

015.34
PUD
P u



LAPORAN PENELITIAN

**PENGARUH VAKSINASI BCG TERHADAP KEMAMPUAN
MAKROFAG SEBAGAI APC DAN HITUNG KUMAN
ORGAN HEPAR MENCIT TUA BALB/c YANG
MENDAPAT DIET MINYAK IKAN KAYA OMEGA-3**

Oleh:

**dr. DWI PUDJONARKO, M.Kes
dr. HERMINA SUKMANINGTYAS**

**Biaya oleh Bagian Proyek Peningkatan Kualitas Sumberdaya Manusia,
Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional,
Tahun Anggaran 2002**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
OKTOBER, 2002**

LEMBAR IDENTITAS DAN PENGESAHAN PENELITIAN DOSEN MUDA

1. Judul Penelitian	: PENGARUH VAKSINASI BCG TERHADAP KEMAMPUAN MAKROFAG SEBAGAI APC DAN HITUNG KUMAN ORGAN HEPAR MENCIT TUA BALB/c YANG MENDAPAT DIET MINYAK IKAN KAYA OMEGA-3
a. Bidang Ilmu	: Kesehatan.
b. Kategori Penelitian	: Kategori Penelitian I (Pengembangan Ilmu Pengetahuan, Teknologi dan Seni)
2. Ketua Peneliti	
a. Nama lengkap dan gelar	: dr. Dwi Pudjonarko, MKes
b. Jenis Kelamin	: Laki-laki
c. Gol/ pangkat dan NIP	: III b/ Penata Muda Tk I, NIP: 132 137 931
d. Jabatan fungsional	: Asisten Ahli
e. Jabatan struktural	: -
f. Fakultas/ jurusan	: Kedokteran/ Umum
f. Pusat penelitian	: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro
3. Jumlah anggota peneliti	: 1 orang
a. Nama anggota Peneliti I	: dr. Hermina Sukmaningtyas
b. Nama anggota Peneliti II	: -
4. Pembimbing Penelitian	: Dr. Edi Dharmana, MSc, PhD
5. Lokasi Penelitian	: Lab. Bioteknologi & Biokimia FK Undip
6. Kerjasama dengan Institusi lain	: -
a. Nama institusi	: -
b. Alamat	: -
c. Telepon/Faks/e-mail	: -
7. Lama Penelitian	: 8 bulan.
8. Biaya yang diperlukan	
a. Sumber dari Depdiknas	: Rp 6.000.000,-
b. Sumber lain	: -
Jumlah	: Rp 6.000.000,- (Enam Juta Rupiah)



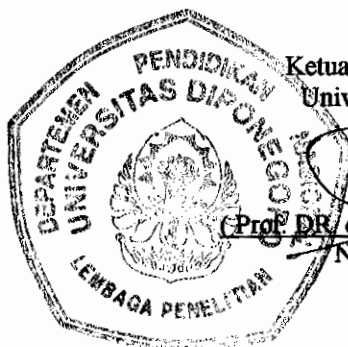
Mengetahui
Dean Fakultas Kedokteran
Universitas Diponegoro

(dr. M. Anggoro DB Sachro, DTM&H, SpA(K))
NIP. 130 345 793

Semarang 1 Oktober 2002

Ketua Peneliti

(dr. Dwi Pudjonarko, MKes)
NIP. 132 137 931



Menyetujui

Ketua Lembaga Penelitian
Universitas Diponegoro

(Prof. DR/ dr. I. Riwanto, SpB, SpBD)
NIP. 130 529 454

RINGKASAN

Minyak ikan kaya omega-3 banyak digunakan sebagai suplemen makanan pada orang-orang tua terutama untuk penderita rematoid arthritis dan penyakit-penyakit kardiovaskuler. Meskipun ada keuntungannya tetapi dilaporkan juga bahwa penggunaan minyak ikan kaya omega-3 dalam jangka waktu tertentu dapat menurunkan respon imunitas seluler. Disisi lain ada imunostimulator yaitu BCG yang sudah biasa digunakan dan terbukti dapat meningkatkan respon imunitas seluler melalui respon tipe I. Penelitian ini berusaha membuktikan adanya perbedaan respon imunitas seluler pada mencit dengan diet minyak ikan yang mendapat vaksinasi BCG dan yang tidak mendapat vaksinasi BCG. Respon imunitas seluler dilihat dari aktivitas makrofag yang diukur dari jumlah jimfosit T yang berikatan dengan makrofag dan hasil hitung kuman dari organ hepar (cfu/ gram) pada mencit tua yang telah mengalami immunosenescence.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik, dengan pendekatan *The Post Test – Only Control Group Design* yang menggunakan binatang percobaan sebagai objek penelitian. Sampel penelitian adalah 24 ekor mencit jantan strain BALB/c, umur 12-13 bulan, dengan berat badan rata-rata 30 gram, yang diperoleh dari Pusat Veterinaria Farma Surabaya. Sampel dibagi menjadi 4 kelompok percobaan dengan rancangan acak lengkap (*Completely Randomized Design*), randomisasi sederhana dilakukan menggunakan komputer. Semua mencit mendapatkan makanan standar laboratoris (AIN-93M). Pada Kelompok Kontrol (K), mencit tidak mendapatkan perlakuan, sedangkan kelompok BCG (BCG) divaksinasi secara intra peritoneal dengan 0,1cc BCG pada hari ke-14 dan ke-24. Kelompok Minyak Ikan (MI), mencit mendapat suplementasi diet minyak ikan dua kali sehari masing-masing sebanyak 0,25 cc yang diberikan dengan sonde lambung, dan kelompok Minyak Ikan + BCG (MB) mendapat suplementasi diet minyak ikan dua kali sehari masing-masing sebanyak 0,25 cc yang diberikan dengan sonde lambung dan divaksinasi secara intra peritoneal dengan 0,1cc BCG pada hari ke-14 dan ke-24. Pada hari ke-28, semua mencit disuntik secara intravena dengan 10^4 *Listeria monocytogenes* hidup yang diperoleh dari Balai Laboratorium Kesehatan Semarang. Semua mencit dibunuh dengan pembiusan chloroform yang dilanjutkan dengan dislokasi leher pada hari ke-33.

Hepar mencit diambil secara aseptis untuk penghitungan kuman dalam cfu/ gram. Penghitungan dilakukan dengan menghitung koloni yang tumbuh pada media *blood agar* setelah inkubasi gerusan hepar selama 24 jam. Penggerusan hepar dilakukan dengan *grinder* dan dilakukan pengenceran bertingkat menggunakan NaCl 0,9% untuk ditanam dalam media *blood agar*. Penghitungan koloni yang tumbuh dilakukan dengan menggunakan *Colony Counter*.

Pemeriksaan Jumlah Limfosit T yang berikatan dengan makrofag diperoleh dengan mengisolasi makrofag peritoneal mencit. Makrofag kemudian diinkubasi 37°C selama 2 jam dalam tabung dengan alas datar yang bawahnya diberi kaca benda. Setelah PEL dipisahkan, makrofag disentrifus 800g dengan suhu 20°C selama 5 menit bersama heat killed *Listeria monocytogenes* dan diinkubasi lagi 37°C selama 1 jam. PEL dicampurkan kembali dengan makrofag setelah dilakukan pencucian kuman menggunakan PBS dan disentrifus 50g selama 4 menit pada suhu 4°C. Setelah itu dilakukan inkubasi 37°C selama 1 jam. Kaca benda dapat diambil dan difiksasi dengan metanol untuk selanjutnya dilakukan pengecatan menggunakan Giemsa 20% selama 20 menit. Penghitungan jumlah limfosit T yang berikatan dengan makrofag dilakukan dengan melihat preparat dibawah mikroskop dengan pembesaran 1000X dan menghitung jumlah limfosit T yang berikatan dengan 100 makrofag.

Data-data yang diperoleh diuji bedanya dengan uji *Kruskal Wallis* untuk mengetahui perbedaan dalam kelompok percobaan yang terdiri dari empat kelompok. Perbedaan lebih jauh antar kelompok percobaan diuji dengan uji *Mann-Whitney U*. Semua analisis dilakukan dengan bantuan komputer menggunakan program SPSS 10.01 for Windows.

Dari penelitian ini didapatkan adanya perbedaan yang signifikan pada hasil hitung kuman organ hepar dan jumlah limfosit T yang berikatan dengan makrofag antar kelompok percobaan ($p < 0,05$). Pada kelompok MI didapatkan jumlah hitung kuman tertinggi dan jumlah limfosit T yang berikatan dengan makrofag terendah bila dibandingkan dengan kelompok K, BCG dan MB. Sementara pada kelompok MB menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan terhadap kelompok K maupun BCG pada hasil hitung kuman organ hepar dan jumlah limfosit T yang berikatan dengan makrofag. Sehingga dapat dinyatakan bahwa pengaruh Minyak Ikan adalah menekan aktivitas makrofag, dan upaya penggunaan

BCG dapat meminimalkan efek tersebut dengan memperbaiki aktivitas makrofag pada mencit tua BALB/c.

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi bahan informasi dalam penggunaan minyak ikan sebagai makanan tambahan dan memberikan alternatif dalam upaya menanggulangi efek negatif berupa penurunan respon imunitas seluler yang ditunjukkan dengan menurunnya aktivitas makrofag. Menurunnya aktivitas makrofag tersebut kemungkinan dapat diatasi dengan pemberian BCG yang mudah didapatkan dengan harga murah. Karena penelitian ini dilakukan pada hewan coba maka hasil penelitian ini diharapkan juga dapat memberikan landasan untuk penelitian lebih lanjut pada manusia.

SUMMARY

Fish oil (rich in omega-3) has been used as a food supplement by elderly. However, some reports mentioned an impairment of cellular immunity when fish oil consumed for certain period, while BCG vaccination may increase it. To highlight the use of fish oil and effort to diminish the cellular immunity impairment, this particular study is designed using old mice as a model. The study is emphasized on the effects of Fish Oil diet and the use of BCG vaccination in cellular immune responses alteration through macrophage activity measurement i.e. bacterial growth (cfu/ gram) in the liver, physical binding of T lymphocytes, and NO production.

The study adapts Laboratory Experimental and Post-Test Only Control Group Design. The 24 male BALB/c mice (12-13 months old and average weight 30 grams) are obtained from PUSVETMA = Pusat Veterinaria Farma, Surabaya. All mice are then divided into four groups and receive standard lab diet (AIN-93M) daily. The first group (control group = C group) receive no other additional treatment, while the second group (BCG group = BCG group) receive intra-peritoneal injection of 0.1 cc BCG at day 14th and 24th. The third group (fish oil group = FO group) receive 0.25 cc fish oil through gastric instillation twice a day and the fourth group (fish oil +BCG group = FB group) receive 0.25cc fish oil twice a day and intra-peritoneal injection of 0.1 cc BCG at day 14th and 24th. Close to the end of study, at day 28th, all groups are intravenously injected with 10^4 live *L. monocytogenes* ($LD_{50} = 2 \times 10^5$ bacteria) obtained from Balai Laboratorium Kesehatan Semarang and sacrificed at day 33rd.

The results show that there are significant differences in the liver bacterial growth, the physical binding of T lymphocytes, and the NO production ($p < 0,05$) among the groups. The highest number of bacterial growth, the lowest number of physical binding of T lymphocytes, and the lowest NO production is found in the FO group. In contrast, there are no significant differences on the number of bacterial growth, physical binding of T lymphocytes, and NO production, between FB group and C group as well as with BCG group ($p > 0,05$). Therefore, it could be concluded that fish oil is immunosuppressive, while additional treatment with BCG can restore immune response through macrophage activation in aged male BALB/c mice.

PRAKATA

Penulis memanjatkan puji syukur ke hadirat Allah Swt atas berkah, rahmat dan karuniaNya sehingga penelitian yang berjudul “Pengaruh Vaksinasi BCG Terhadap Kemampuan Makrofag Sebagai APC dan Hitung Kuman Organ Hepar Mencit Tua BALB/C Yang Mendapat Diet Minyak Ikan Kaya Omega-3” dapat selesai tepat pada waktu yang ditentukan. Penulis juga bersyukur karena sampai saat ini masih diberikan kesempatan olehNya untuk terus mengembangkan pengalaman dan ilmu pengetahuan yang berguna bagi peradaban manusia. Dengan selesainya penelitian ini diharapkan dapat memacu penelitian-penelitian lain dengan tema sejenis.

Dapat terlaksananya penelitian ini adalah berkat bantuan dari berbagai pihak, antara lain:

1. Prof. DR. Dr. I. Riwanto, SpB, SpBD, selaku ketua Lembaga Penelitian Undip
2. Dr. M. Anggoro DB Sachro, DTM&H, SpA(K), selaku Dekan FK Undip
3. Dr. Edi Dharmana, MSc, PhD, selaku pembimbing
4. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis mengucapkan terima kasih atas bantuan hingga terlaksananya penelitian ini mulai dari perencanaan, pelaksanaan, analisa sampai pembuatan laporan.

Akhir kata, penulis berharap semoga Allah Swt melimpahkan berkat dan rahmatNya kepada semua pihak yang telah banyak membantu dan semoga penelitian ini dapat bermanfaat dan dapat menambah pengetahuan bagi yang membutuhkannya. Bila ada hal-hal yang kurang berkenan, kami atas nama tim peneliti, mohon maaf yang sebesar-besarnya.

Semarang, Oktober 2002

Penulis,

DAFTAR ISI

LEMBAR IDENTITAS DAN PENGESAHAN	ii
RINGKASAN DAN SUMMARY	iii
PRAKATA	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
I. PENDAHULUAN	1
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
II.1. MINYAK IKAN	4
II.1.1. PENGARUH MINYAK IKAN TERHADAP IMUNITAS	4
II.1.2. PENGARUH MINYAK IKAN PADA LIMFOSIT	6
II.1.3. PENGARUH MINYAK IKAN PADA MAKROFAG	6
II.1.4. PENGARUH MINYAK IKAN PADA SEL-SEL DENDRITIK	7
II.2. VAKSIN BCG SEBAGAI IMUNOPOTENSIATOR	7
II.3. PROSES PEMBENTUKAN IMUNITAS TUBUH	9
II.3.1. LANGKAH PENGENALAN (RECOGNITION)	9
II.3.2. LANGKAH AKTIVASI	10
II.3.3. LANGKAH PELAKSANAAN EFEKTOR	14
II.3.4. FUNGSI DAN PERTUMBUHAN SUBSET SEL T YANG MENGHASILKAN SITOKIN BERBEDA	15
II.3.5. MAKROFAG TERAKTIVASI	18
II.4. IMMUNOSENESCENCE	21
III. TUJUAN PENELITIAN	22
TUJUAN UMUM	22
TUJUAN KHUSUS	22
MANFAAT PENELITIAN	22
IV. METODOLOGI PENELITIAN	23
IV.1. RANCANGAN PENELITIAN	23
IV.2. POPULASI DAN SAMPEL	24
IV.2.1. POPULASI	24
IV.2.2. SAMPEL	25
IV.3. VARIABEL PENELITIAN	26
IV.4. BAHAN DAN MATERI	27
IV.5. ALAT/ INSTRUMEN PENELITIAN	27
IV.6. TEMPAT PENELITIAN	28
IV.7. PROSEDUR PENGUMPULAN DATA	28
IV.8. ALUR KERJA	29
IV.9. PEMERIKSAAN	30
IV.9.1. PROSEDUR PENGAMBILAN SAMPEL DARI HEWAN PERCOBAAN	30
IV.9.2. PROSEDUR PEMERIKSAAN JUMLAH LIMFOSIT T YANG BERIKATAN DENGAN MAKROFAG	31
IV.9.3. PROSEDUR PEMERIKSAAN HITUNG KUMAN	32
IV.10. ANALISA DATA	33
V. HASIL DAN PEMBAHASAN	34
VI. KESIMPULAN DAN SARAN	42
VII. DAFTAR PUSTAKA	44

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Hasil penghitungan kuman organ hepar dalam cfu/ gram	34
Tabel 2. Hasil penghitungan jumlah limfosit T yang berikatan dengan makrofag	38

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Mekanisme presentasi antigen yang dilakukan oleh MHC II.....	12
Gambar 2.	Untuk aktivasi sel T dibutuhkan ko-stimulator pada APC	13
Gambar 3.	Aktivasi Sel T sitolisis akan menuju sel target yang mempresentasikan MHC I untuk melakukan lysis.....	14
Gambar 4.	Sel T mengaktifkan Sel B untuk menghasilkan antibody	15
Gambar 5.	Aktivasi Sel T helper diakibatkan kontak dengan sel APC yang mempresentasikan MHC II pada permukaannya	15
Gambar 6.	Fungsi sel-sel Th1	17
Gambar 7.	Fungsi sel-sel Th2	18
Gambar 8.	Hasil Uji beda hitung kuman organ hepar menggunakan uji <i>Mann-Whitney U</i> untuk masing-masing kelompok perlakuan	36
Gambar 9.	Hasil Uji beda jumlah limfosit T yang berikatan dengan makrofag menggunakan uji <i>Mann-Whitney U</i> untuk masing-masing kelompok	40

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	1. Curriculum vitae peneliti.....	48
----------	-----------------------------------	----

I. PENDAHULUAN

Eicosapentaenoic acid (EPA) dan docosahexaenoic acid (DHA) adalah rantai panjang omega-3, asam lemak tak jenuh yang ditemukan pada minyak ikan. EPA/DHA yang biasanya ditemukan bersama-sama adalah nutrisi asam lemak yang saat ini sangat populer di literatur sebagai makanan tambahan. Dalam kondisi diet intake asam lemak yang serba terkontrol di laboratorium terbukti menunjukkan pengaruh yang besar pada hewan coba terhadap penyakit autoimun. Pada manusia banyak digunakan sebagai suplemen makanan pada orang-orang tua terutama untuk penderita rematoid arthritis dan penyakit-penyakit kardiovaskuler. Pemberian minyak ikan (EPA/DHA) pada penderita rematoid arthritis akan menurunkan kekakuan sendi, nyeri sendi dan memperbaiki fleksibilitas. Sebagai pencegahan penyakit kardiovaskuler direkomendasikan supaya mendapatkan suplemen minyak ikan dua sampai tiga kali setiap minggu. Apabila asam lemak darah tinggi, HDL rendah atau terjadi peningkatan resiko penyakit kardiovaskular maka dianjurkan mengkonsumsi 500 mg minyak ikan (EPA/DHA) dua kali sehari untuk memperbaiki kondisi tersebut. Dikatakan minyak ikan dapat mencegah aritmia jantung dengan cara menghambat terjadinya fibrilasi yang mengakibatkan henti jantung.^{1,2} Penelitian pada manusia menunjukkan pengaruh yang tidak begitu dramatis, sayang sekali diet dan latar belakang genetik, infeksi dan pengaruh lingkungan tidak terkontrol dan disain penelitiannya tidak begitu adekwat.³

Pengaruh diet asam lemak pada binatang yang menderita penyakit autoimun tergantung pada jenis hewan dan tipe serta banyaknya asam lemak yang dimakan. Minyak ikan khususnya DHA sangat memegang peranan terhadap naiknya suseptibilitas terhadap penyakit.⁴ Ekspresi MHC II pada sel-sel dendritik tikus rat yang diberi diet minyak ikan selama 6 minggu juga mengalami penurunan. Sedangkan sel-sel dendritik memegang peranan penting sebagai APC *in vivo*.⁵

Diet minyak ikan secara signifikan dilaporkan menekan lisis sel-sel tumor target yang ditimbulkan makrofag peritoneal mencit. "Target Cell Lines" yang digunakan pada studi ini adalah sensitifitas membunuh oleh TNF- α (sel L929)^{6,7} atau nitric Oxide (sel P815).^{8,9} Jadi penekanan sitolisis oleh makrofag yang diamati setelah pemberian minyak ikan menunjukkan bahwa minyak ikan menurunkan produksi Nitric Oxide dan TNF- α .

Beberapa kemungkinan mekanisme omega-3 dalam memperbaiki penyakit autoimun diantaranya adalah penekanan proliferasi limfosit T dan autoantibodi. Selain itu juga terjadi apoptosis dari limfosit autoreaktif, dan penurunan produksi sitokin proinflamasi oleh omega-3 dosis tinggi. Tetapi secara eksperimental, induksi penyakit autoimun yang dimediasi sel T akan semakin berat dan **pengaruh jangka panjang yang tidak diharapkan pada penggunaan minyak ikan (omega-3) adalah menurunnya imunitas.** Mekanisme yang penting pada diet asam lemak untuk memodulasi aktivitas penyakit adalah pengaruhnya pada imunoregulasi, inflamasi dan kadang-kadang mengaktifasi imunitas pada penyakit autoimun. Mekanisme dalam mempengaruhi sistem imun dan penyakit autoimun adalah melalui regulasi ekspresi gen, jalur signal transduksi, dan kerja enzim-enzim antioksidan. Selain itu juga dengan mempengaruhi produksi eikosanoid dan sitokin. Kemungkinan semua mekanisme ini berhubungan dengan imunoregulasi dan inflamasi melalui pengaruh asam lemak pada beberapa sitokin. Jumlah, tipe, keseimbangan diet asam lemak dan pemakaian nutrien antioksidan akan mempengaruhi sistem imun. Pengaruh ini dapat berakibat terjadinya imunodevasi atau imunosupresif, dan menurunkan inflamasi yang dimediasi oleh sistem imun. Pada gilirannya akan mempengaruhi suseptibilitas dan beratnya penyakit autoimun.³

Dalam ilmu imunologi dikenal beberapa substrat yang dapat memodulasi sistem imun. Salah satunya adalah yang bersifat sebagai imunopotensiator dan telah banyak dipelajari untuk menambah reaktivitas imunologis. Imunopotensiator tersebut adalah *Mycobacterium bovis* yang dilemahkan yaitu strain Bacillus Calmette-Guerin (BCG).^{10,11,12} BCG dapat mengubah beberapa komponen respon imun, mengubah beberapa tipe sel dan mendorong efek positif (stimulasi) atau efek negatif (inhibisi) tergantung pada sistem imunitas dan bagaimana menggunakannya.¹³ Penggunaan dosis BCG yang tepat akan menginduksi respon imunitas seluler melalui respon Type 1.¹⁴ Vaksinasi BCG tidak hanya memacu respon imun yang diperantarai sel T saja tetapi juga meningkatkan kemampuan sel T dalam bereaksi terhadap antigen BCG dengan meningkatkan jumlah limfosit. Secara invitro BCG akan meningkatkan limfosit T CD4+ yang terbukti dengan didapatinya dalam jumlah banyak sel-sel blast CD4+ dalam kultur.¹⁵

Dalam eksperimen, induksi infeksi dengan organisme *Listeria monocytogenes* telah banyak dijadikan model untuk mempelajari infeksi bakteri intraseluler. Bakteri ini dapat bertahan hidup di dalam makrofag dan dapat menghindari mekanisme bakterisidal makrofag.

Sehingga makrofag merupakan pertahanan utama terhadap organisme ini. Mekanisme imun untuk melawan *Listeria monocytogenes* adalah *T-cell mediated immunity*. Kunci utama mekanisme ini adalah limfosit T yang tersensitisasi dan makrofag yang teraktivasi. Disini terlibat fungsi makrofag sebagai APC yang mengikutsertakan molekul MHC II.^{16, 17}

Pertumbuhan kuman *Listeria monocytogenes* sangat dipengaruhi oleh kemampuannya untuk bertahan dan tumbuh di dalam makrofag inang. Tetapi secara invivo kuman ini mampu masuk sel-sel inang selain makrofag. Sel hepatosit merupakan tempat yang baik untuk pertumbuhan organisme ini. Sehingga untuk dapat dihancurkan oleh makrofag yang teraktivasi, kuman ini perlu dikeluarkan dulu dari sel hepatosit. Pengeluaran dari hepatosit dilakukan dengan penghancuran sel-sel ini oleh lekosit yang berkumpul disekitar tempat yang terinfeksi dan melakukan degranulasi ekstraseluler. Dalam penelitian histopatologi hepar, Conlan dkk melaporkan adanya sebaran netrofil dan terjadinya kehancuran sel-sel hepatosit terinfeksi secara luas setelah 48 jam inokulasi *Listeria monocytogenes*, sehingga pada keadaan ini sulit didapatkan sel hepatosit yang utuh. Hal tersebut menunjukkan bahwa sel hepatosit yang terinfeksi akan dihancurkan terlebih dahulu sebelum *Listeria monocytogenes* sempat tumbuh dan berkembang biak di dalamnya. Selain netrofil, sel-sel lain yang juga berperan terhadap penghancuran sel-sel hepatosit diantaranya adalah monosit, sel NK dan sel T. Akan tetapi sebagaimana penelitian-penelitian lain, sel T belum berperan selama 48 jam pertama setelah infeksi. Pada penelitian ini juga didapati makrofag disekitar tempat infeksi. Kemampuan kuman *Listeria monocytogenes* untuk dapat berkembang biak di hepatosit dapat dilihat dari hasil kultur kuman organ hepar.¹⁸

Dengan melihat keadaan tersebut diatas maka penelitian ini berusaha menjelaskan seberapa jauh vaksinasi BCG dapat mempengaruhi fungsi makrofag sebagai APC dan kemampuan *bacterial killing* yang dilihat dari hasil hitung kuman organ hepar pada mencit tua yang telah mengalami *immunosenesence*.