

Perbedaan Gambaran Histopatologi Granuloma Paru Mencit Setelah Diinfeksi *Mycobacterium tuberculosis* dan atau Intervensi Silika

(THE INFLUENCES OF TIME IN THE HISTOPATHOLOGY OF LUNG GRANULOMA IN MICE AFTER INFECTION OF MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS AND SILICA INTERVENTION)

Ni Made Linawati¹, I Gusti Ngurah Mayun¹, I Gusti Nyoman Sri Wiryawan¹,
Nyoman Sri Budayanti², Ni Made Mertaniasih³, Fedik Abdul Ratam⁴,
I Nyoman Wandu⁵, I Gusti Ayu Dewi Ratnayanti¹, Ida Ayu Ika Wahyuniari¹,
I Wayan Sugiritama¹, I Gusti Kamasan Arijana¹.

¹Bagian Histologi, ²Bagian Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Universitas Udayana
Jl. Sudirman Denpasar. Telepon : (0361) 222510. Email: linawandira@yahoo.com

³. Bagian Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran.

⁴Laboratorium Virologi dan Imunologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga.

⁵ Bagian Patologi Klinik FK Unud/Rumah Sakit Umum Pusat Sanglah Denpasar

ABSTRAK

Karakteristik tuberkulosis paru adalah granuloma, terdiri dari limfosit dan makrofag yang menunjukkan interaksi antara sel-sel imun dan *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tb.*). Pembentukan granuloma adalah proses organisasi yang tergantung pada invasi limfosit dengan perantara molekul adhesi dan kemokin. Silikosis yang disebabkan intervensi silika dapat menimbulkan pembentukan granuloma paru. Gambaran granuloma bervariasi tergantung agen dan reaksi imun. Tujuan penelitian ini adalah membuktikan perbedaan histopatologi granuloma paru mencit akibat infeksi *M.tb*, intervensi silika, dan keduanya yang terjadi pada minggu ke tiga dan ke tujuh. Sebanyak 45 mencit strain Balb-c, dibagi menjadi tiga kelompok, masing-masing kelompok P1 diberikan infeksi *M.tb* strain virulen H37Rv dosis 10⁵ perml bakteri intranasal, P2 diberikan intervensi silika sebanyak 60 mikro liter partikel silika dilarutkan dalam air dengan dosis 2 mg/kg bb, P3 mendapat gabungan infeksi *M.tb* dan intervensi silika. Terminasi pada masing-masing kelompok dilakukan pada minggu ke tiga dan ke tujuh setelah diberikan perlakuan, dilanjutkan pemeriksaan histopatologi untuk menilai kerusakan jaringan paru. Untuk gambaran histologi dilakukan penilaian semikuantitatif menggunakan skor dari Dorman yaitu; perivaskulitis, peribronkiolitis, alveolitis, dan granuloma. Analisis hasil penelitian dilakukan dengan uji *one way anova* untuk menganalisa perbedaan antar kelompok ($P < 0.05$). Hasil menunjukkan perbedaan signifikan antar kelompok perlakuan. Pada minggu ke tiga tampak pada semua kelompok terjadi kerusakan paru ringan dengan gambaran granuloma, tanpa tanda nekrosis (pada P1 dan P2). Pada minggu ke tujuh tampak pada kelompok P3 terjadi kerusakan paru berat dengan granuloma bertanda nekrosis dan fibrosis, nekrosis terjadi pada kelompok P1, sedangkan dengan fibrosis terjadi pada kelompok P2. Simpulan yang dapat ditarik adalah kerusakan paru berat terjadi pada minggu ke tujuh pada kelompok yang mendapat infeksi *M.tb* dan intervensi silika dengan karakteristik nekrosis dan fibrosis.

Kata kunci : *Mycobacterium tuberculosis*, granuloma, silika, histopatologi paru.

ABSTRACT

The characteristics of lung tuberculosis is granuloma, which is consisted of lymphocytes and macrophages that show the interaction between immune cells and *M.tb*. Granuloma is the organization process which is depend on lymphocytes invasion, adhesion molecules and chemokine fasilitation. Silicosis which is caused by silica, can influence granuloma in the lung. The features of granuloma is variation depend on the elicited agent and immune reaction. The main purpose of this study was to prove the histopathology differences of mice lung granuloma caused by *M.tb* infection, silica intervention and both in 3th and 7th weeks. It was 45 mice Balb-c strain, divided into 3 groups; P1 got *M.tb* infection with H37Rv strain 10⁵ perml, P2 got silica intervention with 60 micro litre and, P3 got both of *M.tb* infection and silica

intervention. Termination of each group were held on 3 and 7 weeks of intervention, continued by histopathology examination. In the histopathology feature, we done semi-quantitative procedure to measure lung damage by using Dormans scores; perivasculitis, peribronchiolitis, alveolitis and granuloma. *One way anova* to analysis the differences of histopathological result among these groups ($P < 0,05$). Result showed the significant differences among these group. In the 3th weeks, we found mild lung damage were happened in all groups with granuloma, without necrotic (P1 and P2). In the 7th weeks we found severe lung damage in P3 with necrotic and fibrotic granuloma sign, with necrosis in P1, with fibrotic in P2. We concluded the worst lung damage happened in 7th weeks in group which are got *M.tb* infection and silica intervention, with granuloma characteristic of necrotic and fibrotic.

Keywords: *Mycobacterium tuberculosis*, silica, histopathology, lung granuloma

PENDAHULUAN

Tanda khas pada tuberkulosis paru adalah granuloma, yang secara dominan terdiri dari limfosit dan makrofag yang menunjukkan interaksi antara sel-sel imun dengan *Mycobacterium tuberculosis* (*M.tb*). Pembentukan granuloma merupakan proses organisasi yang tergantung pada invasi limfosit yang difasilitasi oleh *adhesion molecule* dan *chemokine* (Kahnert, 2007). Granuloma merupakan tempat terjadinya proses infeksi, dapat berperan persistensi, patologi, maupun proteksi terhadap *M.tb*. Sel T dan sel makrofag berpartisipasi dalam mengendalikan tuberkulosis. Interferon gamma ($IFN-\alpha$) dan Tumor Necrosis Factor alpha ($TNF-\alpha$) yang diproduksi oleh sel T penting sebagai aktifator makrofag. $TNF-\alpha$ dan lymphotoxin (LT)- $\alpha 3$ berperan dalam pembentukan dan pemeliharaan integritas struktur granuloma (Kaufmann, 2001). $TNF-\alpha$, Transforming Growth Factor 1 beta ($TGF 1\alpha$) juga bertindak sebagai respons dari sel T yang bersifat spesifik terhadap antigen yang berperan dalam pembentukan granuloma setelah infeksi *M.tb* (Song *et al.*, 2000; Crevel *et al.*, 2002). Granuloma merupakan kumpulan fagosit (makrofag dan atau sel epiteloid) yang dapat berlanjut dengan nekrosis. Granuloma pada umumnya berfungsi dalam membatasi penyebaran patogen-patogen yang masuk sehingga kerusakan jaringan dapat dibatasi (Male *et al.*, 2006). Selain tuberkulosis, silikosis juga dapat menimbulkan granuloma pada paru sehingga terjadi kerusakan paru. Silikosis dapat terjadi akibat paparan berlebihan dari partikel silika (Langley, 2010). Perbedaan gambaran granuloma yang menimbulkan kerusakan paru yang terjadi akibat infeksi *M.tb* dan intervensi silika pada waktu perlakuan tertentu belum pernah dilaporkan. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan adanya

perbedaan gambaran histopatologi pada kelompok perlakuan dengan infeksi kuman *M.tb*, intervensi silika, maupun keduanya pada periode waktu tiga dan tujuh minggu. Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai informasi dalam pengembangan pengetahuan dasar ilmiah imunopatogenesis granuloma baik yang disebabkan oleh agens infeksi maupun non infeksi.

METODE PENELITIAN

Persiapan Hewan Coba

Penelitian ini menggunakan rancangan *randomized post test only group design*. Sebanyak 45 ekor hewan mencit strain Balb/c umur 6-8 minggu, jantan, dengan rata-rata berat badan 30 gram dan berbadan sehat digunakan dalam penelitian ini. Mencit dibagi tiga kelompok masing-masing 15 mencit untuk P1, P2 dan P3. Kelompok P1 diberikan infeksi *M.tb* strain virulen H37Rv dengan dosis 10^5 permL bakteri secara intranasal. Kelompok P2 diberikan intervensi silika pemberian sebanyak 60 mikro liter partikel silika yang telah dilarutkan dalam air dengan dosis 2 mg/kg bb. Kelompok P3 mendapat masing-masing gabungan infeksi *M.tb* dan intervensi silika. Masing-masing kelompok ditempatkan dalam kandang individu, diadaptasikan terhadap pakan dan lingkungan selama satu minggu.

Persiapan Kultur Murni *M.tb* Strain Referens H37Rv dan Intervensi Silika

Strain virulen H37Rv merupakan salah satu strain virulen dari *Mycobacterium tuberculosis*. Strain H37Rv yang berumur 3-4 minggu diperoleh dari laboratorium mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana. Eksperimen dilakukan, kelompok P1 diinfeksi dengan 10^5 permL bakteri secara intranasal. Mula-mula dibuat suspensi kuman sebanyak 10^7

yang setara dengan Mc Farland 1, kemudian diencerkan hingga tercapai konsentrasi kuman 10^5 , sebanyak 60 mikro liter suspensi diinokulasi pada lubang hidung mencit dengan mikropipet. Kemudian mencit diletakkan di kabinet untuk pengamatan selanjutnya (Saunders, 1996). Kelompok P2 diberi perlakuan silika dengan pemberian sebanyak 60 mikro liter partikel silika yang telah dilarutkan dalam air dengan dosis 2 mg/kg bb. Kelompok P3 diberi perlakuan infeksi *M.tb* dan silika sesuai dosis diatas. Selama masa adaptasi perlakuan diatas, mencit diberikan pakan standar yang disusun menurut Hartiningsih (1996), sebanyak $\pm 10\%$ dari berat badan, dan air minum aquabides secara *ad libitum*. Kemudian dikorbankan dengan dilakukan eutanasia masing-masing kelompok mencit pada minggu ke tiga dan tujuh. Selanjutnya secara makroskopis dicari jaringan granuloma dengan cara irisan paru, untuk dibuat preparat histologi terhadap jaringan granuloma tersebut.

Pembuatan Sediaan Histologi dengan Pewarnaan HE

Pembuatan preparat mikroskopik diawali dengan fiksasi organ paru kanan yang telah direndam dalam larutan formaldehide 10% dalam PBS selama dua hari kemudian direndam dalam parafin, selanjutnya dilakukan pemotongan sepanjang daerah terluas setiap lobusnya. Potongan serial setebal lima mikro meter terpisah setiap 100 mikrometer diwarnai dengan HE.

Analisis Data

Hasil pemeriksaan histopatologi jaringan paru dari setiap kelompok perlakuan dinilai dengan skor dari Dorman untuk menilai kerusakan paru-paru mencit. Skor dari Dorman berdasarkan parameter histopatologi sebagai berikut : peribronchiolitis, perivaskulitis,

alveolitis dan pembentukan granuloma, yang secara semi kuantitatif tiap parameter dinilai dengan : tidak ada lesi jika total skornya 1, lesi minimal jika total skornya 2, lesi ringan jika total skornya 3, lesi sedang jika total skornya 4, dan lesi berat jika total skornya 5 (Dormans, 2004). Hasil pengamatan yang diperoleh berupa data dicatat dan ditabulasi. Analisis data hasil penelitian menggunakan uji statistika *One Way Anova*, untuk membuktikan apakah ada perbedaan yang bermakna ($P < 0,05$) antara kelompok mencit dengan perlakuan infeksi *M.tb*, kelompok mencit dengan perlakuan silika serta kelompok mencit dengan perlakuan infeksi *M.tb* dan silika pada waktu paparan 3 dan 7 minggu.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kerusakan jaringan paru dapat diukur secara kuantitatif dengan menggunakan skor dari Dorman, yang memiliki beberapa kriteria penilaian berdasarkan: perivaskulitis, peribronkiolitis, alveolitis, dan granuloma.

Hasil skoring dari pengamatan preparat histopatologi pada masing-masing kelompok perlakuan berdasarkan kriteria skoring Dorman disajikan pada Tabel 1.

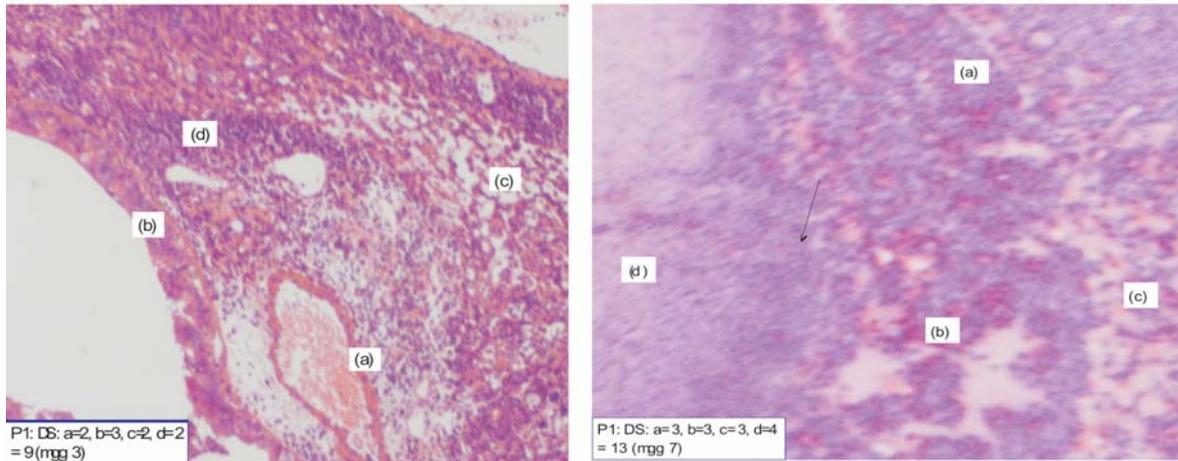
Pada tabel 1. Tampak bahwa kerusakan paru paling tinggi pada kelompok P3 baik pada minggu ke tiga maupun minggu ke tujuh dengan skoring Dormans pada minggu ke tiga adalah 10 sedangkan pada minggu ke tujuh adalah 16. Pada keseluruhan kelompok perlakuan tampak terjadi kerusakan paru yang lebih berat pada minggu ke tujuh.

Gambar histopatologi untuk kelompok perlakuan yang terinfeksi *M.tb* (P1), intervensi silika (P2) serta yang diinfeksi *M.tb* dan intervensi silika (P3) masing-masing pada waktu tiga dan tujuh minggu tersaji pada Gambar 1, 2 dan 3. Pada gambar dipakai kriteria

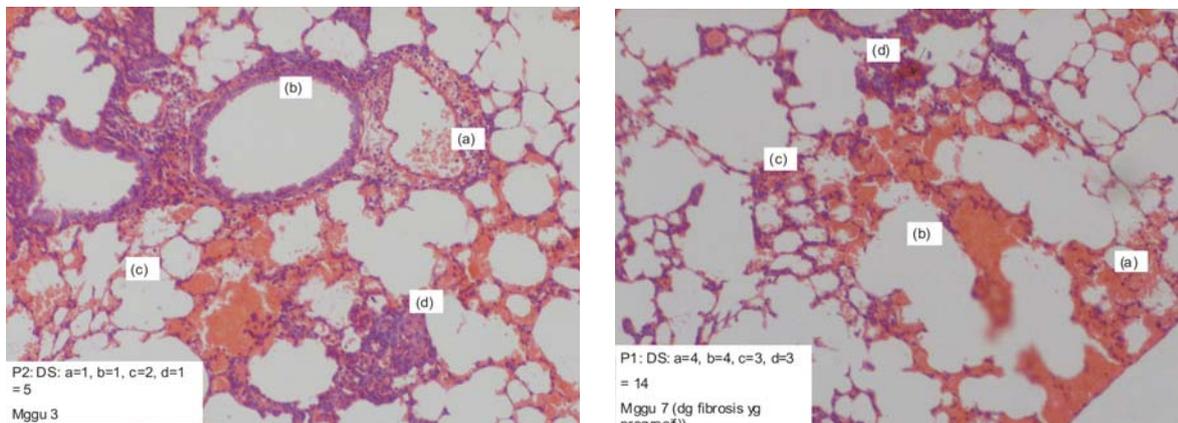
Tabel 1. Hasil skoring dorman pada ketiga kelompok perlakuan

Kerusakan jaringan paru	P1		P2		P3	
	III	VII	III	VII	III	VII
perivaskulitis (a)	2	3	1	4	2	5
peribronkiolitis (b)	3	3	1	4	3	3
alveolitis (c)	2	3	2	3	3	3
granuloma (d)	2	4	1	3	2	5
Total	9	13	5	14	10	16

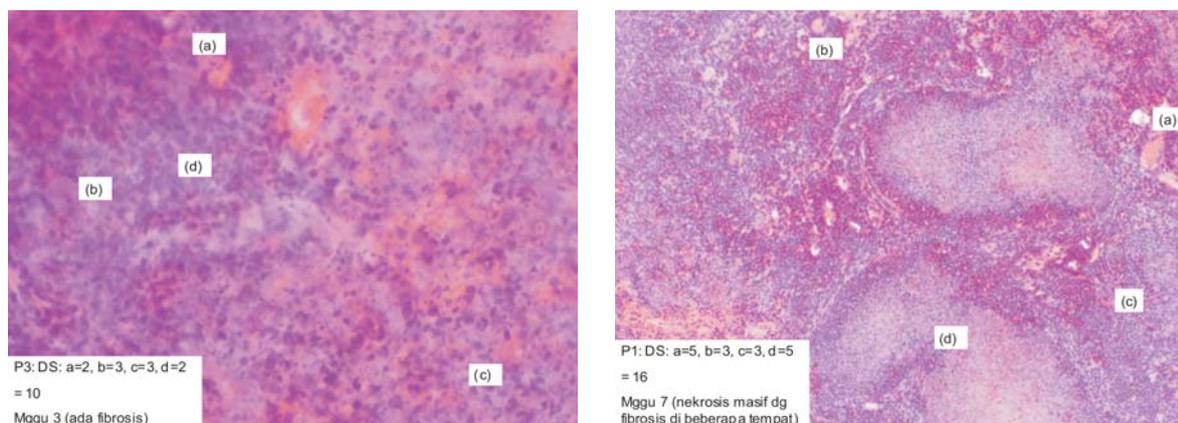
Keterangan : P1 = ingeksi *M.tb*; P2 = invertensi silika; P3 = infeksi *M.tb* dan intervensi silika; III = minggu ke tiga; VII = minggu ke tujuh



Gambar 1. Mikroskopis paru kanan mencit setelah infeksi dengan *M.tb*. yaitu P1. minggu ke tiga (kiri) dan P1. minggu ke tujuh (kanan). Perubahan terjadi berupa perivaskulitis (a) peribronkiolitis (b), alveolitis (c), dan granuloma (d). Granuloma pada gambar kiri bersifat protolitik, sedangkan kanan granuloma bersifat patologi.



Gambar 2. Mikroskopis paru kanan mencit setelah intervensi silika. P2. minggu ke tiga (kiri) dan P2. minggu ke tujuh (kanan). Perubahan terjadi berupa perivaskulitis (a), peribronkiolitis (b), alveolitis (c), dan granuloma. Fibrosis terjadi pada gambar kiri, sedangkan granuloma fibrotik teramati pada gambar kanan.



Gambar 3. Mikroskopis paru kanan mencit dengan infeksi *M.tb* dan silika. P3. minggu ke tiga (kiri) dan P3. minggu ke tujuh (kanan). Perubahan terjadi berupa perivaskuler (a) peribronkiolitis (b), alveolitis (c), dan granuloma (d). Pada gambar kiri teramati granuloma disertai nekrosis dan fibrosis, pada gambar kanan teramati nekrosis lebih meluas.

untuk skoring Dormans dengan a = perivaskulitis; b = peribronkiolitis; c = alveolitis; dan d = granuloma (pedoman skala dari Dormans kami lampirkan di belakang).

Granuloma oleh *Mycobacterium tuberculosis* (*M.tb*)

Infeksi *M.tb* terhadap mencit merupakan suatu intervensi agent infeksi. Granuloma sel epiteloid pada infeksi *M.tb* terbentuk akibat respons imun yang mengaktifkan makrofag karena adanya stimulasi dari mediator atau sitokin yang dilepaskan makrofag dan sel T teraktivasi. Gambaran khas granuloma sel epiteloid yaitu makrofag dan sel epiteloid, terkadang disertai *giant cell* (hasil fusi sel-sel epiteloid) sebagai inti granuloma yang dikelilingi oleh tumpukan sel-sel limfosit. Namun, granuloma pada mencit tidak ditemukan adanya *giant cell*. Pada infeksi *M.tb*, dapat terjadi granuloma disertai terbentuknya jaringan nekrosis pada bagian tengah akibat lisis makrofag.

Pada Gambar 1. perlakuan P1. pada minggu ke tiga (kiri) tampak perubahan pada jaringan paru, terjadi infiltrasi sel-sel radang dan dinyatakan kriteria perivaskulitis (a = 2; ada 1-2 lapis sel radang dipermukaan dalam pembuluh darah), peribronkiolitis (b = 3; ada 3-5 lapis sel radang dipermukaan dalam cabang bronkus), alveolitis (c = 2; ada selapis sel radang ditepi alveoli) dan granuloma (d = 2; granuloma dengan diameter < 1 mm pada pembesaran 1000x), sehingga total derajat skoring Dorman adalah 9 yang berarti terdapat kerusakan ringan pada paru mencit pada minggu ketiga setelah diinfeksi *M.tb*. Gambaran granuloma pada kelompok ini masih bersifat protektif dan belum nampak adanya nekrosis.

Pada Gambar 1. perlakuan P1. pada minggu ke tujuh (kanan) tampak perubahan pada jaringan paru, terjadi infiltrasi sel-sel radang dan dinyatakan kriteria perivaskulitis (a = 3; ada 3-5 lapis sel radang dipermukaan dalam pembuluh darah), peribronkiolitis (b = 3; ada 3-5 lapis sel radang dipermukaan dalam cabang bronkus), alveolitis (c = 3; ada 2-3 lapis sel radang ditepi alveoli) dan granuloma (d = 4; granuloma dengan diameter > 2-4 mm pada pembesaran 1000x), sehingga total derajat skoring Dorman adalah 13 yang berarti terdapat kerusakan sedang pada paru mencit pada minggu ketujuh setelah diinfeksi *M.tb*. Namun, gambaran granuloma pada kelompok ini sudah bersifat patologi ditandai dengan adanya gambaran

nekrosis masif. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa reaksi granulomatosa dapat terjadi mulai 21-28 hari. Granulomatosa tuberkulosis merupakan bentuk reaksi terpenting dalam *delayed type hypersensitivity* (DTH). Menurut Male *et al.*, (2006) reaksi granulomatosa melibatkan sel-sel epiteloid dan *giant cell* yang dikelilingi oleh kumpulan sel limfosit dibagian tepinya serta membentuk area nekrosis kaseosa di bagian tengahnya. Pada penelitian ini tampak pada minggu ke tujuh di bagian sentral granuloma sudah menunjukkan adanya suatu nekrosis. Menurut Kim *et al.*, (2010) terjadinya nekrosis kaseosa pada bagian sentral dari granuloma tuberkulosis diduga akibat adanya disregulasi metabolisme lipid *host* akibat interaksi dengan *M.tb*. Selain itu menurut Engele *et al.*, (2002) peran berbagai macam mediator diduga sangat menentukan intak tidaknya granuloma akibat tubekulosis yang terbentuk seperti TNF- α yang dapat merangsang migrasi sel-sel inflamasi dan meningkatkan ekspresi molekul adhesi sehingga terbentuk granuloma yang terdiri dari agregasi sel makrofag, epiteloid serta lapisan limfosit pada tepinya. Hal ini juga sesuai dengan hasil penelitian yang telah dilakukan pada tepi granuloma terdapat serbuk padat sel-sel yang kemungkinan adalah terdiri dari sel limfosit, makrofag, dan epiteloid (tanda panah pada gambar). Granuloma sebagai suatu bentukan, timbul akibat respons imun yang baik/ intak sedangkan saat sistem imunitas kita menurun maka granuloma akan rusak atau tidak terbentuk (Rubin, 2009).

Granuloma oleh Silika

Granuloma fibrotik terbentuk akibat fagositosis non spesifik terhadap benda asing non-antigenik seperti partikel silika dan talk. Granuloma ini terdiri dari agregasi makrofag di sekitar partikel yang terfagosit. Partikel silika bersifat sitotoksik terhadap makrofag, *beads* silika akan menstimuli pelepasan berbagai faktor fibrogenik seperti interleukin, *growth factors* dan *fibronectin*. Faktor-faktor tersebut menstimuli fibroblas untuk memproduksi kolagen, sehingga pada intervensi dengan *silica beads* tampak hialinisasi kolagen. Pada penelitian ini gambaran fibrosis mendominasi kelompok yang diberikan intervensi *silica beads*. Pada Gambar 2. P2 (minggu ke tiga) tampak perubahan pada jaringan paru, terjadi infiltrasi sel-sel radang dan dinyatakan kriteria perivaskulitis (a = 1; tidak ada sel radang di

permukaan dalam pembuluh darah), peribronkiolitis (b = 1; tidak ada sel radang dipermukaan dalam cabang bronkus), alveolitis (c = 2; ada selapis sel radang ditepi alveoli) dan granuloma (d = 1; tidak ada granuloma), sehingga total derajat skoring Dorman adalah 5 yang berarti terdapat kerusakan minimal pada paru mencit pada minggu ketiga setelah diintervensi silika. Tampak di beberapa area ada gambaran fibrosis. Pada Gambar 2. P2 (minggu ke tujuh), tampak perubahan pada jaringan paru, terjadi infiltrasi sel-sel radang dan dinyatakan kriteria perivaskulitis (a = 4; > 5 lapis sel radang dipermukaan dalam pembuluh darah), peribronkiolitis (b = 3; ada 3-5 lapis sel radang dipermukaan dalam cabang bronkus), alveolitis (c = 3; ada 2-3 sel radang ditepi alveoli) dan granuloma (d = 3; granuloma dengan diameter 1-2 mm pada pembesaran 1000x), sehingga total derajat skoring Dorman adalah 14 yang berarti terdapat kerusakan sedang pada paru mencit pada minggu ke tujuh setelah diintervensi silika. Tampak gambaran granuloma fibrotik, dan pada Gambar 2 fibrosisnya ditunjukkan dengan tanda panah. Hasil penelitian akibat intervensi *silica beads* serupa dengan penelitian yang dilakukan oleh Barbarin (2004). Dalam laporannya dinyatakan granuloma paru timbul setelah diberikan injeksi partikel silika. Menurut Rubin (2001), kristal silika berukuran kecil (1-5 mikro) yang berhasil masuk sampai asinus paru, terhindar dari aksi siliar pada permukaan mukosa bronkial, akan difagosit oleh makrofag alveoli sebagai pertahanan pertama. Partikel silika memiliki permukaan dengan grup silikon hidroksida yang dapat membentuk ikatan hidrogen dengan fosfolipid dan protein milik makrofag yang bersifat toksik sehingga menyebabkan gangguan fagolisosomal dan menyebabkan kematian makrofag. Makrofag yang mati ini kemudian melepaskan faktor-faktor fibrogenik bersama dengan bebasnya partikel silika yang telah gagal dihancurkan (*digested*). Silika yang terlepas ini kembali menarik makrofag lain yang kemudian

akan kembali menelan partikel tersebut sehingga mengalami lisis. Sehingga akan terus terjadi pelepasan isi makrofag berupa partikel silika maupun faktor-faktor fibrogenik. Pada akhirnya akan didapati nodul fibrosis di dalam paru yang padat kolagen dan sel fibroblas yang disertai sejumlah limfosit dan makrofag. Pada laporannya Langley (2010) juga menyebutkan pada paru yang di induksi dengan silika dosis besar, menimbulkan silikosis akut dengan karakteristik gambaran paru seperti pembentukan granuloma (*granuloma like formation*) yang kemungkinan berhubungan dengan terjadinya apoptosis, alveolitis berat, serta alveolar lipoproteinosi. Pada minggu ke tujuh penelitian ini terjadi alveolitis yang cukup berat dengan skoring 3 yaitu terdapat 2-3 lapis sel radang di tepi alveoli.

Granuloma oleh *M.tb* dan Silica

Granuloma yang terbentuk pada kombinasi intervensi antara infeksi *M.tb* dan silika menyebabkan kerusakan paru yang lebih berat dalam waktu yang sama jika dibandingkan dengan dua kelompok lainnya yang diintervensi hanya dengan satu perlakuan saja. Intervensi partikel infeksi menimbulkan aktivasi sistem imun selular sedangkan intervensi partikel non infeksi seperti silika menimbulkan reaksi non-imunologik yang lebih dominan. Akibat dua agen ini terjadi fibrosis dan nekrosis pada paru mencit. Pada kelompok ini terjadi nekrosis masif pada minggu ke tujuh (tanda panah). Gambar histopatologi untuk kelompok yang terinfeksi *M.tb* dan diberi intervensi silika (P3) pada waktu tiga dan tujuh minggu masing-masing tersaji pada Gambar 3.

Pada Gambar 3. P3 pada minggu ke tiga, tampak perubahan pada jaringan paru, terjadi infiltrasi sel-sel radang serta fibrosis yang progresif dan dinyatakan kriteria perivaskulitis (a = 2; ada 1-2 lapis sel radang dipermukaan dalam pembuluh darah), peribronkiolitis (b = 3; ada 3-5 lapis sel radang dipermukaan dalam cabang bronkus), alveolitis (c = 3; ada 2-3 lapis

Tabel 2. Rataan kerusakan jaringan paru pada mencit di berbagai kelompok perlakuan dan periode pengamatan berdasarkan skor Dorman.

Perlakuan	Minggu ke tiga	Minggu ke tujuh
Infeksi dengan <i>M.tb</i>	Kerusakan ringan	Kerusakan sedang
Intervensi dengan silika	Kerusakan minimal	Kerusakan sedang
<i>M.tb</i> dan silika	Kerusakan ringan	Kerusakan berat

sel radang ditepi alveoli) dan granuloma ($d = 2$; granuloma dengan diameter < 1 mm pada pembesaran 1000x), sehingga total derajat skoring Dorman adalah 10 yang berarti terdapat kerusakan ringan pada paru mencit pada minggu ke tiga setelah diinfeksi *M.tb* dan intervensi silika.

Gambaran granuloma pada kelompok ini sudah menunjukkan adanya nekrosis, disertai dengan fibrosis yang luas.

Pada Gambar 3. P3 pada minggu ke tujuh, Terjadi infiltrasi sel-sel radang serta fibrosis yang progresif pada jaringan paru yang dinyatakan kriteria perivaskulitis ($a = 5$; > 5 lapis sel radang dipermukaan dalam pembuluh darah dengan kerusakan dinding pembuluh darah), peribronkiolitis ($b = 3$; ada 3-5 lapis sel radang dipermukaan dalam cabang bronkus), alveolitis ($c = 3$; ada 2-3 sel radang ditepi alveoli) dan granuloma ($d = 5$; granuloma dengan diameter > 4 mm pada pembesaran 1000x), sehingga total derajat skoring Dorman adalah 16 yang berarti terdapat kerusakan berat pada paru mencit pada minggu ke tujuh setelah diintervensi *M.tb* dan silika. Nekrosis pada granuloma tampak lebih meluas menunjukkan kerusakan paru buruk. Hasil pada kelompok P3 menunjukkan keadaan yang lebih berat dibandingkan kelompok P1 dan P2 hal ini mungkin disebabkan karena intervensi yang diberikan berupa agen infeksi dan non infeksi yang menimbulkan reaksi/respons imun tubuh yang berlebihan yang dapat menimbulkan kerusakan pada jaringan tubuh itu sendiri dalam hal ini jaringan paru.

Rataan kerusakan paru pada keseluruhan kelompok perlakuan tersaji pada Tabel 2. Pada keseluruhan perlakuan atau intervensi telah terjadi kerusakan ringan pada minggu tiga, semakin memburuk pada minggu ke tujuh terjadi kerusakan berat terutama pada kelompok P3. Granuloma mulai tampak pada minggu ke tiga di semua kelompok perlakuan (90%) dengan perbedaan jenis granuloma (granuloma oleh karena infeksi *M.tb* atau granuloma fibrotik) namun pada minggu ke tiga, granuloma masih bersifat non nekrosis (P1 dan P2). Granuloma pada minggu ke tujuh, sembilan puluh persen sudah mengalami nekrosis (P1 dan P3), serta fibrosis masif pada P2.

SIMPULAN

Terdapat perbedaan gambaran histopatologi di antara kelompok perlakuan. Kerusakan minimal sudah terjadi pada minggu ke tiga dan paling berat pada minggu ke tujuh pada semua kelompok perlakuan. Granuloma mulai terjadi pada minggu ke tiga, tanpa nekrosis pada kelompok yang diinfeksi *M.tb*, dengan fibrotic pada kelompok infeksi *M.tb* dan intervensi silika, dan dengan nekrosis dan fibrosis pada kelompok yang diinfeksi *M.tb* dan intervensi silika.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk membuktikan profil sitokin yang berperan dalam terjadinya granuloma didukung dengan data histopatologis granuloma serta menganalisis hubungan antara perbedaan profil sitokin dengan perbedaan gambaran histopatologi granuloma.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menghaturkan terima kasih kepada DIKTI dalam Program Hibah Pekerti yang telah mendanai penelitian ini, kepada FK dan FKH Unair Surabaya sebagai Tim Peneliti Mitra, kepada Lemlit UNUD yang telah memperantarai program penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Barbarin V, Arras M, Misson P, Delos M, McGarry B, Phan S H, Lison D, Huaux F. 2004. Characterization of The Effect of Interleukin-10 on Silica Particles, *Am J Respi Cell Mol Biol* 31: 78-85
- Crevel, Jos WM, Tom HM, Ottenhoff. 2002. Innate Immunity to Mycobacterium tuberculosis. Dalam. *Clinical Microbiology Review*. Pp. 294-309.
- Dormans JA, Van Meijeren C, Cornelia E, Vleeming W. 2004. Time Study on Development and Repair of Lung Injury Following Ozone Exposure in Rats. www.biomedexperts.com

- Engele M, Stobel E, Castiglion K, Schwerdtner N, Wagner M, Bolcskei P, Rollinghoff M, Stenger S. 2002. Induction of TNF in Human Alveolar As a Potential Evasion Mechanism of Virulent *Mycobacterium tuberculosis*, *The Journal of Immunology*, 168:1328-37.
- Hartiningsih. 1996. Nilai Diagnostik Kalsium dan Fosfat Dalam Darah Terhadap Perubahan Awal Osteoporosis Pada Tikus Putih (*Ratus norvegicus albicus*) yang dipanhisterektomi. Lap. Penelitian. Jogjakarta. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Gadjah Mada.
- Kahnert A, Hopken UE, Stein M. 2007. *Mycobacterium tuberculosis* triggers formation of Lymphoid Structure in Murine Lung. *Infect Dis*. 195(1):46-54. <http://lib.bioinfo.pl/auth:Kaufmann,SH>
- Kaufmann SH. 2001. How Can Immunology Contribute to The Control of Tuberculosis?. Macmillan Magazines Ltd. www.nature.com/reviews/immunol.
- Kim MJ, Walnwright HC, Locketz M *et al.*, 2010. Caseating of Human tuberculosis granulomas correlates with elevated host lipid metabolism. Abstract. *EMBO Mol Med* 2 (7) : 258-74.
- Langley RJ, Mishra NC, Pena-Philippides JC. 2010. Granuloma formation induced by low-dose chronic silica inhalation is associated with an anti-apoptotic response in Lewis rats. *J Toxicol Environ Health A*. 73 (10) : 669-83.
- Male D, Prostoff J, Broth D, Ivan Roitt. 2006. *Immunology* 7^{ed}. Mosby Inc., Canada.
- Rubin, E. 2001. *Essential Pathology*, 3rd ed, Lippicott Williams & Wilkins, USA.
- Rubin, E. 2009. The Granuloma in Tuberculosis-Friend or Foe. *New England Journals of Medicine*. 360:2471-73.
- Song CH. 2000. Depressed Interleukin-12 (IL-12), but not IL-18, Production in Response to a 30- or 32-kilodalton *Mycobacterial* Antigen in Patients with Active Pulmonary Tuberculosis. *IAI journal*. 68 (8) : 4477-84.
- Saunders BM, Cheers C. 1996. Intranasal Infection of Beige Mice with *Mycobacterium avium* Complex : Role of Neutrophils and Natural Killer Cells. *Infection and Immunity* 64 (10): 4236-41.