



**PENGARUH PEMBERIAN VAKSINASI BCG TERHADAP
GAMBARAN HISTOPATOLOGI HEPAR
MENCIT BALB/C YANG DIINFEKSI LISTERIA
MONOCYTOGENES**

ARTIKEL KARYA ILMIAH

Diajukan untuk memenuhi tugas dan melengkapi syarat dalam menempuh

Program Pendidikan Sarjana Fakultas Kedokteran

Disusun oleh

Lanny Octavianti

G2A 002 097

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG**

2007

LEMBAR PENGESAHAN

ARTIKEL ILMIAH

**PENGARUH PEMBERIAN VAKSIN BCG TERHADAP
GAMBARAN HISTOPATOLOGI HEPARMENCIT BALB/C
YANG DIINFEKSI *Listeria Monocytogenes***

Yang dipersiapkan dan disusun oleh:

Lanny Octavianti
G2A002097

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 VACCINATION TO THE COUNT OF
BACTERIA IN BALB/C MICE LIVER INFECTED WITH *Listeria
Monocytogenes***

Lanny Octavianti¹, Dwi Pudjonarko²

ABSTRACT

Background : *Listeria monocytogenes* can cause impairment of immune system especially cellular immunity. Besides that, the used of BCG can increase cellular immunity response.

Objective : The aim of this study was to know the effects of BCG vaccination on Balb/c mice infected with *Listeria monocytogenes* in the count of microabses increase and hepatosit damage.

Method and Subject : This study was laboratory experimental and *The Post Test Only Control Groups Design*. Twelfth female of Balb/c divided 2 groups and received standard diet daily. The first group (control group/K) received no other additional treatment. The second group (BCG group/BCG) received intra peritoneal injection of 0,1 cc BCG at day 1st and day 11th. At day 21th, two groups were injected 0,1 cc intravenously with 10⁵ live *Listeria monocytogenes* (LD₅₀ = 2x10⁵ bacteria) and at day 26th, all mice were killed. The difference of data were analyzed by *Independent T test*.

Result : The microabses count and hepatosit damage of K group higher and more significant than BCG group (p<0,05).

Conclusion : BCG Vaccination can restore immune response indicated by decrease of microabses count and hepatosit damage of Balb/c mice.

Keywords : BCG, microabses, hepatosit, *L. monocytogenes*.

¹) Undergraduate student, Medical Faculty, Diponegoro University, Semarang

²) Lecturer, Medical Physic Department, Diponegoro University, Semarang

**PENGARUH PEMBERIAN VAKSINASI BCG TERHADAP JUMLAH
KUMAN HEPAR MENCIT BALB/C YANG TERINFEKSI *Listeria*
*Monocytogenes***

Lanny Octavianti¹⁾, Dwi Pudjonarko²⁾

ABSTRAK

Latar Belakang: *Listeria monocytogenes* dapat menyebabkan gangguan fungsi sistem imun tubuh terutama respon imunitas seluler. Disamping itu, penggunaan BCG dapat meningkatkan respon imunitas seluler tersebut.

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

Metode dan Bahan: Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan pendekatan *The Post Test Only Control Group Design*. Duabelas ekor mencit betina BALB/c dibagi menjadi 2 kelompok dan masing-masing mendapat pakan standar setiap hari. Kelompok pertama (Kelompok Kontrol / K) tidak menerima perlakuan apa pun. Kelompok kedua (Kelompok BCG / BCG) menerima injeksi 0.1cc BCG secara intraperitoneal pada hari ke-1 dan ke-11. Pada hari ke-21 semua kelompok diinjeksi 0.1cc secara intravena dengan 10^5 *Listeria monocytogenes* hidup ($LD_{50} = 2 \times 10^5$ bakteri) dan pada hari ke-26 semua mencit dibunuh untuk pemeriksaan. Analisa perbedaan diuji dengan *Independent T tes*.

Hasil: Pada kelompok kontrol didapatkan jumlah mikroabses dan kerusakan sel hepatosit lebih tinggi dan bermakna bila dibandingkan dengan kelompok BCG ($p < 0,05$).

Kesimpulan: Pemberian vaksinasi BCG dapat memperbaiki respon imun. Hal ini diamati dari penurunan jumlah mikroabses dan kerusakan sel hepatosit.

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

¹⁾ Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang

²⁾ Staf Pengajar Bagian Fisika Medik Universitas Diponegoro Semarang

PENDAHULUAN

Infeksi dalam tubuh manusia dapat disebabkan oleh bakteri, virus, maupun jamur. *Listeria Monocytogenes* merupakan bakteri intrasel fakultatif, gram positif, yang dapat menyebabkan listeriosis.¹ Infeksi bakteri ini pada manusia dapat terjadi melalui ingesti makanan yang telah terkontaminasi. Bakteri ini kemudian masuk traktus gastrointestinal dan menembus barier intestinal, dibawa oleh aliran limfe atau darah ke hepar. Didalam hepar terutama pada sel hepatosit kuman secara aktif bermultiplikasi sampai infeksi dikontrol oleh respon imun seluler.¹

Pada individu yang *imunocompromise*, respon imun dapat tidak adekuat untuk mengatasi infeksi sehingga proliferasi dari *Listeria Monocytogenes* tidak dapat dibatasi didalam parenkim hepar sehingga dapat melepaskan bakteri ke dalam sirkulasi. Hal ini dapat berdampak buruk bagi tubuh manusia.¹ Listeriosis merupakan penyakit yang berat dengan “ *Case Fatality Rate* “ (CFR) tertinggi dari seluruh penyakit yang tersebar lewat makanan.¹⁻³

Pada stadium awal listeriosis, neutrofil dan makrofag bermigrasi ke lien dan hepar serta membentuk mikroabses dengan ciri-ciri tersendiri. Neutrofil berperan penting dalam mengontrol fase akut dan dalam memediasi destruksi hepatosit terinfeksi *in vivo*. Hepatosit bereaksi dengan infeksi listeria dengan melepaskan kemoatraktan neutrofil dan memperlihatkan peningkatan dalam adhesi terhadap neutrofil, menyebabkan pembentukan mikroabses.

BCG (*Bacillus Calmette-Guerin*) dikenal sebagai vaksin tuberkulosis dan merupakan suatu strain mutan dari *Mycobacterium bovis* yang diisolasi oleh Calmette dan Guerin dengan mengkultur kembali pada medium *glycerol potato*

bile. Subkultur dari isolasi yang asli ini digunakan untuk vaksinasi dan terapi kanker. Vaksin BCG termasuk jenis vaksin hidup yang dilemahkan.⁴⁻⁶ Sebagai bakteri intrasel yang dilemahkan, BCG dapat digunakan untuk memacu respon imunitas seluler dan bukan humoral di dalam makrofag.⁷

Vaksin BCG diketahui 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. Hal ini didasarkan pada sistem fagositosis dari makrofag. Selain itu, BCG juga akan memacu fungsi makrofag, Sel T, Sel B, dan Sel NK untuk meningkatkan produksi IL-1.⁸

Berdasarkan fakta-fakta di atas, mendorong penulis untuk meneliti pengaruh vaksinasi BCG terhadap gambaran histopatologi hepar mencit betina strain Balb/c yang diinfeksi *Listeria monocytogenes*.

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberi manfaat praktis antara lain sebagai bahan informasi akan peranan vaksinasi BCG untuk meningkatkan respon imunitas seluler akibat infeksi *Listeria monocytogenes*. Karena penelitian ini dilakukan pada hewan percobaan, maka diharapkan dapat menjadi masukan untuk penelitian lebih lanjut pada manusia.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik, dengan pendekatan *The Post Test – Only Control Group Design* yang menggunakan binatang percobaan sebagai objek penelitian.⁹ Percobaan dilakukan dengan

rancangan acak lengkap (*Completely Randomized Design*), randomisasi sederhana dilakukan menggunakan komputer. Perlakuannya adalah dengan memberikan vaksinasi BCG, sedangkan keluaran (outcome) adalah perubahan gambaran histopatologi hepar (mikroabses dan hepatosit pada hepar).

Awalnya 12 ekor mencit betina strain BALB/c, umur 6-8 minggu, diaklimatisasi di laboratorium dan diberi pakan standar selama satu minggu secara ad libitum. Selanjutnya 12 ekor tersebut kemudian dibagi menjadi 2 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 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. Kemudian hari ke-5 setelah infeksi mencit dibunuh untuk dilakukan pemeriksaan histopatologi hepar.

Pada hari ke-26 mencit dibunuh dengan diletakan dalam posisi terlentang, kulit bagian perut dibuka dan dibersihkan selubung peritoneumnya dengan alkohol 70%. Selanjutnya hepar diambil dan kemudian dilakukan pemeriksaan histopatologi hepar dengan processing jaringan dan pengecatan HE. Preparat diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 400x untuk membaca sel hepatosit yang rusak dan 100x untuk mengamati mikroabses hepar. Sasaran yang dibaca adalah mikroabses pada 10 lapang pandang dan jumlah sel hepatosit yang rusak pada 5 lapang pandang 20 sel dengan 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 yang dikumpulkan berupa data primer yang didapatkan dengan cara menghitung jumlah sel hepatosit dan mikroabses yang terbentuk pada hepar mencit. Data hasil penelitian diolah dan disajikan dalam bentuk tabel dan grafik. Untuk mengetahui normalitas data dilakukan uji normalitas menggunakan *Saphiro-Wilk test*. Data berdistribusi normal maka dilakukan uji *Independent T test* untuk melihat adanya perbedaan pada kedua kelompok perlakuan.

Semua analisis statistik tersebut dilakukan dengan menggunakan program komputer *SPSS 13 for windows*.¹⁰ Nilai signifikansi pada penelitian ini adalah apabila variabel yang dianalisis memiliki nilai $p < 0,05$.

HASIL PENELITIAN

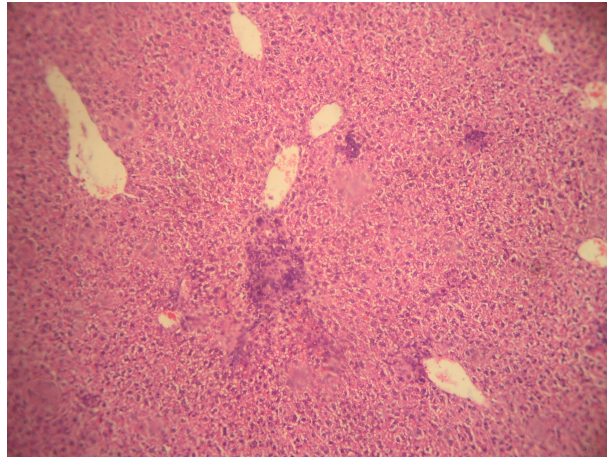
Secara statistik didapatkan data mikroabses pada hepar:

Kelompok	Rerata	Minimum	Maksimum	SD	p
K(<i>listeria monocytogenes</i> -, BCG +)	3,00	2	4	0,894	0,167
P2(<i>listeria monocytogenes</i> +, BCG +)	1,00	0	2	0,894	0,167

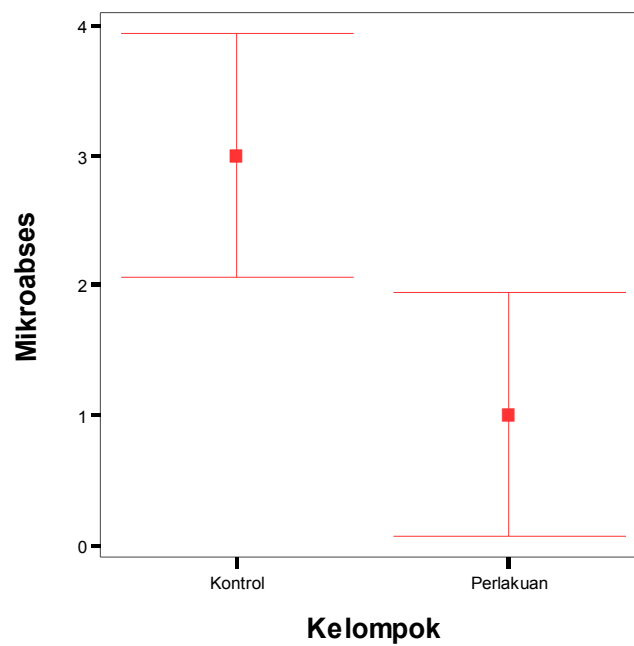
Tabel 1. Uji normalitas *shapiro-wilk*

Uji normalitas *shapiro-wilk* (Tabel 1) menunjukkan bahwa data terdistribusi normal($p>0,05$), maka untuk melihat adanya perbedaan pada

kelompok penelitian dilakukan uji *Independent T test*. Uji *independent T Test* menunjukkan bahwa ada perbedaan bermakna antara kelompok K dan P ($p=0,003$).



Gambar 1. Mikroabses



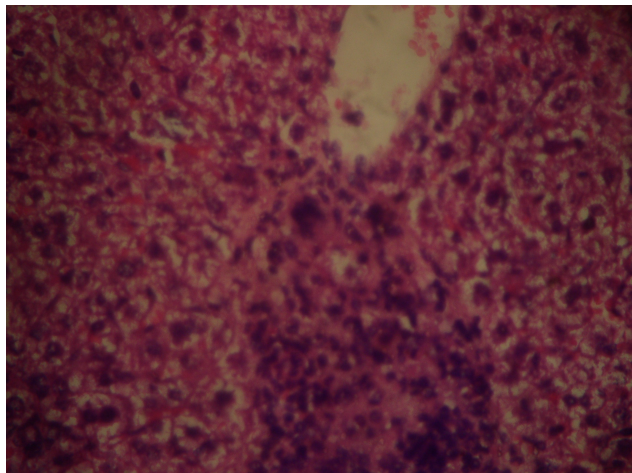
Gambar 2. Error bar mikroabses

Hasil statistik kerusakan sel hepatosit :

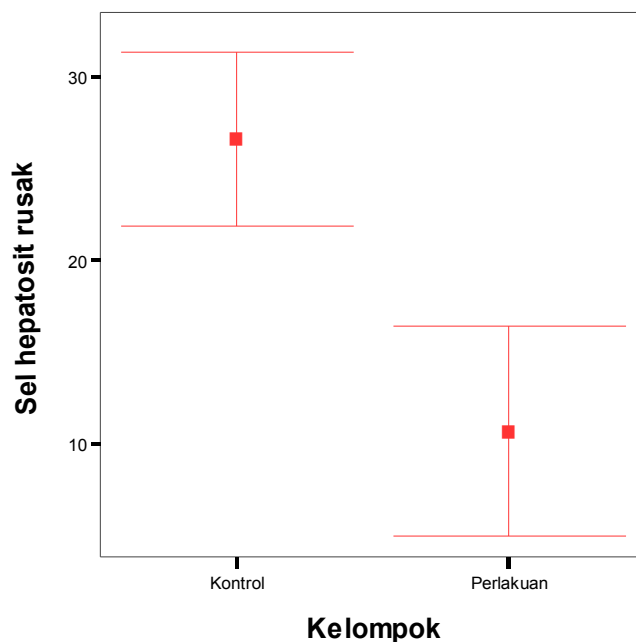
Kelompok	Rerata	minimum	maximum	SD	p
K(<i>listeria monocytogenes</i> -, BCG +)	26,67	22	34	4,502	0,404
P2(<i>listeria monocytogenes</i> +, BCG +)	10,67	4	18	5,465	0,570

Tabel 2. Uji normalitas *shapiro-wilk*

Uji normalitas *shapiro-wilk* (Tabel 2) menunjukkan bahwa data terdistribusi normal($p > 0,05$), maka untuk melihat adanya perbedaan pada kelompok penelitian dilakukan uji *Independen T test*. Dari uji ini didapatkan adanya perbedaan yang bermakna antara kelompok K dan P dengan nilai $p = 0,000$.



Gambar 3. Hepatosit dengan inti piknotik



Gambar 4. Error bar hepatosit yang rusak

PEMBAHASAN

Penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian vaksin BCG dapat mempengaruhi gambaran histopatologi hepar mencit Balb/c yang diinfeksi *Listeria Monocytogenes*. Hal ini terlihat dengan berkurangnya mikroabses secara signifikan antara kelompok K (tidak mendapat vaksin BCG) dengan kelompok P (mendapat vaksin BCG). Jumlah hepatosit yang mengalami kerusakan pada kelompok K (tidak mendapat vaksin BCG) juga lebih banyak dibandingkan dengan kelompok P (mendapat vaksin BCG).

Penurunan jumlah mikroabses ini disebabkan karena pemberian BCG dapat memacu fungsi makrofag, sel T, sel B, dan sel NK untuk memproduksi IL-12, IFN- γ dan TNF- α .⁸ Penggunaan dosis BCG yang tepat akan menginduksi

respon imunitas seluler. Sesuai yang diharapkan pada hipotesis penelitian, penelitian ini membuktikan bahwa BCG dapat meningkatkan aktivitas makrofag pada mencit balb/c, dan BCG dapat mencegah penurunan aktivitas makrofag pada mencit balb/c yang terinfeksi *Listeria monocytogenes* .

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 dengan menghitung jumlah kerusakan hepatosit dan mikroabses, peneliti melakukan pembacaan dalam 5 lapangan jadi apabila dilakukan percobaan dengan lapangan pandang yang lebih banyak, dimungkinkan diperoleh hasil yang berbeda.

KESIMPULAN

1. Pemberian BCG akan menyebabkan jumlah kerusakan hepatosit mencit Balb/C yang terinfeksi *Listeria Monocytogenes* lebih rendah bila dibandingkan dengan yang tidak mendapat vaksin BCG
2. Pemberian vaksinasi BCG dapat menurunkan insidensi mikroabses hepar dan jumlah hepatosit pada mencit balb/c yang mengalami kerusakan akibat diinfeksi *Listeria monocytogenes*.

SARAN

1. Perlu dilakukan analisa lebih lanjut dalam pembacaan preparat dengan menilai semua stadium kerusakan dengan lapangan pandang lebih banyak.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh vaksin BCG terhadap jumlah kerusakan hepatosit dan mikroabses pada hepar dengan waktu penelitian lebih lama.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh vaksin BCG terhadap jumlah kerusakan hepatosit dan mikroabses pada organ limfoid selain hepar

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa atas segala petunjuk dan kelancaran dalam menyelesaikan karya tulis ilmiah ini. Ucapan terima kasih saya sampaikan kepada dr. Dodik Pramono selaku *reviewer* proposal, dr.Kasno, Sp.PA atas bimbingan dalam membaca preparat dr. Hidayat Sulisty, yang telah membantu dalam pembuatan preparat. Terima kasih kepada keluarga tercinta dan sahabat serta teman-teman yang dengan tulus mendoakan dan menumbuhkan semangat saya, Staf-staf Balai Laboratorium Kesehatan Semarang, Staf Laboratorium Bioteknologi Universitas Diponegoro, Staf Bagian Biokimia Universitas Diponegoro,serta kepada semua pihak yang telah membantu terlaksananya penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Endang S. Pengaruh Ekstrak *Alium Sativum* Terhadap Aktivitas Makrofag Mencit Balb/c yang Diinfeksi *Listeria Monocytogenes*; Usulan Penelitian Tesis S2, Program Pascasarjana UNDIP; 2003
2. Anonymous, Ensiklopedia Nasional Indonesia. Jilid 15. Jakarta : PT Cipta Adi Pustaka. 1991; 260-261
3. Chamberlain NR, *Listeria* Laden Luncheon Meat. University of Texas - Houston: DPALM Medic. www.suite.101.com/article.cfm/microbiology/1204.1995.
4. Lowry PW, Ludwig TS, Adams JA, Fitzpatrick ML, Grant SM, Andrieu GA, Offerdahl MR, Cho SN, Jacobs DR Jr. Cellular Immune responses to four doses of percutaneous bacille Calmette-Guerin in healthy adults. *J Infect Dis* 1998 Jul; 178(1): 138-46.
5. Djamiatun K, Dharmana E, Kristina T, Indar R. Pengaruh Vitamin A dan BCG pada Produksi TNF- α dan aktivitas fagositik Makrofag Terhadap *Staphylococcus Aureus*. Laporan Akhir Tahun I Risbin Iptekdok, 1998.
6. Demangel C, Bean AG, Martin E, Feng CG, Kamath AT, Britton WJ. Protection against aerosol *Mycobacterium tuberculosis* using *Mycobacterium bovis* Bacillus Calmette Guerin-infected dendritic cells. *Eur J Immunol* 1999 Jun; 29(6): 1972-9.
7. Slover CK, Bansal GP, Langerman S, Hanson MS. Protective immunity elicited by BCG vaccines. *Dev Biol Stand* 1994; 82: 163-70

8. 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.
9. Pratiknya AW. Dasar-dasar Metodologi Penelitian kedokteran dan kesehatan. Cetakan I. Jakarta: CV Rajawali; 1986: 147-65.
10. Santoso S. SPSS (Statistical Product and Service Solution). Jakarta: PT. Elex Media Komputindo; 1999: 300-80.

LAMPIRAN

Explore

Kelompok

Case Processing Summary

	Kelompok	Cases					
		Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
Sel hepatosit rusak	Kontrol	6	100.0%	0	.0%	6	100.0%
	Perlakuan	6	100.0%	0	.0%	6	100.0%

Descriptives

Kelompok		Statistic	Std. Error		
Sel hepatosit rusak	Kontrol	Mean	26.67	1.838	
		95% Confidence Interval for Mean	21.94		
		Lower Bound	31.39		
		Upper Bound			
		5% Trimmed Mean	26.52		
		Median	27.00		
		Variance	20.267		
		Std. Deviation	4.502		
		Minimum	22		
		Maximum	34		
		Range	12		
		Interquartile Range	8		
		Skewness	.643		.845
		Kurtosis	.306		1.741
		Perlakuan	Perlakuan		Mean
95% Confidence Interval for Mean	4.93				
Lower Bound	16.40				
Upper Bound					
5% Trimmed Mean	10.63				
Median	11.00				
Variance	29.867				
Std. Deviation	5.465				
Minimum	4				
Maximum	18				
Range	14				
Interquartile Range	10				
Skewness	.095			.845	
Kurtosis	-1.825			1.741	

Tests of Normality

Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk			
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.	
Sel hepatosit rusak	Kontrol	.217	6	.200*	.905	6	.404
	Perlakuan	.229	6	.200*	.929	6	.570

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

T-Test

Group Statistics

Kelompok	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	
Sel hepatosit rusak	Kontrol	6	26.67	4.502	1.838
	Perlakuan	6	10.67	5.465	2.231

Independent Samples Test

		Sel hepatosit rusak	
		Equal variances assumed	Equal variances not assumed
Levene's Test for Equality of Variances	F	1.000	
	Sig.	.341	
t-test for Equality of Means	t	5.535	5.535
	df	10	9.646
	Sig. (2-tailed)	.000	.000
	Mean Difference	16.000	16.000
	Std. Error Difference	2.891	2.891
	95% Confidence Interval of the Difference	Lower	9.559
		Upper	22.441
			9.527
			22.473

Explore

Kelompok

Case Processing Summary

Kelompok	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Mikroabses Kontrol	6	100.0%	0	.0%	6	100.0%
Perlakuan	6	100.0%	0	.0%	6	100.0%

Descriptives

Kelompok	Statistic	Std. Error	
Mikroabses	Mean	3.00	
	95% Confidence Interval for Mean	2.06	
	Lower Bound	3.94	
	Upper Bound	3.00	
	5% Trimmed Mean	3.00	
	Median	3.00	
	Variance	.800	
	Std. Deviation	.894	
	Minimum	2	
	Maximum	4	
	Range	2	
	Interquartile Range	2	
	Skewness	.000	.845
	Kurtosis	-1.875	1.741
	Perlakuan	Mean	1.00
95% Confidence Interval for Mean		.06	
Lower Bound		1.94	
Upper Bound		1.00	
5% Trimmed Mean		1.00	
Median		1.00	
Variance		.800	
Std. Deviation		.894	
Minimum		0	
Maximum		2	
Range		2	
Interquartile Range		2	
Skewness		.000	.845
Kurtosis		-1.875	1.741

Tests of Normality

Kelompok	Kolmogorov-Smimov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Mikroabses Kontrol	.202	6	.200*	.853	6	.167
Perlakuan	.202	6	.200*	.853	6	.167

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

T-Test

Group Statistics

Kelompok	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Mikroabses Kontrol	6	3.00	.894	.365
Perlakuan	6	1.00	.894	.365

Independent Samples Test

		Mikroabses	
		Equal variances assumed	Equal variances not assumed
Levene's Test for Equality of Variances	F	.000	
	Sig.	1.000	
t-test for Equality of Means	t	3.873	3.873
	df	10	10.000
	Sig. (2-tailed)	.003	.003
	Mean Difference	2.000	2.000
	Std. Error Difference	.516	.516
	95% Confidence Interval of the Difference	Lower Upper	.849 3.151
			.849 3.151