ISSN : 1411 - 8327

Respon Sel Polimorfonuklear (PMN) Dan Makrofag Peritoneal Mencit Terhadap *Streptococcus Equi Subsp. Zooepidemicus*

(THE RESPONSE OF MICE POLYMORPHONUCLEAR (PMN) AND PERITONEAL MACROPHAGE CELLS TO *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*)

IWAN HARJONO UTAMA[1], AISJAH GIRINDRA[2], FACHRIYAN HASMI PASARIBU[3], I WAYAN TEGUH WIBAWAN[3], ENDHIE D. SETIAWAN[4] DAN AIDA LOUISE TENDEN ROMPIS[1]

[1]Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana, Bali; E-mail : iwanhu@eudoramail.com, [2]Jurusan Biokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Alam Institut Pertanian Bogor. [3]Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor dan [4]Balai Penelitian Veteriner, Bogor

ABSTRAK

Penelitan tentang respon sel polimorfonuklear (PMN) dan makrofag peritoneal mencit terhadap *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* dilakukan untuk melihat keganasannya. Sebanyak masing-masing 5 x 10^7 sel bakteri berkapsul dan tidak berkapsul diinokulasikan dengan rute intra peritoneal pada mencit, kemudian diamati aktivitas dan kapasitas fagositosis sel PMN dan makrofag peritonealnya selama satu dan dua jam pasca inokulasi. Hasil penelitian menunjukkan terdapat peningkatan aktivitas fagositosis baik pada bakteri berkapsul maupun tidak berkapsul selama 2 jam pasca inokulasi ($P<0,05$) tetapi penurunan kapasitas fagositosis hanya terjadi pada bakteri tidak berkapsul ($P<0,05$).

Kata kunci: Makrofag peritoneal, fagositosis, *Streptococcus equi subsp. zooepidemicus*

J Vet 2006 7 (1) : 16 - 20

ABSTRACT

A study on the response of mice peritoneal macrophages and polymorphonucleas (PMN) cells against *Streptococcus equi subsp. zooepidemicus* infection was conducted to determine the virulence of the bacteria. Encapsulated and uncapsulated bacterial cells were inoculated intraperitoneally at the dose of 10 x 10^7 cells per mouse. The phagocytic activities and capacities of PMN and macrophage cells were assayed one and two hours after inoculation. The result showed an increase in the phagocytic activities of capsulated and uncapsulated bacteria. Their phagocytic capacity declined significantly within 2 hours post inoculation.

Key Words : Peritoneal macrophages, phagocytosis, *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*

J Vet 2006 7 (1) : 16 - 20

PENDAHULUAN

Mekanisme patogenitas bakteri dan respon pertahanan inang yang diinfeksinya merupakan fenomena menarik yang banyak dikaji. Pada akhir abad 20 ini kajian tersebut telah mencapai ke tahap molekuler yaitu mengamati gen apa yang berperan dalam mekanisme patogenitas mikroba dan gen yang berperan dalam respon inang yang diinfeksinya (Deretic, *et all.*, 1995).

Streptococcus equi subsp. *zooepidemicus* ialah coccus Gram positif dan secara serologis termasuk grup C menurut Lancefield (Barnham, *et all.*, 1983; Farrow dan Collins, 1984), selama ini dikenal patogen pada kuda (Causey, *et all.*, 1995). Di Indonesia belum pernah dilaporkan terjadinya infeksi *S. equi* subsp. *zooepidemicus* pada hewan lain, baru pada tahun 1994 pertama kali terjadi infeksi bakteri ini yang menyerang babi dan kera di Bali (Dharma, 1994; Dibia *et all.*, 1995; Utama *et all.*, 1999). Penelitian ini bertujuan mengamati seberapa besar respon fagositosis sel polimorfonuklear (PMN) dan makrofag peritoneal mencit terhadap *S. equi* subsp. *zooepidemicus*. Dari data ini diharapkan dapat diketahui respon makrofag tersebut sehubungan dengan virulensi bakteri terhadap hewan percobaan.

BAHAN DAN METODA

Penelitian ini menggunakan isolat *S. equi* subsp. *zooepidemicus* yang berasal dari kasus klinik dan subklinik di lapangan. Semua isolat telah dikarakterisasi baik secara biokimia maupun serologis, bahkan keberadaan kapsulnya pun telah dikarakterisasi (Utama, *et all.*, 1999).

Pengujian aktivitas fagositosis dilakukan dengan menginokulasikan suspensi bakteri hidup baik berkapsul maupun tidak berkapsul yang mengandung 10^9 sel per ml pada mencit Balb-C rute intraperitoneal dengan dosis 0,05 ml (mengandung 5×10^7 sel). (Vecht, *et all.*, 1992). Percobaan dilakukan pada 20 ekor mencit, dimana sepuluh ekor untuk pengamatan 1 jam pasca inokulasi dan sisanya untuk pengamatan 2 jam pasca inokulasi. Sebanyak 5 ekor mencit diinokulasikan dengan bakteri berkapsul dan 5 ekor lainnya diinokulasi dengan bakteri tidak berkapsul. Setelah satu jam dan dua jam pasca inokulasi, mencit dibunuh dengan menggunakan kloroform, ruang peritonealnya dibuka dan dibuat sediaan sentuh (masing-masing 2 sediaan) yang kemudian diwarnai dengan Giemsa. Dihitung nilai rata-rata (dari dua pengamatan) aktivitas dan kapasitas fagositosis PMN dan sel makrofag peritoneal mencit.

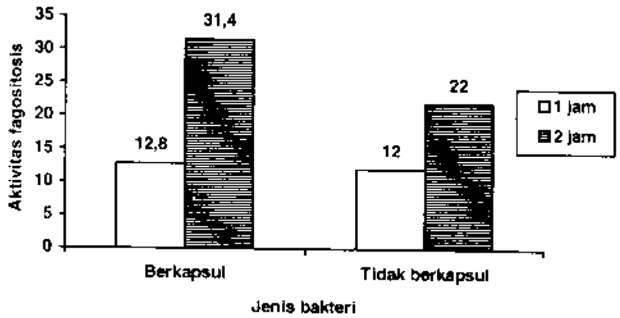
Aktivitas fagositosis didefinisikan sebagai : Jumlah leukosit yang menelan bakteri per 100 sel. Sedangkan **kapasitas fagositosis** didefinisikan sebagai jumlah bakteri yang ditelan oleh 50 sel PMN atau makrofag yang memperlihatkan adanya bakteri di sitoplasmanya (Wibawan dan Laemmler, 1994). Analisis data dilakukan dengan analisis varians dan jika terlihat perbedaan nyata dilanjutkan dengan uji menggunakan kontras orthogonal menurut Steel dan Torrie (1989).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Data mengenai aktivitas dan kapasitas fagositosis PMN dan sel makrofag peritoneal mencit *in vivo* tertera pada Tabel 1, dari Tabel ini dapat dilihat bahwa nilai aktivitas *in vivo* isolat berkapsul dan tidak berkapsul mengalami peningkatan selama dua jam ($P<0,05$). Kapasitas fagositosis isolat berkapsul tidak meningkat secara nyata ($P>0,05$), tapi pada isolat tidak berkapsul, kapasitas ini menurun nyata ($P<0,05$).

Gambar 1 memperlihatkan setelah dua jam inkubasi aktivitas fagositosis isolat berkapsul lebih tinggi jika dibandingkan dengan isolat tidak berkapsul ($P<0,05$). Lebih tingginya aktivitas fagositosis isolat berkapsul disebabkan ketahanan bakteri berkapsul dari eliminasi oleh PMN dan sel makrofag (Chanter *et all.*, 1993). Gambar 2 menjelaskan perbedaan kapasitas fagositosis terhadap isolat berkapsul dan tidak berkapsul.

Tampak setelah satu jam inkubasi kapasitas fagositosis isolat tidak berkapsul lebih besar jika dibanding dengan isolat berkapsul ($P<0,05$). Hal ini menunjukkan bakteri tidak berkapsul lebih mudah difagositosis jika dibandingkan dengan bakteri tidak berkapsul. Setelah dua jam inkubasi, tampak kapasitas fagositosis isolat berkapsul lebih besar jika dibanding dengan isolat tidak berkapsul. Fenomena ini sebenarnya menerangkan bakteri berkapsul lebih lambat dieliminasi oleh PMN dan sel makrofag sehingga jumlahnya tetap banyak dalam PMN dan sel makrofag.



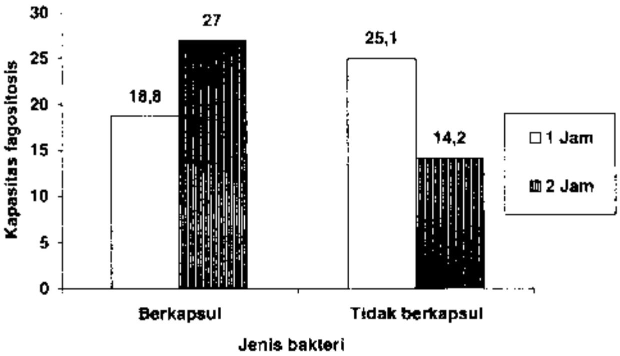
Gambar 1. Grafik Aktivitas Fagositosis Bakteri Berkapsul dan Tidak berkapsul oleh PMN dan Sel Makrofag Peritoneal Mencit *In vivo*

Dari hasil percobaan fagositosis *in vitro* dan *in vivo*, tampak kapsul berperan untuk ketahanan bakteri terhadap fagositosis oleh makrofag atau lekosit PMN mencit. Utama *et all.* (1999) menunjukkan fenomena di atas berdasarkan uji patogenitas *S. equi* subsp. *zooepidemicus* pada mencit. Pendapat lain mengatakan peranan fase variasi dalam menimbulkan kejadian tersebut. Fenomena ini telah diamati pada berbagai bakteri

Tabel 1. Aktivitas dan Kapasitas Fagositosis Bakteri Berkapsul dan Tidak Berkapsul oleh PMN dan Sel Makrofag Peritoneal Mencit *In vivo*

Waktu Inkubasi	Bakteri berkapsul		Bakteri tidak berkapsul	
	1 jam	2 jam	1 jam	2 jam
Aktivitas Fagositosis	12,8 ± 2,2 [a]	31,4 ± 4,0 [b]	12,0 ± 1,1 [a]	22,0 ± 3,9 [b]
Kapasitas fagositosis	18,8 ± 2,8 [a]	27,0 ± 4,4 [a]	25,1 ± 2,7 [a]	14,2 ± 2,1 [b]

Keterangan : Nilai rata-rata dari 5 ulangan (rata-rata ± galat baku)
Huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata ($P>0,05$) ke arah baris.



Gambar 2. Grafik Kapasitas Fagositosis Bakteri Berkapsul dan Tidak Berkapsul oleh PMN dan Sel Makrofag Peritoneal Mencit *In vivo.*

seperti *Haemophylus influenzae* (Roche dan Moxon, 1995); meningokokus (Diaz-Romero dan Outschoorn, 1994) dan *Pseudomonas aeruginosa* (Deretic *et all*., 1995). Bakteri bakteri tersebut dapat menjadi virulen akibat fase variasi yang dihasilkannya.

Tampak kapsul berperan untuk daya tahan bakteri dalam PMN dan sel makrofag, sehingga setelah 2 jam sel bakteri yang tertelan oleh PMN dan sel makrofag belum tereliminasi. Pernyataan ini didukung oleh pendapat Chanter *et all*., (1993) yang mengatakan peran kapsul mempertahankan daya hidup bakteri patogen dalam makrofag. Mereka juga menyatakan bakteri yang bertahan hidup dalam makrofag berpotensi menyebar secara hematogen dan dapat memasuki rongga tubuh yang secara normal sulit dimasuki benda asing seperti cavum meningen dan subarachnoid otak. Oleh sebab itu meningitis merupakan gejala dominan pada kasus streptokokosis.

SIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan terdapat peningkatan aktivitas fagositosis baik pada bakteri berkapsul maupun tidak berkapsul selama 2 jam pasca inokulasi (P<0,05) tetapi penurunan kapasitas fagositosis hanya terjadi pada bakteri tidak berkapsul (P<0,05).

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih ditujukan pada Pimpinan Tim Managemen Program Doktor dan Pimpinan Proyek Hibah Bersaing VI atas dana yang diberikan untuk penelitian ini. Ucapan terima kasih juga ditujukan pada Kepala dan Staf Laboratorium Bakteriologi serta Kepala dan Staf Laboratorium Patologi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor atas peralatan yang disediakan untuk penelitian ini. Juga ucapan terima kasih ditujukan pada Balai Penyidikan Penyakit Hewan Wilayah VI Bali atas bantuannya mendapatkan isolat bakteri.

DAFTAR PUSTAKA

Barnham, M. T., J. Thornton and K. Lange. 1983. Nephritis caused by *Streptococcus zooepidemicus* (Lancefield group C). Lancet 1 (8331) : 945 – 948.

Causey, R. C., D. L. Paccamonti and W. J. Todd. 1995. Antiphagocytic properties of uterine isolates of *Streptococcus zooepidemicus* and mechanisms of killing in freshly obtained blood of horses. Am. J. Vet. Res. 56 : 325 - 328.

Chanter, N., P. W. Jones and T. J. L. Alexander. 1993. Meningitis in pigs caused by *Streptococcus suis* : A speculative review. Vet. Microbiol. 36 : 39 - 55.

Deretic, V., M. J. Schurr and H. Yu. 1995. *Pseudomonas aeruginosa*, mucoidy and the chronic infection phenotype in cystic fibrosis. Trends Microbiol. 3 : 351-356.

Dharma, D. M. N. 1994. Wabah streptococcosis pada babi dan kera di Bali. Informasi Laboratorium Veteriner Balai Penyidikan Penyakit Hewan Wilayah VI Bali 1/2: 1-2.

Diaz-Romero, J. andI. M. Outschoorn. 1994. Current status of meningococcal vaccine candidates : Capsular or noncapsular ?. Clin. Microbiol. Rev. 7 : 559-575.

Dibia, N., S. Amintorogo, A. A. G. Putra, L. Dartini dan K. E. Supartika. 1995. Epidemiologi dan gejala klinis streptokokosis pada babi di Propinsi Bali. Bul. Vet. Balai Penyidikan Penyakit Hewan VI. VIII / 43 : 1 – 17.

Farrow, J. A. E. and M. D. Collins. 1984. Taxonomic studies on streptococci of serological group C, G and I and possibly related taxa. Syst. Appl. Microbiol. 5 : 483-493.

Roche, R. J. and E. R. Moxon. 1995. Phenotypic variation of carbohydrate surface antigens and the pathogenesis of *Haemophylus influenza* infections. Trends Microbiol. 3 : 304-309.

Steel, R. G. D. dan J. H. Torrie. 1989. Prinsip dan Prosedur Statistika, Suatu Pendekatan Biometrik. Terjemahan : B. Sumantri. Penerbit Gramedia, Jakarta.

Utama, I. H., F. H. Pasaribu, I W. T. Wibawan dan A. L. T. Rompis. 1999. Studi Respon Imunologis terhadap *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* : Kajian Sifat Biologi dan Usaha Peningkatan Imunogenisitasnya. Laporan Hasil Penelitian Hibah Bersaing VI / 2. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana.

Vecht, U., H. J. Wesselink, J. E. Dijk and H. E. Smith. 1992. Virulence of *Streptococcus suis* type 2 strains in newborn germ free pigs depends on phenotype. Infect. Immun. 60 : 550-556.

Wibawan, I W. T. dan Ch. Laemmler. 1994. Relation between encapsulation and various properties of *Streptococcus suis*. J. Vet. Med. B-41 : 453 - 459.