

Efek Imunoterapi, Probiotik, *Nigella Sativa* terhadap Rasio CD4⁺/CD8⁺, Kadar Immunoglobulin E, dan Skoring Asma

Effect of Immunotherapy, Probiotic, and Nigella Sativa on CD4⁺/CD8⁺ Ratio, Immunoglobulin E Level, and Asthma Scoring

Hittoh Fattory¹, Agustina Tri E², Wisnu Barlianto³, Ery Olivianto¹, HMS Chandra Kusuma¹

¹Laboratorium Ilmu Kesehatan Anak Rumah Sakit Umum Daerah Dr. Saiful Anwar Malang

²Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang

³Laboratorium Ilmu Kesehatan Anak Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang

ABSTRAK

Imunoterapi alergen-spesifik dan reduksi alergen merupakan intervensi pada penyakit alergi yang berpotensi untuk mengurangi gejala alergi jangka panjang. Penurunan sel T CD4⁺ dan CD8⁺ type 2 berkorelasi erat dengan mekanisme regulasi dari imunoterapi. Sejauh ini belum ada penelitian yang mengkaji pemberian jangka panjang imunoterapi, probiotik dan *Nigella sativa* terhadap modulasi respon imun, khususnya rasio sel T CD4⁺/CD8⁺, kadar immunoglobulin E (IgE) dan skoring asma. Desain penelitian berupa eksperimental randomized clinical trial (RCT), pre-post control study untuk rasio sel T CD4⁺/CD8⁺, kadar IgE dan skoring asma. Subjek dibagi 4 kelompok, imunoterapi+plasebo, imunoterapi+*Nigella sativa*, imunoterapi+probiotik, dan imunoterapi+*Nigella sativa*+probiotik. Semua perlakuan diberikan selama 56 minggu. Imunoterapi yang digunakan adalah imunoterapi *house dust mite* subkutan. Probiotik yang diberikan ProBi (Medifarma) berisi 2x10⁹ colony forming unit (cfu)/gram *Lactobacillus acidophilus* dan *Bifidobacterium lactis*. Skoring asma dinilai dengan skor *Asthma Control Test*. Rasio sel T CD4⁺/CD8⁺ diukur dengan *flowcytometry*, dan kadar IgE diukur menggunakan *Chemiluminescence Enzyme Immunoassay*. Hasil penelitian menunjukkan rasio sel T CD4⁺/CD8⁺ meningkat bermakna pada kelompok imunoterapi+*Nigella sativa* (p=0,027), imunoterapi+probiotik (p=0,001), dan imunoterapi+*Nigella sativa*+probiotik (p=0,046). Kadar IgE tidak berbeda bermakna pada kelompok imunoterapi+plasebo (p=0,993), kelompok imunoterapi+*Nigella sativa* (p=0,756), imunoterapi+probiotik (p=0,105), dan imunoterapi+*Nigella sativa*+probiotik (p=0,630). Skoring asma meningkat bermakna pada kelompok imunoterapi+plasebo (p=0,000), imunoterapi+*Nigella sativa* (p=0,002), imunoterapi+probiotik (p=0,000), dan imunoterapi+*Nigella sativa*+probiotik (p=0,000). Sebagai kesimpulan, pemberian imunoterapi dengan adjuvan probiotik dan atau *Nigella sativa* dapat meningkatkan secara bermakna rasio sel T CD4⁺/CD8⁺ dan skoring asma.

Kata Kunci: Immunoglobulin E, imunoterapi, *Nigella sativa*, probiotik, rasio sel T CD4⁺/CD8⁺, skoring asma

ABSTRACT

Allergen-specific immunotherapy and allergen reduction which are interventions in allergic disease have potential to reduce long-term allergy symptoms. A decrease on CD8⁺ type 2 and T CD4⁺ cells correlates with regulatory mechanisms of immunotherapy. So far, there is no study evaluating the effect of long-term administration of immunotherapy, probiotics, and Nigella sativa on modulation of immune response, especially CD4⁺/CD8⁺ T cells ratio, immunoglobulin E (IgE) level, and asthma scoring. This research design was randomized clinical trials (RCTs), pre-post control study for CD4⁺/CD8⁺ T cells ratio, IgE level, and asthma scoring. The subjects were divided into four groups, immunotherapy+placebo, immunotherapy+Nigella sativa, immunotherapy+probiotics, and immunotherapy+Nigella sativa+probiotics. All treatments were given in 56 weeks. Immunotherapy conducted was house dust mite (HDM) subcutaneous immunotherapy. Probiotic given was ProBi (Medifarma) containing 2x10⁹ colony forming unit (cfu)/gram Lactobacillus acidophilus and Bifidobacterium lactis. Asthma scoring was assessed using Asthma Control Test scores. CD4⁺/CD8⁺ T cell ratio was measured using flowcytometry, and IgE level was measured using Chemiluminescence Enzyme Immunoassay. The results show that CD4⁺/CD8⁺ T cell ratio is increasing significantly in the group of immunotherapy+Nigella sativa (p=0,027), immunotherapy+probiotic (p=0,001), and immunotherapy+Nigella sativa+probiotic (p=0,046). There is no significant decrease in the IgE level on imunoterapi+plasebo (p=0,993), imunoterapi+Nigella sativa (p=0,756), imunoterapi+probiotik (p=0,105), and imunoterapi+Nigella sativa+probiotik (p=0,630). Asthma scoring is increasing significantly in immunotherapy+Nigella sativa (p=0,002), immunotherapy+probiotic (p=0,000), and immunotherapy+Nigella sativa+probiotic (p=0,000) group. In short, administration of immunotherapy with adjuvant of probiotic and/or Nigella sativa significantly increases CD4⁺/CD8⁺ T cells ratio and scoring asthma.

Keywords: CD4⁺/CD8⁺ T cells ratio, immunoglobulin E, immunotherapy, *Nigella sativa*, probiotics, asthma scoring

PENDAHULUAN

Asma merupakan penyakit inflamasi (peradangan) kronik saluran napas yang ditandai adanya *mengi* episodik, batuk, dan rasa sesak di dada akibat penyumbatan saluran napas, termasuk dalam kelompok penyakit saluran pernapasan kronik (1). Angka kejadian asma pada anak masih cukup tinggi, *National Health Interview Survey* pada 2007 menyebutkan 9% anak usia 0 sampai dengan 17 tahun diseluruh dunia menderita asma, yaitu berkisar antara 6,7 juta anak (2). Berdasarkan data tersebut, asma masih menjadi masalah kesehatan yang perlu mendapat perhatian serius.

Limfosit subtype $CD4^+$ telah dikenal profilnya dalam produksi sitokin. Sedikitnya ada dua jenis T-helper (Th) yaitu Th1 dan Th2, Th2 terutama memproduksi sitokin IL-4 dan IL-5 yang terlibat dalam asma dengan memproduksi eosinofil dan IgE, menyebabkan terjadinya hiperreaktivitas, inflamasi, dan obstruksi bronkus (3). Limfosit sel T $CD8^+$ berperan dalam membunuh sel terinfeksi, mampu mensekresi sitokin dan mempengaruhi aktivasi dan regulasi sel $CD4^+$ (4). Penurunan sel T $CD4^+$ dan $CD8^+$ type 2 berkorelasi erat dengan mekanisme regulasi dari imunoterapi. Pada asma ketidakseimbangan rasio $CD4^+/CD8^+$ dan sel T helper adalah penentu dalam perkembangan hiperresponsif bronkus (5).

Proses inflamasi asma pada banyak penderita merupakan proses yang bergantung pada IgE (*IgE dependent/mediated process*). Aktivasi sel mast dan pelepasan mediator sebagai respon terhadap alergen dan IgE, menghasilkan respon kaskade, menyebabkan aktivasi dari limfosit B, limfosit T, eosinofil, fibroblas, sel otot polos dan aktivasi endotel. Kadar serum IgE berkorelasi dengan hiperreaktivitas dari saluran nafas pada penderita dewasa dan anak, dan berhubungan dengan derajat beratnya asma (6,7).

Imunoterapi alergen-spesifik dan reduksi alergen merupakan intervensi pada penyakit alergidasi berpotensi untuk mengurangi gejala alergi jangka panjang, merupakan pengobatan yang efektif pada kondisi alergi yang umum, khususnya rinitis alergi, asma alergi, dan hipersensitivitas terhadap sengatan serangga. Imunoterapi menggunakan alergen secara subkutan yang jumlahnya secara bertahap ditingkatkan sampai dosis tercapai efektif dalam mencapai toleransi imunologi terhadap alergen tersebut. Tujuan utama imunoterapi alergen spesifik adalah untuk mengurangi gejala yang dipicu oleh alergen dan untuk mencegah terulangnya penyakit dalam jangka panjang (8).

Pada kondisi alergi terdapat dominasi Th2 sehingga keseimbangan Th1/Th2 ke arah Th2, dalam hal ini peran probiotik yaitu menyebabkan pergeseran keseimbangan Th1/Th2 ke arah Th1 (9). Pemberian *Lactobacillus* dan *Bifidobacteria* pada awal kehidupan akan menekan sel Th2 melalui induksi sel T reg yang akan memproduksi TGF β , dalam hal ini TGF β berfungsi menghambat proliferasi Th0 menjadi Th2. Selanjutnya terjadi penurunan sitokin dari Th2 yaitu IL-4, IL-5 dan IL-10 yang berperan dalam menimbulkan gejala klinis asma (10).

Efek pengobatan dari minyak *Nigella sativa* pada pasien dengan penyakit alergi (rinitis alergi, asma bronkial, eksim atopi) telah terbukti adanya efek imunomodulator dan terapi dari biji *Nigella sativa* (11). Penelitian sebelumnya menunjukkan pasien yang diterapi dengan *Nigella sativa* selama 4 minggu menunjukkan 50% peningkatan rasio sel

T $CD4^+$ dengan sel T $CD8^+$, dan 30% peningkatan fungsi dari sel NK (12). Pemberian *Nigella sativa* menghambat respon imun sel Th2 yang ditunjukkan dengan penurunan kadar IgE serum, IL-4, IL-5, dan IL-6 ().

Penelitian ini mengkaji manfaat pemberian kombinasi imunoterapi fase rumatan, probiotik dan *Nigella sativa* pada modulasi respon imun anak asma khususnya terhadap rasio sel T $CD4^+/CD8^+$, kadar imunoglobulin E darah serta pada perbaikan skoring asma dibandingkan pemberian imunoterapi fase rumatan saja.

METODE

Desain penelitian ini berupa eksperimental *randomized clinical trial* (RCT), *pre-post control study*. Sampel berjumlah 32 orang anak asma, baik asma *intermittent* maupun persisten ringan, yang diambil secara *consecutive sampling* kemudian secara acak dibagi menjadi 4 kelompok yaitu kelompok imunoterapi+plasebo, imunoterapi+*Nigella sativa*, kelompok imunoterapi+probiotik dan imunoterapi+*Nigella sativa*+probiotik. Perlakuan diberikan selama 56 minggu. Sampel merupakan pasien rawat jalan poli Alergi dan Imunologi Rumah Sakit Umum Daerah (RSUD) Dr. Saiful Anwar Malang periode November 2012-Februari 2014 yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Studi ini telah mendapatkan persetujuan dari Komite Etik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

Imunoterapi yang digunakan adalah imunoterapi ekstrak HDM yang diberikan subkutan dengan dosis dan frekuensi sesuai protokol imunoterapi RSUD Malang, yaitu pemberian setiap 1 minggu selama 14 minggu dengan dosis meningkat bertahap (*fase build up*), pemberian setiap 3 minggu selama 42 minggu atau 14 kali dengan dosis 0,1ml konsentrasi 1:100 (*fase rumatan*).

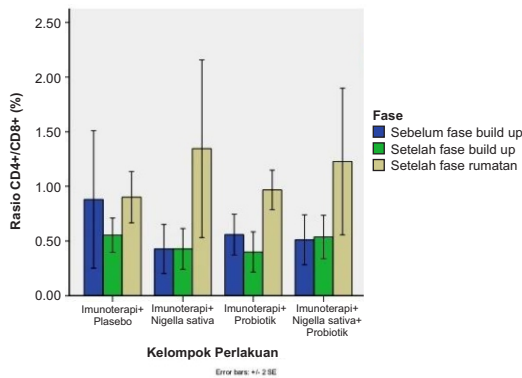
Probiotik yang digunakan adalah ProBi (Medifarma), berisi 2×10^9 cfu/gr bacteria *Lactobacillus acidophilus* LA-5™ dan *Bifidobacterium lactis* Bb-12™, mix vitamin (vitamin B₁ 0,1 mg, vitamin B₂ 0,1 mg, vitamin B₆ 0,1 mg, vitamin C 3 mg), dan selenium yeast 1 μ g, dengan dosis 1 *sachet* per hari. *Nigella sativa* yang digunakan berupa serbuk dalam kapsul dan diberikan dengan dosis 15mg/kgBB/hari. Setiap kapsul berisi 150 mg *Nigella sativa*.

Rasio sel T $CD4^+/CD8^+$ dihitung pada minggu ke 0, 14 dan 56, diambil dari *peripheral blood mononuclear cells* (PBMC) diukur dengan teknik *flowcytometry* serta dianalisis software BD Cell Quest Pro dengan satuan persen (%) di laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Kadar imunoglobulin E dihitung pada minggu ke 0, 14 dan 56 menggunakan *Chemiluminescence Enzyme Immunoassay* (CLEIA) di laboratorium RSUD Dr. Saiful Anwar Malang. Skoring asma dinilai pada minggu ke 0, 14 dan 56, dengan menggunakan skor ACT. Skor ACT ≥ 19 diartikan asma terkontrol, sedangkan skor < 19 diartikan asma tidak terkontrol.

Data yang diperoleh dianalisis dalam beberapa tahapan, yang pertama dilakukan uji normalitas dengan *Kolmogorov-Smirnov*, kemudian dilakukan uji varians dengan *Levene's test*, selanjutnya dilakukan uji *One Way ANOVA* untuk membandingkan rasio sel T $CD4^+/CD8^+$, kadar imunoglobulin E, dan skor ACT antar kelompok perlakuan dan antar fase, terakhir dilakukan *Post Hoc Tests* untuk mengetahui perbedaan rasio sel T $CD4^+/CD8^+$, kadar imunoglobulin E dan skor ACT yang bermakna antar kelompok 1 dengan yang lain.

HASIL

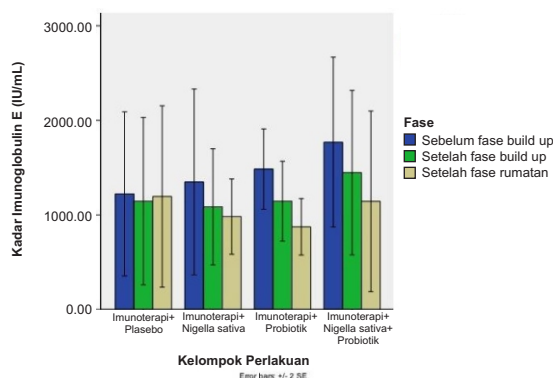
Penelitian ini melibatkan 32 anak asma berusia 4-14 tahun dan dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan, yaitu kelompok imunoterapi+plasebo, kelompok imunoterapi+*Nigella sativa*, kelompok imunoterapi+probiotik serta kelompok imunoterapi+*Nigella sativa*+probiotik. Masing-masing kelompok terdiri dari 8 sampel, yang menerima perlakuan selama 56 minggu. Pada minggu ke 14, satu sampel dari kelompok imunoterapi+*Nigella sativa*+probiotik dinyatakan *drop out* karena pasien tidak patuh dalam mengkonsumsi *Nigella sativa*. Selama masa pengamatan dan perlakuan tidak didapatkan sampel yang sakit atau menderita efek samping imunoterapi.



Gambar 1. Histogram rasio CD4+/CD8+ antar kelompok

Didapatkan perbedaan yang bermakna rasio CD4⁺/CD8⁺ pada kelompok imunoterapi+*Nigella sativa*, imunoterapi+probiotik, dan imunoterapi+*Nigella sativa*+probiotik antara sebelum fase *build up*, setelah fase *build up*, dan setelah fase rumatan ($p < 0,05$).

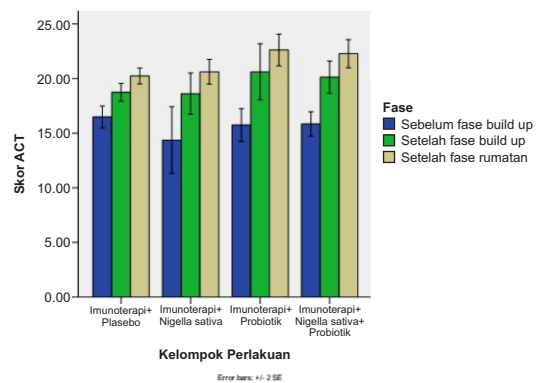
Rasio sel T CD4⁺/CD8⁺ tertinggi bermakna didapatkan pada kelompok imunoterapi+*Nigella sativa* (Gambar 1). Hal ini dapat diartikan bahwa pemberian kombinasi imunoterapi dan *Nigella sativa* pada anak asma mampu meningkatkan rasio CD4⁺/CD8⁺. Dari uji *One Way ANOVA* menunjukkan bahwa didapatkan perbedaan yang tidak bermakna kadar imunoglobulin E pada kelompok imunoterapi+plasebo ($p = 0,993$), imunoterapi+*Nigella sativa* ($p = 0,756$), imunoterapi+probiotik ($p = 0,105$) dan imunoterapi+*Nigella sativa*+probiotik ($p = 0,630$) sebelum fase *build up*, setelah fase *build up*, dan setelah fase rumatan.



Gambar 2. Histogram kadar imunoglobulin E antar kelompok

Didapatkan perbedaan yang tidak bermakna kadar imunoglobulin E pada masing-masing kelompok ($p > 0,05$).

Kadar imunoglobulin terendah setelah fase rumatan didapatkan pada kelompok imunoterapi+probiotik (Gambar 2). Hal ini dapat diartikan bahwa pemberian kombinasi imunoterapi dan probiotik pada anak asma mampu menurunkan kadar imunoglobulin E lebih baik dibandingkan dengan pemberian imunoterapi saja. Hasil uji tersebut menunjukkan bahwa didapatkan perbedaan yang bermakna skoring asma sebelum fase *build up*, setelah fase *build up*, dan setelah fase rumatan pada kelompok imunoterapi+plasebo ($p = 0,000$), imunoterapi+*Nigella sativa* ($p = 0,002$), imunoterapi+probiotik ($p = 0,000$) dan imunoterapi+*Nigella sativa*+probiotik ($p = 0,000$). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian kombinasi imunoterapi dan probiotik lebih baik dalam meningkatkan skoring asma dibandingkan pemberian imunoterapi saja.



Gambar 3. Histogram skor ACT setelah rumatan antar kelompok

Hasil uji *One Way ANOVA* dan *Post Hoc Test*, skor ACT Didapatkan perbedaan yang bermakna skoring asma sebelum fase *build up*, setelah fase *build up*, dan setelah fase rumatan pada kelompok imunoterapi+plasebo, imunoterapi+*Nigella sativa*, imunoterapi+probiotik dan imunoterapi+*Nigella sativa*+probiotik ($p < 0,05$).

Didapatkan peningkatan skor ACT yang bermakna setelah perlakuan pada masing-masing kelompok, akan tetapi skor ACT tertinggi bermakna didapatkan pada kelompok imunoterapi+probiotik dibandingkan kelompok imunoterapi+plasebo ($p = 0,04$) (Gambar 3). Hal ini dapat diartikan bahwa pemberian kombinasi imunoterapi dan probiotik pada anak asma mampu memperbaiki skoring asma lebih baik dibandingkan dengan pemberian imunoterapi saja, yang dinilai dengan peningkatan skor ACT yang lebih besar.

DISKUSI

Penelitian ini bertujuan mengetahui adanya efek positif pemberian imunomodulator, baik probiotik maupun *Nigella sativa* pada anak asma yang mendapat imunoterapi HDM. Penelitian sebelumnya, telah menganalisa efek pemberian probiotik dan *Nigella sativa* pada anak asma yang mendapat imunoterapi fase *build up* selama 14 minggu, namun efek pemberian pada fase rumatan belum pernah dilakukan. Efek positif yang dinilai adalah peningkatan rasio sel T CD4⁺/CD8⁺, penurunan kadar imunoglobulin E serta peningkatan perbaikan klinis

asma yang dinilai dengan skor ACT.

Keberhasilan imunoterapi memiliki keterkaitan dengan pergeseran dari sel T helper tipe-2 (Th2), yang dikaitkan dengan kondisi atopik, menjadi sel T helper tipe-1(Th1). Hal ini juga terkait dengan produksi sel T regulasi yang memproduksi sitokin anti-inflamasi, IL-10, antara lain seperti mengubah TGF- β . IL-10 telah terbukti mengurangi kadar antibodi IgE alergen spesifik, dan meningkatkan kadar antibodi imunoglobulin G (IgG) yang berperan dalam respon imun sekunder, dan mengurangi pelepasan sitokin pro-inflamasi dari sel mast, eosinofil dan sel T. Imunoterapi alergen-spesifik juga mengurangi perekrutan sel mast, basofil, dan eosinofil pada kulit, hidung, mata, dan mukosa bronkus setelah terpapar alergen, dan mengurangi pelepasan mediator, seperti histamin, dari basofil dan sel mast (8).

Penurunan sel T CD4⁺ dan CD8⁺ type 2 berkorelasi erat dengan mekanisme regulasi dari imunoterapi (5). Pada asma terjadi ketidakseimbangan rasio CD4⁺/CD8⁺ dan sel T helper adalah penentu dalam perkembangan hiperresponsif bronkus. Pada penelitian ini didapatkan perbedaan yang bermakna rasio CD4⁺/CD8⁺ sebelum fase *build up*, setelah fase *build up* dan setelah fase rumatan tampak pada kelompok imunoterapi+probiotik, imunoterapi+*Nigella sativa*, dan imunoterapi+*Nigella sativa*+probiotik. Hasil ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Ciepiela menyebutkan bahwa setelah satu tahun pemberian imunoterapi sublingual dapat mempengaruhi sistem imun anak penderita asma yaitu dengan peningkatan rasio sel T CD4⁺/CD8⁺ (14). Hasil tersebut sesuai dengan penelitian yang lain yaitu pada pasien yang diterapi dengan *Nigella sativa* selama 4 minggu menunjukkan 50% peningkatan rasio sel T CD4 dengan sel T CD8, dan 30% peningkatan fungsi dari sel NK (12). Hasil ini menunjukkan bahwa pemberian imunoterapi dengan adjuvan baik itu *Nigella sativa* maupun probiotik pada anak asma berpengaruh terhadap peningkatan rasio sel T CD4⁺/CD8⁺.

Pada penelitian ini, dari keempat kelompok penelitian yaitu kelompok imunoterapi+plasebo, kelompok imunoterapi+*Nigella sativa*, kelompok imunoterapi+probiotik, dan kelompok imunoterapi+*Nigella sativa*+probiotik didapatkan perbedaan kadar IgE meskipun tidak bermakna secara statistik setelah perlakuan selama 56 minggu. Hal ini sesuai dengan studi imunoterapi sebelumnya yang menunjukkan bahwa pemberian imunoterapi dapat menurunkan kadar IgE pada penderita asma (15).

Penelitian sebelumnya yang menggunakan *Nigella sativa* pada mencit model asma, menunjukkan hasil terdapat penurunan kadar IgE setelah pemberian *Nigella sativa* (13,16). Penelitian lain oleh Al-Snafi *et al* menyebutkan bahwa pada penderita urtikaria dengan pemberian *Nigella sativa* selama 6 minggu dapat menurunkan IgE (17). Hasil dari penelitian ini juga sesuai dengan beberapa penelitian probiotik lainnya. Penelitian Feleszko *et al* yang dilakukan pada mencit model asma yang mendapat probiotik dapat menurunkan kadar IgE (10).

Hasil ini menunjukkan bahwa kombinasi pemberian adjuvan probiotik dan *Nigella sativa* pada imunoterapi memberikan keuntungan dengan menurunkan kadar imunoglobulin E. Imunoterapi dapat menurunkan produksi IgE melalui *switching* pada sel B yang menyebabkan sel B menghasilkan produksi IgG4.

Peningkatan produksi IgG4 ini bisa dipengaruhi oleh IL-10 dan TGF β yang dihasilkan oleh sel Treg atau karena peningkatan IFN γ . Peningkatan ini juga dapat disebabkan oleh peningkatan IL-12 (15). Imunoterapi akan menginduksi IgG spesifik alergen (IgG4) yang berperan sebagai antibodi yang berkompetisi dengan IgE untuk berikatan dengan alergen. Imunoterapi memodulasi fungsi sel mast dan basofil sehingga terjadi penurunan pelepasan mediator. Imunoterapi juga dapat menurunkan produksi IL-13 yang berperan dalam *switching* IgE. Probiotik juga berperan dalam meningkatkan respon sel Treg terhadap alergen yang akan menghasilkan IL-10, meningkatkan Th1 (IFN γ) dan menurunkan sitokin Th2 seperti IL-4, IL-5 dan IL-13 (18). *Nigella sativa* juga dapat meningkatkan Treg pada model mencit asma dan menurunkan sitokin Th2 (IL-4, IL-5 dan IL-13) (16,19).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa probiotik dan *Nigella sativa* memiliki peran sebagai imunomodulator, ditandai dengan adanya perbedaan imunoglobulin E walaupun secara statistik tidak bermakna antara sebelum fase *build up*, setelah fase *build up*, dan setelah fase rumatan pada kelompok anak asma yang mendapat imunoterapi dengan adjuvan probiotik dan atau *Nigella sativa* dibandingkan dengan yang hanya mendapat imunoterapi saja.

Menurut Jacobsen *et al* efek imunoterapi dapat dibagi menjadi efek dini, efek progresif, efek persisten, efek preventif dan efek imunologi. Efek dini imunoterapi ditandai dengan penurunan gejala atau kebutuhan obat-obatan yang dapat diperoleh segera setelah induksi imunoterapi, sedangkan efek progresif ditandai dengan penurunan lebih lanjut gejala, kebutuhan obat-obatan dan hiperresponsif jalan nafas. Persisten efek merupakan penurunan gejala, penggunaan obat dan hiperresponsif jalan nafas dalam jangka waktu panjang, yang didapat setelah imunoterapi selesai. Selain itu imunoterapi juga dapat mencegah sensitisasi baru alergen yang disebut sebagai efek preventif. Efek imunologi ditandai dengan modulasi imun dan toleransi yang mengarah pada penyembuhan. Efek terapi imunoterapi, meningkat bersamaan dengan lamanya pengobatan. Perbaikan yang nyata biasanya baru tampak setelah terapi diberikan 6 bulan atau lebih (15). Menurut Leung *et al* imunoterapi yang diberikan minimal 3 tahun, akan memberikan efek protektif jangka panjang (20).

Skoring ACT merupakan salah satu metode penilaian klinis asma dalam bentuk variabel numerik dimana skor ≤ 19 , artinya klinis asma tidak terkontrol, sedangkan skor > 19 artinya klinis asma terkontrol baik (21). Hasil uji statistik penilaian skor ACT sebelum perlakuan, didapatkan nilai tidak berbeda bermakna antara keempat kelompok. Hal ini menunjukkan bahwa sebelum perlakuan, semua subjek penelitian memiliki klinis asma yang belum terkontrol. Pada kelompok imunoterapi didapatkan perbedaan bermakna rerata skor ACT antara sebelum fase *build up* dan setelah fase *build up* imunoterapi serta sebelum fase *build up* dan setelah fase rumatan imunoterapi. Hasil ini sesuai dengan studi sistematis sebelumnya pada review 174 *Randomized Controlled Trial* menunjukkan bahwa imunoterapi subkutan terbukti kuat efektif menurunkan gejala asma, rhinitis, konjungtivitis, penggunaan obat-obatan pada asma dan rhinokonjungtivitis (22). Imunoterapi memperbaiki gejala asma dengan jalan menginduksi aktivitas Treg sehingga stimulasi IgE, pengeluaran mediator-mediator inflamasi, produksi

mukus serta hiperreaktivitas bronkus terhambat. Selain itu imunoterapi meningkatkan antibodi blocking IgG (23,24). Hasil studi yang dilakukan oleh Barlianto *et al* pada mencit asma menunjukkan bahwa *Nigella sativa* menurunkan jumlah sel limfosit T CD4⁺, meningkatkan jumlah sel limfosit T CD4⁺FoxP3⁺, menghambat *airway remodelling*, dan memodulasi respon imun (19). Studi-studi sebelumnya telah menunjukkan bahwa *Nigella sativa* terbukti memiliki efek anti oksidan, anti histamin dan anti inflamasi. Perbaikan klinis pada studi ini dapat disebabkan oleh efek *Nigella sativa* sebagai anti inflamasi, anti histamin dan imunomodulator pada asma.

Perbedaan skor ACT sebelum dan setelah perlakuan yang bermakna juga didapatkan pada kelompok imunoterapi+*Nigella sativa*, yaitu didapatkan perbedaan skor ACT bermakna pada sebelum fase *build up* dan setelah fase *build up* serta sebelum fase *build up* dan setelah fase rumatan yang bermakna. Hal ini berarti bahwa pemberian imunoterapi+*Nigella sativa* pada anak asma bermanfaat secara klinis, memperbaiki gejala asma. Penelitian Boskabody *et al* menunjukkan bahwa pemberian *Nigella sativa* selama 3 bulan menurunkan gejala asma, frekuensi kekambuhan, mengi dan perbaikan tes fungsi paru (25). Pasien rhinitis alergika yang menjalani imunoterapi dan diberikan *Nigella sativa* juga didapatkan hasil penurunan gejala asma (26). CD8⁺ melalui subset Tc2 dapat memproduksi sitokin yang sama dengan Th2 (27).

Pada kelompok perlakuan pemberian imunoterapi+probiotik didapatkan perbedaan secara bermakna juga pada jumlah rerata skor ACT. Hasil rerata ACT setelah fase *build up* lebih tinggi bermakna dibandingkan sebelum fase *build up*. Selain itu skor ACT setelah fase rumatan juga lebih tinggi bermakna dibandingkan sebelum fase *build up*. Hal ini menandakan bahwa pemberian imunoterapi+probiotik pada anak asma bermanfaat secara klinis memperbaiki gejala asma, perbaikan klinis terbesar dirasakan pada saat probiotik dikombinasikan dengan imunoterapi fase *build up*. Hasil studi yang sama dilakukan oleh Harsono *et al* baik pada kelompok imunoterapi saja, probiotik, imunoterapi+probiotik didapatkan perbaikan klinis yang dilihat dari perbaikan FEV1 setelah 14 minggu perlakuan (28). Gutkowski *et al* membuktikan pemberian *L.acidophilus*, *B. bifidum* dan *L. Delbrueckii subsp. Bulgaricus* pada anak asma ringan sampai sedang usia 4-10 tahun, dapat memperbaiki fungsi paru, mengurangi episode eksaserbasi asma serta penggunaan bronkodilator (29). Pemberian probiotik *Lactobacillus gasseri* selama 2 bulan pada anak usia 6-12 tahun yang menderita asma dan rhinitis alergika,

didapatkan peningkatan bermakna fungsi paru serta penurunan skor gejala klinis dibandingkan kontrol (30). Perbaikan klinis asma dihubungkan dengan kemampuan probiotik sebagai antiinflamasi dan imunomodulator.

Pada kelompok pemberian imunoterapi+*Nigella sativa*+probiotik didapatkan perbedaan yang bermakna rerata skor ACT, dengan peningkatan skor ACT terbesar didapatkan pada saat sebelum fase *build up* dan setelah fase *build up* serta sebelum fase *build up* dan setelah fase rumatan. Hasil ini mengindikasikan bahwa pemberian kombinasi imunoterapi+*Nigella sativa*+probiotik bermanfaat terhadap perbaikan klinis anak asma. Efek ini timbul akibat dari efek anti inflamasi, anti histamin, dan imunomodulasi dari ketiganya.

Peningkatan bermakna skor ACT antara sebelum dan setelah perlakuan didapatkan pada semua kelompok perlakuan. Hasil rerata skor ACT setelah fase rumatan >19 pada semua kelompok, hal ini menunjukkan klinis asma terkontrol. Hasil ini sesuai dengan studi yang dilakukan oleh Kardani *et al* pemberian ajuvan imunoterapi dengan *Nigella sativa* serta probiotik selama 14 minggu, dapat memperbaiki klinis anak asma (31). Hasil uji statistik penilaian skor ACT setelah fase rumatan menunjukkan didapatkan perbedaan yang bermakna antara keempat kelompok perlakuan, dimana skor ACT pada pemberian imunoterapi+probiotik lebih tinggi bermakna dibandingkan imunoterapi saja. Hal ini berarti bahwa pemberian imunoterapi+probiotik memiliki manfaat yang lebih baik dalam memperbaiki klinis anak asma dibandingkan imunoterapi saja.

Kelemahan pada studi ini yaitu tidak diketahuinya data nilai rasio sel T CD4⁺/CD8⁺ pada anak sehat atau anak asma yang tidak mendapat imunoterapi sehingga tidak bisa diketahui apakah rasio sel T CD4⁺/CD8⁺ masih dalam rentang normal, meningkat atau lebih rendah. Adanya hasil *skin prick test* yang positif terhadap alergen selain HDM dapat menjadi faktor perancu yang dapat mempengaruhi hasil penelitian. Pada penelitian ini pengambilan sampel untuk pengukuran rasio sel T CD4⁺/CD8⁺ dilakukan pada darah tepi sehingga kurang sesuai untuk menilai produksinya pada target organ (mukosa saluran napas). Faktor lingkungan rumah yang sulit untuk dikontrol peneliti juga dapat menjadi perancu hasil penelitian. Sebagai kesimpulan, pemberian imunoterapi dengan ajuvan probiotik dan/atau *Nigella sativa* dapat meningkatkan secara bermakna rasio sel T CD4⁺/CD8⁺ dan skor ACT.

DAFTAR PUSTAKA

1. Makmuri MS. *Patofisiologi Anak*. Di dalam: Rahajoe NN, Supriyatno B, Setyanto DB, dan Ikatan Dokter Anak Indonesia (Eds). Buku Ajar Respirologi Anak first edition. Jakarta: Badan Penerbit Ikatan Dokter Anak Indonesia; 2013: hal. 98-104.
2. Hill VL and Wood PR. *Asthma Epidemiology, Patophysiology, and Initial Evaluation*. Pediatrics in Review. 2009; 30(9): 331-335.
3. Supriyatno B and Wahyudin B. *Patogenesis dan Patofisiologi Asma Anak*. Di dalam: Rahajoe NN, Supriyatno B, Setyanto DB, dan Ikatan Dokter Anak Indonesia (Eds). Buku Ajar Respirologi Anak first edition. Jakarta: Badan Penerbit Ikatan Dokter Anak Indonesia; 2013: hal. 85-96.
4. Corry SM and Munasir Z. *Imunitas Selular*. Di dalam: Ikatan Dokter Anak Indonesia (Ed). Buku Ajar Alergi Imunologi Anak edisi kedua. Jakarta: Badan Penerbit Ikatan Dokter Anak Indonesia; 2008: hal. 81-90.
5. Gardner LM, Thien FC, Douglass JA, Rolland JM, O'Hehir RE. *Induction of T 'Regulatory' Cells by Standardized House Dust Mite Immunotherapy: An Increase in CD4⁺ CD25⁺ Interleukin-10⁺ T Cells Expressing Peripheral Tissue Trafficking Markers*. Clinical & Experimental Allergy Reviews. 2004; 34(8): 1209-1219.

6. Peng Z. *Vaccines Targeting IgE in the Treatment of Asthma and Allergy*. Human Vaccines. 2009; 5(5): 302-309.
7. Miller C, Krishnaswamy N, Johnston C, and Krishnaswamy G. *Severe Asthma and the Omalizumab Option*. Clinical and Molecular Allergy. 2008; 6: 1-14.
8. Moote W and Kim H. *Alergen-Specific Immunotherapy*. Allergy, Asthma & Clinical Immunology. 2011; 7(1): 1-7.
9. Ezendam J and Loveren H. *Probiotics: Immunomodulation and Evaluation of Safety and Efficacy*. Nutrition Reviews. 2006; 64(1): 1-14.
10. Feleszko W, Jaworska J, Rha RD, et al. *Probiotic-Induced Suppression of Allergic Sensitization and Airway Inflammation is Associated with an Increase of T Regulatory-Dependent Mechanisms in a Murine Model of Asthma*. Clinical & Experimental Allergy. 2007; 37(4): 498-505.
11. Salem ML. *Immunomodulatory and Therapeutic Properties of the Nigella Sativa L. Seed*. International Immunopharmacology. 2005; 5(13-14): 1749-1770.
12. Paarakh PM. *Nigella Sativa: A Comprehensive Review*. Indian Journal of Natural Products and Resources. 2010; 1(4): 409-429.
13. Shahzad M, Yang X, Raza Asim MB, et al. *Black Seed Oil Ameliorates Allergic Airway Inflammation by Inhibiting T-Cell Proliferation in Rats*. Pulmonary Pharmacology & Therapeutics. 2009; 22(1): 37-43.
14. Ciepiela O, Krajewska A, Kotula I, and Demkow U. *The Influence of Sublingual Immunotherapy on Lymphocytes Subpopulations from Children Suffering from Controlled Bronchial Asthma*. Central European Journal of Immunology. 2011; 36: 243-247.
15. Jacobsen L, Whan U, and Bilo MB. *Allergen Specific Immunotherapy Provide Immediate, Longterm and Preventive Clinical Effect in Children and Adults: The Effects of Immunotherapy Can be Categorized by Level of Benefit -the Centenary of Allergen Specific Subcutaneous Immunotherapy* Clinical and Translational Allergy. 2012; 2: 8.
16. El Gazzar M, El Mezayen R, Marecki JC, Nicolls MR, Canastar A, and Dreskin SC. *Anti-Inflammatory Effect of Thymoquinone in a Mouse Model of Allergic Lung Inflammation*. International Immunopharmacology. 2006; 6(7): 1135-1142.
17. Al-Snafi AE, Al-Samarai AGM, and Al-Sabawi AM. *The Therapeutic Effect of Nigella Sativa Seed Oil in Treatment of Chronic Urticaria*. Tikrit Journal of Pharmaceutical Science. 2005; 1(1): 1-6.
18. Jang SO, Kim HJ, Kim Y, Kang M, et al. *Asthma Prevention by Lactobacillus Rhamnosus in a Mouse Model Is Associated with Cd4+Cd25+Foxp3+ T Cells*. Allergy, Asthma & Immunology Research. 2012; 4(3): 150-156.
19. Barlianto W, Kusuma HMS, and Widodo A. *Rude Extract of Black Seed (Nigella Sativa) Can Modulate Tcd4+Cd25+Foxp3+ Lymphocytes in Asthmatic Mouse Model*. Paediatric Respiratory Reviews. 2012; 13(1): 554.
20. Leung DYM, Sampson H, Geha R, and Szefer SJ. *Pediatric Allergy: Principles and Practice*. Second edition. Philadelphia: Saunders; 2010: pp. 688.
21. Shi Y, Tatavoosian AV, Aledia AS, George SC, Galant SP. *Cut Points for Asthma Control Tests in Mexican Children in Orange County, California*. Annals of Allergy, Asthma & Immunology. 2012; 109(2): 108-113.
22. Lin SY, Erekosima N, Suarez-Cuervo C, Ramanathan M, et al. *Allergen Specific Immunotherapy for The Treatment Allergic Rhinoconjunctivitis and/or Asthma: Comparative Effectiveness Review*. Baltimore: Johns Hopkins University Evidence-based Practice Center; 2013.
23. Taher YA, Henricks PAJ, and van Oosterhout AJM. *Allergen Specific Immunotherapy: The Future Cure for Allergic Asthma Mechanisms and Improvement in a Mouse Model*. Libyan Journal of Medicine. 2010; 5: 11.
24. Akdis CA and Akdis M. *Mechanisms of allergen-specific immunotherapy*. Journal of Allergy and Clinical Immunology. 2011; 127(1): 18-27.
25. Boskabady MH, Keyhanmanesh R, Khamneh S, and Ebrahimi MA. *The Effect of Nigella Sativa Extract on Tracheal Responsiveness and Lung Inflammation in Ova-Albumin Sensitized Guinea Pigs*. Clinics. 2011; 66(5): 879-887.
26. İşik H, Cevikbaş A, Gürer US, et al. *Potential Adjuvant Effects of Nigella sativa Seeds to Improve Specific Immunotherapy in Allergic Rhinitis Patients*. Medical Principles and Practice. 2010; 19(3): 206-211.
27. Beets RJ and Kemeny DM. *CD8+ T Cells in Asthma: Friend or Foe?* Pharmacology and Therapeutic. 2009; 121(2): 123-131.
28. Harsono A, Subrata LA, and Endaryanto A. *Immunomodulatory Effect of Probiotic and Sublingual Immunotherapy in Asthmatic Children*. Folia Medica Indonesiana. 2009; 45: 14-21.
29. Gutkowski P, Madalinski K, Grek M, Dmenska H, Syczewska M, and Michalkiewicz J. *Effect of Orally Administered Probiotic Strains Lactobacillus and Bifidobacterium in Children with Atopic Asthma*. Central European Journal of Immunology. 2010; 35(4): 233-238.
30. Chen YS, Jan RL, Lin YL, Chen HH, and Wang JY. *Randomized Placebo-Controlled Trial of Lactobacillus on Asthmatic Children With Allergic Rhinitis*. Pediatric Pulmonology. 2010; 45(11): 1111-1120.
31. Kardani AK, Fitri LE, Barlianto W, Olivianto E, and Kusuma HMS. *The Effect of House Dust Mite Immunotherapy, Probiotics and Nigella sativa in The Number of Th17 Cell and Asthma Control Test Score*. IOSR Journal of Dental and Medical Sciences. 2013; 6(4): 37-47.