
Jumlah CD4+IL-5+, CD8+IL-5+, dan Perbaikan Kualitas Hidup setelah Pemberian Probiotik dan *Nigella sativa* pada Anak Asma dengan Imunoterapi Fase Rumatan

Camellia Nucifera, Ery Olivianto, Wisnu Barlianto, HMS Chandra K
Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Brawijaya Malang
Laboratorium Ilmu Kesehatan Anak Rumah Sakit Syaiful Anwar Malang

Latar belakang. Interleukin-5 (IL-5) merupakan sitokin penting dalam fungsi eosinofil primer, dihasilkan oleh sel T CD4⁺ dan sel T CD8⁺. *Nigella sativa* memiliki aktivitas anti alergi, anti asma, anti inflamasi, anti prostaglandin, dan anti histamin, sedangkan probiotik dapat memodulasi sistem imun ke arah Th1.

Tujuan. Menilai dampak *Nigella sativa* dan/probiotik terhadap jumlah CD4⁺ IL-5 dan CD8⁺IL-5 serta perbaikan kualitas hidup pasien asma yang menjalani imunoterapi *house dust mite* (HDM) fase rumatan.

Metode. Desain penelitian adalah uji klinis randomisasi. Subjek adalah pasien yang memenuhi kriteria inklusi dan menandatangani *informed consent*. Subjek dibagi 4 kelompok. Kelompok A mendapat imunoterapi spesifik HDM dan plasebo, kelompok B imunoterapi spesifik HDM dan *Nigella sativa*, kelompok C imunoterapi spesifik HDM dan probiotik, kelompok D imunoterapi spesifik HDM, probiotik dan *Nigella sativa*. Setelah 56 minggu diperiksa jumlah CD4⁺IL-5⁺, CD8⁺IL-5⁺ serta kualitas hidup menggunakan skor *Peds QL*.

Hasil. Tidak menunjukkan perbedaan bermakna jumlah CD4⁺ IL-5 dan CD8⁺IL-5 antar kelompok perlakuan namun didapatkan perbedaan bermakna skor *Peds QL*.

Kesimpulan. Imunoterapi HDM beserta ajuvan probiotik dan atau *Nigella sativa* meningkatkan kualitas hidup pasien asma pada anak. **Sari Pediatri** 2015;16(6):379-84.

Kata kunci : CD4⁺IL-5⁺, CD8⁺IL-5⁺, imunoterapi, probiotik, *Nigella sativa*, kualitas hidup

Asma merupakan masalah kesehatan di seluruh dunia dan menyerang sekitar 300 juta penduduk dunia pada semua usia dan ras, baik anak maupun dewasa.¹ Pada asma

terjadi ketidakseimbangan profil sitokin T-helper (Th)1 dan Th2 berupa peningkatan ekspresi Th2 dan penurunan Th1.^{2,3} Sel limfosit CD4⁺ Th2 menghasilkan IL-4, IL-13, dan IL-5.⁴ Sel T CD8⁺ Tc2 mensekresi IL-4 dan IL-5.³ Interleukin 5 merupakan kemokin utama dari eosinofil yang mampu memacu diferensiasi, aktivasi, ekspansi, mobilisasi, dan kelangsungan hidup eosinofil.^{2,5} Imunoterapi dapat menurunkan inflamasi dengan menurunkan rekrutmen sel inflamasi, aktivasi,

Alamat korespondensi:

Dr. Camellia Nucifera. SMF Ilmu Kesehatan Anak Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya /RSUD Saiful Anwar Malang. Jl. Jaksa Agung Suprpto 2 Malang 65111 Telepon: (0341) 343343. E-mail : camellia_nucifera@yahoo.com

dan pelepasan mediator.⁶ Minyak biji jinten hitam (*Nigella sativa*) mempunyai aktivitas sebagai anti alergi, anti asma, anti inflamasi, anti prostaglandin, dan antihistamin.⁷ dengan mengubah respon imun dari Th2 ke Th1.⁸ Probiotik dapat menstimulasi sel dendritik dan meningkatkan kadar IL-10 yang memiliki dampak anti inflamasi dan menginduksi aktifitas sel T regulator (Treg).⁹

Studi pendahuluan mengenai pengaruh pemberian probiotik dan *Nigella sativa* terhadap jumlah CD4⁺IL-5⁺ dan peningkatan kualitas hidup pasien anak asma yang mendapat imunoterapi *house dust mite* (HDM) fase *build up* telah dilakukan.¹⁰ Sebagai kelanjutan penelitian tersebut, maka penelitian ini dilakukan untuk mengetahui dampak pemberian *Nigella sativa* dan probiotik terhadap jumlah CD4⁺ IL-5 dan CD8⁺IL-5 sebagai respon imun Th2 serta perbaikan kualitas hidup pada pasien asma yang menjalani imunoterapi HDM fase rumatan.

Metode

Telah dilakukan uji klinis randomisasi, *post control study* terhadap jumlah CD4⁺IL-5⁺ dan CD8⁺IL-5⁺ serta pre dan *post control study* untuk kualitas hidup. Subjek dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan. Kelompok A mendapat imunoterapi spesifik HDM dan plasebo, kelompok B imunoterapi spesifik HDM dan *Nigella sativa*, kelompok C imunoterapi spesifik HDM dan probiotik, kelompok D imunoterapi spesifik HDM, probiotik dan *Nigella sativa*. Setiap kelompok melibatkan 8 subjek sehingga dibutuhkan 32 subjek. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2012-April 2014 di Poliklinik Alergi dan Imunologi Anak Rumah Sakit Umum Saiful Anwar Malang (RSSA) dan Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

Prekrutan subjek dilakukan dengan cara *simple-random sampling* pada anak yang didapati asma (*intermittent* atau *mild persistent*, berusia 4-14 tahun). Kriteria inklusi penelitian adalah alergi terhadap HDM, belum mendapat imunoterapi sebelumnya, pasien dan orang tua pasien bersedia secara sukarela mengikuti penelitian dan menandatangani *informed consent*. Kriteria eksklusi penelitian apabila dijumpai komorbid (sinusitis, otitis media, tuberkulosis, pneumonia, polip hidung, gastro-esofageal refluk, atau kelainan anatomi lain), menderita immunodefisiensi, penyakit auto-

imun, atau memiliki kelainan kardiovaskular, penyakit ginjal dan hati, memiliki riwayat alergi berat (syok anafilaksis dan asma serangan berat), sedang mendapat kortikosteroid oral dan inhalasi dosis terapi selama 1-2 minggu, vitamin D3 selama 3-4 bulan; β -blocker, penghambat ACE, antibiotik, antagonis leukotriene, teofilin, anti kolinergik, kromolin dan ketotifen pada 2 minggu sebelum dan selama penelitian, memiliki riwayat gagal nafas dalam 6 bulan terakhir, serta pasien yang sedang menderita infeksi berat.

Imunoterapi yang diberikan adalah ekstrak HDM. Imunoterapi diberikan secara subkutan setiap minggu selama 14 minggu (fase *build up*) dengan dosis yang berbeda setiap minggunya (penelitian pendahulu). Imunoterapi dilanjutkan setiap 3 minggu selama 42 minggu atau 14 kali (fase rumatan). Pengenceran ekstrak imunoterapi fase rumatan adalah 1:10 dengan dosis 0,1 mL setiap imunoterapi. Probiotik berisi campuran 2×10^9 cfu/gr *Lactobacillus acidophilus* LA-5TM dan *Bifidobacterium* dengan dosis 1 bungkus per hari. *Nigella sativa* berupa serbuk dalam kapsul dengan dosis 15 mg/kgBB/hari (kapsul berwarna merah-hitam) berisi 150 mg jinten hitam. Kapsul plasebo berisi sukrosa.

Pada subjek dilakukan anamnesis, pemeriksaan fisis, serta pemeriksaan darah (darah perifer lengkap, fungsi ginjal dan hati, jumlah IgE dan hapusan darah). Dicatat data demografi, yaitu usia, jenis kelamin, berat badan, status gizi, lama sakit/keluhan berlangsung, riwayat keluarga atopi, kategori asma). Setiap subjek penelitian diamati setiap minggu selama 14 minggu dan setiap 3 minggu selama 42 minggu mengenai keluhan, gejala klinis, respon klinis, kepatuhan minum obat, menghindari alergen, dan kategori asma saat mendapat serangan serta dampak samping perlakuan. Setelah 56 minggu dilakukan pemeriksaan darah perifer lengkap, fungsi ginjal dan hati, serta jumlah CD4⁺IL-5⁺ dan CD8⁺IL-5⁺, dilanjutkan dengan mengisi kuesioner *Peds QL* sesuai usia masing-masing.

Peripheral blood mononuclear cells (PBMC) diisolasi dan dibiakan dari darah tepi dengan *media Ficoll-Hypaque*, kemudian dianalisis dengan *flowcytometry* untuk mendapatkan jumlah CD4⁺IL-5⁺ dan CD8⁺IL-5⁺. Penilaian kualitas hidup subjek berusia <5 tahun dilakukan menggunakan kuesioner *PedsQL Modul Asma* versi 3.0 *parents report*. Sebaliknya, subjek berusia >5 tahun memakai *PedsQL Modul Asma* versi 3.0 *self report* dan *parents report*.

Uji normalitas dilakukan dengan uji Kolmogorov-Smirnov, dan uji homogenitas memakai uji Lavene. Un-

tuk membandingkan jumlah CD4⁺IL-5⁺, CD8⁺IL-5⁺ dan skor *Peds QL* antar kelompok perlakuan dilakukan uji *1-Way Anova*.

Hasil

Satu subjek pada kelompok D mengalami *drop out* karena tidak pernah menjalani imunoterapi. Selama penelitian tidak terdapat dampak samping imunoterapi berupa reaksi lokal maupun reaksi sistemik. Selain itu, juga tidak terdapat dampak samping pemberian jinten hitam maupun probiotik. Data penelitian menunjukkan bahwa semua data homogen dan distribusi CD4⁺IL-5⁺ dan CD8⁺IL-5⁺ serta *Peds QL proxy* tersebar normal. Sebagian besar subjek, berusia

≥5 tahun (28/31) memiliki riwayat atopi (23/31), hasil uji cukit kulit sebagian besar positif tidak hanya terhadap HDM saja (21/31), 17 (17/31) dengan keluhan batuk dan sesak, dan 22 orang dengan diagnosis asma *mild persistent* (Tabel 1).

Rerata jumlah CD4⁺IL5⁺ dan CD8⁺IL5⁺ antar kelompok perlakuan tidak berbeda bermakna. Namun, dapat terlihat bahwa jumlah CD4⁺ yang mengekspresikan IL-5⁺ lebih banyak dibandingkan jumlah CD8⁺ (Tabel 2).

Kualitas hidup sebelum dan sesudah perlakuan yang dinilai dengan kuesioner *Peds QL proxy* pre-imunoterapi dan pasca rumatan menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna ($p=0,094$) pada semua kelompok (Tabel 3). Hasil uji t-berpasangan menunjukkan nilai $t<0,05$ sehingga disimpulkan ba-

Tabel 1. Karakteristik subjek penelitian

Karakteristik	Kelompok A (n=8)	Kelompok B (n=8)	Kelompok C (n=8)	Kelompok D (n=7)
Jenis kelamin				
Laki-laki	5	2	4	4
Perempuan	3	6	4	3
Usia (tahun)				
<5	1	1	1	0
≥ 5	7	7	7	7
Riwayat atopi				
Tidak memiliki	2	2	1	3
Memiliki	6	6	7	4
Hasil <i>skin prick test</i> (%)				
HDM	3 (37,5)	4 (50)	2 (25)	1 (14)
HDM + <i>food</i>	3 (37,5)	2 (25)	4 (50)	5 (72)
HDM + <i>pet</i>	1 (12,5)	1 (12,5)	0 (0)	0 (0)
HDM + <i>food + pet</i>	1 (12,5)	1 (12,5)	2 (25)	1 (14)
Status gizi (%)				
Baik	8 (100)	6 (75)	7 (87,5)	7 (100)
Kurang	0 (0)	2 (25)	1 (12,5)	0 (0)
Keluhan saat datang (%)				
Batuk	1 (12,5)	0 (0)	1 (12,5)	2 (29)
Sesak	1 (12,5)	1 (12,5)	0 (0)	0 (0)
Batuk + pilek	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (14)
Batuk + sesak	4 (50)	6 (75)	4 (50)	3 (43)
Batuk + pilek + sesak	2 (25)	1 (12,5)	3 (37,5)	1 (14)
Diagnosis asma (%)				
Intermittent	4 (50)	1 (12,5)	3 (37,5)	1 (14)
Mild persistent	4 (50)	7 (87,5)	5 (62,5)	6 (86)

Keterangan: kelompok A=imunoterapi; kelompok B=imunoterapi+Nigella sativa; kelompok C=imunoterapi+probiotik; kelompok D=imunoterapi+Nigella sativa+probiotik. HDM= house dust mite

Tabel 2. Rerata jumlah CD4⁺IL-5⁺ dan CD8⁺IL-5⁺ antar kelompok perlakuan

Kelompok pengamatan	rerata CD8 ⁺ IL-5 ⁺ ±SD	p
A.imunoterapi	19,948 ± 8,247	0,650
B.imunoterapi+Nigella sativa	17,029 ± 9,249	
C.imunoterapi+probiotik	18,318 ± 14,585	
D.imunoterapi+Nigella sativa+probiotik	14,740 ± 8,411	
Kelompok pengamatan	rerata CD8 ⁺ IL-5 ⁺ ±SD	p
A.imunoterapi	6,959 ± 6,972	0,873
B.imunoterapi+Nigella sativa	7,271 ± 6,279	
C.imunoterapi+probiotik	6,325 ± 6,828	
D.imunoterapi+Nigella sativa+probiotik	8,120 ± 7,994	

Keterangan: Jika p<0,05 berarti ada perbedaan yang bermakna; p (anova)

Tabel 3. Hasil perbandingan 1-way Anova skor *Peds QL* pre-imunoterapi, pasca induksi dan pasca rumatan

Kelompok	x ± SD	x ± SD	x ± SD
	pre-imunoterapi	pasca induksi	pasca rumatan
A. imunoterapi	70,34± 76,07	81,67±92,59	87,51±96,96
B. imunoterapi +Nigella sativa	69,59 ± 83,85	76,63±93,76	87,64±96,58
C. imunoterapi +probiotik	71,06 ± 81,09	80,04±91,23	86,10±96,59
D. imunoterapi+Nigella sativa+probiotik	75,20±89,19	84,70±92,93	91,19±96,09
<i>p-value</i> (Anova) antar kelompok	0,094	0,774	0,865

Keterangan: Jika *p-value*<0.05 berarti ada perbedaan yang bermakna

Tabel 4. Hasil uji korelasi CD4⁺IL-5⁺, CD8⁺IL-5⁺ dengan *Peds QL proxy* pasca rumatan

Perlakuan	Koefisien korelasi (r)	<i>p-value</i>
CD4 ⁺ IL-5 ⁺ dengan <i>Peds QL proxy</i> pasca rumatan	0,154	0,408
CD8 ⁺ IL-5 ⁺ dengan <i>Peds QL proxy</i> pasca rumatan	-0,022	0,904

Keterangan: Jika *p-value* > 0.05 maka disimpulkan tidak ada hubungan yang bermakna

hwa terdapat perbedaan yang bermakna antara *Peds QL proxy* pre imunoterapi dan *Peds QL proxy* pasca rumatan.

Koefisien korelasi (nilai R) antara variabel CD4⁺IL-5⁺ dengan variabel *Peds QL* pasca rumatan adalah 0,154 dan CD8⁺IL-5⁺ dengan *Peds QL* pasca rumatan -0,022. Korelasi antara CD4⁺IL-5⁺ dengan variabel pasca rumatan memiliki nilai 0,408 dan CD8⁺IL-5⁺ dengan pasca rumatan 0,904 sehingga memiliki hubungan yang tidak bermakna (Tabel 4).

Pembahasan

Pada penelitian ini didapatkan jumlah CD4⁺IL-5⁺ dan CD8⁺IL-5⁺ tidak berbeda antara tiap kelompok perlakuan, sedangkan penelitian lain mendapatkan penurunan ekspresi IL-5 pada mukosa nasal dan tidak

terdapat perubahan kadar sitokin IL-5 pada darah tepi.¹¹ Durasi pemberian juga mempengaruhi dampak tivitasi imunoterapi. Penelitian pada pasien rhinitis alergi yang mendapat imunoterapi *grass pollen* selama 3-4 tahun dan 6-7 tahun menunjukkan tidak adanya penurunan kadar IL-5 bermakna.¹²

Penanganan asma yang tepat dengan menggabungkan berbagai aspek terapi yang optimal dapat meningkatkan kualitas hidup pasien asma anak.¹³ Faktor lingkungan, derajat paparan alergen, jenis paparan alergen, pencetus non alergi seperti infeksi dan zat kimia serta variasi genetik juga berperan dalam menentukan keberhasilan imunoterapi.¹⁴ Pada penelitian ini, terdapat 21 subjek dengan hasil uji cukit kulit positif terhadap HDM dan alergen lainnya. Imunoterapi yang diberikan adalah HDM spesifik sehingga hasil yang bervariasi disebabkan karena faktor alergi multipel.

Pemberian *Nigella sativa* pada mencit asma terbukti dapat menurunkan jumlah sel limfosit T CD4⁺, meningkatkan jumlah sel limfosit TReg, menghambat *airway remodelling*, dan memodulasi respon imun.¹⁵ Penelitian mengenai persentase sel T CD8⁺ dan CD4⁺ yang mengekspresi IL-4⁺ dan IL-5⁺ pada anak asma atopi dan non atopi menunjukkan bahwa sel T CD4⁺ dan CD8⁺ yang teraktivasi meningkat pada kelompok asma dibandingkan kelompok kontrol, dan sel CD4⁺ berperan lebih besar terhadap sintesis IL-4⁺ dan IL-5⁺.¹⁶ Penggunaan probiotik tunggal *Lactobacilli* menunjukkan pengurangan risiko dermatitis atopi apabila dibandingkan *strain* lain.¹⁷ Hal ini terjadi karena salah satu peran probiotik mempertahankan integritas barier usus terbatas pada beberapa spesies (*Lactobacillus reuteri* dan *Lactobacillus casei*). Perbedaan hasil penelitian ini kemungkinan disebabkan penggunaan jenis probiotik dan dosis yang berbeda. Imunoterapi yang optimal terbukti dapat memperbaiki kualitas hidup anak asma. Penelitian yang membandingkan penggunaan imunoterapi pada anak asma menunjukkan perbedaan kualitas hidup walaupun tidak ada perbedaan dalam fungsi paru.¹⁸

Kelemahan penelitian ini adalah tidak menggunakan kontrol negatif dan kontrol positif. Pengambilan sampel darah dari darah tepi kurang tepat untuk menilai produksi IL-5 pada target organ (mukosa saluran napas). Penelitian ini juga mengikutkan anak asma yang positif terhadap sensitisasi selain HDM, serta dengan komorbid rhinitis alergi. Selain itu jenis asupan nutrisi yang berbeda karena kondisi sosial ekonomi subjek yang beragam serta kepatuhan konsumsi probiotik dan *Nigella sativa* tidak dapat diawasi dengan benar.

Kesimpulan

Pemberian imunoterapi spesifik *house dust mite* serta ajuvan seperti probiotik dan atau *Nigella sativa* terbukti tidak menurunkan jumlah CD4⁺IL-5⁺ dan CD8⁺IL-5⁺, tetapi meningkatkan kualitas hidup pada anak asma.

Daftar pustaka

1. Global initiative for asthma. Global asthma strategy of management and prevention., 2014. Diakses pada 6 April 2015. Didapat dari: <http://www.ginasthma.org/>

documents/4

2. Park SW, Jangm HK, An MH, Min JW, Jang AS, Lee JH, dkk. Interleukin-13 and interleukin-5 in induced sputum of eosinophilic bronchitis: comparison with asthma. *Chest* 2005;128:1921-7.
3. Stock P, Kallinich T, Akbari O, Quarcocoo D, Gerhold K, Wahn U, dkk. CD8(+) T cells regulate immune responses in a murine model of allergen-induced sensitization and airway inflammation. *Eur J Immunol* 2004;34:1817-27.
4. Epstein MM. Targeting memory Th2 cells for the treatment of allergic asthma. *Pharmacol Ther* 2006;109:107-36.
5. Liu LY, Sedgwick JB, Bates ME, Vrtis RF, Gern JE, Kita H, dkk. Decreased expression of membrane IL-5 receptor alpha on human eosinophils: II. IL-5 down-modulates its receptor via a proteinase-mediated process. *J Immunol* 2002;169:6459-66.
6. Moote W, Kim H. Allergen-specific immunotherapy. *Allergy Asthma Clin Immunol* 2011;7 Suppl 1:S5.
7. Ahmad J, Khan RA, Malik MA. Study of nigella sativa oil in the management of wheeze associated lower respiratory tract illness in children. *African J Pharmacy Pharmacol* 2009;3:248-51.
8. Salem ML. Immunomodulatory and therapeutic properties of the *Nigella sativa* L. seed. *Int Immunopharmacol* 2005;5:1749-70.
9. Borchers AT, Selmi C, Meyers FJ, Keen CL, Gershwin ME. Probiotics and immunity. *J Gastroenterol* 2009;44:26-46.
10. Amalia Y. Pengaruh kombinasi *Nigella sativa* dan probiotik sebagai ajuvan imunoterapi terhadap jumlah CD+IL-5 dan kualitas hidup pada anak asma ringan [thesis magister]. Malang: Universitas Brawijaya; 2013.
11. Eifan AO, Akkoc T, Yildiz A, Keles S, Ozdemir C, Bahceciler NN, dkk. Clinical efficacy and immunological mechanisms of sublingual and subcutaneous immunotherapy in asthmatic/rhinitis children sensitized to house dust mite: an open randomized controlled trial. *Clin Exp Allergy* 2010;40:922-32.
12. Till S, Walker S, Dickason R, Huston D, O'Brien F, Lamb J, dkk. IL-5 production by allergen-stimulated T cells following grass pollen immunotherapy for seasonal allergic rhinitis. *Clin Exp Immunol* 1997;110:114-21.
13. Chiang LC. Exploring the health-related quality of life among children with moderate asthma. *J Nurs Res* 2005;13:31-40.
14. Alsamara AM, Alobaidi AH, Alrefaiei SM, Alwan AM. House dust mite immunotherapy in Iraqi patients with allergic rhinitis and asthma. 2012 [Diakses 17 Mei

- 2014]. In: Pharmacotherapy [Internet]. Croatia: InTech, [Diakses pada 17 Mei 2014]; [141-54]. Diunduh dari: <http://www.intechopen.com/books/pharmacotherapy/house-dust-mite-immunotherapy-in-iraqi-patients-with-allergic-rhinitis-and-asthma>.
15. Barlianto W, Kusuma CHS. Crude Extract of Black Seed (*Nigella sativa*) Can Modulate Tcd4+Cd25+Foxp3+ Lymphocytes in Asthmatic Mouse Model [disertasi]. Malang: Universitas Brawijaya; 2012.
 16. Gemou-Engesaeth V, Fagerhol MK, Toda M, Hamid Q, Halvorsen S, Groegaard JB, dkk. Expression of activation markers and cytokine mRNA by peripheral blood CD4 and CD8 T cells in atopic and nonatopic childhood asthma: effect of inhaled glucocorticoid therapy. *Pediatrics* 2002;109:E24.
 17. Doege K, Grajecki D, Zyriax BC, Detinkina E, Zu Eulenburg C, Buhling KJ. Impact of maternal supplementation with probiotics during pregnancy on atopic eczema in childhood--a meta-analysis. *Br J Nutr* 2012;107:1-6.
 18. Gozde Kanmaz H, Harmanci K, Razi C, Kose G, Cengizlier MR. Specific immunotherapy improves asthma related quality of life in childhood. *Allergol Immunopathol (Madr)* 2011;39:68-72.