedua dapat dibuktikan.

Untuk menjelaskan rasionalisasi pola imunopatobiologik mukosa usus yang mengalami defisiensi vitamin A yang terpapar LPS yang digunakan untuk mengungkap imunopatobiogenesis RIM usus pada defisiensi vitamin A digunakan hasil analisis data penelitian sebagai berikut

**Pola respons imun mukosa usus (RIM) daerah efektor dengan paparan LPS dari kelompok defisiensi vitamin A, kelompok kontrol, kelompok terapi vitamin A untuk mengungkap imunopatobiogenesis RIM.**

Untuk membuat pola respons imun mukosa telah diambil langkah langkah uji statistik seperti terlihat pada tabel 5.23 dan tabel 5.27 dengan 12 variabel yang diuji didapatkan 9 variabel diskreminan sebagai pembeda antar kelompok, 9 variabel tersebut :

Pola imunopatobiologik kelompok kontrol adalah : sel NK (17.184), sel T CD4 (4.539), sel T CD8 (-1.485), STp IL-2 (14.532), STp IFN $\gamma$  (-3.552), STp IL-4 (11.727), STp IL-10 (-11.041), SPp IgA (27.150) dan SPp IgG (-19.530). Dengan membuat penjelasan dari nilai variabel pembeda tersebut dan merujuk pada kerangka konseptual penelitian maka akan dapat diungkapkan imunobiogenesis RIM dalam keadaan normal.

Adanya antigen atau imunogen yang dalam penelitian ini digunakan LPS yang ditangkap oleh sel M akan disalurkan kearea kubah (sub epithelial dome, SED ) dibawahnya yang banyak mengandung APC terutama sel dendritik (Kelsall, 1999), sel dendritik folikular adalah sel APC non fagositik dan sangat esensial untuk mempresentasikan antigen ke sel T CD4+ demikian juga terhadap sel B. Sel tersebut

dapat dikenali dengan antibodi monoklonal spesifik pada pengecatan imunohistokimia (Clancy, 1989; Bottomly, 1999; Kelsall, 1999).

Stimulasi oleh imunogen akan menyebabkan APC menjadi aktif dan memproduksi IL-1 (*Lymphocyte activating factor*), mulai saat ini terjadi inisiasi dari respons imun. IL-1 tersebut akan memicu aktivasi sel T CD4 (Tho), oleh karena ratio sel T CD4 / sel T CD8 yang cukup tinggi sebesar 3.05 hal demikian menunjukkan bahwa imunitas seluler dalam keadaan baik.

Dalam keadaan normal aktivasi APC mukosa oleh stimulasi imunogen akan menyebabkan terpicunya CD4+Th0 kearah dominasi Th2 yang memproduksi IL-4 yang meningkat dengan akibat regulasi negatif terhadap sel Th1 sehingga produksi IFN $\gamma$  menurun cukup tajam. Oleh karena produksi IL-10 oleh sel Th2 tidak adekuat maka sifat regulasi negatif akan menyebabkan peningkatan produksi IL-2 oleh sel Th1. Adanya produksi IL-4 masih cukup tinggi mampu untuk memicu sel B dan dibawah pengaruh dari IL-5, IL-6 (Tokuyama, 1996) untuk berubah menjadi sel plasma yang memproduksi IgA yang cukup tinggi (27.150). Dalam keadaan normal fungsi imunitas humoral lokal pada mukosa didominasi oleh fungsi S-IgA dengan S-IgG yang rendah (Knight, 1994; McIntyre, 1999; Husband, 1999). Dari penjelasan diatas dapat disimpulkan bahwa dalam keadaan normal terjadi dominasi sel Th2 yang menghasilkan IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 yang akan memicu sel plasma untuk memproduksi antibodi IgA yang cukup pada mukosa.

Pada penelitian ini ditemukan frekuensi sel NK yang tinggi dengan IFN $\gamma$  yang rendah hal ini dapat dijelaskan sebagai berikut, IFN $\gamma$  yang cukup diperlukan untuk pemicuan sel NK, tetapi pada keadaan ini justru IFN $\gamma$  rendah hal ini masih

mungkin terjadi oleh karena sel NK dapat dipicu tidak hanya oleh IFN $\gamma$  saja tetapi juga oleh IL-2 yang diproduksi oleh sel Th1 dan IL-12 yang diproduksi oleh APC (Tizard 1995). Frekuensi sel T CD8 yang rendah sehingga ratio sel T CD4 / sel T CD8 yang tinggi hal ini mencerminkan fungsi *cell mediated immunity* yang baik.

Pola imunopatobiologik kelompok defisiensi vitamin A adalah sel NK (3.206), sel T CD4 (.217), sel T CD8 (1.524), STp IL-2 (.275), STp IFN $\gamma$  (.243), STp IL-4 (.261), STp IL-10 (-.379), SPp IgA (-.118) dan SPp IgG (.333). Dengan membuat penjelasan dari nilai variabel pembeda tersebut yang merujuk pada kerangka konseptual akan dapat diungkapkan imunopatobiogenesis RIM usus pada defisiensi vitamin A. Akibat defisiensi vitamin A sel imunokompeten mengalami stres sehingga perilaku sel tersebut dapat berubah dalam merespon terhadap stimulasi dari luar. Patogen atau imunogen yang disalurkan oleh sel M akan diterima oleh APC (sel dendritik) yang mengalami stres akibat dari defisiensi vitamin A, aktivasi tersebut sangat mungkin tidak sempurna sehingga produksi IL-1 menjadi tidak adekuat untuk aktivasi sel T CD4 Th0 dengan akibat frekuensi sel tersebut tidak banyak sehingga ratio sel T CD4 / sel T CD8 menjadi sangat rendah 0.14. Gambaran demikian menunjukkan adanya respons imun seluler tidak adekuat.

Dalam keadaan defisiensi vitamin A aktivasi APC mukosa oleh stimulasi imunogen akan menyebabkan terpicunya CD4+Th0 dengan dominasi kearah Th1 sehingga produksi IFN $\gamma$  meningkat, walaupun frekuensi STp IFN $\gamma$  tidak terlalu tinggi (0.243 tetapi kecepatan produksinya dapat meningkat tajam mencapai 6 kali lipat dari normal. (Cantorna 1994). IFN $\gamma$  yang tinggi akan menyebabkan regulasi negatif terhadap sel Th2 sehingga produksi IL-4 dan IL-10 menurun, diduga IL-5



dan IL-6 juga menurun dengan akibat stimulasi terhadap sel B juga menurun sehingga produksi IgA menurun tajam (-.118) sedangkan dalam keadaan normal tinggi (27.150), menurunnya IgA diikuti dengan meningkatnya IgG sebagai kompensasi. Penemuan ini didukung oleh peneliti lain dimana S-IgA rendah dalam cairan usus pada tikus yang menderita defisiensi vitamin A (Sirisinha 1980)

Adanya fakta frekuensi sel NK yang menurun (3.206) dibandingkan kontrol (17.183) dengan frekuensi STp IFN $\gamma$  (.243) yang meningkat dibandingkan dengan kontrol (-3.552) memerlukan penjelasan sebagai berikut dalam keadaan defisiensi vitamin A produksi IL-2 oleh sel Th1 menurun dan produksi IL-12 oleh sel APC juga menurun sehingga pemicuan terhadap sel NK tidak cukup walaupun IFN $\gamma$  meningkat.

Meningkatnya sel T CD8 pada defisiensi vitamin A oleh karena adanya IFN $\gamma$  yang tinggi yang memang diperlukan untuk menstimulasi sel T CD8. (Peakman 1997, Kulby 1992) Rendahnya sel T CD8 dan sel NK pada keadaan defisiensi vitamin A menunjukkan adanya penurunan fungsi *cell mediated immunity*

Pola imunopatobiologik kelompok terapi vitamin A adalah : sel NK (20.311), sel T CD4 (2.891), sel T CD8 (-.996), STp IL-2 (9.087), STp IFN $\gamma$  (-.915), STp IL-4 (6.813), STp IL-10 (-.8.649), SPp IgA (17.589) dan SPp IgG (-16.764). Dengan membuat penjelasan dari nilai variabel pembeda tersebut dan merujuk pada kerangka konseptual penelitian maka akan dapat diungkapkan imunopatobiogenesis RIM usus setelah mendapat terapi vitamin A. Setelah mendapat terapi vitamin A kadar vitamin A dalam serum menjadi normal 41.597 mcg/dl, sel imunokompeten dapat berfungsi normal kembali.



LPS yang digunakan sebagai imunogen akan ditangkap oleh sel M untuk ditransport ke area dibawahnya (SED) yang banyak mengandung APC (sel dendritik), stimulasi oleh imunogen ini akan menyebabkan APC menjadi aktif dan memproduksi IL-1 (*Lymphocyte activating factor*), mulai saat ini terjadi inisiasi dari respons imun. IL-1 akan memicu aktivasi sel T CD4 (Th0), oleh karena ratio sel T CD4 / sel T CD8 yang cukup tinggi sebesar 2.90 yang mendekati nilai kelompok kontrol hal demikian menunjukkan bahwa imunitas seluler mengalami perbaikan..

Setelah mendapat terapi vitamin A fungsi imunokompeten diharapkan menjadi normal, perilaku sel menjadi normal dalam memberi respon terhadap stimulasi dari luar. Dalam keadaan vitamin A normal setelah terapi, aktivasi APC oleh stimulasi imunogen akan menyebabkan terpicunya CD4+Th0 dengan dominasi kearah Th2 yang memproduksi IL-4 yang meningkat (frekuensi STp IL-4 sudah mendekati kelompok kontrol) dengan akibat terjadi regulasi negatif terhadap sel Th1 sehingga produksi IFN $\gamma$  menurun cukup tajam. Oleh karena produksi IL-10 oleh sel Th2 tidak adekuat maka sifat regulasi negatif akan menyebabkan peningkatan produksi IL-2 oleh sel Th1. Adanya produksi IL-4 masih cukup tinggi dan pengaruh dari IL-5 dan IL-6 mampu untuk memicu sel B untuk berubah menjadi sel plasma yang memproduksi IgA yang cukup tinggi (17.589) nilai ini jauh lebih tinggi dari kelompok defisiensi vitamin A tetapi sedikit dibawah nilai kelompok kontrol..Hal ini menunjukkan bahwa setelah terapi vitamin A fungsi imunitas humoral lokal pada mukosa kembali kearah normal yang didominasi oleh fungsi SPp-IgA dengan IgG yang rendah (Knight, 1994; McIntyre, 1999). Dari penjelasan diatas dapat disimpulkan bahwa setelah terapi vitamin A sel Th2 akan terpicu untuk memsekresi

sitokin yang diperlukan untuk memproduksi antibodi IgA oleh sel plasma yang cukup pada mukosa.

Pada penelitian ini ditemukan frekuensi sel NK yang meningkat tajam setelah terapi vitamin A (20.311) bahkan melampaui harga kelompok kontrol (17.183) dengan IFN $\gamma$  yang rendah hal ini memerlukan penjelasan sebagai berikut IFN $\gamma$  yang cukup diperlukan untuk pemicuan sel NK, tetapi pada keadaan ini justru IFN $\gamma$  rendah hal ini masih mungkin terjadi oleh karena sel NK dapat dipicu tidak hanya oleh IFN $\gamma$  saja tetapi juga oleh IL-2 yang diproduksi oleh sel Th1 dan IL-12 yang diproduksi oleh APC (Tizard 1995). Pada penelitian ini setelah terapi vitamin A diharapkan bahwa fungsi sel Th1 dan sel APC menjadi normal.

Setelah terapi vitamin A frekuensi sel T CD8 menurun dan frekuensi sel T CD4 meningkat dibandingkan dengan kelompok defisiensi vitamin A sehingga ratio sel T CD4 / sel T CD8 menjadi lebih tinggi. Adanya frekuensi sel NK yang cukup dan ratio sel T CD4 / sel T CD8 yang tinggi, hal ini mencerminkan fungsi *cell mediated immunity* menuju perbaikan kearah normal..

*Dengan penjelasan rasionalisasi pola imunopatobiologik mukosa usus tikus pada daerah efektor yang mendapat paparan imunogen LPS dari ketiga kelompok tersebut, kelompok defisiensi vitamin A, kelompok kontrol dan kelompok terapi vitamin A dapat disimpulkan bahwa imunopatobiogenesis RIM dari ketiga kelompok tersebut adalah berbeda dengan kekuatan pembeda sebesar 86,67% dan derajat kemaknaan Wilk sebesar 0.000. Pola imunopatobiologik kelompok kontrol dengan kelompok terapi vitamin A tampaknya ada kemiripan walaupun frekuensi komponen respons imun mukosa pada kelompok terapi vitamin A sedikit lebih rendah.*

*Pola respons imun mukosa usus (RIM) daerah induktif dengan paparan antigen LPS dari kelompok defisiensi vitamin A ,kelompok kontrol, kelompok terapi vitamin A untuk mengungkap imunopatobiogenesis RIM*

Untuk membuat pola RIM daerah induktif telah diambil langkah langkah uji statistik diskreminan seperti terlihat pada tabel 5.21 dan tabel 5.25, dengan 12 variabel yang diuji didapatkan 7 variabel diskreminan sebagai pembeda antar kelompok, 7 variabel tersebut :

Pola imunopatobiologik kelompok kontrol adalah : sel dendritik (1.286), sel CD11b (5.275), sel T CD8 (1.952), STp IL-2 (2.541), STp IL-4 (6.306), SPp IgA (2.993), SPp IgG (3.878). Dengan membuat penjelasan dari nilai variabel pembeda tersebut dan merujuk pada kerangka konseptual penelitian maka akan dapat diungkapkan imunopatobiogenesis RIM pada daerah induktif yang mendapat paparan dengan LPS. Dalam keadaan normal pemberian LPS setelah melalui sel M akan ditangkap oleh sel APC (sel dendritik) sehingga terjadi aktivasi sel tersebut yang akan memproduksi IL-1.

Pada penelitian ini ternyata IL-1 akan memicu sel T CD4 Th0 kearah sel T CD4 Th1 dengan akibat meingkatnya IL2, oleh karena tidak munculnya IL-10 dari sel T CD4 Th2 maka oleh karena sifat regulasi negatif dari IL-10 sehingga tidak mampu untuk menekan sel T CD4 Th1 akibatnya IL-2 tetap tinggi. IFN $\gamma$  yang tidak memberikan kontribusi aktivitas biologisnya pada Sel T CD4 Th1 menyebabkan tidak adanya supresi pada sel T CD4 Th2 sehingga produksi IL-4 meningkat dan pengaruh dari IL-5 dan IL-6 dengan akibat terpicunya sel B untuk memproduksi IgA dan IgG

permukaan. Adanya IL-1 yang tinggi juga dapat menstimulasi sel B dengan hasil meningkatnya produksi antibodi.

Aktivitas yang tinggi dari APC dan IL-1 akan menstimulasi sel T CD8 dan sel CD11b, tidak adanya kontribusi aktivitas biologis IFN $\gamma$  menyebabkan tidak ada stimulasi terhadap sel NK sehingga sel tersebut tidak memberikan kontribusi aktivitas biologis. Hal ini menunjukkan bahwa pada daerah induktif mukosa usus yang mendapat paparan fungsi imunitas seluler didominasi oleh APC, sel T CD8 dan sel CD11b. Jadi dalam keadaan normal pada daerah induktif yang mendapat paparan antigen fungsi imunitas seluler dan imunitas humoral lokal berjalan normal.

Pola imunopatologik kelompok defisiensi vitamin A adalah : sel dendritik (-.346), sel CD11b (6.972), sel T CD8 (4.278), STp IL-2 (.252), STp IL-4 (1.194), SPP IgA (-.602), SPP IgG (7.463). Dengan membuat penjelasan dari nilai variabel pembeda tersebut dan merujuk pada kerangka konseptual penelitian maka akan dapat diungkapkan imunopatobiogenesis RIM pada daerah induktif yang mengalami defisiensi vitamin A yang mendapat paparan dengan LPS

Akibat adanya defisiensi vitamin A pemberian LPS setelah melalui sel M akan ditangkap oleh sel APC (sel dendritik) yang telah mengalami stres sehingga terjadi aktivasi sel tersebut tidak adekuat sehingga produksi IL-1 menjadi rendah.

Pada penelitian ini ternyata IL-1 akan memicu sel T CD4 Th0 kearah sel T CD4 Th1 dengan akibat meingkatnya IL2 tetapi nilai masih dibawah kontrol, oleh karena tidak ada kontribusi aktivitas biologis IL-10 dari sel T CD4 Th2 maka oleh karena sifat regulasi negatif dari IL-10 sehingga tidak mampu untuk menekan sel T CD4 Th1 akibatnya IL-2 tetap tinggi. IFN $\gamma$  yang tidak memberikan kontribusi aktivitas

biologis sel T CD4 Th1 menyebabkan tidak adanya supresi pada sel T CD4 Th2 sehingga produksi IL-4 meningkat dengan akibat terpicunya sel B untuk memproduksi IgA dan IgG permukaan, oleh karena defisiensi vitamin A sangat mungkin terjadi gangguan pada class switching sehingga IgA menurun sedangkan IgG meningkat sebagai kompensasi. Dalam keadaan normal IgA ini merupakan dominasi pada imunitas humoral lokal sedangkan pada keadaan defisiensi vitamin A dominasi oleh IgG tetapi fungsinya dalam imunitas humoral lokal tidak efektif. Adanya IL-1 yang rendah maka bantuan stimulasi sel B menjadi kurang adekuat dengan hasil produksi antibodi yang rendah.

Adanya fakta sel T CD8 yang meningkat dan sel CD11b yang meningkat tanpa adanya stimulasi yang adekuat dari APC dan IL-1 dan IFN $\gamma$  memerlukan penjelasan sebagai berikut, stimulasi yang dilakukan oleh IL-2 walaupun rendah masih cukup untuk menstimulasi sel T CD8 sedangkan pemicuan sel CD11b mungkin melalui mekanisme lain. Tidak adanya kontribusi aktivitas biologis IFN $\gamma$  menyebabkan tidak ada stimulasi terhadap sel NK sehingga sel tersebut tidak menunjukkan kontribusi aktivitas biologisnya. Hal ini menunjukkan bahwa pada daerah inductif mukosa usus yang mengalami defisiensi vitamin A yang mendapat paparan LPS fungsi *innate immunity* nya oleh sel T CD8 dan sel CD11b. Jadi dalam keadaan defisiensi vitamin A pada daerah inductif yang mendapat paparan antigen fungsi imunitas alami dan imunitas humoral lokal mengalami penurunan

Pola imunopatologik kelompok terapi vitamin A adalah : sel dendritik (4.214), sel CD11b (12.461), sel T CD8 (.962), STp IL-2 (1.002), STp IL-4 (7.324), SPp IgA (2.079), SPp IgG (1.813). Dengan membuat penjelasan dari nilai variabel

pembeda tersebut dan merujuk pada kerangka konseptual penelitian maka akan dapat diungkapkan imunopatobiogenesis RIM pada daerah induktif yang mendapat paparan dengan LPS

Setelah pemberian vitamin A keadaan menjadi normal, pemberian LPS setelah melalui sel M akan ditangkap oleh sel APC (sel dendritik) sehingga terjadi aktivasi sel tersebut yang akan memproduksi IL-1.

Pada penelitian ini ternyata IL-1 akan memicu sel T CD4 Th0 kearah sel T CD4 Th1 dengan akibat meingkatnya IL2, oleh karena tidak ada kontribusi aktivitas biologis IL-10 dari sel T CD4 Th2 maka oleh karena sifat regulasi negatif dari IL-10 sehingga tidak mampu untuk menekan sel T CD4 Th1 akibatnya IL-2 tetap tinggi. IFN $\gamma$  yang tidak memberikan kontribusi aktivitas biologis dari Sel T CD4 Th1 menyebabkan tidak adanya supresi pada sel T CD4 Th2 sehingga produksi IL-4 meningkat dengan akibat terpicunya sel B untuk memproduksi IgA dan IgG permukaan . Adanya IL-1 yang tinggi juga dapat menstimulasi sel B dengan hasil meningkatnya produksi antibodi.

Aktifitas yang tinggi dari APC dan IL-1 akan menstimulasi sel T CD8 dan sel CD11b, tidak adanya IFN $\gamma$  menyebabkan tidak ada stimulasi terhadap sel NK sehingga sel tersebut tidak menunjukkan kontribusi aktifitas biologisnya. Hal ini menunjukkan bahwa pada daerah induktif mukosa usus yang mendapat paparan fungsi imunitas seluler nya didominasi oleh APC, sel T CD8 dan sel CD11b. Jadi dalam keadaan normal pada daerah induktif yang mendapat paparan antigen fungsi imunitas seluler dan imunitas humoral lokal kembali normal.

*Dengan penjelasan rasionalisasi pola imunopatobiologik mukosa usus tikus pada daerah induktif yang mendapat paparan imunogen LPS dari ketiga kelompok tersebut, kelompok defisiensi vitamin A, kelompok kontrol dan kelompok terapi vitamin A dapat disimpulkan bahwa imunopatobiogenesis RIM dari ketiga kelompok tersebut adalah berbeda dengan kekuatan pembeda sebesar 76,67% dan derajat kemaknaan Wilk sebesar 0.000. Pola imunopatobiologik kelompok kontrol dengan kelompok terapi vitamin A tampaknya ada kemiripan walaupun frekuensi komponen respons imun mukosa pada kelompok terapi vitamin A sedikit lebih rendah.*

Dapat disimpulkan bahwa tujuan penelitian 4 dapat dicapai dan hipotesis 4 dapat dibuktikan.

**Pola imunopatobiologik status imun mukosa (SIM) usus daerah efektor tanpa paparan LPS dari kelompok defisiensi, kelompok kontrol, kelompok terapi vitamin A untuk mengungkap imunopatobiogenesis SIM**

Langkah untuk membuat pola gangguan respons imun mukosa usus telah dilakukan uji manova dan uji diskreminan seperti terlihat pada tabel 5.24 dan tabel 5.28 dengan memasukan 12 variabel yang diuji, didapatkan 8 variabel diskreminan sebagai pembeda antar kelompok, 8 variabel tersebut :

Pola imunopatobiologik kelompok kontrol adalah : sel dendritik (8.508), sel CD11b (4.170), STp IL-2 (.865), STp IFN $\gamma$  (-2.933), STp IL-10 (1.532), SPp IgA (11.951), SPp IgG (-7.526), SPp IgM (-1.768). Dengan membuat penjelasan dari nilai kontribusi aktivitas biologis variabel pembeda tersebut dan merujuk pada kerangka konseptual penelitian maka akan dapat diungkapkan imunobiogenesis respons imun mukosa dalam keadaan normal pada daerah efektor yang tidak



mendapat paparan antigen. Tanpa adanya patogen LPS sebagai paparan, masih dapat terjadi stimulasi respons imun oleh karena adanya flora dalam lumen usus yang ditangkap oleh sel M akan disalurkan ke area dibawahnya yang banyak mengandung APC/sel dendritik dengan akibat terjadinya aktivasi APC yang jumlahnya cukup banyak dan memproduksi IL-1, inisiasi respons imun dimulai. Dengan tidak munculnya nilai kontribusi dari sel T CD4 dan sel T CD8 [tetapi sebenarnya nilai absolut dari kedua variabel tersebut cukup tinggi 28.200 dan 20.800 (tabel 5.2.4.16)] hal ini menunjukkan bahwa sel tersebut tidak memberi kontribusi atau sangat kecil kontribusinya dalam status imun mukosa bila tidak mendapat paparan yang cukup. Keadaan tersebut akan memberi akibat turunya IL-2 dan IFN $\gamma$  sehingga regulasi negatif akan menyebabkan peningkatan IL-10 walaupun tak terlalu tinggi yang dibantu IL-1 dapat menstimulasi sel B untuk berubah menjadi sel plasma yang memproduksi IgA yang dominan dengan penurunan IgG dan IgM, hal demikian memang menunjukkan gambaran yang normal pada mukosa usus. (Knight, 1999; McIntyre, 1999). Rendahnya kontribusi aktivitas biologis IFN $\gamma$  menyebabkan tidak terstimulasinya sel NK dan sel T CD8. Sedangkan IL-1 masih mampu untuk merangsang sel CD11b. Dari fakta tersebut dapat disimpulkan bahwa pada daerah efektor yang tidak mendapat paparan antigen yang adekuat fungsi imunitas seluler tidak menonjol tetapi fungsi imunitas lokal humoral masih bagus.

Pola imunopatobiologik kelompok defisiensi vitamin A adalah : sel dendritik (9.286), sel CD11b (-.902), STp IL-2 (2.238), STp IFN $\gamma$  (-2.985), STp IL-10 (-.015), sel Sp IgA (-2.093), SPp IgG (4.105), SPp IgM (.925). Adanya defisiensi vitamin A akan menyebabkan kerusakan sel M sehingga flora dalam lumen usus



dapat dengan mudah dan dalam jumlah yang cukup besar dapat mencapai APC yang banyak ditemukan di area dibawah sel M. Oleh karena tak adanya paparan antigen LPS yang poten sel T CD4 dan sel T CD8 yang bersifat inducible tidak muncul dalam memberikan kontribusi untuk inisiasi respons imun. Sebagai akibat tidak munculnya kontribusi dari sel tersebut dan kontribusi negatif dari CD11b, IFN $\gamma$ , IL-10, IgA dan tidak munculnya kontribusi dari IL-4 maka dapat disimpulkan bahwa akibat adanya defisiensi vitamin A terjadi gangguan pada sistem imunitas seluler dan sistem imunitas humoral lokal pada daerah efektor.

Pola imunopatobiologik kelompok terapi vitamin A adalah : sel dendritik (-1.304), sel CD11b (8.196) STp IL-2 (6.587), STp IFN $\gamma$  (2.864), STp IL-10 (-5.844), SPp IgA (3.398), SPp IgG (6.753), SPp IgM (-1.893). Dengan terapi vitamin A akan terjadi perbaikan dari sel imunokompeten tetapi tampaknya tidak menyeluruh, hal ini terlihat dari mekanisme kerja biologisnya yang memberi kontribusi yang negatif dari sel dendritik, STp IL-10, dan STp IgM. Secara keseluruhan kontribusi yang lebih banyak positif dari komponen respons imun menunjukkan adanya perbaikan dari sistem imun seluler dan sistem imun humoral. Mengenai imunopatobiogenesis nya dapat dijelaskan sebagai berikut, berdasar pada fungsi biologis nya ternyata sel APC/dendritik yang memberi peran kontribusi yang negatif hal ini menunjukkan bahwa pemicuan respons imun tidak melalui sel tersebut tentunya melalui mekanisme lain sangat mungkin melalui sel epitel yang bertindak sebagai APC. Melihat pada fakta meningkatnya peran dari IL-2 dan IFN $\gamma$  yang positif yang berarti terjadi polarisasi kearah Th1, dengan demikian terjadi supresi fungsi Th2 yang terbukti dari peran negatif dari IL-10 dan tidak munculnya peran

dari IL-4. Adanya fakta peran positif dari sel SPp IgA dan sel SPp IgG hal ini menunjukkan adanya mekanisme lain yaitu adanya peran langsung dari IL5 dan IFN $\gamma$  terhadap sel B (Austyn, 1994) Peran positif dari IL-2 dan IFN $\gamma$  tampaknya tidak cukup untuk memicu sel T CD8 dan sel NK sehingga fungsi imunitas seluler hanya diwakili oleh sel CD11b yang pemicuannya tidak melalui peran IL-1 oleh karena disini perannya negatif, tetapi melalui mekanisme lain yang belum jelas. Tampak adanya perbaikan imunopatobiogenesis respons imun setelah terapi vitamin A terlihat dari perbaikan fungsi imunitas seluler dan humoral bila dibandingkan dengan keadaan defisiensi vitamin A.

*Dengan penjelasan rasionalisasi pola imunopatologik mukosa usus tikus pada daerah efektor yang tanpa paparan imunogen LPS dari ketiga kelompok tersebut, kelompok defisiensi vitamin A, kelompok kontrol dan kelompok terapi vitamin A dapat disimpulkan bahwa imunopatobiogenesis SIM dari ketiga kelompok tersebut adalah berbeda dengan kekuatan pembeda sebesar 93,33% dan derajat kemaknaan Wilk sebesar 0.000.*

**Pola status imun mukosa (SIM) usus daerah induktif tanpa paparan LPS dari kelompok defisiensi, kelompok kontrol, kelompok terapi vitamin A untuk mengungkap imunopatobiogenesis.**

Langkah untuk membuat pola gangguan status imun mukosa usus telah dilakukan uji manova dan uji diskreminan seperti terlihat pada tabel 5.22 dan tabel 5.26 dengan memasukan 12 variabel yang diuji, didapatkan 10 variabel diskreminan sebagai pembeda antar kelompok, 10 variabel tersebut :

Pola imunopatobiologik kelompok kontrol adalah : sel dendritik (8.119), sel CD11b (5.745), sel T CD8 (.591), STp IL-2 (-2.017), STp IFN $\gamma$  (-.215), STp IL-4 (3.282), STp IL-10 (.526), SPp IgA (7.327), SPp IgG (8.686), SPp IgM (-3.907).

Dengan membuat penjelasan dari nilai kontribusi aktifitas biologis variabel pembeda tersebut dan merujuk pada kerangka konseptual penelitian maka akan dapat diungkapkan imunobiogenesis status imun mukosa dalam keadaan normal pada daerah induktif yang tidak mendapat paparan antigen. Tanpa adanya patogen LPS sebagai paparan, masih dapat terjadi stimulasi respon imun oleh karena adanya flora dalam lumen usus yang ditangkap oleh sel M akan disalurkan ke area dibawahnya yang banyak mengandung APC/sel dendritik dengan akibat terjadinya aktifasi APC yang jumlahnya cukup banyak dan memproduksi IL-1, inisiasi respons imun dimulai. Aktifasi tersebut akan menyebabkan produksi IL-1 yang meningkat sehingga terjadi pemicuan sel T CD4 Th0 yang pada penelitian ini ternyata mendorong polarisasi kearah Th2 yang terlihat dari meningkatnya produksi IL-10 dan IL4 dengan akibat terjadinya aktifasi terhadap sel B yang diikuti dengan peran positif dari IgA dan IgG. Adanya dominasi dari Th2 akan menyebabkan supresi pada Th1 dengan akibat aktifitas biologik dengan peran negatif dari IL-2 dan IFN $\gamma$  dengan akibat tak ada pemicuan terhadap sel T CD8 dan sel NK dimana sel ini tidak menunjukkan perannya. Adanya peran aktif dari IL-1 yang diproduksi oleh APC akan menstimulasi sel T CD8 dan sel CD11b sehingga terjadi aktifitas biologik dengan peran positif dari kedua sel tersebut. Dari penjelasan diatas dapat disimpulkan bahwa pada daerah induktif status imunitas seluler dan humoral dapat dikatakan dalam keadaan cukup baik.

Pola imunopatobiologik kelompok defisiensi vitamin A adalah : sel dendritik (.026), sel CD11b (2.975), sel T CD8 (7.120), STp IL-2 (-2.068), STp IFN $\gamma$  (-3.443), STp IL-4 (.821), STp IL-10 (-.156), SPp IgA (4.294), SPp IgG (16.301), SPp IgM (-3.277). Adanya defisiensi vitamin A menyebabkan kontribusi aktifitas biologik sel Dendritik menurun dari normal tetapi masih positif sehingga masih terdapat produksi IL-1 yang masih mampu memicu sel T CD4 Th0 yang mendorong terjadinya polarisasi kearah Th2 yang terlihat dari aktifitas biologik yang positif dari IL-4 tetapi oleh karena pemicuan tidak adekuat terjadi penurunan aktifitas biologik dari IL-10 dengan peran negatif. Oleh karena dominasi Th2 maka terjadi supresi Th1 yang terlihat dari menurunnya aktifitas biologik dari IL-2 dan IFN $\gamma$  dengan kontribusi negatif, sebagai konsekuensi dari keadaan ini tidak terjadi pemicuan terhadap sel T CD8 dan sel NK sehingga tidak muncul kontribusi aktifitas biologiknya. Sel CD11b dan sel T CD8 masih mendapat kesempatan pemicuan oleh aktifitas biologik positif dari IL-1 sehingga terlihat peran aktifitas biologik positif dari sel T CD8 dan sel CD11b.

Adanya dominasi TH2 akan memicu sel plasma untuk memproduksi Ig yang pada penelitian ini walupun terdapat peran dari IgA tapi didominasi oleh IgG bahkan terjadi kontribusi aktifitas biologik negatif dari IgM, hal demikian dapat dikatakan pada defisiensi vitamin A terjadi gangguan class switching dari IgA. Gambaran ini menunjukkan inferioritas dari sistem imunitas humoral lokal yang dalam keadaan normal didominasi oleh IgA. (Knight, 1994; Mc Intyre, 1999). Dari penjelasan diatas dapat disimpulkan bahwa pada defisiensi vitamin A terjadi penurunan kualitas imunitas seluler dan imunitas humoral lokal pada daerah induktif.

Pola imunopatologik kelompok terapi vitamin A adalah : sel dendritik (1.416), sel CD11b (8.172), sel T CD8 (.272), STp IL-2 (-.713), STp IFN $\gamma$  (-.244), STp IL-4 (6.098), STp IL-10 (-.293), SPp IgA (10.039), SPp IgG (10.548), sel Sp IgM (-4.253). Dengan terapi vitamin A terjadi perbaikan dari fungsi imunitas daerah induktif mukosa usus. Hal demikian dapat dijelaskan sebagai berikut, dengan peran kontribusi aktifitas biologik yang positif dari APC/dendritik akan menyebabkan produksi IL-1 yang berfungsi untuk pemicuan sel T CD4 Th0 yang pada penelitian ini ternyata terjadi polarisasi kearah Th2 yang menunjukkan peran positif aktifitas biologik dari IL-4 sedangkan aktifitas biologik dari IL-10 menunjukkan peran yang negatif, tetapi hal ini tidak mempengaruhi penekanan pada fungsi Th1 oleh IL-4 sehingga terlihat aktifitas biologik dengan peran negatif dari IL-2 dan IFN $\gamma$  dengan akibat tidak terpicunya sel T CD8 dan sel NK sehingga tidak menunjukkan peran aktifitas biologik. Oleh karena peran aktifitas biologik yang positif dari sel APC/dendritik maka pemicuan terhadap sel T CD8 dan sel CD11b masih terjadi sehingga kedua sel tersebut menunjukkan peran aktifitas biologiknya yang positif. Peran positif dari IL-4 akan menyebabkan pemicuan terhadap sel B yang dapat memproduksi IgA, IgG dan IgM permukaan yang pada penelitian ini ditemukan dominasi peran positif dari IgA daripada IgG sedangkan aktifitas biologik dari IgM menunjukkan peran yang negatif, gambaran demikian menunjukkan fungsi yang normal dari sistem imunitas humoral lokal pada mukosa. Dari penjelasan diatas dapat disimpulkan bahwa setelah pemberian vitamin A terjadi perbaikan dari sistem imunitas seluler dan sistem imunitas humoral pada daerah induktif mukosa usus.

*Dengan penjelasan rasionalisasi pola imunopatologik mukosa usus tikus pada daerah induktif yang tanpa paparan imunogen LPS dari ketiga kelompok tersebut, kelompok defisiensi vitamin A, kelompok kontrol dan kelompok terapi vitamin A dapat disimpulkan bahwa imunopatiogenesis SIM dari ketiga kelompok tersebut adalah berbeda dengan kekuatan pembeda sebesar 80% dan derajat kemaknaan Wilk sebesar 0.000.*

Dari penjelasan tersebut diatas dapat disimpulkan bahwa tujuan penelitian 3 dapat dicapai dan hipotesis 3 dapat dibuktikan.

Kajian temuan penurunan Sp-IgA dan peningkatan IgG pada daerah efektor yang mendapat paparan LPS pada defisiensi vitamin A dan terjadinya peningkatan IgA dan penurunan IgG setelah mendapat terapi vitamin A.

Fenomena demikian perlu dicermati dan memerlukan penjelasan lebih lanjut. Dalam keadaan normal fungsi imunitas humoral lokal (*local humoral immunity*) pada mukosa ditumpukan pada peranan IgA, yang berbeda dengan fungsi imunitas humoral sistemik yang diperankan oleh IgG dan IgM. Dalam keadaan normal didalam mukosa terjadi *IgA class switch* melalui 2 mekanisme berbasis molekuler, *direct switching* dan *successive switching* (Mc Ghee, 1989; Mc Intyre, 1999). Pada *direct switching* S $\mu$  dan S $\alpha$  sequence mengalami penyatuan (joining) dan nucleotide diantaranya dihilangkan (deleted). Fungsional VDJ-C $\alpha$  mRNA ditranskripsikan untuk membentuk  $\alpha$  chain dalam molekul IgA. Pada *successive switching* sel B mengalami rekombinasi S-S dari 5' ke 3' dalam genome, hal ini akan melibatkan switch kearah  $\gamma$  dan kemudian kearah  $\epsilon$  sebelum switching menjadi  $\alpha$ . Pada level VDJ pada sel B mIgM<sup>+</sup> tahap awal terjadi delesi VDJ C $\mu$  dan C $\delta$

sehingga VDJ C $\gamma$  terekspresikan sebagai *mIgG<sup>+</sup> B cell (membrane IgG<sup>+</sup> B cell)*, selanjutnya terjadi delesi C $\epsilon$  sehingga akhirnya yang terekspresi VDJ C $\alpha$  dalam bentuk mIgA<sup>+</sup> B cell. Populasi ini banyak ditemukan di daerah PP. Untuk terjadinya switching tampaknya dipengaruhi oleh peranan dari T sw Cells (*T switching cells*), IL-4, IL-5, IL-6, TGF $\beta$ , antigen (Mc Ghee, 1989; Tomasi, 1994). Antigen dan IL-4 diperlukan untuk aktivasi switching dan proliferasi sedangkan IL-5 dan IL-6 diperlukan untuk proliferasi dan diferensiasi sel B menjadi sel plasma yang memproduksi IgA, IgG, IgM. Pada penelitian ini ditemukan defisiensi vitamin A menyebabkan penurunan IgA dan peningkatan IgG, gambaran demikian adalah kebalikan dari keadaan normal, fenomena demikian perlu dicermati melalui penilaian terhadap *IgA isotype class switching*, untuk terjadinya class switching tampaknya ada pengaruh dari IL-4 dan IL-5 dimana pada penelitian invitro IL-5 mempunyai pengaruh yang kuat untuk terjadi IgA switching dalam keadaan vitamin A yang cukup dan mendapat paparan dengan LPS terhadap surface IgM-positif ( $\mu$ +B-cell) sehingga terjadi peningkatan IgA tetapi bila keadaan defisiensi vitamin A IgA switching tidak terjadi walaupun IL-5 cukup sehingga IgA menurun (Tokoyama, 1996). Hal yang sebaliknya dalam keadaan defisiensi vitamin A terjadi peningkatan IgG dan IgE dalam hal IL-4 yang cukup, dengan pemberian vitamin A keadaan berubah sebaliknya, terjadi peningkatan IgA dan terjadi penghambatan IgG dan IgE switching dengan akibat penurunan IgG dan IgE (Tokoyama, 1996). Dari data penelitian invitro tersebut peneliti menyimpulkan bahwa vitamin A ikut bertanggung jawab terhadap terjadinya Ig class switching, dimana sebenarnya letak pengaruh vitamin A, apakah mempengaruhi ekspresi genetik dari IL-4, IL-5 atau



pengaruh langsung vitamin A pada Ig class switching, hal ini masih harus dilakukan penelitian dengan paradigma genetik molekular. Aspek lain dari pengaruh vitamin A terhadap produksi IgA, IgG atau IgE adalah melalui pengaruhnya terhadap phosphokinase C yang mempunyai peranan penting dalam proses ensimatik perubahan retinol menjadi 14-hydroxy retro retinol (HRR) yang akan ditranslokasikan kedalam nukleus yang akan bertindak sebagai ligand untuk aktifasi transkripsi (Ross, 1994) hipotesis tersebut masih memerlukan penelitian lebih lanjut.

Kajian temuan penelitian imunopatobiogenesis RIM pada defisiensi vitamin A dan setelah terapi vitamin A.

Pada keadaan defisiensi vitamin A yang terpapar antigen terjadi gangguan pada cellular immunity yang dicerminkan dari menurunnya aktifitas biologis sel APC, sel NK sedangkan aktifitas biologis dari sel T CD8 masih memberikan kontribusi yang positif, CD11b dari jalur imunitas seluler alami tidak memberi kontribusi sama sekali dan gangguan pada imunitas humoral lokal yang dicerminkan dari penurunan aktifitas biologis IgA dengan kontribusi negatif sehingga fungsi pertahanan imunologis mukosa usus yang ditumpukan pada fungsi IgA menjadi terganggu walaupun ada kontribusi positif aktifitas biologis dari IgG tetapi hal ini tidak protektif untuk fungsi ketahanan imunologis mukosa usus. Konsekuensi hal tersebut adalah patogen sangat mudah menempel (adherence) dan cepat berkembang mengadakan kolonisasi sehingga mudah terjadi diare. Konsekuensi yang lain adalah terjadinya kerusakan pada mukosa usus oleh karena sel NK mengandung Fc reseptor untuk IgG sehingga akan melisis sel yang terlapisi IgG. Fenomena



demikian sangat perlu untuk dicermati oleh karena memberikan dampak yang merugikan.

Setelah mendapat terapi vitamin A keadaan menjadi lebih baik dimana aktifitas biologis IgA memberikan kontribusi yang positif sehingga terjadi perbaikan pada fungsi ketahanan imunologis mukosa usus sehingga kemungkinan mendapat serangan diare menjadi lebih kecil atau diare akan menjadi lebih cepat sembuh. Adanya aktifitas biologis yang memberi kontribusi negatif dari IgG dan tidak adanya kontribusi dari IgM tidak terlalu banyak mempengaruhi fungsi ketahanan imunologis mukosa usus oleh karena memang imunoglobulin tersebut tidak memberi kontribusi pada sistem imunitas mukosa dalam keadaan normal. Tampaknya fungsi imunitas seluler belum sepenuhnya kembali normal setelah pemberian terapi vitamin A.

Kajian temuan penelitian imunopatobiogenesis SIM pada defisiensi vitamin A dan setelah terapi vitamin A.

Mukosa usus yang mengalami defisiensi vitamin A terjadi perubahan pada status imun nya, terjadi gangguan yang serius dari fungsi *cellular immunity* dimana tidak ada kontribusi aktifitas biologis dari sel NK dan sel T CD8 dan bahkan kontribusi aktifitas biologis yang negatif dari CD11b (jalur imunitas alami). Imunitas humoral lokal pada mukosa juga mengalami gangguan dimana aktifitas biologis IgA memberi kontribusi yang negatif yang berarti terjadi gangguan dari fungsi ketahanan imunologis mukosa usus walaupun adanya kontribusi aktifitas biologis yang positif dari IgG, dan IgM tetapi hal ini tidak mempunyai arti yang penting untuk ketahanan imunologis mukosa usus, justru peningkatan Ig tersebut

dapat menimbulkan fenomena baru kemungkinan terjadinya kerusakan sel mukosa usus oleh karena adanya Fc reseptor IgG pada sel NK sehingga akan me lisis sel yang terlapisi oleh IgG.

Perlu dicermati dengan serius kerusakan status imunitas mukosa usus baik imunitas seluler maupaun imunitas humoral lokal akibat dari defisiensi vitamin A, hasil temuan penelitian ini mengenai imunopatobiogenesis RIM atau SIM usus yang secara konseptual mirip dengan sistem imunitas pada manusia sehingga kemungkinan dapat dipakai sebagai dasar untuk mencermati keadaan di masyarakat karena banyaknya populasi anak dengan defisiensi vitamin A, kondisi ini merupakan risiko akan sangat mudah menderita serangan diare manakala mendapat paparan dengan enteropatogen, dan adanya defisiensi vitamin A kronik akan merupakan risiko timbulnya kerusakan mukosa melalui mekanisme Fc reseptor. Aspek lain yang perlu dicermati adalah ke hati hatian pemberian imunisasi peroral pada keadaan defisiensi vitamin A, tindakan tersebut justru akan memicu kerusakan sistem imunitas mukosa usus dimana pemicuan dengan antigen akan menyebabkan respons imun yang menurun, IgA memberikan kontribusi aktifitas biologis negatif yang menyebabkan penurunan ketahanan imunologis mukosa. Dasar pemikiran ini dapat dilihat pada model imunopatobiogenesis respons imun mukosa daerah efektor pada defisiensi vitamin A dengan dan tanpa paparan antigen (Gambar 5.9)

Keadaan defisiensi vitamin A yang diberi terapi vitamin A akan terjadi perbaikan status imunitas mukosa baik imunitas humoral lokal ataupun imunitas seluler sehingga bila terjadi paparan dengan antigen misalnya enteropatogen atau imunisasi peroral akan memberikan respons imun yang positif dan protektif yaitu

adanya kontribusi aktivitas biologis dari IgA yang positif. Pemikiran ini didasarkan pada model imunopatobiogenesis RIM yang telah mendapat terapi vitamin A baik dengan paparan atau tanpa paparan antigen (Gambar 5.10 )

Dari kajian tersebut diatas dapat disimpulkan bahwa vitamin A memegang peranan yang sangat penting pada sistem imunitas mukosa usus, pemikiran secara konseptual kampanye masal pemberian vitamin A pada populasi anak untuk menjamin status vitamin A yang cukup pada populasi tersebut terutama yang mempunyai risiko tinggi defisiensi vitamin A sangat diperlukan, untuk meningkatkan status imun mukosa usus yang adekuat sehingga tidak mudah mengalami serangan diare dan bila mengalami diare akan lebih cepat sembuh sesuai dengan waktunya, hal ini didukung oleh penelitian klinik pemberian vitamin A pada diare yang memperpendek perjalanan diare (Diah, Sudarmo, 1998 unpublished), aspek lain yang penting untuk dicermati secara konseptual adalah kemungkinan terjadinya komplikasi vaksinasi peroral bila diberikan dalam keadaan defisiensi vitamin A dan akan menjamin keberhasilan imunisasi peroral yang protektif, bila status imunitas mukosa usus adekuat.

## B A B 7

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 7.1 Kesimpulan

1. Defisiensi vitamin A menurunkan SIM dan pemberian vitamin A meningkatkan SIM daerah efektor dan daerah induktif mukosa usus.
2. Defisiensi vitamin A menurunkan RIM dan pemberian vitamin A meningkatkan RIM daerah efektor dan daerah induktif mukosa usus.
3. Model imunopatobiogenesis SIM berbeda antara defisiensi vitamin A dan terapi vitamin A.
4. Model imunopatobiogenesis RIM berbeda antara defisiensi vitamin A dan terapi vitamin A

#### 7.2 Saran

1. Untuk mengetahui lebih menyeluruh interaksi aktifitas biologis dari komponen respons imun mukosa usus yang mengalami defisiensi vitamin A perlu dilakukan penelitian mengenai keterlibatan aktifitas biologis dalam respons imun dari produk sel APC yang lain yaitu, IL-1, IL-12.
2. Untuk mengetahui lebih menyeluruh konsep polarisasi Th1 dan Th2 pada sistem imun mukosa usus yang mengalami defisiensi vitamin A perlu diperiksa TNF $\beta$ , IL-5, IL-6.
3. Perlu dilakukan penelitian untuk mengungkap mekanisme kerja molekuler vitamin A pada masing masing komponen respons imun mukosa.

4. Perlu dilakukan penelitian mengenai imunisasi peroral untuk pencegahan penyakit gastrointestinal.

**DAFTAR KEPUSTAKAAN**

- Abbas A K, Lichtman A H, Piker J S 1994 . Molecular and cellular immunology, second ed. Saunders. Philadelphia.
- Allenby G, Bocquet MT, Saunders M, Kazmer S, Speck J, Rosenberger M, Lovey A, Kastner P, Grippo JF, Chambon P, 1993. Retinoic acid receptors and retinoid X receptor; interaction with endogenous retinoic acids. Proc Natl Acad Sci USA. Jan 1; 90 (1) ; 30-4
- Arden WA, Strodel WE, Gross DR, Anderson KW, Oremus R, Derbin M, Schwartz RW 1995 . Perincubation of endotoxin with monoclonal anti lipid A (E5), but not in vivo treatment, inhibits circulatory dysfunction. Shock 4(2). 131-8.
- Arora D, Ross AC, 1994. Antibody response against tetanus toksoid is enhanced by lipopolysaccharide or tumor necrosis alfa in vitamin A sufficient and deficient rats. Am J Clin Nutr 59 (4) : 922-8
- Austyn JM, Wood KJ 1993 . Principles of cellular and molecular immunology 1<sup>st</sup> edition, Oxford New York Tokyo : Oxford University Press pp 480-489.
- Barsig J, Kusters S, Vogt K, Volk HD, Tiegs G, Wendel A 1995 . Lipopolysaccharide induced interleukin -10 in mice : role of endogenous tumor necrosis factor alpha. Eur.J.Immunol 25 (10) 2888-93.
- Bauer S, Groh V, Wu J, Steinle A, Phillips JH, Lanier LL, Spies T, 1999. Activation of NK cells and T cells by NKG2D, a receptor for stress -inducible MICA. Science 285 : 727-729.
- Bottomly K, 1999 . T cells and Dendritic cells get intimate.Science Feb.19 283 : 1124-1125.
- Bowman T A, Goonewardene I M, Pasiempo A M, Ross A C, Taylor C E 1990 . Vitamin A deficiency decreases natural killer activity and interferon production in rats. J. Nutr. Oct ; 120 (10) : 1264 - 73.
- Brandzaeg, Sollid, Thrane, Kvale, Bjerke, Kett Rogamm 1988 . Lympho epithelia interaction in the mucosa imune system. Gut 29. 1116 - 1130.
- Brandtzaeg P, Krajci P, Lamm ME, Kaetze CS, 1994. Epithelial and Hepatobiliary transports of polymeric immunoglobulin. In Handbook of Mucosal Immunology. Ed. By Ogra PL. Academic Press Inc. 113-126

- Cantorna M T, Nashold F E, Hayes C E 1994 . In vitamin A deficiency multiple mechanisms establish a regulatory Th cell imbalance with excess Th 1 and insufficient Th2 function. *J. Immunol.* 153 : 1515.
- Cantorna MT, Nashold FE, Hayes CE, 1995. Vitamin A deficiency results in a priming environment conducive for Th1 cell development. *Eur J Immunol.* 25 (6) : 1673-9
- Carman JA, Paud L, Nashod FE, Waston DL, Hayes CE 1992 . Immunity to trichinella spiralis infection in vitamin A deficient mice *J. exp. Med.* 175 (1) : 111 - 20.
- Carman J A, Hayes C E 1991 . Abnormal regulation of IFN gamma secretion in vitamin A deficiency. *J. Immunol Aug.* 15 ; 147 (4) : 1247 - 52.
- Cebra JJ, Shroff KE, 1994. Peyer's patches as inductive sites for IgA commitment. In *Handbook of Mucosal Immunology*. Ed. By Ogra PL. Academic Press Inc. 151-158
- Chow CW, Grinstein S, Rotstein OD 1995 . Signaling events in monocytes and macrophages. *New-Horiz.* 3 (2) : 342 - 51.
- Chun TY, Carman JA, Hayes CE 1992 . Retinoid repletion of vitamin A deficient mice restore IgG response. *J. Nutr.* 127 (5) : 1062 - 9.
- Clancy J, Klein R, 1989. Development of gastrointestinal tract cellular immunity. In *ed Human gastrointestinal development*. New York Raven Press ; 34 : 699-708
- Croitoru K, Ernst PB 1993 . The interaction between the intestinal epithelium and the intra epithelial lymphocyte in mucosal immunology ; intra epithelial lymphocytes Ed. Keyono HMC ghee Jr. Raven Press 79 - 88.
- Dobbelsteen G V 1991 . The immune response in the rat to *Streptococcus Pneumoniae* types 3 and 4 capsular polysaccharide. Detection by double immunocytochemical staining of antibody containing cells in situ and Elysa. *J Immunol Methods* 145 : 93-103.
- Durum S K, Oppenheim JJ 1993 . Proinflammatory cytokines. In Paul ; *Fundamental immunology*. Third ed. Raven Press 801 - 836.

- Elson CO, Dertzbaugh MT, 1999. Mucosal adjuvant in Mucosal immunology ed. By Ogra PL, Lamm ME, Bienenstock J, Mestecky J, Strober W, Mc Ghee JR 2<sup>nd</sup> edition San Diego London Boston Academic Press pp 817 - 838
- Feachem R G. 1987 . Vitamin A Deficiency and Diarrhoea : A review of interrelationships and their implication for the control of xerophthalmia and diarrhoea. Trop. Dis Bull. 84, R1 R16.
- Fitch F W. Gayeshi I F, Nau G, Schell S R 1990 . Lymphokines and differensial regulation of T lymphocytes responses, in Moleculer aspect of immune response and infectious diseases. Ed. by Kiyono H, Jirillio E, DeSimone C, Raven Press NY 105 - 117.
- Folker GE, Vander Leede BJ, Vander Saag PT. 1993 . The retinoic acid reseptor beta 2 continous two separate cell spesific transactivation domain, at N interminus and in the ligand - binding domain. Mol. Endocrinol 7 (4) : 616 - 27.
- Fujihashi K, Yammamoto F, Mc Ghee J R, Kiyono H. 1993 . intraepithelial lymphocyte, immunoregulatory function and cytokines production by  $\alpha\beta$  TCR+ and  $\gamma\delta$  TCR+ T cells for mucosal immune responses. In Mucosal immunology, intraepithelial lymphocytes. Ed. Kiyono H, Mc Ghee J R, Raven Press NY ; 89 - 114.
- Fusakawa H, Shudock 1993 . Retinoid signalling pathway. Gan - to - Kagaku Riyoko 20 (5) 555 - 66.
- Ghana Vast Study team 1993 . Vitamin A supplementation in northern Ghana. Lancet 342 (8862) 7 - 12.
- Glick AB, Mc Cleane BK, Abdul Karim N, Flander KC, Lumadu JA, Smith JM, Sporn MB 1991 . Complex regulation of TGF $\beta$  Expression by retonoid acid in the vitamin A deficient rat. Development 4. 1081 - 6.
- Goss GD, Mc Burney MW 1992 . Physiological and clinical aspect of vitamin A and its metabolics. Crit-Rev Clin Lab, Sci 29 (3-4) 185 - 215.
- Greenberg BL, Sack RB, Salasar Lindo E, Budge E, Guterrez M, Campos M, Visberg A, Leon Barua R, Yi A, Maurutia D 1991 : Measles associated diarrhea in hospitalized children in Lima, Peru : pathogenic agents and impact on growth. J Infect dis. 1991 Mar, 163(3) : 495-502.
- Hackman M, 1999. A trigger of natural (and other) killer. Science 285 : 645-646



- Hilken CM, Snijders A, Vermeulen H, Van der Meide PH, Wierenga-EA, Kapsenberg-ML 1996 . Accessory cell derived IL-12 and prostaglandin E2 determine the IFN gamma level of activated human CD4+ T cells. *J, Immunol.* 158 (5) : 1722 - 27.
- Hill RB, Lavi MF, 1980 . *Principles of Pathobiology.* 3 rd edition, Oxford : Oxford University Press, pp 21-187.
- Hillis SD, Miranda CM, Mccann M, Bender D, Weigle K 1992 . Day care centre attendance and diarrheal morbidity in Colombia. *Pediatrics.* 1992 Oct, 90(4) : 582-8
- Hoopes CW, Taketo M, Ozato A, Liu Q, Howard TA, Linney E, Seldin MF 1992 . Mapping of the mouse RXR loci encoding nuclear retinoid X receptors RXR alpha, RXR beta, RXR gamma. *Genomics* 14 (3) : 611 - 7.
- Howard M C, Miyajima A, Coffman R 1993 : T cells derived cytokines and their receptor, in Paul ; *Fundamental immunology* third ed. Raven Press 763 - 800.
- Huggenvik JL, Collard MW, Kim YW, Sharma RP 1993 . Modification of the retinoid acid signalling pathway by the catalytic sub unit of protein kinase A. *Mol. Endocrinol* 7 (4) : 543 - 50.
- Hulley BS, Cumming SR, 1988. *Designing clinical research. An epidemiologic Approach.* Baltimore, Williams & Wilkins 139-150.
- Husband AJ, Beagley KW, McGhee JR, 1999. Mucosal cytokines. in *Mucosal immunology* ed. By Ogra PL, Lamm ME, Bienenstock J, Mestecky J, Strober W, Mc Ghee JR 2<sup>nd</sup> edition San Diego London Boston Academic Press. 541-557
- Husman M, Hoffman B, Stump DG, Chytil F, Pfahl M 1992 . A retinoid acid response element trans the rat CRBPI Promoter is retinoid by an Rar/RXR heterodimer. *Biochem, Biophys Res, common* 187 (3) 1558 - 64.
- Jacobowitz E, Walker WA, 1988. Host defense development in gut and related disorders. *Pediatric gastroenterology I, Ped Cl North Am.* 35 (1) : 1-16
- James SP, Zeitz M, 1994. Human gastrointestinal mucosal T cells. In *Handbook of Mucosal Immunology.* Ed. By Ogra PL. Academic Press Inc. 275-286

- Janeway CA, Travers P, 1994. Immunobiology. The immune system in health and disease. London : Current Biology Limited, Oxford : Blackwell Scientific Publication, pp 6:28 – 6:29
- Juliati HA, Levatini, 1997. Pemeriksaan imunohistokimia. Lab.Patologi Anatomi FK Unair / RSUD Dr. Soetomo Surabaya.
- Kanaei J, Kowada T, Kazaki R, Sugimoto E. 1993 . Retinoid acid receptor gamma 2 gene expression is up regulated by retinoid acid in 3 T3 L1 Preadipocytes. Bio. Chem J. 293 (PT3) 807 - 12.
- Kato T, Owen RL, 1994. Structure and function of intestinal mucosal epithelium. . In Handbook of Mucosal Immunology. Ed. By Ogra PL. Academic Press Inc. 11-26
- Kelsall B, Strober W 1999. Gut – associated lymphoid tissue Antigen handling and T- lymphocyte response in Mucosal immunology ed. By Ogra PL, Lamm ME, Bienenstock J, Mestecky J, Strober W, Mc Ghee JR 2<sup>nd</sup> edition San Diego London Boston Academic Press pp 239- 317
- Kinoshita M, Pasatiempo AM, Taylor CE, Ross AC 1991 . Immunological memory to tetanus toxoid is established and maintained in the vitamin A depleted rat. Faseb J. 5 (10) : 2473 - 81.
- Kiyono H, Mc Ghee JR, 1994. T helper cells for mucosal immune responses. In Handbook of Mucosal Immunology. Ed. By Ogra PL. Academic Press Inc. 263-274
- Knight KL 1994 . Developmental Aspects of mucosal immunoglobulin Genes : Organisation and Expression of IgA Heavy Chain. Polymeric Immunoglobulin Receptor, and J Chain Genes. In Handbook of Mucosal Immunology. Ed. By Ogra PL. Academic Press Inc. 105 - 109.
- Kraehenbuhl JP, Neutra MR 1992 . Molecular and cellular basis of immune protection of mucosal surfaces. Am Physiol Soc 4 : 1 - 27.
- Kulby J 1992 : Immunology. Freeman and Company New York
- Lebman DA, Coffman RL 1994 . Cytokines in the Mucosal Immune System. In Handbook of mucosal Immunology. Ed. By. Ogra PL. Academic Press : 243 - 248.

- Lie C, Ying C, Wong EL, Brun T, Geissler C 1993 . Impact of large dose vitamin A supplementation on childhood diarrhea, respiratory disease and growth. *Eur. J. Clin. Nutr.* 47 (2) 88 - 96.
- Lefrancois L, 1994. Basic aspects of intraepithelial lymphocyte immunobiology. In *Handbook of Mucosal Immunology*. Ed. By Ogra PL. Academic Press Inc. 287-298
- Lin Q, Liuney E 1993 . The mouse retinoid X receptor gamma gene genomic organization and evidence for functional iso forms. *Mol. Endocrinol* 7 (5) 651 - 8.
- Lubis NU, Sinuhaji AB, Sutanto AH 1991 . Factor influencing the mortality of children with gastroenteritis at the Pediatric ward of Dr.Pirngadi Hospital,Medan. *Paediatr-Indones.* Jan-Feb; 31 (1-2): 1-8
- Manganaro M, Ogra PL, Ernst PB 1994 . Oral immunization : Turning fantasy into reality. *Int. Arch Allergy Immunol* ; 103 : 223 - 233.
- Maria A.G, Pasatiempo, Kinoshita M, Taylor C E, Ross A C 1990 . Antibody praduction in vitamin A. depleted rats is improved after immunization with bacterial polysaccharide or protein antigen. *Faseb. J.* 4 : 2518 - 2527.
- Max, Chow JM, Gri G, Carra G, Gerosa F, Wolf SF, Dzialo R, Trinchieri G 1996 . The interleukin 12 p40 gene promoter is primed by interferon gamma in monocyte cells. *J Exp Med.* 183 (1) : 147 - 57.
- McDonald TT, Spencer J, 1994. Gut associated lymphoid tissue. In *Handbook of Mucosal Immunology*. Ed. By Ogra PL. Academic Press Inc. 415-424
- McIntyre TM, Strober W 1999. Gut – associated lymphoid tissue Antigen handling and T- lymphocyte response in *Mucosal immunology* ed. By Ogra PL, Lamm ME, Bienenstock J, Mestecky J, Strober W, Mc Ghee JR 2<sup>nd</sup> edition San Diego London Boston Academic Press pp 319 - 356
- Mc Ghee JR, Mestecky J, Elson CO, Kiyono H 1989 . Regulation of IgA synthesis and immune response by T cells and interleukins. *J Clin Immunol* 9, 3 : 175-199.
- Mc Ghee JR, Mestecky J 1990 . In defense of mucosal surfaces, development of novel vaccines for IgA responses protective at the portal of entry of microbial pathogens. *Infect. Dis. Clin. Of North Am.* 4 : 315 - 341.

- Mc Ghee DW, Aicher WK, Eldridge J H, Peppard J V, Mestecky J, Mc Ghee JR 1991 . Transforming growth factor  $\beta$  enhances secretory component and major Histocompatibility complex class I antigen expression on rat IEG6 intestinal epithelial cells. *Cytokine* 6. 543 - 50.
- Mc Ghee JR, Strober W, Fujihashi K, Kiyono H. 1993 . T cell and Cytokine regulation of mucosal antibody responses with emphasis on intraepithelial lymphocytes helper function in : *Mucosal immunology : intra epithelial lymphocytes*. Ed. Kiyono H, Mc. Ghee Jr. Reven Press 1 - 20.
- Mc Ghee JR, Strober W, Fujihashi, Kiyono H. 1994 . T cell and Cytokine regulation of mucosal antibody responses with emphasis on intra epithelial lymphocytes helper function. *Mucosal immunology : intra epithelial lymphocytes*. Ed. H Kiyono and JR. Mc. Ghee. Reven Press LTD New York.
- Mestecky J, C Lue and MW Russel 1991 . Selective transport of IgA . Cellular and molecular aspects. *Gastroenterol Clin. North Am.* 20 : 441 - 471.
- Migliorati G, Nicolesti J, Pagliacci MC, D Adomino L, Riccardic 1993 . Interbukin 4 protect double negative and CD4 single positive thymocytes from dexamethasone induced apoptosis. *Blood* 81 (5) 1352 - 8.
- Miquel C, Clusil C, Sumat A, Gerst C, Darmondy 1992 . Retinoid acid receptor isoform RAR gamma a an antagonist of the transactination of the RAR beta rare in epithelial cell lines and normal human keratinocyte. *Mol. Biol Rep* 17 (1) 35 - 45.
- Neutra MR, and Krachenbuhl JP. 1992 . Transepithelial transport and mucosal defence I : the role of M. cells. *Trends in cells biology* 2. 134 - 138.
- Olson J A 1991 . Vitamin A. in *handbook of vitamins*. Second edition, revised and expanded. Ed. by Machlin L J Marcel Dekker inc.
- Pasatiempo AM, Abaza M, Taylor CE, Ross AC, 1992 . Effect of timing and dose of vitamin A on tissue retinonol concentrations and antibody production in the previously vitamin A depleted rats. *Am-J.Clin-Nutr.* 55 (2) : 44351.
- Peakman M, Vergani D 1997 . *Basic and clinical immunology* 1<sup>st</sup> edition New York Edinburg London pp 67 -80.

- Pohl J, Laface D, Sands JF. 1993 . Transcription of retinoic acid receptor genes in transgenic mice increase CD8 T cells sub set. *Proc-Natl-Acad-Sci-USA*. 90 (13) 6170-4.
- Poupon V, Bensussan NC, 1999. Adhesion molecules on mucosal lymphocytes. In *Mucosal immunology* ed. By Ogra PL, Lamm ME, Bienenstock J, Mestecky J, Strober W, Mc Ghee JR 2<sup>nd</sup> edition San Diego London Boston Academic Press pp 523-540
- Pudjirahardjo WJ, Poernomo H, Machfud MH, 1993 . *Metode penelitian dan statistik terapan*, Surabaya, Airlangga University press, 1993
- Putra ST, Hartanto RYE, Sudiana IK 1985 . *Tehnik laboratorium I*. Brata Jaya Offset.
- Putra ST, 1999 . Development of psychoneuroimmunological concept. *Folia Medica Indonesiana* no 1.
- Rahmathullah L, Underwood B.A, Thulasiraj R.D, Milton R.G, Ramaswamy K, Rahmathullah R, Babu G 1990 . Reduced mortality among children in Southern India Receiving small weekly dose of vitamin A. *N Engl. J. Med*. 14, 929 - 935.
- Randolph GJ, Beaulieu S, Lebecque S, Steiman RM, Muller WA 1998 . Differentiation of monocytes into Dendritic cells in a model of transendothelial trafficking. *Science* Oct.16. 283 : 480-483.
- Reife RA, Shapiro RA, Bamber BA, Berry KK, Mick GE, Darveau RP 1995 : Phorphiromonas ginggivalis lipolysacharide is poorly recognized by moleculer components of innate host defense in a mouse model of early inflamation. *Infect Immun* 63 (12), 4686 - 94.
- Rissoan MC, Soumelis V, Kadowaki N, Grouard G, Briere F, Malefyt RW, Liu YJ 1999 . Reciprocal control of T Helper cell and Dendritic cell defferentiation. *Science* Feb.19. 283 : 1182-1186.
- Romagnani S, 1994. Th1 and Th2 subsets of CD4+ lymphocytes. *Sci Am*. May/June 68-77
- Romagnani S, 1997. The Th1/Th2 paradigm. *Immunology Today* 18 : 263-266
- Ross A C. 1992 .:Vitamin A status relationship to immunity and the antibody response *PSEBM*. 300 : 303 - 320.

- Ross A C, Hammerling U G 1994 . Retinoids and the immune system. In *The Retinoids Biology, Chemistry, and Medicine* Ed by Sporn MB, Roberts AB, Goodman DS. 2 nd ed. Raven Press 521-543
- Semba R D, Muhilal, Ward B J, Griffin D E, Scott A L, Natadisastra G, West K P, Sommer A. 1993 . Abnormal T - cell subset Proportion in vitamin A deficient children. *Lancet* Jan. 2 ; 341 : 5 - 8.
- Shen S, Van der Saag PT, Knijer W. 1993 . Dominant negative retinoid acid receptor beta mech - *Dev* 40 (3) 177 - 89.
- Shi S R, Prince J B, Jone CM, Kalra KL, Tandon AK 1995 . Use of monoclonal antibodies in Immunohistochemistry. In *Monoclonal Antibody Protocols* ed. By William Davis in *Methods in Molecular Biology* Vol. 45 Humana press 1995, 89 - 108.
- Sigal LH, Ron J . *Immunology and inflamtion. Basic Mechanisms and Clinical Consequences.* Mc Graw-Hill, Inc New York 1994.
- Sirisinha S, Darip M D, Moongkardi P, Ongsakul M, Lamb A J. 1980 .:Impaired local immune response in vitamin A - defisient rats. *Clin. Exp. Immunol.* 40 : 127 - 135.
- SKRT 1992 . Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Dep. Kes. RI.
- SKRT 1986 . *Buku Pegangan Pemberantasan Penyakit Diare dan Repelita V.* Ditjen PPM dan PLP Depkes. RI. 1990.
- Sneyder D, Merson M. H. 1982 . The magnitute of the global problem of acute diarrhea disease. A review of active surveilance. *Bull. WHO* 60, 605 - 613.
- Soesatyo M, Biewenga J, Kraal G, Sminia T 1990 . The localization of macrophages and dendritic cells in the gastrointestinal tract of the mouse with special reference to the presence of high endothelial venules : an immuno and enzyme histochemical study. *Cell Tissue Res* 259 : 587-593.
- Soesatyo M, Biewenga J, Jeurissen S, Sminia T 1990 . The effects of Peyer's patches inactivation in the rat on the the development of antibody forming cells to intestinal antigen. *Immunobiology* 181 : 97-107.
- Soesatyo M, 1992 . The in vivo antibody response in the rat gut-associated lymphoid tissue (GALT) after immunization with bacterial polysaccharide antigen. *Disertation in Free University Amsterdam Netherland.*



- Soesatyo M, Van den Berg TK, Van Rees EP, Biewenga J, Sminia T 1992. Ontogeny of reticulum cells in the rat intestine and their possible role in the development of the lymphoid microenvironment. *Regional immunology* 4 : 46-52.
- Sommer A, Tarwotjo I, Katz J. 1987 . Increased Risk of Xerophthalmia Following diarrhoea and Respiratory Disease. *Am. J. Clin Nutr.* 45 ; 977 - 980.
- Sommer A, Husaini G, Tarwotjo I, Susanto D. 1983 . Increased mortality in children with mild vitamin A deficiency. *Lancet.* 11 ; 585 - 588.
- Sommer A, Djunaidi E, Loedin A. A, Tarwotjo I, West K. P, Tilden R, Melel, The Ach. Study Group 1986 . Impact of vitamin A supplementation on childhood Mortality : A Randomized controlled Community Trial. *Lancet* 1 ; 1169 - 1173.
- Stephensen CB, Blount SR, Schoeb TR, Park JY, 1993. Vitamin A deficiency impairs some aspects of the host immune response to influenza A virus infection in BALB/c mice. *J Nutr.* 123(5) : 823-33
- Stites DP, Terr AI, 1991. Basic human immunology. Lange medical book pp. 34-44
- Stites DP, Terr AI, Parslow TG, 1997. Medical immunology. Apleton& Lange pp 63-73
- Stumbles PA, McWilliam AS, Holt PG, 1999. Dendritic cells and mucosal macrophages in Mucosal immunology ed. By Ogra PL, Lamm ME, Bienenstock J, Mestecky J, Strober W, Mc Ghee JR 2<sup>nd</sup> edition San Diego London Boston Academic Press pp 397-412
- Sugahara K, Iyama K, Sano K, Kuroki Y, Akino T, Matsumoto M 1996 . Overexpression of surfactan protein SP-A, SP-B, and SP-C mRNA in rat lungs with lipopolysaccharide-induced injury. *Lab-invest.* 74 (1) 209 - 220.
- Taguchi T, Mc Ghee JR, Coffman RL, Beagley KW, Eldridge JH, Takatsu K, Kiyono H, 1990. Th1 and Th2 cells in mucosal associated tissues. In advances. in mucosal immunology. Edited by MacDonald TT. Kluwer Academic Publisher 120-123
- Tanumihardjo S A, Permaesih D, Dahro A M, Rustan E, Muhilal, Karjadi D. Olson JA. 1994 . Comparison of vitamin A status assessment techniques in children from two Indonesian villages. *Am-J-Clin-Nutr* ; Jul, 60 (1) 136 - 41.

- Teixeira M da G, Costa M da C, de Carvalho VL, Pereira M dos S, Hage E 1993 . Gastroenteritis epidemic in the area of the Itaparica Dam, Bahia, Brazil. *Bull Pan Am Health Organ.* 27(3) : 244-53
- Tielsch J M, West K P, Katz J, Chirambo M C, Schnabl, Johnson G J, Tizazu T, Swartwood J, Sommer A. 1986 . Prevalence and severity of xerophthalmia in Southern Malawi. *Am. J. Epid.* 124, 561 - 568.
- Tizard I R 1995 . *Immunology an introduction.* 4<sup>th</sup> ed. Saunders College Publishing Philadelphia.
- Tokuyama Y, Tokuyama H, 1996. Retinoids as Ig Isotype-Switch Modulators. The role of retinoids in directing isotype switching to IgA and IgG1 (IgE) in association with IL-4 and IL-5. *Cellular Immunology* 170. 230-234.
- Tomasi BT, 1994. Introduction : An overview of the mucosal immune system. In *Handbook of Mucosal Immunology.* Ed. By Ogra PL. Academic Press Inc.3-8
- Tsukida 1993 . Retinoids. *Nippon-Rinsho.* 51 (4) : 886 - 92.
- Uchiba M, Okayima K, Murakami K, Okabe H, Takatsuki K 1995 . Endotoxin induced pulmonary vascular injury is mainly mediated by activated neutrophils in rats. *Thromb. Res* 78 (2) : 117 - 25.
- West CE, Rombout JHWM, Zijpp AJVD, Sijtma SR. 1991 . Vitamin A and immune function. *Proceedings of the Nur. Snoc.* 50 : 251 - 262.
- Wideman N, Hanson LA, Holmgren J, Kahn H, Dahlgren UI. 1993 . Impaired mucosal antibody response to cholera toxin in vitamin A deficient rats immunized with oral cholera vaccine. *Infect. Immune* 61 (9) : 3952 - 7.
- Wu J, Song Y, Bakker ABH, Bauer S, Spies T, Lanier LL, Phillips Jh, 1999. An activating immunoreceptor complex formed by NKG2D and DAP10. *Science* 285 : 730-731
- Yamamoto M. 1991 . Retinoid in the host defense system. *World. Rev. Nutr diet* Basel Karger. 64 : 38 - 84.
- Zainudin M, 1999. *Pedoman Metode Penelitian.* Hand out.
- Zhao Z, Murasko DM, Ross AC. 1994 . The role of vitamin A in natural killer cell cytotoxicity, number and activation the rat, *Nat immun* 13 (1) 29 - 41.



- Zhao Z, Ross AC, 1995. Retinoid repletion restores the number of leucocytes and their subsets and stimulates natural cytotoxicity in vitamin A deficient rats. *J Nutr* 125 (8) : 2064-73
- Zheng ZM, Specter SC, Lancz G. 1995 . Bovine serum albumin preparations enhance in vitro production of tumor necrosis factor alpha by murine macrophages. *Immunol. Invest.* 24 (5) 737 - 56.
- Zingarelli B, Chen H, Caputi AP, Halushka PV, Cook JA 1995 . Reorientation of macrophage mediator production in endotoxin tolerance. *Prog. Clin. Boil. Res.* 392 : 529 - 37.

## Lampiran 1

**PROSEDUR PEMERIKSAAN VITAMIN A  
DENGAN HPLC BIORAD**

**Equipment** : Satu unit HPLC produk BIORAD (USA)  
**Program** : ValueChrom Chromatography Software  
**Spesifikasi** : Eluant A : Acetonitril - Water  
Eluant B : Ethylacetate - 2 Propanol  
Flow rate : 1.5 ml/min  
Colum : Superspher 100 RP 18 e  
Detector A : UV 1801 WL 310 nm

**Prosedur ekstraksi vitamin A :**

Dalam tabung Ependorf 2ml : 0.2 ml serum  
0.2 ml ethanol absolut  
Di Vortex selama 3 menit  
Ditambah 0.6 ml N Hexan  
Di Vortex selama 3 menit  
Di Centrifuged 6000 rpm selama 3 menit  
Akan terjadi 3 lapisan : supernatant N Hexan yang mengandung Vitamin A, Lapisan ethanol, Lapisan denaturated protein serum  
Diambil 0.5 ml supernatant dimasukkan kedalam tabung Ependorf, dilakukan vakum selama 30 menit, cairan supernatant sudah menguap sempurna, tertinggal vitamin A.

**Prosedur pemeriksaan HPLC :**

Hasil ekstraksi dalam tabung Ependorf ditambahkan  
50  $\mu$ l larutan vitamin A standard dalam ethanol absolut dengan konsentrasi 10  $\mu$ g/ml.  
Pemberian 50  $\mu$ l larutan vitamin A standard (konsentrasi 10  $\mu$ g/ml) pada sampel dimaksudkan untuk dapat mendeteksi vitamin A dalam serum sampel yang kadarnya < 1  $\mu$ g/ml, dimana kadar tersebut diluar kemampuan deteksi HPLC.  
Sebanyak 20  $\mu$ l diinjeksikan ke HPLC.

**Cara perhitungan kadar vitamin A :**

$500/1000 \times 200/600 \times A = B$  ( A = kadar vitamin A dalam serum, B = pembacaan HPLC)

Satuan B adalah dalam konsentrasi 50 µl (jumlah larutan yang dibuat untuk HPLC)

**Pembacaan HPLC dalam satuan µg/ml, berarti dalam perhitungan perlu dikalikan 20 = 20B**

$20 B = \text{HPLC (kf)} - 10$ . (10 adalah tambahan vitamin A standard)

$B = (\text{HPLC(kf)} - 10)/20$

$500/1000 \times 200/600 \times A = (\text{HPLC(kf)} - 10)/20$

$1/2 \times 2/6 \times A = (\text{HPLC(kf)} - 10)/20$

$1/6 A = (\text{HPLC(kf)} - 10)/20$

**Contoh perhitungan kadar vitamin A**

Pembacaan HPLC = 11,5

$500/1000 \times 200/600 \times A = (\text{HPLC(Kf)} - 10)/20$

Koreksi faktor 0.95 ( Kadar 10 µg dibaca HPLC 10.25 µg, diulang 1 x. pembacaan HPLC 10.75 .....> rata rata 10.5

Koreksi faktor :  $10/10.5 = 0.95$

$1/2 \times 1/3 \times A = (11,5 \times 0.95) - 10)/20$

$1/6 A = (10.925 - 10)/20$

$1/6 A = 0,925/20$

$A = 0,04625 \times 6 = 0.2775$

Kadar vitamin A = 0.2775 µg/ml

**Kadar vitamin A serum dalam satuan dl = 27,75 µg/dl**

## Lampiran 2

**Pengecatan imunohistokimia  
Sampel jaringan segar**

Fiksasi : sayatan jaringan yang telah diletakan pada obyek glas direndam dalam cairan acetone selama 10 menit, kemudian dikeringkan diudara. Sediaan dapat disimpan disuhu ruangan untuk beberapa minggu.

**Proses pengecatan**

- Langkah 1** : object glass dipagari dengan Dako Pen  
**Langkah 2** : tetesi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3% selama 3 menit  
 Rendam dalam PBS (PH 7.2-7.4 selama 5 menit 3X  
**Langkah 3** : Tetesi antibodi primer, inkubasi selama 30 menit, dicuci Dengan PBS selama 3 menit, diulang 3X kemudian Sekitar dihapus dengan tissue.(larutan antibodi berikutnya telah dipersiapkan sebelumnya)  
**Langkah 4** : Tetesi biotynilated antibody label (antibodi sekunder, link antibody), inkubasi 15 menit, kemudian dicuci dengan PBS 3 menit, diulang 3X.  
 Persiapkan larutan (substrat ) Chromogen untuk langkah Keenam 2 ml (40 tetes) substrat ditambah 1 tetes larutan Chromogen  
**Langkah 5** : tetesi streptavidin, diinkubasikan 15 menit, cuci dengan PBS 3 menit, diulang 3X  
**Langkah 6** : tetesi larutan Chromogen, inkubasi 15 menit, cuci dengan PBS 3 menit, diulang 3X  
**Langkah 7** : rendam dalam HE Meyer 1-2 menit, cuci dengan air kran, dicelupkan selama 10X dalam amonia water(air kran), rendam dalam aqua (diionized water) 1-2 menit.  
**Langkah 8** : tetesi glycerogel (mounting media), entelan, tutup dengan cover glass

**Cara membuat larutan Chromogen**

10 ml aqua + 1 tablet DAB + 10 tetes Tris buffer  
 Diambil 2 ml larutan tersebut + 1 tetes H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>  
 Tersedia juga laruta chromogen yang sudah jadi produk Dako  
 20 tetes substrat + 1 tetes Chromogen.

Lampiran 3

and awal akhir by kel(1.3) group(1.4)/tot 3 4/stat all.

||| CELL MEANS |||

AWAL  
BY KEL  
GROUP

TOTAL POPULATION

75.94  
( 72)

KEL

|  | 1     | 2     | 3     |
|--|-------|-------|-------|
|  | 65.17 | 67.33 | 75.33 |
|  | ( 24) | ( 24) | ( 24) |

GROUP

|  | 1     | 2     | 3     | 4     |
|--|-------|-------|-------|-------|
|  | 69.94 | 80.61 | 71.39 | 81.83 |
|  | ( 18) | ( 18) | ( 18) | ( 18) |

||| CELL MEANS |||

AKHIR  
BY KEL  
GROUP

TOTAL POPULATION

247.38  
( 72)

KEL

|  | 1      | 2      | 3      |
|--|--------|--------|--------|
|  | 248.17 | 237.88 | 256.08 |
|  | ( 24)  | ( 24)  | ( 24)  |

GROUP

|  | 1      | 2      | 3      | 4      |
|--|--------|--------|--------|--------|
|  | 253.78 | 247.11 | 242.61 | 246.00 |
|  | ( 18)  | ( 18)  | ( 18)  | ( 18)  |

\*\*\* ANALYSIS OF VARIANCE \*\*\*

ANAL  
BY KEL  
GROUP

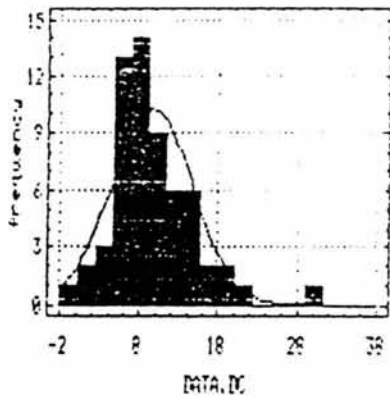
| Source of Variation | Sum of Squares | DF | Mean Square | F     | Signif of F |
|---------------------|----------------|----|-------------|-------|-------------|
| Main Effects        | 5867.556       | 5  | 1173.511    | 1.210 | .314        |
| KEL                 | 3829.778       | 2  | 1914.889    | 1.974 | .147        |
| GROUP               | 2037.778       | 3  | 679.259     | .700  | .555        |
| Explained           | 5867.556       | 5  | 1173.511    | 1.210 | .314        |
| Residual            | 64018.222      | 66 | 969.973     |       |             |
| Total               | 69885.778      | 71 | 984.307     |       |             |

\*\*\* MULTIPLE CLASSIFICATION ANALYSIS \*\*\*

| Variable + Category | N      | Unadjusted Dev'n Eta | Adjusted for Independents Dev'n Beta | Adjusted for Independents + Covariates Dev'n Beta |
|---------------------|--------|----------------------|--------------------------------------|---|
| Grand Mean =        | 75.944 |                      |                                      |   |
| <b>KEL</b>          |        |                      |                                      |   |
| 1 A                 | 24     | 9.22                 | 9.22                                 |   |
| 2 B                 | 24     | -8.61                | -8.61                                |   |
| 3 C                 | 24     | -.61                 | -.61                                 |   |
|                     |        | .23                  |                                      | .23   |
| <b>GROUP</b>        |        |                      |                                      |   |
| 1 --1               | 18     | -6.00                | -6.00                                |   |
| 2 --2               | 18     | 4.67                 | 4.67                                 |   |
| 3 --3               | 18     | -4.56                | -4.56                                |   |
| 4 --4               | 18     | 5.89                 | 5.89                                 |   |
|                     |        | .17                  |                                      | .17   |
| Multiple R Squared  |        |                      | .084                                 |   |
| Multiple R          |        |                      | .290                                 |   |

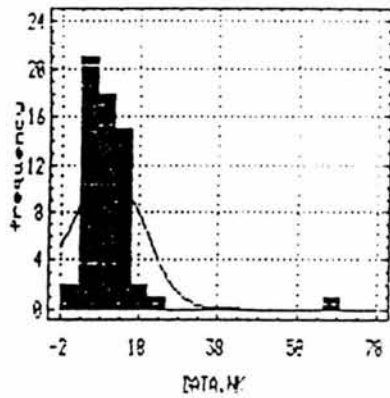
Lampiran 4

Frequency Histogram



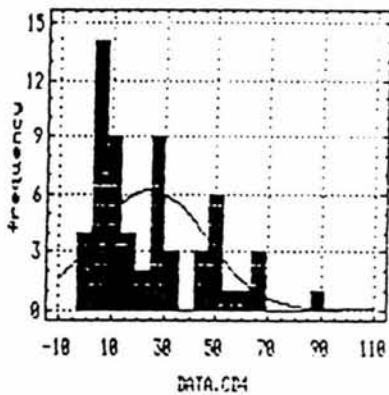
Estimated KOLMOGOROV statistic DPLUS = 0.164215  
 Estimated KOLMOGOROV statistic DMINUS = 0.0934571  
 Estimated overall statistic DN = 0.164215  
 Approximate significance level = 0.0786368

Frequency Histogram



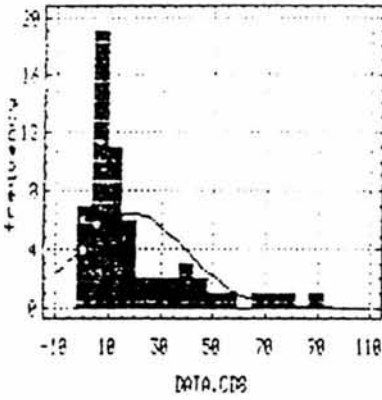
Estimated KOLMOGOROV statistic DPLUS = 0.224888  
 Estimated KOLMOGOROV statistic DMINUS = 0.19062  
 Estimated overall statistic DN = 0.224888  
 Approximate significance level = 4.62731E-3

Frequency Histogram



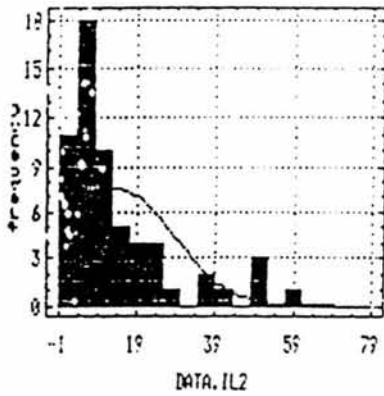
Estimated KOLMOGOROV statistic DPLUS = 0.158698  
 Estimated KOLMOGOROV statistic DMINUS = 0.14248  
 Estimated overall statistic DN = 0.158698  
 Approximate significance level = 0.0973764

Frequency Histogram



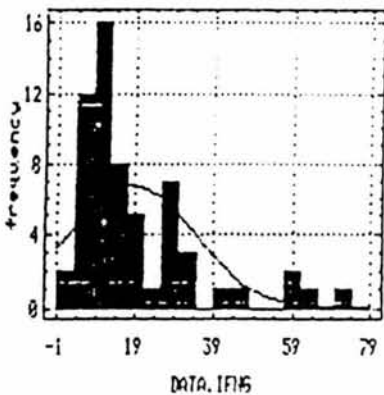
Estimated KOLMOGOROV statistic DPLUS = 0.236639  
 Estimated KOLMOGOROV statistic DMINUS = 0.214714  
 Estimated overall statistic DN = 0.236639  
 Approximate significance level = 2.41366E-3

Frequency Histogram



Estimated KOLMOGOROV statistic DPLUS = 0.20367  
 Estimated KOLMOGOROV statistic DMINUS = 0.204369  
 Estimated overall statistic DN = 0.204369  
 Approximate significance level = 0.0133153

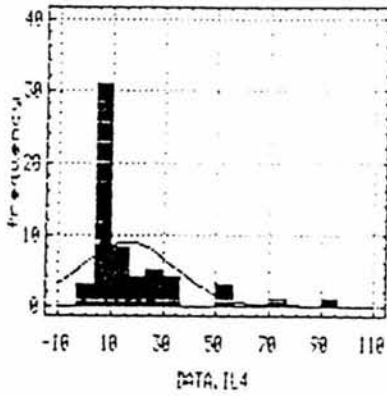
Frequency Histogram



Estimated KOLMOGOROV statistic DPLUS = 0.210719  
 Estimated KOLMOGOROV statistic DMINUS = 0.168769  
 Estimated overall statistic DN = 0.210719  
 Approximate significance level = 9.70454E-3

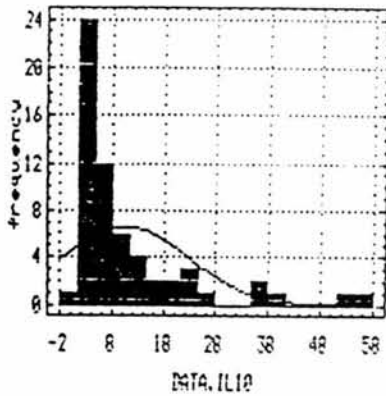


Frequency Histogram



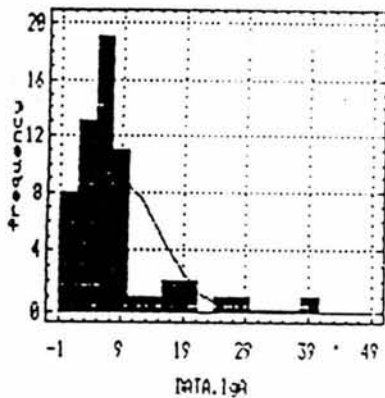
Estimated KOLMOGOROV statistic DPLUS = 0.237164  
 Estimated KOLMOGOROV statistic DMINUS = 0.193968  
 Estimated overall statistic DN = 0.237164  
 Approximate significance level = 2.34266E-3

Frequency Histogram



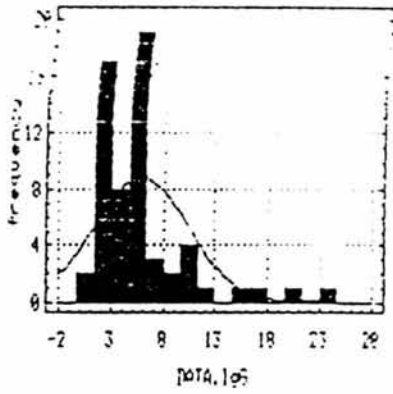
Estimated KOLMOGOROV statistic DPLUS = 0.234666  
 Estimated KOLMOGOROV statistic DMINUS = 0.219123  
 Estimated overall statistic DN = 0.234666  
 Approximate significance level = 2.69864E-3

Frequency Histogram



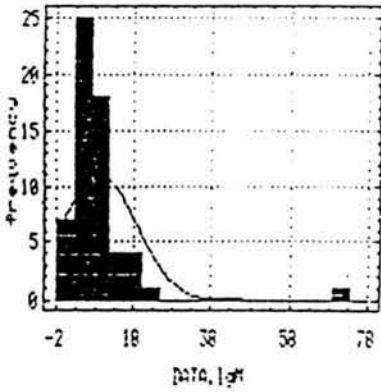
Estimated KOLMOGOROV statistic DPLUS = 0.215419  
 Estimated KOLMOGOROV statistic DMINUS = 0.182534  
 Estimated overall statistic DN = 0.215419  
 Approximate significance level = 7.63122E-3

Frequency Histogram



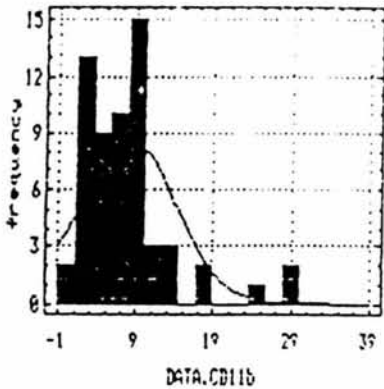
Estimated KOLMOGOROV statistic DPLUS = 0.253351  
 Estimated KOLMOGOROV statistic DHINUS = 0.16248  
 Estimated overall statistic DN = 0.253351  
 Approximate significance level = 9.03481E-4

Frequency Histogram



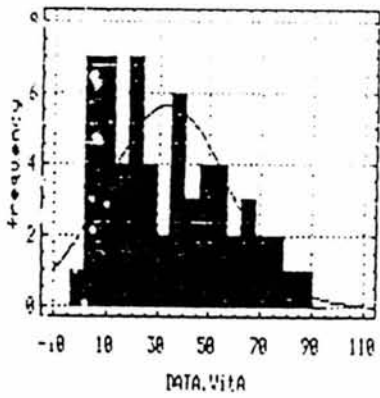
Estimated KOLMOGOROV statistic DPLUS = 0.262593  
 Estimated KOLMOGOROV statistic DHINUS = 0.241749  
 Estimated overall statistic DN = 0.262593  
 Approximate significance level = 5.09807E-4

Frequency Histogram



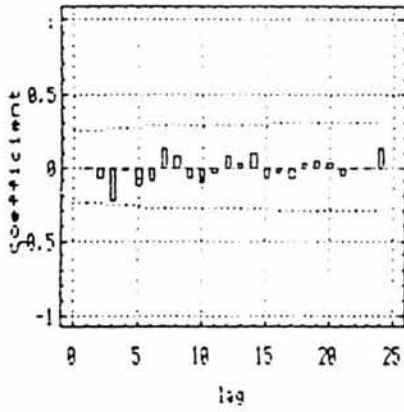
Estimated KOLMOGOROV statistic DPLUS = 0.179863  
 Estimated KOLMOGOROV statistic DHINUS = 0.134619  
 Estimated overall statistic DN = 0.179863  
 Approximate significance level = 0.0412144

Frequency Histogram

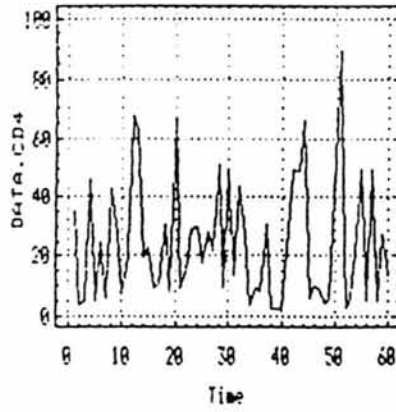


Estimated KOLMOGOROV statistic DPLUS = 0.100143  
 Estimated KOLMOGOROV statistic DMINUS = 0.0833939  
 Estimated overall statistic DN = 0.100143  
 Approximate significance level = 0.584123

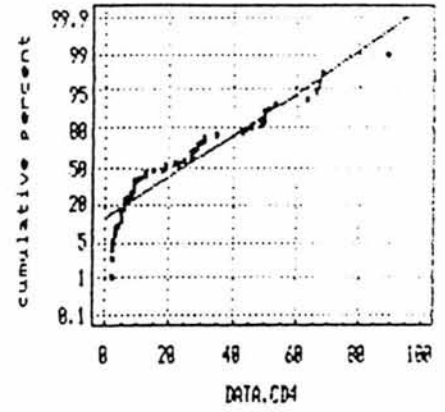
Estimated Autocorrelations



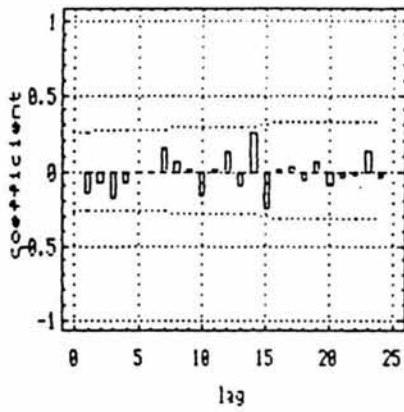
Time Sequence Plot



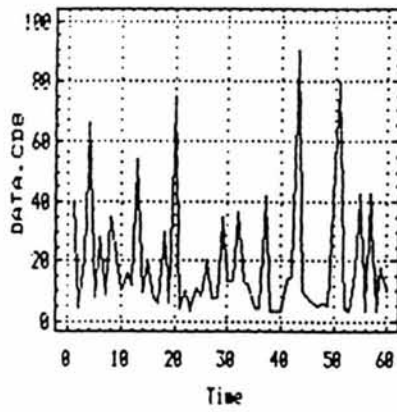
Normal Probability Plot



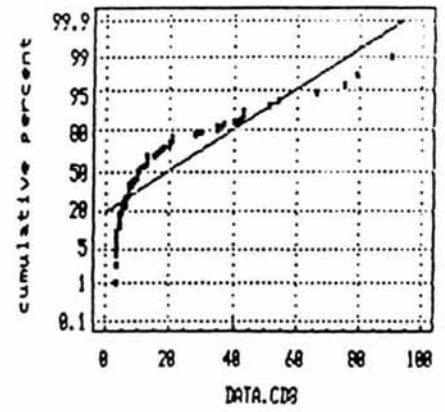
Estimated Autocorrelations



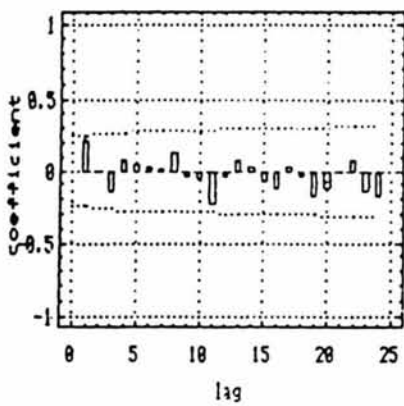
Time Sequence Plot



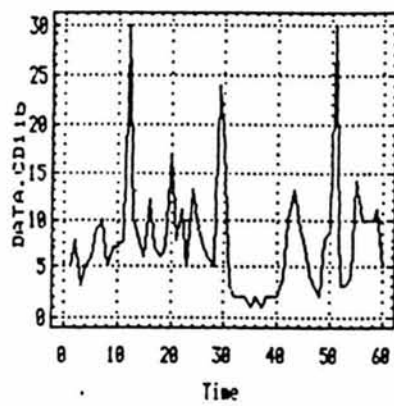
Normal Probability Plot



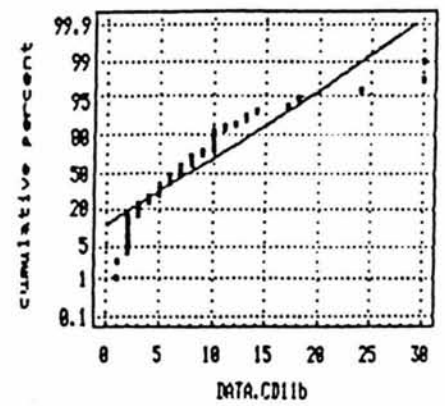
Estimated Autocorrelations



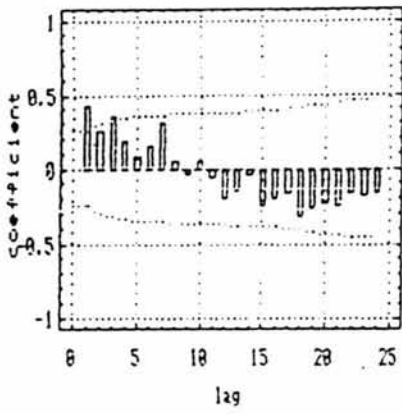
Time Sequence Plot



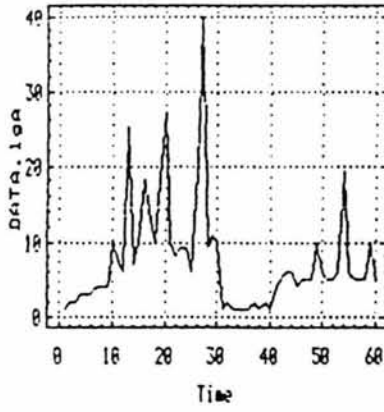
Normal Probability Plot



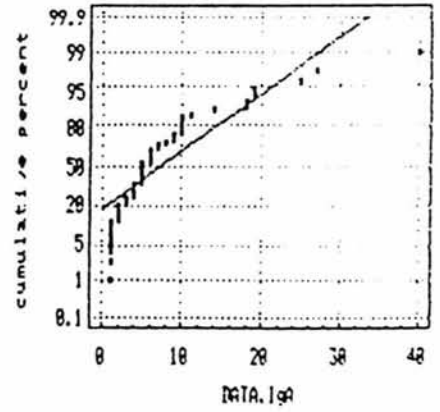
Estimated Autocorrelations



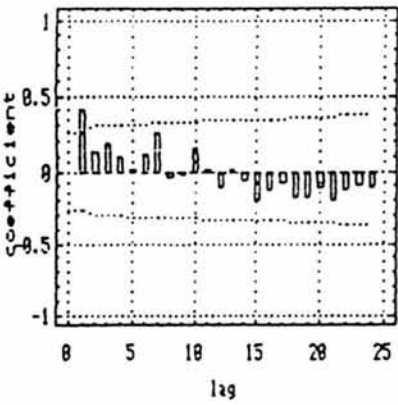
Time Sequence Plot



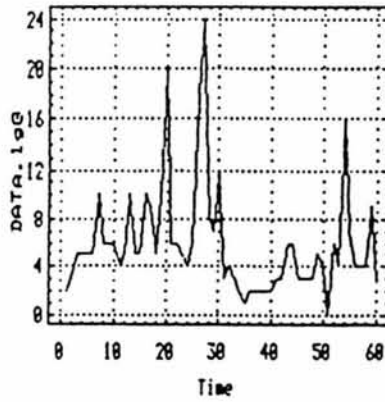
Normal Probability Plot



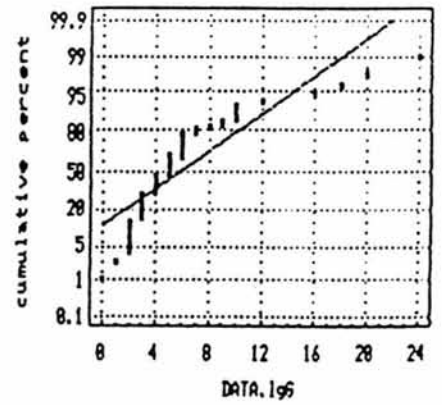
Estimated Autocorrelations



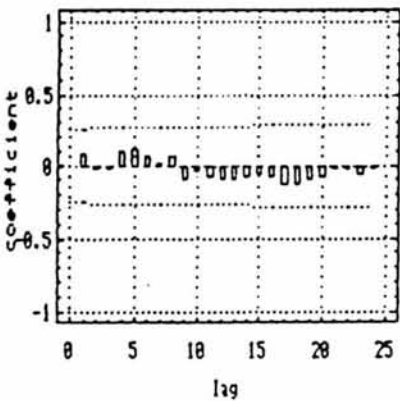
Time Sequence Plot



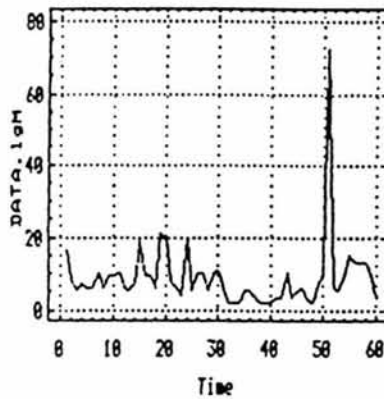
Normal Probability Plot



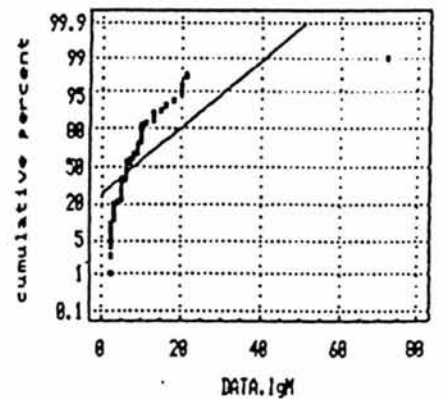
Estimated Autocorrelations



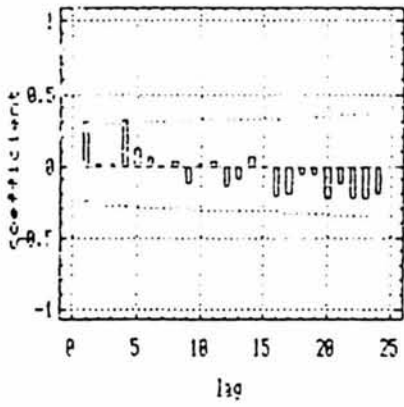
Time Sequence Plot



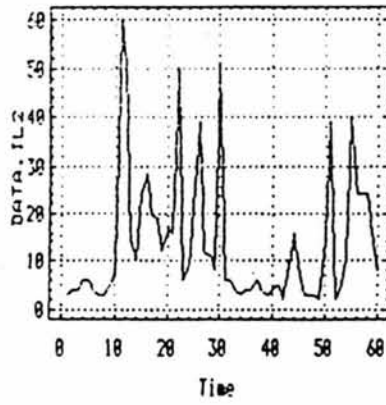
Normal Probability Plot



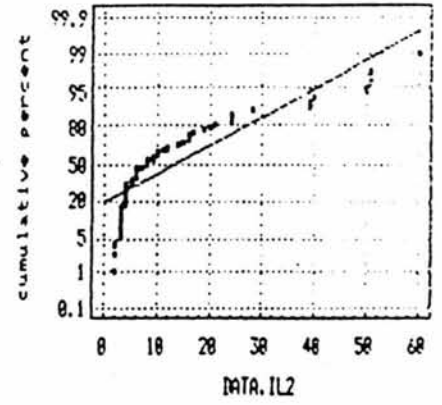
Estimated Autocorrelations



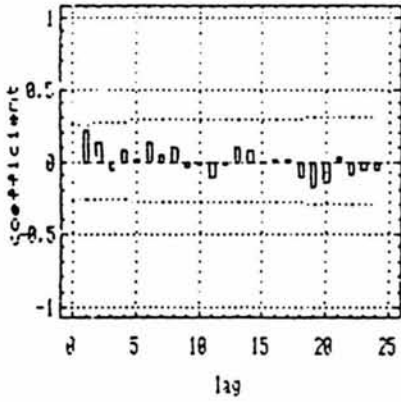
Time Sequence Plot



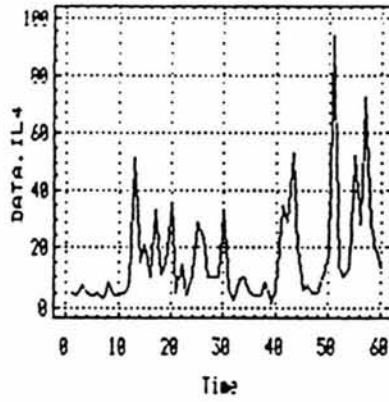
Normal Probability Plot



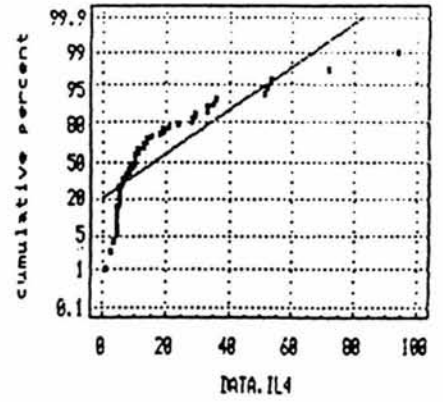
Estimated Autocorrelations



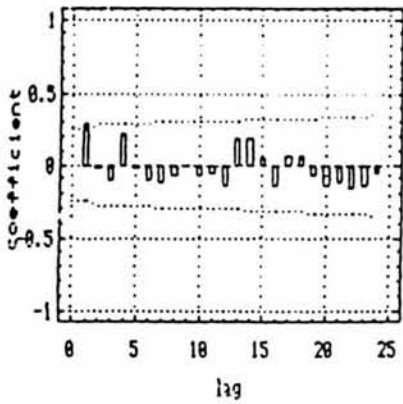
Time Sequence Plot



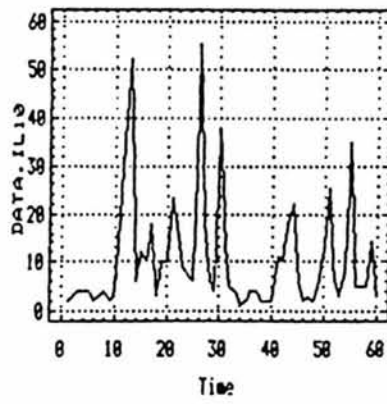
Normal Probability Plot



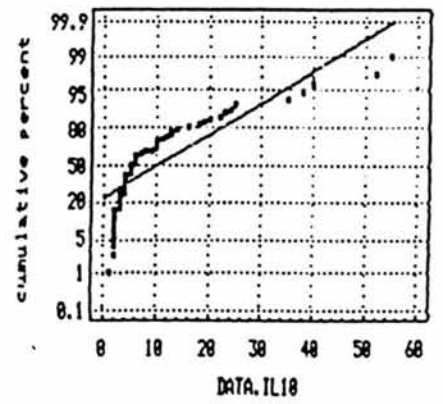
Estimated Autocorrelations



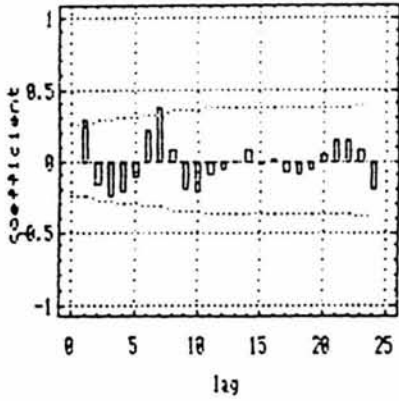
Time Sequence Plot



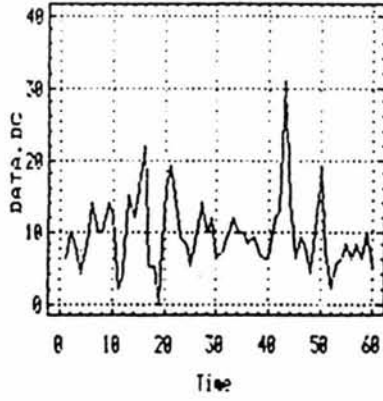
Normal Probability Plot



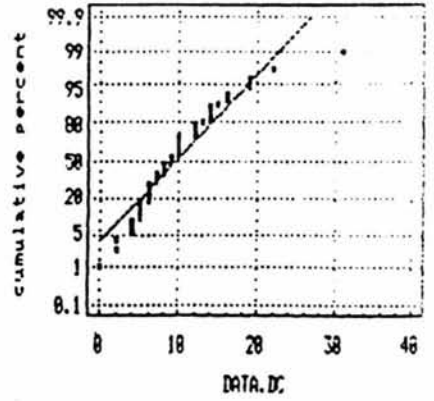
Estimated Autocorrelations



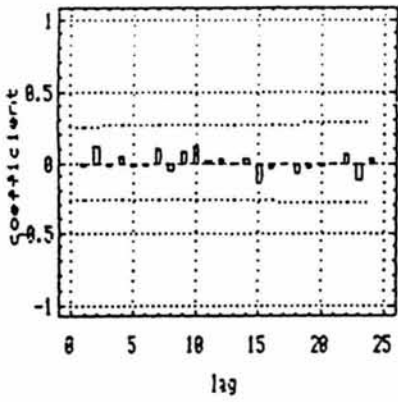
Time Sequence Plot



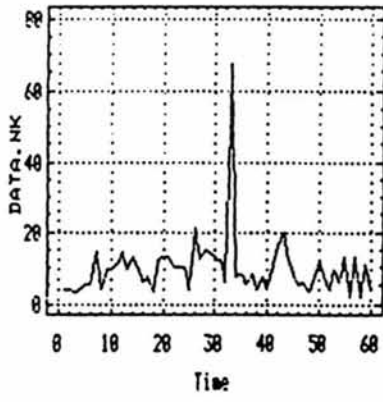
Normal Probability Plot



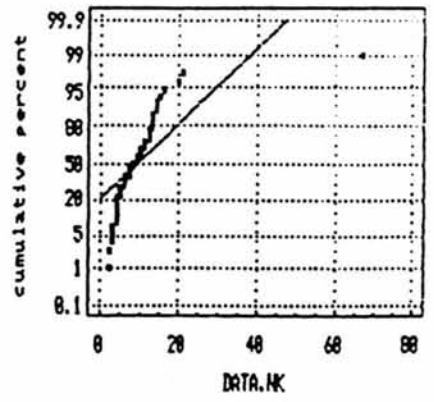
Estimated Autocorrelations



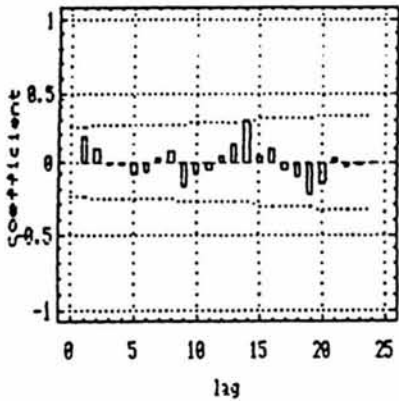
Time Sequence Plot



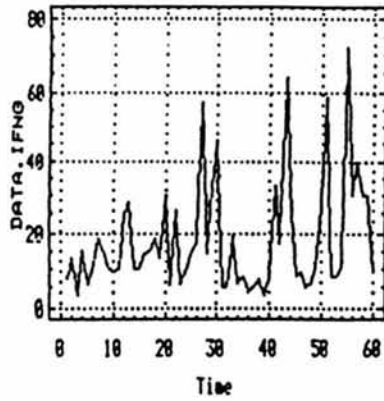
Normal Probability Plot



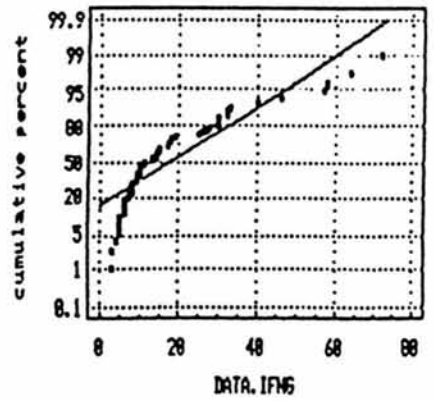
Estimated Autocorrelations



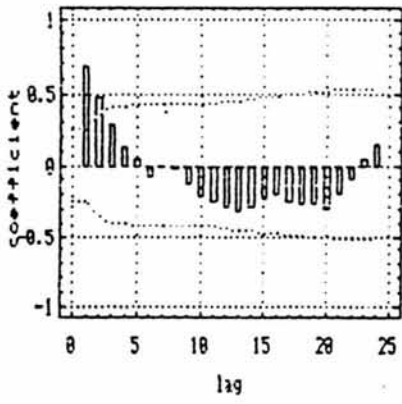
Time Sequence Plot



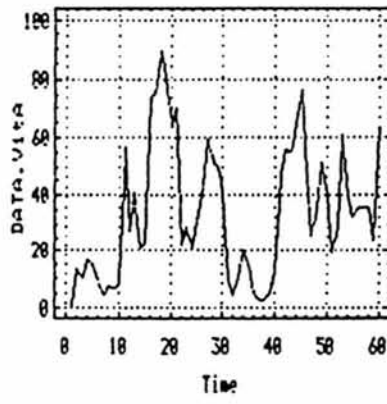
Normal Probability Plot



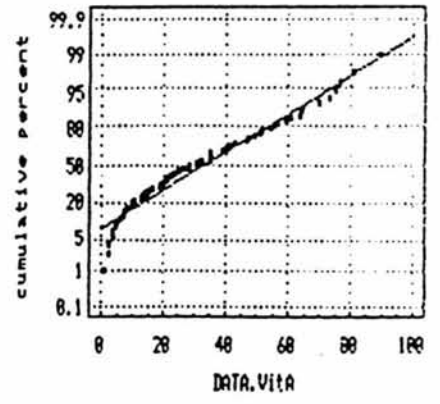
Estimated Autocorrelations



Time Sequence Plot



Normal Probability Plot





pro if (posisi=1).  
one vita by kel(1,3)/range tukey /stat all.

----- ONEWAY -----

Variable VITA  
By Variable KEL

Analysis of Variance

| Source         | D.F. | Sum of Squares | Mean Squares | F Ratio | F Prob. |
|----------------|------|----------------|--------------|---------|---------|
| Between Groups | 2    | 11266.9488     | 5633.4744    | 17.8530 | .0000 ✓ |
| Within Groups  | 27   | 8519.7988      | 315.5481     |         |         |
| Total          | 29   | 19786.7476     |              |         |         |

| Group   | Count | Mean    | Standard Deviation | Standard Error | Minimum | Maximum  | 95 Pct Conf Int for Mean |
|---|-------|---------|--------------------|----------------|---------|----------|--------------------------|
| DEF   | 10    | 8.9200  | 5.0245             | 1.5889         | .8600   | 16.8500  | 5.3257 To 12.5143        |
| KGNT  | 10    | 55.0780 | 25.6487            | 8.1108         | 20.9000 | 89.6700  | 36.7300 To 73.4260       |
| VIT_A   | 10    | 41.5970 | 16.2340            | 5.1337         | 20.9800 | 69.9900  | 29.9839 To 55.2101       |
| Total   | 30    | 35.1983 | 26.1209            | 4.7690         | .3600   | 89.6700  | 25.4446 To 44.9520       |
| Fixed Effects Model   |       |         | 17.7637            | 3.2432         |         |          | 28.5405 To 41.8528       |
| Random Effects Model  |       |         |                    | 13.7034        |         |          | -23.7632 To 94.1598      |
| Random Effects Model - Estimate of Between Component Variance |       |         |                    |                |         | 531.7926 |                          |

Tests for Homogeneity of Variances

Cochrans C = Max. Variance/Sum(Variances) = .6949, P = .009 (Approx.)  
 Bartlett-Box F = 8.530, P = .000  
 Maximum Variance / Minimum Variance 26.058

Multiple Range Test

Tukey-HSD Procedure  
 Ranges for the .050 level -

3.50 3.50

The ranges above are table ranges.  
 The value actually compared with Mean(J)-Mean(I) is..  
 12.5608 \* Range \* Sqrt(1/N(I) + 1/N(J))

(\*) Denotes pairs of groups significantly different at the .050 level

| Mean    | Group | 1 | 3 | 2 |
|---------|-------|---|---|---|
| 8.9200  | Grp 1 |   |   |   |
| 41.5970 | Grp 3 | * |   |   |
| 55.0780 | Grp 2 | * | * |   |

Homogeneous Subsets (Subsets of groups, whose highest and lowest means do not differ by more than the shortest significant range for a subset of that size)

pro if (posisi=2).  
 one vita by kel(1,3)/range tukey /stat all.

----- ONEWAY -----

Variable VITA  
 By Variable KEL

Analysis of Variance

| Source         | D.F. | Sun of Squares | Mean Squares | F Ratio | F Prob. |
|----------------|------|----------------|--------------|---------|---------|
| Between Groups | 2    | 8965.8265      | 4482.9133    | 29.8162 | .0000 ✓ |
| Within Groups  | 27   | 4059.4951      | 150.3517     |         |         |
| Total          | 29   | 13025.3216     |              |         |         |

| Group   | Count | Mean    | Standard Deviation | Standard Error | Minimum  | Maximum | 95 Pct Conf Int for Mean |
|---|-------|---------|--------------------|----------------|----------|---------|--------------------------|
| DEF   | 10    | 8.5300  | 5.8985             | 1.8653         | 2.0300   | 19.8900 | 4.3105 To 12.7495        |
| KDNT  | 10    | 49.7930 | 14.5440            | 4.5992         | 25.4900  | 76.5400 | 39.3888 To 60.1972       |
| VIT_A   | 10    | 37.4015 | 14.3085            | 4.5248         | 19.2000  | 63.0650 | 27.1658 To 47.6372       |
| Total   | 30    | 31.9092 | 21.1931            | 3.8693         | 2.0300   | 76.5400 | 23.9945 To 39.8218       |
| Fixed Effects Model   |       |         | 12.2619            | 2.2387         |          |         | 27.3148 To 36.5016       |
| Random Effects Model  |       |         |                    | 12.2242        |          |         | -20.6988 To 84.5051      |
| Random Effects Model - Estimate of Between Component Variance |       |         |                    |                | 433.2562 |         |                          |

Tests for Homogeneity of Variances

Cochrans C = Max. Variance/Sun(Variiances) = .4690, P = .436 (Approx.)  
 Bartlett-Box F = 3.499, P = .030  
 Maximum Variance / Minimum Variance 6.080

Multiple Range Test

Tukey-HSD Procedure  
 Ranges for the .050 level -

3.50 3.50

The ranges above are table ranges.  
 The value actually compared with Mean(J)-Mean(I) is..  
 8.6704 \* Range \* Sqrt(1/N(I) + 1/N(J))

(\* ) Denotes pairs of groups significantly different at the .050 level

| Mean    | Group | 1 | 3 | 2 |
|---------|-------|---|---|---|
| 8.5300  | Grp 1 |   |   |   |
| 37.4015 | Grp 3 | * |   |   |
| 49.7930 | Grp 2 | * | * |   |

Homogeneous Subsets (Subsets of groups, whose highest and lowest means do not differ by more than the shortest significant range for a subset of that size)

TITLE 'KELOMPOK INDUCTIVE LFS+'

pro if (CLAS=1).

MAN DC NK CD4 CD8 IL2 IFNG IL4 IL10 IgA IgG IgM CD11b RY KEL(1,3) LITI(1,2)/pri cell (all)/pri homo (all) /pri signif (all)/disc/desig.

60 cases accepted.

0 cases rejected because of out-of-range factor values.

0 cases rejected because of missing data.

6 non-empty cells.

1 design will be processed.

| Variable | CELL NUMBER |   |   |   |   |   |
|----------|-------------|---|---|---|---|---|
|          | 1           | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| KEL      | 1           | 1 | 2 | 2 | 3 | 3 |
| LITI     | 1           | 2 | 1 | 2 | 1 | 2 |

Cell Means and Standard Deviations

Variable .. DC

| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent | Conf. Interval |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|------------|----------------|
| KEL               | DEFISIEN |       |           |    |            |                |
| LITI              | ORANG 2  | 2.500 | .972      | 10 | 1.805      | 3.195          |
| LITI              | ORANG 1  | 3.100 | 1.449     | 10 | 2.063      | 4.137          |
| KEL               | KONTROL  |       |           |    |            |                |
| LITI              | ORANG 2  | 2.200 | 1.398     | 10 | 1.200      | 3.200          |
| LITI              | ORANG 1  | 3.500 | 2.224     | 10 | 1.909      | 5.091          |
| KEL               | VIT_A    |       |           |    |            |                |
| LITI              | ORANG 2  | 2.500 | 1.179     | 10 | 1.657      | 3.343          |
| LITI              | ORANG 1  | 4.300 | .949      | 10 | 3.621      | 4.979          |
| For entire sample |          | 3.017 | 1.546     | 60 | 2.617      | 3.416          |

Variable .. HK

| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent | Conf. Interval |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|------------|----------------|
| KEL               | DEFISIEN |       |           |    |            |                |
| LITI              | ORANG 2  | 2.400 | 1.075     | 10 | 1.631      | 3.169          |
| LITI              | ORANG 1  | 2.900 | 1.729     | 10 | 1.663      | 4.137          |
| KEL               | KONTROL  |       |           |    |            |                |
| LITI              | ORANG 2  | 2.500 | 1.434     | 10 | 1.474      | 3.526          |
| LITI              | ORANG 1  | 2.700 | 2.163     | 10 | 1.153      | 4.247          |
| KEL               | VIT_A    |       |           |    |            |                |
| LITI              | ORANG 2  | 2.200 | .919      | 10 | 1.543      | 2.857          |
| LITI              | ORANG 1  | 3.900 | .994      | 10 | 3.189      | 4.611          |
| For entire sample |          | 2.767 | 1.300     | 60 | 2.379      | 3.154          |

Variable .. CD4

| FACTOR | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent | Conf. Interval |
|--------|----------|-------|-----------|----|------------|----------------|
| KEL    | DEFISIEN |       |           |    |            |                |
| LITI   | ORANG 2  | 3.300 | 1.767     | 10 | 2.036      | 4.564          |
| LITI   | ORANG 1  | 6.000 | 3.590     | 10 | 3.432      | 8.568          |

|                   |         |       |       |    |       |       |
|-------------------|---------|-------|-------|----|-------|-------|
| KEL               | KONTROL |       |       |    |       |       |
| LITI              | ORANG 2 | 3.600 | 1.506 | 10 | 2.523 | 4.677 |
| LITI              | ORANG 1 | 5.400 | 2.547 | 10 | 3.578 | 7.222 |
| KEL               | VIT_A   |       |       |    |       |       |
| LITI              | ORANG 2 | 4.300 | 2.830 | 10 | 2.275 | 6.325 |
| LITI              | ORANG 1 | 5.300 | 3.129 | 10 | 3.062 | 7.538 |
| For entire sample |         | 4.650 | 2.736 | 60 | 3.943 | 5.357 |

-----  
Variable .. CDB

| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| KEL               | DEFISIEN |       |           |    |                           |       |
| LITI              | ORANG 2  | 3.200 | 2.700     | 10 | 1.269                     | 5.131 |
| LITI              | ORANG 1  | 5.600 | 3.502     | 10 | 3.095                     | 8.105 |
| KEL               | KONTROL  |       |           |    |                           |       |
| LITI              | ORANG 2  | 3.300 | 3.268     | 10 | .962                      | 5.638 |
| LITI              | ORANG 1  | 4.700 | 3.498     | 10 | 2.198                     | 7.202 |
| KEL               | VIT_A    |       |           |    |                           |       |
| LITI              | ORANG 2  | 1.700 | 1.418     | 10 | .686                      | 2.714 |
| LITI              | ORANG 1  | 3.300 | 1.418     | 10 | 2.286                     | 4.314 |
| For entire sample |          | 3.633 | 2.940     | 60 | 2.874                     | 4.393 |

-----  
Variable .. IL2

| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|---------------------------|--------|
| KEL               | DEFISIEN |       |           |    |                           |        |
| LITI              | ORANG 2  | 2.500 | 1.354     | 10 | 1.531                     | 3.469  |
| LITI              | ORANG 1  | 2.700 | 1.160     | 10 | 1.871                     | 3.529  |
| KEL               | KONTROL  |       |           |    |                           |        |
| LITI              | ORANG 2  | 5.200 | 7.729     | 10 | -.329                     | 10.729 |
| LITI              | ORANG 1  | 4.300 | 5.677     | 10 | .239                      | 8.361  |
| KEL               | VIT_A    |       |           |    |                           |        |
| LITI              | ORANG 2  | 1.900 | 1.449     | 10 | .863                      | 2.937  |
| LITI              | ORANG 1  | 2.300 | 1.418     | 10 | 1.286                     | 3.314  |
| For entire sample |          | 3.150 | 4.071     | 60 | 2.098                     | 4.202  |

Variable .. IFNG

| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| KEL               | DEFISIEN |       |           |    |                           |       |
| LITI              | ORANG 2  | 3.000 | 2.055     | 10 | 1.530                     | 4.470 |
| LITI              | ORANG 1  | 3.100 | 2.132     | 10 | 1.575                     | 4.625 |
| KEL               | KONTROL  |       |           |    |                           |       |
| LITI              | ORANG 2  | 4.300 | 3.093     | 10 | 2.087                     | 6.513 |
| LITI              | ORANG 1  | 5.300 | 2.541     | 10 | 3.482                     | 7.118 |
| KEL               | VIT_A    |       |           |    |                           |       |
| LITI              | ORANG 2  | 2.400 | 1.350     | 10 | 1.434                     | 3.366 |
| LITI              | ORANG 1  | 3.700 | 2.163     | 10 | 2.153                     | 5.247 |
| For entire sample |          | 3.633 | 2.386     | 60 | 3.017                     | 4.250 |

Variable .. IL4

| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent | Conf. Interval |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|------------|----------------|
| KEL               | DEFISIEN |       |           |    |            |                |
| LITI              | ORANG 2  | 1.700 | .949      | 10 | 1.021      | 2.379          |
| LITI              | ORANG 1  | 1.800 | 1.033     | 10 | 1.061      | 2.539          |
| KEL               | KONTROL  |       |           |    |            |                |
| LITI              | ORANG 2  | 3.500 | 2.550     | 10 | 1.676      | 5.324          |
| LITI              | ORANG 1  | 4.500 | 1.509     | 10 | 3.420      | 5.580          |
| KEL               | VIT_A    |       |           |    |            |                |
| LITI              | ORANG 2  | 4.400 | 4.088     | 10 | 1.476      | 7.324          |
| LITI              | ORANG 1  | 4.900 | 3.247     | 10 | 2.577      | 7.223          |
| For entire sample |          | 3.467 | 2.734     | 60 | 2.760      | 4.173          |

-----

Variable .. IL10

| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent | Conf. Interval |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|------------|----------------|
| KEL               | DEFISIEN |       |           |    |            |                |
| LITI              | ORANG 2  | 2.100 | 1.197     | 10 | 1.244      | 2.956          |
| LITI              | ORANG 1  | 2.200 | 1.135     | 10 | 1.388      | 3.012          |
| KEL               | KONTROL  |       |           |    |            |                |
| LITI              | ORANG 2  | 1.800 | 1.033     | 10 | 1.061      | 2.539          |
| LITI              | ORANG 1  | 2.100 | 1.524     | 10 | 1.010      | 3.190          |
| KEL               | VIT_A    |       |           |    |            |                |
| LITI              | ORANG 2  | 1.900 | 1.912     | 10 | .532       | 3.268          |
| LITI              | ORANG 1  | 2.100 | 1.853     | 10 | .774       | 3.426          |
| For entire sample |          | 2.033 | 1.426     | 60 | 1.665      | 2.402          |

-----

Variable .. L6A

| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent | Conf. Interval |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|------------|----------------|
| KEL               | DEFISIEN |       |           |    |            |                |
| LITI              | ORANG 2  | 1.100 | .316      | 10 | .874       | 1.326          |
| LITI              | ORANG 1  | 1.100 | .316      | 10 | .874       | 1.326          |
| KEL               | KONTROL  |       |           |    |            |                |
| LITI              | ORANG 2  | 1.600 | 1.578     | 10 | .471       | 2.729          |
| LITI              | ORANG 1  | 2.100 | 1.595     | 10 | .959       | 3.241          |
| KEL               | VIT_A    |       |           |    |            |                |
| LITI              | ORANG 2  | 1.300 | .675      | 10 | .817       | 1.783          |
| LITI              | ORANG 1  | 1.700 | .675      | 10 | 1.217      | 2.183          |
| For entire sample |          | 1.483 | 1.033     | 60 | 1.216      | 1.750          |

-----

Variable .. L6B

| FACTOR | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent | Conf. Interval |
|--------|----------|-------|-----------|----|------------|----------------|
| KEL    | DEFISIEN |       |           |    |            |                |
| LITI   | ORANG 2  | 1.100 | .316      | 10 | .874       | 1.326          |
| LITI   | ORANG 1  | 1.200 | .422      | 10 | .898       | 1.502          |
| KEL    | KONTROL  |       |           |    |            |                |
| LITI   | ORANG 2  | 1.200 | .422      | 10 | .898       | 1.502          |
| LITI   | ORANG 1  | 1.300 | .483      | 10 | .954       | 1.646          |

|                   |         |       |      |    |       |       |
|-------------------|---------|-------|------|----|-------|-------|
| KEL               | VIT_A   |       |      |    |       |       |
| LITI              | ORANG 2 | 1.100 | .316 | 10 | .874  | 1.326 |
| LITI              | ORANG 1 | 1.200 | .422 | 10 | .898  | 1.502 |
| For entire sample |         | 1.183 | .390 | 60 | 1.083 | 1.284 |

-----  
Variable .. LGM

| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent | Conf. Interval |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|------------|----------------|
| KEL               | DEFISIEN |       |           |    |            |                |
| LITI              | ORANG 2  | 2.000 | 1.414     | 10 | .988       | 3.012          |
| LITI              | ORANG 1  | 2.100 | 1.449     | 10 | 1.063      | 3.137          |
| KEL               | KONTROL  |       |           |    |            |                |
| LITI              | ORANG 2  | 2.200 | 1.619     | 10 | 1.042      | 3.358          |
| LITI              | ORANG 1  | 2.000 | 1.247     | 10 | 1.108      | 2.892          |
| KEL               | VIT_A    |       |           |    |            |                |
| LITI              | ORANG 2  | 1.700 | .949      | 10 | 1.021      | 2.379          |
| LITI              | ORANG 1  | 1.900 | .876      | 10 | 1.274      | 2.526          |
| For entire sample |          | 1.983 | 1.242     | 60 | 1.663      | 2.304          |

Variable .. CD11B

| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent | Conf. Interval |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|------------|----------------|
| KEL               | DEFISIEN |       |           |    |            |                |
| LITI              | ORANG 2  | 1.200 | .632      | 10 | .748       | 1.652          |
| LITI              | ORANG 1  | 1.600 | .699      | 10 | 1.100      | 2.100          |
| KEL               | KONTROL  |       |           |    |            |                |
| LITI              | ORANG 2  | 1.400 | .516      | 10 | 1.031      | 1.769          |
| LITI              | ORANG 1  | 1.300 | .483      | 10 | .954       | 1.646          |
| KEL               | VIT_A    |       |           |    |            |                |
| LITI              | ORANG 2  | 1.500 | .850      | 10 | .892       | 2.108          |
| LITI              | ORANG 1  | 2.100 | .738      | 10 | 1.572      | 2.628          |
| For entire sample |          | 1.517 | .701      | 60 | 1.336      | 1.698          |

ANALYSIS OF VARIANCE - DESIGN

EFFECT .. KEL BY LITI

Multivariate Tests of Significance (S = 2, M = 4 1/2, N = 20 1/2)

| Test Name  | Value  | Approx. F | Hypoth. DF | Error DF | Sig. of F |
|------------|--------|-----------|------------|----------|-----------|
| Pillais    | .22722 | .46977    | 24.00      | 88.00    | .981      |
| Hotellings | .25785 | .45124    | 24.00      | 84.00    | .985      |
| Wilks      | .78516 | .46064    | 24.00      | 86.00    | .983      |
| Roys       | .13651 |           |            |          |           |

Eigenvalues and Canonical Correlations

| Root No. | Eigenvalue | Pct.     | Cum. Pct. | Canon Cor. |
|----------|------------|----------|-----------|------------|
| 1        | .15879     | 61.31039 | 61.31039  | .36947     |
| 2        | .09976     | 38.68961 | 100.00000 | .30119     |

Dimension Reduction Analysis

| Roots  | Wilks L. | F Hypoth. DF | Error DF | Sig. of F |      |
|--------|----------|--------------|----------|-----------|------|
| 1 TO 2 | .78516   | .46064       | 24.00    | 86.00     | .983 |
| 2 TO 2 | .90929   | .39905       | 11.00    | 44.00     | .949 |

Univariate F-tests with (2,54) D. F.

| Variable | Hypoth. SS | Error SS  | Hypoth. MS | Error MS | F       | Sig. of F |
|----------|------------|-----------|------------|----------|---------|-----------|
| DC       | 3.63333    | 110.10000 | 1.81667    | 2.03889  | .89101  | .416      |
| MK       | 6.30000    | 114.40000 | 3.15000    | 2.11852  | 1.48689 | .235      |
| CD4      | 7.23333    | 383.10000 | 3.61667    | 7.09444  | .50979  | .603      |
| CDB      | 2.80000    | 418.40000 | 1.40000    | 7.74815  | .18069  | .835      |
| IL2      | 4.90000    | 893.30000 | 2.45000    | 16.54259 | .14810  | .863      |
| IFNG     | 3.90000    | 281.60000 | 1.95000    | 5.21481  | .37393  | .690      |
| IL4      | 2.03333    | 342.00000 | 1.01667    | 6.33333  | .16053  | .852      |
| IL10     | .10000     | 118.80000 | .05000     | 2.20000  | .02273  | .978      |
| LGA      | .70000     | 55.30000  | .35000     | 1.02407  | .34177  | .712      |
| LGB      | .00000     | 8.70000   | .00000     | .16111   | .00000  | 1.000     |
| LGM      | .43333     | 89.50000  | .21667     | 1.65741  | .13073  | .878      |
| CD11B    | 1.30000    | 23.90000  | .65000     | .44259   | 1.46862 | .239      |

Averaged F-test with (24,648) D. F.

| VARIABLES | Hypoth. SS | Error SS   | Hypoth. MS | Error MS | F      | Sig. of F |
|-----------|------------|------------|------------|----------|--------|-----------|
| 1 to 12   | 33.33333   | 2839.10000 | 1.38889    | 4.38133  | .31700 | .999      |

Lampiran 6

TITLE 'KELOMPOK INDUCTIVE LFS-1'

pro if (CLAS=2).

MAN DC NK CD4 CD8 IL2 IFNG IL4 IL10 IgA IgG IgM CD11b BY KEL(1,3) LITI(1,2)/pri cell (all)/pri homo (all)  
/pri signif (all)/disc/desig.

60 cases accepted.

0 cases rejected because of out-of-range factor values.

0 cases rejected because of missing data.

6 non-empty cells.

1 design will be processed.

```

-----
                CELL NUMBER
                1  2  3  4  5  6
Variable
  KEL           1  1  2  2  3  3
  LITI          1  2  1  2  1  2
    
```

Cell Means and Standard Deviations

Variable .. DC

| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent | Conf. Interval |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|------------|----------------|
| KEL               | DEFISIEN |       |           |    |            |                |
| LITI              | ORANG 2  | .900  | 1.197     | 10 | .044       | 1.756          |
| LITI              | ORANG 1  | 1.300 | 1.059     | 10 | .542       | 2.058          |
| KEL               | KONTROL  |       |           |    |            |                |
| LITI              | ORANG 2  | 1.700 | 1.418     | 10 | .686       | 2.714          |
| LITI              | ORANG 1  | 4.200 | 2.348     | 10 | 2.521      | 5.879          |
| KEL               | VIT_A    |       |           |    |            |                |
| LITI              | ORANG 2  | 1.700 | .675      | 10 | 1.217      | 2.183          |
| LITI              | ORANG 1  | 2.100 | .994      | 10 | 1.389      | 2.811          |
| For entire sample |          | 1.983 | 1.702     | 60 | 1.544      | 2.423          |

Variable .. NK

| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent | Conf. Interval |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|------------|----------------|
| KEL               | DEFISIEN |       |           |    |            |                |
| LITI              | ORANG 2  | 1.100 | 1.370     | 10 | .120       | 2.080          |
| LITI              | ORANG 1  | 1.900 | 1.197     | 10 | 1.044      | 2.756          |
| KEL               | KONTROL  |       |           |    |            |                |
| LITI              | ORANG 2  | 1.900 | 1.449     | 10 | .863       | 2.937          |
| LITI              | ORANG 1  | 3.500 | 1.958     | 10 | 2.099      | 4.901          |
| KEL               | VIT_A    |       |           |    |            |                |
| LITI              | ORANG 2  | 2.100 | 1.524     | 10 | 1.010      | 3.190          |
| LITI              | ORANG 1  | 1.900 | 1.197     | 10 | 1.044      | 2.756          |
| For entire sample |          | 2.067 | 1.582     | 60 | 1.638      | 2.475          |



ANALYSIS OF VARIANCE - DESIGN

EFFECT .. KEL BY LITI

Multivariate Tests of Significance (S = 2, M = 4 1/2, N = 20 1/2)

| Test Name  | Value  | Approx. F | Hypoth. DF | Error DF | Sig. of F |
|------------|--------|-----------|------------|----------|-----------|
| Pillais    | .37808 | .85472    | 24.00      | 88.00    | .659      |
| Hotellings | .46953 | .82167    | 24.00      | 84.00    | .700      |
| Wilks      | .65677 | .83826    | 24.00      | 86.00    | .680      |
| Roys       | .21875 |           |            |          |           |

Eigenvalues and Canonical Correlations

| Root No. | Eigenvalue | Pct.     | Cum. Pct. | Canon Cor. |
|----------|------------|----------|-----------|------------|
| 1        | .28001     | 59.63617 | 59.63617  | .46771     |
| 2        | .18952     | 40.36383 | 100.00000 | .39915     |

Dimension Reduction Analysis

| Roots  | Wilks L. | F Hypoth. DF | Error DF | Sig. of F |      |
|--------|----------|--------------|----------|-----------|------|
| 1 TO 2 | .65677   | .83826       | 24.00    | 86.00     | .680 |
| 2 TO 2 | .84068   | .75808       | 11.00    | 44.00     | .678 |

Univariate F-tests with (2,54) D. F.

| Variable | Hypoth. SS | Error SS   | Hypoth. MS | Error MS | F       | Sig. of F |
|----------|------------|------------|------------|----------|---------|-----------|
| DC       | 14.70000   | 103.70000  | 7.35000    | 1.92037  | 3.82739 | .028      |
| NK       | 8.13333    | 117.00000  | 4.06667    | 2.16667  | 1.87692 | .163      |
| CD4      | 8.13333    | 1479.10000 | 4.06667    | 27.39074 | .14847  | .862      |
| CD8      | 12.70000   | 1670.70000 | 6.35000    | 30.93889 | .20524  | .815      |
| IL2      | .83333     | 52.70000   | .41667     | .97593   | .42694  | .655      |
| IFNG     | 5.23333    | 5115.50000 | 2.61667    | 94.73148 | .02762  | .973      |
| IL4      | 3.43333    | 160.00000  | 1.71667    | 2.96296  | .57938  | .564      |
| IL10     | 14.70000   | 413.00000  | 7.35000    | 7.64815  | .96102  | .389      |
| LGA      | .30000     | 10.50000   | .15000     | .19444   | .77143  | .467      |
| LGG      | .03333     | 8.10000    | .01667     | .15000   | .11111  | .895      |
| LGM      | .70000     | 88.00000   | .35000     | 1.62963  | .21477  | .807      |
| CD11B    | .40000     | 39.80000   | .20000     | .73704   | .27136  | .763      |

Averaged F-test with (24,648) D. F.

| VARIABLES | Hypoth. SS | Error SS   | Hypoth. MS | Error MS | F      | Sig. of F |
|-----------|------------|------------|------------|----------|--------|-----------|
| 1 to 12   | 69.30000   | 9258.10000 | 2.88750    | 14.28719 | .20210 | 1.000     |

Lampiran 7

TITLE 'KELOMPOK EFFECTOR LPS+'.

pro if (CLAS=3).

MAN DC NK CD4 CD8 IL2 IFNG IL4 IL10 IgA IgM CD11b BY KEL(1,3) LITI(1,2)/pri cell (all)/pri homo (all)

/pri signif (all)/disc/desig.

60 cases accepted.

0 cases rejected because of out-of-range factor values.

0 cases rejected because of missing data.

6 non-empty cells.

1 design will be processed.

```

-----
                CELL NUMBER
                1  2  3  4  5  6
Variable
KEL            1  1  2  2  3  3
LITI          1  2  1  2  1  2
    
```

Cell Means and Standard Deviations

Variable .. DC

| FACTOR            | CODE     | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent | Conf. Interval |
|-------------------|----------|--------|-----------|----|------------|----------------|
| KEL               | DEFISIEN |        |           |    |            |                |
| LITI              | ORANG 2  | 4.800  | 3.225     | 10 | 2.493      | 7.107          |
| LITI              | ORANG 1  | 9.500  | 3.308     | 10 | 7.133      | 11.867         |
| KEL               | KONTROL  |        |           |    |            |                |
| LITI              | ORANG 2  | 7.700  | 5.355     | 10 | 3.869      | 11.531         |
| LITI              | ORANG 1  | 9.700  | 7.409     | 10 | 4.400      | 15.000         |
| KEL               | VIT_A    |        |           |    |            |                |
| LITI              | ORANG 2  | 6.800  | 2.936     | 10 | 4.699      | 8.901          |
| LITI              | ORANG 1  | 10.700 | 4.191     | 10 | 7.702      | 13.698         |
| For entire sample |          | 8.200  | 4.905     | 60 | 6.933      | 9.467          |

Variable .. NK

| FACTOR            | CODE     | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent | Conf. Interval |
|-------------------|----------|--------|-----------|----|------------|----------------|
| KEL               | DEFISIEN |        |           |    |            |                |
| LITI              | ORANG 2  | 3.600  | 2.366     | 10 | 1.907      | 5.293          |
| LITI              | ORANG 1  | 6.100  | 3.479     | 10 | 3.612      | 8.588          |
| KEL               | KONTROL  |        |           |    |            |                |
| LITI              | ORANG 2  | 6.700  | 4.945     | 10 | 3.162      | 10.238         |
| LITI              | ORANG 1  | 9.800  | 3.553     | 10 | 7.258      | 12.342         |
| KEL               | VIT_A    |        |           |    |            |                |
| LITI              | ORANG 2  | 6.900  | 2.470     | 10 | 5.133      | 8.667          |
| LITI              | ORANG 1  | 12.200 | 4.367     | 10 | 9.076      | 15.324         |
| For entire sample |          | 7.550  | 4.462     | 60 | 6.397      | 8.703          |

ANALYSIS OF VARIANCE - DESIGN

EFFECT .. KEL BY LITI

Multivariate Tests of Significance (S = 2, M = 4 1/2, N = 20 1/2)

| Test Name  | Value  | Approx. F | Hypoth. DF | Error DF | Sig. of F |
|------------|--------|-----------|------------|----------|-----------|
| Pillais    | .46767 | 1.11969   | 24.00      | 88.00    | .340      |
| Hotellings | .64035 | 1.12062   | 24.00      | 84.00    | .341      |
| Wilks      | .58028 | 1.12070   | 24.00      | 86.00    | .340      |
| Roys       | .31506 |           |            |          |           |

Eigenvalues and Canonical Correlations

| Root No. | Eigenvalue | Pct.     | Cum. Pct. | Canon Cor. |
|----------|------------|----------|-----------|------------|
| 1        | .45999     | 71.83378 | 71.83378  | .56131     |
| 2        | .18036     | 28.16622 | 100.00000 | .39090     |

Dimension Reduction Analysis

| Roots  | Wilks L. | F Hypoth. DF | Error DF | Sig. of F |      |
|--------|----------|--------------|----------|-----------|------|
| 1 TO 2 | .58028   | 1.12070      | 24.00    | 86.00     | .340 |
| 2 TO 2 | .84720   | .72145       | 11.00    | 44.00     | .712 |

Univariate F-tests with (2,54) D. F.

| Variable | Hypoth. SS | Error SS    | Hypoth. MS | Error MS  | F       | Sig. of F |
|----------|------------|-------------|------------|-----------|---------|-----------|
| DC       | 19.23333   | 1180.00000  | 9.61667    | 21.85185  | .44008  | .646      |
| MK       | 21.73333   | 719.50000   | 10.86667   | 13.32407  | .81557  | .448      |
| CD4      | 88.90000   | 18521.50000 | 44.45000   | 342.99074 | .12960  | .879      |
| CD8      | 154.53333  | 16237.00000 | 77.26667   | 300.68519 | .25697  | .774      |
| IL2      | 87.70000   | 10252.70000 | 43.85000   | 189.86481 | .23095  | .795      |
| IFMS     | 230.53333  | 11205.20000 | 115.26667  | 207.50370 | .55549  | .577      |
| IL4      | 118.23333  | 6226.70000  | 59.11667   | 115.30926 | .51268  | .602      |
| IL10     | 376.63333  | 10119.00000 | 188.31667  | 187.38889 | 1.00495 | .373      |
| LGA      | 45.03333   | 2736.70000  | 22.51667   | 50.67963  | .44429  | .644      |
| LGG      | 50.63333   | 1810.50000  | 25.31667   | 33.52778  | .75510  | .475      |
| LGM      | 1.63333    | 2069.10000  | .81667     | 38.31667  | .02131  | .979      |
| CD11B    | 20.93333   | 2090.60000  | 10.46667   | 38.71481  | .27035  | .764      |

Averaged F-test with (24,648) D. F.

| VARIABLES | Hypoth. SS | Error SS    | Hypoth. MS | Error MS  | F      | Sig. of F |
|-----------|------------|-------------|------------|-----------|--------|-----------|
| 1 to 12   | 1215.73333 | 83168.50000 | 50.65556   | 128.34645 | .39468 | .996      |

TITLE 'KELOMPOK EFFECTOR LPS-'

pro if (CLAS=4).

MAN DC NK CD4 CD8 IL2 IFNG IL4 IL10 IgA IgG IgM CD11b BY KEL(1,3) LITI(1,2)/pri cell (all)/pri homo (all)  
/pri signif (all)/disc/degis.

60 cases accepted.

0 cases rejected because of out-of-range factor values.

0 cases rejected because of missing data.

6 non-empty cells.

1 design will be processed.

```

-----
                CELL NUMBER
                1  2  3  4  5  6
Variable
  KEL           1  1  2  2  3  3
  LITI          1  2  1  2  1  2
    
```

Cell Means and Standard Deviations

Variable .. DC

| FACTOR            | CODE     | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
|-------------------|----------|--------|-----------|----|---------------------------|--------|
| KEL               | DEFISIEN |        |           |    |                           |        |
| LITI              | ORANG 2  | 5.400  | 2.633     | 10 | 3.516                     | 7.284  |
| LITI              | ORANG 1  | 8.400  | 1.955     | 10 | 7.001                     | 9.799  |
| KEL               | KONTROL  |        |           |    |                           |        |
| LITI              | ORANG 2  | 7.900  | 6.420     | 10 | 3.308                     | 12.492 |
| LITI              | ORANG 1  | 12.600 | 7.749     | 10 | 7.057                     | 18.143 |
| KEL               | VIT_A    |        |           |    |                           |        |
| LITI              | ORANG 2  | 9.600  | 6.346     | 10 | 5.061                     | 14.139 |
| LITI              | ORANG 1  | 6.300  | 2.163     | 10 | 4.753                     | 7.847  |
| For entire sample |          |        |           | 60 | 6.964                     | 9.770  |

Variable .. NK

| FACTOR            | CODE     | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
|-------------------|----------|--------|-----------|----|---------------------------|--------|
| KEL               | DEFISIEN |        |           |    |                           |        |
| LITI              | ORANG 2  | 3.900  | 2.470     | 10 | 2.133                     | 5.667  |
| LITI              | ORANG 1  | 12.800 | 19.188    | 10 | -.926                     | 26.526 |
| KEL               | KONTROL  |        |           |    |                           |        |
| LITI              | ORANG 2  | 9.000  | 8.718     | 10 | 2.764                     | 15.236 |
| LITI              | ORANG 1  | 9.800  | 5.371     | 10 | 5.958                     | 13.642 |
| KEL               | VIT_A    |        |           |    |                           |        |
| LITI              | ORANG 2  | 8.600  | 6.004     | 10 | 4.305                     | 12.895 |
| LITI              | ORANG 1  | 7.100  | 4.228     | 10 | 4.075                     | 10.125 |
| For entire sample |          |        |           | 60 | 6.100                     | 10.966 |

1 1 1 1 1 ANALYSIS OF VARIANCE -- DESIGN 1 1 1 1 1

EFFECT .. KEL BY LITI

Multivariate Tests of Significance (S = 2, M = 4 1/2, N = 20 1/2)

| Test Name   | Value  | Approx. F | Hypoth. DF | Error DF | Sig. of F |
|-------------|--------|-----------|------------|----------|-----------|
| Pillais     | .38662 | .87865    | 24.00      | 88.00    | .629      |
| Hotelling's | .48574 | .85004    | 24.00      | 84.00    | .665      |
| Wilks       | .64906 | .86448    | 24.00      | 86.00    | .647      |
| Reys        | .23447 |           |            |          |           |

Eigenvalues and Canonical Correlations

| Root No. | Eigenvalue | Pct.     | Cum. Pct. | Canon Cor. |
|----------|------------|----------|-----------|------------|
| 1        | .30628     | 63.05477 | 63.05477  | .48422     |
| 2        | .17746     | 36.94523 | 100.00000 | .39007     |

Dimension Reduction Analysis

| Roots  | Wilks L. | F Hypoth. DF | Error DF | Sig. of F |      |
|--------|----------|--------------|----------|-----------|------|
| 1 TO 2 | .64906   | .86448       | 24.00    | 86.00     | .647 |
| 2 TO 2 | .84785   | .71782       | 11.00    | 44.00     | .715 |

Univariate F-tests with (2,54) D. F.

| Variable | Hypoth. SS | Error SS    | Hypoth. MS | Error MS  | F       | Sig. of F |
|----------|------------|-------------|------------|-----------|---------|-----------|
| DC       | 177.63333  | 1412.60000  | 88.81667   | 26.15926  | 3.39523 | .041      |
| HK       | 298.43333  | 4797.40000  | 149.21667  | 88.84074  | 1.67960 | .196      |
| CD4      | 890.03333  | 33923.30000 | 445.01667  | 628.20926 | .70839  | .497      |
| CD8      | 1393.20000 | 34138.60000 | 696.60000  | 632.19630 | 1.10187 | .340      |
| IL2      | 43.43333   | 4510.30000  | 21.71667   | 83.52407  | .26000  | .772      |
| IFMG     | 593.43333  | 16850.20000 | 296.71667  | 312.04074 | .95089  | .393      |
| IL4      | 161.63333  | 17630.40000 | 80.81667   | 326.48889 | .24753  | .782      |
| IL10     | 212.03333  | 3711.50000  | 106.01667  | 68.73148  | 1.54248 | .223      |
| L6A      | 36.63333   | 1059.10000  | 18.31667   | 19.61296  | .93391  | .399      |
| L6B      | 30.10000   | 633.30000   | 15.05000   | 12.09815  | 1.24399 | .296      |
| L6M      | 35.73333   | 8672.30000  | 17.86667   | 160.59815 | .11125  | .895      |
| CD11B    | 11.43333   | 1776.70000  | 5.71667    | 32.90185  | .17375  | .841      |

Averaged F-test with (24,648) D. F.

| VARIABLES | Hypoth. SS | Error SS     | Hypoth. MS | Error MS  | F      | Sig. of F |
|-----------|------------|--------------|------------|-----------|--------|-----------|
| 1 to 12   | 3883.73333 | 129135.70000 | 161.82222  | 199.28349 | .81202 | .723      |

DAERAH EFFECTOR DIRERI LPS positif  
 pro if (POSISI=1).

MAN DC NK CD4 CD8 IL2 IFNG IL4 IL10 IgA IgG IgM CD11b BY KEL(1,2)/pri cell (all)/pri homo (all)/pri signif (all)/disc/desig.

20 cases accepted.  
 10 cases rejected because of out-of-range factor values.  
 0 cases rejected because of missing data.  
 2 non-empty cells.  
 1 design will be processed.

```

-----
                CELL NUMBER
                1   2
Variable
KEL            1   2
    
```

Cell Means and Standard Deviations  
 Variable .. DC

| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|---------------------------|--------|
| KEL               | DEFISIEN | 9.500 | 3.308     | 10 | 7.133                     | 11.867 |
| KEL               | KONTROL  | 9.700 | 7.409     | 10 | 4.400                     | 15.000 |
| For entire sample |          | 9.600 | 5.586     | 20 | 6.986                     | 12.214 |

Variable .. NK

| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|---------------------------|--------|
| KEL               | DEFISIEN | 6.100 | 3.479     | 10 | 3.612                     | 8.588  |
| KEL               | KONTROL  | 9.800 | 3.553     | 10 | 7.258                     | 12.342 |
| For entire sample |          | 7.950 | 3.913     | 20 | 6.119                     | 9.781  |

Variable .. CD4

| FACTOR            | CODE     | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
|-------------------|----------|--------|-----------|----|---------------------------|--------|
| KEL               | DEFISIEN | 20.200 | 17.022    | 10 | 8.024                     | 32.376 |
| KEL               | KONTROL  | 31.800 | 24.603    | 10 | 14.200                    | 49.400 |
| For entire sample |          | 26.000 | 21.433    | 20 | 15.969                    | 36.031 |

Variable .. CD8

| FACTOR            | CODE     | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
|-------------------|----------|--------|-----------|----|---------------------------|--------|
| KEL               | DEFISIEN | 24.000 | 19.195    | 10 | 10.269                    | 37.731 |
| KEL               | KONTROL  | 23.500 | 23.382    | 10 | 6.773                     | 40.227 |
| For entire sample |          | 23.750 | 20.822    | 20 | 14.005                    | 33.495 |

Variable .. IL2

| FACTOR            | CODE     | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
|-------------------|----------|--------|-----------|----|---------------------------|--------|
| KEL               | DEFISIEN | 4.600  | 1.647     | 10 | 3.422                     | 5.778  |
| KEL               | KONTROL  | 25.500 | 16.828    | 10 | 13.462                    | 37.538 |
| For entire sample |          | 15.050 | 15.823    | 20 | 7.645                     | 22.455 |

```
-----
```

| Variable .. IFNG  |          |        |           |    |                           |        |
|-------------------|----------|--------|-----------|----|---------------------------|--------|
| FACTOR            | CODE     | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
| KEL               | DEFISIEN | 10.500 | 4.673     | 10 | 7.157                     | 13.843 |
| KEL               | KONTROL  | 17.300 | 7.675     | 10 | 11.810                    | 22.790 |
| For entire sample |          | 13.900 | 7.100     | 20 | 10.577                    | 17.223 |

```
-----
```

| Variable .. IL4   |          |        |           |    |                           |        |
|-------------------|----------|--------|-----------|----|---------------------------|--------|
| FACTOR            | CODE     | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
| KEL               | DEFISIEN | 4.900  | 1.524     | 10 | 3.810                     | 5.990  |
| KEL               | KONTROL  | 20.300 | 14.989    | 10 | 9.577                     | 31.023 |
| For entire sample |          | 12.600 | 13.036    | 20 | 6.499                     | 18.701 |

```
-----
```

| Variable .. IL10  |          |        |           |    |                           |        |
|-------------------|----------|--------|-----------|----|---------------------------|--------|
| FACTOR            | CODE     | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
| KEL               | DEFISIEN | 3.200  | .919      | 10 | 2.543                     | 3.857  |
| KEL               | KONTROL  | 18.500 | 15.883    | 10 | 7.138                     | 29.862 |
| For entire sample |          | 10.850 | 13.472    | 20 | 4.545                     | 17.155 |

```
-----
```

| Variable .. IGA   |          |        |           |    |                           |        |
|-------------------|----------|--------|-----------|----|---------------------------|--------|
| FACTOR            | CODE     | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
| KEL               | DEFISIEN | 3.600  | 2.459     | 10 | 1.841                     | 5.359  |
| KEL               | KONTROL  | 14.200 | 7.569     | 10 | 8.786                     | 19.614 |
| For entire sample |          | 8.900  | 7.718     | 20 | 5.288                     | 12.512 |

```
-----
```

| Variable .. IGG   |          |       |           |    |                           |        |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|---------------------------|--------|
| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
| KEL               | DEFISIEN | 5.300 | 2.111     | 10 | 3.790                     | 6.810  |
| KEL               | KONTROL  | 8.300 | 4.809     | 10 | 4.860                     | 11.740 |
| For entire sample |          | 6.800 | 3.928     | 20 | 4.961                     | 8.639  |

```
-----
```

| Variable .. IGM   |          |        |           |    |                           |        |
|-------------------|----------|--------|-----------|----|---------------------------|--------|
| FACTOR            | CODE     | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
| KEL               | DEFISIEN | 8.200  | 3.190     | 10 | 5.918                     | 10.482 |
| KEL               | KONTROL  | 11.100 | 6.154     | 10 | 6.697                     | 15.503 |
| For entire sample |          | 9.650  | 4.998     | 20 | 7.311                     | 11.989 |

```
-----
```

| Variable .. CD11B |          |        |           |    |                           |        |
|-------------------|----------|--------|-----------|----|---------------------------|--------|
| FACTOR            | CODE     | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
| KEL               | DEFISIEN | 6.500  | 2.121     | 10 | 4.982                     | 8.018  |
| KEL               | KONTROL  | 11.100 | 7.445     | 10 | 5.774                     | 16.426 |
| For entire sample |          | 8.800  | 5.827     | 20 | 6.073                     | 11.527 |

\*\*\*\*\* ANALYSIS OF VARIANCE -- DESIGN \*\*\*\*\*

EFFECT .. KEL

-----

Multivariate Tests of Significance (S = 1, M = 5, R = 2 1/2)

| Test Name  | Value    | Approx. F | Hypoth. DF | Error DF | Sig. of F |
|------------|----------|-----------|------------|----------|-----------|
| Pillais    | .92707   | 7.41546   | 12.00      | 7.00     | .007      |
| Hotellings | 12.71222 | 7.41546   | 12.00      | 7.00     | .007      |
| Wilks      | .07293   | 7.41546   | 12.00      | 7.00     | .007 ✓    |
| Roys       | .92707   |           |            |          |           |

-----

Eigenvalues and Canonical Correlations

| Root No. | Eigenvalue | Pct.      | Cum. Pct. | Canon Cor. |
|----------|------------|-----------|-----------|------------|
| 1        | 12.71222   | 100.00000 | 100.00000 | .96285     |

-----

Univariate F-tests with (1,18) D. F.

| Variable | Hypoth. SS | Error SS   | Hypoth. MS | Error MS  | F        | Sig. of F |
|----------|------------|------------|------------|-----------|----------|-----------|
| DC       | .20000     | 592.60000  | .20000     | 32.92222  | .00607   | .939      |
| NK       | 68.45000   | 222.50000  | 68.45000   | 12.36111  | 5.53753  | .030      |
| CD4      | 672.80000  | 8055.20000 | 672.80000  | 447.51111 | 1.50343  | .236      |
| CD8      | 1.25000    | 8236.50000 | 1.25000    | 457.58333 | .00273   | .959      |
| IL2      | 2184.05000 | 2572.90000 | 2184.05000 | 142.93889 | 15.27961 | .001      |
| IFMS     | 231.20000  | 726.60000  | 231.20000  | 40.36667  | 5.72750  | .028      |
| IL4      | 1185.80000 | 2043.00000 | 1185.80000 | 113.50000 | 10.44758 | .005      |
| IL10     | 1170.45000 | 2278.10000 | 1170.45000 | 126.56111 | 9.24810  | .007      |
| IGA      | 561.80000  | 570.00000  | 561.80000  | 31.66667  | 17.74105 | .001      |
| IGG      | 45.00000   | 248.20000  | 45.00000   | 13.78889  | 3.26350  | .088      |
| IGM      | 42.05000   | 432.50000  | 42.05000   | 24.02778  | 1.75006  | .202      |
| CD11B    | 105.80000  | 539.40000  | 105.80000  | 29.96667  | 3.53059  | .077      |

-----

Averaged F-test with (12,216) D. F.

| VARIABLES | Hypoth. SS | Error SS    | Hypoth. MS | Error MS  | F       | Sig. of F |
|-----------|------------|-------------|------------|-----------|---------|-----------|
| 1 to 12   | 6268.85000 | 26517.50000 | 522.40417  | 122.76620 | 4.25528 | .000      |



DAERAH EFFECTOR DIBERI LPS positif

pro if (POSISI=1).

MAN DC NK CD4 CD8 IL2 IFNG IL4 IL10 IgA IgG IgM CD11b BY KEL(2,3)/pri cell (all)/pri howo (all)/pri signif (all)/disc/desIg.

20 cases accepted.

10 cases rejected because of out-of-range factor values.

0 cases rejected because of missing data.

2 non-empty cells.

1 design will be processed.

```

-----
          CELL NUMBER
          1   2
Variable
KEL      1   2
    
```

Cell Means and Standard Deviations

Variable .. DC

| FACTOR            | CODE    | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
|-------------------|---------|--------|-----------|----|---------------------------|--------|
| KEL               | KONTROL | 9.700  | 7.409     | 10 | 4.400                     | 15.000 |
| KEL               | VIT_A   | 10.700 | 4.191     | 10 | 7.702                     | 13.698 |
| For entire sample |         | 10.200 | 5.881     | 20 | 7.447                     | 12.953 |

Variable .. NK

| FACTOR            | CODE    | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
|-------------------|---------|--------|-----------|----|---------------------------|--------|
| KEL               | KONTROL | 9.800  | 3.553     | 10 | 7.258                     | 12.342 |
| KEL               | VIT_A   | 12.200 | 4.367     | 10 | 9.076                     | 15.324 |
| For entire sample |         | 11.000 | 4.065     | 20 | 9.097                     | 12.903 |

Variable .. CD4

| FACTOR            | CODE    | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
|-------------------|---------|--------|-----------|----|---------------------------|--------|
| KEL               | KONTROL | 31.800 | 24.603    | 10 | 14.200                    | 49.400 |
| KEL               | VIT_A   | 26.100 | 14.940    | 10 | 15.412                    | 36.788 |
| For entire sample |         | 28.950 | 20.025    | 20 | 19.578                    | 38.322 |

Variable .. CD8

| FACTOR            | CODE    | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
|-------------------|---------|--------|-----------|----|---------------------------|--------|
| KEL               | KONTROL | 23.500 | 23.382    | 10 | 6.773                     | 40.227 |
| KEL               | VIT_A   | 11.800 | 9.484     | 10 | 5.015                     | 18.585 |
| For entire sample |         | 17.650 | 18.374    | 20 | 9.051                     | 26.249 |

Variable .. IL2

| FACTOR            | CODE    | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
|-------------------|---------|--------|-----------|----|---------------------------|--------|
| KEL               | KONTROL | 25.500 | 16.828    | 10 | 13.462                    | 37.538 |
| KEL               | VIT_A   | 22.300 | 17.613    | 10 | 9.700                     | 34.900 |
| For entire sample |         | 23.900 | 16.846    | 20 | 16.016                    | 31.784 |

| -----             |         |        |           |    |                           |        |
|-------------------|---------|--------|-----------|----|---------------------------|--------|
| Variable .. IFNG  |         |        |           |    |                           |        |
| FACTOR            | CODE    | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
| KEL               | KONTROL | 17.300 | 7.675     | 10 | 11.810                    | 22.790 |
| KEL               | VIT_A   | 22.800 | 17.383    | 10 | 10.365                    | 35.235 |
| For entire sample |         | 20.050 | 13.379    | 20 | 13.788                    | 26.312 |
| -----             |         |        |           |    |                           |        |
| Variable .. IL4   |         |        |           |    |                           |        |
| FACTOR            | CODE    | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
| KEL               | KONTROL | 20.300 | 14.989    | 10 | 9.577                     | 31.023 |
| KEL               | VIT_A   | 15.000 | 10.077    | 10 | 7.791                     | 22.209 |
| For entire sample |         | 17.650 | 12.725    | 20 | 11.695                    | 23.605 |
| -----             |         |        |           |    |                           |        |
| Variable .. IL10  |         |        |           |    |                           |        |
| FACTOR            | CODE    | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
| KEL               | KONTROL | 18.500 | 15.883    | 10 | 7.138                     | 29.862 |
| KEL               | VIT_A   | 18.300 | 16.614    | 10 | 6.415                     | 30.185 |
| For entire sample |         | 18.400 | 15.819    | 20 | 10.996                    | 25.804 |
| -----             |         |        |           |    |                           |        |
| Variable .. IGA   |         |        |           |    |                           |        |
| FACTOR            | CODE    | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
| KEL               | KONTROL | 14.200 | 7.569     | 10 | 8.786                     | 19.614 |
| KEL               | VIT_A   | 13.100 | 10.049    | 10 | 5.911                     | 20.289 |
| For entire sample |         | 13.650 | 8.677     | 20 | 9.589                     | 17.711 |
| -----             |         |        |           |    |                           |        |
| Variable .. IGG   |         |        |           |    |                           |        |
| FACTOR            | CODE    | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
| KEL               | KONTROL | 8.300  | 4.809     | 10 | 4.860                     | 11.740 |
| KEL               | VIT_A   | 9.600  | 6.535     | 10 | 4.925                     | 14.275 |
| For entire sample |         | 8.950  | 5.624     | 20 | 6.318                     | 11.582 |
| -----             |         |        |           |    |                           |        |
| Variable .. IGM   |         |        |           |    |                           |        |
| FACTOR            | CODE    | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
| KEL               | KONTROL | 11.100 | 6.154     | 10 | 6.697                     | 15.503 |
| KEL               | VIT_A   | 8.900  | 4.654     | 10 | 5.571                     | 12.229 |
| For entire sample |         | 10.000 | 5.429     | 20 | 7.459                     | 12.541 |
| -----             |         |        |           |    |                           |        |
| Variable .. CD11B |         |        |           |    |                           |        |
| FACTOR            | CODE    | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
| KEL               | KONTROL | 11.100 | 7.445     | 10 | 5.774                     | 16.426 |
| KEL               | VIT_A   | 10.700 | 6.183     | 10 | 6.277                     | 15.123 |
| For entire sample |         | 10.900 | 6.664     | 20 | 7.781                     | 14.019 |

++++ ANALYSIS OF VARIANCE - DESIGN 1++++

EFFECT .. KEL

Multivariate Tests of Significance (S = 1, M = 5, N = 2 1/2)

| Test Name  | Value   | Approx. F | Hypoth. DF | Error DF | Sig. of F |
|------------|---------|-----------|------------|----------|-----------|
| Pillais    | .60464  | .89212    | 12.00      | 7.00     | .589      |
| Hotellings | 1.52935 | .89212    | 12.00      | 7.00     | .589      |
| Wilks      | .39536  | .89212    | 12.00      | 7.00     | .589      |
| Roys       | .60464  |           |            |          |           |

Eigenvalues and Canonical Correlations

| Root No. | Eigenvalue | Pct.      | Cum. Pct. | Canon Cor. |
|----------|------------|-----------|-----------|------------|
| 1        | 1.52935    | 100.00000 | 100.00000 | .77759     |

Univariate F-tests with (1,18) D. F.

| Variable | Hypoth. SS | Error SS   | Hypoth. MS | Error MS  | F       | Sig. of F |
|----------|------------|------------|------------|-----------|---------|-----------|
| DC       | 5.00000    | 652.20000  | 5.00000    | 36.23333  | .13799  | .715      |
| NK       | 28.80000   | 285.20000  | 28.80000   | 15.84444  | 1.81767 | .194      |
| CD4      | 162.45000  | 7456.50000 | 162.45000  | 414.25000 | .39215  | .539      |
| CDB      | 684.45000  | 5730.10000 | 684.45000  | 318.33889 | 2.15007 | .160      |
| IL2      | 51.20000   | 5340.60000 | 51.20000   | 296.70000 | .17256  | .683      |
| IFMG     | 151.25000  | 3249.70000 | 151.25000  | 180.53889 | .83777  | .372      |
| IL4      | 140.45000  | 2936.10000 | 140.45000  | 163.11667 | .86104  | .366      |
| IL10     | .20000     | 4754.60000 | .20000     | 264.14444 | .00076  | .978      |
| IGA      | 6.05000    | 1424.50000 | 6.05000    | 79.13889  | .07645  | .785      |
| IGG      | 8.45000    | 592.50000  | 8.45000    | 32.91667  | .25671  | .619      |
| IGN      | 24.20000   | 535.80000  | 24.20000   | 29.76667  | .81299  | .379      |
| CD11B    | .80000     | 843.00000  | .80000     | 46.83333  | .01708  | .897      |

Averaged F-test with (12,216) D. F.

| VARIABLES | Hypoth. SS | Error SS    | Hypoth. MS | Error MS  | F      | Sig. of F |
|-----------|------------|-------------|------------|-----------|--------|-----------|
| 1 to 12   | 1263.30000 | 33800.80000 | 105.27500  | 156.48519 | .67275 | .777      |

## Lampiran 11

DAERAH EFFECTOR DIBERI LPS positif

pro if (POSISI=1).

MAN DC NK CD4 CD8 IL2 IFNG IL4 IL10 IgA IgG IgM CD11b BY KEL(1,2)/pri cell (all)/pri homo (all)/pri signif (all)/disc/desIg.

20 cases accepted.

10 cases rejected because of out-of-range factor values.

0 cases rejected because of missing data.

2 non-empty cells.

1 design will be processed.

```
-----
                CELL NUMBER
                1   2
Variable
KEL             1   2
```

## Cell Means and Standard Deviations

Variable .. DC

| FACTOR            | CODE     | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
|-------------------|----------|--------|-----------|----|---------------------------|--------|
| KEL               | DEFISIEN | 9.500  | 3.308     | 10 | 7.133                     | 11.867 |
| KEL               | VIT_A    | 10.700 | 4.191     | 10 | 7.702                     | 13.698 |
| For entire sample |          | 10.100 | 3.726     | 20 | 8.356                     | 11.844 |

Variable .. NK

| FACTOR            | CODE     | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
|-------------------|----------|--------|-----------|----|---------------------------|--------|
| KEL               | DEFISIEN | 6.100  | 3.479     | 10 | 3.612                     | 8.588  |
| KEL               | VIT_A    | 12.200 | 4.367     | 10 | 9.076                     | 15.324 |
| For entire sample |          | 9.150  | 4.955     | 20 | 6.831                     | 11.469 |

Variable .. CD4

| FACTOR            | CODE     | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
|-------------------|----------|--------|-----------|----|---------------------------|--------|
| KEL               | DEFISIEN | 20.200 | 17.022    | 10 | 8.024                     | 32.376 |
| KEL               | VIT_A    | 26.100 | 14.940    | 10 | 15.412                    | 36.788 |
| For entire sample |          | 23.150 | 15.879    | 20 | 15.719                    | 30.581 |

Variable .. CD8

| FACTOR            | CODE     | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
|-------------------|----------|--------|-----------|----|---------------------------|--------|
| KEL               | DEFISIEN | 24.000 | 19.195    | 10 | 10.269                    | 37.731 |
| KEL               | VIT_A    | 11.800 | 9.484     | 10 | 5.015                     | 18.585 |
| For entire sample |          | 17.900 | 16.010    | 20 | 10.407                    | 25.393 |

Variable .. IL2

| FACTOR            | CODE     | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
|-------------------|----------|--------|-----------|----|---------------------------|--------|
| KEL               | DEFISIEN | 4.600  | 1.647     | 10 | 3.422                     | 5.778  |
| KEL               | VIT_A    | 22.300 | 17.613    | 10 | 9.700                     | 34.900 |
| For entire sample |          | 13.450 | 15.188    | 20 | 6.342                     | 20.558 |

-----  
Variable .. IFNG

| FACTOR            | CODE     | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
|-------------------|----------|--------|-----------|----|---------------------------|--------|
| KEL               | DEFISIEN | 10.500 | 4.673     | 10 | 7.157                     | 13.843 |
| KEL               | VIT_A    | 22.800 | 17.383    | 10 | 10.365                    | 35.235 |
| For entire sample |          | 16.650 | 13.903    | 20 | 10.143                    | 23.157 |

-----  
Variable .. IL4

| FACTOR            | CODE     | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
|-------------------|----------|--------|-----------|----|---------------------------|--------|
| KEL               | DEFISIEN | 4.900  | 1.524     | 10 | 3.810                     | 5.990  |
| KEL               | VIT_A    | 15.000 | 10.077    | 10 | 7.791                     | 22.209 |
| For entire sample |          | 9.950  | 8.721     | 20 | 5.869                     | 14.031 |

-----  
Variable .. IL10

| FACTOR            | CODE     | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
|-------------------|----------|--------|-----------|----|---------------------------|--------|
| KEL               | DEFISIEN | 3.200  | .919      | 10 | 2.543                     | 3.857  |
| KEL               | VIT_A    | 18.300 | 16.614    | 10 | 6.415                     | 30.185 |
| For entire sample |          | 10.750 | 13.826    | 20 | 4.279                     | 17.221 |

-----  
Variable .. IGA

| FACTOR            | CODE     | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
|-------------------|----------|--------|-----------|----|---------------------------|--------|
| KEL               | DEFISIEN | 3.600  | 2.459     | 10 | 1.841                     | 5.359  |
| KEL               | VIT_A    | 13.100 | 10.049    | 10 | 5.911                     | 20.289 |
| For entire sample |          | 8.350  | 8.628     | 20 | 4.312                     | 12.388 |

-----  
Variable .. IGG

| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|---------------------------|--------|
| KEL               | DEFISIEN | 5.300 | 2.111     | 10 | 3.790                     | 6.810  |
| KEL               | VIT_A    | 9.600 | 6.535     | 10 | 4.925                     | 14.275 |
| For entire sample |          | 7.450 | 5.216     | 20 | 5.009                     | 9.891  |

## Variable .. IGM

| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|---------------------------|--------|
| KEL               | DEFISIEN | 8.200 | 3.190     | 10 | 5.918                     | 10.482 |
| KEL               | VIT_A    | 8.900 | 4.654     | 10 | 5.571                     | 12.229 |
| For entire sample |          | 8.550 | 3.900     | 20 | 6.725                     | 10.375 |

-----  
Variable .. CD11B

| FACTOR            | CODE     | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
|-------------------|----------|--------|-----------|----|---------------------------|--------|
| KEL               | DEFISIEN | 6.500  | 2.121     | 10 | 4.982                     | 8.018  |
| KEL               | VIT_A    | 10.700 | 6.183     | 10 | 6.277                     | 15.123 |
| For entire sample |          | 8.600  | 4.988     | 20 | 6.265                     | 10.935 |

||||| ANALYSIS OF VARIANCE - DESIGN |||||

EFFECT .. KEL

Multivariate Tests of Significance (S = 1, M = 5, N = 2 1/2)

| Test Name  | Value   | Approx. F | Hypoth. DF | Error DF | Sig. of F |
|------------|---------|-----------|------------|----------|-----------|
| Pillais    | .90707  | 5.69387   | 12.00      | 7.00     | .014      |
| Hotellings | 9.76092 | 5.69387   | 12.00      | 7.00     | .014      |
| Wilks      | .09293  | 5.69387   | 12.00      | 7.00     | .014 ✓    |
| Rays       | .90707  |           |            |          |           |

Eigenvalues and Canonical Correlations

| Root No. | Eigenvalue | Pct.      | Cum. Pct. | Canon Cor. |
|----------|------------|-----------|-----------|------------|
| 1        | 9.76092    | 100.00000 | 100.00000 | .95240     |

Univariate F-tests with (1,18) D. F.

| Variable | Hypoth. SS | Error SS   | Hypoth. MS | Error MS  | F        | Sig. of F |
|----------|------------|------------|------------|-----------|----------|-----------|
| DC       | 7.20000    | 256.60000  | 7.20000    | 14.25556  | .50507   | .486      |
| NK       | 186.05000  | 280.50000  | 186.05000  | 15.58333  | 11.93904 | .003      |
| CD4      | 174.05000  | 4616.50000 | 174.05000  | 256.47222 | .67863   | .421      |
| CD8      | 744.20000  | 4125.60000 | 744.20000  | 229.20000 | 3.24695  | .088      |
| IL2      | 1566.45000 | 2816.50000 | 1566.45000 | 156.47222 | 10.01104 | .005      |
| IFNG     | 756.45000  | 2916.10000 | 756.45000  | 162.00556 | 4.66928  | .044      |
| IL4      | 510.05000  | 934.90000  | 510.05000  | 51.93889  | 9.82019  | .006      |
| IL10     | 1140.05000 | 2491.70000 | 1140.05000 | 138.42778 | 8.23570  | .010      |
| IGA      | 451.25000  | 963.30000  | 451.25000  | 53.51667  | 8.43195  | .009      |
| IGG      | 92.45000   | 424.50000  | 92.45000   | 23.58333  | 3.92014  | .063      |
| IGN      | 2.45000    | 286.50000  | 2.45000    | 15.91667  | .15393   | .699      |
| CD11B    | 88.20000   | 384.60000  | 88.20000   | 21.36667  | 4.12793  | .057      |

Averaged F-test with (12,216) D. F.

| VARIABLES | Hypoth. SS | Error SS    | Hypoth. MS | Error MS | F       | Sig. of F |
|-----------|------------|-------------|------------|----------|---------|-----------|
| 1 to 12   | 5718.85000 | 20497.30000 | 476.57083  | 94.89491 | 5.02209 | .000      |

Lampiran 12

DAERAH EFFECTOR DIBERI LPS negatif

pro if (POSISI=2).

MAN DC NK CD4 CD8 IL2 IFNG IL4 IL10 IgA IgG IgM CD11b BY KEL(1,2)/pri cell (all)/pri homo (all)/pri sIgnif (all)/disc/deslg.

- 20 cases accepted.
- 10 cases rejected because of out-of-range factor values.
- 0 cases rejected because of missing data.
- 2 non-empty cells.
- 1 design will be processed.

```

-----
                CELL NUMBER
                1   2
Variable
KEL             1   2
    
```

Cell Means and Standard Deviations

Variable .. DC

| FACTOR            | CODE     | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
|-------------------|----------|--------|-----------|----|---------------------------|--------|
| KEL               | DEFISIEN | 8.400  | 1.955     | 10 | 7.001                     | 9.799  |
| KEL               | KONTROL  | 12.600 | 7.749     | 10 | 7.057                     | 18.143 |
| For entire sample |          | 10.500 | 5.907     | 20 | 7.735                     | 13.265 |

Variable .. NK

| FACTOR            | CODE     | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
|-------------------|----------|--------|-----------|----|---------------------------|--------|
| KEL               | DEFISIEN | 12.800 | 19.188    | 10 | -.926                     | 26.526 |
| KEL               | KONTROL  | 9.800  | 5.371     | 10 | 5.958                     | 13.642 |
| For entire sample |          | 11.300 | 13.800    | 20 | 4.842                     | 17.758 |

Variable .. CD4

| FACTOR            | CODE     | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
|-------------------|----------|--------|-----------|----|---------------------------|--------|
| KEL               | DEFISIEN | 14.100 | 14.806    | 10 | 3.509                     | 24.691 |
| KEL               | KONTROL  | 28.200 | 24.091    | 10 | 10.966                    | 45.434 |
| For entire sample |          | 21.150 | 20.763    | 20 | 11.433                    | 30.867 |

Variable .. CD8

| FACTOR            | CODE     | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
|-------------------|----------|--------|-----------|----|---------------------------|--------|
| KEL               | DEFISIEN | 13.400 | 14.447    | 10 | 3.065                     | 23.735 |
| KEL               | KONTROL  | 20.800 | 27.967    | 10 | .793                      | 40.807 |
| For entire sample |          | 17.100 | 21.995    | 20 | 6.806                     | 27.394 |

Variable .. IL2

| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|---------------------------|--------|
| KEL               | DEFISIEN | 4.400 | 1.174     | 10 | 3.560                     | 5.240  |
| KEL               | KONTROL  | 6.500 | 5.255     | 10 | 2.741                     | 10.259 |
| For entire sample |          | 5.450 | 3.859     | 20 | 3.644                     | 7.256  |

| -----             |          |        |           |    |                           |        |
|-------------------|----------|--------|-----------|----|---------------------------|--------|
| Variable .. IFNG  |          |        |           |    |                           |        |
| FACTOR            | CODE     | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
| KEL               | DEFISIEN | 7.000  | 4.522     | 10 | 3.765                     | 10.235 |
| KEL               | KONTROL  | 21.200 | 18.438    | 10 | 8.010                     | 34.390 |
| For entire sample |          | 14.100 | 14.959    | 20 | 7.099                     | 21.101 |
| -----             |          |        |           |    |                           |        |
| Variable .. IL4   |          |        |           |    |                           |        |
| FACTOR            | CODE     | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
| KEL               | DEFISIEN | 5.500  | 2.915     | 10 | 3.414                     | 7.586  |
| KEL               | KONTROL  | 18.600 | 16.043    | 10 | 7.124                     | 30.076 |
| For entire sample |          | 12.050 | 13.081    | 20 | 5.928                     | 18.172 |
| -----             |          |        |           |    |                           |        |
| Variable .. IL10  |          |        |           |    |                           |        |
| FACTOR            | CODE     | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
| KEL               | DEFISIEN | 3.900  | 3.446     | 10 | 1.435                     | 6.365  |
| KEL               | KONTROL  | 9.400  | 7.214     | 10 | 4.239                     | 14.561 |
| For entire sample |          | 6.650  | 6.184     | 20 | 3.756                     | 9.544  |
| -----             |          |        |           |    |                           |        |
| Variable .. IGA   |          |        |           |    |                           |        |
| FACTOR            | CODE     | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
| KEL               | DEFISIEN | 1.300  | .483      | 10 | .954                      | 1.646  |
| KEL               | KONTROL  | 5.600  | 1.713     | 10 | 4.375                     | 6.825  |
| For entire sample |          | 3.450  | 2.523     | 20 | 2.269                     | 4.631  |
| -----             |          |        |           |    |                           |        |
| Variable .. IGG   |          |        |           |    |                           |        |
| FACTOR            | CODE     | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
| KEL               | DEFISIEN | 2.300  | .823      | 10 | 1.711                     | 2.889  |
| KEL               | KONTROL  | 3.900  | 1.287     | 10 | 2.980                     | 4.820  |
| For entire sample |          | 3.100  | 1.334     | 20 | 2.476                     | 3.724  |
| -----             |          |        |           |    |                           |        |
| Variable .. IGM   |          |        |           |    |                           |        |
| FACTOR            | CODE     | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
| KEL               | DEFISIEN | 3.000  | 1.414     | 10 | 1.988                     | 4.012  |
| KEL               | KONTROL  | 5.100  | 2.923     | 10 | 3.009                     | 7.191  |
| For entire sample |          | 4.050  | 2.481     | 20 | 2.889                     | 5.211  |
| -----             |          |        |           |    |                           |        |
| Variable .. CD11B |          |        |           |    |                           |        |
| FACTOR            | CODE     | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
| KEL               | DEFISIEN | 1.900  | .568      | 10 | 1.494                     | 2.306  |
| KEL               | KONTROL  | 7.000  | 3.621     | 10 | 4.410                     | 9.590  |
| For entire sample |          | 4.450  | 3.634     | 20 | 2.749                     | 6.151  |



† † † † † ANALYSIS OF VARIANCE — DESIGN † † † † †

EFFECT .. KEL

Multivariate Tests of Significance (S = 1, M = 5, N = 2 1/2)

| Test Name  | Value   | Approx. F | Hypoth. DF | Error DF | Sig. of F |
|------------|---------|-----------|------------|----------|-----------|
| Pillais    | .89060  | 4.74874   | 12.00      | 7.00     | .024      |
| Hotellings | 8.14069 | 4.74874   | 12.00      | 7.00     | .024      |
| Wilks      | .10940  | 4.74874   | 12.00      | 7.00     | .024      |
| Roys       | .89060  |           |            |          |           |

Eigenvalues and Canonical Correlations

| Root No. | Eigenvalue | Pct.      | Cum. Pct. | Canon Cor. |
|----------|------------|-----------|-----------|------------|
| 1        | 8.14069    | 100.00000 | 100.00000 | .94372     |

Univariate F-tests with (1,13) D. F.

| Variable | Hypoth. SS | Error SS   | Hypoth. MS | Error MS  | F        | Sig. of F |
|----------|------------|------------|------------|-----------|----------|-----------|
| DC       | 88.20000   | 574.80000  | 88.20000   | 31.93333  | 2.76200  | .114      |
| NK       | 45.00000   | 3573.20000 | 45.00000   | 198.51111 | .22669   | .640      |
| CD4      | 994.05000  | 7196.50000 | 994.05000  | 399.80556 | 2.48633  | .132      |
| CDB      | 273.80000  | 8918.00000 | 273.80000  | 495.44444 | .55264   | .467      |
| IL2      | 22.05000   | 260.90000  | 22.05000   | 14.49444  | 1.52127  | .233      |
| IFNG     | 1008.20000 | 3243.60000 | 1008.20000 | 180.20000 | 5.59489  | .029      |
| IL4      | 858.05000  | 2392.90000 | 858.05000  | 132.93889 | 6.45447  | .020      |
| IL10     | 151.25000  | 575.30000  | 151.25000  | 31.96111  | 4.73231  | .043      |
| IGA      | 92.45000   | 28.50000   | 92.45000   | 1.58333   | 58.38947 | .000      |
| IGG      | 12.80000   | 21.00000   | 12.80000   | 1.16667   | 10.97143 | .004      |
| IGM      | 22.05000   | 94.90000   | 22.05000   | 5.27222   | 4.18230  | .056      |
| CD11B    | 130.05000  | 120.90000  | 130.05000  | 6.71667   | 19.36228 | .000      |

Averaged F-test with (12,216) D. F.

| VARIABLES | Hypoth. SS | Error SS    | Hypoth. MS | Error MS  | F       | Sig. of F |
|-----------|------------|-------------|------------|-----------|---------|-----------|
| 1 to 12   | 3697.95000 | 27000.50000 | 308.16250  | 125.00231 | 2.46525 | .005      |

## Lampiran 13

DAERAH EFFECTOR DIBERI LPS negatif

pro if (POSISI=2).

MAN DC NK CD4 CD8 IL2 IFNG IL4 IL10 IgA IgG IgM CD11b BY KEL(2,3)/pri cell (all)/pri homo (all)/pri signif (all)/disc/desig.

20 cases accepted.

10 cases rejected because of out-of-range factor values.

0 cases rejected because of missing data.

2 non-empty cells.

1 design will be processed.

```

-----
                CELL NUMBER
                1   2
Variable
KEL             1   2

```

Cell Means and Standard Deviations

Variable .. DC

| FACTOR            | CODE    | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent | Conf. Interval |
|-------------------|---------|--------|-----------|----|------------|----------------|
| KEL               | KONTROL | 12.600 | 7.749     | 10 | 7.057      | 18.143         |
| KEL               | VIT_A   | 6.300  | 2.163     | 10 | 4.753      | 7.847          |
| For entire sample |         | 9.450  | 6.411     | 20 | 6.449      | 12.451         |

Variable .. NK

| FACTOR            | CODE    | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent | Conf. Interval |
|-------------------|---------|-------|-----------|----|------------|----------------|
| KEL               | KONTROL | 9.800 | 5.371     | 10 | 5.958      | 13.642         |
| KEL               | VIT_A   | 7.100 | 4.228     | 10 | 4.075      | 10.125         |
| For entire sample |         | 8.450 | 4.904     | 20 | 6.155      | 10.745         |

Variable .. CD4

| FACTOR            | CODE    | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent | Conf. Interval |
|-------------------|---------|--------|-----------|----|------------|----------------|
| KEL               | KONTROL | 28.200 | 24.091    | 10 | 10.966     | 45.434         |
| KEL               | VIT_A   | 27.400 | 28.147    | 10 | 7.265      | 47.535         |
| For entire sample |         | 27.800 | 25.503    | 20 | 15.864     | 39.736         |

Variable .. CD8

| FACTOR            | CODE    | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent | Conf. Interval |
|-------------------|---------|--------|-----------|----|------------|----------------|
| KEL               | KONTROL | 20.800 | 27.967    | 10 | .793       | 40.807         |
| KEL               | VIT_A   | 22.300 | 25.215    | 10 | 4.262      | 40.338         |
| For entire sample |         | 21.550 | 25.928    | 20 | 9.415      | 33.685         |

Variable .. IL2

| FACTOR            | CODE    | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent | Conf. Interval |
|-------------------|---------|--------|-----------|----|------------|----------------|
| KEL               | KONTROL | 6.500  | 5.255     | 10 | 2.741      | 10.259         |
| KEL               | VIT_A   | 19.100 | 13.503    | 10 | 9.441      | 28.759         |
| For entire sample |         | 12.800 | 11.884    | 20 | 7.238      | 18.362         |

```

-----
Variable .. IFNG
  FACTOR      CODE      Mean Std. Dev.      N 95 percent Conf. Interval

  KEL        KONTROL      21.200  18.438      10  8.010  34.390
  KEL        VIT_A        29.600  22.152      10  13.753  45.447
For entire sample      25.400  20.299      20  15.900  34.900

```

```

-----
Variable .. IL4
  FACTOR      CODE      Mean Std. Dev.      N 95 percent Conf. Interval

  KEL        KONTROL      18.600  16.043      10  7.124  30.076
  KEL        VIT_A        34.200  28.990      10  13.462  54.938
For entire sample      26.400  24.167      20  15.090  37.710

```

```

-----
Variable .. IL10
  FACTOR      CODE      Mean Std. Dev.      N 95 percent Conf. Interval

  KEL        KONTROL      9.400   7.214      10  4.239  14.561
  KEL        VIT_A        10.900  10.806      10  3.170  18.630
For entire sample      10.150   8.975      20  5.949  14.351

```

```

-----
Variable .. IGA
  FACTOR      CODE      Mean Std. Dev.      N 95 percent Conf. Interval

  KEL        KONTROL      5.600   1.713      10  4.375   6.825
  KEL        VIT_A        7.100   4.458      10  3.911  10.289
For entire sample      6.350   3.376      20  4.770   7.930

```

```

-----
Variable .. IGG
  FACTOR      CODE      Mean Std. Dev.      N 95 percent Conf. Interval

  KEL        KONTROL      3.900   1.287      10  2.980   4.820
  KEL        VIT_A        5.700   4.347      10  2.590   8.810
For entire sample      4.800   3.254      20  3.277   6.323

```

```

-----
Variable .. IGM
  FACTOR      CODE      Mean Std. Dev.      N 95 percent Conf. Interval

  KEL        KONTROL      5.100   2.923      10  3.009   7.191
  KEL        VIT_A        15.900  20.108      10  1.516  30.284
For entire sample      10.500  15.042      20  3.460  17.540

```

```

-----
Variable .. CD11B
  FACTOR      CODE      Mean Std. Dev.      N 95 percent Conf. Interval

  KEL        KONTROL      7.000   3.621      10  4.410   9.590
  KEL        VIT_A        10.000   8.000      10  4.277  15.723
For entire sample      8.500   6.237      20  5.581  11.419

```

\*\*\*\*\* ANALYSIS OF VARIANCE -- DESIGN \*\*\*\*\*

EFFECT .. KEL

Multivariate Tests of Significance (S = 1, M = 5, N = 2 1/2)

| Test Name  | Value   | Approx. F | Hypoth. DF | Error DF | Sig. of F |
|------------|---------|-----------|------------|----------|-----------|
| Pillais    | .79519  | 2.26486   | 12.00      | 7.00     | .142      |
| Hotellings | 3.88262 | 2.26486   | 12.00      | 7.00     | .142      |
| Wilks      | .20481  | 2.26486   | 12.00      | 7.00     | .142 ✓    |
| Roys       | .79519  |           |            |          |           |

Eigenvalues and Canonical Correlations

| Root No. | Eigenvalue | Pct.      | Cum. Pct. | Canon Cor. |
|----------|------------|-----------|-----------|------------|
| 1        | 3.88262    | 100.00000 | 100.00000 | .69174     |

Univariate F-tests with (1,18) D. F.

| Variable | Hypoth. SS | Error SS    | Hypoth. MS | Error MS  | F       | Sig. of F |
|----------|------------|-------------|------------|-----------|---------|-----------|
| DC       | 198.45000  | 582.50000   | 198.45000  | 32.36111  | 6.13236 | .023      |
| NK       | 36.45000   | 420.50000   | 36.45000   | 23.36111  | 1.56029 | .228      |
| CD4      | 3.20000    | 12354.00000 | 3.20000    | 686.33333 | .00466  | .946      |
| CDB      | 11.25000   | 12761.70000 | 11.25000   | 708.98333 | .01587  | .901      |
| IL2      | 793.80000  | 1889.40000  | 793.80000  | 104.96667 | 7.56240 | .013      |
| IFNG     | 352.80000  | 7476.00000  | 352.80000  | 415.33333 | .84944  | .369      |
| IL4      | 1216.80000 | 9880.00000  | 1216.80000 | 548.88889 | 2.21684 | .154      |
| IL10     | 11.25000   | 1519.30000  | 11.25000   | 84.40556  | .13329  | .719      |
| IGA      | 11.25000   | 205.30000   | 11.25000   | 11.40556  | .98636  | .334      |
| IGG      | 16.20000   | 185.00000   | 16.20000   | 10.27778  | 1.57622 | .225      |
| IGM      | 583.20000  | 3715.80000  | 583.20000  | 206.43333 | 2.82513 | .110      |
| CD11B    | 45.00000   | 694.00000   | 45.00000   | 38.55556  | 1.16715 | .294      |

Averaged F-test with (12,216) D. F.

| VARIABLES | Hypoth. SS | Error SS    | Hypoth. MS | Error MS  | F       | Sig. of F |
|-----------|------------|-------------|------------|-----------|---------|-----------|
| 1 to 12   | 3279.65000 | 51683.50000 | 273.30417  | 239.27546 | 1.14222 | .327      |

Lampiran 14

DAERAH EFFECTOR DIBERI LPS negatif

pro if (POSISI=2).

MAN DC NK CD4 CD8 IL2 IFNG IL4 IL10 IgA IgG IgM CD11b BY KEL(1,2)/pri cell (all)/pri homo (all)/pri signif (all)/disc/desig.

20 cases accepted.  
 10 cases rejected because of out-of-range factor values.  
 0 cases rejected because of missing data.  
 2 non-empty cells.  
 1 design will be processed.

```
-----
                CELL NUMBER
                1  2
Variable
KEL            1  2
```

Cell Means and Standard Deviations

Variable .. DC

| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent | Conf. Interval |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|------------|----------------|
| KEL               | DEFISIEN | 8.400 | 1.955     | 10 | 7.001      | 9.799          |
| KEL               | VIT_A    | 6.300 | 2.163     | 10 | 4.753      | 7.847          |
| For entire sample |          | 7.350 | 2.277     | 20 | 6.284      | 8.416          |

Variable .. NK

| FACTOR            | CODE     | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent | Conf. Interval |
|-------------------|----------|--------|-----------|----|------------|----------------|
| KEL               | DEFISIEN | 12.800 | 19.188    | 10 | -.926      | 26.526         |
| KEL               | VIT_A    | 7.100  | 4.228     | 10 | 4.075      | 10.125         |
| For entire sample |          | 9.950  | 13.835    | 20 | 3.475      | 16.425         |

Variable .. CD4

| FACTOR            | CODE     | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent | Conf. Interval |
|-------------------|----------|--------|-----------|----|------------|----------------|
| KEL               | DEFISIEN | 14.100 | 14.806    | 10 | 3.509      | 24.691         |
| KEL               | VIT_A    | 27.400 | 28.147    | 10 | 7.265      | 47.535         |
| For entire sample |          | 20.750 | 22.928    | 20 | 10.020     | 31.480         |

Variable .. CD8

| FACTOR            | CODE     | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent | Conf. Interval |
|-------------------|----------|--------|-----------|----|------------|----------------|
| KEL               | DEFISIEN | 13.400 | 14.447    | 10 | 3.065      | 23.735         |
| KEL               | VIT_A    | 22.300 | 25.215    | 10 | 4.262      | 40.338         |
| For entire sample |          | 17.850 | 20.515    | 20 | 8.249      | 27.451         |

Variable .. IL2

| FACTOR            | CODE     | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent | Conf. Interval |
|-------------------|----------|--------|-----------|----|------------|----------------|
| KEL               | DEFISIEN | 4.400  | 1.174     | 10 | 3.560      | 5.240          |
| KEL               | VIT_A    | 19.100 | 13.503    | 10 | 9.441      | 28.759         |
| For entire sample |          | 11.750 | 11.995    | 20 | 6.136      | 17.364         |

```

-----
Variable .. IFNG
  FACTOR      CODE          Mean Std. Dev.      N 95 percent Conf. Interval

  KEL        DEFISIEN      7.000  4.522      10  3.765  10.235
  KEL        VIT_A        29.600  22.152     10  13.753  45.447
For entire sample      18.300  19.405     20  9.218  27.382

```

```

-----
Variable .. IL4
  FACTOR      CODE          Mean Std. Dev.      N 95 percent Conf. Interval

  KEL        DEFISIEN      5.500  2.915      10  3.414  7.586
  KEL        VIT_A        34.200  28.990     10  13.462  54.938
For entire sample      19.850  24.877     20  8.207  31.493

```

```

-----
Variable .. IL10
  FACTOR      CODE          Mean Std. Dev.      N 95 percent Conf. Interval

  KEL        DEFISIEN      3.900  3.446      10  1.435  6.365
  KEL        VIT_A        10.900  10.806     10  3.170  18.630
For entire sample      7.400  8.593      20  3.379  11.421

```

```

-----
Variable .. IGA
  FACTOR      CODE          Mean Std. Dev.      N 95 percent Conf. Interval

  KEL        DEFISIEN      1.300  .483       10  .954  1.646
  KEL        VIT_A        7.100  4.458     10  3.911  10.289
For entire sample      4.200  4.287     20  2.194  6.206

```

```

-----
Variable .. IGG
  FACTOR      CODE          Mean Std. Dev.      N 95 percent Conf. Interval

  KEL        DEFISIEN      2.300  .823       10  1.711  2.889
  KEL        VIT_A        5.700  4.347     10  2.590  8.810
For entire sample      4.000  3.509     20  2.358  5.642

```

```

-----
Variable .. IGM
  FACTOR      CODE          Mean Std. Dev.      N 95 percent Conf. Interval

  KEL        DEFISIEN      3.000  1.414     10  1.988  4.012
  KEL        VIT_A        15.900  20.108    10  1.516  30.284
For entire sample      9.450  15.371    20  2.256  16.644

```

```

-----
Variable .. CD11B
  FACTOR      CODE          Mean Std. Dev.      N 95 percent Conf. Interval

  KEL        DEFISIEN      1.900  .568       10  1.494  2.306
  KEL        VIT_A        10.000  8.000     10  4.277  15.723
For entire sample      5.950  6.909     20  2.716  9.184

```

++++ ANALYSIS OF VARIANCE -- DESIGN 1 +++++

EFFECT .. KEL

Multivariate Tests of Significance (S = 1, M = 5, N = 2 1/2)

| Test Name  | Value    | Approx. F | Hypoth. DF | Error DF | Sig. of F |
|------------|----------|-----------|------------|----------|-----------|
| Pillais    | .91474   | 6.25868   | 12.00      | 7.00     | .011      |
| Hotellings | 10.72917 | 6.25868   | 12.00      | 7.00     | .011      |
| Wilks      | .08526   | 6.25868   | 12.00      | 7.00     | .011 ✓    |
| Roys       | .91474   |           |            |          |           |

Eigenvalues and Canonical Correlations

| Root No. | Eigenvalue | Pct.      | Cum. Pct. | Canon Cor. |
|----------|------------|-----------|-----------|------------|
| 1        | 10.72917   | 100.00000 | 100.00000 | .95642     |

Univariate F-tests with (1,18) D. F.

| Variable | Hypoth. SS | Error SS   | Hypoth. MS | Error MS  | F        | Sig. of F |
|----------|------------|------------|------------|-----------|----------|-----------|
| DC       | 22.05000   | 76.50000   | 22.05000   | 4.25000   | 5.18824  | .035      |
| NK       | 162.45000  | 3474.50000 | 162.45000  | 193.02778 | .84159   | .371      |
| CD4      | 884.45000  | 9103.30000 | 884.45000  | 505.73889 | 1.74883  | .203      |
| CD8      | 396.05000  | 7600.50000 | 396.05000  | 422.25000 | .93795   | .346      |
| IL2      | 1080.45000 | 1653.30000 | 1080.45000 | 91.85000  | 11.76320 | .003      |
| IFNG     | 2553.80000 | 4600.40000 | 2553.80000 | 255.57778 | 9.99226  | .005      |
| IL4      | 4118.45000 | 7640.10000 | 4118.45000 | 424.45000 | 9.70303  | .006      |
| IL10     | 245.00000  | 1157.80000 | 245.00000  | 64.32222  | 3.80895  | .067      |
| IGA      | 168.20000  | 181.00000  | 168.20000  | 10.05556  | 16.72707 | .001      |
| IGG      | 57.80000   | 176.20000  | 57.80000   | 9.78889   | 5.90465  | .026      |
| IGM      | 832.05000  | 3656.90000 | 832.05000  | 203.16111 | 4.09552  | .058      |
| CD11B    | 328.05000  | 578.90000  | 328.05000  | 32.16111  | 10.20021 | .005      |

Averaged F-test with (12,216) D. F.

| VARIABLES | Hypoth. SS  | Error SS    | Hypoth. MS | Error MS  | F       | Sig. of F |
|-----------|-------------|-------------|------------|-----------|---------|-----------|
| 1 to 12   | 10848.80000 | 37899.40000 | 904.06667  | 184.71944 | 4.89427 | .000      |

Lampiran 15

TABLE 1. Descriptive Statistics for Dependent Variables  
 pro if (FOSISI=1).  
 MAN DC NK CD4 CD8 IL2 IFNG IL4 IL10 I0A I0G I0M CD11b BY KEL(1,3)/pri cell (all)/pri homo (all)/pri signif (all)/disc/desig.

30 cases accepted.  
 0 cases rejected because of out-of-range factor values.  
 0 cases rejected because of missing data.  
 3 non-empty cells.  
 1 design will be processed.

CELL NUMBER  
 1 2 3

Variable  
 KEL 1 2 3

Cell Means and Standard Deviations

Variable .. DC

| FACTOR            | CODE     | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
|-------------------|----------|--------|-----------|----|---------------------------|--------|
| KEL               | DEFISIEN | 9.500  | 3.308     | 10 | 7.133                     | 11.867 |
| KEL               | KONTROL  | 9.700  | 7.409     | 10 | 4.400                     | 15.000 |
| KEL               | VIT_A    | 10.700 | 4.191     | 10 | 7.702                     | 13.698 |
| For entire sample |          | 9.967  | 5.116     | 30 | 8.056                     | 11.877 |

Variable .. NK

| FACTOR            | CODE     | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
|-------------------|----------|--------|-----------|----|---------------------------|--------|
| KEL               | DEFISIEN | 6.100  | 3.479     | 10 | 3.612                     | 8.588  |
| KEL               | KONTROL  | 9.800  | 3.553     | 10 | 7.258                     | 12.342 |
| KEL               | VIT_A    | 12.200 | 4.367     | 10 | 9.076                     | 15.324 |
| For entire sample |          | 9.367  | 4.484     | 30 | 7.692                     | 11.041 |

Variable .. CD4

| FACTOR            | CODE     | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
|-------------------|----------|--------|-----------|----|---------------------------|--------|
| KEL               | DEFISIEN | 20.200 | 17.022    | 10 | 8.024                     | 32.376 |
| KEL               | KONTROL  | 31.800 | 24.603    | 10 | 14.200                    | 49.400 |
| KEL               | VIT_A    | 26.100 | 14.940    | 10 | 15.412                    | 36.788 |
| For entire sample |          | 26.033 | 19.242    | 30 | 18.848                    | 33.218 |

Variable .. CD8

| FACTOR            | CODE     | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
|-------------------|----------|--------|-----------|----|---------------------------|--------|
| KEL               | DEFISIEN | 24.000 | 19.195    | 10 | 10.269                    | 37.731 |
| KEL               | KONTROL  | 23.500 | 23.382    | 10 | 6.773                     | 40.227 |
| KEL               | VIT_A    | 11.800 | 9.484     | 10 | 5.015                     | 18.585 |
| For entire sample |          | 19.767 | 18.569    | 30 | 12.833                    | 26.700 |

Variable .. IL2

| FACTOR            | CODE     | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
|-------------------|----------|--------|-----------|----|---------------------------|--------|
| KEL               | DEFISIEN | 4.600  | 1.647     | 10 | 3.422                     | 5.778  |
| KEL               | KONTROL  | 25.500 | 16.828    | 10 | 13.462                    | 37.538 |
| KEL               | VIT_A    | 22.300 | 17.613    | 10 | 9.700                     | 34.900 |
| For entire sample |          | 17.467 | 16.504    | 30 | 11.304                    | 23.630 |



| Variable .. IFNE  |          |        |           |    |                           |        |
|-------------------|----------|--------|-----------|----|---------------------------|--------|
| FACTOR            | CODE     | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
| KEL               | DEFISIEN | 10.500 | 4.673     | 10 | 7.157                     | 13.843 |
| KEL               | KONTROL  | 17.300 | 7.675     | 10 | 11.810                    | 22.790 |
| KEL               | VIT_A    | 22.800 | 17.383    | 10 | 10.365                    | 35.235 |
| For entire sample |          | 16.867 | 12.042    | 30 | 12.370                    | 21.363 |

| Variable .. IL4   |          |        |           |    |                           |        |
|-------------------|----------|--------|-----------|----|---------------------------|--------|
| FACTOR            | CODE     | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
| KEL               | DEFISIEN | 4.900  | 1.524     | 10 | 3.810                     | 5.990  |
| KEL               | KONTROL  | 20.300 | 14.989    | 10 | 9.577                     | 31.023 |
| KEL               | VIT_A    | 15.000 | 10.077    | 10 | 7.791                     | 22.209 |
| For entire sample |          | 13.400 | 12.007    | 30 | 8.916                     | 17.884 |

| Variable .. IL10  |          |        |           |    |                           |        |
|-------------------|----------|--------|-----------|----|---------------------------|--------|
| FACTOR            | CODE     | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
| KEL               | DEFISIEN | 3.200  | .919      | 10 | 2.543                     | 3.857  |
| KEL               | KONTROL  | 18.500 | 15.883    | 10 | 7.138                     | 29.862 |
| KEL               | VIT_A    | 18.300 | 16.614    | 10 | 6.415                     | 30.185 |
| For entire sample |          | 13.333 | 14.742    | 30 | 7.828                     | 18.838 |

| Variable .. IGA   |          |        |           |    |                           |        |
|-------------------|----------|--------|-----------|----|---------------------------|--------|
| FACTOR            | CODE     | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
| KEL               | DEFISIEN | 3.600  | 2.459     | 10 | 1.841                     | 5.359  |
| KEL               | KONTROL  | 14.200 | 7.569     | 10 | 8.786                     | 19.614 |
| KEL               | VIT_A    | 13.100 | 10.049    | 10 | 5.911                     | 20.289 |
| For entire sample |          | 10.300 | 8.627     | 30 | 7.079                     | 13.521 |

| Variable .. IGG   |          |       |           |    |                           |        |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|---------------------------|--------|
| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
| KEL               | DEFISIEN | 5.300 | 2.111     | 10 | 3.790                     | 6.810  |
| KEL               | KONTROL  | 8.300 | 4.809     | 10 | 4.860                     | 11.740 |
| KEL               | VIT_A    | 9.600 | 6.535     | 10 | 4.925                     | 14.275 |
| For entire sample |          | 7.733 | 5.017     | 30 | 5.860                     | 9.607  |

| Variable .. IGM   |          |        |           |    |                           |        |
|-------------------|----------|--------|-----------|----|---------------------------|--------|
| FACTOR            | CODE     | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
| KEL               | DEFISIEN | 8.200  | 3.190     | 10 | 5.918                     | 10.482 |
| KEL               | KONTROL  | 11.100 | 6.154     | 10 | 6.697                     | 15.503 |
| KEL               | VIT_A    | 8.900  | 4.654     | 10 | 5.571                     | 12.229 |
| For entire sample |          | 9.400  | 4.818     | 30 | 7.601                     | 11.199 |

| Variable .. CD11B |          |        |           |    |                           |        |
|-------------------|----------|--------|-----------|----|---------------------------|--------|
| FACTOR            | CODE     | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
| KEL               | DEFISIEN | 6.500  | 2.121     | 10 | 4.982                     | 8.018  |
| KEL               | KONTROL  | 11.100 | 7.445     | 10 | 5.774                     | 16.426 |
| KEL               | VIT_A    | 10.700 | 6.183     | 10 | 6.277                     | 15.123 |
| For entire sample |          | 9.433  | 5.911     | 30 | 7.226                     | 11.641 |

----- DISCRIMINANT ANALYSIS -----

On groups defined by KEL

Analysis number 2

Direct method: All variables passing the tolerance test are entered.

Minimum Tolerance Level..... .00100

Canonical Discriminant Functions

Maximum number of functions..... 2

Minimum cumulative percent of variance... 100.00

Maximum significance of Wilks' Lambda.... 1.0000

Prior probability for each group is .33333

Classification Function Coefficients  
(Fisher's Linear Discriminant Functions)

| KEL        | = | 1              | 2             | 3             |
|------------|---|----------------|---------------|---------------|
|            |   | DEFISIEN<br>SI | KONTROL       | VIT_A         |
| DC         |   | .4981717       | .4446083E-01  | .2178346      |
| MY         |   | .1006366       | 1.546497      | 1.486885      |
| CD4        |   | .2559281E-01   | .1414335      | .1146827      |
| CD8        |   | .3550856E-01   | -.8103273E-01 | -.9764651E-01 |
| IL2        |   | -.1229007E-01  | .5688388      | .3929490      |
| IFNG       |   | .1383061       | -.3455753     | -.6888461E-01 |
| IL4        |   | -.4665334E-01  | .5881317      | .4365004      |
| IL10       |   | .3481112E-01   | -.5961199     | -.4422888     |
| IGA        |   | -.5540489      | 2.010251      | 1.234831      |
| IGG        |   | .4477267       | -2.202699     | -1.571981     |
| IGM        |   | .4217728       | .5873904E-02  | .4718550E-01  |
| CD11B      |   | -.8910059E-01  | .3758490      | .1355617      |
| (constant) |   | -6.724575      | -22.15778     | -16.55529     |

Canonical Discriminant Functions

| Function | Eigenvalue | Percent of Variance | Cumulative Percent | Canonical Correlation | : After Function | Wilks' Lambda | Chi-squared | D.F. | Significance |
|----------|------------|---------------------|--------------------|-----------------------|------------------|---------------|-------------|------|--------------|
| 1        | 7.15001    | 93.00               | 93.00              | .9366434              | : 0              | .0797640      | 54.367      | 24   | .0004        |
| 2        | .53828     | 7.00                | 100.00             | .5915426              | : 1              | .6500774      | 9.2593      | 11   | .5980        |

1 marks the 2 canonical discriminant functions remaining in the analysis.

## ----- DISCRIMINANT ANALYSIS -----

On groups defined by VEL

Analysis number.. 1

Number of Canonical Discriminant Functions.. 2

List of the 9 Variables used..

Variable Label

-----  
 NI  
 CD4  
 CD8  
 IL2  
 IFNG  
 IL4  
 IL10  
 ISA  
 IGG

Classification Results -

| Actual Group          | No. of Cases | Predicted Group Membership |            |            |
|-----------------------|--------------|----------------------------|------------|------------|
|                       |              | 1                          | 2          | 3          |
| Group 1<br>DEFISIENSI | 10           | 9<br>90.0%                 | 0<br>.0%   | 1<br>10.0% |
| Group 2<br>KONTROL    | 10           | 0<br>.0%                   | 8<br>80.0% | 2<br>20.0% |
| Group 3<br>VIT_A      | 10           | 0<br>.0%                   | 1<br>10.0% | 9<br>90.0% |

Percent of "grouped" cases correctly classified: 86.67%

Classification Processing Summary

- 30 Cases were processed.
- 0 Cases were excluded for missing or out-of-range group codes.
- 0 Cases had at least one missing discriminating variable.
- 30 Cases were used for printed output.

## ----- DISCRIMINANT ANALYSIS -----

On groups defined by XEL

Analysis number.. 2

Number of Canonical Discriminant Functions.. 2

List of the 12 Variables used..

Variable Label

-----  
 DC  
 NK  
 CDA  
 CDB  
 IL2  
 IFNG  
 IL4  
 IL10  
 ISA  
 IGG  
 IGM  
 CD11B

Classification Results -

| Actual Group          | No. of Cases | Predicted Group Membership |            |            |
|-----------------------|--------------|----------------------------|------------|------------|
|                       |              | 1                          | 2          | 3          |
| Group 1<br>DEFISIENSI | 10           | 9<br>90.0%                 | 0<br>.0%   | 1<br>10.0% |
| Group 2<br>KONTROL    | 10           | 0<br>.0%                   | 9<br>90.0% | 1<br>10.0% |
| Group 3<br>VIT_A      | 10           | 0<br>.0%                   | 2<br>20.0% | 8<br>80.0% |

Percent of "grouped" cases correctly classified: 86.67%.

Classification Processing Summary

- 30 Cases were processed.
- 0 Cases were excluded for missing or out-of-range group codes.
- 0 Cases had at least one missing discriminating variable.
- 30 Cases were used for printed output.

Lampiran 16

TITEL 'DAERAH EFEKTOR DIPERIL LPS negatif'.

pro if (POSISI=2).

MAN DC NK CD4 CD8 IL2 IFNG IL4 IL10 IqA IqG IqM CD11b EY KEL(1,3)/pri cell (all)/pri hmo (all)/pri signif (all)/disc/desig.

30 cases accepted.

0 cases rejected because of cut-of-range factor values.

0 cases rejected because of missing data.

3 non-empty cells.

1 design will be processed.

CELL NUMBER

| Variable | 1 | 2 | 3 |
|----------|---|---|---|
| KEL      | 1 | 2 | 3 |

Cell Means and Standard Deviations

Variable .. DC

| FACTOR            | CODE     | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |
|-------------------|----------|--------|-----------|----|---------------------------|
| KEL               | DEFISIEN | 8.400  | 1.955     | 10 | 7.001 9.799               |
| KEL               | KONTROL  | 12.600 | 7.749     | 10 | 7.057 18.143              |
| KEL               | VIT_A    | 6.300  | 2.163     | 10 | 4.753 7.847               |
| For entire sample |          | 9.100  | 5.326     | 30 | 7.111 11.089              |

Variable .. NK

| FACTOR            | CODE     | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |
|-------------------|----------|--------|-----------|----|---------------------------|
| KEL               | DEFISIEN | 12.800 | 19.188    | 10 | -.926 26.526              |
| KEL               | KONTROL  | 9.800  | 5.371     | 10 | 5.958 13.642              |
| KEL               | VIT_A    | 7.100  | 4.228     | 10 | 4.075 10.125              |
| For entire sample |          | 9.900  | 11.592    | 30 | 5.572 14.228              |

Variable .. CD4

| FACTOR            | CODE     | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |
|-------------------|----------|--------|-----------|----|---------------------------|
| KEL               | DEFISIEN | 14.100 | 14.806    | 10 | 3.509 24.691              |
| KEL               | KONTROL  | 28.200 | 24.091    | 10 | 10.966 45.434             |
| KEL               | VIT_A    | 27.400 | 28.147    | 10 | 7.265 47.535              |
| For entire sample |          | 23.233 | 23.179    | 30 | 14.578 31.889             |

Variable .. CD8

| FACTOR            | CODE     | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |
|-------------------|----------|--------|-----------|----|---------------------------|
| KEL               | DEFISIEN | 13.400 | 14.447    | 10 | 3.065 23.735              |
| KEL               | KONTROL  | 20.800 | 27.967    | 10 | .793 40.807               |
| KEL               | VIT_A    | 22.300 | 25.215    | 10 | 4.262 40.338              |
| For entire sample |          | 18.833 | 22.814    | 30 | 10.314 27.352             |

Variable .. IL2

| FACTOR            | CODE     | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |
|-------------------|----------|--------|-----------|----|---------------------------|
| KEL               | DEFISIEN | 4.400  | 1.174     | 10 | 3.560 5.240               |
| KEL               | KONTROL  | 6.500  | 5.255     | 10 | 2.741 10.259              |
| KEL               | VIT_A    | 19.100 | 13.503    | 10 | 9.441 28.759              |
| For entire sample |          | 10.000 | 10.449    | 30 | 6.098 13.902              |

----- DISCRIMINANT ANALYSIS -----

On groups defined by KEL

Analysis number 2

Direct method: All variables passing the tolerance test are entered.

Minimum Tolerance Level..... .00100

Canonical Discriminant Functions

Maximum number of functions..... 2

Minimum cumulative percent of variance... 100.00

Maximum significance of Wilks' Lambda.... 1.0000

Prior probability for each group is .33333

Classification Function Coefficients  
(Fisher's Linear Discriminant Functions)

| KEL        | = | 1              | 2             | 3             |
|------------|---|----------------|---------------|---------------|
|            |   | DEFISIEN<br>SI | KONTROL       | VIT_A         |
| DC         |   | 2.248105       | 1.721035      | .8402132      |
| NK         |   | .1793972       | .8171617E-01  | .1284707      |
| CD4        |   | -.2161278      | -.1362876     | -.2374053     |
| CDE        |   | -.1407841      | -.1744166     | -.9245162E-01 |
| IL2        |   | 1.085697       | .5533423      | .9043938      |
| IFNG       |   | -1.163763      | -.6842324     | -.6594539     |
| IL4        |   | .4512539       | .3649238      | .4792866      |
| IL10       |   | .7404533       | .7227340      | .2205730      |
| IGA        |   | -1.446982      | 2.160909      | .5956107      |
| IGG        |   | 1.728363       | -1.848889     | 1.218705      |
| IGH        |   | .3932457       | -.2090713     | -.1048337     |
| CD11B      |   | -1.125421      | -.4386517E-01 | .2636772      |
| (constant) |   | -10.78913      | -11.70064     | -14.26572     |

Canonical Discriminant Functions

| Function | Eigenvalue | Percent of Variance | Cumulative Percent | Canonical Correlation | : After Function | Wilks' Lambda | Chi-squared | D.F. | Significance |
|----------|------------|---------------------|--------------------|-----------------------|------------------|---------------|-------------|------|--------------|
| 1        | 4.49407    | 62.53               | 62.53              | .9044256              | : 0              | .0492927      | 64.715      | 24   | .0000        |
| 2        | 2.69252    | 37.47               | 100.00             | .8539215              | : 1              | .2708180      | 28.086      | 11   | .0031        |

1 marks the 2 canonical discriminant functions remaining in the analysis.

## ----- DISCRIMINANT ANALYSIS -----

On groups defined by YEL

Analysis number.. 1

Number of Canonical Discriminant Functions.. 2

List of the 8 Variables used..

Variable Label

DC  
IL2  
IFNG  
IL10  
ISA  
ISG  
IGH  
CD11B

Classification Results -

| Actual Group          | No. of Cases | Predicted Group Membership |              |            |
|-----------------------|--------------|----------------------------|--------------|------------|
|                       |              | 1                          | 2            | 3          |
| Group 1<br>DEFISIENSI | 10           | 10<br>100.0%               | 0<br>.0%     | 0<br>.0%   |
| Group 2<br>KONTROL    | 10           | 0<br>.0%                   | 10<br>100.0% | 0<br>.0%   |
| Group 3<br>VIT_A      | 10           | 0<br>.0%                   | 2<br>20.0%   | 8<br>80.0% |

Percent of "grouped" cases correctly classified: 93.33%

Classification Processing Summary

- 30 Cases were processed.
- 0 Cases were excluded for missing or out-of-range group codes.
- 0 Cases had at least one missing discriminating variable.
- 30 Cases were used for printed output.

----- DISCRIMINANT ANALYSIS -----

On groups defined by DEL

Analysis number.. 2

Number of Canonical Discriminant Functions.. 2

List of the 12 Variables used..

Variable Label

- DC
- DK
- CD4
- CD8
- IL2
- IFNG
- IL4
- IL10
- IGA
- IGG
- IGM
- CD11B

Classification Results -

| Actual Group          | No. of Cases | Predicted Group Membership |              |            |
|-----------------------|--------------|----------------------------|--------------|------------|
|                       |              | 1                          | 2            | 3          |
| Group 1<br>DEFISIENSI | 10           | 10<br>100.0%               | 0<br>.0%     | 0<br>.0%   |
| Group 2<br>KONTROL    | 10           | 0<br>.0%                   | 10<br>100.0% | 0<br>.0%   |
| Group 3<br>VIT_A      | 10           | 0<br>.0%                   | 2<br>20.0%   | 8<br>80.0% |

Percent of "grouped" cases correctly classified: 93.33%

Classification Processing Summary

- 30 Cases were processed.
- 0 Cases were excluded for missing or out-of-range group codes.
- 0 Cases had at least one missing discriminating variable.
- 30 Cases were used for printed output.



TITEL 'POLA DAERAH EFFECTOR DIBERI LPS positif'.  
 pro if (POSISI=1).

MAN NY. CD4 CD8 IL2 IFNG IL4 IL10 IgA IgG BY KEL(1,3)/pri cell (all)/pri homo (all)/pri signif (all)/disc/desig.

30 cases accepted.  
 0 cases rejected because of out-of-range factor values.  
 0 cases rejected because of missing data.  
 3 non-empty cells.

1 design will be processed.

```

-----
                CELL NUMBER
                1   2   3
Variable
  KEL           1   2   3
    
```

Cell Means and Standard Deviations

Variable .. NK

| FACTOR            | CODE     | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
|-------------------|----------|--------|-----------|----|---------------------------|--------|
| KEL               | DEFISIEN | 3.206  | 1.828     | 10 | 1.898                     | 4.513  |
| KEL               | KONTROL  | 17.183 | 6.229     | 10 | 12.726                    | 21.639 |
| KEL               | VIT_A    | 20.311 | 7.269     | 10 | 15.110                    | 25.511 |
| For entire sample |          | 13.566 | 9.311     | 30 | 10.090                    | 17.043 |

Variable .. CD4

| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| KEL               | DEFISIEN | .217  | .183      | 10 | .086                      | .348  |
| KEL               | KONTROL  | 4.539 | 3.511     | 10 | 2.027                     | 7.051 |
| KEL               | VIT_A    | 2.891 | 1.655     | 10 | 1.707                     | 4.075 |
| For entire sample |          | 2.549 | 2.823     | 30 | 1.495                     | 3.603 |

Variable .. CD8

| FACTOR            | CODE     | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|----------|--------|-----------|----|---------------------------|-------|
| KEL               | DEFISIEN | 1.524  | 1.219     | 10 | .652                      | 2.396 |
| KEL               | KONTROL  | -1.485 | 1.478     | 10 | -2.542                    | -.428 |
| KEL               | VIT_A    | -.996  | .801      | 10 | -1.569                    | -.423 |
| For entire sample |          | -.319  | 1.771     | 30 | -.980                     | .342  |

Variable .. IL2

| FACTOR            | CODE     | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
|-------------------|----------|--------|-----------|----|---------------------------|--------|
| KEL               | DEFISIEN | .275   | .099      | 10 | .205                      | .346   |
| KEL               | KONTROL  | 14.532 | 9.590     | 10 | 7.672                     | 21.392 |
| KEL               | VIT_A    | 9.087  | 7.177     | 10 | 3.953                     | 14.221 |
| For entire sample |          | 7.965  | 8.957     | 30 | 4.620                     | 11.309 |

| Variable .. IFNF  |          |         |           |    |                           |         |
|-------------------|----------|---------|-----------|----|---------------------------|---------|
| FACTOR            | CODE     | Mean    | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |         |
| KEL               | DEFISIEN | .243    | .108      | 10 | .166                      | .320    |
| KEL               | KONTROL  | -3.552  | 1.576     | 10 | -4.679                    | -2.425  |
| KEL               | VIT_A    | -.915   | .698      | 10 | -1.414                    | -.416   |
| For entire sample |          | -1.408  | 1.880     | 30 | -2.110                    | -.706   |
| -----             |          |         |           |    |                           |         |
| Variable .. IL4   |          |         |           |    |                           |         |
| FACTOR            | CODE     | Mean    | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |         |
| KEL               | DEFISIEN | .261    | .081      | 10 | .203                      | .319    |
| KEL               | KONTROL  | 11.727  | 8.659     | 10 | 5.533                     | 17.922  |
| KEL               | VIT_A    | 6.813   | 4.577     | 10 | 3.539                     | 10.087  |
| For entire sample |          | 6.267   | 7.252     | 30 | 3.559                     | 8.975   |
| -----             |          |         |           |    |                           |         |
| Variable .. IL10  |          |         |           |    |                           |         |
| FACTOR            | CODE     | Mean    | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |         |
| KEL               | DEFISIEN | -.379   | .109      | 10 | -.456                     | -.301   |
| KEL               | KONTROL  | -11.041 | 9.479     | 10 | -17.822                   | -4.260  |
| KEL               | VIT_A    | -8.649  | 7.852     | 10 | -14.266                   | -3.032  |
| For entire sample |          | -6.690  | 8.283     | 30 | -9.783                    | -3.596  |
| -----             |          |         |           |    |                           |         |
| Variable .. IGA   |          |         |           |    |                           |         |
| FACTOR            | CODE     | Mean    | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |         |
| KEL               | DEFISIEN | -.118   | .081      | 10 | -.176                     | -.060   |
| KEL               | KONTROL  | 27.150  | 14.472    | 10 | 16.798                    | 37.503  |
| KEL               | VIT_A    | 17.589  | 13.493    | 10 | 7.937                     | 27.240  |
| For entire sample |          | 14.874  | 15.922    | 30 | 8.928                     | 20.819  |
| -----             |          |         |           |    |                           |         |
| Variable .. IGG   |          |         |           |    |                           |         |
| FACTOR            | CODE     | Mean    | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |         |
| KEL               | DEFISIEN | .333    | .133      | 10 | .238                      | .428    |
| KEL               | KONTROL  | -19.530 | 11.315    | 10 | -27.624                   | -11.436 |
| KEL               | VIT_A    | -16.764 | 11.413    | 10 | -24.928                   | -8.600  |
| For entire sample |          | -11.987 | 12.648    | 30 | -16.710                   | -7.264  |

ANALYSIS OF VARIANCE -- DESIGN

EFFECT .. KEL

Multivariate Tests of Significance (S = 2, M = 3, N = 8 1/2)

| Test Name  | Value    | Approx. F | Hypoth. DF | Error DF | Sig. of F |
|------------|----------|-----------|------------|----------|-----------|
| Pillais    | 1.62536  | 9.64105   | 18.00      | 40.00    | .000      |
| Hotellings | 15.90876 | 15.90876  | 18.00      | 36.00    | .000      |
| Wilks      | .02092   | 12.48501  | 18.00      | 36.00    | .000      |
| Roys       | .93172   |           |            |          |           |

Eigenvalues and Canonical Correlations

| Root No. | Eigenvalue | Pct.     | Cum. Pct. | Canon Cor. |
|----------|------------|----------|-----------|------------|
| 1        | 13.64456   | 85.76761 | 85.76761  | .96525     |
| 2        | 2.26420    | 14.23239 | 100.00000 | .83285     |

Dimension Reduction Analysis

| Roots  | Wilks L. | F Hypoth. DF | Error DF | Sig. of F |      |
|--------|----------|--------------|----------|-----------|------|
| 1 TO 2 | .02092   | 12.48501     | 18.00    | 38.00     | .000 |
| 2 TO 2 | .30635   | 5.66049      | 8.00     | 20.00     | .001 |

Univariate F-tests with (2,27) D. F.

| Variable | Hypoth. SS | Error SS   | Hypoth. MS | Error MS  | F        | Sig. of F |
|----------|------------|------------|------------|-----------|----------|-----------|
| MK       | 1659.02641 | 854.89707  | 829.51320  | 31.66285  | 26.19831 | .000      |
| CD4      | 95.13103   | 135.93060  | 47.56552   | 5.03447   | 9.44797  | .001      |
| CD8      | 52.15403   | 38.79288   | 26.07702   | 1.43677   | 18.14971 | .000      |
| IL2      | 1035.14738 | 1291.36751 | 517.57369  | 47.82843  | 10.82147 | .000      |
| IFN5     | 75.64439   | 26.82916   | 37.82219   | .99367    | 38.06304 | .000      |
| IL4      | 661.84211  | 863.47628  | 330.92106  | 31.98060  | 10.34756 | .000      |
| IL10     | 626.04115  | 1363.69865 | 313.02058  | 50.50736  | 6.19752  | .006      |
| IGA      | 3828.37085 | 3523.40320 | 1914.18542 | 130.49641 | 14.66849 | .000      |
| IGG      | 2314.94476 | 2324.54357 | 1157.47238 | 86.09421  | 13.44425 | .000      |

Averaged F-test with (18,243) D. F.

| VARIABLES | Hypoth. SS  | Error SS    | Hypoth. MS | Error MS | F        | Sig. of F |
|-----------|-------------|-------------|------------|----------|----------|-----------|
| 1 to 9    | 10348.30212 | 10422.93892 | 574.90567  | 42.89275 | 13.40333 | .000      |

Lampiran 18

1) TEL 'DAERAH EFFECTOR DIBERI LPS negatif'.  
 pro if (FOSISI=2).

MAN DC IL2 IFNG IL10 IaA IaG IaM CD11b BY KEL(1.3)/pri cell (all)/pri homo (all)/pri signif (all)/disc/deslo.

30 cases accepted.  
 0 cases rejected because of out-of-range factor values.  
 0 cases rejected because of missing data.  
 3 non-empty cells.

1 design will be processed.

```

-----
                CELL NUMBER
                1   2   3
Variable
KEL            1   2   3
    
```

Cell Means and Standard Deviations

Variable .. DC

| FACTOR            | CODE     | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
|-------------------|----------|--------|-----------|----|---------------------------|--------|
| KEL               | DEFISIEN | 9.286  | 2.161     | 10 | 7.740                     | 10.832 |
| KEL               | KONTROL  | 8.508  | 5.232     | 10 | 4.765                     | 12.251 |
| KEL               | VIT_A    | -1.304 | .448      | 10 | -1.625                    | -.984  |
| For entire sample |          | 5.497  | 5.834     | 30 | 3.318                     | 7.675  |

Variable .. IL2

| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| KEL               | DEFISIEN | 2.238 | .597      | 10 | 1.811                     | 2.665 |
| KEL               | KONTROL  | .965  | .699      | 10 | .365                      | 1.365 |
| KEL               | VIT_A    | 6.587 | 4.657     | 10 | 3.256                     | 9.918 |
| For entire sample |          | 3.230 | 3.626     | 30 | 1.876                     | 4.584 |

Variable .. IFNG

| FACTOR            | CODE     | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
|-------------------|----------|--------|-----------|----|---------------------------|--------|
| KEL               | DEFISIEN | -2.985 | 1.928     | 10 | -4.365                    | -1.606 |
| KEL               | KONTROL  | -2.933 | 2.551     | 10 | -4.757                    | -1.108 |
| KEL               | VIT_A    | 2.864  | 2.144     | 10 | 1.331                     | 4.398  |
| For entire sample |          | -1.018 | 3.521     | 30 | -2.332                    | .297   |

Variable .. IL10

| FACTOR            | CODE     | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
|-------------------|----------|--------|-----------|----|---------------------------|--------|
| KEL               | DEFISIEN | -.015  | .013      | 10 | -.024                     | -.005  |
| KEL               | KONTROL  | 1.532  | 1.176     | 10 | .691                      | 2.373  |
| KEL               | VIT_A    | -5.844 | 5.794     | 10 | -9.989                    | -1.700 |
| For entire sample |          | -1.442 | 4.613     | 30 | -3.165                    | .280   |

```

-----
Variable .. IGA
  FACTOR      CODE      Mean Std. Dev.      N 95 percent Conf. Interval

  KEL        DEFISIEN    -2.093    .778      10  -2.650  -1.537
  KEL        KONTROL      11.951    3.655     10   9.336  14.566
  KEL        VIT_A        3.398    2.134     10   1.871   4.924
For entire sample      4.419    6.348     30   2.048   6.789

```

```

-----
Variable .. I66
  FACTOR      CODE      Mean Std. Dev.      N 95 percent Conf. Interval

  KEL        DEFISIEN     4.105    1.469     10   3.054   5.157
  KEL        KONTROL     -7.526    2.483     10  -9.302  -5.750
  KEL        VIT_A        6.753    5.150     10   3.068  10.437
For entire sample     1.111    7.114     30  -1.546   3.767

```

```

-----
Variable .. IBM
  FACTOR      CODE      Mean Std. Dev.      N 95 percent Conf. Interval

  KEL        DEFISIEN     .925     .436     10   .613   1.237
  KEL        KONTROL     -1.768    1.013     10  -2.492  -1.043
  KEL        VIT_A     -1.893    2.393     10  -3.605  -.180
For entire sample     -.912    1.976     30  -1.649  -.174

```

```

-----
Variable .. CD11R
  FACTOR      CODE      Mean Std. Dev.      N 95 percent Conf. Interval

  KEL        DEFISIEN    -.902     .270     10  -1.095  -.709
  KEL        KONTROL     4.170    2.157     10   2.627   5.713
  KEL        VIT_A     8.196    6.557     10   3.506  12.887
For entire sample     3.822    5.399     30   1.806   5.837

```

1 1 1 1 1 ANALYSIS OF VARIANCE -- DESIGN 1 1 1 1 1 1

EFFECT .. XEL

Multivariate Tests of Significance (S = 2, M = 2 1/2, N = 9 )

| Test Name  | Value    | Approx. F | Hypoth. DF | Error DF | Sig. of F |
|------------|----------|-----------|------------|----------|-----------|
| Fillais    | 1.78370  | 21.64654  | 16.00      | 42.00    | .000      |
| Hotellings | 18.56870 | 22.05033  | 16.00      | 38.00    | .000      |
| Wilks      | .01052   | 21.87881  | 16.00      | 40.00    | .000      |
| Roys       | .92621   |           |            |          |           |

Eigenvalues and Canonical Correlations

| Root No. | Eigenvalue | Pct.     | Cum. Pct. | Canon Cor. |
|----------|------------|----------|-----------|------------|
| 1        | 12.55172   | 67.59609 | 67.59609  | .96240     |
| 2        | 6.01699    | 32.40391 | 100.00000 | .92601     |

Dimension Reduction Analysis

| Roots  | Wilks L. | F Hypoth. DF | Error DF | Sig. of F |      |
|--------|----------|--------------|----------|-----------|------|
| 1 TO 2 | .01052   | 21.87881     | 16.00    | 40.00     | .000 |
| 2 TO 2 | .14251   | 18.05096     | 7.00     | 21.00     | .000 |

Univariate F-tests with (2,27) D. F.

| Variable | Hypoth. SS | Error SS  | Hypoth. MS | Error MS | F        | Sig. of F |
|----------|------------|-----------|------------|----------|----------|-----------|
| DC       | 696.81704  | 290.22716 | 348.40852  | 10.74915 | 32.41265 | .000      |
| IL2      | 178.48533  | 202.76434 | 89.24267   | 7.50979  | 11.88351 | .000      |
| IFMG     | 226.09185  | 133.36929 | 113.04593  | 4.93960  | 22.88563 | .000      |
| IL10     | 302.58703  | 314.52952 | 151.29351  | 11.64924 | 12.98741 | .000      |
| IGA      | 1001.86046 | 166.65709 | 500.93023  | 6.17248  | 81.15536 | .000      |
| IG6      | 1153.97821 | 313.66337 | 576.98911  | 11.61716 | 49.66696 | .000      |
| IGM      | 50.69226   | 62.50765  | 25.34613   | 2.31510  | 10.94819 | .000      |
| CD11B    | 415.74503  | 429.50540 | 207.87251  | 15.90761 | 13.06749 | .000      |

Averaged F-test with (16,216) D. F.

| VARIABLES | Hypoth. SS | Error SS   | Hypoth. MS | Error MS | F        | Sig. of F |
|-----------|------------|------------|------------|----------|----------|-----------|
| 1 to 8    | 4026.25722 | 1913.22382 | 251.64108  | 8.85752  | 28.40989 | .000      |

## Lampiran 19

pro if (POSISI=1).

MAN DC NK CD4 CD8 IL2 IFNG IL4 IL10 IgA IgG IgM CD11b BY KEL(1,2)/pri cell (all)/pri homo (all)  
/pri signif (all)/disc/desig.

## Cell Means and Standard Deviations

Variable .. DC

| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent | Conf. Interval |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|------------|----------------|
| KEL               | DEFISIEN | 3.100 | 1.449     | 10 | 2.063      | 4.137          |
| KEL               | KONTROL  | 3.500 | 2.224     | 10 | 1.909      | 5.091          |
| For entire sample |          | 3.300 | 1.838     | 20 | 2.440      | 4.160          |

Variable .. NK

| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent | Conf. Interval |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|------------|----------------|
| KEL               | DEFISIEN | 2.900 | 1.729     | 10 | 1.663      | 4.137          |
| KEL               | KONTROL  | 2.700 | 2.163     | 10 | 1.153      | 4.247          |
| For entire sample |          | 2.800 | 1.908     | 20 | 1.907      | 3.693          |

Variable .. CD4

| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent | Conf. Interval |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|------------|----------------|
| KEL               | DEFISIEN | 6.000 | 3.590     | 10 | 3.432      | 8.568          |
| KEL               | KONTROL  | 5.400 | 2.547     | 10 | 3.578      | 7.222          |
| For entire sample |          | 5.700 | 3.045     | 20 | 4.275      | 7.125          |

Variable .. CD8

| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent | Conf. Interval |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|------------|----------------|
| KEL               | DEFISIEN | 5.600 | 3.502     | 10 | 3.095      | 8.105          |
| KEL               | KONTROL  | 4.700 | 3.498     | 10 | 2.198      | 7.202          |
| For entire sample |          | 5.150 | 3.438     | 20 | 3.541      | 6.759          |

Variable .. IL2

| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent | Conf. Interval |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|------------|----------------|
| KEL               | DEFISIEN | 2.700 | 1.160     | 10 | 1.871      | 3.529          |
| KEL               | KONTROL  | 4.300 | 5.677     | 10 | .239       | 8.361          |
| For entire sample |          | 3.500 | 4.072     | 20 | 1.594      | 5.406          |

Variable .. IFNG

| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent | Conf. Interval |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|------------|----------------|
| KEL               | DEFISIEN | 3.100 | 2.132     | 10 | 1.575      | 4.625          |
| KEL               | KONTROL  | 5.300 | 2.541     | 10 | 3.482      | 7.118          |
| For entire sample |          | 4.200 | 2.546     | 20 | 3.008      | 5.392          |

Variable .. IL4

| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| KEL               | DEFISIEN | 1.800 | 1.033     | 10 | 1.061                     | 2.539 |
| KEL               | KONTROL  | 4.500 | 1.509     | 10 | 3.420                     | 5.580 |
| For entire sample |          | 3.150 | 1.872     | 20 | 2.274                     | 4.026 |

-----

Variable .. IL10

| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| KEL               | DEFISIEN | 2.200 | 1.135     | 10 | 1.388                     | 3.012 |
| KEL               | KONTROL  | 2.100 | 1.524     | 10 | 1.010                     | 3.190 |
| For entire sample |          | 2.150 | 1.309     | 20 | 1.537                     | 2.763 |

-----

Variable .. IGA

| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| KEL               | DEFISIEN | 1.100 | .316      | 10 | .874                      | 1.326 |
| KEL               | KONTROL  | 2.100 | 1.595     | 10 | .959                      | 3.241 |
| For entire sample |          | 1.600 | 1.231     | 20 | 1.024                     | 2.176 |

Variable .. IGG

| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| KEL               | DEFISIEN | 1.200 | .422      | 10 | .898                      | 1.502 |
| KEL               | KONTROL  | 1.300 | .483      | 10 | .954                      | 1.646 |
| For entire sample |          | 1.250 | .444      | 20 | 1.042                     | 1.458 |

Variable .. IGM

| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| KEL               | DEFISIEN | 2.100 | 1.449     | 10 | 1.063                     | 3.137 |
| KEL               | KONTROL  | 2.000 | 1.247     | 10 | 1.108                     | 2.892 |
| For entire sample |          | 2.050 | 1.317     | 20 | 1.434                     | 2.666 |

-----

Variable .. CD11B

| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| KEL               | DEFISIEN | 1.600 | .699      | 10 | 1.100                     | 2.100 |
| KEL               | KONTROL  | 1.300 | .483      | 10 | .954                      | 1.646 |
| For entire sample |          | 1.450 | .605      | 20 | 1.167                     | 1.733 |



ANALYSIS OF VARIANCE - DESIGN

EFFECT .. KEL

Multivariate Tests of Significance (S = 1, M = 5, N = 2 1/2)

| Test Name  | Value   | Approx. F | Hypoth. DF | Error DF | Sig. of F |
|------------|---------|-----------|------------|----------|-----------|
| Pillais    | .89125  | 4.78089   | 12.00      | 7.00     | .023      |
| Hotellings | 8.19582 | 4.78089   | 12.00      | 7.00     | .023      |
| Wilks      | .10875  | 4.78089   | 12.00      | 7.00     | .023      |
| Roys       | .89125  |           |            |          |           |

Eigenvalues and Canonical Correlations

| Root No. | Eigenvalue | Pct.      | Cum. Pct. | Canon Cor. |
|----------|------------|-----------|-----------|------------|
| 1        | 8.19582    | 100.00000 | 100.00000 | .94406     |

Univariate F-tests with (1,18) D. F.

| Variable | Hypoth. SS | Error SS  | Hypoth. MS | Error MS | F        | Sig. of F |
|----------|------------|-----------|------------|----------|----------|-----------|
| DC       | .80000     | 63.40000  | .80000     | 3.52222  | .22713   | .639      |
| NK       | .20000     | 69.00000  | .20000     | 3.83333  | .05217   | .822      |
| CD4      | 1.80000    | 174.40000 | 1.80000    | 9.68889  | .18578   | .672      |
| CDB      | 4.05000    | 220.50000 | 4.05000    | 12.25000 | .33061   | .572      |
| IL2      | 12.80000   | 302.20000 | 12.80000   | 16.78889 | .76241   | .384      |
| IFN6     | 24.20000   | 99.00000  | 24.20000   | 5.50000  | 4.40000  | .050      |
| IL4      | 36.45000   | 30.10000  | 36.45000   | 1.67222  | 21.79734 | .000      |
| IL10     | .05000     | 32.50000  | .05000     | 1.80556  | .02769   | .879      |
| IGA      | 5.00000    | 23.80000  | 5.00000    | 1.32222  | 3.78151  | .068      |
| IGG      | .05000     | 3.70000   | .05000     | .20556   | .24324   | .628      |
| IGH      | .05000     | 32.90000  | .05000     | 1.82778  | .02736   | .879      |
| CD11B    | .45000     | 6.50000   | .45000     | .36111   | 1.24615  | .277      |

Averaged F-test with (12,216) D. F.

| VARIABLES | Hypoth. SS | Error SS   | Hypoth. MS | Error MS | F       | Sig. of F |
|-----------|------------|------------|------------|----------|---------|-----------|
| 1 to 12   | 85.90000   | 1058.00000 | 7.15833    | 4.89815  | 1.46144 | .141      |

Lampiran 20

pre if (POSISI=1).

MAN DC NK CD4 CDB IL2 IFNG IL4 IL10 IgA IgG IgM CD11b BY KEL(2,3)/pri cell (all)/pri homo (all)  
/pri signif (all)/disc/desig.

Cell Means and Standard Deviations

Variable .. DC

| FACTOR            | CODE    | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|---------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| KEL               | KONTROL | 3.500 | 2.224     | 10 | 1.909                     | 5.091 |
| KEL               | TERAPI  | 4.300 | .949      | 10 | 3.621                     | 4.979 |
| For entire sample |         | 3.900 | 1.714     | 20 | 3.098                     | 4.702 |

Variable .. NK

| FACTOR            | CODE    | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|---------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| KEL               | KONTROL | 2.700 | 2.163     | 10 | 1.153                     | 4.247 |
| KEL               | TERAPI  | 3.900 | .994      | 10 | 3.189                     | 4.611 |
| For entire sample |         | 3.300 | 1.750     | 20 | 2.481                     | 4.119 |

Variable .. CD4

| FACTOR            | CODE    | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|---------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| KEL               | KONTROL | 5.400 | 2.547     | 10 | 3.578                     | 7.222 |
| KEL               | TERAPI  | 5.300 | 3.129     | 10 | 3.062                     | 7.538 |
| For entire sample |         | 5.350 | 2.777     | 20 | 4.050                     | 6.650 |

Variable .. CDB

| FACTOR            | CODE    | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|---------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| KEL               | KONTROL | 4.700 | 3.498     | 10 | 2.198                     | 7.202 |
| KEL               | TERAPI  | 3.300 | 1.418     | 10 | 2.286                     | 4.314 |
| For entire sample |         | 4.000 | 2.695     | 20 | 2.739                     | 5.261 |

Variable .. IL2

| FACTOR            | CODE    | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|---------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| KEL               | KONTROL | 4.300 | 5.677     | 10 | .239                      | 8.361 |
| KEL               | TERAPI  | 2.300 | 1.418     | 10 | 1.286                     | 3.314 |
| For entire sample |         | 3.300 | 4.156     | 20 | 1.355                     | 5.245 |

Variable .. IFNG

| FACTOR            | CODE    | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|---------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| KEL               | KONTROL | 5.300 | 2.541     | 10 | 3.482                     | 7.118 |
| KEL               | TERAPI  | 3.700 | 2.163     | 10 | 2.153                     | 5.247 |
| For entire sample |         | 4.500 | 2.439     | 20 | 3.359                     | 5.641 |

Variable .. IL4

| FACTOR            | CODE    | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|---------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| KEL               | KONTROL | 4.500 | 1.509     | 10 | 3.420                     | 5.580 |
| KEL               | TERAPI  | 4.900 | 3.247     | 10 | 2.577                     | 7.223 |
| For entire sample |         | 4.700 | 2.473     | 20 | 3.543                     | 5.857 |

Variable .. IL10

| FACTOR            | CODE    | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|---------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| KEL               | KONTROL | 2.100 | 1.524     | 10 | 1.010                     | 3.190 |
| KEL               | TERAPI  | 2.100 | 1.853     | 10 | .774                      | 3.426 |
| For entire sample |         | 2.100 | 1.651     | 20 | 1.327                     | 2.873 |

Variable .. IGA

| FACTOR            | CODE    | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|---------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| KEL               | KONTROL | 2.100 | 1.595     | 10 | .959                      | 3.241 |
| KEL               | TERAPI  | 1.700 | .675      | 10 | 1.217                     | 2.183 |
| For entire sample |         | 1.900 | 1.210     | 20 | 1.334                     | 2.466 |

Variable .. IGG

| FACTOR            | CODE    | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|---------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| KEL               | KONTROL | 1.300 | .483      | 10 | .954                      | 1.646 |
| KEL               | TERAPI  | 1.200 | .422      | 10 | .898                      | 1.502 |
| For entire sample |         | 1.250 | .444      | 20 | 1.042                     | 1.458 |

Variable .. IGM

| FACTOR            | CODE    | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|---------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| KEL               | KONTROL | 2.000 | 1.247     | 10 | 1.108                     | 2.892 |
| KEL               | TERAPI  | 1.900 | .876      | 10 | 1.274                     | 2.526 |
| For entire sample |         | 1.950 | 1.050     | 20 | 1.459                     | 2.441 |

Variable .. CD11B

| FACTOR            | CODE    | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|---------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| KEL               | KONTROL | 1.300 | .483      | 10 | .954                      | 1.646 |
| KEL               | TERAPI  | 2.100 | .738      | 10 | 1.572                     | 2.628 |
| For entire sample |         | 1.700 | .733      | 20 | 1.357                     | 2.043 |

ANALYSIS OF VARIANCE -- DESIGN

EFFECT .. IEL

Multivariate Tests of Significance (S = 1, M = 5, N = 2 1/2)

| Test Name  | Value   | Approx. F | Hypoth. DF | Error DF | Sig. of F |
|------------|---------|-----------|------------|----------|-----------|
| Pillais    | .69477  | 1.32779   | 12.00      | 7.00     | .365      |
| Hotellings | 2.27621 | 1.32779   | 12.00      | 7.00     | .365      |
| Wilks      | .30523  | 1.32779   | 12.00      | 7.00     | .365      |
| Roys       | .69477  |           |            |          |           |

Eigenvalues and Canonical Correlations

| Root No. | Eigenvalue | Pct.      | Cum. Pct. | Canon Cor. |
|----------|------------|-----------|-----------|------------|
| 1        | 2.27621    | 100.00000 | 100.00000 | .83353     |

Univariate F-tests with (1,18) D. F.

| Variable | Hypoth. SS | Error SS  | Hypoth. MS | Error MS | F       | Sig. of F |
|----------|------------|-----------|------------|----------|---------|-----------|
| DC       | 3.20000    | 52.60000  | 3.20000    | 2.92222  | 1.09506 | .309      |
| HK       | 7.20000    | 51.00000  | 7.20000    | 2.83333  | 2.54118 | .128      |
| CD4      | .05000     | 146.50000 | .05000     | 8.13889  | .00614  | .938      |
| CD8      | 9.80000    | 128.20000 | 9.80000    | 7.12222  | 1.37598 | .256      |
| IL2      | 20.00000   | 308.20000 | 20.00000   | 17.12222 | 1.16807 | .294      |
| IFM6     | 12.80000   | 100.20000 | 12.80000   | 5.56667  | 2.29940 | .147      |
| IL4      | .80000     | 115.40000 | .80000     | 6.41111  | .12478  | .728      |
| IL10     | .00000     | 51.80000  | .00000     | 2.87778  | .00000  | 1.000     |
| IGA      | .80000     | 27.00000  | .80000     | 1.50000  | .53333  | .475      |
| IG6      | .05000     | 3.70000   | .05000     | .20556   | .24324  | .628      |
| IGH      | .05000     | 20.90000  | .05000     | 1.16111  | .04306  | .838      |
| CD11B    | 3.20000    | 7.00000   | 3.20000    | .38889   | 8.22857 | .010      |

Averaged F-test with (12,216) D. F.

| VARIABLES | Hypoth. SS | Error SS   | Hypoth. MS | Error MS | F       | Sig. of F |
|-----------|------------|------------|------------|----------|---------|-----------|
| 1 to 12   | 57.95000   | 1012.50000 | 4.82917    | 4.68750  | 1.03022 | .422      |

## Lampiran 21

pro if (POSISI=1).

MAN DC IN: CD4 CD8 IL2 IFNG IL4 IL10 IgA IgG IgM CD11b BY KEL(1,2)/pri cell (all)/pri homo (all)  
/pri slgnif (all)/disc/deslg.

Cell Means and Standard Deviations

| Variable .. DC    |          | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| FACTOR            | CODE     |       |           |    |                           |       |
| KEL               | DEFISIEN | 3.100 | 1.449     | 10 | 2.063                     | 4.137 |
| KEL               | TERAPI   | 4.300 | .949      | 10 | 3.621                     | 4.979 |
| For entire sample |          | 3.700 | 1.342     | 20 | 3.072                     | 4.328 |

| Variable .. IN:   |          | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| FACTOR            | CODE     |       |           |    |                           |       |
| KEL               | DEFISIEN | 2.900 | 1.729     | 10 | 1.663                     | 4.137 |
| KEL               | TERAPI   | 3.900 | .994      | 10 | 3.189                     | 4.611 |
| For entire sample |          | 3.400 | 1.465     | 20 | 2.714                     | 4.086 |

| Variable .. CD4   |          | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| FACTOR            | CODE     |       |           |    |                           |       |
| KEL               | DEFISIEN | 6.000 | 3.590     | 10 | 3.432                     | 8.568 |
| KEL               | TERAPI   | 5.300 | 3.129     | 10 | 3.062                     | 7.538 |
| For entire sample |          | 5.650 | 3.297     | 20 | 4.107                     | 7.193 |

| Variable .. CD8   |          | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| FACTOR            | CODE     |       |           |    |                           |       |
| KEL               | DEFISIEN | 5.600 | 3.502     | 10 | 3.095                     | 8.105 |
| KEL               | TERAPI   | 3.300 | 1.418     | 10 | 2.286                     | 4.314 |
| For entire sample |          | 4.450 | 2.856     | 20 | 3.113                     | 5.787 |

| Variable .. IL2   |          | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| FACTOR            | CODE     |       |           |    |                           |       |
| KEL               | DEFISIEN | 2.700 | 1.160     | 10 | 1.871                     | 3.529 |
| KEL               | TERAPI   | 2.300 | 1.418     | 10 | 1.286                     | 3.314 |
| For entire sample |          | 2.500 | 1.277     | 20 | 1.902                     | 3.098 |

| Variable .. IFNG  |          | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| FACTOR            | CODE     |       |           |    |                           |       |
| KEL               | DEFISIEN | 3.100 | 2.132     | 10 | 1.575                     | 4.625 |
| KEL               | TERAPI   | 3.700 | 2.163     | 10 | 2.153                     | 5.247 |
| For entire sample |          | 3.400 | 2.113     | 20 | 2.411                     | 4.389 |

| Variable .. IL4   |          |       |           |    |                           |       |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
| KEL               | DEFISIEN | 1.800 | 1.033     | 10 | 1.061                     | 2.539 |
| KEL               | TERAPI   | 4.900 | 3.247     | 10 | 2.577                     | 7.223 |
| For entire sample |          | 3.350 | 2.834     | 20 | 2.024                     | 4.676 |
| -----             |          |       |           |    |                           |       |
| Variable .. IL10  |          |       |           |    |                           |       |
| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
| KEL               | DEFISIEN | 2.200 | 1.135     | 10 | 1.388                     | 3.012 |
| KEL               | TERAPI   | 2.100 | 1.853     | 10 | .774                      | 3.426 |
| For entire sample |          | 2.150 | 1.496     | 20 | 1.450                     | 2.850 |
| -----             |          |       |           |    |                           |       |
| Variable .. IGA   |          |       |           |    |                           |       |
| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
| KEL               | DEFISIEN | 1.100 | .316      | 10 | .874                      | 1.326 |
| KEL               | TERAPI   | 1.700 | .675      | 10 | 1.217                     | 2.183 |
| For entire sample |          | 1.400 | .598      | 20 | 1.120                     | 1.680 |
| -----             |          |       |           |    |                           |       |
| Variable .. IGG   |          |       |           |    |                           |       |
| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
| KEL               | DEFISIEN | 1.200 | .422      | 10 | .898                      | 1.502 |
| KEL               | TERAPI   | 1.200 | .422      | 10 | .898                      | 1.502 |
| For entire sample |          | 1.200 | .410      | 20 | 1.008                     | 1.392 |
| -----             |          |       |           |    |                           |       |
| Variable .. IGM   |          |       |           |    |                           |       |
| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
| KEL               | DEFISIEN | 2.100 | 1.449     | 10 | 1.063                     | 3.137 |
| KEL               | TERAPI   | 1.900 | .876      | 10 | 1.274                     | 2.526 |
| For entire sample |          | 2.000 | 1.170     | 20 | 1.453                     | 2.547 |
| -----             |          |       |           |    |                           |       |
| Variable .. CD11B |          |       |           |    |                           |       |
| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
| KEL               | DEFISIEN | 1.600 | .699      | 10 | 1.100                     | 2.100 |
| KEL               | TERAPI   | 2.100 | .738      | 10 | 1.572                     | 2.628 |
| For entire sample |          | 1.850 | .745      | 20 | 1.501                     | 2.199 |

\*\*\*\*\* ANALYSIS OF VARIANCE -- DESIGN \*\*\*\*\*

EFFECT .. XEL

Multivariate Tests of Significance (S = 1, M = 5, N = 2 1/2)

| Test Name  | Value   | Approx. F | Hypoth. DF | Error DF | Sig. of F |
|------------|---------|-----------|------------|----------|-----------|
| Pillais    | .78243  | 2.09775   | 12.00      | 7.00     | .166      |
| Hotellings | 3.59614 | 2.09775   | 12.00      | 7.00     | .166      |
| Wilks      | .21757  | 2.09775   | 12.00      | 7.00     | .166      |
| Roys       | .78243  |           |            |          |           |

Eigenvalues and Canonical Correlations

| Root No. | Eigenvalue | Pct.      | Cum. Pct. | Canon Cor. |
|----------|------------|-----------|-----------|------------|
| 1        | 3.59614    | 100.00000 | 100.00000 | .88455     |

Univariate F-tests with (1,18) D. F.

| Variable | Hypoth. SS | Error SS  | Hypoth. MS | Error MS | F       | Sig. of F |
|----------|------------|-----------|------------|----------|---------|-----------|
| DC       | 7.20000    | 27.00000  | 7.20000    | 1.50000  | 4.80000 | .042      |
| NY       | 5.00000    | 35.80000  | 5.00000    | 1.98889  | 2.51397 | .130      |
| CD4      | 2.45000    | 204.10000 | 2.45000    | 11.33889 | .21607  | .648      |
| CDB      | 26.45000   | 128.50000 | 26.45000   | 7.13889  | 3.70506 | .070      |
| IL2      | .80000     | 30.20000  | .80000     | 1.67778  | .47682  | .499      |
| IFMG     | 1.80000    | 83.00000  | 1.80000    | 4.61111  | .39036  | .540      |
| IL4      | 48.05000   | 104.50000 | 48.05000   | 5.80556  | 8.27656 | .010      |
| IL10     | .05000     | 42.50000  | .05000     | 2.36111  | .02118  | .886      |
| IGA      | 1.80000    | 5.00000   | 1.80000    | .27778   | 6.48000 | .020      |
| IGG      | .00000     | 3.20000   | .00000     | .17778   | .00000  | 1.000     |
| IGM      | .20000     | 25.80000  | .20000     | 1.43333  | .13953  | .713      |
| CD11B    | 1.25000    | 9.30000   | 1.25000    | .51667   | 2.41935 | .137      |

Averaged F-test with (12,216) D. F.

| VARIABLES | Hypoth. SS | Error SS  | Hypoth. MS | Error MS | F       | Sig. of F |
|-----------|------------|-----------|------------|----------|---------|-----------|
| 1 to 12   | 95.05000   | 698.90000 | 7.92083    | 3.23565  | 2.44799 | .005      |

## Lampiran 22

pro if (POSISI=2).

MAN DC NK CD4 CD8 IL2 IFNG IL4 IL10 IgA IgG IgM CD11b BY KEL(1,2)/pri cell (all)/pri homo (all)  
/pri signif (all)/disc/desig.

## Cell Means and Standard Deviations

Variable .. DC

| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| KEL               | DEFISIEN | 1.300 | 1.059     | 10 | .542                      | 2.058 |
| KEL               | KONTROL  | 4.200 | 2.348     | 10 | 2.521                     | 5.879 |
| For entire sample |          | 2.750 | 2.314     | 20 | 1.667                     | 3.833 |

Variable .. NK

| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| KEL               | DEFISIEN | 1.900 | 1.197     | 10 | 1.044                     | 2.756 |
| KEL               | KONTROL  | 3.500 | 1.958     | 10 | 2.099                     | 4.901 |
| For entire sample |          | 2.700 | 1.780     | 20 | 1.867                     | 3.533 |

Variable .. CD4

| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|---------------------------|--------|
| KEL               | DEFISIEN | 5.600 | 7.648     | 10 | .129                      | 11.071 |
| KEL               | KONTROL  | 4.600 | 2.413     | 10 | 2.874                     | 6.326  |
| For entire sample |          | 5.100 | 5.543     | 20 | 2.506                     | 7.694  |

Variable .. CD8

| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|---------------------------|--------|
| KEL               | DEFISIEN | 6.500 | 9.778     | 10 | -.495                     | 13.495 |
| KEL               | KONTROL  | 4.300 | 2.452     | 10 | 2.546                     | 6.054  |
| For entire sample |          | 5.400 | 7.029     | 20 | 2.110                     | 8.690  |

Variable .. IL2

| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| KEL               | DEFISIEN | 1.200 | .789      | 10 | .636                      | 1.764 |
| KEL               | KONTROL  | 1.100 | .568      | 10 | .694                      | 1.506 |
| For entire sample |          | 1.150 | .671      | 20 | .836                      | 1.464 |

Variable .. IFNG

| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|---------------------------|--------|
| KEL               | DEFISIEN | 6.300 | 16.083    | 10 | -5.205                    | 17.805 |
| KEL               | KONTROL  | 3.200 | .919      | 10 | 2.543                     | 3.857  |
| For entire sample |          | 4.750 | 11.201    | 20 | -.492                     | 9.992  |



Variable .. IL4

| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| KEL               | DEFISIEN | 1.100 | .876      | 10 | .474                      | 1.726 |
| KEL               | KONTROL  | 2.900 | 1.729     | 10 | 1.663                     | 4.137 |
| For entire sample |          | 2.000 | 1.622     | 20 | 1.241                     | 2.759 |

Variable .. IL10

| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| KEL               | DEFISIEN | .800  | .632      | 10 | .348                      | 1.252 |
| KEL               | KONTROL  | 3.600 | 6.535     | 10 | -1.075                    | 8.275 |
| For entire sample |          | 2.200 | 4.742     | 20 | -.019                     | 4.419 |

Variable .. IGA

| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| KEL               | DEFISIEN | 1.000 | .000      | 10 | 1.000                     | 1.000 |
| KEL               | KONTROL  | 1.200 | .422      | 10 | .898                      | 1.502 |
| For entire sample |          | 1.100 | .308      | 20 | .956                      | 1.244 |

Variable .. IGG

| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| KEL               | DEFISIEN | 1.200 | .632      | 10 | .748                      | 1.652 |
| KEL               | KONTROL  | 1.000 | .000      | 10 | 1.000                     | 1.000 |
| For entire sample |          | 1.100 | .447      | 20 | .891                      | 1.309 |

Variable .. IGM

| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| KEL               | DEFISIEN | 1.000 | .943      | 10 | .326                      | 1.674 |
| KEL               | KONTROL  | 2.000 | 1.563     | 10 | .882                      | 3.118 |
| For entire sample |          | 1.500 | 1.357     | 20 | .865                      | 2.135 |

Variable .. CD11B

| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| KEL               | DEFISIEN | .800  | .632      | 10 | .348                      | 1.252 |
| KEL               | KONTROL  | 1.400 | .843      | 10 | .797                      | 2.003 |
| For entire sample |          | 1.100 | .788      | 20 | .731                      | 1.469 |

ANALYSIS OF VARIANCE - DESIGN

EFFECT .. XEL

Multivariate Tests of Significance (S = 1, M = 5, N = 2 1/2)

| Test Name  | Value   | Approx. F | Hypoth. DF | Error DF | Sig. of F |
|------------|---------|-----------|------------|----------|-----------|
| Pillais    | .81252  | 2.52806   | 12.00      | 7.00     | .113      |
| Hotellings | 4.33381 | 2.52806   | 12.00      | 7.00     | .113      |
| Wilks      | .18748  | 2.52806   | 12.00      | 7.00     | .113      |
| Rays       | .81252  |           |            |          |           |

Eigenvalues and Canonical Correlations

| Root No. | Eigenvalue | Pct.      | Cum. Pct. | Canon Cor. |
|----------|------------|-----------|-----------|------------|
| 1        | 4.33381    | 100.00000 | 100.00000 | .90140     |

Univariate F-tests with (1,18) D. F.

| Variable | Hypoth. SS | Error SS   | Hypoth. MS | Error MS  | F        | Sig. of F |
|----------|------------|------------|------------|-----------|----------|-----------|
| DC       | 42.05000   | 59.70000   | 42.05000   | 3.31667   | 12.67839 | .002      |
| NK       | 12.80000   | 47.40000   | 12.80000   | 2.63333   | 4.86076  | .041      |
| CD4      | 5.00000    | 578.80000  | 5.00000    | 32.15556  | .15549   | .698      |
| CD8      | 24.20000   | 914.60000  | 24.20000   | 50.81111  | .47627   | .499      |
| IL2      | .05000     | 8.50000    | .05000     | .47222    | .10588   | .749      |
| IFMG     | 48.05000   | 2335.70000 | 48.05000   | 129.76111 | .37030   | .550      |
| IL4      | 16.20000   | 33.80000   | 16.20000   | 1.87778   | 8.62722  | .009      |
| IL10     | 39.20000   | 388.00000  | 39.20000   | 21.55556  | 1.81856  | .194      |
| IGA      | .20000     | 1.60000    | .20000     | .08889    | 2.25000  | .151      |
| IGG      | .20000     | 3.60000    | .20000     | .20000    | 1.00000  | .331      |
| IGH      | 5.00000    | 30.00000   | 5.00000    | 1.66667   | 3.00000  | .100      |
| CD11B    | 1.80000    | 10.00000   | 1.80000    | .55556    | 3.24000  | .089      |

Averaged F-test with (12,216) D. F.

| VARIABLES | Hypoth. SS | Error SS   | Hypoth. MS | Error MS | F      | Sig. of F |
|-----------|------------|------------|------------|----------|--------|-----------|
| 1 to 12   | 194.75000  | 4411.70000 | 16.22917   | 20.42454 | .79459 | .636      |

## Lampiran 23

pro if (POSISI=2).

MAN DC NK CD4 CD8 IL2 IFNG IL4 IL10 IgA IgG IgM CD11b BY KEL(2,3)/pri cell (all)/pri homo (all)  
/pri signif (all)/disc/deslg.

## Cell Means and Standard Deviations

Variable .. DC

| FACTOR            | CODE    | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|---------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| KEL               | KONTROL | 4.200 | 2.348     | 10 | 2.521                     | 5.879 |
| KEL               | TERAPI  | 2.100 | .994      | 10 | 1.389                     | 2.811 |
| For entire sample |         | 3.150 | 2.059     | 20 | 2.186                     | 4.114 |

-----

Variable .. NK

| FACTOR            | CODE    | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|---------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| KEL               | KONTROL | 3.500 | 1.958     | 10 | 2.099                     | 4.901 |
| KEL               | TERAPI  | 1.900 | 1.197     | 10 | 1.044                     | 2.756 |
| For entire sample |         | 2.700 | 1.780     | 20 | 1.867                     | 3.533 |

-----

Variable .. CD4

| FACTOR            | CODE    | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|---------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| KEL               | KONTROL | 4.600 | 2.413     | 10 | 2.874                     | 6.326 |
| KEL               | TERAPI  | 1.800 | 1.687     | 10 | .594                      | 3.006 |
| For entire sample |         | 3.200 | 2.484     | 20 | 2.038                     | 4.362 |

-----

Variable .. CD8

| FACTOR            | CODE    | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|---------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| KEL               | KONTROL | 4.300 | 2.452     | 10 | 2.546                     | 6.054 |
| KEL               | TERAPI  | 2.200 | 1.398     | 10 | 1.200                     | 3.200 |
| For entire sample |         | 3.250 | 2.221     | 20 | 2.210                     | 4.290 |

-----

Variable .. IL2

| FACTOR            | CODE    | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|---------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| KEL               | KONTROL | 1.100 | .568      | 10 | .694                      | 1.506 |
| KEL               | TERAPI  | 1.800 | 1.476     | 10 | .744                      | 2.856 |
| For entire sample |         | 1.450 | 1.146     | 20 | .914                      | 1.986 |

-----

Variable .. IFNG

| FACTOR            | CODE    | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|---------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| KEL               | KONTROL | 3.200 | .919      | 10 | 2.543                     | 3.857 |
| KEL               | TERAPI  | 2.800 | 1.476     | 10 | 1.744                     | 3.856 |
| For entire sample |         | 3.000 | 1.214     | 20 | 2.432                     | 3.568 |

-----

Variable .. IL4

| FACTOR            | CODE    | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|---------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| KEL               | KONTROL | 2.900 | 1.729     | 10 | 1.663                     | 4.137 |
| KEL               | TERAPI  | 3.300 | 2.058     | 10 | 1.828                     | 4.772 |
| For entire sample |         | 3.100 | 1.861     | 20 | 2.229                     | 3.971 |

-----

Variable .. IL10

| FACTOR            | CODE    | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|---------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| KEL               | KONTROL | 3.600 | 6.535     | 10 | -1.075                    | 8.275 |
| KEL               | TERAPI  | 1.400 | .966      | 10 | .709                      | 2.091 |
| For entire sample |         | 2.500 | 4.685     | 20 | .307                      | 4.693 |

-----

Variable .. IGA

| FACTOR            | CODE    | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|---------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| KEL               | KONTROL | 1.200 | .422      | 10 | .898                      | 1.502 |
| KEL               | TERAPI  | 1.400 | .843      | 10 | .797                      | 2.003 |
| For entire sample |         | 1.300 | .657      | 20 | .993                      | 1.607 |

-----

Variable .. IGG

| FACTOR            | CODE    | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|---------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| KEL               | KONTROL | 1.000 | .000      | 10 | 1.000                     | 1.000 |
| KEL               | TERAPI  | 1.100 | .316      | 10 | .874                      | 1.326 |
| For entire sample |         | 1.050 | .224      | 20 | .945                      | 1.155 |

Variable .. IGM

| FACTOR            | CODE    | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|---------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| KEL               | KONTROL | 2.000 | 1.563     | 10 | .882                      | 3.118 |
| KEL               | TERAPI  | 1.300 | .675      | 10 | .817                      | 1.783 |
| For entire sample |         | 1.650 | 1.226     | 20 | 1.076                     | 2.224 |

Variable .. CD11B

| FACTOR            | CODE    | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|---------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| KEL               | KONTROL | 1.400 | .843      | 10 | .797                      | 2.003 |
| KEL               | TERAPI  | 1.500 | .850      | 10 | .892                      | 2.108 |
| For entire sample |         | 1.450 | .826      | 20 | 1.064                     | 1.836 |

ANALYSIS OF VARIANCE -- DESIGN

EFFECT .. XEL

Multivariate Tests of Significance (S = 1, M = 5, N = 2 1/2)

| Test Name  | Value   | Approx. F | Hypoth. DF | Error DF | Sig. of F |
|------------|---------|-----------|------------|----------|-----------|
| Pillais    | .73895  | 1.65126   | 12.00      | 7.00     | .259      |
| Hotellings | 2.83074 | 1.65126   | 12.00      | 7.00     | .259      |
| Wilks      | .26105  | 1.65126   | 12.00      | 7.00     | .259      |
| Roys       | .73895  |           |            |          |           |

Eigenvalues and Canonical Correlations

| Root No. | Eigenvalue | Pct.      | Cum. Pct. | Canon Cor. |
|----------|------------|-----------|-----------|------------|
| 1        | 2.83074    | 100.00000 | 100.00000 | .85962     |

Univariate F-tests with (1,18) D. F.

| Variable | Hypoth. SS | Error SS  | Hypoth. MS | Error MS | F       | Sig. of F |
|----------|------------|-----------|------------|----------|---------|-----------|
| DC       | 22.05000   | 58.50000  | 22.05000   | 3.25000  | 6.78462 | .018      |
| NY       | 12.80000   | 47.40000  | 12.80000   | 2.63333  | 4.86076 | .041      |
| CD4      | 39.20000   | 78.00000  | 39.20000   | 4.33333  | 9.04615 | .008      |
| CD8      | 22.05000   | 71.70000  | 22.05000   | 3.98333  | 5.53556 | .030      |
| IL2      | 2.45000    | 22.50000  | 2.45000    | 1.25000  | 1.96000 | .179      |
| IFNG     | .80000     | 27.20000  | .80000     | 1.51111  | .52941  | .476      |
| IL4      | .80000     | 65.00000  | .80000     | 3.61111  | .22154  | .644      |
| IL10     | 24.20000   | 392.80000 | 24.20000   | 21.82222 | 1.10896 | .306      |
| IGA      | .20000     | 8.00000   | .20000     | .44444   | .45000  | .511      |
| IGG      | .05000     | .90000    | .05000     | .05000   | 1.00000 | .331      |
| IGM      | 2.45000    | 26.10000  | 2.45000    | 1.45000  | 1.68966 | .210      |
| CD11B    | .05000     | 12.90000  | .05000     | .71667   | .06977  | .795      |

Averaged F-test with (12,216) D. F.

| VARIABLES | Hypoth. SS | Error SS  | Hypoth. MS | Error MS | F       | Sig. of F |
|-----------|------------|-----------|------------|----------|---------|-----------|
| 1 to 12   | 127.10000  | 811.00000 | 10.59167   | 3.75463  | 2.82096 | .001      |

## Lampiran 24

pro if (POSISI=2).

MAN DC NK CD4 CD8 IL2 IFNG IL4 IL10 IgA IgG IgM CD11b BY KEL(1,2)/pri cell (all)/pri homo (all)  
/pri signif (all)/disc/desig.

## Cell Means and Standard Deviations

Variable .. DC

| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| KEL               | DEFISIEN | 1.500 | 1.059     | 10 | .542                      | 2.058 |
| KEL               | TERAPI   | 2.100 | .994      | 10 | 1.389                     | 2.811 |
| For entire sample |          | 1.700 | 1.081     | 20 | 1.194                     | 2.206 |

Variable .. NK

| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| KEL               | DEFISIEN | 1.900 | 1.197     | 10 | 1.044                     | 2.756 |
| KEL               | TERAPI   | 1.900 | 1.197     | 10 | 1.044                     | 2.756 |
| For entire sample |          | 1.900 | 1.165     | 20 | 1.355                     | 2.445 |

Variable .. CD4

| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|---------------------------|--------|
| KEL               | DEFISIEN | 5.600 | 7.648     | 10 | .129                      | 11.071 |
| KEL               | TERAPI   | 1.800 | 1.687     | 10 | .594                      | 3.006  |
| For entire sample |          | 3.700 | 5.732     | 20 | 1.017                     | 6.383  |

Variable .. CD8

| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|---------------------------|--------|
| KEL               | DEFISIEN | 6.500 | 9.778     | 10 | -.495                     | 13.495 |
| KEL               | TERAPI   | 2.200 | 1.398     | 10 | 1.200                     | 3.200  |
| For entire sample |          | 4.350 | 7.147     | 20 | 1.005                     | 7.695  |

Variable .. IL2

| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| KEL               | DEFISIEN | 1.200 | .789      | 10 | .636                      | 1.764 |
| KEL               | TERAPI   | 1.800 | 1.476     | 10 | .744                      | 2.856 |
| For entire sample |          | 1.500 | 1.192     | 20 | .942                      | 2.058 |

Variable .. IFNG

| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|---------------------------|--------|
| KEL               | DEFISIEN | 6.300 | 16.083    | 10 | -5.205                    | 17.805 |
| KEL               | TERAPI   | 2.800 | 1.476     | 10 | 1.744                     | 3.856  |
| For entire sample |          | 4.550 | 11.260    | 20 | -.720                     | 9.820  |

| Variable .. IL4   |          | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| FACTOR            | CODE     |       |           |    |                           |       |
| KEL               | DEFISIEN | 1.100 | .876      | 10 | .474                      | 1.726 |
| KEL               | TERAPI   | 3.300 | 2.058     | 10 | 1.828                     | 4.772 |
| For entire sample |          | 2.200 | 1.908     | 20 | 1.307                     | 3.093 |

| Variable .. IL10  |          | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| FACTOR            | CODE     |       |           |    |                           |       |
| KEL               | DEFISIEN | .800  | .632      | 10 | .348                      | 1.252 |
| KEL               | TERAPI   | 1.400 | .966      | 10 | .709                      | 2.091 |
| For entire sample |          | 1.100 | .852      | 20 | .701                      | 1.499 |

| Variable .. IGA   |          | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| FACTOR            | CODE     |       |           |    |                           |       |
| KEL               | DEFISIEN | 1.000 | .000      | 10 | 1.000                     | 1.000 |
| KEL               | TERAPI   | 1.400 | .843      | 10 | .797                      | 2.003 |
| For entire sample |          | 1.200 | .616      | 20 | .912                      | 1.488 |

| Variable .. IGG   |          | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| FACTOR            | CODE     |       |           |    |                           |       |
| KEL               | DEFISIEN | 1.200 | .632      | 10 | .748                      | 1.652 |
| KEL               | TERAPI   | 1.100 | .316      | 10 | .874                      | 1.326 |
| For entire sample |          | 1.150 | .489      | 20 | .921                      | 1.379 |

| Variable .. IGM   |          | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| FACTOR            | CODE     |       |           |    |                           |       |
| KEL               | DEFISIEN | 1.000 | .943      | 10 | .326                      | 1.674 |
| KEL               | TERAPI   | 1.300 | .675      | 10 | .817                      | 1.783 |
| For entire sample |          | 1.150 | .813      | 20 | .770                      | 1.530 |

| Variable .. CD11B |          | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| FACTOR            | CODE     |       |           |    |                           |       |
| KEL               | DEFISIEN | .800  | .632      | 10 | .348                      | 1.252 |
| KEL               | TERAPI   | 1.500 | .850      | 10 | .892                      | 2.108 |
| For entire sample |          | 1.150 | .813      | 20 | .770                      | 1.530 |

1 1 1 1 1 ANALYSIS OF VARIANCE - DESIGN 1 1 1 1 1

EFFECT .. DEL

Multivariate Tests of Significance (S = 1, M = 5, N = 7 1/2)

| Test Name  | Value   | Approx. F | Hypoth. DF | Error DF | Sig. of F |
|------------|---------|-----------|------------|----------|-----------|
| Pillais    | .89444  | 4.94253   | 12.00      | 7.00     | .021      |
| Hotellings | 2.47291 | 4.94253   | 12.00      | 7.00     | .021      |
| Wilks      | .10556  | 4.94253   | 12.00      | 7.00     | .021      |
| Roys       | .89444  |           |            |          |           |

Eigenvalues and Canonical Correlations

| Root No. | Eigenvalue | Pct.      | Cum. Pct. | Canon Cor. |
|----------|------------|-----------|-----------|------------|
| 1        | 8.47291    | 100.00000 | 100.00000 | .94575     |

Univariate F-tests with (1,18) D. F.

| Variable | Hypoth. SS | Error SS   | Hypoth. MS | Error MS  | F       | Sig. of F |
|----------|------------|------------|------------|-----------|---------|-----------|
| DC       | 3.20000    | 19.00000   | 3.20000    | 1.05556   | 3.03158 | .099      |
| NK       | .00000     | 25.80000   | .00000     | 1.43333   | .00000  | 1.000     |
| CD4      | 72.20000   | 552.00000  | 72.20000   | 30.66667  | 2.35435 | .142      |
| CD8      | 92.45000   | 878.10000  | 92.45000   | 48.78333  | 1.89511 | .186      |
| IL2      | 1.80000    | 25.20000   | 1.80000    | 1.40000   | 1.28571 | .272      |
| IFNG     | 61.25000   | 2347.70000 | 61.25000   | 130.42778 | .46961  | .502      |
| IL4      | 24.20000   | 45.00000   | 24.20000   | 2.50000   | 9.68000 | .006      |
| IL10     | 1.80000    | 12.00000   | 1.80000    | .66667    | 2.70000 | .118      |
| IGA      | .80000     | 6.40000    | .80000     | .35556    | 2.25000 | .151      |
| IG6      | .05000     | 4.50000    | .05000     | .25000    | .20000  | .660      |
| IGM      | .45000     | 12.10000   | .45000     | .67222    | .66942  | .424      |
| CD11B    | 2.45000    | 10.10000   | 2.45000    | .56111    | 4.36634 | .051      |

Averaged F-test with (12,216) D. F.

| VARIABLES | Hypoth. SS | Error SS   | Hypoth. MS | Error MS | F       | Sig. of F |
|-----------|------------|------------|------------|----------|---------|-----------|
| 1 to 12   | 260.65000  | 3937.90000 | 21.72083   | 18.23102 | 1.19142 | .291      |



## Lampiran 25

TITEL "Pengaruh INDUCTIVE DIRECT LPS pada Laktasi".

pro if (FOSIS)=1).

MAN DC NO. CD4 CD8 IL2 IFMS IL4 IL10 IgA IgG IgM CD11b BY KEL(1,3)/pri cell (all)/pri homo (all)/pri signif (all)/disc/desig.

30 cases accepted.

0 cases rejected because of out-of-range factor values.

0 cases rejected because of missing data.

3 non-empty cells.

1 design will be processed.

| Variable | CELL NUMBER |   |   |
|----------|-------------|---|---|
|          | 1           | 2 | 3 |
| KEL      | 1           | 2 | 3 |

Cell Means and Standard Deviations

Variable .. DC

| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| KEL               | DEFISIEN | 3.100 | 1.449     | 10 | 2.063                     | 4.137 |
| KEL               | KONTROL  | 3.500 | 2.224     | 10 | 1.909                     | 5.091 |
| KEL               | VIT_A    | 4.300 | .949      | 10 | 3.621                     | 4.979 |
| For entire sample |          | 3.633 | 1.650     | 30 | 3.017                     | 4.250 |

Variable .. NO

| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| KEL               | DEFISIEN | 2.900 | 1.729     | 10 | 1.663                     | 4.137 |
| KEL               | KONTROL  | 2.700 | 2.163     | 10 | 1.153                     | 4.247 |
| KEL               | VIT_A    | 3.900 | .994      | 10 | 3.189                     | 4.611 |
| For entire sample |          | 3.167 | 1.724     | 30 | 2.523                     | 3.810 |

Variable .. CD4

| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| KEL               | DEFISIEN | 6.000 | 3.590     | 10 | 3.432                     | 8.568 |
| KEL               | KONTROL  | 5.400 | 2.547     | 10 | 3.578                     | 7.222 |
| KEL               | VIT_A    | 5.300 | 3.129     | 10 | 3.062                     | 7.538 |
| For entire sample |          | 5.567 | 3.025     | 30 | 4.437                     | 6.696 |

Variable .. CD8

| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| KEL               | DEFISIEN | 5.600 | 3.502     | 10 | 3.095                     | 8.105 |
| KEL               | KONTROL  | 4.700 | 3.498     | 10 | 2.198                     | 7.202 |
| KEL               | VIT_A    | 3.500 | 1.418     | 10 | 2.286                     | 4.314 |
| For entire sample |          | 4.533 | 3.026     | 30 | 3.404                     | 5.663 |

Variable .. IL2

| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| KEL               | DEFISIEN | 2.700 | 1.160     | 10 | 1.871                     | 3.529 |
| KEL               | KONTROL  | 4.300 | 5.677     | 10 | .239                      | 8.361 |
| KEL               | VIT_A    | 2.300 | 1.418     | 10 | 1.286                     | 3.314 |
| For entire sample |          | 3.100 | 3.438     | 30 | 1.816                     | 4.384 |

| Variable .. IFMS  |          | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| FACTOR            | CODE     |       |           |    |                           |       |
| KEL               | DEFISIEN | 3.100 | 2.132     | 10 | 1.575                     | 4.625 |
| KEL               | KONTROL  | 5.300 | 2.541     | 10 | 3.482                     | 7.118 |
| KEL               | VIT_A    | 3.700 | 2.163     | 10 | 2.153                     | 5.247 |
| For entire sample |          | 4.033 | 2.399     | 30 | 3.137                     | 4.929 |

| Variable .. IL4   |          | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| FACTOR            | CODE     |       |           |    |                           |       |
| KEL               | DEFISIEN | 1.800 | 1.033     | 10 | 1.061                     | 2.539 |
| KEL               | KONTROL  | 4.500 | 1.509     | 10 | 3.420                     | 5.580 |
| KEL               | VIT_A    | 4.900 | 3.247     | 10 | 2.577                     | 7.223 |
| For entire sample |          | 3.733 | 2.504     | 30 | 2.798                     | 4.668 |

| Variable .. IL10  |          | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| FACTOR            | CODE     |       |           |    |                           |       |
| KEL               | DEFISIEN | 2.200 | 1.135     | 10 | 1.388                     | 3.012 |
| KEL               | KONTROL  | 2.100 | 1.524     | 10 | 1.010                     | 3.190 |
| KEL               | VIT_A    | 2.100 | 1.853     | 10 | .774                      | 3.426 |
| For entire sample |          | 2.133 | 1.479     | 30 | 1.581                     | 2.686 |

| Variable .. IGA   |          | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| FACTOR            | CODE     |       |           |    |                           |       |
| KEL               | DEFISIEN | 1.100 | .316      | 10 | .874                      | 1.326 |
| KEL               | KONTROL  | 2.100 | 1.595     | 10 | .959                      | 3.241 |
| KEL               | VIT_A    | 1.700 | .675      | 10 | 1.217                     | 2.183 |
| For entire sample |          | 1.633 | 1.066     | 30 | 1.235                     | 2.031 |

| Variable .. IGS   |          | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| FACTOR            | CODE     |       |           |    |                           |       |
| KEL               | DEFISIEN | 1.200 | .422      | 10 | .898                      | 1.502 |
| KEL               | KONTROL  | 1.300 | .483      | 10 | .954                      | 1.646 |
| KEL               | VIT_A    | 1.200 | .422      | 10 | .898                      | 1.502 |
| For entire sample |          | 1.233 | .430      | 30 | 1.073                     | 1.394 |

| Variable .. IGM   |          | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| FACTOR            | CODE     |       |           |    |                           |       |
| KEL               | DEFISIEN | 2.100 | 1.449     | 10 | 1.063                     | 3.137 |
| KEL               | KONTROL  | 2.000 | 1.247     | 10 | 1.108                     | 2.892 |
| KEL               | VIT_A    | 1.900 | .876      | 10 | 1.274                     | 2.526 |
| For entire sample |          | 2.000 | 1.174     | 30 | 1.561                     | 2.439 |

| Variable .. CD118 |          | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| FACTOR            | CODE     |       |           |    |                           |       |
| KEL               | DEFISIEN | 1.600 | .699      | 10 | 1.100                     | 2.100 |
| KEL               | KONTROL  | 1.300 | .483      | 10 | .954                      | 1.646 |
| KEL               | VIT_A    | 2.100 | .738      | 10 | 1.572                     | 2.628 |
| For entire sample |          | 1.667 | .711      | 30 | 1.401                     | 1.932 |

----- DISCRIMINANT ANALYSIS -----

On groups defined by KEL

Analysis number 2

Direct method: All variables passing the tolerance test are entered.

Minimum Tolerance Level..... .00100

Canonical Discriminant Functions

Maximum number of functions..... 2

Minimum cumulative percent of variance... 100.00

Maximum significance of Wilks' Lambda.... 1.0000

Prior probability for each group is .33333

Classification Function Coefficients

(Fisher's Linear Discriminant Functions)

| KEL        | = | 1              | 2         | 3             |
|------------|---|----------------|-----------|---------------|
|            |   | DEFISIEN<br>SI | KONTROL   | VIT_A         |
| DC         |   | -.5136274      | .6535136  | .7433312      |
| MK         |   | -.9733206      | -1.825009 | -1.318399     |
| CD4        |   | .9484615       | .7955955  | .9662845      |
| CD8        |   | .2028977       | -.1830913 | -.2713082     |
| IL2        |   | -.1089341      | .4588959  | .3461143      |
| IFNG       |   | .2661630       | .3911768  | -.7609144E-01 |
| IL4        |   | .9485350       | 1.715897  | 2.059926      |
| IL10       |   | 1.284048       | 1.141044  | 1.430069      |
| ISA        |   | .1418569       | 2.078013  | 1.980670      |
| IGG        |   | 5.514503       | 2.549780  | 1.165744      |
| IGM        |   | 2.016373       | 2.615599  | 2.231392      |
| CD11B      |   | 6.113703       | 6.020666  | 7.951597      |
| (constant) |   | -15.23099      | -18.94675 | -21.89656     |

Canonical Discriminant Functions

| Function | Eigenvalue | Percent of Variance | Cumulative Percent | Canonical Correlation | : After Function | Wilks' Lambda | Chi-squared | D.F. | Significance |
|----------|------------|---------------------|--------------------|-----------------------|------------------|---------------|-------------|------|--------------|
| 1†       | 1.43208    | 68.74               | 68.74              | .7673322              | 0                | .2489971      | 29.892      | 24   | .1884        |
| 2†       | .65131     | 31.26               | 100.00             | .6280279              | 1                | .6055810      | 10.784      | 11   | .4616        |

† marks the 2 canonical discriminant functions remaining in the analysis.

## ----- DISCRIMINANT ANALYSIS -----

On groups defined by XEL

Analysis number.. 1

Number of Canonical Discriminant Functions.. 2

List of the 7 Variables used..

Variable Label

-----  
 DC  
 CD8  
 IL2  
 IL4  
 IGA  
 IGG  
 CD11B

Classification Results -

| Actual Group |            | No. of Cases | Predicted Group Membership |       |       |
|--------------|------------|--------------|----------------------------|-------|-------|
|              |            |              | 1                          | 2     | 3     |
| Group 1      | 1          | 10           | 9                          | 0     | 1     |
|              | DEFISIENSI |              | 90.0%                      | .0%   | 10.0% |
| Group 2      | 2          | 10           | 1                          | 6     | 3     |
|              | KONTROL    |              | 10.0%                      | 60.0% | 30.0% |
| Group 3      | 3          | 10           | 0                          | 2     | 8     |
|              | VIT_A      |              | .0%                        | 20.0% | 80.0% |

Percent of "grouped" cases correctly classified: 76.67%

Classification Processing Summary

30 Cases were processed.

0 Cases were excluded for missing or out-of-range group codes.

0 Cases had at least one missing discriminating variable.

30 Cases were used for printed output.

----- DISCRIMINANT ANALYSIS -----

On groups defined by MEL

Analysis number.. 2

Number of Canonical Discriminant Functions.. 2

List of the 12 Variables used..

Variable Label

-----  
 DC  
 NK  
 CD4  
 CD8  
 IL2  
 IFNG  
 IL4  
 IL10  
 IGA  
 IGG  
 IGM  
 CD11B

Classification Results -

| Actual Group          | No. of Cases | Predicted Group Membership |            |            |
|-----------------------|--------------|----------------------------|------------|------------|
|                       |              | 1                          | 2          | 3          |
| Group 1<br>DEFISIENSI | 10           | 9<br>90.0%                 | 0<br>.0%   | 1<br>10.0% |
| Group 2<br>KONTROL    | 10           | 1<br>10.0%                 | 6<br>60.0% | 3<br>30.0% |
| Group 3<br>VIT_A      | 10           | 0<br>.0%                   | 1<br>10.0% | 9<br>90.0% |

Percent of "grouped" cases correctly classified: 80.00%

Classification Processing Summary

30 Cases were processed.  
 0 Cases were excluded for missing or out-of-range group codes.  
 0 Cases had at least one missing discriminating variable.  
 30 Cases were used for printed output.

## Lampiran 26

TITEL 'DAERAH INDUCTIVE DIBERI LPS negatif'.

pro if (POSISI=2).

MAN DC NY CD4 CD8 IL2 IFNG IL4 IL10 IqA IgG IgM CD11b BY KEL(1,3)/pri cell (all)/pri homo (all)/pri signif (all)/disc/desi:

30 cases accepted.

0 cases rejected because of out-of-range factor values.

0 cases rejected because of missing data.

3 non-empty cells.

1 design will be processed.

| Variable | CELL NUMBER |   |   |
|----------|-------------|---|---|
|          | 1           | 2 | 3 |
| KEL      | 1           | 2 | 3 |

## Cell Means and Standard Deviations

Variable .. DC

| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| KEL               | DEFISIEN | 1.300 | 1.059     | 10 | .542                      | 2.058 |
| KEL               | KONTROL  | 4.200 | 2.348     | 10 | 2.521                     | 5.879 |
| KEL               | VIT_A    | 2.100 | .994      | 10 | 1.389                     | 2.811 |
| For entire sample |          | 2.533 | 1.978     | 30 | 1.795                     | 3.272 |

Variable .. NY

| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| KEL               | DEFISIEN | 1.900 | 1.197     | 10 | 1.044                     | 2.756 |
| KEL               | KONTROL  | 3.500 | 1.958     | 10 | 2.099                     | 4.901 |
| KEL               | VIT_A    | 1.900 | 1.197     | 10 | 1.044                     | 2.756 |
| For entire sample |          | 2.433 | 1.633     | 30 | 1.823                     | 3.043 |

Variable .. CD4

| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|---------------------------|--------|
| KEL               | DEFISIEN | 5.600 | 7.648     | 10 | .129                      | 11.071 |
| KEL               | KONTROL  | 4.600 | 2.413     | 10 | 2.874                     | 6.326  |
| KEL               | VIT_A    | 1.800 | 1.687     | 10 | .594                      | 3.006  |
| For entire sample |          | 4.000 | 4.849     | 30 | 2.189                     | 5.811  |

Variable .. CD8

| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|---------------------------|--------|
| KEL               | DEFISIEN | 6.500 | 9.778     | 10 | -.495                     | 13.495 |
| KEL               | KONTROL  | 4.300 | 2.452     | 10 | 2.546                     | 6.054  |
| KEL               | VIT_A    | 2.200 | 1.398     | 10 | 1.200                     | 3.200  |
| For entire sample |          | 4.333 | 5.944     | 30 | 2.114                     | 6.553  |

Variable .. IL2

| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| KEL               | DEFISIEN | 1.200 | .789      | 10 | .636                      | 1.764 |
| KEL               | KONTROL  | 1.100 | .568      | 10 | .694                      | 1.506 |
| KEL               | VIT_A    | 1.800 | 1.476     | 10 | .744                      | 2.856 |
| For entire sample |          | 1.367 | 1.033     | 30 | .981                      | 1.753 |

----- DISCRIMINANT ANALYSIS -----

On groups defined by YEL

Analysis number 2

Direct method: All variables passing the tolerance test are entered.

Minimum Tolerance Level..... .00100

Canonical Discriminant Functions

Maximum number of functions..... 2

Minimum cumulative percent of variance... 100.00

Maximum significance of Wilks' Lambda.... 1.0000

Prior probability for each group is .33333

Classification Function Coefficients

(Fisher's Linear Discriminant Functions)

| YEL        | = | 1         | 2             | 3         |
|------------|---|-----------|---------------|-----------|
|            |   | DEFISIEN  | KONTROL       | VIT_A     |
|            |   | SI        |               |           |
| DC         |   | .6809748  | 3.186702      | 1.832616  |
| MK         |   | -1.752877 | -2.271697     | -2.620619 |
| CD4        |   | .7450125  | .3115806      | .8336612  |
| CD8        |   | .7709006  | .2879533      | -.1168449 |
| IL2        |   | -2.617355 | -3.107851     | -1.782163 |
| IFNG       |   | -.6338419 | -.2590634     | -.2515138 |
| IL4        |   | 1.139045  | 1.316331      | 2.295746  |
| IL10       |   | -.4324381 | -.4700832E-01 | -.5149808 |
| IGA        |   | 6.634427  | 8.331976      | 10.32314  |
| IGG        |   | 15.69229  | 11.09586      | 12.60254  |
| IGM        |   | -4.066972 | -2.949052     | -4.440825 |
| CD11B      |   | 5.281835  | 6.288027      | 7.852038  |
| (constant) |   | -14.16580 | -16.85088     | -19.78655 |

Canonical Discriminant Functions

| Function | Eigenvalue | Percent of Variance | Cumulative Percent | Canonical Correlation | : After Function | Wilks' Lambda | Chi-squared | D.F. | Significance |
|----------|------------|---------------------|--------------------|-----------------------|------------------|---------------|-------------|------|--------------|
|          |            |                     |                    |                       | : 0              | .1408646      | 42.139      | 24   | .0124        |
| 1†       | 2.16969    | 63.64               | 63.64              | .8273521              | : 1              | .4464969      | 17.336      | 11   | .0983        |
| 2†       | 1.23966    | 36.36               | 100.00             | .7439779              | :                |               |             |      |              |

† marks the 2 canonical discriminant functions remaining in the analysis.

## ----- DISCRIMINANT ANALYSIS -----

On groups defined by FIEL

Analysis number.. 1

Number of Canonical Discriminant Functions.. 2

List of the 10 Variables used..

Variable Label

DC  
 CD8  
 IL2  
 IFNG  
 IL4  
 IL10  
 IGA  
 IGG  
 IGM  
 CD11B

Classification Results -

| Actual Group          | No. of Cases | Predicted Group Membership |            |            |
|-----------------------|--------------|----------------------------|------------|------------|
|                       |              | 1                          | 2          | 3          |
| Group 1<br>DEFISIENSI | 10           | 10<br>100.0%               | 0<br>.0%   | 0<br>.0%   |
| Group 2<br>KONTROL    | 10           | 1<br>10.0%                 | 9<br>90.0% | 0<br>.0%   |
| Group 3<br>VIT_A      | 10           | 1<br>10.0%                 | 1<br>10.0% | 8<br>80.0% |

Percent of "grouped" cases correctly classified: 90.00%

Classification Processing Summary

- 30 Cases were processed.
- 0 Cases were excluded for missing or out-of-range group codes.
- 0 Cases had at least one missing discriminating variable.
- 30 Cases were used for printed output.



----- DISCRIMINANT ANALYSIS -----

On groups defined by IEL

Analysis number.. 2

Number of Canonical Discriminant Functions.. 2

List of the 12 Variables used..

Variable Label

DC  
MK  
CD4  
CD8  
IL2  
IFN $\gamma$   
IL4  
IL10  
IGA  
IGG  
IGM  
CD11B

Classification Results -

| Actual Group          | No. of Cases | Predicted Group Membership |            |            |
|-----------------------|--------------|----------------------------|------------|------------|
|                       |              | 1                          | 2          | 3          |
| Group 1<br>DEFISIENSI | 10           | 10<br>100.0%               | 0<br>.0%   | 0<br>.0%   |
| Group 2<br>KONTROL    | 10           | 0<br>.0%                   | 9<br>90.0% | 1<br>10.0% |
| Group 3<br>VIT_A      | 10           | 0<br>.0%                   | 1<br>10.0% | 9<br>90.0% |

Percent of "grouped" cases correctly classified: 93.33%

Classification Processing Summary

30 Cases were processed.

0 Cases were excluded for missing or out-of-range group codes.

0 Cases had at least one missing discriminating variable.

30 Cases were used for printed output.

Lampiran 27

TITEL POLA DAERAH INDUCTIVE DIBERI LPS posisi 1, pro if (POSISI=1).  
 MAN DC CDB IL2 IL4 IgA IgE CD11b BY KEL(1,3)/pri cell (all)/pri homo (all)/pri signif (all)/disc/deslg.

30 cases accepted.  
 0 cases rejected because of out-of-range factor values.  
 0 cases rejected because of missing data.  
 3 non-empty cells.

1 design will be processed.

```

-----
          CELL NUMBER
          1   2   3
Variable
  KEL      1   2   3
    
```

Cell Means and Standard Deviations

Variable .. DC

| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|---------------------------|
| KEL               | DEFISIEN | -.346 | .162      | 10 | -.461 - .230              |
| KEL               | KONTROL  | 1.286 | .817      | 10 | .701 1.870                |
| KEL               | VIT_A    | 4.214 | .930      | 10 | 3.549 4.879               |
| For entire sample |          | 1.718 | 2.041     | 30 | .956 2.480                |

Variable .. CDB

| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|---------------------------|
| KEL               | DEFISIEN | 4.278 | 2.676     | 10 | 2.364 6.193               |
| KEL               | KONTROL  | 1.952 | 1.453     | 10 | .913 2.992                |
| KEL               | VIT_A    | .962  | .413      | 10 | .666 1.258                |
| For entire sample |          | 2.398 | 2.220     | 30 | 1.569 3.227               |

Variable .. IL2

| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|---------------------------|
| KEL               | DEFISIEN | .253  | .109      | 10 | .176 .331                 |
| KEL               | KONTROL  | 2.541 | 3.356     | 10 | .141 4.942                |
| KEL               | VIT_A    | 1.092 | .618      | 10 | .560 1.444                |
| For entire sample |          | 1.266 | 2.134     | 30 | .469 2.063                |

Variable .. IL4

| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|---------------------------|
| KEL               | DEFISIEN | 1.194 | .685      | 10 | .704 1.684                |
| KEL               | KONTROL  | 6.306 | 2.115     | 10 | 4.793 7.818               |
| KEL               | VIT_A    | 7.324 | 4.854     | 10 | 3.852 10.796              |
| For entire sample |          | 4.941 | 4.036     | 30 | 3.434 6.448               |

Variable .. ISA

| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| KEL               | DEFISIEN | -.602 | .173      | 10 | -.726                     | -.479 |
| KEL               | KONTROL  | 2.930 | 2.225     | 10 | 1.338                     | 4.522 |
| KEL               | VIT_A    | 2.077 | .825      | 10 | 1.489                     | 2.669 |
| For entire sample |          | 1.467 | 2.025     | 30 | .713                      | 2.225 |

-----

Variable .. IGG

| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|---------------------------|-------|
| KEL               | DEFISIEN | 7.463 | 2.622     | 10 | 5.587                     | 9.339 |
| KEL               | KONTROL  | 3.978 | 1.441     | 10 | 2.847                     | 4.908 |
| KEL               | VIT_A    | 1.813 | .637      | 10 | 1.357                     | 2.269 |
| For entire sample |          | 4.385 | 2.923     | 30 | 3.293                     | 5.476 |

-----

Variable .. CD11B

| FACTOR            | CODE     | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
|-------------------|----------|--------|-----------|----|---------------------------|--------|
| KEL               | DEFISIEN | 6.972  | 3.047     | 10 | 4.792                     | 9.152  |
| KEL               | KONTROL  | 5.275  | 1.960     | 10 | 3.873                     | 6.677  |
| KEL               | VIT_A    | 12.461 | 4.378     | 10 | 9.329                     | 15.593 |
| For entire sample |          | 8.236  | 4.445     | 30 | 6.576                     | 9.896  |

1 1 1 1 1 ANALYSIS OF VARIANCE -- DESIGN 1 1 1 1 1

EFFECT .. KEL

Multivariate Tests of Significance (S = 2, M = 2, N = 9 1/2)

| Test Name  | Value    | Aporox. F | Hypoth. DF | Error DF | Sig. of F |
|------------|----------|-----------|------------|----------|-----------|
| Pillais    | 1.65383  | 15.01521  | 14.00      | 44.00    | .000      |
| Hotellings | 19.83193 | 28.33133  | 14.00      | 40.00    | .000      |
| Milks      | .01586   | 29.82456  | 14.00      | 42.00    | .000      |
| Roys       | .94567   |           |            |          |           |

Eigenvalues and Canonical Correlations

| Root No. | Eigenvalue | Pct.     | Cum. Pct. | Canon Cor. |
|----------|------------|----------|-----------|------------|
| 1        | 17.40533   | 87.76417 | 87.76417  | .97245     |
| 2        | 2.42660    | 12.23583 | 100.00000 | .84153     |

Dimension Reduction Analysis

| Roots  | Milks L. | F Hypoth. DF | Error DF | Sig. of F |      |
|--------|----------|--------------|----------|-----------|------|
| 1 TO 2 | .01586   | 29.82456     | 14.00    | 42.00     | .000 |
| 2 TO 2 | .29183   | 8.89754      | 6.00     | 22.00     | .000 |

Univariate F-tests with (2,27) D. F.

| Variable | Hypoth. SS | Error SS  | Hypoth. MS | Error MS | F         | Sig. of F |
|----------|------------|-----------|------------|----------|-----------|-----------|
| DC       | 106.75651  | 14.01843  | 53.37825   | .51920   | 102.80845 | .000      |
| CD8      | 57.96246   | 84.97559  | 28.98123   | 3.14724  | 9.20845   | .001      |
| TL2      | 27.21862   | 104.88439 | 13.60931   | 3.88461  | 3.50339   | .044      |
| TL4      | 215.83422  | 256.50717 | 107.91711  | 9.50027  | 11.35938  | .000      |
| IGA      | 67.96563   | 50.97195  | 33.98281   | 1.88785  | 18.00080  | .000      |
| IG6      | 163.48342  | 84.22506  | 81.74171   | 3.11945  | 26.20391  | .000      |
| CD118    | 282.20745  | 290.65324 | 141.10373  | 10.76493 | 13.10772  | .000      |

Averaged F-test with (14,189) D. F.

| VARIABLES | Hypoth. SS | Error SS  | Hypoth. MS | Error MS | F        | Sig. of F |
|-----------|------------|-----------|------------|----------|----------|-----------|
| 1 to 7    | 921.42831  | 886.23583 | 65.81631   | 4.68908  | 14.03609 | .000      |

Lampiran 28

TITEL POLA DAERAH INDUCTIVE TERBARI LPS *Kepa L.f.*

pro 1f (POSISI=2).

MAN DC CDB IL2 IFNG IL4 IL10 IgA IgG IgM CD11b BY KEL(1,3)/pri cell (all)/pri hoes (all)/pri signif (all)/disc/desig.

30 cases accepted.  
 0 cases rejected because of out-of-range factor values.  
 0 cases rejected because of missing data.  
 3 non-empty cells.

1 design will be processed.

```

-----
                CELL NUMBER
                1   2   3
Variable
KEL            1   2   3
    
```

Cell Means and Standard Deviations

Variable .. DC

| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|---------------------------|--------|
| KEL               | DEFISIEN | .026  | .021      | 10 | .011                      | .041   |
| KEL               | KONTROL  | 8.119 | 4.538     | 10 | 4.873                     | 11.366 |
| KEL               | VIT_A    | 1.416 | .671      | 10 | .937                      | 1.896  |
| For entire sample |          | 3.187 | 4.410     | 30 | 1.541                     | 4.834  |

Variable .. CDB

| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|---------------------------|--------|
| KEL               | DEFISIEN | 7.120 | 10.711    | 10 | -.542                     | 14.782 |
| KEL               | KONTROL  | .591  | .337      | 10 | .350                      | .833   |
| KEL               | VIT_A    | .272  | .173      | 10 | .148                      | .396   |
| For entire sample |          | 2.661 | 6.779     | 30 | .130                      | 5.192  |

Variable .. IL2

| FACTOR            | CODE     | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |        |
|-------------------|----------|--------|-----------|----|---------------------------|--------|
| KEL               | DEFISIEN | -2.068 | 1.360     | 10 | -3.041                    | -1.096 |
| KEL               | KONTROL  | -2.017 | 1.041     | 10 | -2.761                    | -1.272 |
| KEL               | VIT_A    | -.713  | .585      | 10 | -1.131                    | -.295  |
| For entire sample |          | -1.599 | 1.193     | 30 | -2.045                    | -1.154 |

Variable .. IFNG

| FACTOR            | CODE     | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent Conf. Interval |       |
|-------------------|----------|--------|-----------|----|---------------------------|-------|
| KEL               | DEFISIEN | -3.443 | 8.789     | 10 | -9.730                    | 2.845 |
| KEL               | KONTROL  | -.215  | .062      | 10 | -.260                     | -.171 |
| KEL               | VIT_A    | -.244  | .129      | 10 | -.336                     | -.152 |
| For entire sample |          | -1.301 | 5.134     | 30 | -3.218                    | .616  |

Variable .. IL4

| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent | Conf. Interval |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|------------|----------------|
| KEL               | DEFISIEN | .621  | .654      | 10 | .354       | 1.289          |
| KEL               | KONTROL  | 3.282 | 1.956     | 10 | 1.882      | 4.681          |
| KEL               | VIT_A    | 6.098 | 3.802     | 10 | 3.378      | 8.818          |
| For entire sample |          | 3.490 | 3.258     | 30 | 2.184      | 4.617          |

Variable .. IL10

| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent | Conf. Interval |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|------------|----------------|
| KEL               | DEFISIEN | -.156 | .124      | 10 | -.245      | -.068          |
| KEL               | KONTROL  | .526  | .955      | 10 | -.157      | 1.209          |
| KEL               | VIT_A    | -.293 | .202      | 10 | -.438      | -.148          |
| For entire sample |          | .026  | .658      | 30 | -.220      | .271           |

Variable .. IGA

| FACTOR            | CODE     | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent | Conf. Interval |
|-------------------|----------|--------|-----------|----|------------|----------------|
| KEL               | DEFISIEN | 4.294  | .000      | 10 | 4.294      | 4.294          |
| KEL               | KONTROL  | 7.327  | 2.575     | 10 | 5.486      | 9.169          |
| KEL               | VIT_A    | 10.039 | 6.047     | 10 | 5.713      | 14.364         |
| For entire sample |          | 7.220  | 4.370     | 30 | 5.588      | 8.852          |

Variable .. IGG

| FACTOR            | CODE     | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent | Conf. Interval |
|-------------------|----------|--------|-----------|----|------------|----------------|
| KEL               | DEFISIEN | 16.301 | 8.592     | 10 | 10.155     | 22.447         |
| KEL               | KONTROL  | 8.686  | .000      | 10 | 8.686      | 8.686          |
| KEL               | VIT_A    | 10.548 | 3.032     | 10 | 8.379      | 12.717         |
| For entire sample |          | 11.845 | 6.052     | 30 | 9.585      | 14.105         |

Variable .. IGM

| FACTOR            | CODE     | Mean   | Std. Dev. | N  | 95 percent | Conf. Interval |
|-------------------|----------|--------|-----------|----|------------|----------------|
| KEL               | DEFISIEN | -3.277 | 3.089     | 10 | -5.487     | -1.067         |
| KEL               | KONTROL  | -3.907 | 3.054     | 10 | -6.091     | -1.722         |
| KEL               | VIT_A    | -4.253 | 2.208     | 10 | -5.833     | -2.674         |
| For entire sample |          | -3.812 | 2.746     | 30 | -4.838     | -2.787         |

Variable .. CD11B

| FACTOR            | CODE     | Mean  | Std. Dev. | N  | 95 percent | Conf. Interval |
|-------------------|----------|-------|-----------|----|------------|----------------|
| KEL               | DEFISIEN | 2.975 | 2.352     | 10 | 1.293      | 4.658          |
| KEL               | KONTROL  | 5.745 | 3.461     | 10 | 3.270      | 8.221          |
| KEL               | VIT_A    | 8.172 | 4.630     | 10 | 4.860      | 11.483         |
| For entire sample |          | 5.631 | 4.092     | 30 | 4.103      | 7.159          |

1 1 1 1 1 ANALYSIS OF VARIANCE - DESIGN 1 1 1 1 1

EFFECT .. MEL

Multivariate Tests of Significance (E = 0. \* = 3 1/2, N = 8 )

| Test Name  | Value   | Approx. F | Hypothesis DF | Error DF | Sig. of F |
|------------|---------|-----------|---------------|----------|-----------|
| Pillais    | 1.67040 | 8.38136   | 20.00         | 38.00    | .000      |
| Hotellings | 9.05925 | 7.76988   | 20.00         | 34.00    | .000      |
| Wilks      | .03342  | 8.04647   | 20.00         | 36.00    | .000      |
| Roys       | .84227  |           |               |          |           |

Eigenvalues and Canonical Correlations

| Root No. | Eigenvalue | Pct.     | Cum. Pct. | Canon Cor. |
|----------|------------|----------|-----------|------------|
| 1        | 5.34006    | 58.94203 | 58.94203  | .91775     |
| 2        | 3.71979    | 41.05777 | 100.00000 | .88776     |

Dimension Reduction Analysis

| Roots  | Wilks L. | F Hypoth. | DF    | Error DF | Sig. of F |
|--------|----------|-----------|-------|----------|-----------|
| 1 TO 2 | .03342   | 8.04647   | 20.00 | 36.00    | .000      |
| 2 TO 2 | .21187   | 7.85299   | 9.00  | 19.00    | .000      |

Univariate F-tests with (2,27) D. F.

| Variable | Hypoth. SS | Error SS   | Hypoth. MS | Error MS | F        | Sig. of F |
|----------|------------|------------|------------|----------|----------|-----------|
| DC       | 374.56155  | 187.42306  | 187.28077  | 7.01567  | 26.69464 | .000      |
| CD8      | 298.73939  | 1033.81691 | 149.36969  | 38.28952 | 3.90106  | .032      |
| IL2      | 11.79638   | 29.45765   | 5.89819    | 1.09102  | 5.40611  | .011      |
| IFMG     | 68.82856   | 695.46849  | 34.41428   | 25.75809 | 1.33606  | .280      |
| IL4      | 139.43428  | 168.40229  | 69.71714   | 6.23712  | 11.17777 | .000      |
| IL10     | 3.85165    | 8.71495    | 1.92583    | .32278   | 5.96645  | .007      |
| IGA      | 165.14737  | 388.71143  | 82.57368   | 14.39672 | 5.73559  | .008      |
| IGG      | 315.23081  | 747.08776  | 157.61540  | 27.66992 | 5.69627  | .009      |
| IGM      | 4.90012    | 213.73637  | 2.45006    | 7.91616  | .30950   | .736      |
| CD118    | 135.19676  | 350.48175  | 67.59838   | 12.98081 | 5.20736  | .012      |

Averaged F-test with (20,270) D. F.

| VARIABLES | Hypoth. SS | Error SS   | Hypoth. MS | Error MS | F       | Sig. of F |
|-----------|------------|------------|------------|----------|---------|-----------|
| 1 to 10   | 1517.68686 | 3825.30966 | 75.88434   | 14.16778 | 5.35612 | .000      |