

RESPON FAGOSITOSIS LEUKOSIT POLIMORF BABI (IN VITRO) TERHADAP *Streptococcus equi subsp. zooepidemicus*

PHAGOCYtic RESPONSE OF SWINE POLYMORPH LEUCOCYTES (IN VITRO) TO *Streptococcus equi subsp. zooepidemicus*

Iwan Harjono Utama¹, Aisjah Girindra², Fachriyan Hasmi Pasaribu³, I Wayan Teguh Wibawan³, Endhie D. Setiawan⁴, Gatut Ashadi³ dan Aida Louise Tenden. Rompis¹

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

ABSTRAK

Penelitian mengenai respon fagositosis leukosit polimorf babi (in vitro) dilakukan untuk melihat daya pertahanan hewan tersebut terhadap infeksi oleh *Streptococcus equi subsp. zooepidemicus* yang termasuk streptokokus grup C (SGC) menurut Lancefield. Percobaan dilakukan menggunakan bakteri berkapsul dan tidak berkapsul, dengan membandingkan antara bakteri yang tidak diopsonisasi dengan yang diopsonisasi menggunakan serum babi yang sehat secara klinis.

Data yang dihasilkan menunjukkan proses opsonisasi kedua jenis bakteri tidak berpengaruh terhadap aktivitas fagositosis leukosit babi ($P > 0,05$). Sedangkan kapasitas fagositosis bakteri tidak berkapsul yang teropsonisasi meningkat jika dibandingkan dengan bakteri yang sama tetapi tidak diopsonisasi ($P < 0,05$). Dapat disimpulkan bahwa proses opsonisasi menyebabkan peningkatan kapasitas fagositosis bakteri tidak berkapsul.

J Vet 2000 1(1) : 1-6

Kata Kunci : *Streptococcus equi subsp. Zooepidemicus; fagositosis*

ABSTRACT

This research was conducted to observe the phagocytic response of swine polymorph leucocytes (in vitro) to *Streptococcus equi subsp. zooepidemicus* (Lancefield's group C streptococci). This experiment used encapsulated and nonencapsulated bacteria which were nonopsonized and opsonized with serum from clinically normal pigs. Results showed phagocytic activity was not influenced by opsonization ($P > 0,05$), but opsonization caused phagocytic capacity of nonencapsulated bacteria higher compared with non opsonized ones ($P < 0,05$). In conclusion, opsonization could increase phagocytic capacity of nonencapsulated bacteria.

J Vet 2000 1(1) : 1-6

Key Words : *Streptococcus equi subsp. Zooepidemicus; Phagocytic respon*

Makalah ini pernah disajikan dalam Pertemuan Ilmiah Tahunan Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia 27-28 Juni 2000, Denpasar-Bali.

PENDAHULUAN

Strategi infeksi oleh bakteri dan respon pertahanan inang yang diinfeksi nya merupakan fenomena menarik yang banyak dikaji pada akhir abad 20 ini. Berbagai kajian menunjukkan bahwa permukaan sel bakteri masih memiliki andil besar dalam mekanisme infeksi nya (Mims, 1982).

Infeksi oleh *Streptococcus equi subsp. zooepidemicus* pada babi dan kera pertama kali terjadi di pulau Bali, bahkan di Indonesia pada tahun 1994 (Dharma, 1994; Dibia *et al.*, 1994; Utama *et al.*, 1999). Bakteri ini termasuk streptokokus grup C (SGC) berdasarkan klasifikasinya menurut Lancefield (Barnham, Thornton and Lange, 1983; Farrow dan Collins, 1984) dan merupakan bakteri Gram positif dengan komponen permukaan sel nya sebagai salah satu komponen yang bertanggung jawab terhadap patogenesis infeksi di samping produk-produk ekstraseluler yang dihasilkannya (Utama, 1998).

Karena babi merupakan hewan yang peka, maka penelitian ini dilakukan untuk melihat seberapa besar pengaruh *S. equi subsp. zooepidemicus* terhadap populasi leukosit babi yang dalam hal ini adalah respon fagositosis nya. Hal ini disebabkan fenomena tersebut merupakan salah satu cerminan daya tahan sistim pertahanannya. Diharapkan data yang dihasilkan dapat memberi informasi mengenai tingkat keganasannya pada babi.

METODE PENELITIAN

Uji ini menggunakan isolat bakteri yang diambil dari kasus klinik dan subklinik di lapangan. Sebagai sumber sel polimorf/PMN diambil darah babi (dengan antikoagulan dinatrium sitrat 3,8% dalam akuades dengan keperluan sebanyak 1 ml untuk 9 ml darah) dari Rumah Potong Hewan Kotamadya Bogor. Prosedur isolasi PMN sebagai berikut (Wibawan dan Laemmler, 1994). :

Ke dalam tabung reaksi steril diisi 5 ml larutan ficoll (Pharmacia, Sweden) dingin, kemudian secara perlahan-lahan ke dalam tabung tersebut diisi 5 ml darah babi sehingga terbentuk 2 lapisan. Campuran disentrifus (1500 g, 15 menit), kemudian supernatan dibuang. Endapan yang terdiri dari eritrosit dan PMN ditambahkan larutan NH₄Cl 0,87% (pH 7,2) dingin sambil dikocok kuat hingga terjadi hemolisis sempurna. Suspensi disentrifus dan dicuci beberapa kali hingga endapan PMN terbebas dari eritrosit. Endapan PMN disuspensikan dalam 1 ml larutan Minimal Essential Medium (MEM). Uji viabilitas (daya hidup) sel PMN menggunakan larutan biru tripan 0,4% dalam larutan NaCl 0,81% dan 0,06 % Na₂HPO₄ steril (Sigma-USA), sedangkan perhitungan lekosit menggunakan hemositometer. Suspensi lekosit disimpan pada suhu dingin untuk percobaan selanjutnya.

Penentuan jumlah sel bakteri untuk uji fagositosis dilakukan secara spektrofotometrik ($\lambda = 620 \text{ nm}$, transmisi 10%), ini setara dengan 109 sel per ml. Suspensi bakteri dicampur dengan suspensi leukosit dengan perbandingan 1000 : 1 (Wibawan dan Laemmler, 1994), kemudian campuran diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Penentuan parameter fagositosis ialah aktivitas dan kapasitas fagositosis dan dilakukan di bawah mikroskop setelah sedimen diwarnai dengan Giemsa. Definisi ke dua parameter tersebut ialah:

Aktivitas fagositosis ialah jumlah sel PMN yang menelan bakteri per 100 PMN.

Kapasitas fagositosis ialah jumlah bakteri yang ditelan oleh leukosit per 50 PMN yang menunjukkan aktivitas fagositosis (Wibawan dan Laemmler, 1994).

Dalam percobaan ini diamati pula pengaruh opsonisasi sel bakteri terhadap aktivitas dan kapasitas fagositosis. Opsonisasi

dilakukan menggunakan serum babi sehat secara klinis yang didapat dari Rumah Potong Hewan Kotamadya Bogor. Sebanyak 5 ml suspensi bakteri berkapsul dan tidak berkapsul (masing-masing mengandung 109 sel / ml PBS 0,14 M) disentrifus (10000 G, 10 menit). Pelet dicampur dengan 0,1 ml serum dan dihomogenkan, kemudian diinkubasikan selama 30 menit pada suhu 37°C . Setelah inkubasi, suspensi sel dicuci menggunakan larutan PBS 0,14 M untuk membuang kelebihan serum. Pelet kemudian disuspensikan kembali seperti semula (109 sel / ml PBS), suspensi bakteri teropsonisasi siap digunakan untuk assay fagositosis dengan prosedur seperti di atas.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Aktivitas dan kapasitas fagositosis PMN terhadap bakteri berkapsul maupun tidak berkapsul menunjukkan nilai yang tidak berbeda ($P > 0,05$). Proses

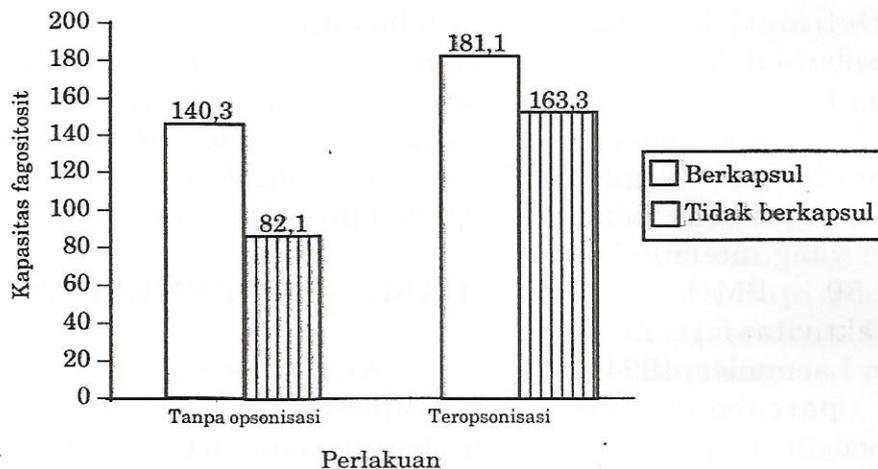
Tabel 1. Aktivitas dan Kapasitas Fagositosis Bakteri Berkapsul dan Tidak Berkapsul oleh PMN Babi *In vitro*

Perlakuan	Fagositosis bakteri			
	Berkapsul (5.60)		Tidak berkapsul (18)	
	Aktivitas	Kapasitas	Aktivitas	Kapasitas
Tanpa opsonisasi	30,6 aA	140,3 bA	31,8 aA	82,1 bA
Teropsonisasi	41,2 aA	181,1 bA	39,4 aA	153,6 bB

Keterangan : Nilai rata-rata dari 5 ulangan
Adanya huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata ($P > 0,05$); huruf kecil menunjukkan perbedaan ke arah baris, huruf besar ke arah kolom.

opsonisasi bertujuan melapisi permukaan sel bakteri dengan antibodi dan komplemen agar bakteri mudah difagositosis (Tizard, 1982). Proses opsonisasi pada bakteri berkapsul tidak mempengaruhi proses fagositosis PMN, baik aktivitas maupun kapasitasnya. Berbeda dengan isolat tidak berkapsul, opsonisasi berpengaruh terutama terhadap kapasitas fagositosis ($P < 0,05$). Hal ini memperlihatkan bahwa kapsul

absennya antibodi spesifik pada serum terhadap bakteri tersebut, dan ketidak mampuan komponen aglutinogenik lain pada serum seperti fibronektin (Myhre dan Kuusela, 1983; Valentin-Wiegand *et al.*, 1988a), vitronektin (Chhatwall, Pressner, Muller-Berghaus dan Blobel, 1987; Valentin-Wiegand *et al.*, 1988b), fibrinogen (Kronvall *et al.*, 1979), dan lain-lain untuk mengopsonisasi bakteri berkapsul vitronektin



Gambar 1 Grafik Kapasitas Fagositosis Bakteri Berkapsul dan Tidak Berkapsul oleh PMN Babi *In vitro*

mampu menghambat proses opsonisasi dan menurunkan kegiatan fagositosis. Fenomena yang sama pernah pula dilaporkan oleh Chanter, Jones and Alexander (1993) yang mendukung hal ini. Data pada Tabel 1 dan Gambar 1 menunjukkan bahwa fagositosis tetap berlangsung meskipun tidak diawali oleh proses opsonisasi. Pada bakteri berkapsul, hal ini bisa disebabkan oleh kapsul bakteri yang memang tidak imunogenik (Durack, 1989),

juga mampu melekatkan bakteri pada sel inang termasuk makrofag (Parker, Frame dan Elstad, 1988). Pada bakteri tidak berkapsul, komponen di atas umumnya mudah melekat pada permukaan sel bakteri. Selain itu vitronektin juga mampu melekatkan bakteri pada sel inang termasuk makrofag dan lekosit polimorf (Valentin-Wiegand *et al.*, 1988b). Gambar 1 memperlihatkan pengaruh opsonisasi menyebabkan kapasitas fagositosis bakteri tidak berkapsul

meningkat secara nyata ($P < 0,05$). Peningkatan ini pun nampak pada bakteri berkapsul meskipun secara statistik tidak berbeda nyata ($P > 0,05$).

Dari data pada Tabel 1 tampak jelas peranan biologi kapsul *S. equi subsp. zooepidemicus* yaitu tidak dipengaruhi proses opsonisasi. Durack (1989) mengatakan kapsul juga mempertahankan daya hidup bakteri dalam makrofag dan lebih cepat membunuh hewan yang terinfeksi. Secara teoritis kapsul juga membantu penyebaran bakteri seperti yang diperlihatkan pada pneumokokus (William dan Blackmore, 1990) dan inilah yang menarik untuk diteliti lebih lanjut sehubungan dengan mekanisme penyebarannya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih ditujukan pada Pimpinan Tim Manajemen 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.
- Chhatwal, G. S., K. T. Preissner, G. Muller-Berghaus, and H. Blobel. 1987. Specific binding of human S protein (vitronectin) to streptococci, *Staphylococcus aureus*, and *Escherichia coli*. *Infect. Immun.* 55 : 1878-1883.
- 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.
- 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.
- Durack, D. T. 1989. The Streptococci. In : Schaechter, M., G. Medoff and D. Schlessinger (Eds.) *Mechanism of Bacterial Disease*. William and Wilkins, Baltimore, USA. : 205 - 217.
- 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.
- Kronvall, G., C. Schonbeck and E. Myhre. 1979. Fibrinogen binding structures in (-hemolytic streptococci group A, C, and G. comparison with receptors for IgG and aggregated (-microglobulin. *Acta Path. Microbiol. Scand. Sect. B* 87 : 303 - 310.
- Myhre, E. B. and P. Kuusela. 1983. Binding of human fibronectin to group A, C, and G streptococci. *Infect. Immun.* 40 : 29 - 34.
- Parker, C. J., R. N. Frame, and M. R. Elstad. 1988. Vitronectin (S protein) augments the functional activity of monocyte receptors for IgG and complement C3b. *Blood* 71 : 86-93.
- Utama, I. H. 1998. Ekspresi Fenotip dan Aktivitas Biologi Streptokokus Grup C Isolat asal Babi dan Kera. *DISERTASI Program Pascasarjana Institut Pertanian Bogor, Bogor.* 126 hal.
- 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. 39 hal.
- Valentin-Wiegand, P., G. S. Chhatwal and H. Blobel. 1988a. Adherence of streptococcal isolates from cattle and horses to their respective host epithelial cells. *Am. J. Vet. Res.* 49 : 1485 - 1488.
- Valentin-Wiegand, P., J. G. Henn, G. S. Chhatwal, G. M. Berghaus, H. Blobel and K. T. Preissner. 1988b. Mediation of adherence of streptococci to human endothelial cells by complement S-protein (vitronectin). *Infect. Immun.* 56 : 2851- 2855.
- Wibawan I W. T and Ch. Laemmler. 1994. Relation between encapsulation and various properties of *Streptococcus suis*. *J. Vet. Med. B-41* : 453 - 459.
- Williams, A. E. and W. F. Blackmore. 1990. Pathogenesis of meningitis caused by *Streptococcus suis* type 2. *J. Infect. Dis.* 162 : 474 - 481.