



**PENGARUH PEMBERIAN VAKSINASI BCG TERHADAP  
GAMBARAN HISTOPATOLOGI HEPAR  
MENCIT BALB/c STRES YANG TERINFEKSI  
*Listeria Monocytogenes***

**ARTIKEL KARYA TULIS ILMIAH**

Diajukan untuk memenuhi tugas dan melengkapi syarat dalam menempuh  
Program Pendidikan Sarjana Fakultas Kedokteran

**Disusun oleh**  
**Andra Novitasari**  
**G2A 003 015**

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS DIPONEGORO  
SEMARANG**

**2007**

**LEMBAR PENGESAHAN**

ARTIKEL ILMIAH

**PENGARUH PEMBERIAN VAKSINASI BCG TERHADAP  
GAMBARAN HISTOPATOLOGI HEPAR MENCIT BALB/c  
STRES YANG TERINFEKSI *Listeria Monocytogenes***

Yang dipersiapkan dan disusun oleh :

Andra Novitasari  
G2A003015

Telah dipertahankan di depan tim penguji Karya Tulis Ilmiah Fakultas  
Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang pada tanggal 27 Juli 2007

Tim Penguji

Ketua Penguji

Penguji

( dr. Dodik Pramono )  
NIP. 132 151 947

( dr. Ratna Damma P, M.Kes. )  
NIP. 131 916 037

Pembimbing

( dr. Dwi Pudjonarko, M.Kes,Sp.S )  
NIP. 132 137 931

**THE EFFECTS OF BCG VACCINE TO THE HISTOPATHOLOGICAL PATTERN OF STRESSED BALB/C MICE LIVER TISSUE INFECTED WITH *Listeria Monocytogenes***

Andra Novitasari<sup>1)</sup>, Dwi Pudjonarko<sup>2)</sup>

**ABSTRACT**

**Background:** Cellular immunity plays an important role in eradicating intracellular bacteria. Stress may cause cellular immunity impairment, while BCG vaccine may increase it.

**Objective:** The aim of this study was emphasized the effects of BCG vaccine on stressed balb/c mice infected with *Listeria monocytogenes* in number of microabscess and hepatocyte damage.

**Method and subject:** This study adapts laboratory experimental and Post Test Only Control Groups Design. The 24 female BALB/c divided into four groups and received standard lab diet daily. The control group received no other additional treatment. While the EFS group received stressed by electrical foot shock (EFS) start on day 12<sup>th</sup> until 21<sup>st</sup>. The BCG group receives intra peritoneal injection of 0.1cc BCG at day 1<sup>st</sup> and 11<sup>th</sup>, and the EFS+BCG group received intra peritoneal injection of 0.1cc BCG at day 1<sup>st</sup> and 11<sup>th</sup> and stressed by EFS start on day 12<sup>th</sup> until 21<sup>st</sup>. At day 21<sup>st</sup>, all groups were injected with 10<sup>4</sup> live *Listeria monocytogenes* intravenously and terminated at day 26<sup>th</sup> and the livers were taken to observe histopatologically.

**Result:** There are significant difference on number of microabscess and hepatocytes damage between EFS and EFS+BCG ( $p < 0.05$ ). In contrast, there are no significant differences between EFS+BCG and control ( $p > 0.05$ ).

**Conclusion:** It could be concluded that stress is immunosuppressant, while additional treatment with BCG vaccine can restore immune responses indicated by the lower number of microabscess and hepatocytes damage.

**Key words:** Stress, BCG, microabscess, hepatocytes damage, *L. monocytogenes*.

<sup>1)</sup> Undergraduate student, Medical Faculty, Diponegoro University, Semarang

<sup>2)</sup> Lecturer, Medical Physic Department, Diponegoro University, Semarang

**PENGARUH PEMBERIAN VAKSINASI BCG TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI HEPAR MENCIT BALB/C STRES YANG TERINFEKSI *Listeria Monocytogenes***

Andra Novitasari<sup>1)</sup>, Dwi Pudjonarko<sup>2)</sup>

**ABSTRAK**

**Latar Belakang:** Imunitas seluler berperan penting dalam mengatasi infeksi kuman intraseluler. Stres menyebabkan gangguan fungsi imunitas seluler. Disisi lain dilaporkan BCG dapat meningkatkan respon imunitas seluler.

**Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek vaksinasi BCG pada mencit Balb/c stres yang terinfeksi *Listeria monocytogenes* terhadap jumlah mikroabses dan kerusakan hepatosit.

**Metode dan Bahan:** Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan pendekatan *The Post Test Only Control Group Design*. 24 ekor mencit betina Balb/c dibagi menjadi 4 kelompok dan masing-masing mendapat pakan standar setiap hari. Kelompok Kontrol tidak menerima perlakuan apa pun. Sementara kelompok EFS mendapatkan stres dengan *electrical foot shock*(EFS) mulai hari ke-12 sampai ke-21. Kelompok BCG menerima injeksi 0.1cc BCG secara intraperitoneal pada hari ke-1 dan ke-11 dan kelompok EFS+BCG mendapat injeksi 0.1cc BCG secara intraperitoneal pada hari ke-1 dan ke-11 dan stres dengan EFS mulai hari ke-12 sampai ke-21. Pada hari ke-21 semua kelompok diinjeksi  $10^4$  *Listeria monocytogenes* hidup intravena dan pada hari ke-26 mencit dibunuh dan heparnya diperiksa.

**Hasil:** Penelitian mendapatkan adanya perbedaan yang bermakna dalam jumlah mikroabses dan kerusakan hepatosit antara kelompok EFS dan EFS+BCG ( $p<0.05$ ). Sementara Kelompok EFS+BCG menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna dengan Kelompok Kontrol ( $p>0.05$ ).

**Kesimpulan:** Didapatkan bahwa stres menekan sistem imun, sementara pemberian BCG dapat memperbaiki respon imunitas tersebut diamati melalui rendahnya jumlah mikroabses dan hepatosit yang rusak.

**Kata Kunci:** Stres, BCG, mikroabses, hepatosit, *L. monocytogenes*.

<sup>1)</sup> Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang

<sup>2)</sup> Staf Pengajar Bagian Fisika Medik Universitas Diponegoro Semarang

## **Pendahuluan**

Kehidupan seseorang yang dewasa ini dihadapkan dalam tuntutan-tuntutan hidup yang semakin tinggi, baik itu dari dunia luar atau dari dalam diri seseorang itu dapat berakibat orang tersebut mengalami stres.<sup>1</sup> Pada berbagai studi pada hewan percobaan didapatkan bahwa stresor yang diberikan dapat menyebabkan gangguan fungsi sistem imun tubuh terutama respon imun seluler.

Stres melalui sistem *Hypothalamic-pituitary-adrenocorticol Axis* (HPA Axis) akan menyebabkan disekresikannya hormon kortisol oleh kelenjar adrenal sehingga terjadi penurunan fungsi kemampuan sistem imun, salah satunya dengan terjadinya penurunan IFN- $\gamma$  yang sangat penting untuk aktivasi makrofag dalam menghadapi *Listeria monocytogenes* sebagai kuman intrasel.

BCG (bacillus Calmette-Guerin) dikenal sebagai vaksin tuberkulosis. Vaksin BCG diketahui dapat mengubah beberapa komponen respon imun. Sebagai bakteri intrasel yang dilemahkan, di makrofag BCG digunakan untuk memacu respon imunitas seluler dan bukan humoral.<sup>2</sup> Emoto dkk menyatakan bahwa infeksi dengan *Mycobacterium bovis* BCG dapat mengubah sekresi sitokin populasi sel T CD<sub>4</sub><sup>+</sup> Natural killer yang semula memproduksi IL-4 menjadi memproduksi IFN- $\gamma$  melalui induksi IL-12. Sehingga disimpulkan bahwa sel T CD<sub>4</sub><sup>+</sup> Natural Killer memegang peranan pada resistensi inang terhadap bakteri intrasel dengan memacu sel Th1 untuk memproduksi IFN- $\gamma$ .<sup>3</sup> BCG akan memacu fungsi makrofag, Sel T dan Sel B, dan sel NK untuk meningkatkan produksi IL-1.<sup>4</sup>

Listeriosis merupakan penyakit yang disebabkan oleh serotype *Listeria*, termasuk di dalamnya adalah *Listeria monocytogenes*. Listeriosis merupakan penyakit yang berat dengan “ *Case Fatality Rate* “ (CFR) tertinggi dari seluruh penyakit yang tersebar lewat makanan.<sup>1,5</sup>

Adanya *Listeria monocytogenes* dalam makrofag akan membuat makrofag memproduksi IL-2 yang akan menstimuli sel NK, membantu diferensiasi Th0 menjadi Th1 dan menstimulasi CD<sub>8</sub><sup>+</sup> CTLs. Ketiga sel ini akan mensekresi IFN –  $\gamma$ , yang berfungsi mengaktivasi makrofag, untuk memproduksi oksigen reaktif, menstimulasi produksi antibodi dan mengopsonisasi bakteri dengan tujuan akhir membantu fungsi efektor makrofag.<sup>6</sup>

Makrofag yang terdapat didalam hepar yaitu sel kupfer yang dikenal sebagai sel fagosit profesional akan memfagosit *Listeria monocytogenes* yang masuk ke hepar setelah infeksi.<sup>7</sup> Sel kupfer ini mempunyai kemampuan fagositosis yang sangat besar, menurut Husadha ( 1996 ), sel ini dapat membersihkan 99 % kuman yang ada dalam vena porta sebelum darah menyebar melewati seluruh sinusoid hepar, selain itu sel ini juga menghasilkan imunoglobulin yang berperan dalam system imun humoral.<sup>7</sup> Selama stadium awal listeriosis, neutrofil dan makrofag bermigrasi ke lien dan hepar, membentuk mikroabses dengan ciri-ciri tersendiri. Neutrofil menunjukkan memainkan peranan penting dalam mengontrol fase akut dan dalam memediasi destruksi hepatosit terinfeksi *in vivo*. Produk yang dilepas makrofag dan neutrofil yang telah diaktifkan dapat merusak jaringan normal. Jika respon imun adekuat kerusakan tersebut biasanya sebentar dan akan menjadi normal kembali, sebab

makrofag yang diaktifkan juga akan menginduksi perbaikan jaringan dengan mensekresi *Growth Factor* yang merangsang proliferasi fibroblas, sintesis kolagen, dan angiogenesis.<sup>8</sup>

Berdasarkan latar belakang di atas, penulis berusaha menjawab bagaimana pengaruh vaksinasi BCG terhadap gambaran histopatologi hepar mencit Balb/c stres yang terinfeksi *Listeria monocytogenes*. Tujuan penelitian ini untuk menganalisa perbedaan gambaran histopatologi hepar diamati dari jumlah mikroabses dan kerusakan hepatosit pada mencit BALB/c dengan stres tanpa vaksinasi BCG dibanding dengan yang divaksinasi BCG. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi bahan informasi dalam penggunaan imunomodulator sebagai pencegahan terjadinya penurunan respon imunitas seluler karena stres. Pemberian BCG pada penelitian ini hanya merupakan salah satu pemberian imunomodulator yang telah banyak diteliti. Dalam penelitian selanjutnya bisa diberikan jenis imunomodulator lain yang sangat banyak ditawarkan di pasaran.

### **Metode Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik, dengan pendekatan *The Post Test – Only Control Group Design* yang menggunakan binatang percobaan sebagai hewan penelitian.<sup>9</sup> Penelitian dilaksanakan pada bulan Maret - Mei 2007. Populasi penelitian ini adalah mencit betina strain Balb/c dengan berat badan antara 25 - 30 gram.

Awalnya 24 ekor mencit betina strain BALB/c, umur 6-8 minggu, diaklimatisasi di laboratorium dan diberi pakan standar selama satu minggu secara

ad libitum. Selanjutnya 24 ekor tersebut kemudian dibagi menjadi 4 kelompok masing-masing 6 ekor lalu dikandangkan sesuai dengan kelompoknya. Masing masing kelompok mendapatkan pakan standar yang sama. Kelompok Kontrol hanya mendapatkan makanan standar, pada hari ke-21 dilakukan injeksi imunogen *Listeria monocytogenes* secara intravena. Kelompok EFS selain mendapatkan makanan standar juga mendapatkan rangsang stres menggunakan *electric foot shock* mulai hari ke-12 sampai 21. Pada hari ke-21 dilakukan injeksi imunogen *Listeria monocytogenes* secara intravena. Kelompok BCG selain mendapatkan makanan standar juga mendapatkan vaksinasi BCG pada hari ke-1 dan 11, pada hari ke-21 dilakukan injeksi imunogen *Listeria monocytogenes* secara intravena. Kelompok EFS + BCG selain mendapatkan makanan standar juga mendapatkan vaksinasi BCG dan rangsang stres menggunakan *electric foot shock*, pada hari ke-21 dilakukan injeksi imunogen *Listeria monocytogenes* secara intravena. Kemudian (hari ke-5 setelah infeksi) mencit dibunuh untuk dilakukan pemeriksaan histopatologi hepar.

Pada hari ke-26 mencit dibunuh dengan dislokasi leher setelah dinarkose menggunakan chloroform. Mencit diletakan dalam posisi terlentang, kulit bagian perut dibuka dan dibersihkan selubung peritoneumnya dengan alkohol 70%. Selanjutnya hepar diambil dan kemudian dilakukan pembuatan preparat dengan histo teknik. Preparat diamati di bawah mikroskop. Sasaran yang dibaca adalah mikroabses (**Gambar 1.**) yang dihitung dalam 10 lapang pandang dengan perbesaran 100x dan jumlah hepatosit yang rusak (**Gambar 3.**) dalam 100 sel yang dihitung dalam 5 lapang pandang dengan perbesaran 400x dan kriteria

kerusakan melihat inti sel yang mati menjadi lebih kecil, kromatin kehilangan serabut halus retikuler dan menjadi berlipat-lipat, inti menjadi piknotik yang dapat hancur menjadi karioreksis dan kemudian menjadi kariolisis.

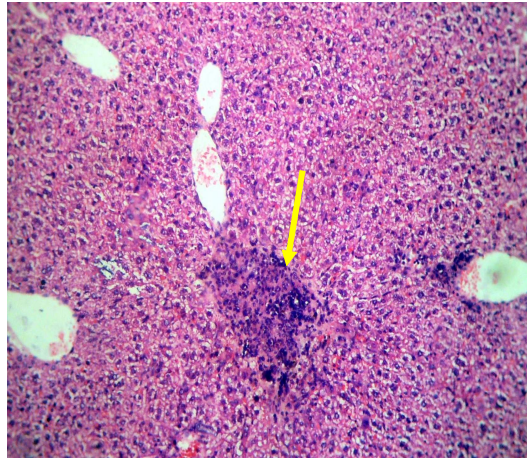
Data hasil penelitian diolah dengan menggunakan program komputer SPSS 13.00 for windows.<sup>10</sup> Selanjutnya dilakukan uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk test*. Data jumlah kerusakan hepatosit diuji dengan *One Way Anova* untuk melihat adanya perbedaan pada keempat kelompok perlakuan. Besarnya perbedaan masing-masing kelompok perlakuan dianalisis lebih lanjut dengan *Post Hoc Test Bonferroni*. Sedangkan data jumlah mikroabses diuji dengan *Kruskal-Wallis* untuk melihat adanya perbedaan pada keempat kelompok perlakuan. Besarnya perbedaan masing-masing kelompok perlakuan dianalisis lebih lanjut dengan *Mann-Whitney U Test*. Nilai signifikansi pada penelitian ini adalah apabila variabel yang dianalisis memiliki nilai  $p < 0,05$ .

### Hasil Penelitian

Hasil pemeriksaan jumlah mikroabses yang dihasilkan keempat kelompok perlakuan disajikan dalam tabel analisis data seperti berikut. **(Tabel 1.)**

Tabel 1. Jumlah Mikroabses

<b>Kelompok</b>	<b>n</b>	<b>Rerata</b>	<b>SB</b>	<b>Minimal</b>	<b>Maksimal</b>
Kontrol	6	3.00	0.894	2.06	3.94
EFS	6	9.67	1.966	7.60	11.73
BCG	6	1.00	0.894	0.06	1.94
BCG + EFS	6	3.00	0.894	2.06	3.94



Gambar 1. Mikroabses

Jumlah mikroabses paling tinggi pada kelompok mencit yang mendapat EFS ( $9.67 \pm 1.966$ ) dan paling rendah pada kelompok mencit yang mendapat BCG ( $1.00 \pm 0.894$ ). Analisis statistik dengan menggunakan *Kruskal-Wallis*, ternyata terdapat perbedaan yang bermakna ( $p=0.000$ ) pada jumlah mikroabses antara 4 kelompok percobaan. Selanjutnya dilakukan analisis lebih lanjut dengan *Mann-Whitney U Test* untuk melihat perbedaan antara kelompok. **(Tabel 2.)**

Tabel 2. Hasil *Mann-Whitney U Test* untuk masing-masing kelompok percobaan.

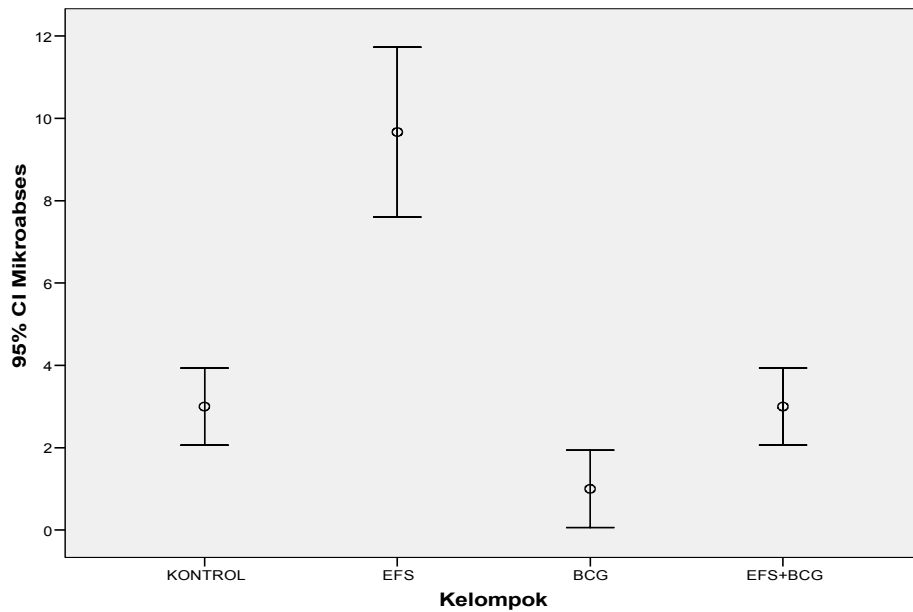
Jumlah mikroabses.

<i>Mann-Whitney U Test</i>	Rerata	Kontrol	EFS	BCG	EFS+BCG
Kontrol	3.00	-	0.003*	0.009*	1.000
EFS	9.67	0.003*	-	0.003*	0.003*
BCG	1.00	0.009*	0.003*	-	0.009*
EFS+BCG	3.00	1.000	0.003*	0.009*	-

\* Perbedaan rerata bermakna pada  $p < 0.05$

Jumlah mikroabses kelompok EFS dibandingkan dengan kontrol maka didapatkan perbedaan yang bermakna ( $p=0.003$ ) demikian juga bila dibandingkan dengan kelompok BCG ( $p=0.003$ ) dan EFS+BCG ( $p=0.003$ ). Jumlah mikroabses pada kelompok EFS+BCG didapatkan sebesar ( $3.00 \pm 0.894$ ) yang tidak berbeda

bermakna dengan kelompok kontrol ( $p=1.000$ ) tetapi berbeda bermakna dengan kelompok EFS ( $p=0.003$ ) dan BCG ( $p=0.009$ ).



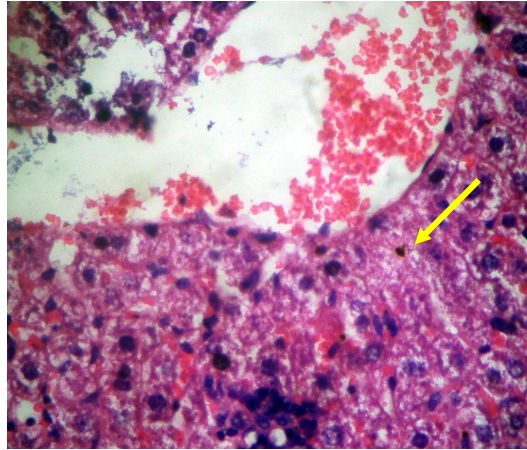
Gambar 2. Distribusi data jumlah mikroabses masing – masing kelompok

Hasil pemeriksaan jumlah kerusakan hepatosit yang dihasilkan keempat kelompok perlakuan disajikan dalam tabel analisis data seperti berikut. **(Tabel 3.)**

Tabel 3. Jumlah Kerusakan Hepatosit

<b>Kelompok</b>	<b>n</b>	<b>Rerata</b>	<b>SB</b>	<b>Minimal</b>	<b>Maksimal</b>
Kontrol	6	26.67	4.502	21.94	31.39
EFS	6	54.67	5.888	48.49	60.85
BCG	6	10.67	5.465	4.93	16.40
BCG + EFS	6	22.50	2.429	19.95	25.05

One Way ANOVA →  $p=0.000$



Gambar 3. Hepatosit dengan inti piknotik

Jumlah kerusakan hepatosit paling tinggi pada kelompok mencit yang mendapat EFS ( $54.67 \pm 5.888$ ) dan paling rendah pada kelompok mencit yang mendapat BCG ( $10.67 \pm 5.465$ ). Analisis statistik dengan menggunakan *One Way Anova*, ternyata terdapat perbedaan yang bermakna ( $p=0.000$ ) pada jumlah kerusakan hepatosit antara 4 kelompok percobaan. Selanjutnya dilakukan analisis lebih lanjut dengan *Post Hoc Test Bonferroni* untuk melihat perbedaan antara kelompok. (Tabel 4.)

Tabel 4. Hasil uji *Bonferroni* untuk masing-masing kelompok percobaan.

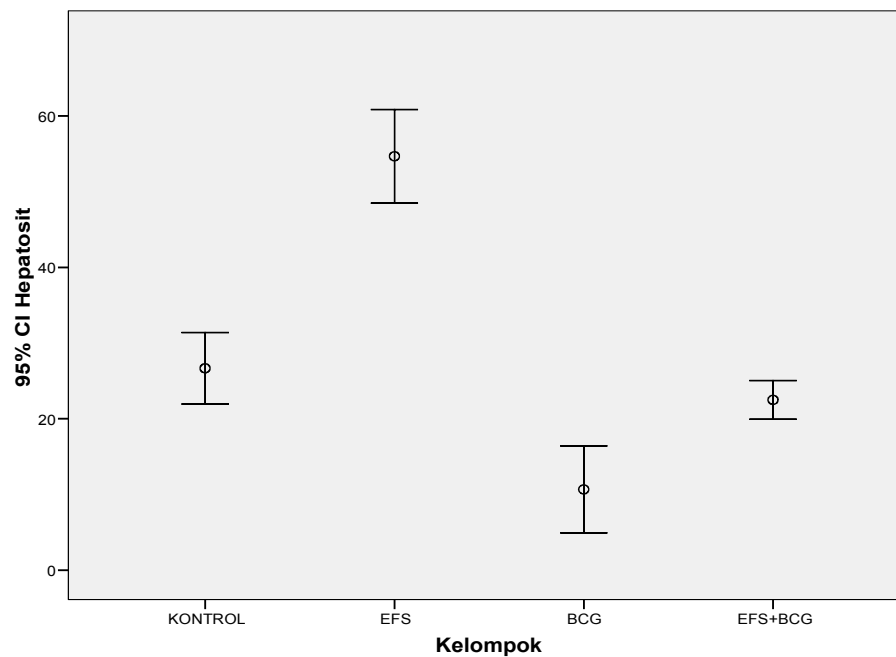
Jumlah kerusakan hepatosit.

<i>Post Hoc Test Bonferroni</i>	Rerata	Kontrol	EFS	BCG	EFS+BCG
Kontrol	26.67	-	0.000*	0.000*	0.872
EFS	54.67	0.000*	-	0.000*	0.000*
BCG	10.67	0.000*	0.000*	-	0.002*
EFS+BCG	22.50	0.872	0.000*	0.002*	-

\* Perbedaan rerata bermakna pada  $p<0.05$

Jumlah kerusakan hepatosit EFS dibandingkan dengan kontrol, maka didapatkan perbedaan yang bermakna ( $p=0.000$ ) demikian juga bila dibandingkan

dengan kelompok BCG ( $p=0.000$ ) dan EFS+BCG ( $p=0.000$ ). Jumlah kerusakan hepatosit pada kelompok EFS+BCG didapatkan sebesar ( $22.50 \pm 2.429$ ) yang tidak berbeda bermakna dengan kelompok kontrol ( $p=0.872$ ) tetapi berbeda bermakna dengan kelompok EFS ( $p=0.000$ ) dan BCG ( $p=0.002$ ).



Gambar 4. Distribusi data jumlah kerusakan hepatosit masing – masing kelompok

## Pembahasan

Pada penelitian ini didapatkan jumlah mikroabses dan kerusakan hepatosit pada kelompok EFS paling tinggi jika dibandingkan dengan kelompok lain, ini sesuai dengan teori bahwa pengaruh stres dapat memberi beban pada sel saraf pusat, yang kemudian akan menimbulkan perubahan pada sistem imunologik melalui jalur endokrin dan saraf otonom. Jalur ini disebut *Hypothalamic Pituitary Adrenal-axis* (HPA-axis). Stres melalui sistem *Hypothalamic-pituitary-adrenocorticol Axis* (HPA Axis) akan menyebabkan disekresikannya hormon

kortisol oleh kelenjar adrenal sehingga terjadi penurunan fungsi kemampuan sistem imun, yaitu dengan menurunkan sintesis sitokin Th1 termasuk interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) yang sangat penting untuk aktivasi makrofag dalam menghadapi *Listeria monocytogenes* sebagai kuman intrasel, dan meningkatkan sitokin Th2 termasuk IL-10. Sehingga dipercaya bahwa stres akan menyebabkan penurunan sitokin Th1 yang akhirnya mengacaukan respon imunitas seluler.<sup>11</sup>

Hal yang sebaliknya terjadi pada kelompok BCG, pada kelompok ini didapatkan jumlah mikroabses dan kerusakan hepatosit paling rendah. Hal ini disebabkan karena pemberian BCG dapat memacu fungsi makrofag, sel T, sel B, dan sel NK untuk memproduksi IL-12, IFN- $\gamma$  dan TNF- $\alpha$ .<sup>4</sup> Penggunaan dosis BCG yang tepat akan menginduksi respon imunitas seluler.

Pada kelompok stres yang diberi BCG didapatkan jumlah mikroabses dan kerusakan hepatosit lebih rendah dibanding kelompok yang tidak mendapat vaksinasi BCG dan ada perbedaan yang bermakna. Hal ini menunjukkan bahwa BCG dapat meningkatkan aktivitas makrofag pada mencit balb/c, stres dapat menurunkan dan BCG dapat mencegah penurunan aktivitas makrofag pada mencit balb/c yang mengalami stres. Sesuai yang diharapkan pada hipotesis penelitian, penelitian ini membuktikan bahwa jumlah mikroabses dan kerusakan hepatosit pada hepar mencit Balb/c stres yang terinfeksi *Listeria monocytogenes* dan divaksinasi BCG lebih rendah bila dibandingkan dengan yang tidak mendapatkan vaksinasi BCG.

Karena adanya keterbatasan dalam kemampuan dan waktu, maka peneliti hanya melakukan pemeriksaan pada hepar, sementara masih ada organ-organ

limfoid lain yang dapat diteliti dan bila penelitian dilakukan dengan waktu yang lebih lama dapat pula diperiksa efek subakut, akut, dan kronisnya. Selain itu, dalam menghitung jumlah kerusakan hepatosit dan mikroabses, peneliti hanya melakukan pembacaan dalam 5 lapang pandang. Jadi apabila dilakukan pembacaan dengan lapang pandang yang lebih banyak, dimungkinkan diperoleh hasil yang berbeda.

### **Kesimpulan**

1. Pemberian BCG akan menyebabkan jumlah kerusakan hepatosit mencit Balb/c stres yang terinfeksi *Listeria monocytogenes* lebih rendah bila dibandingkan dengan yang tidak mendapat vaksinasi BCG.
2. Pemberian BCG akan menyebabkan jumlah mikroabses yang terbentuk pada mencit Balb/c stres yang terinfeksi *Listeria monocytogenes* lebih rendah bila dibandingkan dengan yang tidak mendapat vaksinasi BCG.

### **Saran**

1. Perlu dilakukan analisa lebih lanjut dalam pembacaan preparat dengan menilai semua stadium kerusakan dan dengan lapang pandang yang lebih banyak.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh vaksinasi BCG pada kondisi stres terhadap jumlah kerusakan hepatosit dan mikroabses pada hepar dengan waktu penelitian yang lebih lama.

3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh vaksinasi BCG pada kondisi stres terhadap jumlah kerusakan hepatosit dan mikroabses pada organ limfoid selain hepar.

### **Ucapan Terima Kasih**

Syukur kepada Tuhan YME atas terselesaikannya artikel ini. Dalam kesempatan ini penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada :

1. dr. Kasno, Sp.PA, selaku konsultan yang telah membantu dalam pembacaan prepatat.
2. dr. Dodik Pramono, selaku reviewer proposal dan ketua penguji.
3. dr. Ratna Damma P, M.Kes. selaku dosen penguji.
4. dr. Hidayat Sulistyono, yang telah membantu dalam pembuatan prepatat.
5. Staf-staf Balai Laboratorium Kesehatan Semarang.
6. Staf Laboratorium Bioteknologi Universitas Diponegoro.
7. Staf Bagian Biokimia Universitas Diponegoro.
8. Staf Laboratorium Patologi Anatomi Rumah Sakit Dr. Kariadi.
9. Keluarga dan sahabat yang selama ini tak henti-hentinya memberikan doa dan semangat.
10. Teman-teman satu tim penelitian yang selama ini telah sangat membantu dalam terselesaikannya artikel ini.

## Daftar Pustaka

1. Anonymous. Ensiklopedia Nasional Indonesia. Jilid 15. Jakarta : PT Cipta Adi Pustaka; 1991. p.260-1.
2. Slover CK, Bansal GP, Langerman S, Hanson MS. Protective immunity elicited by BCG vaccines. *Dev Biol Stand* 1994;82:163-70.
3. Emoto M, Emoto Y, Buchwalow IB, Kauffmann SH. Induction of IFN-gamma-producing CD4+ natural killer T cells by *Mycobacterium bovis* Bacillus Calmette Guerin. *Eur J Immunol* 1999 Feb;29(2):650-9.
4. Dwi Pudjonarko, Soesilo Wibowo, Edi Dharmana, Hermina Sukmaningtyas, Neni Susilaningsih. Pengaruh pemberian BCG terhadap kemampuan makrofag sebagai APC pada mencit tua yang mendapat diet minyak ikan. *Media Medika Indonesiana* 2001;36(4):209-16.
5. Endang S. Pengaruh Ekstrak *Alium Sativum* Terhadap Aktivitas Makrofag Mencit Balb/c yang Diinfeksi *Listeria Monocytogenes*; Usulan Penelitian Tesis S2 Program Pascasarjana UNDIP. Semarang; 2003.
6. Abbas AK, Lichtman AH. *Cellular and Molecular Immunology*. 5th ed. Philadelphia: Saunders; 2003. p. 275-97.
7. Husada Yast. *Fisiologi dan Pemeriksaan Biokimia Hati*. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia; 1996. p. 228.
8. Baratawidjaja KG. *Imunologi Dasar*. Edisi 5. Jakarta: Balai Penerbitan FKUI; 2002. 59-62, 190-192, 200-2, 209-10.
9. Pratiknya AW. *Dasar-dasar Metodologi Penelitian Kedokteran dan Kesehatan*. Cetakan I. Jakarta: CV Rajawali; 1986. p. 147-65.
10. Santoso S. *SPSS (Statistical Product and Service Solution)*. Jakarta: PT. Elex Media Komputindo; 1999. p. 300-80.
11. Garrel C. Detection and Production of Nitric Oxide. In: Favier, editor. *Analysis of Free Radicals in Biological System*. Switzerland: Birkhäuser Verlag Basel; 1995. p. 279.