

Remming Reaksi Wassermann dan Sebab-sebabnya

Oleh : Moh. Amin Romas

Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

PENDAHULUAN

Reaksi Wassermann (WR) ialah salah satu reaksi serologi terkenal berdasar fixasi atau pengikatan komplemen. Reaksi ini sering digunakan secara rutin sebagai alat pembantu diagnosa penyakit syphilis. Pertama-tama diperkenalkan oleh Wassermann *et al.* dalam tahun 1906 dengan prinsip berdasar penemuan-penemuan sebelumnya, yaitu phenomena Pfeiffer dalam tahun 1894 dan penemuan Bordet dalam tahun 1898.

Pada tiap-tiap pemeriksaan, di samping tabung utama atau percobaan selalu diikuti dengan tabung kontrol sebagai pegangan. Ke dalam tabung-tabung tersebut semua bahan untuk reaksi dimasukkan kecuali pada tabung kontrol, di mana tidak diberikan bahan antigen. Suatu hasil reaksi di mana pada tabung utama tidak terjadi lysis erythrocyt kambing disebut : reaksi Wassermann positif. Sebaliknya suatu reaksi di mana pada tabung utama terjadi hemolysis, disebut : reaksi Wassermann negatif. Pada kedua keadaan ini tabung kontrol selalu menunjukkan hemolysis sempurna. Ternyata pada reaksi Wassermann karena sebab-sebab tertentu dapat mengalami *remming* atau *anticomplementary effect*.

Remming ialah suatu keadaan di mana pada tabung kontrol tidak terjadi hemolysis, padahal seharusnya terjadi lysis erythrocyt kambing. Keadaan ini menyukarkan dalam membuat kesimpulan terhadap serum tersangka. Jika WR mengalami *remming*, maka reaksi tidak mempunyai arti sebagai alat pembantu diagnosa penyakit syphilis, bahkan berakibat merugikan terhadap serum tersangka, karena diinterpretasi sebagai reaksi Wassermann positif. Maka tabung kontrol sangat penting sebagai indikator dan sekaligus untuk mengecek ada tidaknya aksi *anticomplementary*. Jika WR mengalami *remming* reaksi harus diulang dengan mengambil serum yang baru.

BAHAN DAN CARA

Antigen

Wassermann *et al.* pertama-tama menggunakan ekstrak hepar penderita syphilis kongenital sebagai antigen, karena sukar mendapatkan kuman-kuman *Treponema pallida* secara murni, berhubung belum ada media khusus untuk itu. Kemudian dikembangkan penggunaan ekstrak hepar yang normal sebagai antigen dengan hasil sama baik dengan antigen berasal dari hepar syphilis kongenital. Zat yang aktif dalam reaksi ini bersifat *alcohol soluble* dan *acetone insoluble* ialah fraksi lecithin. Ternyata cor sapi normal merupakan sumber antigen paling baik dari pada ekstrak hepar syphilis kongenital, karena banyak mengandung senyawa fosfolipid yang tidak mengandung nitrogen dan dikenal sebagai *cardiolipin*. Dalam jaringan cor zat ini ditemukan dalam bentuk garam netral sebagai garam natrium atau kalium. Zat ini mudah diasingkan dan dipisahkan dari bahan-bahan lain dengan cara mengganti natrium atau kalium dengan cadmium atau barium yang sukar larut dan mudah diendapkan.

Dalam laboratorium yang dipakai sebagai antigen ialah cardiolipin yang telah dicampur dengan lecithin dan cholesterol dalam perbandingan tertentu. Ekstrak antigen ini dapat disimpan lama. Sebelum dipakai harus dites: lebih dahulu baik tidaknya dan ditentukan titernya.

Serum tersangka

Darah diambil dari v. cubiti, sesudah beku lalu disentrifugasi. Serum diambil. Sebelum dipakai, serum harus diinaktivasi dengan jalan pemanasan pada suhu 56° C selama 30 menit dengan maksud menghilangkan komplemen dan zat-zat bersifat *anticomplementary* yang termolabil. Dari serum ini diharapkan adanya *antibody* berupa amboceptor bersifat thermostabil, yang menurut Ehrlich termasuk receptor orde III.

Sebelum dipakai dalam percobaan, serum ini dinilai lebih dahulu dalam 5 tingkat, ialah : So (serum baik yang jernih kekuning-kuningan)

S1 (serum kurang baik)

S2 (serum tidak baik)

S3 (serum jelek)

S4 (serum terjelek)

Komplemen

Komplemen diambil dari darah marmut waktu pagi sebelum makan. Darah dapat diambil dengan pungsi cor atau dengan penyembelihan. Sesudah beku kemudian disentrifugasi. Serum diambil dan disimpan dalam almari es. Sebelum dipakai, ditentukan titernya.

Komplemen merupakan bagian plasma darah semua hewan normal termasuk manusia. Marmut merupakan sumber komplemen yang paling baik, sebab mengandung 0,25-0,40 mg/mm³ atau $\frac{1}{2}$ -1% protein total serum. Komplemen bersifat aspesifik dan termolabil. Ia akan rusak dengan pemanasan pada suhu 56° C selama 30 menit. Pada suhu kamar akan rusak dalam beberapa jam, sedang penyimpanan dalam almari es dapat tahan untuk satu minggu atau lebih (Kolmer).

Ternyata aksi dari komplemen tergantung sekali pada ion Ca dan Mg. Suhu optimalnya sekitar 30-37° C, sedang pH optimalnya sekitar 7,2-7,4.

Hemolysin

Hemolysin atau amboceptor dibuat dengan jalan penyuntikan suspensi erythrocyt kambing pada seekor kelinci secara i.v. 3-4 kali dengan antara waktu 2 hari. 5-9 hari sesudah suntikan terakhir, diambil serumnya. Sebelum dipakai harus diinaktivasi lebih dahulu dan kemudian dicari titernya. Bila titer 1/1000 atau lebih amboceptor ini dapat dipakai pada WR.

Erythrocyt kambing

Darah diambil dari v. jugularis. Fibrin dihilangkan dengan gelas mutiara, kemudian disaring dengan kain kasa lalu disentrifugasi. Cairan di atasnya dibuang. Erythrocyt kemudian dicuci beberapa kali dengan air physiologis sehingga bersih. Kemudian dibuat suspensi erythrocyt 4%. Hemolysin dan erythrocyt ini dipakai sebagai indikator dan campuran ini biasa disebut: *hemolytic system* (HS).

HASIL

Dalam pengamatan terhadap WR pada Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada, serum dibagi dalam dua golongan :

I. Serum diambil langsung di Laboratorium Mikrobiologi

Dalam tahun 1963-1973 dilakukan pengambilan langsung 156 serum tersangka. Semua serum dinilai baik (So). Setelah percobaan dilakukan ternyata tidak ada satupun mengalami *remming* (0%).

II. Serum dikirim dari Bagian masing-masing (Rumah Sakit Umum atau Poliklinik). Golongan ini ada dua :

a) Darah tali pusat

Dalam tahun 1963-1971 kami menerima serum yang diambil dari tali pusat bayi sebanyak 1615. Hampir semua sera dinilai kurang baik sampai jelek (S1, S2, S3, dan S4). Hal ini mungkin karena tercampurnya air ketuban atau lain-lain.

Dari sekian sera 474 (29,6%) mengalami *remming*.

b) Darah serum tersangka

Dalam tahun yang sama kami menerima sera yang diambil dari tersangka sebanyak 1247 buah.

Dari sekian darah tersangka 863 sera dinilai baik (So), 2 buah (0,23%) mengalami *remming*.

Serum selebihnya sebanyak 384 buah dinilai kurang baik sampai terjelek (S1, S2, S3 dan S4). Sera ini mengalami *remming* 70 buah (18,44%).

PEMBICARAAN

Seperti diketahui WR terdiri atas dua tahap. Tahap pertama ialah reaksi antara antigen, *antibody* (amboceptor dalam serum tersangka) dan komplemen. Jika antigen dan *antibody* masing-masing homolog/spesifik, maka terjadi ikatan yang dikenal sebagai *antigen-antibody complex* atau dengan kata lain "*antigen yang sensitized*". Antigen demikian sudah siap untuk menangkap atau memixasi komplemen yang ditambahkan. Di sini akan terjadi lisis antigen. Sebaliknya bila antigen dan *antibody* tidak spesifik, penambahan komplemen tidak akan terjadi antigen-lysis. Terjadi tidaknya antigen-lysis sukar diketahui, berhubung dengan halusnnya ekstrak antigen.

Tahap kedua ialah reaksi untuk mengetest ada atau tidak adanya komplemen yang bebas atau tidak terikat. Hal ini dilakukan dengan penambahan *Hemolytic System* (HS) sebagai indikator. Ada atau tidaknya hemolysis diketahui dari perubahan warna cairan. Dalam HS sebenarnya *erythrocyt* juga sudah *sensitized*. Dengan demikian siap untuk memixasi komplemen yang bebas, sehingga terjadi hemolysis.

Secara singkat reaksi dapat ditulis demikian :

Tahap I : Reaksi antara antigen, amboceptor (jikalau ada) dan komplemen pada suhu 37° C selama 30 menit.

Tahap II : Setelah reaksi tahap I selesai, baru ditambah *hemolytic system* (HS) pada suhu 37° C selama 30 menit. Setelah itu baru dibaca hasilnya.

Dalam tabung kontrol semua bahan diberikan kecuali antigen, maka dalam keadaan bagaimanapun, komplemen akan selalu bebas, sehingga erythrocyt yang *sensitized* akan selalu siap menangkap komplemen dan terjadilah hemolysis. Jadi dalam keadaan normal pada tabung kontrol selalu akan menunjukkan lysisnya erythrocyt kambing. Tetapi mengapa pada keadaan-keadaan tertentu justru malah tidak terjadi hemolysis? Atau dengan kata lain mengapa disini terjadi *remming*?

Pada dasarnya *remming* disebabkan hal-hal di dalam serum sendiri maupun sebab-sebab diluar serum. Bahan-bahan tertentu di dalam serum dapat mempengaruhi komplemen, sehingga menjadi inaktif. Demikian pula penggunaan alat-alat serologis yang tidak bersih dan cara kerja yang kurang cermat serta pengambilan bahan-bahan yang kurang steril dan lege artis, dapat mempengaruhi kerja komplemen sehingga terjadi *remming* atau *anticomplementary effect*.

Antigen sendiri dalam reaksi kadang-kadang memberikan *anticomplementary effect* yang dapat diketahui dengan jalan mengadakan test sebelumnya. Biasanya *remming* oleh karena antigen dapat dihilangkan dengan cara pengenceran atau pemanasan. Oleh karena itu penggunaan antigen tidak boleh lebih pekat $\frac{1}{2}$ ekstrak antigen induk.

Secara kimia, komplemen terdiri atas fraksi albumin yang disebut : *endpiece* yang merupakan komponen ke 2 (sementara sarjana berpendapat komponen ke 2 merupakan euglobulin) dan fraksi globulin yang disebut *midpiece* yang merupakan komponen pertama (C1). Komponen pertama (C1) dan komponen ke 2 (C2) dapat dirusak dengan pemanasan pada suhu 50° C selama 30 menit. *Midpiece* sendiri sebenarnya terdiri atas muco-euglobulin yang bersifat thermolabil dan fraksi yang thermolabil yang disebut komponen ke 3 (C3). Komponen ini merupakan suatu phosholipid atau phosphoprotein yang dapat dihilangkan dari serum dengan pemberian zymine, suatu ekstrak yang dibuat dari *yeast* dan akan rusak dengan pemanasan pada suhu 63° C selama 30 menit. Aktivitasnya dapat dikembalikan dengan pemberian serum marmut yang telah dipanaskan pada suhu 56° C.

Komponen yang ke 4 (C4) merupakan suatu muco-euglobulin yang tidak dapat dihilangkan oleh zymine (*yeast*) tetapi dapat diinaktivasi oleh ammonia dan akan rusak oleh pemanasan pada suhu 66° C selama 30 menit. Aktivitasnya dapat dikembalikan lagi dengan pemberian serum yang telah dipanaskan atau serum yang telah diberi zymine (*zymine-treated serum*).

Pada penyelidikan selanjutnya ditemukan pula 5 (lima) buah komponen lain yaitu C5, C6, C7, C8 dan C9, sehingga komplemen merupakan bagian yang sangat kompleks. C1, C2 dan C8 menjadi inaktif jika dipanaskan pada suhu 56° C selama beberapa menit, sedang komponen lain lebih resisten. Pada suhu 56° C selama 20-30 menit, hampir semua komponen menjadi inaktif.

Ternyata aktivitas komplemen sangat dipengaruhi oleh pH, volume pengenceran dan ada tidaknya ion-ion tertentu. Ion-ion yang bervalensi II seperti Ca dan Mg, merupakan bahan yang sangat essensial dalam aksi lysisnya komplemen. Demikian juga ion-ion Ni dan Co. Ion-ion tersebut dapat diikat oleh pelbagai bahan-bahan seperti citrat, oxalat dan phosphat, sehingga menyebabkan terjadinya *remming*.

Pelbagai macam garam anorganik pada konsentrasi tertentu dapat menghambat aksi komplemen, demikian juga bahan-bahan organik seperti lactat.

Bahan lain seperti plasmin, suatu enzim proteolytic yang dihasilkan oleh *Streptococcus* juga menghambat aksi komplemen.

Sardjito dan Sapardi (1962) menyebutkan pula bahwa komplemen dapat diikat oleh pelbagai macam bahan seperti ekstrak antigen, apabila larutannya terlalu pekat, oleh bacteria dan sekali-sekali oleh serum serta bahan lain.

Dengan demikian peristiwa *remming* menyangkut pelbagai bidang yang amat luas, di mana selain menyangkut peralatan dan pemakaian bahan-bahan kimia juga bagaimana cara pelaksanaannya, sejak dari pengambilan bahan-bahan, pengiriman dan tehnik pemeriksaan.

KESIMPULAN DAN RINGKASAN

1. Sebab-sebab utama *remming* terletak pada faktor komplemen.
2. Dalam peristiwa *remming* menyangkut pelbagai bidang yang amat luas, di mana selain peralatan dan penggunaan bahan-bahan kimia, juga bagaimana cara pelaksanaannya, sejak dari pengambilan bahan, pengiriman sampai dengan tehnik pemeriksaan.
3. Dalam menjalankan reaksi Wassermann di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada diadakan penilaian lebih dahulu terhadap serum-serum tersangka dan ternyata :
 - a. Serum tersangka yang dinilai baik, jarang mengalami *remming*,
 - b. Serum tersangka yang dinilai jelek, sering mengalami *remming* pada keadaan dan cara kerja yang sama.

KEPUSTAKAAN

- Jawetz, E. 1970 Antigens and antibodies, in *Review of Medical Microbiology*, 5th ed. pp. 144-46. Lange Medical Publ., California.
- Sardjito, M. & Sapardi 1962 *Bakteriologi umum*. Penerbit Universitas, Jakarta.
- Sherwood, N P. 1951 Complement, in *Immunology*, 3rd ed, pp. 187-90. C.V. Mosby Co., St. Louis.
- Smith & Conant 1960 antigens and antibodies. in *Microbiology*, 12 th. ed, pp. 158-64. Appleton Century Crofts Inc., New York.
- Todd & Sanford 1948 *Clinical Diagnosis by Laboratory Methods*, 11 th ed. W. B Saunders Co., Philadelphia and London.
-