



# PENGARUH BENZO[a]PYRENE TERHADAP PERUBAHAN PROFIL SEL SISTEM IMUN PADA MENCIT (*Mus Musculus L*) SETELAH MENDAPATKAN VAKSIN CAMPAK PARAMIKSOVIRUS

# DISERTASI

# UNTUK MEMENUHI PERSYARATAN MEMPEROLEH GELAR DOKTOR

## **OLEH:**

SUWOYO

NIM : 137150100011023

# PROGRAM DOKTOR ILMU LINGKUNGAN

# PROGRAM PASCA SARJANA

PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA MALANG

2019



PENGARUH BENZO[a]PYRENE  
TERHADAP PERUBAHAN PROFIL SEL SISTEM IMUN  
PADA MENCIT (*Mus musculus L*) SETELAH MENDAPATKAN  
VAKSIN CAMPAK PARAMIKSOVIRUS

DISERTASI  
UNTUK MEMENUHI PERSYARATAN  
MEMPEROLEH GELAR DOKTOR



OLEH:

S U W O Y O

NIM : 137150100011023

PROGRAM DOKTOR ILMU LINGKUNGAN

PROGRAM PASCA SARJANA  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA MALANG  
2019

# DISERTASI

# PENGARUH BENZO[a]PYRENE TERHADAP PERUBAHAN PROFIL SEL SISTEM IMUN PADA MENCIT (*Mus musculus L*) SETELAH MENDAPATKAN VAKSIN CAMPAK PARAMIKSOVIRUS

137150100011023

**137150100011023**

Telah dipertahankan di depan pengudi pada tanggal: 26 November 2019 dan dinyatakan memenuhi syarat

Promotor

**Prof. Muhammin Rifa'i, PhD.Med.Sc**

## Ko-Promotor I,

Ko-Promotor II,

**Prof. Widodo, S.Si., M.Si., PhD.Med.Sc**

Prof. Dr. Ir. M. Sasmito Djati, MS

Malang,

## PASCASARJANA

# UNIVERSITAS BRAWIJAYA

## Direktur

Universitas Brawijaya Universitas  
Prof Dr Marjono M Phil

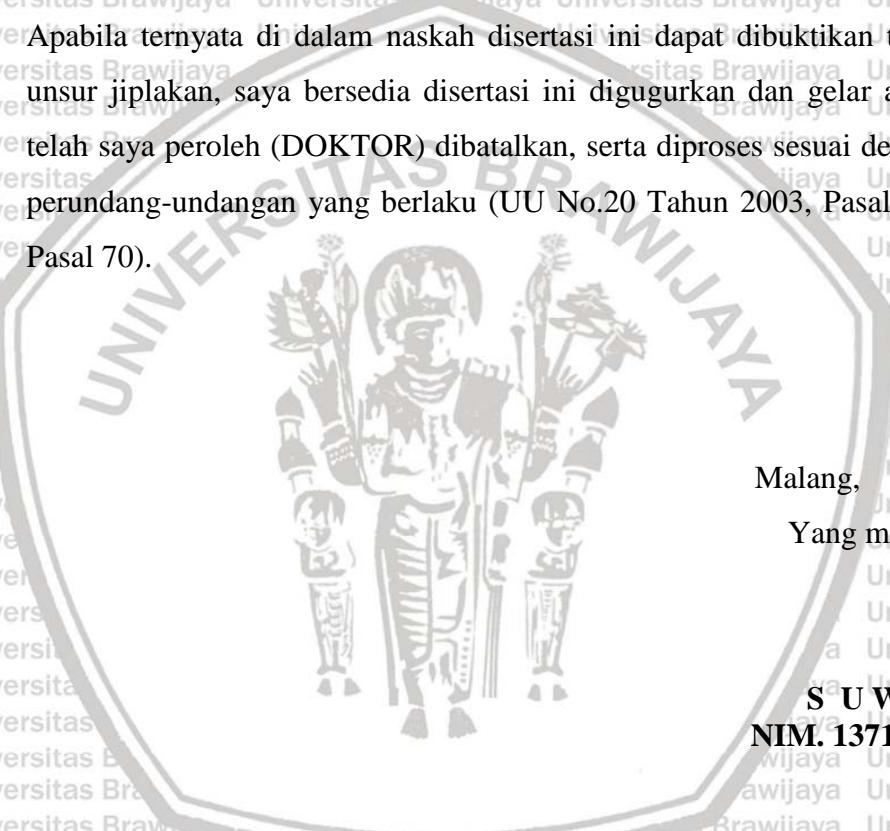
NIP 1962111619881004



**PERNYATAAN ORISINALITAS DISERTASI**

Saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa sepanjang pengetahuan saya, di dalam naskah disertasi ini tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan oleh orang lain untuk memperoleh gelar akademik di suatu perguruan tinggi, dan tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka.

Apabila ternyata di dalam naskah disertasi ini dapat dibuktikan terdapat unsur jiplakan, saya bersedia disertasi ini digugurkan dan gelar akademik yang telah saya peroleh (DOKTOR) dibatalkan, serta diproses sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku (UU No.20 Tahun 2003, Pasal 25 ayat 2 dan Pasal 70).



Malang,  
Yang menyatakan,  
**S U W O Y O**  
**NIM. 137150100011023**





**DATA DIRI**

|    |                         |  |
|----|-------------------------|--|
| 1  | Nama Lengkap            | : Suwoyo   |
| 2  | Tempat/ Tanggal Lahir   | : Kediri, 18 Maret 1968                                |
| 3  | Jenis Kelamin           | : Laki-laki  |
| 4  | Agama                   | : Islam  |
| 5  | Instansi asal           | : Poltekkes Kemenkes Malang                            |
| 6  | Alamat instansi         | : Jl.KH Wakhid 64 B Kediri                             |
| 7  | No. Telp / Fax instansi | : (0354) 773095  |
| 8  | Alamat Rumah            | : Jl. Kantil 36 Kel. Ngampel Kec. Mojoroto Kota Kediri |
| 9  | No. Telp / HP rumah     | : (0354)778040/081357526528                            |
| 10 | Email                   | : suwoyosukijar@yahoo.com                              |

**PENDIDIKAN**

| NO | TINGKAT | PENDIDIKAN           | JURUSAN | TAHUN | TEMPAT                         |
|----|---------|----------------------|---------|-------|--------------------------------|
| 1  | SD      | NGAMPEL 3            |         | 1981  | KEDIRI                         |
| 2  | SMP     | SMPN 4 KEDIRI        |         | 1985  | KEDIRI                         |
| 3  | SMA     | SMAN 2 KEDIRI        | BIOLOGI | 1988  | KEDIRI                         |
| 4  | S-1     | KEPERWATAN           |         | 2001  | UNIVERSITAS BRAWIJAYA MALANG   |
| 5  | S-2     | KESEHATAN MASYARAKAT |         | 2008  | UNIVERSITAS AIRLANGGA SURABAYA |

**PENGALAMAN PEKERJAAN**

| NO | RINCIAN                | TAHUN         |
|----|------------------------|---------------|
| 1  | GURU SPK DEPKES KEDIRI | 1995-2003     |
| 2  | DOSEN POLTEKKES MALANG | 2003-SEKARANG |

**PENGALAMAN SEMINAR/LOKAKARYA/PELATIHAN**

| NO | RINCIAN  | TAHUN |
|----|--|-------|
| 1  | INTERDISCIPLINARY INNOVATIONS AND INTERVENTION IN HEALTH TO ACHIEVE THE SUSTAINABLE DEVELOPMENT GOALS (SDGS) | 2017  |
| 2  | PENATALKSANAAN KEGAWAT DARURATAN NEUNATUS DAN PENERAPAN BABY SPA UNTUK MENUNJANG TUMBUH KEMBANG ANAK         | 2018  |
| 3  | WORKSHOP BASIC FLOW CYTOMETRY  | 2018  |

## KETERANGAN KELUARGA

## 1. Orang tua

| NO | NAMA    | TEMPAT LAHIR | TANGGAL LAHIR   | PEKERJAAN |
|----|---------|--------------|-----------------|-----------|
| 1  | Sukijar | Kediri       | 3 Maret 1912    | Almarhum  |
| 2  | Katemi  | Tulung Agung | 1 Desember 1930 | Almarhum  |

## 2. Isteri/Suami

| NO | NAMA        | TEMPAT LAHIR | TANGGAL LAHIR | PEKERJAAN |
|----|-------------|--------------|---------------|-----------|
|    | Neny Triana | Ponorogo     | 1 April 1972  | Dosen     |
|    |             |              |               |           |

### 3. Anak

| NO | NAMA                     | JENIS KELAMIN | TEMPAT LAHIR | TANGGAL LAHIR   | SEKOLAH/PEKERJAAN |
|----|--------------------------|---------------|--------------|-----------------|-------------------|
| 1  | Nafkhi Pratama Ramadhani | Laki-laki     | Kediri       | 16 Januari 1999 | Mahasiswa         |
| 2  | Anisa Dwitama Graduita   | Perempuan     | Kediri       | 28 Juni 2000    | Mahasiswa         |
|    |                          |               |              |                 |                   |
|    |                          |               |              |                 |                   |
|    |                          |               |              |                 |                   |
|    |                          |               |              |                 |                   |
|    |                          |               |              |                 |                   |

## UCAPAN TERIMAKASIH

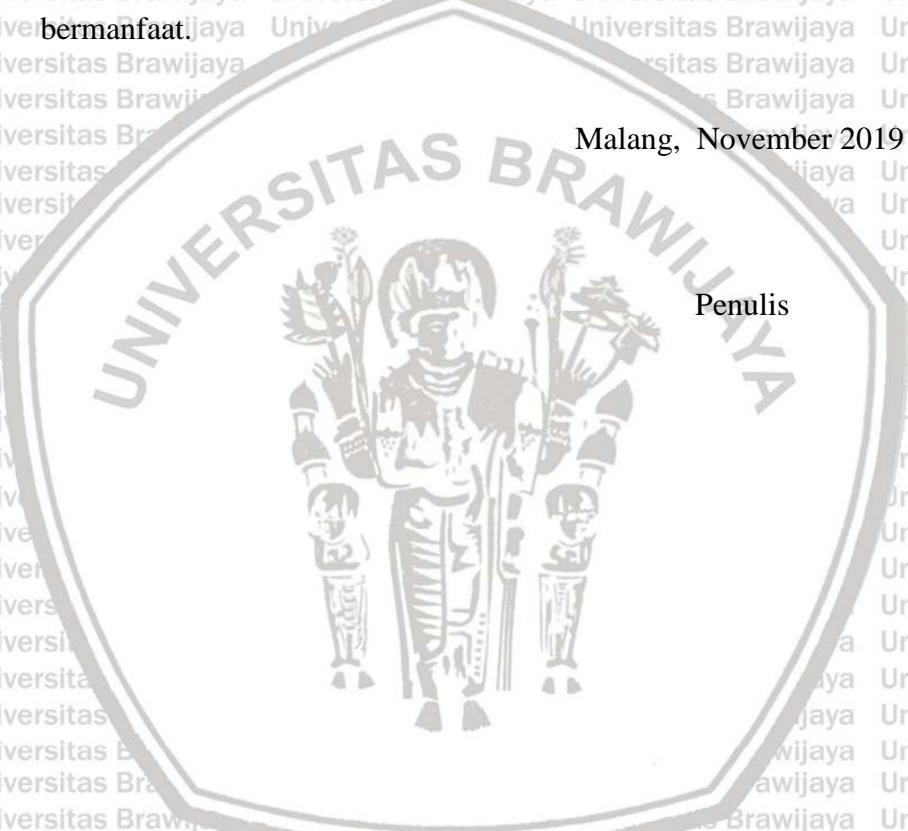
Puji syukur saya panjatkan kepada Allah Subhanahu Wata'ala dengan mengucap Alhamdulillaahi Robbil 'Alamiin, atas segala iRahmad dan Karunia Nya sehingga disertasi ini dapat saya selesaikan.

Terima kasih tak terhingga dan penghargaan yang setinggi-tingginya saya sampaikan kepada Bapak Prof. Muhamimin Rifa'i, M.Si., Ph.D,Med.Sc, selaku Promotor yang dengans penuh kesabaran dan perhatian telah memberikan dorongan, bimbingan, saran dan pengetahuan kepada saya sehingga disertasi ini dapat terselesaikan.

Terima kasih sebesar-besarnya dan penghargaan yang setinggi-tingginya saya sampaikan kepada Bapak Prof. Widodo.,S.Si.,M.Si.,PhD.Med.Sc selaku Ko-Promotor I dan Bapak Prof. Dr.Ir. M. Sasmito Djati.,Ms selaku Ko-Promotor II yang penuh perhatian, dorongan, bimbingan, saran dan pengetahuan kepada saya sehingga disertasi ini dapat terselesaikan.

Dengan terselesaikannya disertasi ini, perkenankan saya mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Direktur Program Pasca Sarjana Universitas Brawijaya Malang, Bapak Prof. Marjono, M.Phil atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada saya untuk mengikuti dan menyelesaikan pendidikan Program Doktor Ilmu Lingkungan
2. Ketua Program Studi Ilmu Lingkungan, Bapak Prof. Dr. Ir. Gatot Ciptadi,DESS,IPU yang telah banyak membantu, memberi dorongan dan bimbingan sehingga saya dapat menyelesaika pendidka ini
3. Direktur Politeknik - Kesehatan Kemenkes Malang. Bapak Susatia.,S.Kp,M.Kes, yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk melanjutkan pendidikan di Program Doktor Ilmu Lingkungan Universitas Brawijaya Malang
4. Para Dosen Program Doktor Ilmu Lingkungan yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu, atas ilmu yang diberikan kepada saya selama mengikuti pendidikan



5. Orang tua, istri dan anak-anakku, serta semua pihak yang telah membantu saya, memberikan do'a, dorongan serta motivasi selama saya menyelesaikan pendidikan. Semoga kebaikan dan bantuan yang telah diberikan kepada saya mendapatkan imbalan dari Allah SWT,

Aamiin.

Penyusunan disertasi ini merupakan salah satu usaha optimal dalam membangun ilmu pengetahuan. Kritik dan saran yang membangun sangat banyak demi kesempurnaan disertasi ini dan semoga disertasi ini bisa lebih bermanfaat.

Malang, November 2019

## Penulis

## ABSTRAK

# PENGARUH BENZO[a]PYRENE TERHADAP

**SETELAH MENDAPATKAN VAKSIN CAMPAK PARAMIKSOVIRUS**

Suwoyo, Muhammin Rifa'i, Widodo, M. Sasmito Djati.

Penyakit campak merupakan penyakit virus akut, menular yang ditandai dengan tiga stadium yaitu : stadium inkubasi, prodromal, dan erupsi. Penyakit campak merupakan salah satu penyakit infeksi yang banyak menyerang anak-anak. Angka kejadian campak di Indonesia masih cukup tinggi. Hasil laporan pelaksanaan imunisasi disampaikan bahwa pencapaian target imunisasi pada balita mencapai lebih dari 90%. Tingginya angka pencapaian target imunisasi, seharusnya diikuti dengan penurunan sampai dengan hilangnya angka kejadian penyakit yang dapat dicegah dengan imunisasi khususnya penyakit campak. Namun tidak seluruh anak di Indonesia dapat menikmati manfaat imunisasi yang telah diberikan. Manusia dalam kehidupannya tidak dapat menghindarkan diri dari senyawa benzo[a]pyrene, baik secara langsung maupun tidak langsung.

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis perubahan profil sel imun pada mencit (*Mus musculus, L*) setelah mendapatkan vaksin campak paramiksovirus dengan paparan benzo[a]pyrene .

Pengaruh benzo[a]pyrene terhadap perubahan profil sel imun pada mencit (*Mus musculus L*) dianalisis secara invivo dengan memberikan injeksi secara intramuscular benzo[a]pyrene 20 mg/kg BB 2 kali/minggu selama 4 minggu. Profil sel sel imun dianalisis dengan menggunakan *flowcytometry*. Analisis dilanjutkan dengan analisis statistik menggunakan software SPSS dengan menggunakan uji one way ANOVA dengan taraf signifikansi ( $p\text{-value} < 0,05$ ).

Profil sel imun setelah minggu ke-4 pada kelompok mencit yang telah mendapatkan vaksin dan diberikan paparan benzo[a]pyrene adalah sebagai berikut: profil sel T naive CD4<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup> mengalami penurunan , aktivasi sel T naive pada CD8<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup>, profil sel CD4<sup>+</sup> IFN $\gamma$  mengalami penurunan, terjadi represi regulasi CD4<sup>+</sup> TNF $\alpha$  terjadi aktivasi CD8<sup>+</sup> IFN $\gamma$  terjadi aktivasi fungsi

regulasi CD4<sup>+</sup>IL1<sup>+</sup>, terjadi represi pada CD11b<sup>+</sup>IL1<sup>+</sup>, terjadi aktivasi CD11b<sup>+</sup>IL17<sup>+</sup>, profil sel CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> mengalami reaksi down regulasi.

Kata kunci : benzo[a]pyrene, penyakit campak, vaksin campak (paramiksovirus), profil sel imun.



## ABSTRACT

**THE EFFECT OF BENZO [a] PYRENE AGAINST  
CHANGES TO THE IMMUNE CELL PROFILE IN MICE(*Mus musculus, L*)  
AFTER OBTAINING THE PARAMYXOVIRUS MEASLES VACCINE**

Suwoyo, Muhammin Rifa'i, Widodo, M. Sasmito Djati.

Measles is an acute, highly contagious viral disease which is characterized

by three stages: incubation stage, prodromal stage, and eruption stage. Measles is one of the infectious diseases that affects children. Figures for the incidence of measles in

Indonesia are still considerably lofty. The results of the immunization implementation report stated that the achievement of the immunization target for toddlers reached over 90%. The significant number of attainments of immunization target should be followed by a decline up to the loss of incidence of diseases that can be prevented by immunization, especially measles. But not all children in Indonesia can enjoy the benefits of immunization that have been given. Humans in their lives cannot avoid the benzo[a]pyrene compound, either directly or indirectly.

The study aims to analyze the changes in the immune cell profile of mice (*Mus musculus, L*) after obtaining the paramyxovirus measles vaccine with the exposure of benzo [a] pyrene.

The effect of benzo [a] pyrene on changes in immune cell profile in mice (*Mus musculus, L*) was analyzed *in vivo* by giving intra muscular injection of benzo [a] pyrene 20 mg/kg BW 2 times/week for 4 weeks. The Immune cell profiles were analyzed by using *flowcytometry*. The analysis continued with statistical analysis utilizing SPSS software by using oneway ANOVA test with a significance level (p-value < 0.05).

The expression of immune cells after the 4th week of the mice group that had been vaccinated and given benzo [a] pyrene exposure were as follows: The naive CD4<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup> T cells profile decreased, the activation of naive T cells on CD8<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>IFN $\gamma$  cell profiledecreased, CD4<sup>+</sup>TNF $\alpha$  regulatoryrepression occurred, CD8<sup>+</sup>IFN $\gamma$  activation occurred, CD4<sup>+</sup>IL1<sup>+</sup> regulatory function activation

occurred, CD11b<sup>+</sup>IL1<sup>+</sup> repression occurred, CD11b<sup>+</sup>IL17<sup>+</sup> activation occurred, CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> cell profile underwent a down regulatory reaction.

**Keywords:** benzo[a]pyrene, measles, measles vaccine (paramyxovirus), immune cell profile.



## RINGKASAN

### PENGARUH BENZO[a]PYRENE TERHADAP

### PERUBAHAN PROFIL SEL IMUN PADA MENCIT (*Mus musculus, L*) SETELAH MENDAPATKAN VAKSIN CAMPAK PARAMIKSOVIRUS

Suwoyo, NIM.13715010001123 Program Doktor Ilmu Lingkungan Program Pasca

Sarjana Universitas Brawijaya Malang, November 2019. Pengaruh Benzo[a]pyrene Terhadap Perubahan Profil Sel Imun Pada Mencit (*Mus musculus L*) Setelah Mendapatkan Vaksin Campak Paramiksovirus. Komisi Pembimbing, Ketua : Muhammin Rifa'i, Anggota : Widodo, M. Sasmito Djati.

Penyakit campak merupakan penyakit virus akut, menular yang ditandai dengan tiga stadium yaitu : stadium inkubasi, stadium prodromal, dan stadium erupsi. Penyakit campak merupakan salah satu penyakit infeksi yang banyak menyerang anak-anak. Angka kejadian campak di Indonesia masih cukup tinggi. Hasil laporan pelaksanaan imunisasi disampaikan bahwa pencapaian target imunisasi pada balita mencapai lebih dari 90%. Tingginya angka pencapaian target imunisasi, seharusnya diikuti dengan penurunan sampai dengan hilangnya angka kejadian penyakit yang dapat dicegah dengan imunisasi khususnya penyakit campak. Manusia dalam kehidupannya tidak dapat menghindarkan diri dari senyawa benzo[a]pyrene, baik secara langsung maupun tidak langsung, diduga benzo[a]pyrene mempengaruhi keberhasilan imunisasi. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis perubahan profil sel imun pada mencit (*Mus musculus L*) setelah mendapatkan vaksin campak paramiksovirus .

Pegaruh benzo[a]pyrene terhadap perubahan profil sel imun pada mencit (*Mus musculus L*) dianalisis secara invivo dengan memberikan injeksi secara intra muscular benzo[a]pyrene 20 mg/kg BB, 2 kali/minggu selama 4 minggu. Profil sel imun dianalisis dengan menggunakan *flowcytometry*. Profil sel imun setelah minggu ke-4 pada kelompok mencit yang telah mendapatkan vaksin dan diberikan paparan benzo[a]pyrene adalah sebagai berikut : profil sel T naive ( $CD4^+CD62L^+$ ) mengalami penurunan, terjadi aktivasi  $CD8^+CD62L^+$ , profil sel  $CD4^+IFN\gamma$  mengalami penurunan, profil sel  $CD4^+TNF\alpha$  menunjukkan represi

regulasi, terjadi aktivasi CD8<sup>+</sup>IFN $\gamma$ , profil sel CD4<sup>+</sup>IL1<sup>+</sup> menunjukkan aktivasi fungsi regulasi, terjadi represi pada CD11b<sup>+</sup>IL1<sup>+</sup>, terjadi aktivasi CD11b<sup>+</sup>IL17<sup>+</sup> dan profil sel CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> menunjukkan reaksi down regulasi.





## SUMMARY

### THE EFFECT OF BENZO[a]PYRENE AGAINST

### THE CHANGE OF IMMUNE CELL PROFILE ON MICE (*Mus musculus, L*)

### AFTER OBTAINING THE PARAMYXOVIRUS MEASLES VACCINE

Suwoyo, NIM.13715010001123 Doctoral Program of Environmental Science,

Postgraduate Program of Brawijaya University Malang, November 2019. The Effect of Benzo[a]pyrene on Change in The Immune Cell Profile of Mice(*Mus musculus, L*)

After Obtaining Paramyxovirus Measles Vaccine. Supervisor, Chairman: Muhamimin

Rifa'i, Members: Widodo, M. SasmitoDjati.

Measles is an acute, highly contagious viral disease, which is characterized

by three stages: incubation stage, prodromal stage, and eruption stage. Measles is one of the infectious diseases that affects the children. Figures for the incidence of measles in Indonesia are still considerably lofty. The result of the immunization implementation report stated that the achievement of the immunization target for toddlers reached over 90%. The high number of attainments of immunization target should be followed by a reduction to the disappearance of the disease incidence that can be prevented by immunization, especially measles. Humans in their lives cannot avoid the benzo[a]pyrene compound, either directly or indirectly, it is suspected that benzo [a] pyrene affects the success of immunization. This study aims to analyze the changes in immune cell profiles in mice (*Mus musculus, L*) after obtaining a Paramyxovirus measles vaccine.

The effect of benzo [a] pyrene on changes in immune cell profile in mice (*Mus musculus, L*) was analyzed invivo by giving intra muscular injection of benzo [a] pyrene 20 mg/kg BB, 2 times/week for 4 weeks. The immune cell profiles were analyzed by using *flowcytometry*.

The expression of immune cells after the 4th week of the mice group that had been vaccinated and given benzo [a] pyrene exposure were as follows: The naïve cell ( $CD4^+CD62L^+$ ) profile decreased, the naive T cells on  $CD8^+CD62L^+$  occurred,  $CD4^+IFN\gamma$  cell profile decreased,  $CD4^+TNF\alpha$  regulatory repression occurred,

CD8<sup>+</sup>IFN $\gamma$  activation occurred, CD4<sup>+</sup>IL1<sup>+</sup> regulatory function activation occurred, CD11b<sup>+</sup>IL1<sup>+</sup> repression occurred, CD11b<sup>+</sup>IL17<sup>+</sup> activation occurred, CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> cell profile underwent a down regulatory reaction.



| <b>DAFTAR ISI</b>                                    |          |
|--|----------|
| Halaman Judul .....                                  | i        |
| Halaman Pengesahan .....                             | ii       |
| Identitas Tim Penguji .....                          | iii      |
| Pernyataan Orisinalita .....                         | iv       |
| Motto.....   | v        |
| Persembahan .....                                    | vi       |
| Riwayat Hidup penulis.....                           | vii      |
| Ucapan Terimakasih .....                             | ix       |
| Abstrak .....  | xi       |
| Abstrac .....  | xiii     |
| Ringkasan.....                                       | xv       |
| Sumary .....   | xvii     |
| Daftar Isi .....                                     | xix      |
| Daftar Tabel .....                                   | xxii     |
| Daftar Gambar .....                                  | xxiii    |
| Daftar Lampiran.....                                 | xxiv     |
| Daftar Istilah .....                                 | xxv      |
| <b>BAB 1 Pendahuluan.....</b>                        | <b>1</b> |
| 1.1 Latar Belakang .....                             | 1        |
| 1.2 Rumusan Masalah.....                             | 3        |
| 1.3 Tujuan Penelitian .....                          | 4        |
| 1.4 Manfaat Penelitian .....                         | 4        |
| <b>BAB 2 Tinjauan Pustaka.....</b>                   | <b>5</b> |
| 2.1 Definisi Penyakit campak pada anak .....         | 5        |
| 2.1.1 Virologi, Patologi dan Patogenesis Campak..... | 6        |
| 2.1.1.1 Virologi.....                                | 6        |
| 2.1.1.2 Patologi .....                               | 7        |
| 2.1.1.3 Patogenesis.....                             | 8        |
| 2.1.2 Manifestasi Klinis Penyakit .....              | 9        |
| 2.1.2.1 Stadium Kataral (prodromal) .....            | 9        |
| 2.1.2.2 Stadium Erupsi.....                          | 9        |
| 2.1.2.3 Stadium Konvalesensi .....                   | 9        |
| 2.1.3 Diagnosis Laboratorium .....                   | 10       |
| 2.1.3.1 Isolasi Virus .....                          | 10       |
| 2.1.3.2 Serologi.....                                | 10       |
| 2.1.4 Diagnosis Banding.....                         | 11       |
| 2.1.4.1 Eksantema Subitum .....                      | 11       |
| 2.1.4.2 German Measles .....                         | 11       |
| 2.1.4.3 Rash Karena Obat .....                       | 11       |
| 2.1.4.4 Infeksi Oleh Riketsia .....                  | 11       |
| 2.1.4.5 Infeksi Mononukleosus .....                  | 11       |
| 2.1.5 Komplikasi.....                                | 11       |
| 2.1.6 Pengobatan.....                                | 13       |
| 2.1.7 Pencegahan .....                               | 13       |

|  |           |
|--|-----------|
| 2.2 Benzo[a]pyrene .....                                       | 14        |
| 2.2.1 Pengaruh Benzo[a]pyrene terhadap DNA/RNA ...             | 16        |
| 2.2.2 Sifat Imunosupresif Benzo[a]pyrene .....                 | 22        |
| 2.3 Respon Imun Terhadap Virus .....                           | 23        |
| 2.3.1 Imunitas Non Spesifik Humoral dan Seluler .....          | 23        |
| 2.3.2 Imunitas Spesifik .....                                  | 24        |
| 2.3.2.1 Imunitas Spesifik Humoral .....                        | 24        |
| 2.3.2.2 Imunitas Spesifik Seluler .....                        | 24        |
| 2.4 Polusi Udara.....  | 28        |
| 2.4.1 Definisi Polusi Udara.....                               | 28        |
| 2.4.2 Jenis-jenis Polusi Udara.....                            | 29        |
| 2.5. Kerangka Konsep.....                                      | 30        |
| 2.6. Hipotesis Penelitian .....                                | 33        |
| <b>BAB 3 DESAIN PENELITIAN .....</b>                           | <b>34</b> |
| 3.1 Rancangan Penelitian.....                                  | 34        |
| 3.2 Lokasi dan Waktu Penelitian .....                          | 34        |
| 3.3 Sampel Penelitian .....                                    | 34        |
| 3.4 Bahan dan Alat Penelitian.....                             | 35        |
| 3.4.1 Bahan Penelitian .....                                   | 35        |
| 3.4.2 Alat Penelitian.....                                     | 35        |
| 3.5 Variabel.....  | 35        |
| 3.5.1 Variabel Bebas (Independent) .....                       | 35        |
| 3.5.2 Variabel tergantung (Dependent).....                     | 35        |
| 3.6 Definisi Operasional .....                                 | 36        |
| 3.7 Prosedur Penelitian .....                                  | 36        |
| 3.8 Prosedur Pembuatan Sediaan Hati dan Pengumpulan Data ..... | 37        |
| 3.9 Teknik Analisis Data.....                                  | 38        |
| <b>BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>                        | <b>39</b> |
| 4.1 Ekspresi CD4 <sup>+</sup> CD62L <sup>+</sup> .....         | 39        |
| 4.2 Ekspresi CD8 <sup>+</sup> CD62L <sup>+</sup> .....         | 42        |
| 4.3 Ekspresi CD4 <sup>+</sup> IFN $\gamma$ <sup>+</sup> .....  | 45        |
| 4.4 Ekspresi CD4 <sup>+</sup> TNF $\alpha$ <sup>+</sup> .....  | 47        |
| 4.5 Ekspresi CD8 <sup>+</sup> IFN $\gamma$ <sup>+</sup> .....  | 50        |
| 4.6 Ekspresi CD4 <sup>+</sup> IL-1 <sup>+</sup> .....          | 53        |
| 4.7 Ekspresi CD11b <sup>+</sup> IL-1 <sup>+</sup> .....        | 56        |
| 4.8 Ekspresi CD11b <sup>+</sup> IL-17 <sup>+</sup> .....       | 59        |
| 4.9 Ekspresi CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> .....          | 62        |
| <b>BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>                        | <b>65</b> |
| 5.1 Kesimpulan .....   | 65        |
| 5.2 Saran.....   | 65        |
| Daftar Pustaka.....  | 66        |
| Lampiran 1 Prosedur Penelitian.....                            | 70        |
| Lampiran 2 Langkah-langkah Analisis Flowcytometry .....        | 75        |
| Lampiran 3 Hasil Analisis Flowcytometry minggu ke-2 .....      | 78        |
| Lampiran 4 Hasil Analisis Flowcytometry minggu ke-4 .....      | 83        |
| Lampiran 5 Hasil Analisis ANOVA minggu ke-2.....               | 88        |
| Lampiran 6 Hasil Analisis ANOVA minggu ke-4.....               | 106       |
| Lampiran 7 Ethical Clearence.....                              | 124       |



## DAFTAR TABEL

The logo of Universitas Brawijaya is a circular emblem. The outer ring contains the text "UNIVERSITAS BRAWIJAYA" in a bold, sans-serif font. Inside the circle, there is a central figure of a person standing, holding a long staff or spear. This central figure is flanked by two smaller figures, one on each side. The entire design is rendered in a light gray color against a white background.

| <b>DAFTAR GAMBAR</b> |   |    |
|----------------------|---|----|
| Gambar 2.1           | Gejala Klinis Campak.....                                 | 5  |
| Gambar 2.2           | Virus Campak.....   | 6  |
| Gambar 2.3           | Cincin Aromatic Benzo[a]ppyrene.....                      | 14 |
| Gambar 2.4           | Proses Pemecahan Benzo[a]pyrene.....                      | 16 |
| Gambar 2.5           | Proses Metabolisme Karbo Hidrat.....                      | 18 |
| Gambar 2.6           | Kerangka Konsep Penelitian.....                           | 32 |
| Gambar 4.1           | Ekspresi CD4 <sup>+</sup> CD62L <sup>+</sup> .....        | 39 |
| Gambar 4.2           | Ekspresi CD8 <sup>+</sup> CD62L <sup>+</sup> .....        | 42 |
| Gambar 4.3           | Ekspresi CD4 <sup>+</sup> IFN $\gamma$ <sup>+</sup> ..... | 45 |
| Gambar 4.4           | Ekspresi CD4 <sup>+</sup> TNF $\alpha$ <sup>+</sup> ..... | 47 |
| Gambar 4.5           | Ekspresi CD8 <sup>+</sup> IFN $\gamma$ <sup>+</sup> ..... | 50 |
| Gambar 4.6           | Ekspresi CD4 <sup>+</sup> IL-1 <sup>+</sup> .....         | 53 |
| Gambar 4.7           | Ekspresi CD11b <sup>+</sup> IL-1 <sup>+</sup> .....       | 56 |
| Gambar 4.8           | Ekspresi CD11b <sup>+</sup> IL-17 <sup>+</sup> .....      | 59 |
| Gambar 4.9           | Ekspresi CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> .....         | 62 |



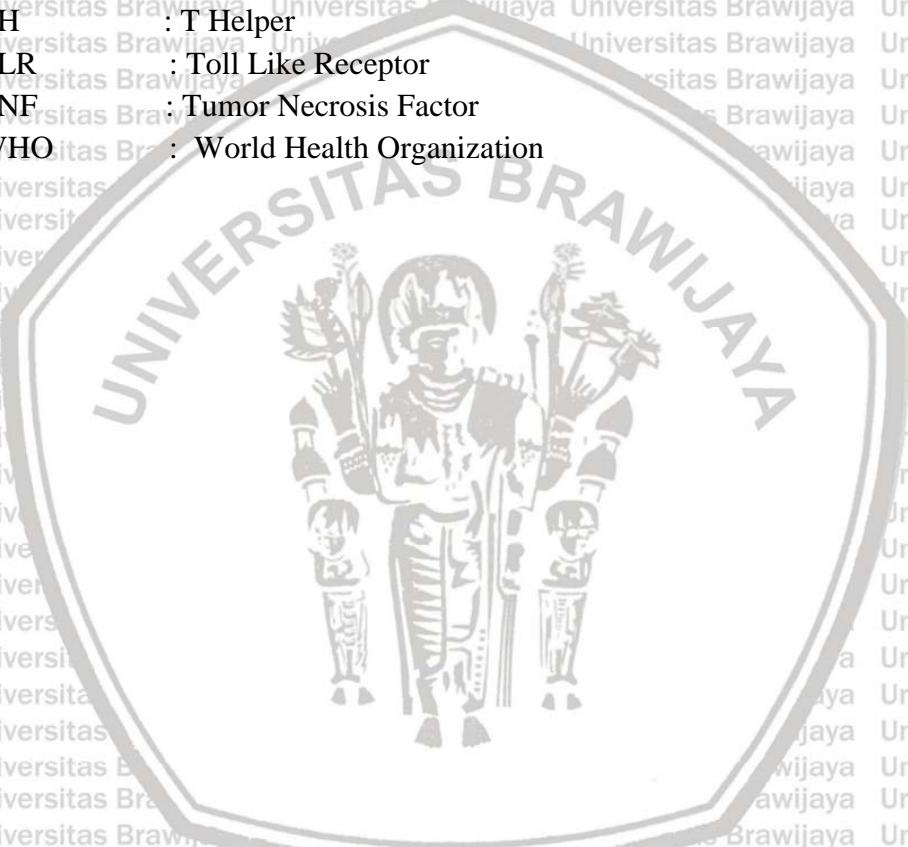
|  | <b>DAFTAR LAMPIRAN</b> |                       |
|--|------------------------|-----------------------|
| Lampiran 1 Prosedur Penelitian.....                      | 70                     | universitas Brawijaya |
| Lampiran 2 Langkah-langkah Analisis Flowcytometri.....   | 75                     | Universitas Brawijaya |
| Lampiran 3 Hasil Analisis flowcytometri minggu ke-2..... | 78                     | Universitas Brawijaya |
| Lampiran 4 Hasil Analisis flowcytometri minggu ke-4..... | 83                     | Universitas Brawijaya |
| Lampiran 5 Hasil Analisis ANOVA minggu ke-2.....         | 88                     | Universitas Brawijaya |
| Lampiran 6 Hasil Analisis ANOVA minggu ke-4.....         | 106                    | Universitas Brawijaya |
| Lampiran 7 Ethical Clearance.....                        | 124                    | Universitas Brawijaya |



**DAFTAR SINGKATAN DAN ISTILAH**

|                 |  |
|-----------------|--|
| AhR             | : Aryl hydrocarbon Receptor                              |
| AHR             | : Airway Hyper Responsiveness                            |
| AIDS            | : Aquired Imune Defisiensi Sindroma                      |
| APC             | : Antigen Presenting Cell                                |
| ARNT            | : arn Nuclear Translocation                              |
| As              | : Arsenic  |
| BP              | : Benzo[ap]yrene   |
| BPDE            | : Benzo[al]pyrene Diolepoide                             |
| Cd              | : Cadmium  |
| CD              | : Cluster of Dfferentiation                              |
| CFC             | : Cloro Fluoro Carbon                                    |
| CO              | : Carbonmonoxida   |
| Cr              | : Chromium   |
| CTL             | : Cytotoxic T Lymphocyte                                 |
| CYP1A1          | : Cytochrome P450, Family 1, Sub Family A, Polypeptide 1 |
| DC              | : Dendritic Cell   |
| DNA             | : Diocsiro Nucleic Acid                                  |
| DMBA            | : Dimethylbenzanthrancene                                |
| ELISA           | : Enzyme-Linked Imunosorbent Polypeptide 1               |
| EMH             | : Extra Medullary Hematopoesis                           |
| EPA             | : Environmental Protection Agency                        |
| GC              | : Germinal Center  |
| HC              | : Hidrocarbon  |
| HER             | : Human Epidermal growth factor Receptor                 |
| HI              | : Hemaglutinin Inhibisi                                  |
| IARC            | : Internatioanl Agency For Research on Cancer            |
| IFN             | : Interferon   |
| Ig              | : Imunoglobulin  |
| IL              | : Interleukin  |
| IU              | : International Unit                                     |
| KLB             | : Kejadian Luar Biasa                                    |
| LFA             | : Leukocyte Function Associated antigen                  |
| LN              | : Lymph Nodes  |
| MHC             | : Major Histocompatibility Complex                       |
| NK              | : Natural Killer   |
| NO <sub>2</sub> | : Nitrogen dioxidas                                      |
| NOX             | : Natrium Oxida  |
| OVA             | : Ovalbumin Antigen                                      |
| PAH             | : Polycyclic Aromatic Hydrocarbon                        |
| Pb              | : Plumbum  |

|                 |  |
|-----------------|--|
| PBS             | : Posphat Buffer Saline                    |
| PCBs            | : Polychlorinted Biphenyls                 |
| PM              | : Particular Mater                         |
| PMN             | : Poly Morpho Nuclear                      |
| RNA             | : Ribo Nucleic Acid                        |
| SLAM            | : Signaling Lymphocyte Activation Molecule |
| SO <sub>2</sub> | : Sulfurdioksida                           |
| SPF             | : Spesific Patogen Free                    |
| SPM             | : Suspended Particular Mater               |
| SNI             | : Standar Nasional Indonesia               |
| SSPE            | : Subacute Schlerosis Panensefalitis       |
| TCR             | : T-Cell Receptor                          |
| TH              | : T Helper                                 |
| TLR             | : Toll Like Receptor                       |
| TNF             | : Tumor Necrosis Factor                    |
| WHO             | : World Health Organization                |



## BAB 1

### PENDAHULUAN

#### 1.1 LATAR BELAKANG

Penyakit infeksi yang sampai saat ini masih menimbulkan masalah bagi anak-anak di Indonesia adalah campak (Rudolph, 2006). Angka kejadian campak di Indonesia masih cukup tinggi. Pada tahun 2014, dilaporkan terdapat 12.943 kasus campak. Angka tersebut menunjukkan adanya peningkatan dari tahun sebelumnya yaitu sebesar 11.521 kasus. Frekwensi Kejadian Luar Biasa (KLB) campak tertinggi berada di Jatim dengan frekwensi 41 kejadian dengan 187 kasus. Angka ini diikuti oleh kejadian di Banten dan Provinsi Sumatera Selatan, yang masing-masing 14 KLB (Untung Suseno, 2015)

Berdasarkan laporan Kementerian Kesehatan Propinsi Jawa Timur disampaikan bahwa prevalensi campak terjadi secara fluktuatif. Kasus campak tertinggi terjadi pada tahun 2006 sebanyak 5.530 kasus. Sebagai upaya menurunkan kejadian tersebut, telah dilakukan kampanye campak secara terus menerus. Pada tahun 2012 kasus campak turun menjadi 1.085 kasus, namun insiden campak meningkat di tahun 2013 sebanyak 2,529 kasus. Pada tahun 2014 kasus campak mengalami penurunan menjadi 762 kasus. Berdasarkan hal tersebut maka diharapkan pada tahun 2015 cakupan imunisasi di Jawa timur mencapai 95%, dan tahap eliminasi campak akan tercapai (Harsono, 2015).

Di Jawa Timur angka kejadian campak tersebar diseluruh kota dan kabupaten. Imunisasi merupakan salah satu upaya preventif bagi anak, meskipun angka kejadiannya masih cukup tinggi setiap tahun. Berdasarkan data yang dilaporkan pada tahun 2012, di kota Surabaya terdapat 383 kasus campak yang merupakan angka tertinggi di Jawa Timur. Kota-kota lain angka kejadiannya hampir merata diseluruh kota dan kabupaten. Insiden measles di Kota Kediri pada tahun 2015 sebanyak 43 kasus (Sentot Imam, 2016).

Dari hasil pelaksanaan imunisasi disampaikan bahwa pencapaian target imunisasi pada balita mencapai lebih dari 90%. Angka tersebut ditunjukkan dari laporan mulai dari tingkat kabupaten dan kota, tingkat Propinsi dan tingkat Nasional. Tingginya angka pencapaian target imunisasi, seharusnya diikuti

dengan penurunan sampai dengan hilangnya angka kejadian penyakit campak (Untung suseno, 2015).

Ketidak seimbangan antara host, agent dan environment memicu terjangkitnya penyakit infeksi pada masa anak. Munculnya penyakit infeksi akan lebih mudah terjadi apabila terjadi penurunan sistem kekebalan tubuh. Faktor penyebab penurunan kekebalan pada manusia khususnya pada anak dapat dipicu oleh berbagai hal. Penyebab melemahnya kekebalan tubuh salah satunya adalah akibat tingginya angka pencemaran baik pencemaran tanah, pencemaran air, pencemaran udara dan pola hidup sehari-hari (Rudolp, 2006). Pola hidup sering kali berkaitan dengan budaya masyarakat setempat termasuk diantaranya adalah budaya makan.

Budaya makan masyarakat Indonesia, banyak dilakukan dengan diasap, dibakar dan dipanggang. Pola mengkonsumsi makanan tersebut semakin membudaya dan berlanjut pada penerapan pola makan pada anak. Kewaspadaaan terhadap pola ini perlu ditingkatkan, karena makanan tersebut terutama yang dibakar dan dipanggang terlalu kering diindikasikan mengandung senyawa benzo[a]pyrene. Kadar benzo[a]pyrene pada ikan yang diasap bisa mencapai 97,2 ppm, melewati ambang batas yang ditetapkan SNI 0,005 ppm (sarnia, et al, 2018).Senyawa benzo[a]pyrene yang masuk ke dalam tubuh bersifat karsinogenik, imunotoksik dan imunosupresif yang berkemampuan menekan sistem imunitas tubuh (Hengartner, 1996). Sifat imunosupresif benzo[a]pyrene dilakukan melalui hambatan pada perkembangan berbagai sel imunokompeten, terutama sistem imun yang diperankan oleh sel T dan sel B (Laupeze, 2002).

Manusia dalam kehidupannya tidak dapat menghindarkan diri dari senyawa benzo[a]pyrene. Senyawa benzo[a]pyrene yang ada di lingkungan, minginvasi tubuh melalui saluran pencernaan makanan, kulit dan saluran pernafasan. Benzo[a]pyrene yang masuk melalui saluran pernafasan dapat terjadi akibat polusi bahan berbahaya dan beracun di udara. Perubahan sifat atau konsentrasi zat yang mengganggu lingkungan biotik dan abiotik disebut sebagai Bahan Berbahaya dan Beracun (B3) ( Pasal 1(17) UU No. 23 1977).

Benzo[a]pyrene sebagai salah satu top-twenty dari B3 versi *Environmental Protection Agency* (EPA) tahun 1997, (Kenrad Nelson, 2015).

Mengingat besarnya efek yang ditimbulkan oleh benzo[a]pyrene, maka

menghindarkan diri dari pajanan polutan tersebut perlu dilakukan. Besarnya pajanan dan daya tahan host akan menentukan efek yang ditimbulkan oleh polutan. Seluruh bagian tubuh dapat terkena efek polutan yang masuk melalui proses inhalasi. Efek polutan terhadap jaringan tubuh ditentukan oleh zat aktif yang dibawa oleh polutan dan ukuran polutan(Kenrad Nelson, 2015). Dari hasil penelitian dilaporkan bahwa di Indonesia 70% pencemaran udara disebabkan oleh kendaraan bermotor. Kendaraan bermotor mengeluarkan berbagai zat-zat berbahaya antara lain : timbal hitam ( Pb) 100%, *Suspended particular matter* (SPM) 13-14%, hidrokarbon 71-81 %, dan natrium oksida (NOX) 39-73% (Kendrad Nelson, 2015).

Tingginya tingkat polusi udara, seiring dengan meningkatnya populasi manusia dan bertambahnya kebutuhan manusia. Sumber utama polusi di Indonesia adalah kendaraan bermotor dengan emisi gas yang buruk. Hal tersebut disebabkan perawatan yang kurang memadai dan penggunaan bahan bakar dengan kualitas yang kurang baik, antara lain karena kandungan kadar timbal yang tinggi yang mengakibatkan tingginya Partikulat Mater diudara. Kadar Partikulat Mater yang tinggi, seiring dengan tingginya benzo[a]pyrene diudara. Sifat benzo[a]pyrene yang hidrofobik sehingga sulit diekskresikan dari dalam tubuh dan mudah terakumulasi pada jaringan tubuh. Dengan struktur yang menyerupai basa nukleat, benzo[a]pyrene mudah menyusupkan diri pada untaian DNA yang berakibat menghalangi produk inter leukin (IL-1) yang menyebabkan kelainan induksi kimia pada fungsi sel (Davila, 1996). Keadaan ini mengakibatkan gangguan pada sistem tubuh yang memicu munculnya berbagai penyakit infeksi, termasuk penyakit campak. Berdasarkan hal tersebut diatas, maka perlu diteliti

“ Bagaimanakah pengaruh benzo[a]pyrene terhadap perubahan profil sel imun pada mencit (*Mus musculus, L*) setelah mendapatkan vaksin campak paramiksovirus?”

## 1.2 RUMUSAN MASALAH

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah :

Bagaimanakah pengaruh benzo[a]pyrene terhadap perubahan profil sel imun pada mencit (*Mus musculus, L*) setelah mendapatkan vaksin campak paramiksovirus?

### 1.3 TUJUAN PENELITIAN

Menganalisis profil sel imun pada mencit (*Mus musculus, L*) setelah mendapatkan vaksin campak paramiksovirus dengan paparan benzo[a]pyrene.

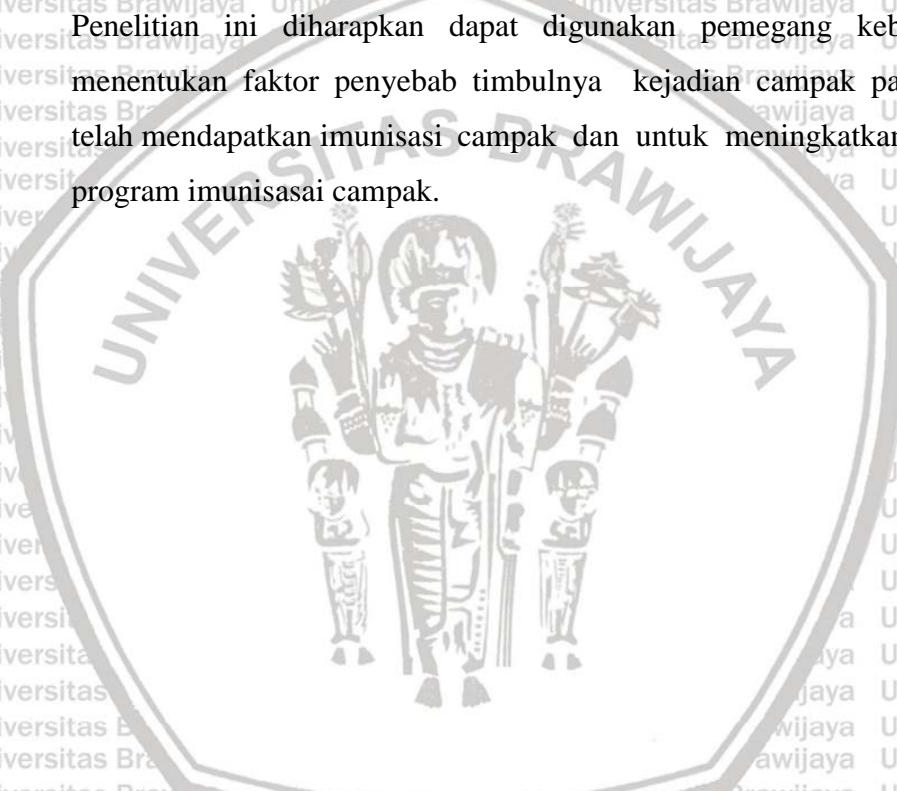
### 1.4 MANFAAT PENELITIAN

#### 1. Manfaat Akademik

Penelitian ini sebagai dasar teori tentang pengaruh polutan benzo[a]pyrene terhadap perubahan profil sel imun pada mencit (*Mus musculus, L*) setelah mendapatkan vaksin campak paramiksovirus.

#### 2. Manfaat Praktis

Penelitian ini diharapkan dapat digunakan pemegang kebijakan dalam menentukan faktor penyebab timbulnya kejadian campak pada anak yang telah mendapatkan imunisasi campak dan untuk meningkatkan keberhasilan program imunisasi campak.



## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Definisi Penyakit Campak Pada Anak

Penyakit campak ialah penyakit infeksi virus akut, menular yang ditandai dengan 3 stadium yaitu : stadium inkubasi, stadium prodromal dan stadium erupsi (Nelson, 2006). Penyakit campak pada anak dengan tiga stadium yang dilalui, akan menentukan lama waktu serangan penyakit. Masa anak yang sebagian besar waktunya digunakan untuk aktifitas bermain, sehingga diperlukan banyak energi untuk aktifitasnya sesuai tumbuh kembangnya. Berdasarkan Undang-undang Republik Indonesia Nomor 23 tahun 2002 yang dimaksud dengan anak adalah seseorang yang belum berusia 18 (delapan belas) tahun, termasuk anak yang masih dalam kandungan. Energi yang banyak digunakan untuk aktifitas ini, berdampak pada gejala klinis yang ditimbulkan , bila anak terserang virus campak.

Penyakit campak pada gejala awal ditunjukkan dengan munculnya bintik merah pada wajah dan belakang telinga, selanjutnya menyebar ke daerah ekstremitas (Rudolph, 2006). Gejala selanjutnya yang ditimbulkan akibat penyakit campak ini antara lain adalah :demam tinggi, paling tinggi dicapai setelah 4 hari, bintik putih pada bagian dalam pipi di sebelah depan gigi premolar mata merah, berair, tenggorokan sakit, pilek, batuk yang khas kering dan keras. Pada beberapa anak terdapat muntah-muntah dan diare. Bintik yang khas ini muncul di belakang telinga, menyebar ke muka, kemudian keseluruhan badan. (Chin J, 2006)

#### Gejala dan tanda campak



Gambar 2.1 Gejala klinis campak (Nelson,2006)

- **Gejala & tanda rubella**

- Demam ringan
- Nyeri pangkal kerongkongan
- Mata Merah
- Sakit Kepala
- Pembesaran kelenjar getah bening
- Ruam merah pada kulit

- **25-40% kasus rubella tidak bergejala**

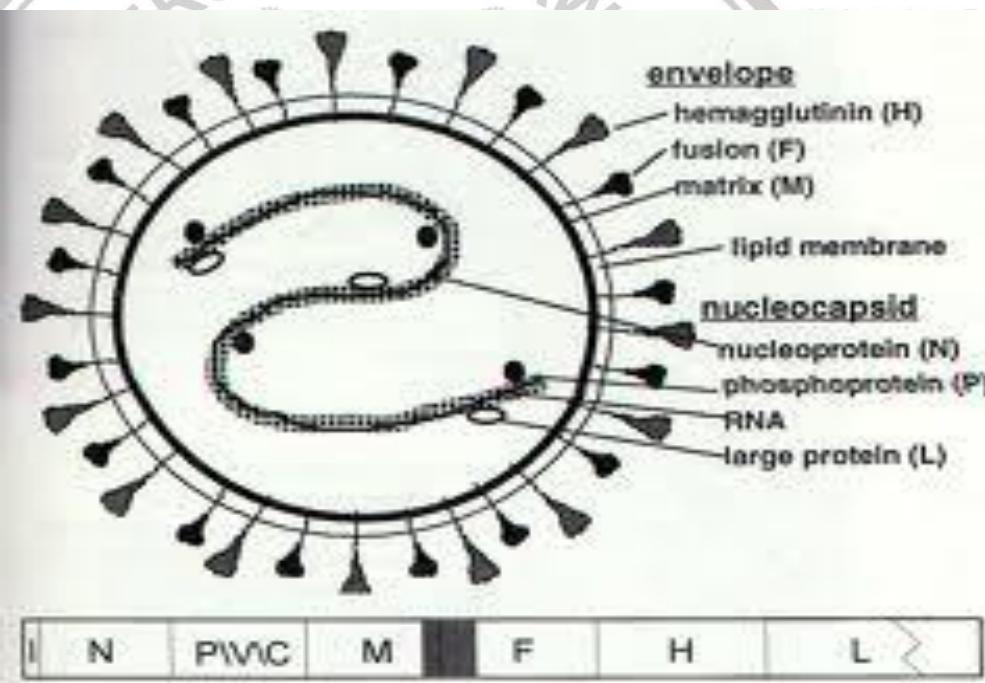
Courtesy of Nelson's Textbook of Pediatrics 18th ed.

## 2.1.1 Virologi, Patologi dan Patogenesis Campak

### 2.1.1.1 Virologi

Virus campak adalah anggota genus *Morbillivirus* dari famili *paramyxovirus* (Rudolph,2006). Sampai saat ini hanya diketahui satu tipe antigen yang diketahui. Pada stadium prodromal dan setelah munculnya ruam, virus dapat ditemukan dalam sekresi nasofaring , darah, dan urine. Virus dapat tetap aktif selama sekurang-kurangnya 24 jam dalam suhu kamar (Samik Wahab, 2006)

Anggota dari *paramyxovirus* dapat menimbulkan berbagai jenis penyakit seperti penyakit pada saluran pernafasan, campak, parotitis epidemika dan penyakit neurologik baik yang akut maupun yang kronis (Samik Wahab, 2006). Gambaran morfologis paramiksovirus dapat dilihat pada gambar 2.2 dibawah ini:



Gambar 2.2 Virus Campak  
(Lin & Richardson, 2016)

Infeksi virus campak, merupakan bagian dari virus yang sering menimbulkan kesakitan dan kematian. Mekanisme seluler dari virus ini belum banyak diketahui. Berdasarkan hasil pengamatan secara invitro didapatkan peningkatan dari *leukocyte function associated antigen 1* (LFA-1) pada sel

limfosit seseorang yang terinfeksi virus campak (Nanan R, 2008). Perubahan morfologi biakan sel yang dipicu oleh virus campak ditandai dengan pembentukan sel raksasa berinti besar dan banyak atau pembentukan inklusi sinsitium dan eosinofil dalam nukleus dan sitoplasma, yang sangat mirip dengan yang diamati di specimen sitologi yang diambil dari sekret traktus *respiraturius* dan banyak penderita campak (Rudolph, 2006). Traktus respiratorius merupakan tempat masuknya virus, yang selanjutnya virus akan menyebar ke jaringan limfatik disekitarnya. Virus campak sering berkembang biak pada daerah lymph nodes dan menyebar pada organ lain melalui aliran darah menuju kulit, ginjal, saluran gastrointestinal dan liver. Virus campak mengkode dengan delapan jenis protein antara lain N,P/C/V,M,F,H dan L yang masing-masing mempunyai fungsi tertentu dan memiliki beberapa reseptor pada host. Reseptor tersebut antara lain CD46 pada permukaan sel berinti, nektin-4 pada sel epitel, dan reseptor SLAM pada APC serta limfosit T dan B yang teraktivasi. Pada tahap awal infeksi protein H akan berikan dengan reseptor virus campak. Selanjutnya protein H berinteraksi dengan protein F yang memudahkan proses penempelan dan fusi envelope virus dengan membran host. Proses ini memudahkan virus masuk kedalam sel. Virus campak melakukan replikasi pada sel epitel dan endotelial, limfosit, monosit dan makrofag (Lin & Richardson, 2016).

### 2.1.1.2 Patologi

Gambaran patologis yang khas adalah adanya distribusi yang luas dari *multinucleated giant cells* akibat dari fusi sel-sel. Sebagai reaksi dari virus maka terjadi eksudat yang serous dan proliferasi sel mononukleus dan beberapa sel polimorfonukleus di sekitar kapiler. Kelainan ini terjadi pada kulit, selaput lendir nasofaring, bronkus, dan konjungtiva (Rudolph, 2006).

Di kulit, nekrosis hialin dini sel epidermis diikuti oleh eksudasi serum perivaskuler, proliverasi sel endotel, dan nekrosis elemen epitel. Lesi di daerah bukal (bintik koplik) terbentuk sebagai nekrosis setempat pada epitel basal kelenjar submukosa, dengan berkumpulnya sel bundar dan pembentukan vesikel (Rudolph, 2006).

Kejadian ensefalomielitis setelah campak, akan menimbulkan serangan demielinasiperivaskuler yang menonjol terutama di substansia alba juga di

lapisan korteks lebih dalam. Bendungan perivaskuler sel mikroglia, limfosit, dan plasma jelas terlihat di sekitar vena kecil, yang sel endotelnya membengkak. Temuan neuropatologi panensefalitis sklerosis subakut (SSPE) (Samik Wahab, 2006).

### 2.1.1.3 Patogenesis

Infeksi virus campak, sering muncul pada anak dengan riwayat imunisasi yang jelek. (Wichmann,2010). Disamping itu, perubahan musim juga akan berpengaruh terhadap munculnya penyakit. Seperti yang dilaporkan di Nigeria bahwa campak mulai muncul pada saat musim hujan (Matthew, J, 2010). Infeksi mulai saat orang yang rentan menghirup percikan mengandung virus dari sekret nasofaring pasien campak. Di tempat masuk kuman, terjadi periode pendek perbanyakannya virus lokal dan penyebaran terbatas, diikuti oleh viremia primer singkat bertiter rendah, yang memberikan kesempatan kepada agen untuk menyebar ketempat lain, tempat virus secara aktif memperbanyak diri di jaringan limfoid. Viremia sekunder yang memanjang terjadi, berkaitan dengan awitan prodromal klinis dan perluasan virus. Lebih kurang kira-kira 9-10 hari setelah terinfeksi sampai permulaan keluarnya ruam, virus dapat dideteksi di seluruh tubuh, terutama di traktus respiratorius dan jaringan limfoid. Virus juga dapat ditemukan di secret nasofaring, urine, dan darah (Rudolph, 2006).

Lesi esensial campak terdapat dikulit, membran mukosa nasofaring, bronkus, saluran cerna, dan konjungtiva. Eksudasi serosa dan proliferasi sel mononuklear dan beberapa sel polimorfonuklear terjadi sekitar kapiler.

Biasanya ada hiperplasia jaringan linfoid, terutama pada apendiks ( Nelson, 2006).

Pada anak yang telah diberikan vaksinasi campak akan memberikan kekebalan. Respon antibodi tubuh terhadap vaksin ditentukan oleh faktor genetik, dan faktor lingkungan (Marchant, 2006). Apabila respon antibodi ini mulai menurun, infeksi virus campak dapat memunculkan berbagai gejala klinis, sampai timbulnya komplikasi. Komplikasi tersebut antara lain : otitis media akut, ensefalitis, bronkhopnemoni. Bronkhopnemoni ini dapat menimbulkan kematian, kekurangan kalori protein,tuberkulosis, leukemia, dan lainnya (Nelson, 2006).

## 2.1.2 Manifestasi Klinis Penyakit

Pada kebanyakan pasien tanda dan gejala campak sangat khas, dan waktu munculnya gejala dan tanda ini serta urutannya selalu konsisten. Manifestasi penyakit ini dibagi dalam 3 stadium :

**2.1.2.1. Stadium kataral (prodromal)**

Stadium ini berlangsung selama 4-5 hari disertai panas, lemah, batuk, fotofobia, konjungtivitis, dan koriza. Menjelang akhir stadium kataral dan 24 jam sebelum timbul enantema, timbul bercak koplik yang patognomonik bagi morbili. Bercak koplik berwarna putih kelabu, sebesar ujung jarum dan dikelilingi oleh eritema, lokasinya di mukosa bukalis berhadapan dengan molar bawah. Kadang-kadang terdapat makula halus yang kemudian menghilang sebelum stadium erupsi. Gambaran darah tepi terdapat limfositosis dan *leucopenia*, secara klinis, gambaran penyakit tersebut menyerupai influenza. Diagnosis perkiraan yang benar dapat dibuat bila ada bercak koplik dan penderita pernah kontak dengan penderita campak dalam waktu 2 minggu terakhir (Nelson, 2006)

## 2.1.2.2 Stadium erupsi

Ruam terjadi kurang lebih hari kelima dari perjalanan penyakit. Eritema makuler yang merah muda, agak menonjol, tidak beraturan, dengan cepat berubah menjadi kehitaman dan berkoalesen menjadi bercak merah yang besar dengan ukuran dan bentuk yang bervariasi. Ruam pertama kali muncul di wajah dan belakang telinga, kemudian menyebar ke dada dan abdomen dan akhirnya ke ekstremitas. Kejadian ini berlangsung selama 4-7 hari dan dapat disertai dengan gatal yang ringan. Deskuamasi halus yang jelas, terutama di wajah dan tubuh, dapat timbul kemudian, berakhir dalam 2-3 hari, lalu timbul pigmentasi coklat muda (Hunardja, 2002).

## 2.1.2.3 Stadium konvalesensi

Erupsi yang berkurang akan meninggalkan bekas yang berwarna lebih tua (hiperpigmentasi) yang kemudian akan hilang sendiri, selain itu pada anak Indonesia akan ditemukan kulit yang bersisik. Hiperpigmentasi ini merupakan patognomonik untuk morbili. Suhu badan akan menurun sampai menjadi normal kecuali ada komplikasi (Nelson, 2006).

Antibodi hemagglutinasi inhibisi (HI) campak atau elisa adalah sangat praktis. Dalam 1 sampai 2 hari serangan ruam, antibodi serum terhadap berbagai antigen campak dapat dideteksi. Antibodi ini meningkat dengan cepat sesudah itu untuk mencapai titer puncak dalam 2 sampai 4 minggu berikutnya. ELISA penetral virus dan antibodi HI menetap pada waktu yang tidak terbatas setelah penurunan inisial selama 2 sampai 6 bulan setelah tercapai titer maksimalnya. Teknik sitologi untuk melihat sel raksasa multinuklear disekret hidung pada periode prodromal dan untuk mendeteksi sel mengandung inklusi di urine, baik saat ruam muncul atau sesaat setelah itu, sangat membantu diagnosis. Dukungan laboratorium yang kurang spesifik ditemukan pada hitung sel darah putih yang dalam hal ini terjadi neutropenia yang jelas di masa prodromal dan selama ruam (Rudolph, 2006).

### **2.1.3 Diagnosis Laboratorium**

Campak biasanya mudah didiagnosis berdasarkan gejala klinis. Kira-kira 5% tidak ada bercak kolplik dan sukar dibedakan secara klinik dari infeksi dengan virus rubella, virus entero tertentu dan virus adeno. Pemastian diagnosis bisa diperkuat dengan pemeriksaan laboratorium yang bisa dilakukan antara lain :

#### **2.1.3.1. Isolasi virus**

Virus campak dapat diisolasi dari darah dan nasofarings penderita sejak 2-3 hari sebelum timbul gejala sampai 1 hari setelah timbul ruam. Biakan sel ginjal atau amnion manusia paling cocok untuk isolasi virus.

#### **2.1.3.2. Serologi**

Antibodi khusus netralisasi, hambatan hemagglutinasi, dan ikatan komplemen terbentuk dini, dengan titer maksimum pada waktu timbul ruam. Penyakit campak ditegakkan secara serologik bila titer antibodi meningkat 4 kali atau bila ditemukan antibodi IgM campak spesifik dalam bahan serum tunggal yang diambil antara 1 dan 2 minggu setelah timbul ruam. Dapat timbul negatif palsu bila serum diambil sebelum 1 minggu atau setelah 2 minggu timbul ruam (Samik Wahab, 2006).

Berbagai metode yang telah dikembangkan untuk pemeriksaan IgM campak. Satu diantaranya adalah dengan pemeriksaan IgM ELISA. Prinsip dasar pemeriksaan ini adalah bahwa antihuman IgM diikatkan pada fase padat lalu ditambah serum yang akan diperiksa, sehingga semua IgM dalam serum

tersebut akan diikat oleh antihuman IgM yang terdapat pada fase padat. Bagian yang tidak terikat dibuang dan dicuci, ditambahkan antigen tertentu yang dilabel dengan enzim, sehingga IgM spesifik terhadap antigen tersebut diatas saja yang dapat mengikat antigen berlabel yang ditambahkan. Aktivitas enzim dari ikatan tersebut ditentukan dengan menambahkan substrat yang mengandung bahan kromagen (Handoko I, 2003)

### **2.1.4 Diagnosis Banding**

#### **2.1.4.1. Eksantema Subitum**

Penyakit ini juga disebabkan oleh virus, biasanya timbul pada bayi berumur 6-36 bulan. Gejala klinis penyakit ini mirip morbili, bedanya *rash* timbul pada saat panas turun.

#### **2.1.4.2. German measles**

Gejala lebih ringan dari morbili, terdiri dari gejala infeksi saluran napas bagian atas, demam ringan, pembesaran kelenjar regional didaerah *occipital* dan *post auricular*. *Rash* lebih halus, yang mula-mula pada wajah lalu menyebar ke batang tubuh dan menghilang dalam waktu 3 hari.

#### **2.1.4.3. Rash karena obat-obatan**

Lebih bersifat urtikaria, sehingga *rashnya* lebih besar, luas, menonjol dan umumnya tidak disertai panas.

#### **2.1.4.4. Infeksi oleh riketsia**

Gejala prodromal lebih ringan, rash tidak dijumpai diwajah dan *coplik's spot* tidak ada.

#### **2.1.4.5. Infeksi Mononukleosus**

Dijumpai limfadenopati umum dan peningkatan jumlah monosit. Penyakit lain seperti *common cold, scarlet fever* (Nelson, 2006).

### **2.1.5 Komplikasi**

Di Indonesia telah diidentifikasi sebagai salah satu dari lima negara yang mana lebih dari satu juta anak tidak mempunyai kekebalan lagi terhadap penyakit campak. Program imunisasi yang meskipun dalam laporannya telah mencapai 70%, namun diperkirakan masih terdapat 30.000 anak meninggal karena campak.

Penurunan energi tubuh menyebabkan mudahnya terjadi komplikasi sekunder seperti otitismedia akut, ensefalitis, bronkhopnemoni (Nelson, 2006).

Pneumonia yang jarang tetapi hampir selalu fatal, yaitu pneumonia interstisialis sekunder seperti otitismedia akut, ensefalitis, bronkhopnemoni (Nelson, 2006).

telah ditemukan pada anak dengan tanggap imun lemah, termasuk anak yang menderita AIDS, yang menderita infeksi campak persisten progresif tanpa eksantema yang khas dan disertai kegagalan yang unik untuk membentuk antibodi campak yang spesifik. Gambaran radiografi menunjukkan gambaran interstisial yang jelas keluar dari kedua daerah hilus. Virus campak dapat diambil berulang kali dari sputum atau apusan nasofaring, dan sel raksasa yang khas dapat dilihat bila sekret nasofaring diwarnai. Usaha untuk mencegah atau mengobati komplikasi ini belum banyak mendapatkan hasil (Rudolph, 2006).

Komplikasi neurologis lebih sering pada campak dari pada eksantema lain.

Insiden ensefalomielitis diperkirakan 1-2/1000 kasus campak yang dilaporkan. Ensefalitis yang mematikan terjadi pada anak yang sedang mendapat pengobatan imunosupresif untuk keganasan. Komplikasi sistem saraf sentral lain, seperti hemiplegia, tromboplebitis serebral, dan neuritis *retrobulber*, jarang ada (Samik Wahab, 2006).

Ensefalitis morbili akut ini timbul pada stadium eksantema, dengan angka kematian yang rendah. Angka kejadian ensefalitis setelah infeksi morbili ialah 1 : 1000 kasus, sedangkan ensefalitis setelah vaksinasi dengan virus morbili adalah 1,16 tiap 1000.000 dosis (Nelson, 2006).

Komplikasi akibat bakteri terutama infeksi traktus respiratorius oleh organisme piogenik, yang paling umum adalah otitis media dan bronkopnemoni. Infeksi ini bisa disebabkan oleh streptokokus beta hemolitikus, pneumokokus, hemofilus influenza tipe B, atau stafilokokus. Peribronkitis dan pneumonitis interstisial terjadi pada hampir semua pasien campak dan sembuh dengan cepat setelah timbulnya ruam dan turunnya demam. Puncak demam yang kedua atau kegagalan turunnya puncak demam yang pertama setelah erupsi mencapai puncak menandakan infeksi bakteri sekunder (Rudolph, 2006). Komplikasi pada anak yang menderita campak sering terjadi pada anak yang mengalami malnutrisi. Anak dengan gangguan imunodefisiensi memiliki risiko komplikasi yang lebih tinggi (Moss & Griffin, 2006).

Immunosuppressive measles encephalopathy didapatkan pada anak dengan morbili . Keadaan ini sering timbul bila penderita sedang mengalami defisiensi imunologik. Faktor pencetus munculnya kejadian ini adalah karena adanya

keganasan atau karena penekanan obat-obatan jenis imunosupresif (Nelson, 2006).

### 2.1.6 Pengobatan

Campak merupakan suatu penyakit yang *self-limiting*, sehingga pengobatannya hanya bersifat simptomatis yaitu : memperbaiki keadaan umum, antipiretika bila suhu tinggi, *sedativum*, obat batuk. Kortikosteroid dosis tinggi biasanya diberikan kepada pemderita morbili yang mengalami ensefalitis yaitu : hidrokortison 100-200 mg/hari selama 3-4 hari, prednison 2 mg/kg.bb/hari untuk jangka waktu seminggu ( Nelson, 2006).

Campak dapat menurunkan cadangan vitamin A, yang menimbulkan tingginya insiden seroftalmia dan ulkus kornea pada anak yang kurang gizi. WHO menganjurkan suplemen vitamin A dosis tinggi disemua daerah dengan defisiensi vitamin A. Suplemen vitamin A juga telah memperlihatkan penurunan frekwensi dan keparahan pneumonia dan laringotrakeobronkitis akibat kerusakan oleh virus campak pada epitel traktus respiratorius bersilia. Pada bayi usia dibawah satu tahun diberikan vitamin A sebanyak 100.000 IU dan untuk pasien lebih tua diberikan 200.000 IU. Dosis ini diberikan sesegera mungkin setelah diketahui terserang campak. Dosis kedua diberikan hari berikutnya, bila terlihat tanda kekurangan vitamin A di mata dan diulangi 1 sampai 4 minggu kemudian (Rudolph, 2006). Disamping itu penderita campak dapat diberikan vitamin E. Berdasarkan hasil penelitian di Tanzania bahwa, pemberian vitamin E pada penderita campak dapat meningkatkan titer Imunoglobulin terhadap penyakit ini (Christopher, 2013)

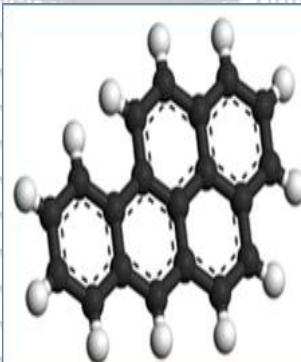
### 2.1.7 Pencegahan

Dalam garis besarnya upaya pencegahan lebih bersifat menghindari dan mencegah terjadinya penyakit. Pencegahan dan pemberantasan penyakit campak, WHO menganjurkan dilakukan dua fase berurutan, yaitu fase pengendalian (*control phase*) dan fase pencegahan dan pemberantasan (*outbreak prevention and elimination phase*). Fase pencegahan dan pemberantasan diperlukan peranan laboratorium, yang mempunyai fungsi untuk memonitor dan membuktikan (*verifying*) penularan virus dan memonitor profil suseptibilitas populasi. Pemeriksaan yang dilakukan di laboratorium adalah pemeriksaan serologis, yaitu dengan memeriksa antibodi spesifik campak IgG dan IgM, dan pemeriksaan

genotip virus campak. Genotip virus campak dapat digunakan untuk menentukan mata rantai penularan penyakit campak di suatu daerah/negara, sehingga upaya pemberantasan dapat dilakukan secara lebih efisien (WHO, 2015). Pencegahan pada fase pengendalian (*control phase*) dilakukan dengan pemberian vaksinasi campak pada anak. Antigen vaksin yang diberikan bermanfaat meningkatkan antibodi dan sel-sel memori pada tubuh terhadap virus campak. Respon tubuh terhadap antigen vaksin yang diberikan akan mengaktifasi sel T dan sel B. Respon sel T diawali dengan pengenalan antigen di jaringan periferal oleh DC immature. Selanjutnya antigen bersama DC akan bermigrasi ke LN, dan terjadi proses maturasi selama migrasi. Pencernaan antigen di LN terjadi secara simultan dan peptida antigen oleh MHC akan dipresentasikan di permukaan DC sehingga dikenali oleh sel T. MHC I akan mempresentasikan peptida antigen dan dikenali oleh sel T CD8<sup>+</sup> dan presentasi MHC II dikenali oleh CD4<sup>+</sup>. Selanjutnya sel T CD4<sup>+</sup> akan teraktivasi dan berdereferensi untuk memproduksi sitokin, sedangkan sel T CD8<sup>+</sup> akan berdereferensi menjadi sel efektor sitotoksik. Sel-sel terinfeksi akan dibunuh oleh sel sitotoksik baik secara langsung maupun tidak langsung (Randolph, 2005).

## 2.2 Benzo[a]pyrene

Benzo[a]pyrene yang juga memiliki nama lain BP atau B[a]P, merupakan salah satu jenis dari PAH (*Polycyclic Aromatic Hydrocarbon*) yang memiliki 5 buah cincin alkil aromatik, berat molekul 252,3, dan rumus kimia C<sub>20</sub>H<sub>12</sub> (Gambar 2.3). Benzo[a]pyrene dihasilkan dari pembakaran tidak sempurna pada suhu 300<sup>o</sup>C atau 600<sup>o</sup>C (ToxProbe Inc, 2010). Benzo[a]pyrene yang terbentuk dengan ikatan cincin aromatic, dapat dilihat seperti pada gambar 2.3 dibawah ini :



Gambar 2.3 Cincin aromatic benzo[a]pyrene (EPA, 2006).

Benzo[a]pyrene ini termasuk jenis PAH yang paling berbahaya. Secara alami, ditemukan sebagai bagian dalam material larva gunung api, terdapat dalam batu bara, jatuh dari atmosfer yaitu *airborne particulate*. Benzo[a]pyrene juga dapat ditemukan sebagai salah satu kandungan di makanan dan air minum.

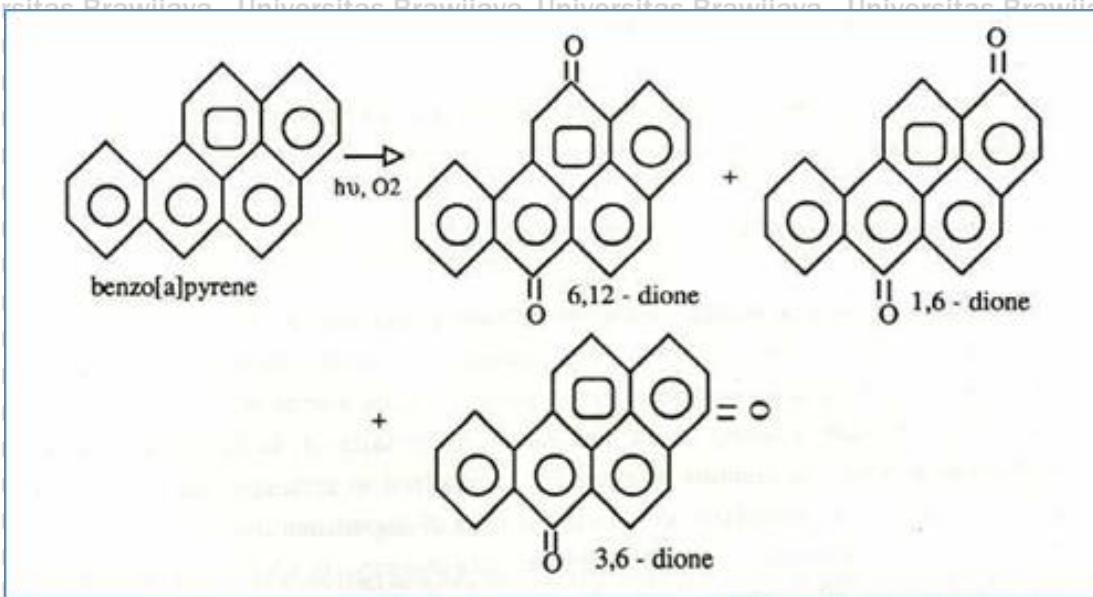
Gomaa *et al.*, (1993) dalam Terzi *et al.*, (2008) mengemukakan bahwa benzo[a]pyrene dapat dihasilkan dari daging yang dipanggang menggunakan arang, makanan yang diasap, dan minuman. Daging, ikan, atau makanan lain dimasak, lemak yang terkandung di dalam otot menetes dan ikut terbakar, sehingga anggota PAH, termasuk benzo[a]pyrene, terbentuk, terbawa bersama asap dan menjadi mantel bagi makanan. IARC (1983) dalam Terzi *et al.* (2008).

Kandungan PAH dapat dikurangi secara signifikan dengan pembakaran menggunakan suhu yang tinggi, sehingga benzo[a]pyrene dalam makanan terjadi karena proses absorpsi dan deposit partikel selama proses pemasakan, proses pirolisis lemak dan pembakaran arang yang tidak sempurna (IARC, 1973 dalam Terzi *et al.*, 2008).

Aktifitas manusia dapat menghasilkan benzo[a]pyrene sebagai polutan antropogenik, misalnya pada asap kendaraan, asap rokok, serta pembakaran kayu dan batu. Delaware Health and Social Services (2009) menjelaskan aktifitas yang dilakukan manusia mengakibatkan terjadinya pelepasan benzo[a]pyrene ke udara, yang kemudian mengalami perubahan secara kimia akibat sinar matahari, sehingga benzo[a]pyrene diubah menjadi bentuk padat. Padatan benzo[a]pyrene tersebut kemudian jatuh dan mengalami proses pemecahan atau fotooksidasi (Gambar 2.4). Proses fotooksidasi ini akan semakin meningkat dengan meningkatnya sinar matahari, oksigen, dan temperatur. Ketiga faktor pendukung fotooksidasi tersebut banyak ditemukan di udara dan kolom air, namun tidak di sedimen. Benzo[a]pyrene yang sudah dikandung dalam sedimen akan mengalami akumulasi, tanpa terjadi proses pemecahan. Pada proses fotooksidasi, benzo[a]pyrene diubah menjadi dione, yang merupakan salah satu bentuk turunan (dervativ) dari *quinone*, yaitu kelas bahan organik yang tersusun atas struktur aromatic (Moss, 2006).

Walaupun mengalami proses fotooksidasi dan menghasilkan produk dione, namun tingkat toksitas derifat benzo[a]pyrene ini masih tetap tinggi dan dapat

mengganggu fisiologis makhluk hidup (Reed *et al.*, 2003). Proses pemecahan benzo[a]pyrene dapat dilihat seperti Gb. 2.4 seperti dibawah ini :



Gambar 2.4 Proses pemecahan benzo[a]pyrene (EPA, 2006)

### 2.2.1 Pengaruh Benzo[a]pyrene terhadap DNA/RNA

Benzo[a]pyrene yang terdapat di lingkungan, baik udara, air maupun sedimen, dapat masuk ke dalam tubuh makhluk hidup melalui cara dihirup (*inhaleted*) atau diserap (*absorbed*) melalui kulit, dan dimakan (*ingested*), sesuai dengan habitat makhluk hidup (Faust dan Reno, 1994; Brown *et al.*, 2009). Benzo[a]pyrene dapat berikatan dengan DNA membentuk struktur yang disebut Bap-DNA *adducts*. Struktur ini bisa mengganggu proses replikasi DNA.

Pembentukan metabolit benzo[a]pyrene merupakan hasil dari bio transformasi polutan melalui pathway signaling AhR (Aryl hydrocarbon Receptor) yang melibatkan enzim sitokrom P450 (CYP1A1 dan CYP1B1). Benzo[a]pyrene merupakan senyawa PAH yang merupakan ligan AhR. AhR dapat mengganggu sistem imun apabila berikatan dengan ligan yang sesuai. Ikatan ligan dengan AhR mempengaruhi deferensiasi sel imun dan dapat menyebabkan imunosupresi. Ikatan Benzo[a]pyrene dengan AhR mengalami proses translokasi dan aktivasi di nukleus untuk membentuk kompleks AhR/ARNT. Melalui bantuan enzim P450 metabolisme Benzo[a]pyrene akan menghasilkan Benzo[a]pyrene-7,8 dihidrol yang selanjutnya dirubah menjadi BPDE bersifat

reaktif terhadap DNA dan DNA adduct yang memicu mutasi gen. Aktivitas ini mengakibatkan antigen gagal mengaktivasi sel T dan menstimulasi GC, sehingga menimbulkan respon antibodi yang lemah dan tidak dihasilkan sel memori (Mc Queen, 2018).

Pada manusia, benzo[a]pyrene yang terdapat di udara dan asap (asap rokok, kendaraan, pembakaran) akan terhirup bersama dengan udara, benzo[a]pyrene, sedangkan benzo[a]pyrene yang berada dalam kandungan makanan akan masuk dalam tubuh melalui sistem pencernaan. Benzo[a]pyrene dalam tubuh akan mengalami berbagai proses, termasuk juga depurasi. Depurasi adalah kemampuan makhluk hidup untuk mengeluarkan toksikan dalam tubuhnya. Bila toksik yang masuk dalam tubuh tidak melampaui kemampuannya untuk mendepurasi, maka toksik tidak akan terakumulasi. Kemampuan depurasi makhluk hidup berbeda-beda, tergantung dari daya tahan tubuh, jenis, ukuran, berapa banyak polutan yang masuk, dan berapa lama makhluk hidup terpapar polutan (James *et al.*, 1995 *dalam* Douben, 2003).

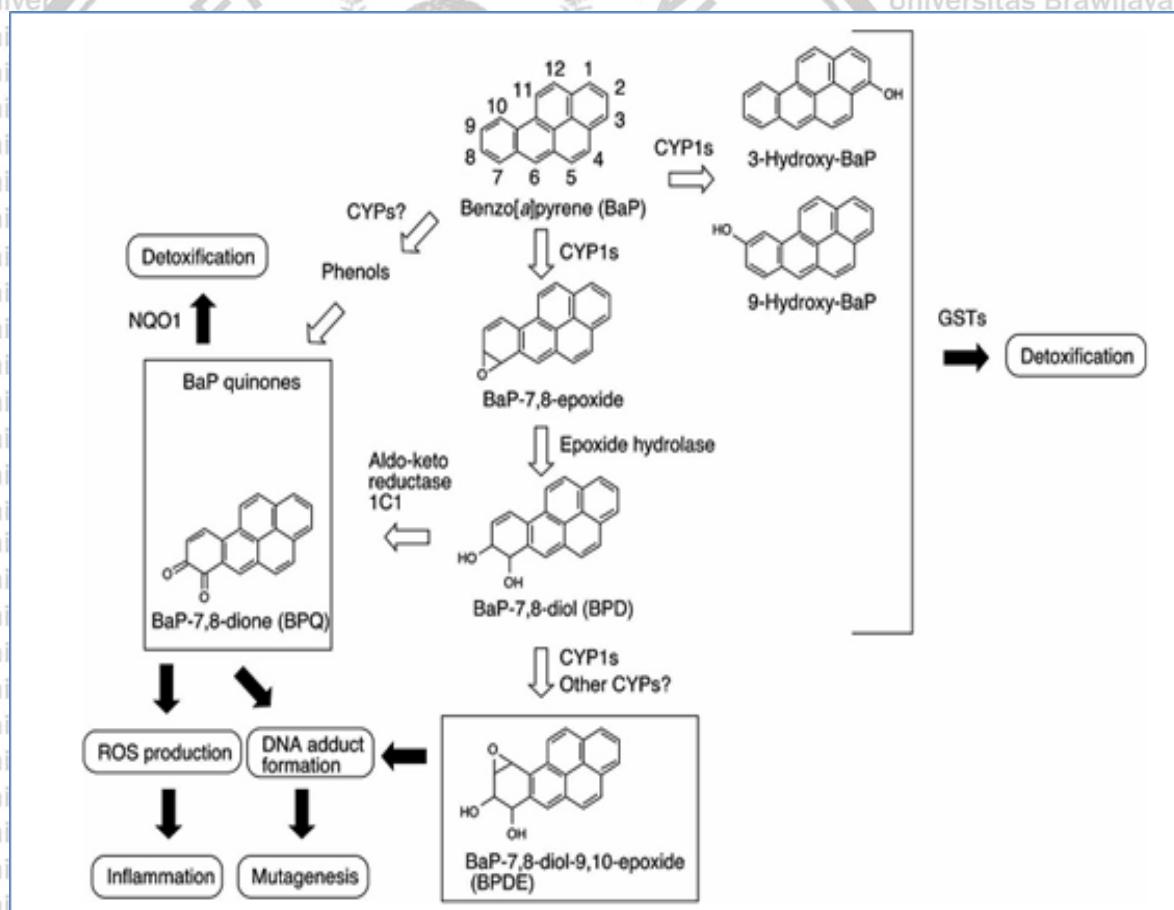
Benzo[a]pyrene, sama seperti golongan PAH lainnya, merupakan zat yang bersifat tidak mudah bereaksi. Tingkat toksitas benzo[a]pyrene tergantung pada bentuk transformasinya dalam tubuh makhluk hidup. Adanya cincin benzene pada struktur kimianya, memudahkan benzo[a]pyrene dan polutan jenis PAH lainnya untuk berikatan dengan oksigen dan menghasilkan ion-ion reaktif, seperti ion karbon. Anyakora *et al.* (2008) menjelaskan bahwa di lingkungan, benzo[a]pyrene akan berubah menjadi lemak (*fat*) yang bersifat mudah larut (*soluble*), masuk dalam tubuh organisme dan terakumulasi.

Kemampuan benzo[a]pyrene yang juga bertransformasi dalam proses fotooksida semakin menambah toksitasnya.

Benzo[a]pyrene bersifat toksik terhadap sel tubuh, akibat metabolismenya yang reaktif terhadap DNA. Berdasarkan penelitian, pemberian benzo[a]pyrene secara oral pada tikus sebagai hewan coba mengakibatkan terjadinya supresi sistem imunitas humorai dan seluler yang dimediasi oleh beberapa sel efektor. Benzo[a]pyrene berpotensi untuk menghambat proliferasi sel limfosit T dan B, produksi sitokin, induksi sel T sitotoksik dan pembentukan antibodi (Laupeze, 2002).

Kemampuan benzo[a]pyrene sebagai carcinogenic berkaitan dengan kemampuan mutagenic. DNA yang terbentuk akibat metabolit carcinogenic berkembang menjadi mutasi pada *oncogenes* (gen yang bertanggungjawab pada pertumbuhan dan diferensiasi sel secara normal) atau *tumor suppressor gene* atau juga dikenal *anti-oncogene* (gene yang melindungi sel dari salah satu bagian proses menjadi kanker). Kandungan kimia pada PAH mengakibatkan timbulnya kanker, termasuk benzo[a]pyrene (Purchase, 1994 dalam Walker, 2009). Timbulnya mutasi pada kodon dalam *HER2/neu* (*Human Epidermal growth factor Receptor 2*, protein yang memberikan reaksi agresif lebih tinggi pada kanker payudara), *myc-oncogenes* (protein yang berikatan dengan DNA atau gen lainnya dan menjadi faktor transkripsi (*sequence-specific DNA-binding factor*), *retinoblastoma* (kanker yang terjadi di retina mata) (Walker, 2009).

Proses metabolisme benzo[a]pyrene dalam tubuh makhluk hidup dapat dilihat pada Gambar 2.5.



Gambar 2.5 Proses metabolisme benzo[a]pyrene dalam tubuh (EPA,2006)

Proses awal benzo[a]pyrene dioksidasi oleh *cytochrome P450*, yaitu kelompok enzyme yang berfungsi mengkatalis dan mengoksidasi substansi organik, menjadi berbagai macam produk. Kelompok cytochrome P450 yang mampu mengoksidasi benzo[a]pyrene adalah *Cytochrome P450, family I, subfamily A, polypeptide 1* (CYP1A1), *Cytochrome P450, family I, subfamily A, polypeptide 2* (CYP1A2), *Cytochrome P450, family I, subfamily B, polypeptide 1* (CYP1B1), *Cytochrome P450, family 2, subfamily C, polypeptide 18* (CYP2C18), *Cytochrome P450, family 2, subfamily C, polypeptide 8* (CYP2C8), *Cytochrome P450, family 2, subfamily C, polypeptide 9* (CYP2C9), dan *Cytochrome P450, family 3, subfamily A, polypeptide 4* (CYP3A4) (Thomson Reuters, 2010).

Benzo[a]pyrene 7,8-oxide mengalami metabolisme dengan bantuan *Epoxide hydrolase* (bagian kelompok cytochrome P450 yang berfungsi untuk detoksifikasi selama terjadi metabolisme obat). Epoxide hydrolase membuka cincin epoxide pada benzo[a]pyrene 7,8-oxide dan mengubahnya menjadi bentuk transdihydrodiol (benzo[a]pyrene 7,8-*trans*-diol), sehingga dapat diekskresikan dari dalam tubuh. Pada tubuh yang memiliki cytochrome P450 1A1, keberadaan benzo[a]pyrene 7,8-*trans*-diol ini ternyata mengakibatkan terjadinya reaksi lain. Benzo[a]pyrene 7,8-*trans*-diol merupakan substrat bagi cytochrome P450 1A1, sehingga terjadi oksidasi yang menghasilkan benzo[a]pyrene 7,8-*trans*-diol, 9,10-oxide, yang memiliki sifat mutagenic tinggi. Pada metabolisme dalam sel, benzo[a]pyrene 7,8-*trans*-diol, 9,10-oxide berinteraksi dengan *guanine residue* DNA. Mutagenic diol epoxide ini masuk ke dalam reticulum endoplasma atau ke nucleus dan berinteraksi dengan DNA, sehingga menyebabkan struktur kimia DNA berubah (*DNA adducts*) (Walker, 2009).

Proses metabolisme dan distribusi benzo[a]pyrene dalam tubuh terjadi secara bertahap dengan waktu yang relative berbeda untuk tiap jenis makhluk hidup. Penelitian pada tikus, menunjukkan proses distribusi benzo[a]pyrene bertahap yang berlangsung cepat. Benzo[a]pyrene masuk melalui proses *inhalation*. Benzo[a]pyrene ditemukan dalam kadar yang tinggi pada liver, esophagus, usus kecil. Polutan benzo[a]pyrene mencapai darah memerlukan waktu 30 menit setelah pemaparan (Sun *et al.*, 1982 dalam Feust dan Reno,

1994). Prosentase kandungan benzo[a]pyrene dalam tiap organ dan jaringan tubuh tikus setelah 5 menit pemapara dapat diidentifikasi sebagai berikut : paru-paru (59.5%), *carcass* (14.4%), liver (12.5%), darah (3.9%), dan usus (1.9%). Pada menit ke 60, prosentase tersebut menjadi paru-paru (15.4%), *carcass* (27.1%), liver (15.8%), darah (1.6%), dan usus (9.9%) (Weyand and Bevan, 1986 dalam Feust dan Reno, 1994). Pada tubuh manusia benzo[a]pyrene ditemukan di urin wanita hamil dan anak-anak, dalam plasenta, darah pada tali pusat, darah pada ibu hamil, organ reproduksi dan ASI (EPA, 2006).

Benzo[a]pyrene dalam organ-organ tersebut berikatan dengan DNA. Ikatan DNA dan benzo[a]pyrene dapat mengganggu proses replikasi DNA (EPA, 2006). Ikatan benzo[a]pyrene-DNA mempengaruhi kinera sel *granulose-lutein* (sel yang berasal dari membran granulosa dari folikel ovarium matang yang mengeluarkan estrogen dan progesteron. Hormon tersebut merupakan bentuk komponen utama dari korpus luteum) dalam ovarii dan dapat menurunkan jumlah sperma yang dihasilkan. Ikatan benzo[a]pyrene-DNA ini juga mempengaruhi jaringan pada masa pembelahan sel, misalnya pada perkembangan awal embrio, sehingga dapat menyebabkan turunnya berat badan bayi (EPA, 2006).

Variasi genetic pada tikus hamil memiliki kemampuan metabolisme benzo[a]pyrene akibat ingest maupun injeksi benzo[a]pyrene. Kemampuan metabolisme ini dipicu oleh AhR (*Aryl hydrocarbon Receptor*) yang mampu berikatan dengan aromatic hydrocarbon termasuk benzo[a]pyrene dan metabolisme oleh cytochrome P450. Efek toksik tersebut terjadi dalam selang waktu yang berbeda-beda (EPA, 2006).

Pemaparan benzo[a]pyrene selama kehamilan juga berimbas pada sistem imun, yaitu gangguan perkembangan *T lymphocytes* (sel limfosit yang bekerja sebagai sel perantara imun yang memiliki reseptor khusus pada permukaan), atropi thymus, penurunan jumlah reseptor thymic glucocorticoid (yang berfungsi dalam metabolisme karbohidrat, lemak, protein, dan imun) (EPA, 2006).

Peristiwa mutasi pada tingkat DNA yang terjadi pada tikus hamil tidak jauh berbeda pada manusia. Benzo[a]pyrene menyebabkan kerusakan yang sangat parah pada sel epitel bronchia manusia. Kerusakan tersebut sama dengan

tingkat kerusakan yang terjadi pada kulit tikus yang terinsiasi benzo[a]pyrene. Kerusakan yang terjadi pada sel epitel tersebut biasanya disebabkan oleh tingginya asap rokok yang dikonsumsi tubuh dan metabolisme yang terjadi di liver (Rojas *et al.*, 2004). Kelainan pada sperma manusia mempunyai kesamaan dengan hasil percobaan pada tikus. Pada sperma manusia, terpaparnya tubuh oleh benzo[a]pyrene menyebabkan terjadinya kelainan pada karakteristik pergerakan sperma yang menjadi hiperaktif, dan perubahan pada reaksi *acrosomal* (Mukhopadhyay *et al.*, 2010). Tubuh manusia memiliki kemampuan untuk mengakumulasi benzo[a]pyrene. Akumulasi hingga mencapai 200  $\mu\text{M}$  dalam tubuh, kerusakan yang terjadi adalah pada sel retina. Paparan benzo[a]pyrene dalam tingkat akumulasi yang rendah, menimbulkan kerusakan yang ringan, demikian sebaliknya (Sharma, *et al.*, 2010).

Penanggulangan kontaminasi benzo[a]pyrene hingga kini belum ditemukan solusinya. Penggunaan suplemen vitamin antioksidan diharapkan mampu mengurangi dampak benzo[a]pyrene (Mooney *et al.*, 2005). Benzo[a]pyrene menjadi mutagenic pada DNA dan RNA sendiri. Penelitian mengenai pengaruh benzo[a]pyrene terhadap RNA telah dilakukan sejak lama, terutama berkaitan dengan kinerja RNA yang sangat dipengaruhi oleh sintesa protein. Hasil penelitian menemukan bahwa metabolit benzo[a]pyrene, yaitu  $7\beta,8\alpha$ -dihydroxy- $9\alpha,10\alpha$ -epoxy-7,8,9,10-tetra-hydrobenzo[u]pyrene, ternyata dapat memodifikasi terjemahan sel protein bebas yang disintesa oleh *globin* (bagian dari protein) dalam mRNA kelinci. Modifikasi tersebut mengakibatkan terbentuknya 2 ikatan metabolit-guanosine, 4 ikatan metabolit-adenosin, dan 1 ikatan metabolit-residu cytidine. Meskipun ikatan-ikatan tersebut tidak mempengaruhi proses pemanjangan terjemahan mRNA dan tidak menunjukkan perubahan kompleksasi pada ribosom, namun secara signifikan ikatan modifikasi tersebut menurunkan kemampuan mRNA untuk menerjemahkan sintesa protein. Hal tersebut disebabkan benzo[a]pyrene pada RNA menjadi agen dalam aktifasi asam amino dan menghalangi transfer asam amino dari RNA transfer menuju ribosom (Grunbergen, *et al.*, 1980).

Benzo[a]pyrene juga merangsang penggabungan protein hidrolisat pada alga dan asam amino dalam RNA transfer. Hradec (1967) menjelaskan dosis benzo[a]pyrene dalam tubuh untuk dapat mengganggu kinerja RNA adalah 10 µg, namun efek dosis tersebut masih dapat dihilangkan oleh enzim dengan pH 5. Pengaruh carcinogen benzo[a]pyrene bagi RNA ini dapat meningkatkan penggabungan aktif antara benzo[a]pyrene-RNA pada RNA transfer dan ribosom. (Patel, *et al.*, 2006).

Benzo[a]pyrene dapat menyebabkan munculnya anggota baru dari cytochrome P450 pada *Fundulus heteroclitus*, yaitu CYP1C, enzyme P450 yang belum diketahui fisiologi, penyebab, dan fungsinya dalam metabolisme. Hasil cloning 2 buah alel DNA menunjukkan bahwa benzo[a]pyrene memiliki peran sebagai penyebab munculnya gen baru ini. CYP1C1 (enzyme CYP1C yang terdapat pada mRNA) dihasilkan oleh organ, jantung, insang, dan liver. Enzyme ini menjadi pemicu aktifnya PAH sehingga menjadi bersifat karsinogenik menengah pada mekanisme toksitas PAH pada embrio. Jumlah CYP1C1 pada mRNA lebih besar dibandingkan enzyme P450 jenis CYP1A pada otak, mata, dan gonad. Jumlah CYP1C yang dihasilkan oleh jantung jantan dan betina dapat mencapai 31 dan 17 lipatan, insang jantan dan betina mencapai 7 dan 4 lipatan, dan pada liver jantan dan betina mencapai 6 dan 5 lipatan. Jumlah enzyme ini pada tingkat embrio mencapai 3-lebih dari 15 lipatan pada seluruh mRNA embrio (Wang, *et al.*, 2006).

### 2.2.2. Sifat Imunosupresif Benzo[a]pyrene

Senyawa benzopirin merupakan salah satu senyawa polisiklik aromatis hidrokarbon, yang perlu diwaspadai karena bersifat imunotoksik, imunosupresif, dan karsinogenik. Terjadinya senyawa polisiklik aromatis hidrokarbon (PAH) ini diduga karena terjadinya pembakaran yang tidak sempurna dari bahan bakar fosil atau bahan organik, melalui proses polimerasi radikal bebas karena reaksi pirolisis. Senyawa PAH dapat berikatan dengan Aryl hydrocarbon Receptor (AhR). Ikatan benzo[a]pyrene dengan AhR berpengaruh terhadap deferensiasi sel imun yang mengakibatkan imunosupresi (Davila, 1996).

Pemaparan beberapa jenis senyawa polisiklik aromatis hidrokarbon, termasuk benzo[a]pyrene dilaporkan dapat menekan pembentukan antibodi pada

mukosa usus. Benzo[a]pirin bereaksi dengan cara menghalangi produk interleukin (IL-1) yang menyebabkan terjadinya kelainan induksi kimia pada fungsi sel. Menurut Putra (1997), pemberian senyawa polisiklik aromatis hidrokarbon, seperti *3-methylcholanthrene* atau *7,12 dimethylbenzanthracene* (DMBA), pada tikus akan dapat mengganggu *immune surveillance*, karena bahan tersebut dapat menekan respons imun seluler. Bahan DMBA dilaporkan dapat menghambat aktifitas limfosit T helper dan pertumbuhan limfosit B. Paparan benzo[a]pyrene menurunkan jumlah sel T sitotoksik ( $CD8^+$ ) maupun makrofag aktif. Penurunan sistem imun seluler dan humorai menyebabkan penurunan sel normal (Husen, 2000).

### 2.3. Respon Imun Terhadap Virus

Virus merupakan organisme obligat, umumnya terdiri atas potongan DNA atau RNA yang diselubungi mantel dari protein atau lipoprotein. Respon imun terhadap protein virus menlibatkan sel T atau sel B. Antigen virus yang menginduksi antibodi dapat menetralkan virus dan sel T sitotoksik yang spesifik merupakan imunitas paling efisien pada imunitas proteksi terhadap virus.

Virus merupakan obligat intraselular yang berkembang baik didalam sel, sering menggunakan mesin sintetis asam nukleat dan protein pejamu. Dengan reseptor permukaan sel, virus masuk ke dalam sel dan dapat menimbulkan kerusakan sel dan penyakit melalui berbagai mekanisme. Hal tersebut disebabkan oleh replikasi virus yang mengganggu sintesis protein dan fungsi sel normal serta efek sitopatik virus. Virus nonsitopatik dapat menimbulkan infeksi laten dan DNA virus menetap dalam sel pejamu yang dapat atau tidak mengganggu fungsi sel.

#### 2.3.1 Imunitas nonspesifik humorai dan selular

Prinsip mekanisme imunitas nonspesifik terhadap virus adalah mencegah infeksi. Efektor yang berperan adalah IFN tipe I dan sel NK dan yang membunuh sel terinfeksi. Infeksi banyak virus disertai produksi RNA yang merangsang sel terinfeksi untuk sekresi IFN tipe I, mungkin melalui ikatan dengan TLR. IFN tipe I mencegah replikasi virus dalam sel terinfeksi dan sel sekitarnya yang menginduksi lingkungan antiviral. IFN- $\alpha$  dan IFN- $\beta$  mencegah replikasi virus dalam sel yang terinfeksi.

Sel NK membunuh sel yang terinfeksi oleh berbagai jenis virus yang merupakan efektor imunitas penting terhadap infeksi dini virus, sebelum respon imun spesifik bekerja. Sel NK mengenal sel terinfeksi yang tidak mengekspresikan MHC-I. Untuk membunuh virus, sel NK tidak memerlukan bantuan molekul MHC-I (Baratawidaja, 2010).

### 2.3.2 Imunitas Spesifik

#### 2.3.2.1 Imunitas spesifik humoral

Respon imun terhadap virus tergantung dari lokasi virus dalam pejamu.

Antibodi merupakan efektor dalam imunitas spesifik humoral terhadap infeksi virus. Antibodi diproduksi dan hanya efektif terhadap virus dalam fase ekstraselular. Virus dapat ditemukan ekstraselular pada awal infeksi sebelum virus masuk kedalam sel atau bila dilepas oleh sel terinfeksi yang dihancurkan (khusus untuk virus sitopatik). Antibodi dapat menetralkan virus, mencegah virus menempel pada sel dan masuk kedalam sel pejamu.

Antibodi dapat berperan sebagai opsonin yang meningkatkan eliminasi partikel virus oleh fagosit. Aktivasi komplemen juga ikut berperan dalam meningkatkan fagositosis dan menghancurkan virus dengan envelop lipid secara langsung. IgA yang disekresi dimukosa berperan terhadap virus yang masuk tubuh melalui mukosa saluran napas dan saluran cerna. Imunisasi oral untuk virus polio bekerja untuk menginduksi imunitas mukosa tersebut (Baratawidaja, 2010).

#### 2.3.2.2 Imunitas spesifik selular

Virus yang berhasil masuk kedalam sel, tidak lagi rentan terhadap efek

antibodi. Respon imun terhadap virus intraselular terutama tergantung dari sel CD8<sup>+</sup>/CTL yang membunuh sel terinfeksi. Fungsi utama CTL adalah pemantauan terhadap infeksi virus. Kebanyakan CTL yang spesifik untuk virus mengenal antigen virus yang sudah dicerna dalam sitosol, biasanya disintesis endogen yang berhubungan dengan MHC-I dalam setiap sel yang bernukleus. Untuk diferensiasi penuh, CD8<sup>+</sup> memerlukan sitokin yang diproduksi oleh CD4<sup>+</sup> Th dan konstimulator yang diekspresikan pada sel terinfeksi. Bila sel terinfeksi adalah sel jaringan dan bukan APC, sel terinfeksi dapat dimakan oleh APC profesional seperti sel denritik yang selanjutnya memproses antigen virus dan mempresentasikannya bersama

molekul MHC-I ke sel CD8<sup>+</sup> naif di KGB. Sel yang akhir akan berproliferasi secara masif yang kebanyakan merupakan sel spesifik untuk beberapa peptida virus. Sel CD8<sup>+</sup> naif yang diaktifkan berdereferensi menjadi sel CTL efektor yang dapat membunuh setiap sel bernukleus yang terinfeksi. Efek antivirus utama CTL adalah membunuh sel terinfeksi (Baratawidjaja, 2010).

Patologi yang diinduksi virus merupakan efek direk yang menimbulkan kematian sel pejamu dan kerusakan sel jaringan. Hampir semua tanpa envelop menimbulkan infeksi akut kerusakan. Lisis sel terjadi replikasi dan penyebaran virus ke sel sekitar. Kerusakan patologi sebetulnya lebih sering lebih merupakan akibat respon imun aktif terhadap antigen virus dan epitopnya pada permukaan sel terinfeksi (Baratawidjaja, 2010).

Sel imun tubuh akan teraktivasi bila ada rangsangan antigen dari luar.

Virus merupakan salah satu antigen spesifik yang mampu mengaktifasi sel T untuk mensekresi molekul-molekul yang sesuai. Sel imun tubuh yang terlibat dalam perlawan terhadap antigen antara lain :

#### 2.3.2.2.1 CD4<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup>

Sel T CD4<sup>+</sup> yang mengekspresikan CD62L<sup>+</sup> menandakan status sel T naive. Sel T CD4<sup>+</sup> tersebut disebut sel T regulator. Sel T regulator dapat melakukan supresi dan aktivasi proliferasi sel T secara *in vitro* dan mengendalikan jumlah sel T CD4<sup>+</sup> atau CD8<sup>+</sup> secara *in vivo*. CD62L<sup>+</sup> berfungsi sebagai perantara rolling lekosit pada endotel, membantu ekstravasasi leukosit pada inflamasi, dan dibutuhkan untuk homing pada Hight Endotelial Venula (HEV) pada limfoid periferal (Rifa'i, 2013).

#### 2.3.2.2.2 CD8<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup>

Sel T merupakan komponen sistem tubuh yang sangat penting. Ketika reseptor sel T killer mengenali kompleks antigen MHC I, CD8<sup>+</sup> berfungsi sebagai ko-reseptor yang memperkuat signal transduksi sehingga sel T killer teraktivasi. Sel T CD8<sup>+</sup> yang mengekspresikan CD62L<sup>+</sup> mengindikasikan adanya kerusakan jaringan (Gomes, 2004).

2.3.2.2.3 CD4<sup>+</sup>IFN- $\tilde{\gamma}$ <sup>+</sup>  
Patogen dari luar yang menginfeksi sel akan merespon sistem imun melalui pengenalan peptide pada MHC II, dan sel T CD4<sup>+</sup> yang merupakan sel kompeten untuk merespon antigen tersebut.

Pada fase awal respon imun patogen yang masuk kedalam sel akan ditanggapi oleh TLR-2 dan resptor manosa untuk memacu produksi nitric oxide (NO) didalam sel. Signaling melalui TLR akan menstimuli sekresi IL-12 yang akan memicu NK mensekresi IFN- $\tilde{\gamma}$ <sup>+</sup>. IL-12 juga menstimuli sel T CD4 spesifik untuk mensekresi IFN- $\tilde{\gamma}$ <sup>+</sup> dan TNF- $\alpha$ <sup>+</sup>. Sitokin tersebut mengaktifkan makrofag pada daerah infeksi dan menghasilkan bentukan granuloma (Rifa'i, 2013).

#### 2.3.2.2.4 CD4<sup>+</sup>TNF- $\alpha$ <sup>+</sup>

TNF- $\alpha$ <sup>+</sup> adalah sitokin proinflamasi utama. Sel T CD4<sup>+</sup> yang spesifik akan mensekresi TNF- $\alpha$ <sup>+</sup> untuk melawan infeksi dan pembentukan tumor. Pada pasien dengan HIV positif yang menunjukkan aktivasi TNF- $\alpha$ <sup>+</sup> dengan tingkat CD4<sup>+</sup> yang rendah dapat meningkatkan perkembangan high-grade squamous intraepithelial lesion (HSIL) dan kemungkinan kanker dubur (Haga, *et al.*, 2016).

#### 2.3.2.2.5 CD8<sup>+</sup>IFN- $\tilde{\gamma}$ <sup>+</sup>

Sel T CD8<sup>+</sup> memainkan peran yang dominan dalam peradangan portal, juga merupakan kunci untuk disregulasi sumsum tulang dan extramedullary hematopoiesis (EMH). IFN- $\tilde{\gamma}$ <sup>+</sup> adalah sitokin kunci yang menginduksi fibrosis sumsum tulang, kegagalan sumsum tulang dan EMH (Yuan Yao, *et al.*, 2018). CD8<sup>+</sup> merupakan glikoprotein yang ditemukan pada sel imun seperti sel T sitotoksik. Sel T CD8<sup>+</sup> memiliki peran untuk membunuh sel kanker, sel yang terinfeksi virus, atau sel yang rusak. Sel T sitotoksik akan mengekspresikan *T-cell receptor* (TCR) yang dapat mengenali antigen spesifik. Sel T sitotoksik

yang mengenali sel terinfeksi akan mensekresi sitokin, seperti perforin, granzymes, dan granulysin untuk proses apoptosis.

Mekanisme apoptosis lainnya dilakukan ketika sel T sitotoksik teraktivasi akan mengekspresikan protein FAS ligand yang dapat berikatan dengan CD95 pada sel target (Bakshi, *et al.*, 2014).

#### 2.3.2.2.6 CD4<sup>+</sup>IL-1<sup>+</sup>

IL-1<sup>+</sup> merupakan sitokin pro-inflamasi yang penting untuk respon imun normal dan penyakit inflamasi kronis. Menurut Pulugulla et.all (2018), bahwa sel T CD4<sup>+</sup> dapat mengekspresikan pro IL-1<sup>+</sup> pada monosit yang tidak distimulasi dengan tingkat mRNA IL-1<sup>+</sup> yang relatif rendah (Pulugulla, et.all, 2018). IL-1<sup>+</sup> Merupakan pemeran sentral pengatur respon inflamasi terhadap infeksi. IL-1<sup>+</sup> sebagai molekul proinflamasi untuk melawan infeksi. Sekresi IL-1<sup>+</sup> mempengaruhi hipotalamus sebagai pusat termoregulasi, menyebabkan hiperalgesia, dan peningkatan kadar TNFo<sup>+</sup> (Rifa'i, 2018).

#### 2.3.2.2.7 CD11b<sup>+</sup>IL-1<sup>+</sup>

CD11b<sup>+</sup> dikenal sebagai integrin alpha M, yang menjadi basic dari keluarnya integrin yang mengenali adhesi antar sel dan komponen ekstra seluler. Integrin adalah reseptor pensinyalan aktif yang merekrut kesitus inflamasi dan peningkatan aktivasi sel. Integrin alpha M (CD11b) dirakit dengan integrin beta-2 (CD18) menjadi reseptor yang dikenal sebagai macrophage antigen-1 (Mac-1) atau komplemen tipe 3 (CR3) komplemen (Baratawidjaya, 2010).

#### 2.3.2.2.8 CD11b<sup>+</sup>IL-17<sup>+</sup>

IL-17<sup>+</sup> diekspresikan oleh sel CD4<sup>+</sup> T<sub>H</sub>17 yang teraktivasi. Agar dapat mengekspresikan IL-17<sup>+</sup> secara maksimum sel T naive pada manusia harus dipapar dengan IL-1 $\beta$ <sup>+</sup>, IL-6<sup>+</sup>, IL-23<sup>+</sup> dan TGF- $\beta$ <sup>+</sup>. Sel-sel yang mengikat IL-17<sup>+</sup> akan mensintesis sitokin proinflamasi, kemokin dan metalloprotease (Rifa'i, 2018).

### 2.3.2.2.9 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>

Sel T regulator memegang peranan penting dalam melakukan kontrol sistem imun. Sel T CD4<sup>+</sup> yang mengekspresikan CD25<sup>+</sup> mampu mengendalikan sel imun yang lain sehingga disebut sebagai sel regulator. Sel regulator disebut juga “*smart cells*” karena mampu bekerja dengan ketelitian yang tinggi. Pada awal terjadi infeksi sel regulator tidak melakukan kerja, sehingga sel dalam keadaan naive. Kondisi naive diperlukan agar sel-sel efektor dapat mengeliminasi agen patogen. Pada awal infeksi T<sub>reg</sub> lebih cenderung melakukan proliferasi dengan bantuan IL-2<sup>+</sup> yang berasal dari efektor yang aktif. Pada fase akhir, setelah patogen penginfeksi berhasil diatasi, T<sub>reg</sub> mulai menunjukkan fungsinya sebagai supresor (Rifa'i, 2018).

Pada kasus asma alergik T<sub>reg</sub> berperan penting dalam autoimunitas dan memberikan efek anti inflamasi. Paparan alergen dari luar dapat meningkatkan kadar protein IL-10<sup>+</sup> dan IFN $\gamma$ <sup>+</sup> serta IL-10 da TGF- $\beta$ 1 mRNA. Transfer sel iT<sub>reg</sub> kedalam tikus yang tersensitasi ovalbumin antigen (OVA) akan mengurangi airway hyper responsiveness (AHR), perekutan eosinofil, eotaxin, IgE, dan ekspresi sitokin Th2, dan meningkatkan IFN $\gamma$ <sup>+</sup> setelah kontak dengan alergen (HyungKim, *et al.*, 2018).

## 2.4. Polusi Udara

### 2.4. 1 Definisi Polusi Udara

Seiring dengan semakin meningkatnya populasi manusia dan bertambah banyaknya kebutuhan manusia, mengakibatkan semakin besar pula terjadinya masalah-masalah polusi lingkungan. Pada dasarnya, secara alamiah, alam mampu mendaur ulang berbagai jenis limbah yang dihasilkan oleh makhluk hidup, namun bila konsentrasi limbah yang dihasilkan sudah tak sebanding lagi dengan laju proses daur ulang maka akan terjadi polusi atau pencemaran. Pencemaran lingkungan yang paling mempengaruhi keadaan iklim dunia adalah pencemaran udara. Pencemaran udara ini menimbulkan berbagai dampak negatif bagi kehidupan di muka bumi.

Berdasarkan Keputusan Menteri Kesehatan RI nomer 1407 tahun 2002 g Pedoman Pengendalian Dampak Pencemaran Udara, disebutkan pencemaran udara adalah masuknya atau dimasukkannya zat, energi atau komponen lain kedalam udara oleh kegiatan manusia sehingga mutu turun sampai tingkat tertentu yang menyebabkan atau mempengaruhi kesehatan manusia.

#### 2.4.2 Jenis-jenis Polutan di Udara

Ada beberapa polutan yang dapat menyebabkan pencemaran udara, lain: Karbon monoksida, Nitrogen dioksida, Sulfur dioksida, Partikulat, karbon, CFC, Timbal dan Karbondioksida (EPA, 2006).

#### 2.4.2.1 Karbon monoksida (CO)

Gas yang tidak berwarna, tidak berbau dan bersifat racun. Dihasilkan dari pembakaran tidak sempurna bahan bakar fosil, misalnya gas buangan kendaraan bermotor.

#### 2.4.2.2 Nitrogen dioksida ( $\text{NO}_2$ )

Gas yang paling beracun. Dihasilkan dari pembakaran batu bara di pabrik, pembangkit energi listrik dan knalpot kendaraan bermotor.

### 2.4.2.3 Sulfur dioksida (SO<sub>2</sub>)

Gas yang berbau tajam, tidak berwarna dan tidak bersifat korosi. Dihasilkan dari pembakaran bahan bakar yang mengandung sulfur terutama batubara. Batubara ini biasanya digunakan sebagai bahan bakar pabrik dan pembangkit tenaga listrik.

#### 2.4.2.4. Partikulat (asap atau jelaga)

Polutan udara yang paling jelas terlihat dan paling berbahaya. Dihasilkan dari cerobong pabrik berupa asap hitam tebal. Macam-macam partikel, yaitu:

- a) Aerosol : partikel yang terhambur dan melayang di udara
- b) Fog (kabut) : aerosol yang berupa butiran-butiran air dan berada di udara
- c) Smoke (asap) : aerosol yang berupa campuran antara butir padat dan cair dan melayang berhamburan di udara
- d) Dust (debu) : aerosol yang berupa butiran padat dan melayang-layang di udara

#### 2.4.2.5 Hidrokarbon (HC)

Uap bensin yang tidak terbakar. Dihasilkan dari pembakaran bahan bakar yang tidak sempurna.

#### 2.4.2.6 Chlorofluorocarbon (CFC)

Gas yang dapat menyebabkan menipisnya lapisan ozon yang ada di atmosfer bumi. Dihasilkan dari berbagai alat rumah tangga seperti kulkas, AC, alat pemadam kebakaran, pelarut, pestisida, alat penyemprot (aerosol) pada parfum dan hair spray.

#### 2.4.2.7 Timbal (Pb)

Logam berat yang digunakan manusia untuk meningkatkan pembakaran pada kendaraan bermotor. Hasil pembakaran tersebut menghasilkan timbal oksida yang berbentuk debu atau partikulat yang dapat terhirup oleh manusia.

#### 2.4.2.8 Karbon dioksida (CO<sub>2</sub>)

Gas yang dihasilkan dari pembakaran sempurna bahan bakar kendaraan bermotor dan pabrik serta gas hasil kebakaran hutan.

### 2.5 Kerangka Konsep Penelitian

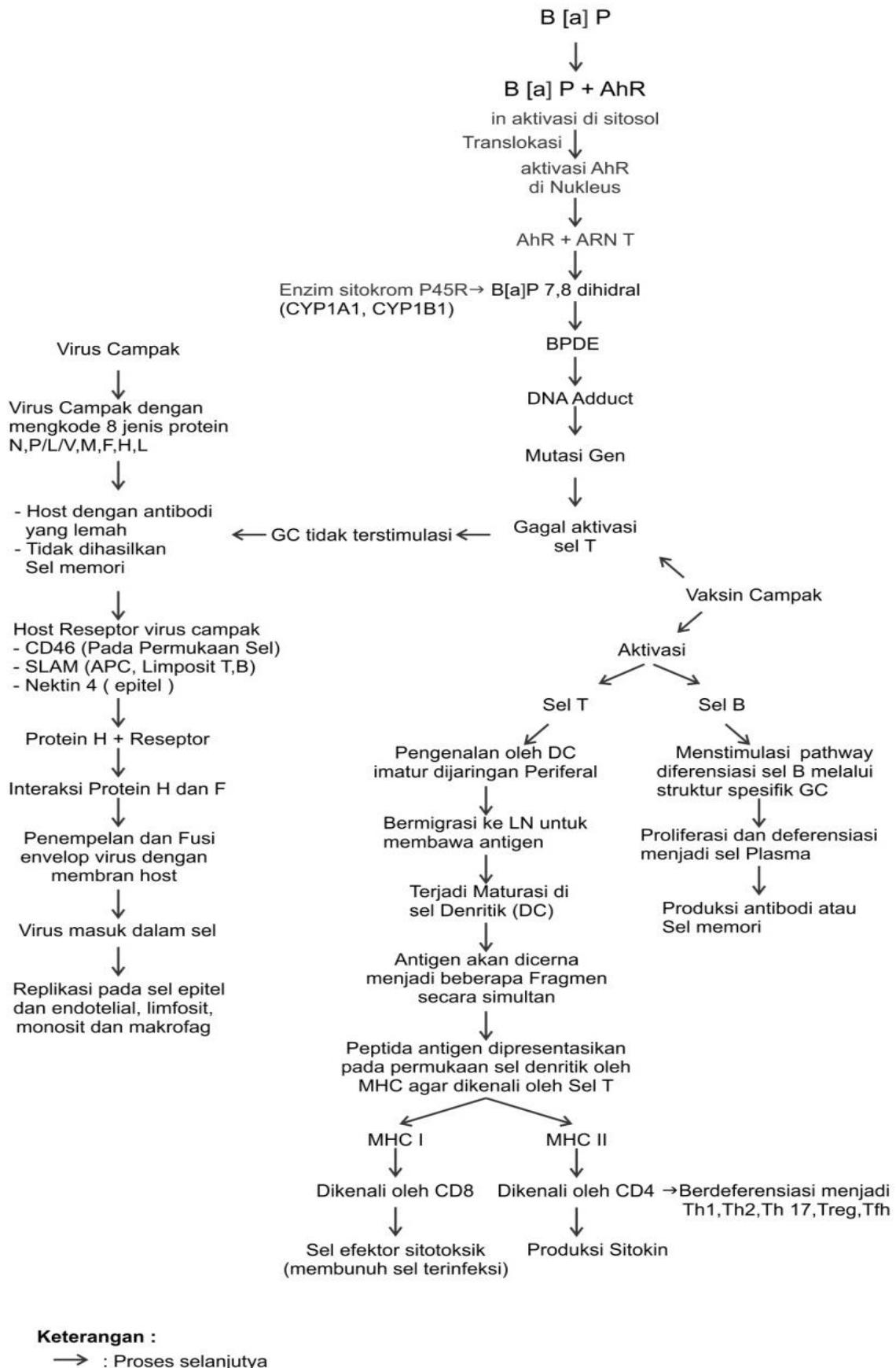
Pemberian vaksin campak pada anak bertujuan untuk memberikan kekebalan pada tubuh anak terhadap virus campak. Vaksin campak yang diberikan berasal dari virus yang dilemahkan. Vaksin yang diberikan akan dikenali sebagai antigen yang akan mengaktifasi sel T dan sel B. Aktivasi oleh sel B terjadi melalui struktur spesifik Germinal Center (GC) yang akan menstimulasi pathway diferensiasi sel B. Sel B yang mengalami aktivasi akan berproliferasi dan diferensiasi menjadi sel plasma untuk menghasilkan antibodi atau sel memori.

Aktivasi sel T diawali dengan pengenalan antigen di jaringan periferal oleh Dendritic Cell (DC) immature. Selanjutnya DC dengan membawa antigen bermigrasi ke Lymph Nodes (LN) yang selanjutnya akan terjadi proses maturasi. Antigen didalam Lymph Nodes akan dicerna menjadi beberapa fragmen secara simultan. Proses ini akan menghasilkan peptida antigen yang akan dipresentasikan pada permukaan DC oleh Major Histocompatibility Complex (MHC) agar dikenali oleh sel T. MHC I berikatan dengan sel T CD8<sup>+</sup> yang akan teraktivasi dan kemudian berdiferensiasi menjadi sel efektor

sitotoksik. MHC II berikatan dengan sel T CD4<sup>+</sup> yang akan teraktivasi dan kemudian berdeferensiasi menjadi sel efektor yang memproduksi sitokin. Sel T CD4<sup>+</sup> berdeferensiasi menjadi T helper ( Th<sub>1</sub>, Th<sub>2</sub>, Th<sub>17</sub> ), T regulator (T<sub>reg</sub> ), dan Tfh ( T follicular helper ).

Seorang anak yang sudah mendapatkan vaksin campak apabila terpapar polutan benzo[a]pyrene secara adekuat dapat menimbulkan gangguan pengenalan sel T terhadap antigen virus yang masuk. Respon ini diawali dengan terjadinya ikatan benzo[a]pyrene dengan Ahr ( Aryl hydrocarbon Receptor ) sebagai ligan yang sesuai di sitosol dalam keadaan inaktivasi. Selanjutnya ikatan benzo[a]pyrene dengan Aryl hydrocarbon Receptor ( Ahr ) menginduksi perubahan konformasi dan translokasi menuju nukleus membentuk kompleks Ahr/ARNT(ahr Translocation). Melalui proses transkripsi kompleks Ahr/ARNT akan dirubah menjadi benzo[a]pyrerene 7,8 dihidrol. Proses selanjutnya adalah terbentuknya Benzo[a]pyrene Diolepoxide (BPDE) yang bersifat reaktif terhadap Diocsiribo Nucleic Acid (DNA) dengan bantuan enzim sitokrom P450, Family 1, Sub Family A, Polypeptide 1 (CYP1A1) atau enzim sitokrom P450, Family 1, Sub Family B, Polypeptide 1 (CYP1B1). Terbentuknya benzo[a]pyren diolepoxide (BPDE) yang reaktif terhadap DNA memicu terbentuknya DNA adduct yang menginisiasi terjadinya mutasi gen.

Virus campak adalah anggota genus morbillivirus dari famili paramyxo virus yang mengkode delapan jenis protein antara lain : N, P/C/V, M, F, H dan L. Apabila terjadi mutasi gen maka akan mengakibatkan gagalnya aktivasi sel T. Kegagalan aktivasi sel T mengakibatkan Germinal Center (GC) tidak terstimulasi, sehingga berakibat host menghasilkan antibodi yang lemah dan tidak ada sel memori. Host reseptor virus campak yaitu CD46 pada permukaan, Signaling Lymphocyte Activation Molecule (SLAM) pada Antigen Presenting Cell (APC) , limposit T dan limposit B, dan nektin-4 pada epitel. Respon selanjutnya adalah terjadi ikatan antara protein H dan reseptor pada awal infeksi. Setelah berikatan dengan reseptor virus campak, protein H berinteraksi dengan protein F sehingga terjadi proses penempelan dan fusi envelope virus dengan membran host. Respon ini memudahkan virus masuk kedalam sel dan terjadi replikasi pada sel epitel dan endotelial, limfosit, monosit, dan makrofag. Untuk memperjelas uraian diatas dapat dilihat gambar 2.6 dibawah ini.



Gambar 2.6. Kerangka Konsep Penelitian

## 2.6 Hipotesa penelitian

Dalam penelitian ini hipotesa yang digunakan adalah : Benzo[a]pyrene berpengaruh terhadap perubahan profil sel imun pada mencit (*Mus Musculus L*) yang telah mendapatkan vaksin campak paramiksovirus



**BAB 3****DESAIN PENELITIAN****3.1 Rancangan Penelitian**

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimen, dan desain yang digunakan adalah split plot design (rancangan acak terpisah). Penelitian eksperimen ini dilakukan dilaboratorium. Secara lebih rinci digambarkan pada tabel 4.1 berikut ini :

Tabel 3.1 Rancangan Penelitian

| Kelompok | Jenis Paparan                               | Lama Paparan   |                |
|----------|---|----------------|----------------|
|          |   | Minggu Ke II   | Minggu ke IV   |
| P1       | Tanpa Paparan                               | 5 kali ulangan | 5 kali ulangan |
| P2       | Vaksin Campak                               | 5 kali ulangan | 5 kali ulangan |
| P3       | Benzo[a]pyrene 20 mg/kg BB                  | 5 kali ulangan | 5 kali ulangan |
| P4       | Vaksin Campak dan Benzo[a]pyrene 20mg/Kg BB | 5 kali ulangan | 5 kali ulangan |

**3.2 Lokasi dan Waktu Penelitian**

Penelitian dilakukan di Laboratorium Fisiologi Struktur dan Perkembangan Hewan Biologi FMIPA Universitas Brawijaya Malang. Penelitian ini dilakukan kurang lebih selama tiga bulan.

**3.3 Sampel penelitian**

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit betina strain BALB/C berusia 8 minggu, dengan berat badan awal antara 20-25 gr.

Untuk menentukan besar sampel minimal digunakan rumus :

$$P(n-1) \geq 15$$

P = jumlah perlakuan

n = jumlah sampel tiap perlakuan

Sehingga dengan 6 kelompok perlakuan , jadi sampel yang diperlukan adalah

$$P(n-1) \geq 15$$

$$4(n-1) \geq 15$$

$$n-1 \geq 3,75$$

$$n \geq 4,75$$

Jadi jumlah sampel pada tiap kelompok perlakuan adalah 5 ekor mencit.

### 3.4 Bahan dan Alat Penelitian

#### 3.4.1 Bahan Penelitian

##### 3.4.1.1 Bahan Hewan Coba

Hewan coba yang digunakan adalah mencitra strain BALB/C yang diperoleh dari laboratorium, dengan ketentuan :

- a. *Spesific Patogen Free (SPF)*
- b. Jenis kelamin betina
- c. Usia 8 minggu
- d. Berat badan 20-25 gram
- e. Kondisi sehat ditandai dengan gerakan yang aktif

#### 3.4.2 Alat penelitian

Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

Benzo[a]pyrene, vaksin campak (yang diproduksi oleh Bio Farma), Posphat Buffer Saline (PBS), pewaranaan antibodi, Cytofix, washperm, antibodi, aquabides, desinfektan (alkohol 70%), minyak jagung.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

Kandang mencit yang terbuat dari bak plastik berisi sekam, tempat makan dan botol minum, spuit, tabung propilen 15 ml, sentrifuge, microtube, kuvet,micro tip, micro pipet 1 ml, mikro pipet 10 $\mu$ l, tabel penolong.

### 3.5 Variabel

#### 3.5.1 Variabel Bebas (Independent)

Pemberian Vaksin Campak dan pemberian benzo[a]pyrene

#### 3.5.2 Variabel Tergantung (Dependent)

Profil sel imun

### 3.6 Definisi Operasional

#### 3.6.1 Pemberian Vaksin Campak dan pemberian benzo[a]pyrene

Adalah memasukkan vaksin campak dengan cara injeksi intra muscular dan memasukkan benzo[a]pyrene kedalam tubuh mencit dengan injeksi intra muscular sesuai dosis pemberian yang telah ditentukan.

#### 3.6.2 Profil sel imun

Adalah besarnya perubahan ekspresi sel imun pada mencit (*Mus musculus, L*) setelah diberikan paparan benzo[a]pyrene sesuai dosis yang telah ditentukan.

### 3.7 Prosedur Penelitian

1. Dari populasi hewan coba sebanyak 40 ekor mencit betina strain BALB/C

Universitas diadaptasikan dengan kondisi lingkungan/aklimatisasi selama dua minggu.

Seluruh populasi di imunisasi dengan vaksin campak sesuai dengan dosis yang ditentukan. Populasi mencit dibagi secara random sampling menjadi empat kelompok, antara lain :

1. Mencit dengan tanpa diberikan paparan
2. Mencit dengan paparan vaksin campak
3. Mencit dengan paparan benzo[a]pyrene 20 mg/kg BB 2 kali/minggu.
4. Mencit yang diberikan imunisasi campak dengan paparan benzo[a]pyrene 20 mg/kg BB 2 kali/minggu.

Selanjutnya tiap kelompok dibagi lagi menjadi 4 sub kelompok berdasarkan waktu paparan larutan benzo[a]pyrene. Pembagian kelompok dan sub kelompok diatur sebagai berikut :

Kelompok P1 : Kelompok perlakuan 1, dimana 10 ekor mencit yang tidak mendapatkan paparan. Selanjutnya 5 ekor akan diamati selama 2 minggu , 5 ekor diamati selama 4 minggu.

Kelompok P2 : Kelompok perlakuan 2, dimana 10 ekor mencit mendapatkan paparan vaksin campak. Selanjutnya 5 ekor akan diamati selama 2 minggu , 5 ekor diamati selama 4 minggu.

Kelompok P3 : Kelompok perlakuan 3, dimana 10 ekor mencit mendapatkan paparan benzo[a]pyrene per intra muscular 20 mg/kg BB 2 kali/minggu. Selanjutnya 5 ekor akan diamati selama 2 minggu , 5 ekor diamati selama 4 minggu.

Kelompok P4 : Kelompok perlakuan 4, dimana 10 ekor mencit yang sudah diberi vaksin campak masing-masing benzo[a]pyrene per intra muscular 20 mg/kg BB 2 kali/minggu. Selanjutnya 5 ekor akan diamati selama 2 minggu, 5 ekor diamati selama 4 minggu.

2. Setiap mencit diberi pakan jadi berupa pelet. Air minum yang diberikan adalah aquadest yang diberikan ad labitum.

3. Perlakuan terhadap mencit berupa paparan larutan benzo[a]pyrene per intra muscular sesuai dengan dosis dan waktu paparan yang telah ditentukan.

4. Pada akhir minggu yang telah ditentukan, masing-masing mencit dikorbankan dan dilakukan pembedahan untuk diambil organ limpa/spleen untuk dipersiapkan sebagai persediaan dan diwarnai dengan metode pewarnaan yang telah ditentukan.

### 3.8 Prosedur Pembuatan Sediaan Limpa dan Pengumpulan Data

Mencit yang telah dikorbankan diambil organ limpa/spleen. Organ digerus dengan posphat buffer saline (PBS). Kemudian dipindahkan pada tabung propilen 15 ml (ditambah PBS hingga  $\pm$  10 ml). Selanjutnya disentrifuge dengan kecepatan 2500 rpm dengan suhu 10°C selama 5 menit. Palet disuspensi dengan 1 ml PBS, kemudian dibagi kedalam microtube sebanyak  $\pm$  80  $\mu$ l dan ditambahkan PBS 300-400  $\mu$ l kedalam microtube selanjutnya disentrifuge lagi sehingga didapatkan pelet. Pelet selanjutnya dibagi dua yaitu untuk pemeriksaan ekstraseluler dan pemeriksaan intra seluler. Pemeriksaan ekstraseluler palet ditambah 50  $\mu$ l antibodi dan diinkubasi selama 20 menit. Selanjutnya ditambah PBS 300-500  $\mu$ l dan dipindahkan ke kuvet untuk running flow cytometry.

Pemeriksaan intraseluler, pelet ditambah 50  $\mu$ l antibodi intraseluler dan diinkubasi selama 20 menit. Selanjutnya ditambah 50  $\mu$ l cytofix untuk memudahkan pewarnaan kedalam sel dan dinkubasi lagi selama 20 menit.

Selanjutnya palet ditambahkan washperm 500  $\mu$ l kemudian disentrifuge lagi. Setelah itu palet ditambahkan antibodi 50  $\mu$ l (IFN- $\gamma$  dan TNF- $\alpha$ ) kemudian diinkubasi selama 20 menit. Selanjutnya ditambahkan 300-500  $\mu$ l PBS dan dipindahkan ke kuvet untuk running flow cytometry.

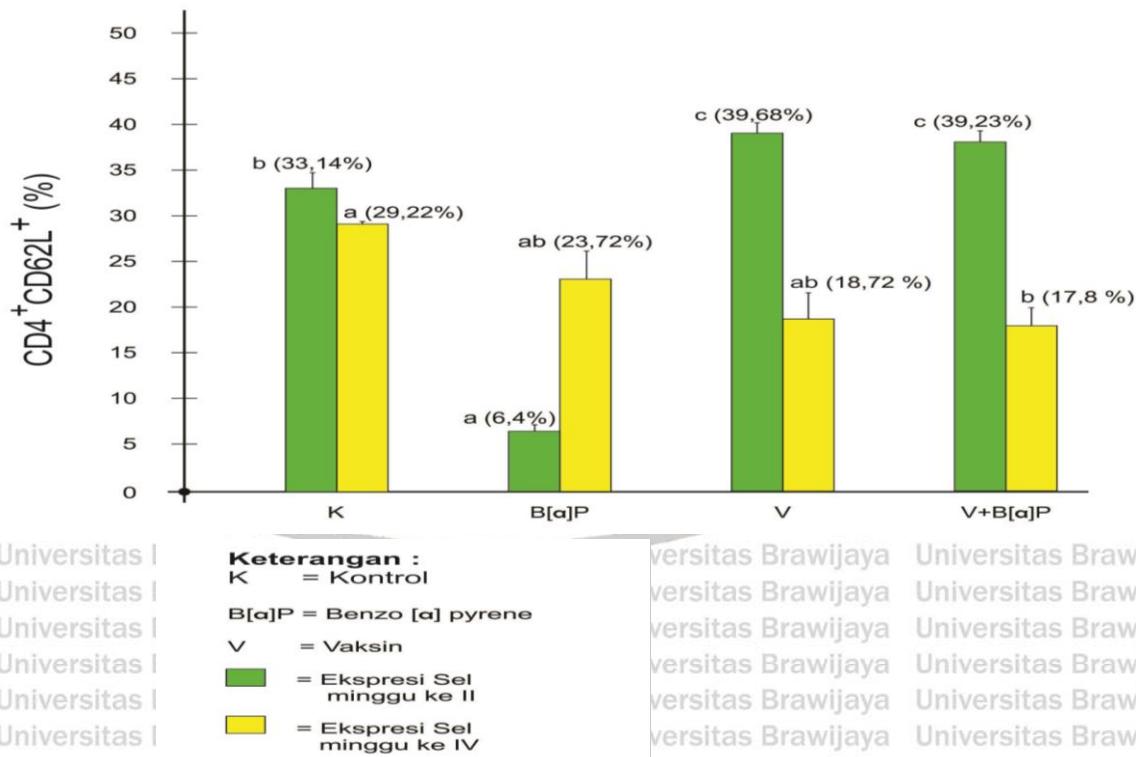
### 3.9 Teknik Analisis Data

Profil sel imun pada mencit (*Mus musculus, L*) dianalisis dengan menggunakan *flow cytometry*. Analisis dilanjutkan dengan analisis statistik menggunakan *software SPSS* dengan menggunakan uji *one way ANOVA*. Jika terdapat signifikansi ( $p\text{-value} < 0,05$ ), maka dilakukan uji Tukey untuk menentukan signifikansi antar kelompok perlakuan.



**BAB 4****HASIL DAN PEMBAHASAN**

Pengaruh benzo[a]pyrenes terhadap perubahan profil sel imun pada mencit (*Mus musculus, L*) setelah mendapatkan vaksin campak paramiksovirus dianalisis secara invivo dengan memberikan injeksi secara intra muskular benzo[a]pyrene 20 mg/kg BB selama 2 minggu dan 4 minggu. Hewan coba dibagi dalam empat kelompok yaitu: mencit tanpa diberikan paparan, mencit dengan paparan vaksin campak, mencit dengan paparan benzo[a]pyrene 20 mg/kg BB 2 kali/minggu, dan mencit yang diberikan vaksin campak dan polutan benzo[a]pyrene 20 mg/kg BB 2 kali/minggu. Ekspresi sel imun pada mencit (*Mus musculus, L*) dianalisis menggunakan *flow cytometry*. Analisis dilanjutkan dengan analisis statistik menggunakan *software SPSS* dengan menggunakan uji *one way ANOVA* sebagai berikut :

**4.1 Profil sel T naive (CD4<sup>+</sup> CD62L<sup>+</sup>)**

Gambar 4.1 Pemberian benzo[a]pyrene pada kelompok yang telah diberikan vaksin di minggu ke-2 tidak merepresentasi profil sel T naive. Profil sel T naive setelah minggu ke-4 mengalami penurunan dan menunjukkan beda tidak nyata pada semua kelompok perlakuan. Sel diisolasi dari spleen mencit strain BALB/C distaining dengan anti CD4<sup>+</sup> dan anti CD62L<sup>+</sup>. Hasil staining dianalisis dengan menggunakan *flowcytometry* dan didukung dengan analisis ANOVA dengan taraf signifikansi ( $\alpha$ ) < 0,05.

Berdasarkan gambar 4.1 dapat dijelaskan bahwa : pada minggu ke-2 mencit normal, menunjukkan profil CD4<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup> sebanyak 33,14% berbeda dengan profil mencit yang diberi paparan benzo[a]pyrene yang mana jumlah sel CD4<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup> turun menjadi 6,4%. Berdasarkan hasil analisis dengan ANOVA didapatkan nilai  $p$  ( $0,005$ )  $< \alpha$ . Jumlah sel CD4<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup> pada mencit yang diberi paparan benzo[a]pyrene turun, karena sel CD4<sup>+</sup> sebagai sel regulator mengalami penurunan fungsi akibat benzo[a]pyrene yang diberikan. Benzo[a]pyrene adalah salah satu jenis Polycyclic Aromatic Hydrocarbon (PAH) yang bersifat imunosupresif. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Holladay SD, Smith BJ terhadap tikus yang sedang hamil, menunjukkan bahwa pemberian benzo[a]pyrene dapat mengurangi sel hati janin. Pemberian benzo[a]pyrene akan menekan post natal sel dan fungsi imun. Selanjutnya hasil penelitian ini mengidentifikasi perubahan-perubahan kualitatif dan kuantitatif dalam ekspresi antigen sel imun janin tikus yang berkorelasi dengan imunosupresi post natal hewan coba yang terpajan benzo[a]pyrene (Holladay SD, Smith BJ, 1994).

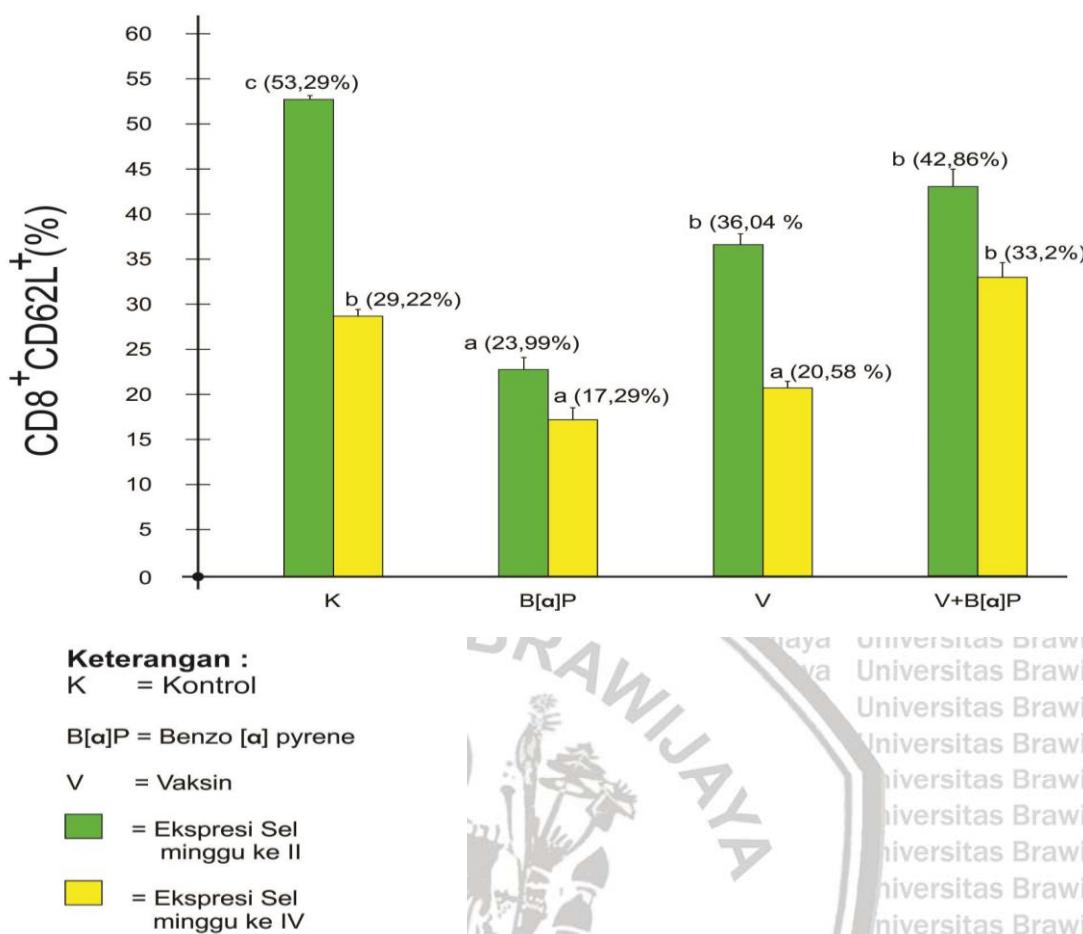
Pada mencit yang diberikan vaksin campak jumlah sel CD4<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup> mengalami peningkatan mencapai 39,68%. Jumlah sel ini menunjukkan adanya perbedaan jika dibandingkan dengan kelompok kontrol. Berdasarkan analisis ANOVA didapatkan  $p$  ( $0,000$ )  $< \alpha$ . Peningkatan jumlah sel CD4<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup> pada mencit yang diberikan vaksin campak (paramiksovirus) mampu merangsang CD4<sup>+</sup> sebagai regulator untuk mengaktifasi populasi sel T naive. CD4<sup>+</sup> berfungsi sebagai ko reseptor pada sel T helper. Apabila sel T helper mengenali kompleks antigen *Major Histocompatibility Complex II* (MHC II), CD4<sup>+</sup> berlaku sebagai ko-reseptor yang memperkuat signal transduksi sehingga sel T teraktivasi (Rifa'i, 2013).

Kelompok mencit yang diberikan vaksin campak dan paparan benzo[a]pyrene kadar CD4<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup> menunjukkan tidak beda dengan mencit yang diberikan vaksin campak saja. Jumlah sel CD4<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup> pada kelompok mencit yang diberikan vaksin dengan paparan benzo[a]pyrene

sebesar 39,23% dan kelompok mencit yang diberikan vaksin 39,68%. Berdasarkan analisis ANOVA didapatkan  $p < 0,056 > \alpha$ . Benzo[a]pyrene mempunyai potensi yang lemah dalam menurunkan ekspresi CD4<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup>. Hasil ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Holladay terhadap tikus yang hamil dengan paparan benzo[a]pyrene yang menunjukkan bahwa senyawa benzo[a]pyrene sebagai senyawa carbon yang terbentuk dengan ikatan cincin aromatic sehingga menekan sensitifitas CD4<sup>+</sup>. Paparan benzo[a]pyrene yang diberikan juga dapat mengakibatkan atrofi timus berat dan deplesi sel. Analisis dengan flow cytometri menunjukkan adanya penurunan yang signifikan prosentase CD4<sup>+</sup> thymocit janin pada tikus yang dikorbankan (Holladay, SD, Smith BJ, 1994).

Ekspresi CD4<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup> pada kelompok mencit dengan paparan benzo[a]pyrene, vaksin, dan vaksin bersama benzo[a]pyrene pada minggu ke-4 menunjukkan tidak ada perbedaan jika dibandingkan dengan kelompok kontrol. Hasil analisis ANOVA masing-masing menunjukkan  $p > 0,05$ . Ekspresi CD4<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup> kelompok yang diberikan vaksin dan vaksin bersama benzo[a]pyrene pada minggu ke-4 lebih rendah dari minggu ke-2. Ekspresi tersebut diatas memberikan gambaran bahwa aktivasi signal transduksi sel melakukan fungsi down regulasi. Pada sistem imunitas, signal transduksi terjadi pada aktivasi maupun supresi sel. Pada akivasi sel T CD28 akan berikatan dengan molekul B7 pada APC. Ikatan tersebut akan memberikan signal trasduksi menuju DNA sehingga terjadi transkripsi yang sesuai. Setelah sel T teraktivasi maka akan mengekspresi molekul CD152, sebagai molekul penting dalam down regulasi. Down regulasi sangat dibutuhkan pada mekanisme homeostasis agar sel yang teraktivasi dapat dikendalikan dan menjaga keseimbangan sel-sel naïve. Jika sel T regulator bekerja sangat kuat, sel-sel naïve tidak bisa berkembang menjadi sel evektor (Rifa'i, 2018).

## 4.2 Profil sel CD8<sup>+</sup> CD62L<sup>+</sup>



Gambar 4.2 Pemberian benzo[a]pyrene pada minggu ke-2 tidak menekan profil sel T naive pada CD8<sup>+</sup> yang ditunjukkan dengan ekspresi sel T naive kelompok yang divaksin tidak berbeda dengan kelompok mencit yang diberi paparan benzo[a]pyrene setelah mendapatkan vaksin. Pemberian benzo[a]pyrene pada mencit yang telah divaksin setelah minggu ke-4 terjadi aktivasi sel T naive pada CD8<sup>+</sup> dan menunjukkan perbedaan dengan kelompok yang divaksin. Sel diisolasi dari spleen mencit strain BALB/C distaining dengan anti CD8<sup>+</sup> dan anti CD62L<sup>+</sup>. Hasil staining dianalisis dengan menggunakan *flowcytometry* dan didukung dengan analisis ANOVA dengan taraf signifikansi ( $\alpha$ ) < 0,05 .

Berdasarkan gambar 4.2 dapat dijelaskan bahwa: pada minggu ke-2 ekspresi CD8<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup> pada mencit normal menunjukkan jumlah sel sebesar 53,27% dan pada mencit dengan paparan benzo[a]pyrene menunjukkan jumlah sel sebesar 23,99%. Sehingga terdapat perbedaan diantara kedua kelompok tersebut. Hal ini didukung oleh analisis ANOVA dengan nilai p (0,000) <  $\alpha$ . Perbedaan kadar CD8<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup> pada kelompok yang diberikan paparan benzo[a]pyrene karena benzo[a]pyrene menekan sel T naive. Penelitian yang dilakukan oleh Lara Zakari Finali et.all (2018)

terhadap amfibi menunjukkan adanya perbedaan bahwa pemberian benzo[a]pyrene selama tujuh hari menyebabkan frekuensi erytrocytemicronuclei meningkat. Keadaan terjadi karena adanya genotoksitas dari benzo[a]pyrene. Sedangkan area melanin menurun karena penghambatan aktivitas tirosine (enzim yang bertanggung jawab terhadap melanogenesis). Kepadatan sel mast meningkat sebagai respon terhadap inflamasi benzo[a]pyrene. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Lara Zakari menyimpulkan bahwa benzo[a]pyrene dapat mempengaruhi interpretasi beberapa organ dan jaringan, serta fungsi sel. Benzo[a]pyrene merupakan senyawa yang bersifat hepatotoksik, genotoksik dan imunotoksik (Lara Zacari, *et al.*, 2018).

Pada mencit yang diberikan vaksin campak (paramiksovirus) profil CD8<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup> 36,04%. Profil sel ini menunjukkan adanya beda antara mencit dengan paparan vaksin campak dengan kelompok kontrol. Pernyataan ini didukung dari hasil analisis ANOVA didapatkan nilai  $p$  (0,004) <  $\alpha$ . Respon ini terjadi karena vaksin campak (paramiksovirus) berupa virus hidup yang dilemahkan dan dimati pada minggu ke-2 setelah pemaparan, sehingga tidak mengaktifasi sel CD8<sup>+</sup>. Keadaan ini diperkuat dari hasil penelitian yang dilaporkan oleh Christopher L yang menyebutkan bahwa individu yang terpapar virus campak pertama kali dapat mengakibatkan imunosupresi dan gangguan respon imun seluler dalam jangka waktu yang lama (Christopher L. Karp, 2006).

Benzo[a]pyrene yang dipaparkan pada mencit yang telah di vaksin menunjukkan profil sel CD8<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup> sebanyak 42,86%. Keadaan ini menunjukkan tidak adanya perbedaan profil sel CD8<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup> antara kelompok mencit yang diberikan vaksin dengan mencit yang diberikan vaksin bersama dengan benzo[a]pyrene. Pernyataan ini didukung dari hasil analisis ANOVA yang didapatkan nilai  $p$  (0,701) >  $\alpha$ . Profil sel ini menggambarkan bahwa paparan benzo[a]pyrene dapat menimbulkan hepatotoksik, genotoksik dan imunotoksik yang lemah sehingga menekan kemampuan aktivasi CD8<sup>+</sup> dalam menyingkirkan sel yang terinfeksi virus yang rendah. Benzo[a]pyrene yang diberikan pada kelompok mencit yang telah diberikan paparan vaksin campak (paramiksovirus) mampu merangsang sinyal transduksi sistem imunitas mencit pada batas yang rendah (dibawah kelompok kontrol). Mekanisme yang terjadi pada sistem imunitas pada dasarnya mengikuti fenomena umum yang ada dalam sistem biologi. Signal transduksi dalam sistem

imunitas dapat muncul karena ada molekul yang disekresi oleh satu sel dan mempunyai target lain atau sel itu sendiri (Rifa'i, 2013).

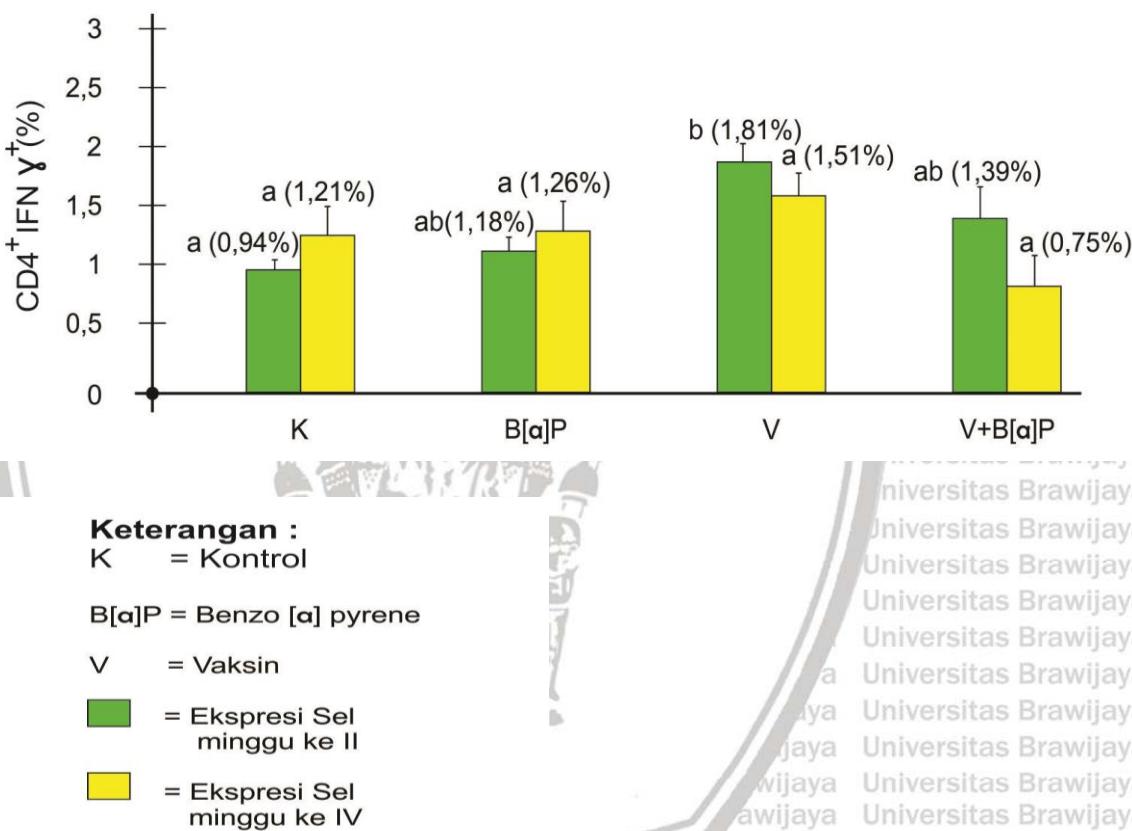
Profil sel CD8<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup> setelah minggu ke-4 untuk kelompok mencit yang diberikan paparan benzo[a]pyrene sebesar 17,29%. Jika dibandingkan dengan kelompok kontrol, kelompok ini menunjukkan adanya perbedaan. Pernyataan ini didukung oleh hasil analisis ANOVA dengan nilai  $p$  ( $0,004 < \alpha$ ). Profil sel ini menggambarkan bahwa benzo[a]pyrene merupakan salah satu jenis polutan yang mampu menekan fungsi sel. Sehingga CD8<sup>+</sup> sebagai ko-reseptor pada sel T killer tidak dapat melakukan fungsi secara maksimal. Respon ini ditunjukkan dengan profil sel CD8<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup> yang lebih rendah dari kontrol. CD62L<sup>+</sup> merupakan glikoprotein transmembran dan diekspresikan oleh limfosit, neutrofil dan sel NK. CD62L<sup>+</sup> sangat penting untuk membantu ekstravasasi leukosit pada inflamasi (Rifa'i, 2013). Reaksi penekanan fungsi sel oleh benzo[a]pyrene berakibat profil sel CD8<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup> dibawah profil sel pada kelompok kontrol. Benzo[a]pyrene dapat mempengaruhi interpretasi beberapa organ dan jaringan serta fungsi sel. Benzo[a]pyrene merupakan senyawa yang bersifat hepatotoksik, genotoksik, dan imunotoksik (Lara Zacari, *et al.*, 2018).

Kelompok mencit yang diberikan vaksin paramiksovirus menunjukkan profil sel CD8<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup> berbeda dengan profil sel kelompok kontrol. Profil sel CD8<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup> pada kelompok yang divaksin sebesar 20,58% dan kelompok kontrol sebesar 29,22%. Pernyataan ini didukung dari hasil analisis ANOVA dengan nilai  $p$  ( $0,021 < \alpha$ ). Respon ini menggambarkan bahwa vaksin paramiksovirus sebagai virus hidup yang dilemahkan, sehingga rangsangan aktivasi terhadap CD8<sup>+</sup> sebagai ko-reseptor sel T killer yang rendah. Respon ini diperkuat dengan penelitian yang dilakukan oleh christopher yang menyimpulkan bahwa individu yang terpapar virus campak yang pertama kali dapat mengakibatkan imunosupresi dan gangguan respon imun seluler (Christopher L. Karp, *et al.*, 2006).

Kelompok mencit yang telah diberikan vaksin paramiksovirus kemudian diberi paparan benzo[a]pyrene menunjukkan profil sel CD8<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup> sebesar 33,2%. Profil sel ini menunjukkan adanya perbedaan dengan kelompok mencit yang diberikan vaksin dengan jumlah sel 20,56%. Pernyataan ini didukung oleh hasil analisis ANOVA dengan nilai  $p$  ( $0,001 < \alpha$ ). Paparan benzo[a]pyrene pada kelompok

mencit yang telah divaksin mampu meningkatkan profil sel T naive. Hal ini terjadi karena setelah minggu ke empat (ke 4) sel T killer mengenali kompleks antigen. Respon ini mempengaruhi Major Histo Hompatibility I (MHC I), sehingga CD8<sup>+</sup> yang berlaku sebagai koreseptor akan memperkuat signal transduksi dan sel T killer teraktivasi (Rifa'i, 2013).

#### 4.3 Profil sel CD4<sup>+</sup> IFN $\gamma$ <sup>+</sup>

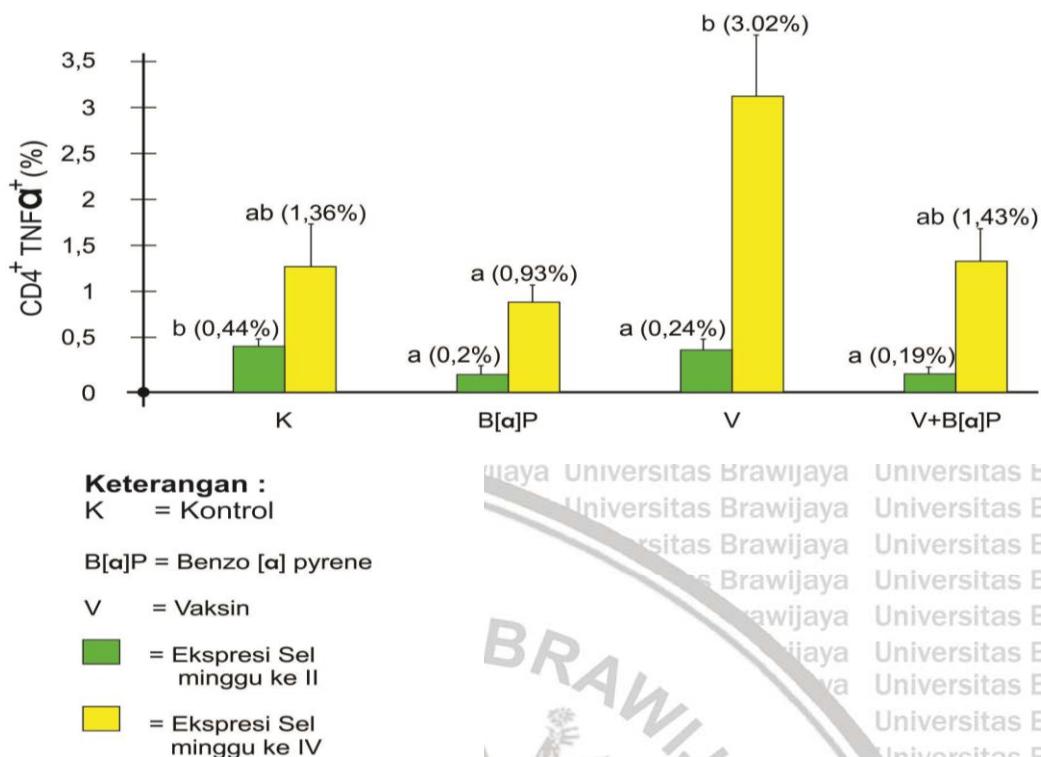


Gambar 4.3 Paparan vaksin pada minggu ke-2 meningkatkan aktivasi IFN $\gamma$ <sup>+</sup> sebagai mediator sistem imun dengan profil sel yang berbeda antara kelompok mencit yang divaksin dengan kelompok kontrol. Pada kelompok mencit dengan perlakuan menunjukkan tidak ada beda diantara ketiganya. Setelah minggu ke-4 aktivasi IFN $\gamma$ <sup>+</sup> pada kelompok mencit yang mendapatkan paparan benzo[a]pyrene setelah divaksin mengalami penurunan jika dibandingkan pada minggu ke-2 dan menunjukkan tidak ada beda antara semua kelompok perlakuan. Sel diisolasi dari spleen mencit strain BALB/C distaining dengan anti CD4<sup>+</sup> dan anti IFN $\gamma$ <sup>+</sup>. Hasil staining dianalisis dengan menggunakan *flowcytometry* dan didukung dengan analisis ANOVA dengan taraf signifikansi ( $\alpha$ ) < 0,05.

Berdasarkan gambar 4.3 pada minggu ke-2 mencit yang diberikan paparan vaksin profil sel CD4<sup>+</sup>IFN $\gamma^+$  sebesar 1,81% yang menunjukkan perbedaan dengan kelompok kontrol 0,94%. Pernyataan ini didukung oleh hasil analisis ANOVA dengan nilai  $p$  ( $0,025$ )  $< \alpha$ . Sedangkan jumlah profil sel CD4<sup>+</sup>IFN $\gamma^+$  pada ketiga kelompok perlakuan menunjukkan tidak ada perbedaan diantara ketiganya dengan nilai  $p > \alpha$ . Perbedaan profil sel kelompok yang diberi paparan vaksin campak (paramiksovirus) dibandingkan kelompok kontrol, menggambarkan bahwa vaksin yang diberikan akan merangsang respon imunitas innate. Terdapatnya vaksin sebagai virus hidup yang dilemahkan akan mengaktifasi CD4<sup>+</sup> untuk memproduksi IFN $\gamma^+$  sebagai mediator sistem imun. Produksi interferon akan terjadi ketika sel yang terlibat pada sistem imunitas merespon adanya virus maupun substansi yang dihasilkan. Sekresi Interferon karena adanya ikatan molekul yang umumnya terdapat pada mikroba, seperti : glikoprotein virus, RNA virus, endotoksin bakteri (Rifa'i, 2018). Produksi interferon, akan meningkatkan sintesis Mayor Histocompatibility Complex II (MHC II). Hal ini dapat meningkatkan presentasi peptida virus pada sel T helper, CD4. Sel T yang sudah mengenali kompleks antigen MHC akan mengakibatkan peningkatan sekresi sitokin berupa interferon dan interleukin. Peningkatan sekresi sitokin ini merangsang timbulnya sinyal dan koordinasi sel-sel yang berperan dalam sistem imunitas. Interferon ini juga dapat secara langsung mengaktifkan makrofag dan Natural Killer Cell (NKC) (Baratawdjaja, 2010).

Pada minggu ke-4 kelompok mencit yang diberikan paparan antigen (vaksin, benzo[a]pyrene, dan vaksin bersama benzo[a]pyrene) ketiganya menunjukkan tidak ada perbedaan yang ditunjukkan oleh hasil analisis ANOVA dengan nilai  $p > \alpha$ . Profil sel ini menggambarkan bahwa adanya IFN $\gamma^+$  untuk menghambat proliferasi sel yang terinfeksi. IFN $\gamma^+$  lebih berperan sebagai imunomodulator. Imunomodulator merupakan agen yang mempengaruhi (melemahkan atau meningkatkan) respon imun. Pada individu dengan defisiensi sistem imun, imunomodulator bekerja dengan cara merangsang (imunostimulan). Pada individu dengan reaksi yang berlebihan, maka imunomodulator bekerja dengan cara menekan/menormalakan (imunosupresan). Adanya IFN $\gamma^+$  akan membantu sel T untuk lebih peka terhadap mitogen atau faktor pertumbuhan, sehingga IFN $\gamma^+$  merupakan modulator bagi perkembangan dan diferensiasi sel T (Rifa'i, 2018).

#### 4.4 Profil sel CD4<sup>+</sup> TNF- $\alpha$ <sup>+</sup>



Gambar 4.4 Paparan antigen pada minggu ke-2 mengakibatkan represi regulasi TNF $\alpha$ <sup>+</sup> dan tidak ada beda pada semua kelompok perlakuan. Setelah minggu ke-4 paparan benzo[a]pyrene menunjukkan adanya represi regulasi TNF $\alpha$ <sup>+</sup> dan tidak berbeda antara kelompok yang telah diberi vaksin dengan kelompok yang terpapar benzo[a]pyrene setelah diberi vaksin. Sel diisolasi dari spleen mencit strain BALB/C distaining dengan anti CD4<sup>+</sup> dan anti TNF $\alpha$ <sup>+</sup>. Hasil staining dianalisis dengan menggunakan *flowcytometry* dan didukung dengan analisis ANOVA dengan taraf signifikansi ( $\alpha$ ) < 0,05.

Berdasarkan gambar 4.4 dapat dijelaskan bahwa pada minggu ke-2 profil sel CD4<sup>+</sup>TNF $\alpha$ <sup>+</sup> pada kelompok mencit yang diberi paparan benzo[a]pyrene sebesar 0,2%. Jika dibandingkan kelompok mencit kontrol adanya beda dengan kelompok yang diberikan benzo[a]pyrene. Pernyataan ini didukung dengan hasil analisis ANOVA dengan nilai  $p$  (0,036) <  $\alpha$ . Profil sel ini menggambarkan bahwa benzo[a]pyrene sebagai salah satu golongan PAH yang dapat mengakibatkan represi regulasi TNF $\alpha$ <sup>+</sup> (Tumor Necrosis Factor). Sesuai dengan penelitian yang dilakukan Holladay SD, tentang pengaruh benzo[a]pyrene terhadap hematopoietic pada fetus yang dianalisis dengan flowcytometri dijelaskan bahwa benzo[a]pyrene dapat mengakibatkan penurunan yang signifikan prosentase CD4<sup>+</sup> thymocyte janin, hiposeluleritas timus, dan menghambat proses pematangan thymocyte normal (Holladay SD, 1994). Respon ini

sejalan dengan penelitian yang dilaporkan oleh Lara Zacari Fanali (2018) yang mengamati efek benzo[a]pyrene pada darah dan liver physaleumus cuvieri dan leptodactus fuscus. Berdasarkan penelitian tersebut disimpulkan bahwa benzo[a]pyrene dapat mempengaruhi integritas beberapa organ dan jaringan serta fungsi sel. Sehingga benzo[a]pyrene ini bersifat hepatotoksik, genotoksik dan imunotoksik ( Lara Zacari Fanali, *et al.*, 2018).

Kelompok mencit yang diberikan vaksin paramiksovirus profil sel CD4<sup>+</sup>TNF $\alpha$ <sup>+</sup> sebesar 0,24%. Profil sel kelompok yang diberikan vaksin menunjukkan adanya perbedaan dengan kelompok kontrol. Pernyataan ini didukung oleh analisis ANOVA dengan nilai p (0,037) <  $\alpha$ . Perbedaan kadar CD4<sup>+</sup>TNF $\alpha$ <sup>+</sup> menunjukkan bahwa vaksin yang diberikan bersifat imunosupresi. Dampak dari imunosupresi ini adalah rendahnya sekresi TNF $\alpha$ <sup>+</sup> yang merupakan sitokin utama pada respon inflamasi akut. Pernyataan ini sejalan dengan artikel Christopher L. Karp (2006) yang menyatakan bahwa virus campak pada patogen pertama menyebabkan imunosupresi, menginduksi kelainan yang mendalam dan berkepanjangan pada respon imun seluler pada inang yang terinfeksi. Kemampuan virus campak mengaburkan monosit/makrofag dalam memproduksi sel denritik IL-12 sebagai petunjuk dari adanya kelainan invitro dan invivo. Reseptor seluler dari virus campak adalah CD-46 yang dapat menghambat produksi IL-12. Down regulasi IL-12 yang dimediasi CD-46 merupakan contoh spesifik dari pola kontrol penghambat yang kuat terhadap produksi IL-12 yang dipengaruhi oleh reseptor fagositik dan komplemen pada sel-sel yang mempresentasikan antigen (Christopher L. Karp, 2006).

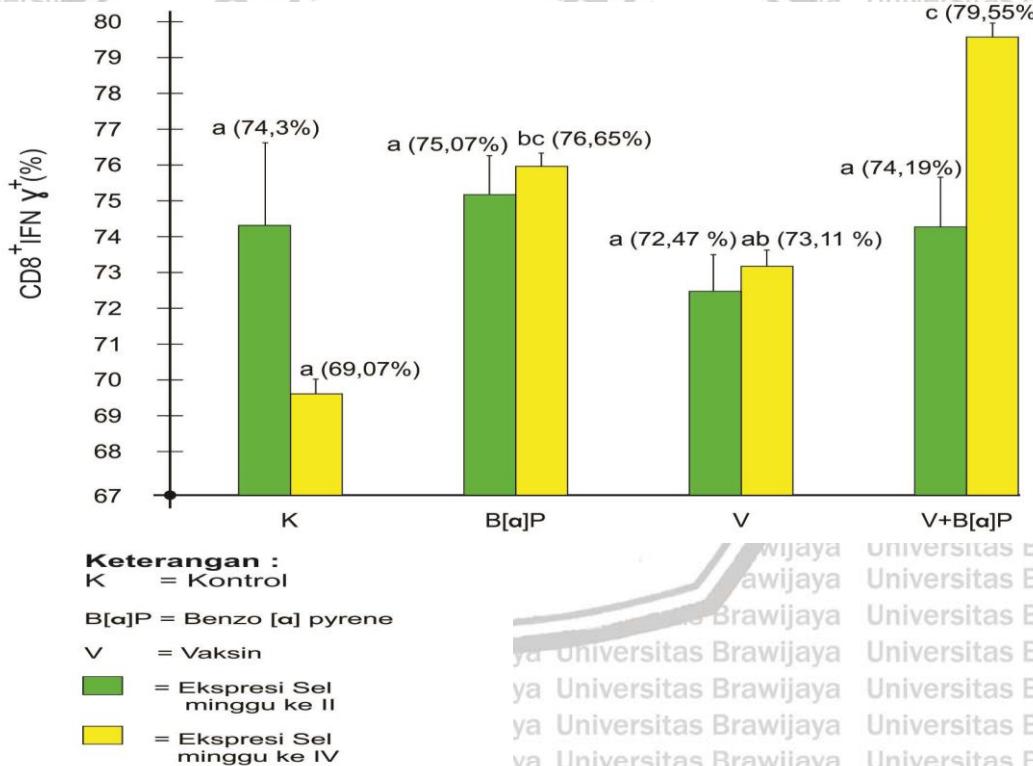
Pemberian benzo[a]pyrene pada kelompok mencit yang telah diberi vaksin campak (paramiksovirus), menunjukkan tidak ada beda dengan kelompok yang diberikan vaksin saja. Pernyataan tersebut didukung oleh hasil analisis ANOVA dengan nilai p (0,965) >  $\alpha$ . Profil sel ini menunjukkan bahwa paparan benzo[a]pyrene dapat mengakibatkan imunosupresi dan represi regulasi TNF $\alpha$ <sup>+</sup>. Pernyataan ini didukung oleh penelitian yang dilaporkan oleh Lara Zacari Fanali (2018) yang mengamati efek benzo[a]pyrene pada darah dan liver physaleumus cuvieri dan leptodactus fuscus. Berdasarkan penelitian tersebut disimpulkan bahwa benzo[a]pyrene dapat mempengaruhi integritas beberapa organ dan jaringan serta

fungsi sel. Sehingga benzo[a]pyrene ini bersifat hepatotoksik, imunotoksik ( Lara Zacari Fanali, *et al.*, 2018). Profil sel CD4<sup>+</sup>TNF $\alpha$ <sup>+</sup> setelah minggu ke-4 menunjukkan beda tidak nyata antara kelompok mencit normal dengan kelompok kelompok mencit yang diberikan paparan benzo[a]pyrene. Pernyataan ini didukung oleh Analisis ANOVA dengan nilai p (0,370) >  $\alpha$ . Profil sel ini menggambarkan bahwa benzo[a]pyrene merupakan salah satu PAH yang dapat mengakibatkan represi regulasi TNF $\alpha$ <sup>+</sup>. Respon benzo[a]pyrene ini diperkuat oleh hasil penelitian yang dilakukan Holladay SD, yang menyatakan bahwa pengaruh benzo[a]pyrene terhadap hematopoieticfetus yang dianalisis dengan flowcytometri menunjukkan bahwa benzo[a]pyrene dapat mengakibatkan penurunan yang signifikan prosentase CD4<sup>+</sup> thymocite janin, hiposelularitas thymus (Holladay SD, *et al.*, 1994).

Kelompok mencit yang diberikan vaksin paramiksovirus menunjukkan profil sel CD4<sup>+</sup>TNF $\alpha$ <sup>+</sup> 3,02%. Kelompok yang diberikan paparan vaksin paramiksovirus menunjukkan perbedaan dengan kelompok yang diberikan benzo[a]pyrene. Pernyataan ini didukung oleh analisis ANOVA dengan nilai p (0,024) <  $\alpha$ . Profil sel ini terjadi karena, vaksin paramiksovirus yang merupakan virus hidup yang dilemahkan yang dapat menimbulkan respon inflamasi akut pada tubuh. Tumor Necrosis Factor (TNF) merupakan sitokin utama pada proses inflamasi akut. TNF $\alpha$ <sup>+</sup> merupakan salah satu sitokin yang diproduksi makrofag yang berperan sebagai aktivator sel endotel. Pengenalan patogen juga memicu terjadinya inflamasi melalui jalur komplemen. Salah satu substansi yang dihasilkan setelah reaksi komplemen adalah C5a (Complemen 5a). Pengaruh C5a terhadap sel adalah terjadinya pelepasan granula yang berisi histamin dan TNF $\alpha$ <sup>+</sup> yang merupakan molekul penting pada proses inflamasi (Rifa'i 2018). Sumber utama TNF $\alpha$ <sup>+</sup> adalah fagosit mononuklear dan sel T yang diaktifkan antigen, sel Natural Killer dan sel mast. Lipopolisakarida (LPS) merupakan rangsangan poten terhadap makrofag untuk mensekresi TNF $\alpha$ <sup>+</sup>. Pada kadar yang rendah, TNF $\alpha$ <sup>+</sup> bekerja terhadap leukosit dan endotel, menginduksi inflamasi akut. Pada kadar yang sedang, TNF $\alpha$ <sup>+</sup> berperan dalam inflamasi sistemik. Pada kadar yang tinggi, TNF $\alpha$ <sup>+</sup> menimbulkan kelainan patologik syok septik (Baratawidjaja, 2010).

Kelompok mencit yang diberikan vaksin paramiksovirus kemudian diberi paparan polutan benzo[a]pyrene menunjukkan beda tidak nyata dengan profil sel CD4<sup>+</sup>TNF $\alpha$ <sup>+</sup> dengan kelompok yang diberikan vaksin. Profil sel CD4<sup>+</sup>TNF $\alpha$ <sup>+</sup> pada mencit yang diberikan vaksin paramiksovirus dan benzo[a]pyrene adalah sebesar 1,43%. Pernyataan ini didukung oleh analisis ANOVA dengan nilai p (0,208) >  $\alpha$ . Profil sel ini menunjukkan bahwa benzo(a)pirene mampu menekan regulasi TNF $\alpha$ <sup>+</sup>. Respon infeksi akibat vaksin, yang ditunjukkan dengan ekspresi TNF $\alpha$ <sup>+</sup> mengalami represi akibat benzo[a]pyrene. Respon ini sesuai dengan penelitian Hollady SD, yang menyatakan bahwa benzo[a]pyrene dapat mengakibatkan penurunan prosentase CD4<sup>+</sup>, hiposelularitas thymus, menghambat proses pematanagan thymocyte (Holladay SD, 1994).

#### 4.5 Profil sel CD8<sup>+</sup> IFN- $\gamma$ <sup>+</sup>



Gambar 4.5 Paparan antigen pada minggu ke-2 memberikan respon infeksi yang masih rendah dan tidak ada beda pada semua kelompok perlakuan. Setelah minggu ke-4 paparan benzo[a]pyrene dikenali sebagai antigen yang meningkatkan profil IFN $\gamma$ <sup>+</sup> dan ada perbedaan antara kelompok yang diberikan vaksin dengan kelompok yang terpapar benzo[a]pyrene setelah diberikan vaksin. Sel diisolasi dari spleen mencit strein BALB/C distaining dengan anti CD8<sup>+</sup> dan anti IFN $\gamma$ <sup>+</sup>. Hasil staining dianalisis dengan menggunakan *flowcytometry* dan didukung dengan analisis ANOVA dengan taraf signifikansi ( $\alpha$ ) < 0,05.

Berdasarkan gambar 4.5 dapat dijelaskan bahwa pada minggu ke-2 profil sel CD8<sup>+</sup>IFN $\gamma$ <sup>+</sup>, untuk mencit yang diberikan paparan benzo[a]pyrene sebesar 75,07%. Jika dibandingkan dengan kelompok kontrol, menunjukkan tidak ada perbedaan diantara keduanya. Pernyataan ini didukung oleh analisis ANOVA dengan nilai p ( $0,674 > \alpha$ ). Profil sel ini menunjukkan tidak adanya respon infeksi pada kelompok tersebut. Interferon merupakan protein yang diproduksi ketika suatu individu terinfeksi oleh patogen maupun parasit. Sel tumor juga merupakan salah satu trigger tersintesisnya interferon. Sel yang terinfeksi segera memproduksi dan mensekresi interferon (Rifa'i, 2018). Benzo[a]pyrene merupakan PAH yang mengakibatkan kerusakan sel, meningkatkan kepadatan sel mast sebagai respon inflamasi. Sel-sel ini menanggapi inflamasi non spesifik (Lara Zacari Fanali, *et al.*, 2018).

Kelompok mencit yang diberi paparan yaksin paramiksovirus menunjukkan profil sel CD8<sup>+</sup>IFN $\gamma$ <sup>+</sup> sebesar 72,4%. Profil sel CD4<sup>+</sup>IFN $\gamma$ <sup>+</sup> pada kelompok yang diberikan vaksin tidak berbeda dengan kelompok yang lain. Pemberian vaksin paramiksovirus ini berupa virus hidup yang dilemahkan. Kontak pertama virus campak dapat menimbulkan imunosupresi, menginduksi kelainan yang dalam dan berkepanjangan pada respon imun seluler inang yang terinfeksi (Christopher L. Karp, 2006).

Pemberian benzo[a]pyrene pada mencit yang telah diberikan vaksin, menunjukkan profil sel CD8<sup>+</sup>IFN $\gamma$ <sup>+</sup> sebesar 74,19%. Profil sel ini menunjukkan tidak ada perbedaan dengan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang lain.

Pernyataan ini didukung oleh analisis ANOVA dengan nilai p ( $0,410 > \alpha$ ). Profil sel ini menggambarkan tingkat respon tubuh terhadap antigen. Efek interferon tipe I adalah proteksi terhadap infeksi virus dan meningkatkan imunitas seluler terhadap mikroba intra seluler (Baratawidjaja, 2010).

Profil sel CD8<sup>+</sup>IFN $\gamma$ <sup>+</sup> setelah minggu ke-4 menunjukkan bahwa antara kelompok mencit normal dengan kelompok mencit yang diberikan paparan benzo[a]pyrene menunjukkan adanya perbedaan. Kelompok mencit yang diberi paparan benzo[a]pyrene menunjukkan profil sel CD8<sup>+</sup>IFN $\gamma$ <sup>+</sup> sebesar 76,65%.

Pernyataan ini didukung oleh analisis ANOVA dengan nilai  $p$  ( $0,043$ )  $< \alpha$ . Paparan benzo[a]pyrene yang diberikan pada mencit pada minggu ke 4 tidak menimbulkan penghambatan aktivasi IFN $\gamma$ . Respon ini terjadi pada kelompok mencit dengan paparan benzo[a]pyrene maupun kelompok mencit dengan paparan vaksin campak dan benzo[a]pyrene. Penghambatan aktivasi akan terjadi jika benzo[a]pyrene diaktifkan secara enzimatik oleh hati. Pernyataan tersebut sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Hahon dan James (2006) pada tikus yang menyatakan bahwa penghambatan produksi IFN hingga 60% sampai 70% akan terjadi jika benzo[a]pyrene diaktifkan secara enzimatik oleh hati tikus S9. Kombinasi benzo[a]pyrene teraktivasi dengan chrysotile menghasilkan penghambatan induksi IFN secara signifikan. Benzo[a]pyrene merupakan salah satu polutan yang mempunyai tingkat toksitas yang tinggi. Pemberian paparan benzo[a]pyrene pada mencit dapat menjadi pemicu tersintesisnya interferon. Interferon merupakan salah satu protein sitokin yang secara umum digunakan untuk komunikasi antar sel dan berguna sebagai pertahanan terhadap invasi patogen (Rifa'i, 2018).

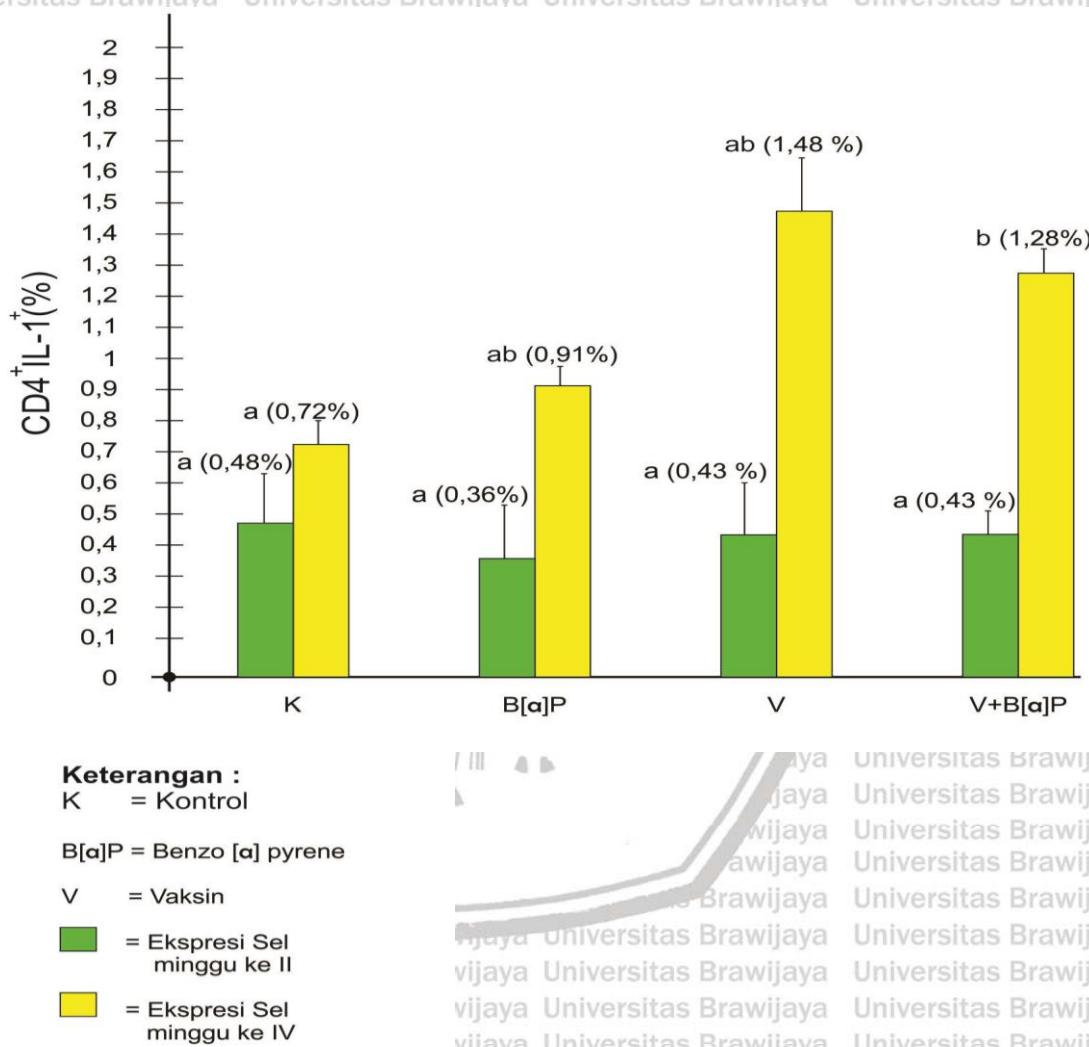
Kelompok mencit yang diberikan vaksin paramiksovirus menunjukkan beda

tidak nyata dengan kelompok kontrol. Profil sel CD8 $^+$ IFN $\gamma^+$  pada kelompok mencit yang diberikan vaksin paramiksovirus sebesar 73,11%. Pernyataan ini didukung oleh analisis ANOVA dengan nilai  $p$  ( $0,640$ )  $> \alpha$ . Vaksin paramiksovirus yang diberikan merupakan virus hidup yang dilemahkan. Paparan ini memicu munculnya respon infeksi yang lemah pada tubuh yang ditunjukkan dengan tingginya jumlah interferon tidak berbeda dengan kelompok kontrol. Interferon (IFN) merupakan protein yang diproduksi ketika suatu individu terinfeksi oleh patogen yang berupa virus, bakteri, maupun parasit (Rifa'i, 2018).

Pada kelompok mencit yang telah diberikan vaksin campak (paramiksovirus)

kemudian mendapatkan paparan benzo[a]pyrene menunjukkan adanya perbedaan dengan kelompok yang diberikan vaksin. Pernyataan tersebut didukung oleh analisis ANOVA dengan nilai  $p$  ( $0,005$ )  $< \alpha$ . Profil sel CD8 $^+$ IFN $\gamma^+$  pada kelompok ini menggambarkan bahwa polutan benzo[a]pyrene yang diberikan pada mencit yang telah diberikan vaksin campak akan meningkatkan respon infeksi pada

#### 4.6 Profil sel CD4<sup>+</sup>IL-1<sup>+</sup>



Gambar 4.6 Paparan benzo[a]pyrene pada minggu ke-2 menunjukkan tidak ada perbedaan profil sel CD4<sup>+</sup>IL-1<sup>+</sup> pada semua kelompok perlakuan. Setelah minggu ke-4 paparan benzo[a]pyrene mengaktifkan fungsi regulasi CD4<sup>+</sup> yang lemah, yang ditunjukkan dengan profil sel CD4<sup>+</sup>IL-1<sup>+</sup> pada kelompok yang divaksin beda tidak nyata dengan kelompok yang diberikan paparan benzo[a]pyrene setelah diberikan vaksin. Sel diisolasi dari spleen mencit strein BALB/C distaining dengan anti CD4<sup>+</sup> dan anti IL-1<sup>+</sup>. Hasil staining dianalisis dengan menggunakan *flowcytometry* dan didukung dengan analisis ANOVA dengan taraf signifikansi ( $\alpha$ ) < 0,05.

Berdasarkan gambar 4.6 dapat dijelaskan bahwa: pada minggu ke-2 profil sel CD4<sup>+</sup>IL-1<sup>+</sup> pada kelompok mencit yang diberikan paparan benzo[a]pyrene sebesar 0,36%. Profil sel pada kelompok yang diberikan paparan benzo[a]pyrene tidak berbeda dengan kelompok kontrol. Pernyataan ini didukung oleh hasil analisis ANOVA dengan nilai  $p (0,621) > \alpha$ . Pemberian benzo[a]pyrene belum dapat merepresi fungsi regulasi CD4<sup>+</sup>. Keadaan ini dapat dijelaskan bahwa rangsangan antigen pada minggu 2 belum mampu meningkatkan ekspresi MHC II terhadap presentasi peptida virus pada sel T helper CD4<sup>+</sup> sehingga jumlah IL-1<sup>+</sup> tidak mengalami peningkatan dan lebih rendah dari kelompok kontrol (Rifa'i, 2013). Pemberian vaksin paramiksovirus pada mencit ditunjukkan dengan profil sel CD4<sup>+</sup>IL1<sup>+</sup> sebesar 0,43%. Pemberian vaksin menunjukkan tidak ada beda dengan kelompok kontrol. Pernyataan ini didukung oleh analisis ANOVA dengan nilai  $p (0,922) > \alpha$ . Pemberian vaksin pada minggu pertama dapat menimbulkan imunosupresif pada sel inang yang terinfeksi (Christopher L. Karp, 2006). Respon ini akan mengurangi fungsi utama IL-1<sup>+</sup> sebagai sitokin proinflamasi yang berperan sebagai pirogen endogen.

Paparan benzo[a]pyrene yang diberikan pada kelompok mencit yang telah divaksin, menunjukkan profil sel CD4<sup>+</sup>IL-1<sup>+</sup> 0,43%. Respon yang ditunjukkan oleh kelompok mencit ini sama dengan kelompok mencit yang diberikan paparan vaksin paramiksovirus saja. Pernyataan ini didukung oleh analisis ANOVA dengan nilai  $p (0,879) > \alpha$ . Hal ini menggambarkan bahwa pada minggu pertama paparan benzo[a]pyrene pada kelompok mencit yang telah divaksin belum mampu meningkatkan ekspresi MHC II terhadap presentasi sel T helper CD4<sup>+</sup>, sehingga kadar IL-1<sup>+</sup> lebih rendah dari kelompok kontrol (Baratawidjaja, 2010).

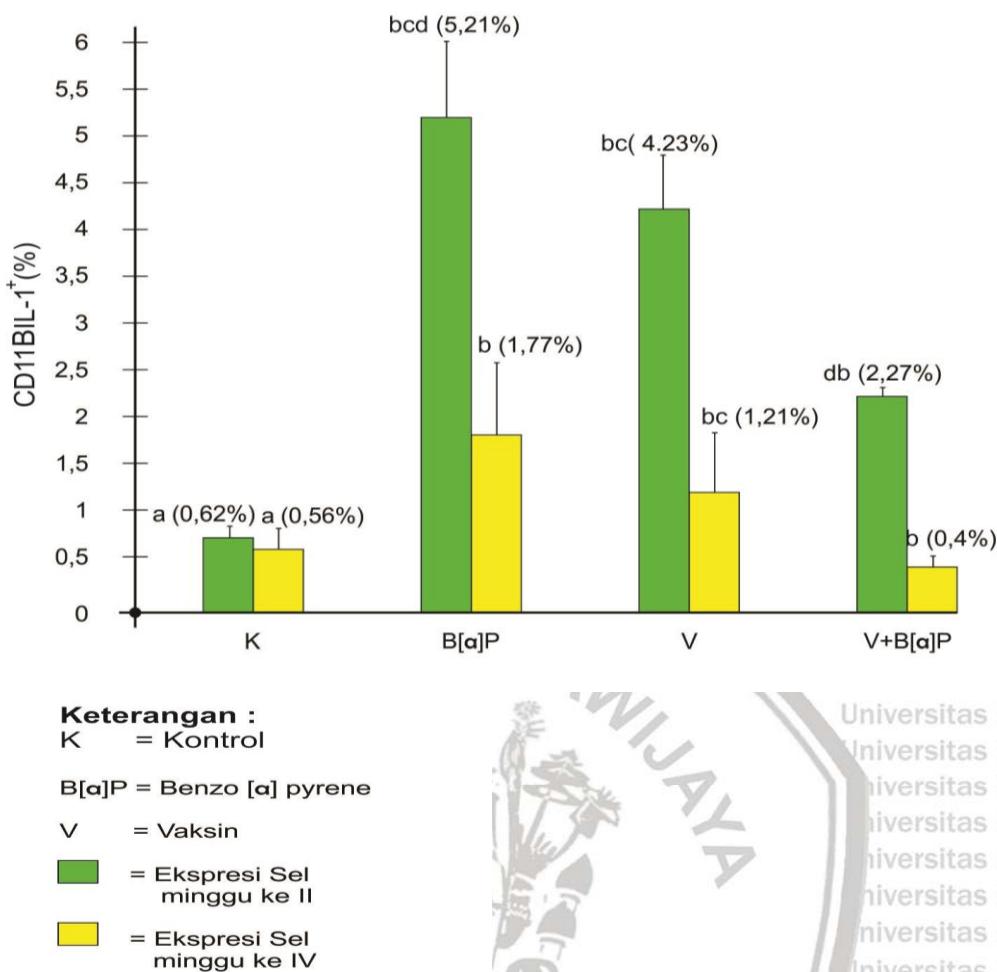
Profil sel CD4<sup>+</sup>IL1<sup>+</sup> setelah minggu ke-4 menunjukkan bahwa antara kelompok mencit normal dengan kelompok mencit dengan paparan benzo[a]pyrene menunjukkan beda tidak nyata diantara keduanya. Profil sel CD4<sup>+</sup>IL1<sup>+</sup> pada mencit yang diberikan paparan benzo[a]pyrene sebesar 0,91%. Pernyataan ini didukung oleh analisis ANOVA dengan nilai  $p (0,154) > \alpha$ . Paparan benzo[a]pyrene yang diberikan

pada minggu ke-4 telah menimbulkan infeksi yang ditunjukkan dengan peningkatan profil sel CD4<sup>+</sup>IL-1<sup>+</sup>. IL-1<sup>+</sup> merupakan molekul proinflamasi yang dihasilkan tubuh untuk melawan infeksi. IL-1<sup>+</sup> diproduksi oleh makrofag, monosit, fibroblas, sel denritik, sel B, sel NK, mikroglia, dan sel epitel (Rifa'i, 2018).

Kelompok mencit yang diberikan vaksin paramiksovirus menunjukkan profil sel CD4<sup>+</sup>IL-1<sup>+</sup> sebesar 1,48%. Profil sel CD4<sup>+</sup>IL-1<sup>+</sup> pada kelompok mencit yang diberi paparan vaksin paramiksovirus menunjukkan beda tidak nyata, jika dibandingkan dengan kelompok yang lain. Pernyataan ini didukung oleh analisis ANOVA dengan nilai  $p > \alpha$ . Hal ini karena vaksin paramiksovirus merupakan vaksin hidup yang dilemahkan, sehingga memicu munculnya reaksi perlawan tubuh terhadap infeksi. Reaksi tubuh dalam melawan infeksi ditunjukkan dengan profil sel CD4<sup>+</sup>IL1<sup>+</sup> lebih tinggi dari normal. CD4<sup>+</sup> merupakan protein transmembran berfungsi sebagai koreseptor pada sel T helper. Ketika sel T mengenali kompleks antigen, MHC II CD4<sup>+</sup> berlaku sebagai ko-reseptor yang memperkuat signal transduksi sehingga sel T teraktivasi. IL-1<sup>+</sup> merupakan mediator inflamasi yang merupakan respon terhadap infeksi dan rangsangan lain. IL-1<sup>+</sup> merupakan sitokin proinflamasi yang bertindak sebagai pirogen endogen. Efek lain dari IL-1<sup>+</sup> antara lain : mempengaruhi proliferasi sel, diferensiasi, dan fungsi sel imunokompeten baik sel yang terlibat sistem imunitas innate maupun spesifik (Rifa'i, 2013).

Profil sel CD4<sup>+</sup>IL-1<sup>+</sup> pada kelompok mencit yang telah diberikan vaksin campak (paramiksovirus) kemudian diberi paparan benzo[a]pyrene menunjukkan beda tidak nyata jika dibandingkan dengan kelompok mencit yang diberikan vaksin. Profil sel CD4<sup>+</sup>IL-1<sup>+</sup> kelompok mencit yang diberikan vaksin paramiksovirus bersama-sama polutan benzo[a]pyrene adalah 1,28%. Pernyataan ini didukung oleh analisis ANOVA dengan nilai  $p (0,133) > \alpha$ . Pemberian benzo[a]pyrene akan mengaktifasi fungsi regulasi CD4<sup>+</sup>. Profil sel ini, menunjukkan adanya perlawan tubuh terhadap inflamasi yang muncul akibat paparan vaksin bersama benzo[a]pyrene. IL-1<sup>+</sup> berperan sebagai molekul proinflamasi untuk melawan infeksi. IL-1<sup>+</sup> meningkatkan ekspresi molekul adhesi pada sel bendotel untuk memediasi migrasi (diapedesis) sel imunokompeten seperti makrofag, limfosit, dan sel lainnya menuju daerah infeksi (Rifa'i, 2018).

#### 4.7 Profil sel CD11b<sup>+</sup> IL-1<sup>+</sup>



Gambar 4.7 Paparan benzo[a]pyrene pada minggu ke-2 merepresi aktivasi CD11b<sup>+</sup> sebagai molekul adesi leukosit yang ditunjukkan dengan tidak beda nyata antara kelompok yang diberikan vaksin dengan kelompok yang diberikan paparan benzo[a]pyrene setelah di vaksin. Setelah minggu ke-4 paparan benzo[a]pyrene, tetap merepresi aktivasi CD11b<sup>+</sup> yang ditunjukkan dengan tidak beda nyata antara kelompok yang diberikan vaksin dengan kelompok yang diberikan paparan benzo[a]pyrene setelah diberikan vaksin. Sel diisolasi dari spleen mencit strain BALB/C distaining dengan anti CD11b<sup>+</sup> dan anti IL-1<sup>+</sup>. Hasil staining dianalisis dengan menggunakan *flowcytometry* dan didukung dengan analisis ANOVA dengan taraf signifikansi ( $\alpha$ ) < 0,05.

Berdasarkan gambar 4.7 dapat dijelaskan bahwa pada minggu ke-2 profil sel CD11b<sup>+</sup>IL-1<sup>+</sup> pada kelompok mencit kontrol adalah paling rendah dibandingkan dengan kelompok mencit yang lain yaitu sebesar 0,62% sehingga berbeda dengan kelompok perlakuan. Pernyataan ini didukung oleh analisis ANOVA dengan  $p < \alpha$ .

Profil sel ini terjadi karena tidak terjadi respon inflamasi pada kelompok mencit

kontrol. CD11b<sup>+</sup> dikenal sebagai integrin αM dan menjadi basic dari keluarnya reseptor integrin yang mengenali adhesi antar sel serta komponen ekstra seluler. Integrin merupakan reseptor persinyalan aktif yang merekrut leukosit kesitus inflamasi dan meningkatkan aktivasi sel. Integrin α M (CD11) menjadi reseptor yang dikenal sebagai macrophage antigen-1 (Mac-1) atau komplemen tipe 3 (CR-3) komplemen (Baratawidjaja, 2010)

Profil sel CD11b<sup>+</sup>IL-1<sup>+</sup> pada kelompok mencit dengan paparan benzo[a]pyrene sebesar 5,21%. Kelompok ini berbeda dengan ekspresi kelompok kontrol. Pernyataan ini didukung oleh analisis ANOVA dengan nilai p (0,000) <  $\alpha$ . Hal ini karena CD11b<sup>+</sup> berfungsi sebagai molekul adhesi leukosit terhadap antigen. Paparan benzo[a]pyrene sebagai atigen, yang diberikan pada mencit ditangkap oleh CD11b<sup>+</sup> yang dikenal sebagai integrin. Integrin adalah resptor pensinyalan aktif yang merekrut leukosit ke situs inflamasi dan meningkatkan aktivitas sel. (Baratawidjaja, 2010)

Kelompok mencit yang diberikan vaksin paramiksovirus menunjukkan profil sel CD11b<sup>+</sup>IL-1<sup>+</sup> sebesar 4,23%. Kelompok ini menunjukkan profil sel yang berbeda nyata dengan kelompok kontrol. Pernyataan tersebut didukung oleh analisis ANOVA dengan nilai p (0,001) <  $\alpha$ . Hal ini memberikan gambaran bahwa vaksin paramiksovirus yang berupa virus hidup yang dilemahkan akan ditangkap oleh CD 11b dan akan mengikat leukosit ke situs inflamasi yang lebih rendah dari paparan polutan benzo[a]pyrene (Baratawidjaja, 2010).

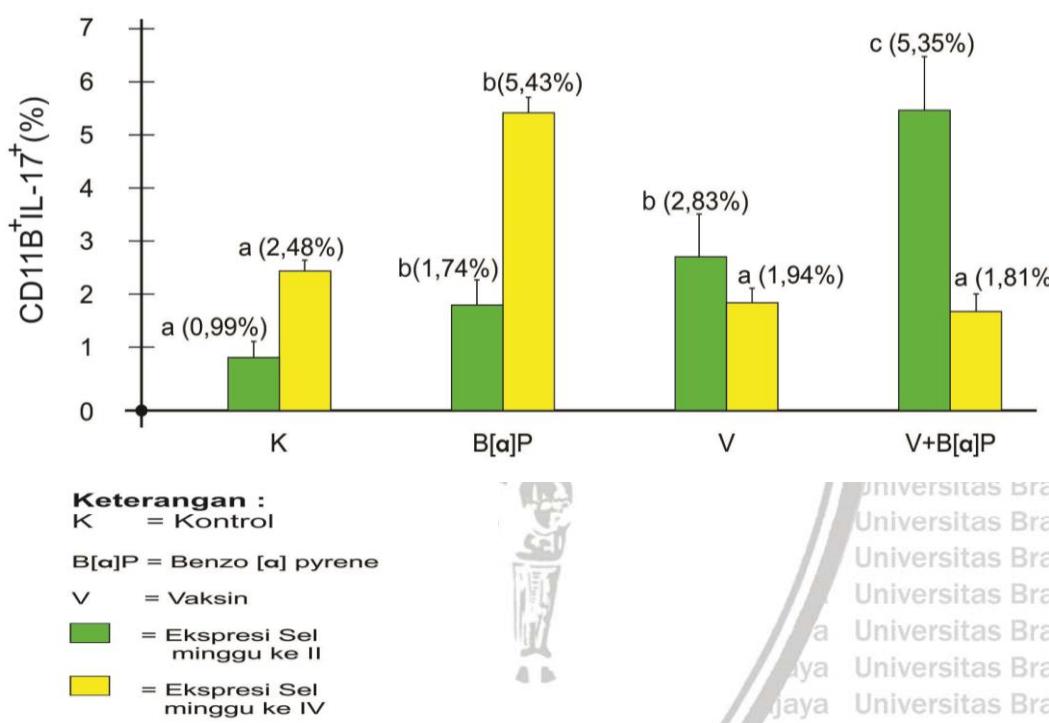
Kelompok mencit yang diberikan vaksin campak kemudian diberi paparan polutan benzo[a]pyrene menunjukkan profil sel CD11b<sup>+</sup>IL-1<sup>+</sup> sebesar 2,27%. Kelompok ini menunjukkan profil sel yang beda dengan kelompok kontrol. Pernyataan tersebut didukung oleh analisis ANOVA dengan nilai p (0,000) >  $\alpha$ . Profil sel ini memberikan gambaran bahwa benzo[a]pyrene yang diberikan menekan respon inflamasi. Pemberian benzo[a]pyrene akan menimbulkan hiposelularitas thymus serta menghambat proses pematangan thymocyt normal (Holladay SD, 1994).

Profil sel CD11b<sup>+</sup>IL-1<sup>+</sup> setelah minggu ke-4 menunjukkan bahwa antara kelompok mencit kontrol dengan kelompok mencit dengan paparan benzo[a]pyrene menunjukkan adanya beda. Pernyataan tersebut didukung oleh analisis ANOVA dengan nilai  $p (0,004) < \alpha$ . Profil sel CD11b<sup>+</sup>IL-1<sup>+</sup> pada mencit dengan paparan benzo[a]pyrene sebesar 1,77%. Paparan benzo[a]pyrene yang diberikan pada kelompok mencit diterima sebagai antigen, sehingga mengaktifkan CD11b<sup>+</sup> sebagai molekul adhesi leukosit. Respon ini ditunjukkan oleh tinginya profil sel CD11b<sup>+</sup>IL-1<sup>+</sup>. Fungsi utama IL-1<sup>+</sup> adalah sebagai mediator inflamasi yang merupakan respon terhadap infeksi dan rangsangan lain. Fungsi utama IL-1<sup>+</sup> sama dengan fungsi TNF $\alpha$ <sup>+</sup> (Tumor Necrosis Factor) (Baratawidjaja, 2010). Sebagai mediator inflamasi IL-1<sup>+</sup> mempunyai kemampuan untuk memulai respon imun dan pemicu inflamasi. IL-1<sup>+</sup> juga sebagai sitokin proinflamasi yang bertindak sebagai pirogen endogen. Efek lain dari IL-1<sup>+</sup> adalah mempengaruhi proliferasi sel, diferensiasi, dan fungsi sel imunokompeten baik sel yang terlibat sistem imunitas innate maupun spesifik (Rifa'i, 2013).

Profil sel CD11b<sup>+</sup>IL-1<sup>+</sup> pada kelompok mencit yang diberikan paparan vaksin paramiksovirus menunjukkan ada beda dengan kelompok mencit kontrol. Profil sel CD11b<sup>+</sup>IL-1<sup>+</sup> pada kelompok mencit yang diberi paparan vaksin paramiksovirus sebesar 1,21%. Pernyataan tersebut didukung oleh analisis ANOVA dengan nilai  $p (0,021) < \alpha$ . Vaksin paramiksovirus yang diberikan berupa vaksin hidup yang dilemahkan, sehingga merangsang munculnya respon inflamasi. Hal ini ditunjukkan dengan profil sel CD11b<sup>+</sup>IL-1<sup>+</sup> diatas kelompok kontrol. CD11b dikenal sebagai integrin alpha M. Integrin adalah reseptor sinyal aktif yang merekrut leukosit ke situs inflamasi dan meningkatkan aktivasi sel. Integrin alpha M (CD11b) dirakit dengan integrin beta-2 (CD18) menjadi reseptor yang dikenal sebagai makrofag antigen I (Mas-1) atau komplemen tipe 3(CR3) komplemen (Baratawidjaja, 2010). Profil sel CD11b<sup>+</sup>IL-1<sup>+</sup> pada kelompok mencit yang diberikan vaksin campak (paramiksovirus) kemudian diberi paparan polutan benzo[a]pyrene menunjukkan beda tidak nyata dibandingkan dengan kelompok yang diberikan vaksin. Pernyataan tersebut didukung oleh analisis ANOVA dengan nilai  $p (0,853) >$

a. Profil sel CD11b<sup>+</sup>IL-17<sup>+</sup> pada kelompok yang diberikan perlakuan menunjukkan angka yang lebih rendah dibandingkan kelompok yang diberikan vaksin. Hal ini mengindikasikan bahwa antibodi dalam tubuh mencit bekerja dengan baik pada minggu ke empat perlakuan, sehingga polutan benzo[a]pyrene tidak memicu munculnya proses inflamasi dalam tubuh. Campak adalah virus monotypic serologis, sehingga paparan vaksin dapat melindungi dari infeksi virus disekitarinya (Sunil R. Vaidy, *et al.*, 2016).

#### 4.8 Profil sel CD11b<sup>+</sup>IL-17<sup>+</sup>



Gambar 4.8 Pemberian benzo[a]pyrene pada minggu ke-2 mengaktifasi CD11b<sup>+</sup> sebagai adesi leukosit yang ditunjukkan dengan ada beda nyata antara profil sel pada kelompok yang diberikan vaksin dengan kelompok yang diberikan paparan benzo[a]pyrene setelah diberikan vaksin. Setelah minggu ke-4 kelompok mencit yang diberi pemaparan benzo[a]pyrene setelah diberikan vaksin menunjukkan tidak ada beda dengan kelompok yang diberikan vaksin. Sel diisolasi dari spleen mencit strain BALB/C distaining dengan anti CD11b<sup>+</sup> dan anti IL17<sup>+</sup>. Hasil staining dianalisis dengan menggunakan *flowcytometry* dan didukung dengan analisis ANOVA dengan taraf signifikansi ( $\alpha$ ) < 0,05.

Berdasarkan gambar 4.8 dapat dijelaskan bahwa pada minggu ke-2 profil sel

CD11b<sup>+</sup>IL-17<sup>+</sup> pada kelompok mencit yang diberi paparan benzo[a]pyrene sebesar 1,74% berbeda dengan kelompok kontrol. Pernyataan tersebut didukung oleh analisis

ANOVA dengan nilai  $p (0,019) < \alpha$ . Benzo[a]pyrene yang diberikan kepada kelompok mencit diterima sebagai antigen sehingga akan mengaktifasi CD11b<sup>+</sup>. Reseptor integrin dari CD11b<sup>+</sup> akan meningkatkan adhesi antar sel dan komponen ekstra selular. Integrin sebagai resptor pensinyalan aktif yang merekrut lekosit ke situs inflamasi dan meningkatkan aktivasi sel. Sel-sel yang mengikat IL-17<sup>+</sup> akan mensintesis sitokin proinflamasi, kemokin, dan metalloprotease. IL-17<sup>+</sup> merupakan sitokin yang mempunyai banyak famili. IL-17<sup>+</sup> dapat menjadi IL-17A. IL-17A diekspresikan oleh sel CD4<sup>+</sup> Th17 yang teraktifasi, sel CD8, sel $\tau\delta$ , sel NK dan neutrofil. Ekspresi IL-17A secara maksimum akan terjadi jika selama diferensiasi Th17, sel T naive pada manusia harus terpapar dengan IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-23, dan TGF- $\beta$ . IL-17A mampu meningkatkan ekspresi sitokin, induksi ekspresi molekul adhesi pada fibroblas, dan mengatur protein komplemen (Baratawidjaja, 2010).

Kelompok mencit yang diberikan paparan vaksin paramiksovirus menunjukkan profil sel CD11b<sup>+</sup>-IL17A<sup>+</sup> sebesar 2,83%. Kadar ini lebih tinggi jika dibandingkan dengan kelompok kontrol. Sehingga menunjukkan perbedaan diantara kedua kelompok tersebut. Pernyataan tersebut didukung oleh analisis ANOVA dengan nilai  $p (0,002) < \alpha$ . Vaksin paramiksovirus yang diberikan berupa virus hidup yang dilemahkan sehingga akan mengaktifasi sel yang terinfeksi untuk berikatan dengan IL-17A<sup>+</sup> untuk mensintesis sitokin proinflamasi, kemokin, dan metalloprotease. Kemokin yang dihasilkan dari proses induksi sel, akan menarik neutrofil untuk pertahanan terhadap bermacam-macam patogen (Rifa'i, 2018).

Paparan benzo[a]pyrene pada kelompok mencit yang telah diberikan vaksin menunjukkan profil sel CD11b<sup>+</sup>-IL-17<sup>+</sup> yang paling tinggi. Profil sel ini menggambarkan bahwa polutan benzo[a]pyrene sudah dikenali sebagai antigen, sehingga mengaktifasi CD11b<sup>+</sup>. Respon ini diperkuat dengan paparan vaksin paramiksovirus, sehingga reaksi inflamasi meningkat. Peningkatan ini juga menunjukkan bahwa sel T naive telah terpapar dengan IL-1 $\beta$ , IL-6 da IL-23, sehingga menghasilkan ekspresi IL-17<sup>+</sup> yang tinggi (Rifa'i, 2018).

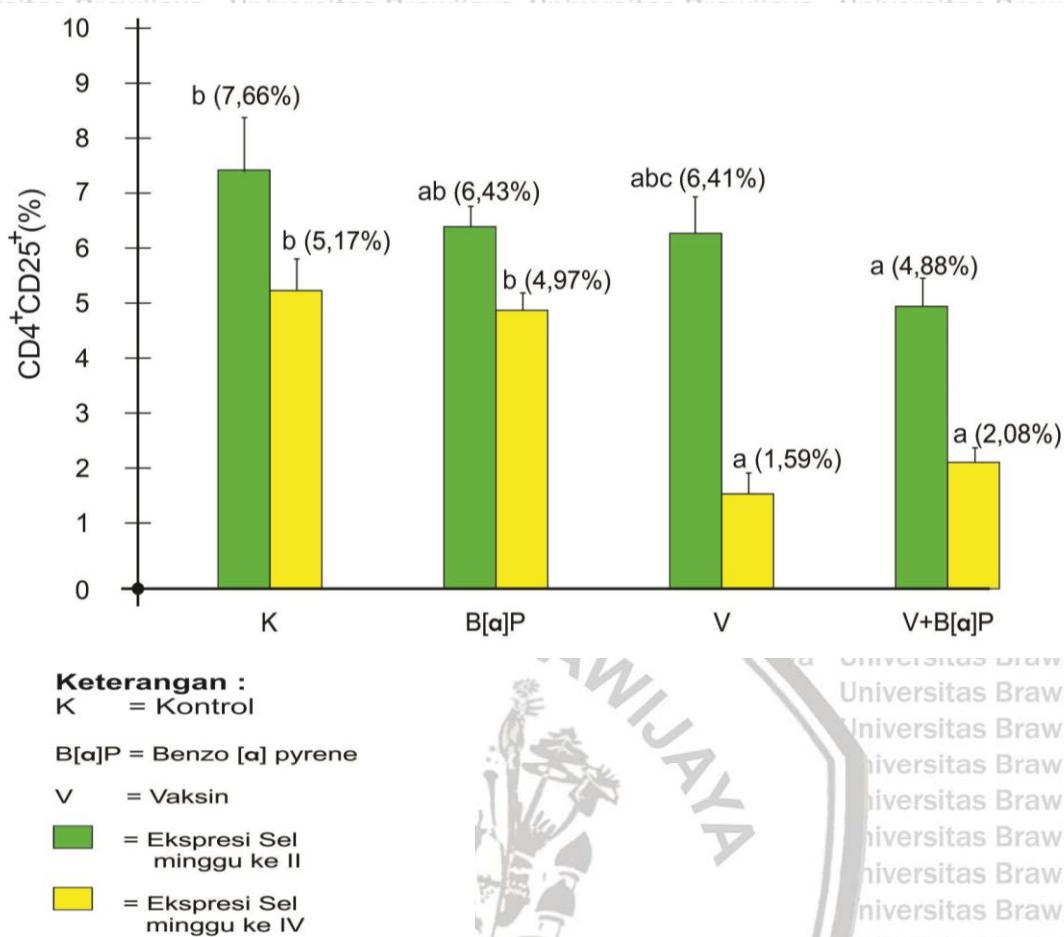
Profil sel CD11<sup>+</sup>-IL17 pada minggu ke-4 pada kelompok mencit kontrol dengan kelompok mencit dengan paparan benzo[a]pyrene menunjukkan adanya perbedaan. Profil sel CD11b<sup>+</sup>-IL17 pada mencit yang diberi paparan benzo[a]pyrene

sebesar 5,43%, sedangkan pada mencit normal 2,48%. Pernyataan tersebut didukung oleh analisis ANOVA dengan nilai  $p (0,000) < \alpha$ . Profil sel ini menggambarkan bahwa benzo[a]pyrene sebagai antigen akan mengaktifasi CD11b<sup>+</sup> untuk mengikat leukosit sebagai upaya perlawanannya terhadap antigen yang ada. Hal ini ditunjukkan dengan tidak ada perbedaan antara profil sel CD11b<sup>+</sup> IL17 pada kelompok mencit yang diberi paparan benzo[a]pyrene setelah diberikan vaksin. Dengan menginduksi sel untuk menghasilkan kemokin, IL17 menarik neutrofil untuk pertahanannya terhadap bermacam-macam pathogen (Rifa'i, 2018).

Prof CD1 sel 11b<sup>+</sup>IL-17A pada kelompok mencit yang diberikan vaksin paramiksovirus sebesar 1,94%. Profil sel kelompok mencit yang diberikan vaksin paramiksovirus menunjukkan tidak ada perbedaan jika dibandingkan kelompok mencit kontrol. Pernyataan tersebut didukung oleh analisis ANOVA dengan nilai  $p (0,991) > \alpha$ . Profil sel ini memberikan gambaran bahwa pada minggu ke-4 antibodi tubuh sudah terbentuk. Keadaan ini ditunjukkan oleh profil sel CD11b<sup>+</sup>IL-17A<sup>+</sup> dibawah profil sel kelompok kontrol. IL-17A<sup>+</sup> akan diproduksi jika sel tubuh terpapar pathogen dari luar. Sel tersebut akan menghasilkan kemokin, IL-17A<sup>+</sup> juga akan menginduksi produksi sitokin proinflamasi lain seperti TNF $\alpha$ , IL1. Pada kelompok mencit yang sudah memiliki antibodi didalam tubuh, maka respon tersebut tidak dilakukan (Rifa'i, 2018)

Berdasarkan gambar 5.8 profil sel CD11b<sup>+</sup>IL-17A<sup>+</sup> menunjukkan tidak ada perbedaan antara kelompok kontrol dengan kelompok mencit yang telah diberikan vaksin paramiksovirus dengan paparan benzo[a]pyrene. Pernyataan tersebut didukung oleh analisis ANOVA dengan nilai  $p (0,991) > \alpha$ . Hal ini menggambarkan bahwa antibodi mencit pada minggu keempat mampu melawan antigen dari luar, sehingga proses inflamasi tidak terjadi. Antibodi yang terbentuk dari paparan vaksin menurunkan aktivasi CD11b<sup>+</sup> sebagai adhesi leukosit. CD11b<sup>+</sup> yang merupakan integrin alpha M sebagai dasar dari dikeluarkannya reseptör integrin yang mengenali adhesi antar sel dan komponen ekstra selular. Integrin adalah reseptör sinyal aktif yang merekrut lekosit ke situs inflamasi dan meningkatkan aktivasi sel (Baratawidjaja, 2010).

#### 4.9 Profil sel CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup>



Gambar 4.9 Pemberian benzo[a]pyrene pada minggu ke-2 merepresi aktivasi sel T regulator dengan profil sel kelompok vaksin tidak beda nyata dengan kelompok yang diberikan benzo[a]pyrene setelah di vaksin. Setelah minggu ke-4 paparan benzo[a]pyrene ditanggapi dengan down regulasi dengan profil sel kelompok yang diberikan vaksin tidak beda dengan kelompok yang diberikan benzo[a]pyrene setelah divaksin. Sel diisolasi dari spleen mencit strein BALB/C distaining dengan anti CD4<sup>+</sup> dan anti CD25<sup>+</sup>. Hasil staining dianalisis dengan menggunakan *flowcytometry* dan didukung dengan analisis ANOVA dengan taraf signifikansi ( $\alpha$ ) < 0,05.

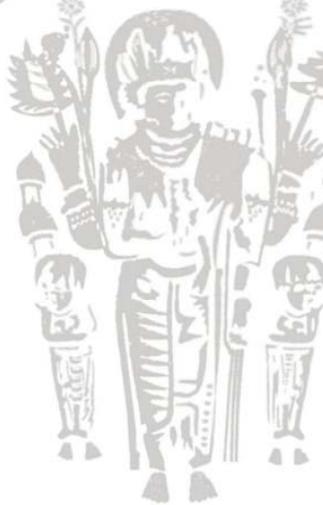
Berdasarkan gambar 4.9 dapat dijelaskan bahwa pada minggu ke-2 profil sel CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> pada kelompok mencit dengan paparan benzo[a]pyrene 6,43%. Kelompok mencit dengan paparan benzo[a]pyrene menunjukkan beda tidak nyata dibandingkan dengan kelompok mencit kontrol. Pernyataan tersebut didukung oleh analisis ANOVA dengan nilai  $p$  (0,269) >  $\alpha$ . CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> merupakan sel T regulator tubuh, yang penting untuk menjaga keseimbangan homeostasis. Antigen yang masuk kedalam tubuh, akan merangsang reaksi sel T regulator. Benzo[a]pyrene yang

diberikan diterima tubuh sebagai antigen yang dapat menimbulkan infeksi. Pada kasus infeksi, pada awalnya sel regulator CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> tidak melakukan kerja. Sel ini tetap dalam kondisi naive. Kondisi naive ini sangat penting untuk dijaga pada awal terjadinya infeksi (Rifa'i, 2013). Kelompok mencit dengan pemberian vaksin paramiksovirus menunjukkan profil sel CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> sebesar 6,41%. Profil sel yang dihasilkan tidak ada beda dengan kelompok yang diberikan paparan benzo[a]pyrene. Pernyataan tersebut didukung oleh analisis ANOVA dengan nilai  $p$  (0,983)  $> \alpha$ . Vaksin paramiksovirus yang diberikan merupakan virus hidup yang dilemahkan. Vaksin ini dapat menimbulkan infeksi ringan. Pada kasus infeksi pada awalnya sel regulator CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> tidak melakukan kerja, Sel ini tetap dalam kondisi naive (Rifa'i, 2013).

Profil sel CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> pada kelompok mencit yang telah divaksin kemudian diberi paparan benzo[a]pyrene sebesar 4,88%. Kelompok ini menunjukkan profil sel CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> beda nyata antara kelompok yang diberikan vaksin dibandingkan dengan kelompok yang diberikan benzo[a]pyrene setelah diberikan vaksin. Pernyataan tersebut didukung oleh analisis ANOVA dengan nilai  $p$  (0,249)  $> \alpha$ . Hal ini menunjukkan belum adanya proliferasi sel T regulator. CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> merupakan sel T regulator yang mempunyai daya regulasi yang baik. Daya regulasi adalah kemampuan dalam melakukan supresi dan kemampuan sebagai *smart cell* (kecerdasan sel dalam fisiologi). *Smart cell* ditandai dengan kemampuan sel dalam melakukan proliferasi pada saat yang tepat dan berhenti berproliferasi pada saat yang tepat pula. Hilangnya kemampuan regulasi dapat menimbulkan kerentanan terhadap infeksi. Munculnya infeksi terjadi ketika supresi sel T regulator berlebihan. Supresi berlebihan ini akan melemahkan daya eliminasi terhadap mikroba patogen dan lemahnya daya eliminasi terhadap sel yang melakukan mutasi (Rifa'i, 2013).

Profil sel tersebut menggambarkan bahwa pada minggu ke-4 benzo[a]pyrene menimbulkan respon down regulasi oleh CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> sebagai regulator tubuh. CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> merupakan “smart cell” yaitu sel yang cerdas. Kadaan ini ditandai dengan kemampuan sel untuk melakukan proliferasi pada saat yang tepat dan berhenti berproliferasi pada saat yang tepat. Sel ini juga tahu kapan harus melaksanakan dan berhenti melakukan supresi (Rifa'i, 2013).

Profil sel CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> kelompok mencit yang diberikan vaksin sebesar 1,59%. Profil sel CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> pada kelompok mencit yang diberikan paparan vaksin paramiksovirus menunjukkan beda dengan kelompok kontrol. Pernyataan tersebut didukung oleh analisis ANOVA dengan nilai  $P (0,005) < \alpha$ . Hal ini menggambarkan bahwa antibodi pada tubuh sudah terbentuk, sehingga memberikan respon down regulasi pada CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>. Paparan benzo[a]pyrene pada mencit yang telah diberikan vaksin menunjukkan profil sel CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> sebesar 2,08%. Profil sel ini tidak berbeda dengan kelompok yang diberikan vaksin. Pernyataan tersebut didukung oleh analisis ANOVA dengan nilai  $p (0,372) > \alpha$ . Respon ini menunjukkan bekerjanya fungsi down regulasi mencit. Respon down regulasi diperlukan untuk menjaga homeostasis sel. Down regulasi ini dilakukan oleh T<sub>H1</sub> dan T<sub>H2</sub> dengan sitokin yang diproduksinya akan bekerja seimbang dan saling menjadi down regulator maupun up regulator (Rifa'i, 2018).



## BAB 5 **KESIMPULAN DAN SARAN**

### **5.1 Kesimpulan**

Paparan benzo[a]pyrene yang diberikan pada mencit (*Mus musculus, L*) dengan dosis 20 mg/kg BB 2 kali/minggu, pada minggu ke-4 menimbulkan profil sel T naive CD4<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup> mengalami penurunan, aktivasi sel T naive pada CD8<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup>, aktivasi CD4<sup>+</sup>IFN $\gamma$  mengalami penurunan, terjadi represi regulasi CD4<sup>+</sup>TNF $\alpha$ , terjadi aktivasi CD8<sup>+</sup>IFN $\gamma$ , terjadi aktivasi fungsi regulasi CD4<sup>+</sup>IL1<sup>+</sup>, terjadi represi pada CD11b<sup>+</sup>IL1<sup>+</sup>, terjadi aktivasi CD11b<sup>+</sup>IL17<sup>+</sup>, profil sel CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> mengalami reaksi down regulasi.

### **5.2 Saran**

Perlu penelitian lebih lanjut tentang pengaruh benzo[a]pyrene terhadap perubahan profil sel imun, dengan waktu yang lebih lama untuk mengetahui reaksi yang lebih jelas.

**DAFTAR PUSTAKA**

Bakshi, R.M.A, Cox.A.J, Zajac R, Mackay NR, Rose, B. Diamond & A, Davidson. 2014. *Encyclopedia of medical immunology*, springer, New York

Baratawidjaya KG.2010. *Imunologi Dasar*, Edisi Ketiga, Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta

Brown,W.H.,C.S. Foote,B. L. Iverson, dan E.V Anslyn. 2009. *Organic Chemistry*. USA, Brooks/Cole Cengage Learning

Chin, James. 2006. *Manual pemberantasan penyakit menular*. Jakarta : Infomedika

Christopher L. Karp. 2006. *Imunological Reviews*, volume 168, issue 1, Pages 91-101, <https://e-resources.perpusnas.go.id:2619/doi/10.1111/j.1600-065X.1999.tb01282.X>. [09/08/18].

Christoper R.2013. *Clinical and Vaccine Imunology Journal*, <http://CVI.asm.orgis> [09/08/18]

Davila DR. 1996. *Human T Cells Are Heigly Sensitive To Supression of Mitogenesis By Polycyclic Aromatic Hidrocarbons and This Effect Differentially Reserved By Alpha-Naphthoflavone*, Toxicol Appt, Pharmacol

Delaware Health and Social Services. 2009. *Benzo[a]pyrene*. <http://www.dhss.delaware.gov/dhss/dph/files/benzopyrenefaq.pdf> Diakses tanggal [04/01/16].

Douben, P.E.T. 2003. *PAHs: an ecotoxicological perspective*. England, John Wiley & Sons, Ltd

EPA (Environmental Protection Agency). 2006. Benzo[a]pyrene (BaP): Teach Chemical Summary. [http://www.epa.gov/tech/chem\\_summ/BaP\\_summary.pdf](http://www.epa.gov/tech/chem_summ/BaP_summary.pdf) [ 20/01/16]. Genetic Science Learning Center, University of Utah. 2010. What causes DNA mutation? <http://learn.genetics.utah.edu/archive/sloozeworm/mutationbg.html> Diakses tanggal 11 januari 2016

Gomes Sandra, Olivia Pereira, Rodregues Roos. 2004. *Dynamic of CD62L/CD45RB CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> Lymphocyte Subsets in Hepatic and Splenic Tissues During Murine Visceral Leismaniasis*, Science Article

Grunbergerm D., R.G. dan R. E. Jones. 1980. *Translation of globin messenger RNA modified by benzo[a]pyrene 7,8-dihydrodiol 9, 10 in a wheat germ cell-free system*. The Journal of Biological Chemistry

- Haga Takeshi, Efird Jimmy, Tugi Zov Sharof, Pakfshy Joel. 2016. Increased TNF-alpha and sTNFR2 levels are associated with high-grade anal squamous intraepithelial lesions in HIV-positive patients with low CD4 level, *Papillomavirus Research*, 3: 1-6.
- Hahon, N & A.B James. 2006. Coinhibition of Virtual Interferon Induction by Benzo[a]pyrene and Chrysotile Asbestos, *Environmental Reserch*, 40 : 103-109.
- Handoyo,Indro. 2003. *si Pengantar imunisasi it dasar*, Surabaya; e Airlangga University Pres
- Harsono. 2015. Profil Kesehatan Provinsi Jawa Timur, Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Timur
- Hollady, S.D, & B.J Smith. 1994. *Fetal Hematopoietic Alterations After Maternal Exposure to Benzo[a]pyrene: a cytometric evaluation*. *J. Toxicol Environ Health*, 42 : 259-73
- Hunardja. 2002. *Buku pegangan pediatri*, Jakarta: Salemba Medika
- Husen SA. 2000. *Pengaruh Benzopirin Terhadap Penurunan Respon Imun Mukosa Usus Mencit (Mus Musculus L)*, Tesis Program Pasca Sarjana, Universitas Air Langga Surabaya
- Hyung Kim seung, Evelyn Saba, Bok-Kyukim, Won-Kyung Yang, Yang Chun Park, Han Joe Shin, Chang Kyu Han, Young Cheolle, Man Hee Rhee. 2018. *Luteolin attenuates airway inflamation by inducing the transition of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup> to CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T cells*, *European Journal of Pharmacology*. 820 : 53-64
- Kendrad Nelson. 2015. John Hopkins ; WHO ; Unaids
- Kumar A. Upadhyay G, Modi DR, Sing MP. 2007. *The Involvement of Secondary Signaling Molecules in Cytochrome P-450 1A1-Mediated Inducible Nitric Oxide Synthase Expression in Benzo[a]pyrene-Treated Rat Polymorphonuclear Leucocites* *Life Sci*, 2007, Nov 30:81(23-24):1575-84 Epub 2007 oct 10, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/177991490?dopt=Abstract>
- Lara Zacari Fanali, Lilian Franco Belussi, Claudi Regina Bonini Domingos, Classiusde Oliviera. 2018. *Effects of Benzo[a]pyrene on The Blood and Liver of Physalaemus Cuvieri and Leptodactylus Fuscus (Anura: Leptodactylidae)*.[https://doi.org/10.16/i.envpol.2018.02.03\[08/08/18\]](https://doi.org/10.16/i.envpol.2018.02.03[08/08/18]).

- Laupeze, B.L Amiot, L. Sparfei, E.L, Ferrec, R. Fauchet & O. Fardel. 2002. *Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Affect Functional Differentiation and Maturation of Human Monocytederived Dendritic Cells*, J. Immunol, 168 :2652-2658
- Lin, L-T & C.D. Richardson . 2006. *The Host Cell Receptors for Measles Virus and Their Interaction With The Viral Hemagglutinin (H) Protein Viruses*, 8 : 1-29
- Markum. 1991. *Ilmu kesehatan anak*, Jakarta:UI-Press
- Marchant. 2006. Oxford Journals Medecine, The Journal of Infectious Diseases, Volume 193, issue 11.Pp 1598-1600, <http://idoxfordjournals.org/content/193/11/1598> [08/08/16].
- Matthew J.2010. *Proceding of The Royal Society*, <http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2010.0536> [08/08/16].
- Mc Queen, C,A. 2018. *Comprehensive Toxicology*, Elsevier, Oxford
- Mooney, L., A. M. Madsen, D. Tang, M.A. Orjuela, W.Y. Tsai, E., R. Garduno, and F. P. Perera. 2005. *Antioxidant Vitamin Supplementation Reduces Benzo[a]pyrene-DNA adducts and Potential Cancer Risk in Female Smokers*. Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention.
- Moss, W.J & D.E Griffin. 2006. *Global Measles Elimination*, Nat, Rev, Microbiol, 4 : 900-908
- Mukhopadhyay, D., P. Nandi, A. C. Varghese, R. Gutgutia, S. Banerjee, and K. Bhattacharyya. 2010. *The Invitro Effect of Benzo[a]pyrene on Human Sperm Hyperactivation and Cromosome Reaction*. Fertility and Sterility
- Nelson. 2006. *Ilmu kesehatan anak*, Jakarta : EGC
- Patel, M. R., B. E. Scheffler, L. Wang, K. L. Willett. 2006. *Effect of Benzo[a]pyrene Exposure on Killifish (*Fundulus Heteroclitus*) Aromatase Activities and mRNA*. Aquatic Toxicology
- Pulugulla Sree, Thomas A Packord, Nicole LK, Gallo way, Zachary W Grimmett, Gilad Doitsh, Jaraj Adamik, Deborah L Galson, Worner C Greene, Philip E Auron. 2018. *Distinct mechanism regulate IL1B gene transcription in lymphoid CD4 T Cells and monocytes*, 111: 373-381
- Reed., M., M. Monske, F. F. Laurer, S. Meserole, J. Born, and S. Burchiel. 2003. *Benzo[a]pyrene Diones are Produced by Photochemical and Enzymatic Oxidation and Induce Concentration-Dependent Decreases inThe Proliferative State of Human Pulmonary Epithelial Cells*. Abstrack, Journal of Toxicology and Environmental Health.

- Rifa'i M. 2013. *Imunologi & Alergi Hiper Sensitif*, UB Press, Malang
- Rifa'i M. 2018. *Autoimun & Bioregulator Edisi Revisi*, UB Press, Malang
- Rudolph, A. 2006. *Buku ajar pediatri*, Jakarta, EGC
- Rundolph, G.J, V Angeli & M.A. Swartz. 2005. *Dendritic Cell Trafficking to Lymph Nodes Through Lymphatic Vessel*. Nat. Rev. Immunol. 5: 617-628
- Samik, Wahab. 2006. *Buku ajar Pediatri*, Jakarta :EGC
- Sentot Imam. 2016. *Profil Kesehatan Kota Kediri*, Dinas Kesehatan Kota Kediri
- Sunil R Vaidya, Chandrashekhar G. Rout, Santoshkumar M. Jadhav. 2016. *Laboratory Confirmation of Rubella Infection in Suspected Measles Cases*, <https://e.resources.perpusnas.go.id:2619/doi/10.1002/jmv.24535>. [11/08/18]
- Terzi, G., T. H. Celik, and C. Nisbet. 2008. *Determination of Benzo[a]pyrene in Turkish Doner Kebab Samples Cooked With Charcoal or Gas Fire*. Irish Journal of Agricultural and Food Research.
- Thomson Reuters. 2010. Pathway map details : Benzo[a]pyrene Metabolism. <http://www.genego.com/map2304.php> diakses tanggal [14/01/2016]
- ToxProbe Inc. 2010. *Benzo[a]pyrene and Other Polycyclic Aromatic Hydrocarbons*. [http://www.tpronto.ca/health/pdf/cr\\_appendix\\_b\\_pah.pdf](http://www.tpronto.ca/health/pdf/cr_appendix_b_pah.pdf) Diakses tanggal 14 Januari 2016
- Untung Suseno. 2015. *Profil Kesehatan Indonesia*, Kementerian Kesehatan Republik Indonesia
- Wallker, C. H. 2009. *Organic Pollutants : an Ecotoxicological Perspective*. Lonfodon, CRC Pres
- Wang, L., B. E. Scheffler, and K.L. Willet. 2006. *CYP1C1 Messenger RNA Expression is Inducible by Benzo[a]pyrene in Fundulus Heteroclitus Embryos and Adults*. Toxicological Sciences
- Word Health Organization . 2015. *Measles*. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/f5286/en> [08/08/16].
- Yuan Yao, Liangli, Shu-Hun Yang, Cai – Yue Gao, Liang-Hunliao, Yu-Qing Ying Yin, Yan-Qiang Yag, Yun-Yun Fei, Zhe- Xiong Lion. 2018. CD8<sup>+</sup> T cells and IFN- $\gamma$  Induce Autoimmune Myelofibrosis In Mice, Elsevier, Journal of Autoimmunity : 89, 101-111

Lampiran 7



KOMISI ETIK PENELITIAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

KETERANGAN KELAIKAN ETIK  
“ETHICAL CLEARENCE”

No: 1012-KEP-UB

KOMISI ETIK PENELITIAN (ANIMAL CARE AND USE COMMITTEE)  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
TELAH MEMPELAJARI SECARA SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG  
DIUSULKAN, MAKA DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA:

PENELITIAN BERJUDUL : POTENSI BENZO[a]PYRENE DALAM MENURUNKAN  
KEKEBALAN TUBUH TERHADAP PARAMIKSOVIRUS  
PADA MENCIT (*Mus musculus.L*)

PENELITI : SUWOYO

UNIT/LEMBAGA/TEMPAT : UNIVERSITAS BRAWIJAYA

DINYATAKAN : LAIK ETIK

Malang, 6 Februari 2018

Ketua Komisi Etik Penelitian

Universitas Brawijaya

Prof. Dr. Irh. Aulanni'am, DES.

NIP. 19600903 198802 2 001



Lampiran 1

## Prosedur Penelitian

1. Hewan coba diadaptasikan dengan kondisi lingkungan



Gambar 1: Hewan coba diadaptasikan dengan lingkungan

2. Makanan dan minuman yang diberikan pada hewan coba



Gambar 2 : Makanan dan minuman hewan coba ( Air mineral dan palet)

### 3. Pemberian vaksin pada hewan coba

#### a. Persiapan alat

- 1) Vaksin campak
  - 2) Pelarut
  - 3) Aquabides
  - 4) Desinfektan (alk)
  - 5) Sput 1ml
  - 6) Micro tip
  - 7) Micro pipet 1ml
  - 8) Micro pipet 10 ml



Gambar 3 : Alat pemberian vaksin campak

#### b. Pemberian vaksin campak

##### Dosis pemberian vaksin campak

Dosis manusia = 0,5 ml

Konversi dosis untuk mencit 20g = 0,0026

Dosis untuk mencit 20 g =  $0,5 \times 0,0026 = 0,0013$  ml =  $1,3\mu\text{l}$

**Contoh :**

Dosis untuk mencit 30 g =  $\frac{30}{20} \times 1,3 = 1,95 \mu\text{l}$

#### Daftar Pemberian Vaksin

| No | Berat mencit (g) | Dosis Vaksin ( $\mu\text{l}$ ) |
|----|------------------|--------------------------------|
| 1  | 25               | 1,63                           |
| 2  | 26               | 1,69                           |
| 3  | 27               | 1,76                           |
| 4  | 28               | 1,82                           |
| 5  | 29               | 1,89                           |
| 6  | 30               | 1,95                           |
| 7  | 31               | 2,05                           |
| 8  | 32               | 2,08                           |
| 9  | 33               | 2,14                           |
| 10 | 34               | 2,20                           |
| 11 | 35               | 2,27                           |
| 12 | 36               | 2,34                           |
| 13 | 37               | 2,4                            |
| 14 | 38               | 2,47                           |
| 15 | 39               | 2,54                           |
| 16 | 40               | 2,6                            |



Gambar 4 : Alat pemberian benzo[a]pyrene

### Dosis Pemeberian benzo[a]pyrene

Dosis pemberian benzo[a]pyrene : 20 mg/kg BB

$$20 \text{ mg} = 1 \text{ kg}$$

$$20 \text{ mg} = 1000 \text{ g}$$

$$\text{Jadi} : 20 \text{ mg}/1000 \text{ g BB}$$

$$20 \text{ mg} = 1000 \text{ g}$$

$$X = 30 \text{ g}$$

$$1000 X = 20.30$$

$$1000 X \leq 600$$

$$X = 0,6 \text{ mg}$$

Jadi 30 g berat mencit diberi dosis 0,6 mg

0,6 dilarutkan dalam 0,5 ml (500 mikrolit)

$$30 \text{ gr} = 500 \text{ mikrolit}$$

Estimasi 50 mencit

$$50.60 = 30 \text{ mg}$$

$$50.5000 = 250000 \text{ mikrolit} = 25 \text{ ml}$$

| <b>No</b> | <b>Berat badan mencit g</b> | <b>Dosis benzo[a]pyrene <math>\mu\text{l}</math></b> |
|-----------|-----------------------------|--|
| 1         | 25                          | 416,6667   |
| 2         | 26                          | 433,3333   |
| 3         | 27                          | 450  |
| 4         | 28                          | 466,6667   |
| 5         | 29                          | 483,3333   |
| 6         | 30                          | 500  |
| 7         | 31                          | 516,6667   |
| 8         | 32                          | 533,3333   |
| 9         | 33                          | 550  |
| 10        | 34                          | 566,6667   |
| 11        | 35                          | 583,3333   |
| 12        | 36                          | 600  |
| 13        | 37                          | 616,6667   |
| 14        | 38                          | 633,3333   |
| 15        | 39                          | 650  |
| 16        | 40                          | 666,6667   |

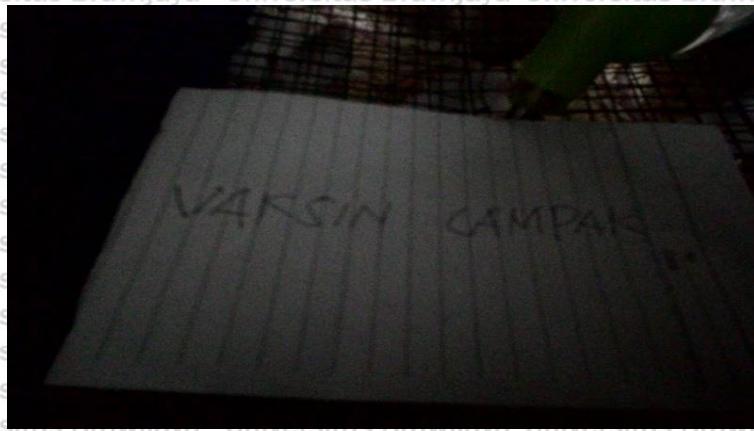
### 5. Pembagian Kelompok Perlakuan

#### a. Kelompok Perlakuan 1 ( Mencit yang tidak mendapatkan paparan)



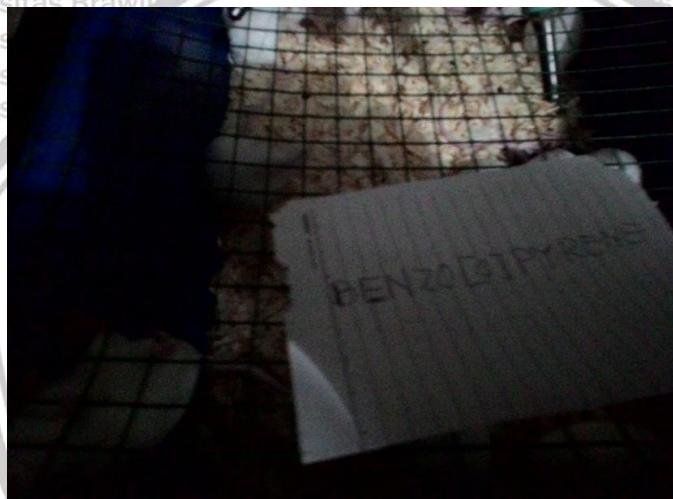
Gambar 5 : Mencit yang tidak mendapatkan perlakuan

b. Kelompok Perlakuan 2 (Mencit yang mendapat vaksin campak)



Gambar 6 : Mencit dengan vaksin campak

c. Kelompok perlakuan 3 (Mencit denga papaeran benzo[a]pyrene)

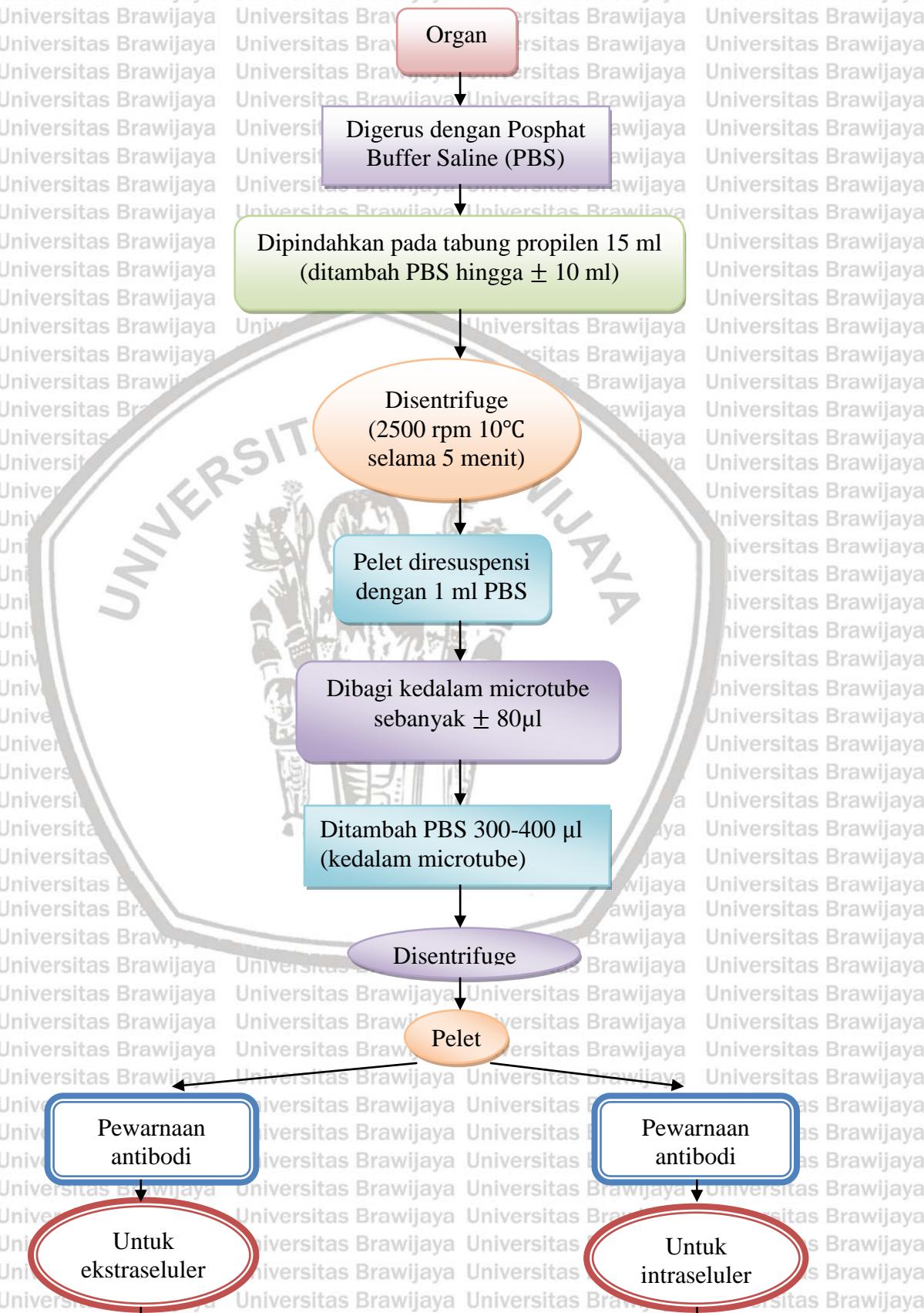


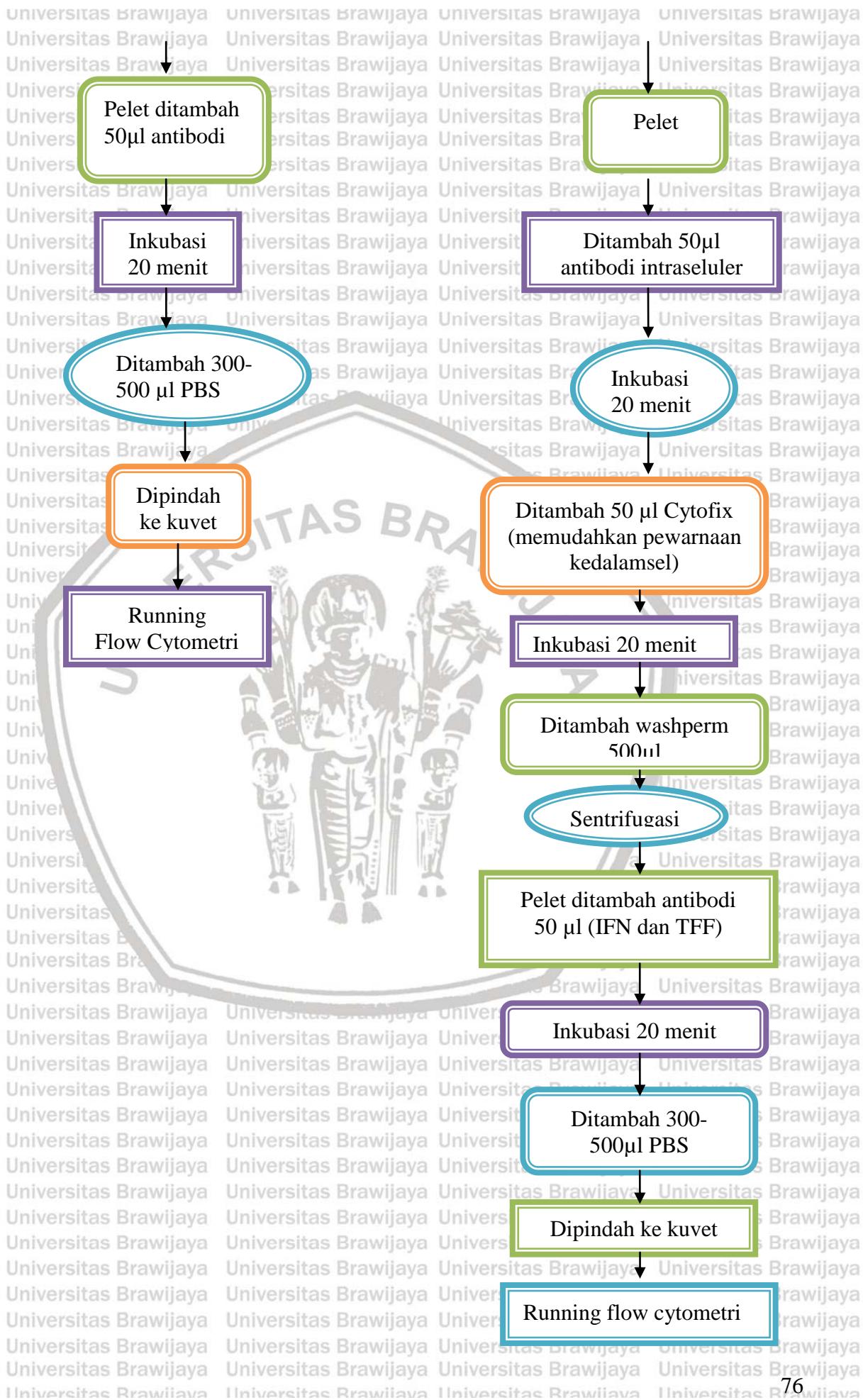
Gambar 7 : Mencit dengan pemberian benzo[a] pyrene

d. Kelompok Perlakuan 4 (Mencit yang diberikan vaksin dan benzo[a]pyrene)



Gambar 8 : Mencit yang diberi vaksin campak dan [benzo[pirenenene]

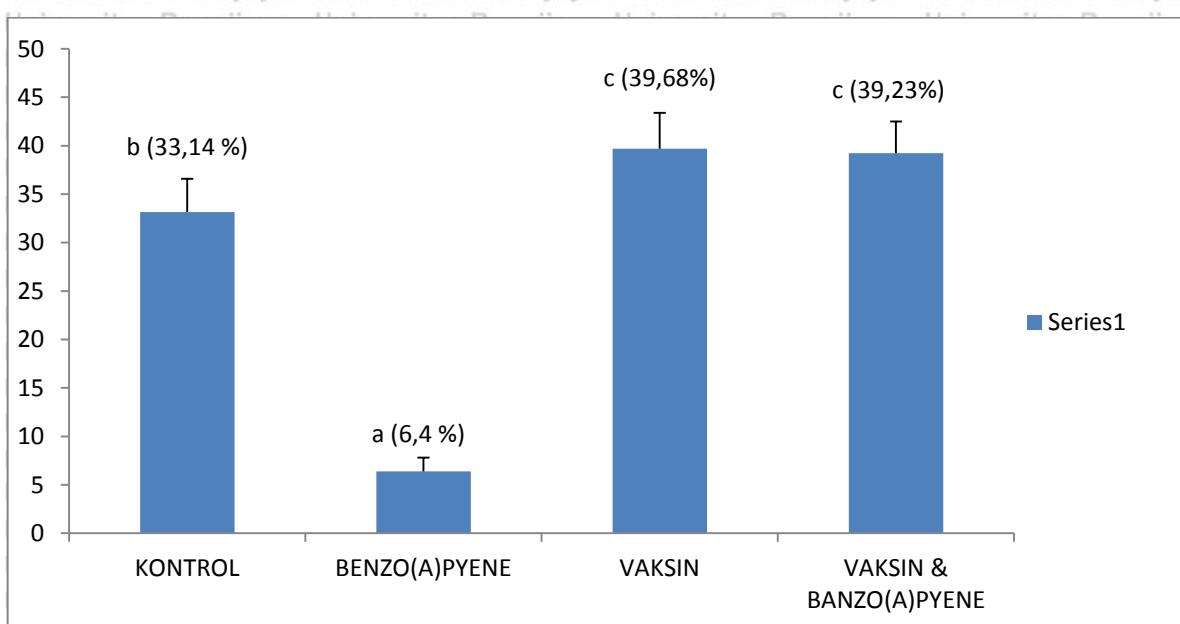
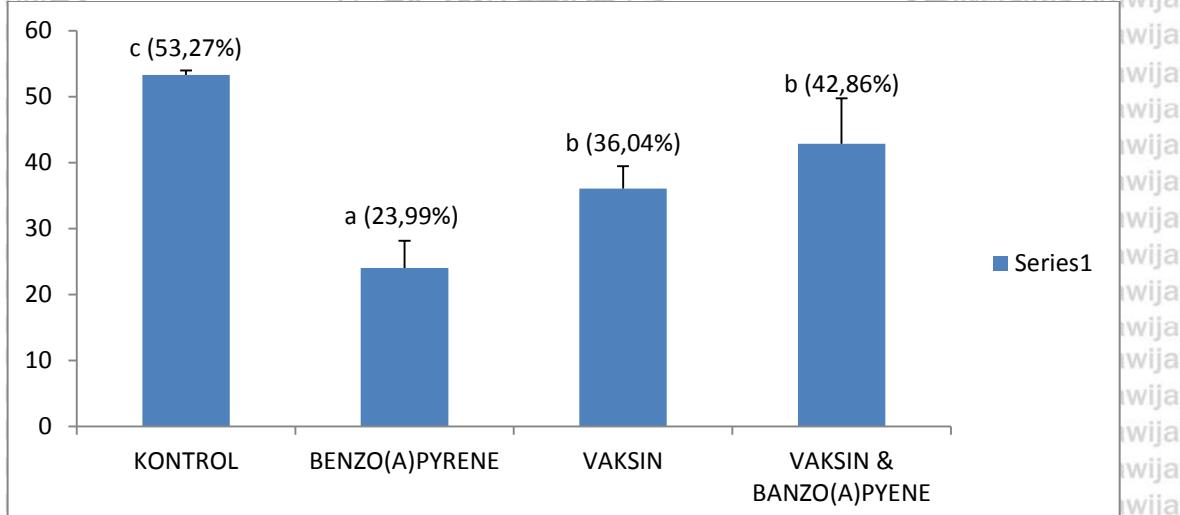
**Lampiran 2 Langkah-langkah Analisis Flowcytometry****LANGKAH-LANGKAH  
ANALISIS FLOWCYTOMETRY**



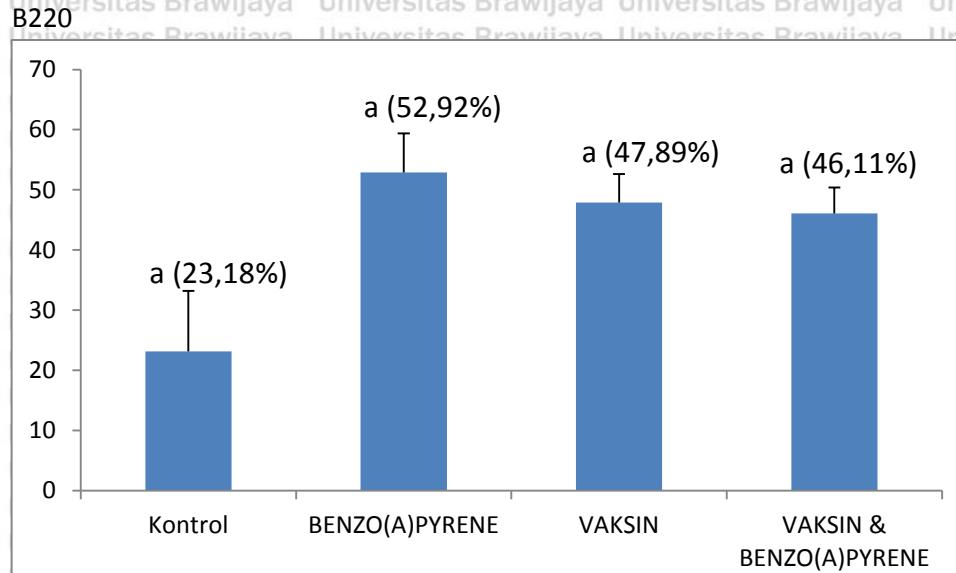


**DAFTAR ANTIBODY  
YANG DIGUNAKAN FLOW CYTOMETRY**

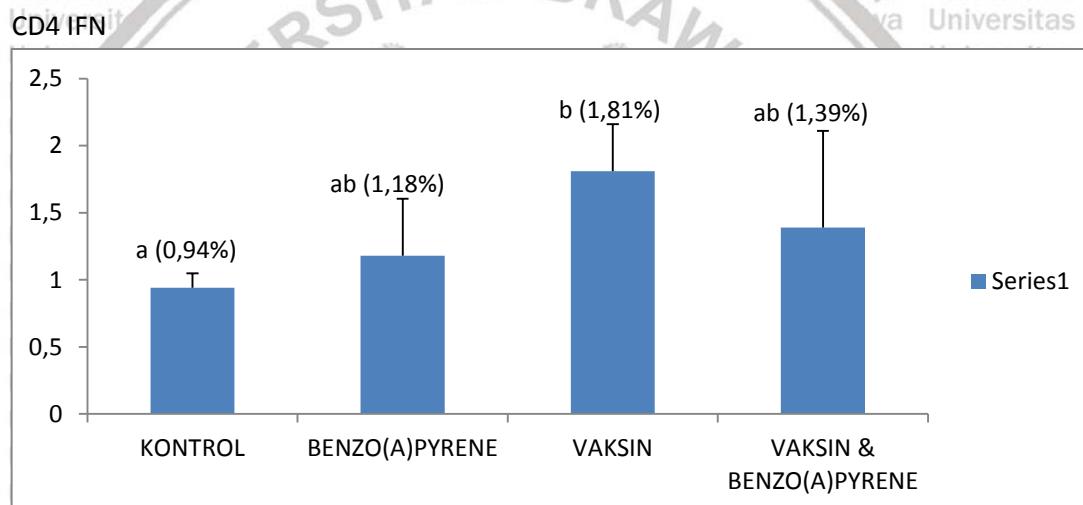
| No | Spleen Antibody        | Jenis pewarnaan |
|----|------------------------|-----------------|
| 1  | CD4<br>CD8<br>CD62L    | Ekstraseluler   |
| 2  | CD4<br>CD25<br>B220    | Ekstraseluler   |
| 3  | CD4<br>TNFa<br>IFNg    | Intraseluler    |
| 4  | CD11b<br>IFNg<br>TNFa  | Intraseluler    |
| 5  | CD4<br>CD8<br>IFNa     | Intraseluler    |
| 6  | CD11b<br>CD4<br>IL-1   | Intraseluler    |
| 7  | CD11b<br>CD4<br>IL-17  | Intraseluler    |
| 8  | CD4<br>CD25<br>TGFb    | Intraseluler    |
| 9  | CD4<br>CD25<br>IL-10   | Intraseluler    |
| 10 | NK<br>TNFa<br>IFNg     | Intraseluler    |
| 11 | CD11b<br>CD123<br>IL-8 | Intraseluler    |

**Lampiran 3****Hasil Analisis Flowcytometry Minggu ke-2****1. Antibodi CD4-CD8-CD62L****CD4CD62L****CD8CD62L**

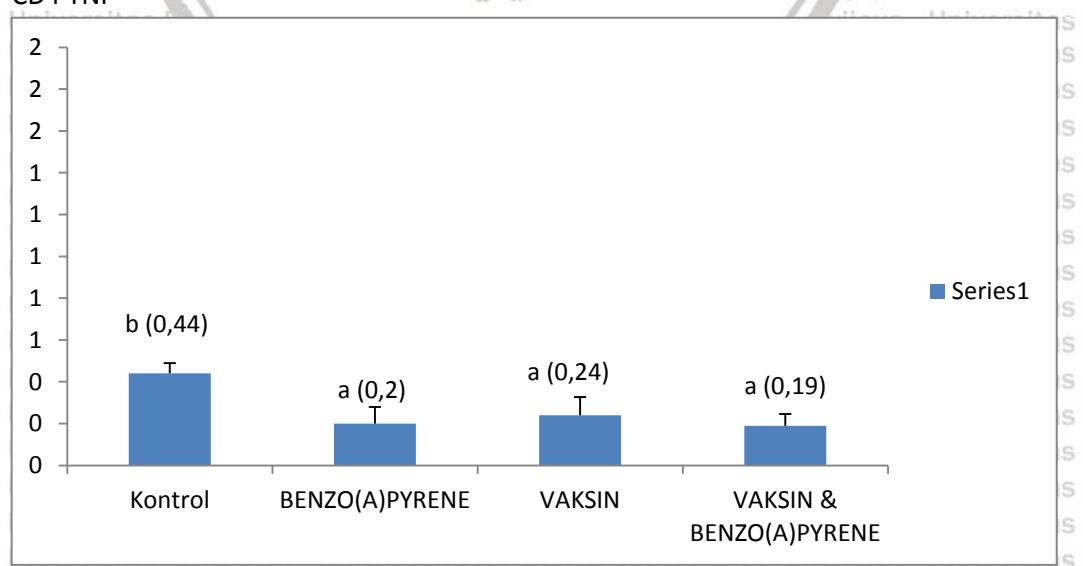
## 2. Antibodi CD4-CD25-B220



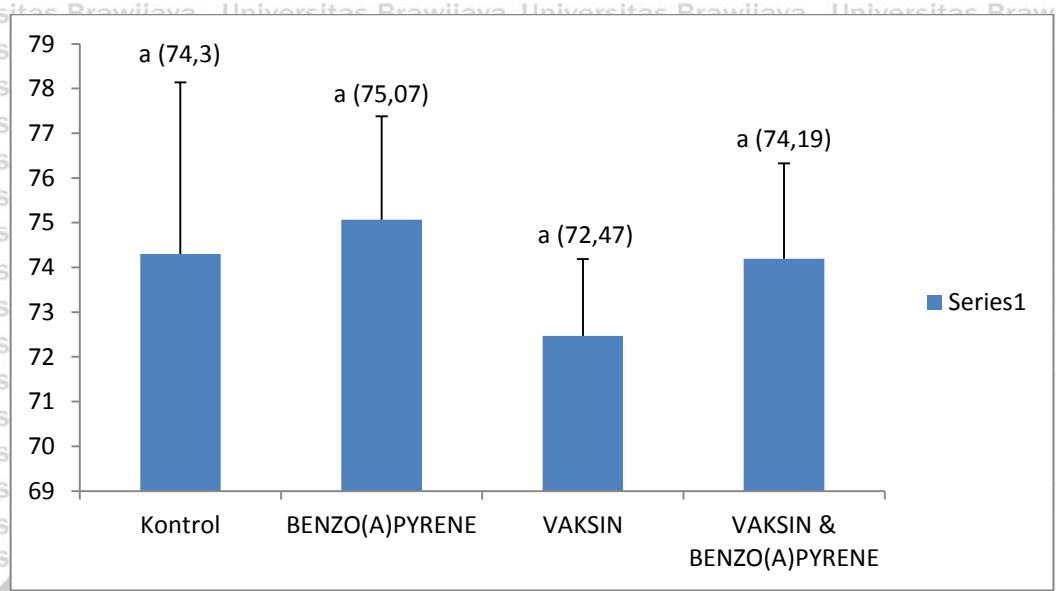
### 3. Antibodi CD4-TNF-IFN



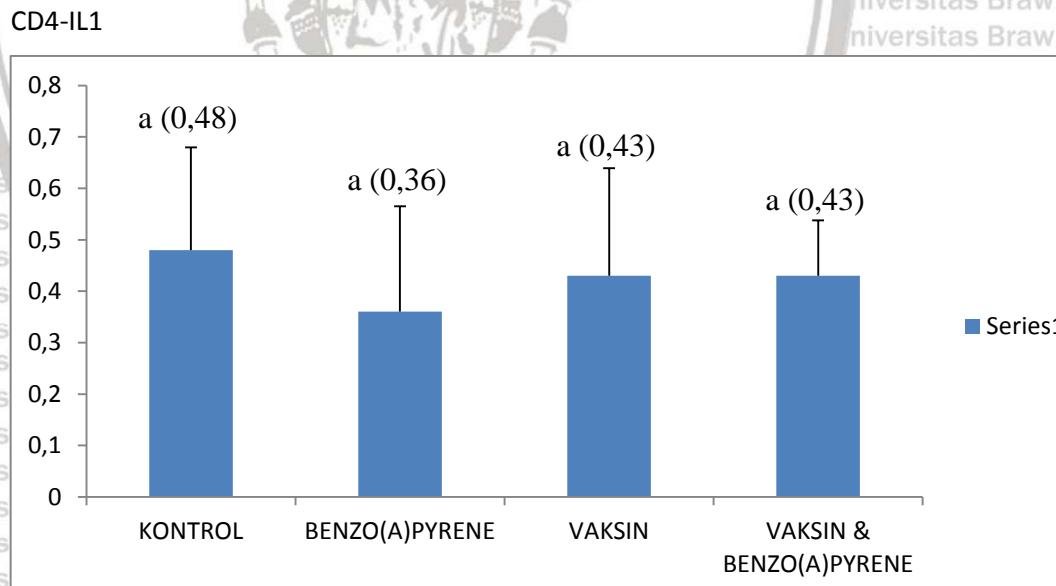
Universitas

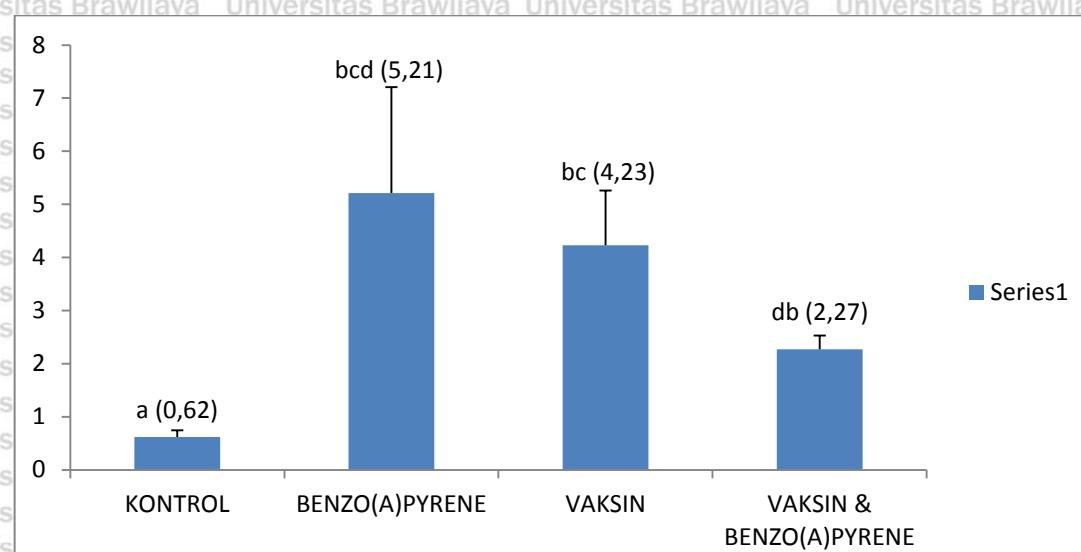
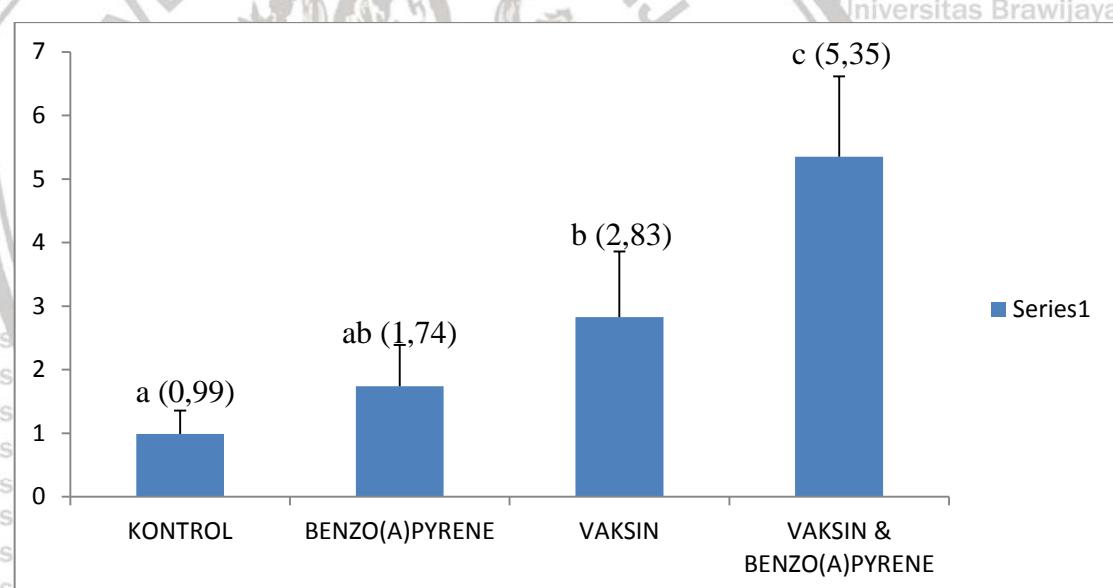


**4. Antibodi CD4-CD8-IFN  
CD8-IFN**



**5. Antibodi CD11B-CD4-IL1**

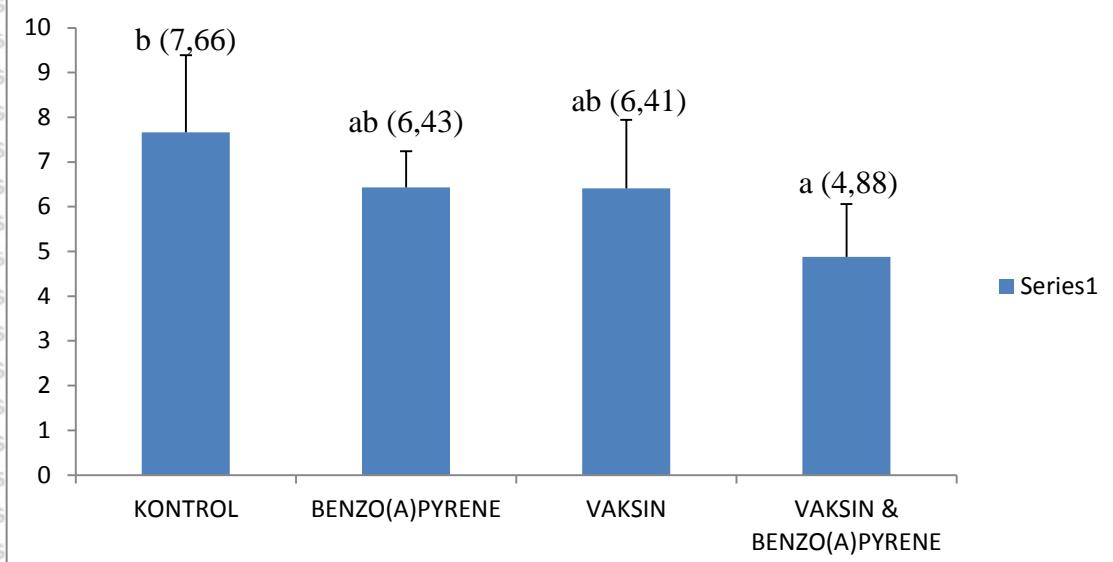


**CD11b-IL1****6. Antibodi CD11B-CD4-IL17****CD11B-IL17**



### 7. Antibodi CD4-CD25-TGF

CD4-CD25

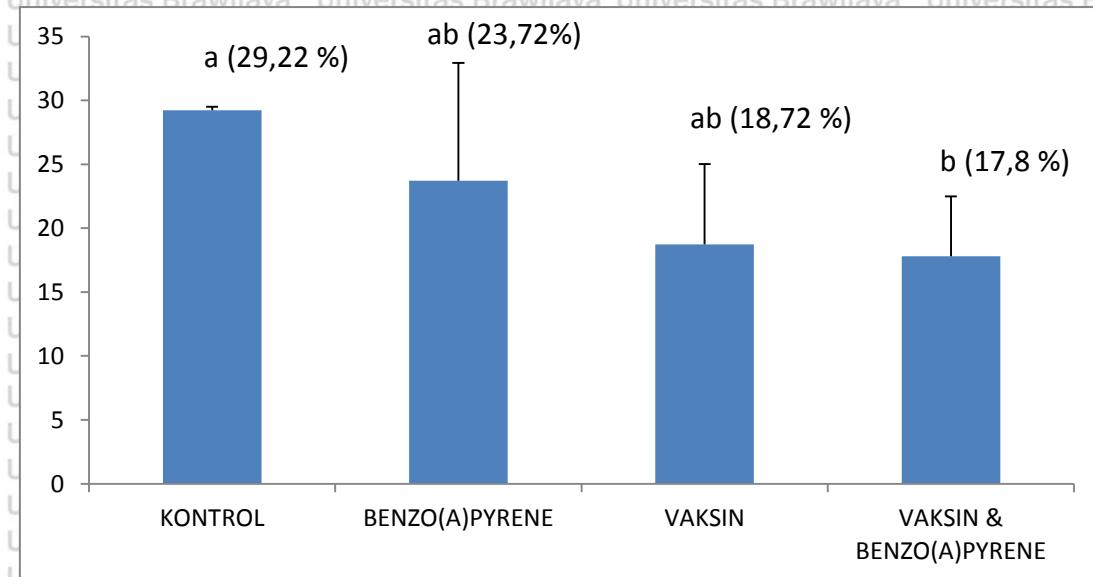


**Lampiran 4**

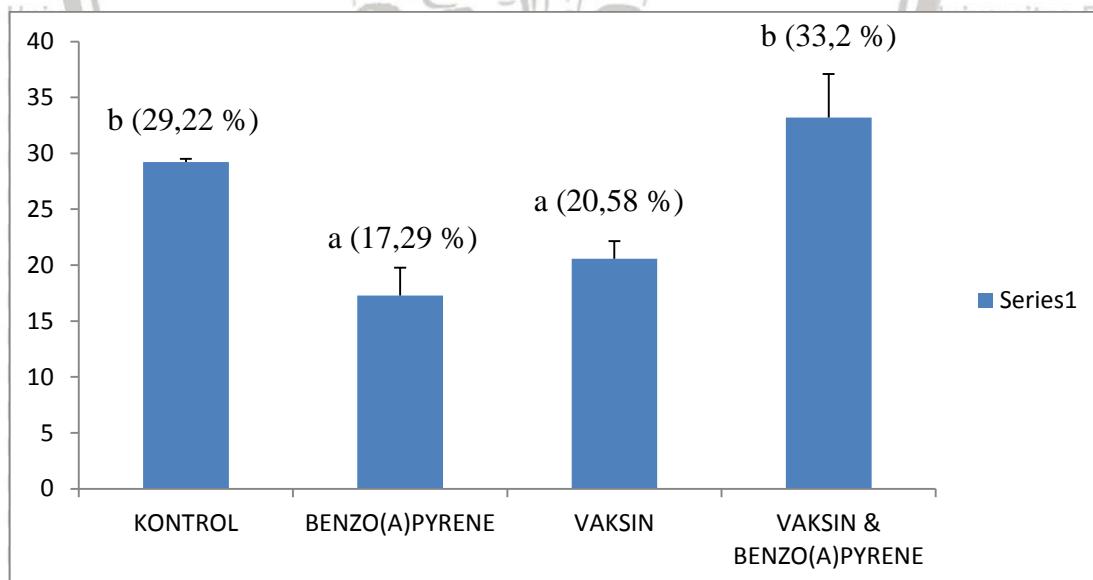
Hasil Analisis Flowcytometry minggu ke-4

1. Antibodi CD4-CD8-CD62L

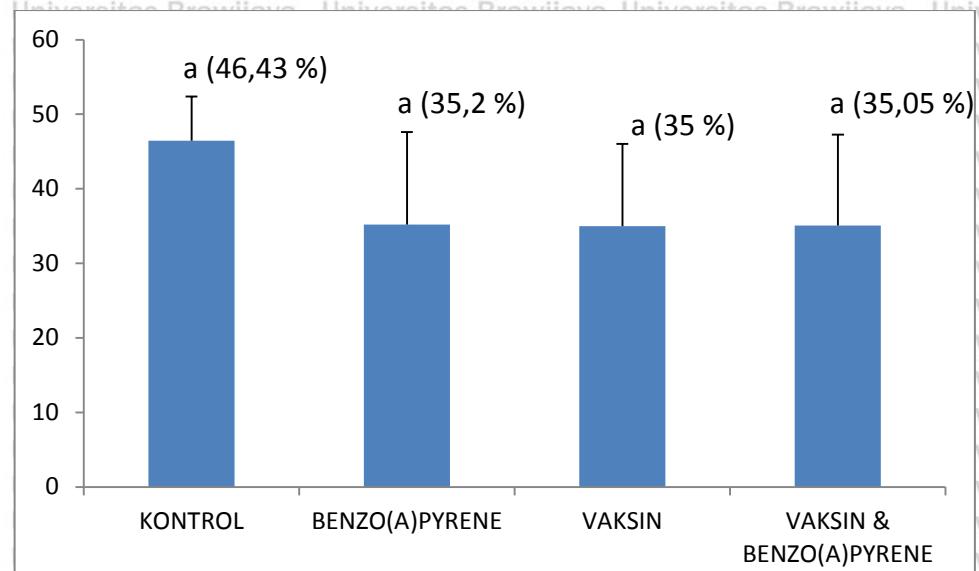
CD4CD62L



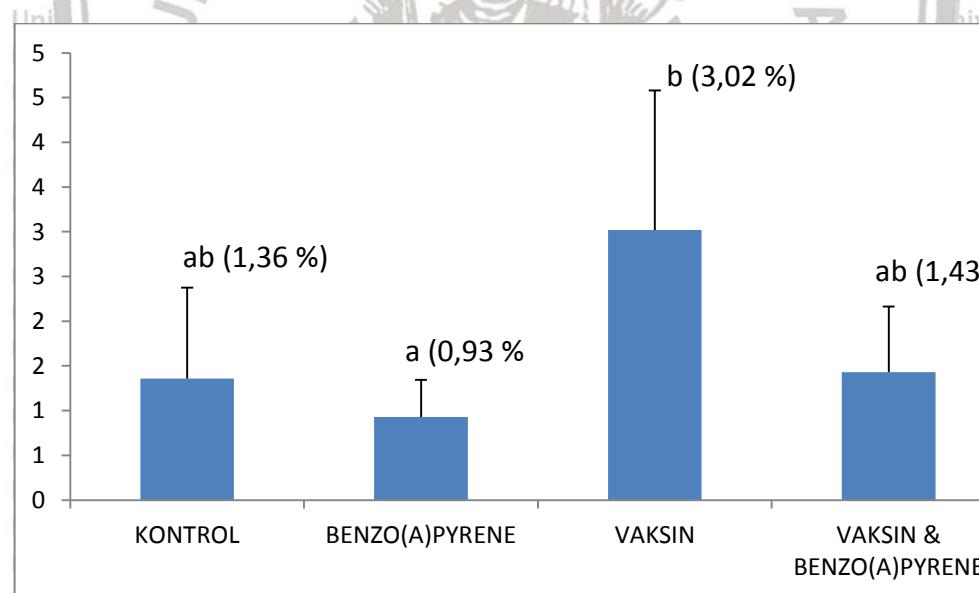
CD8CD62L

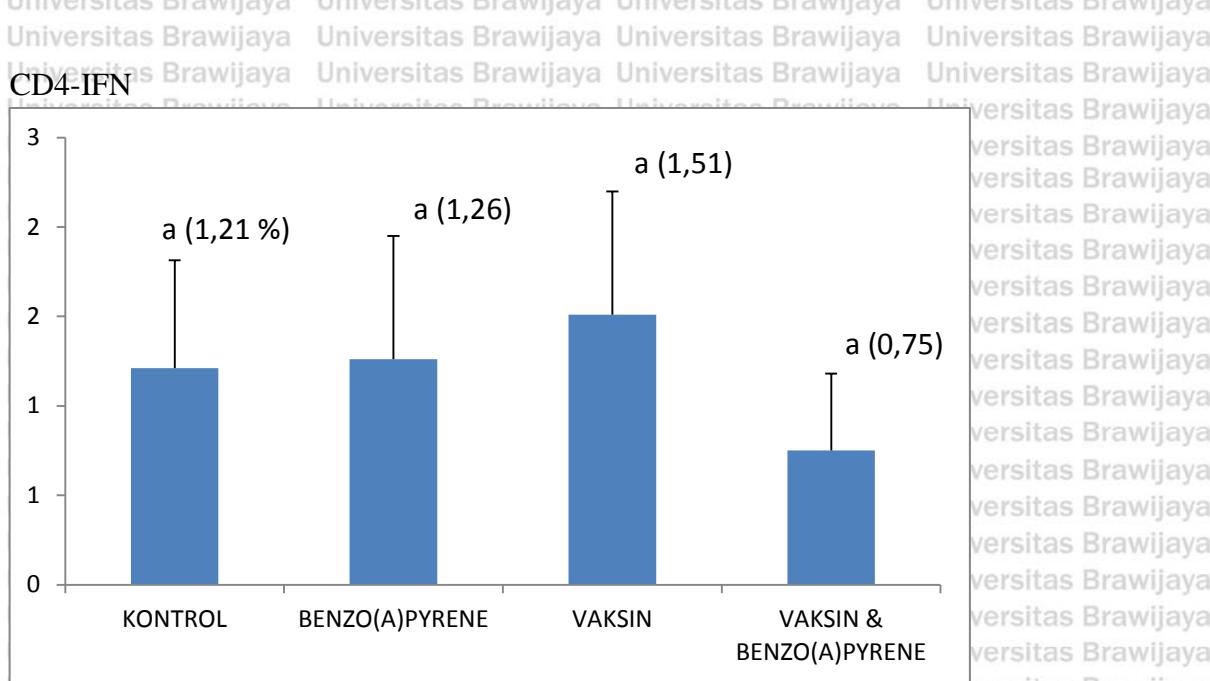


## 2. Antibodi CD4-CD25-B220



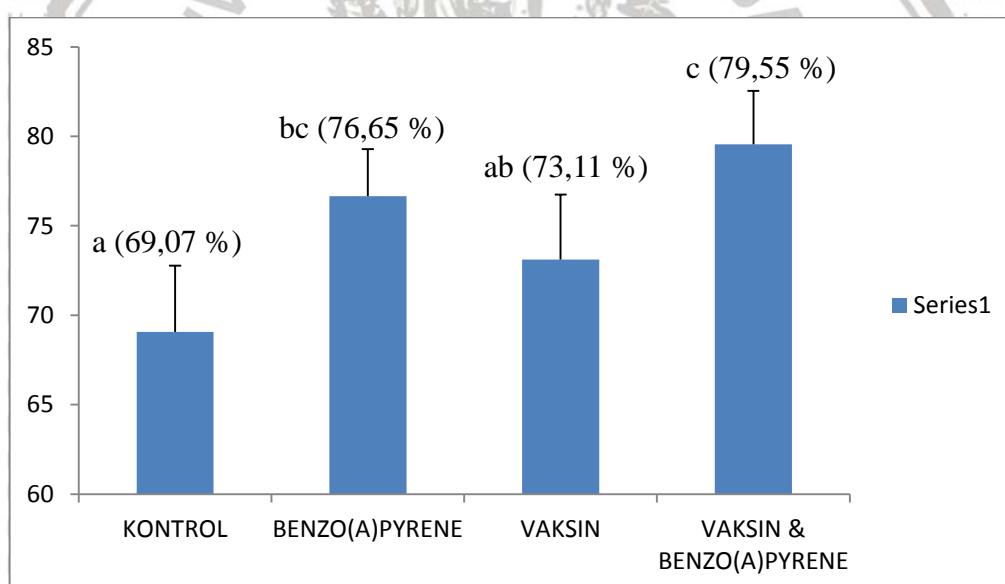
### 3. Antibodi CD4-TNF-IFN



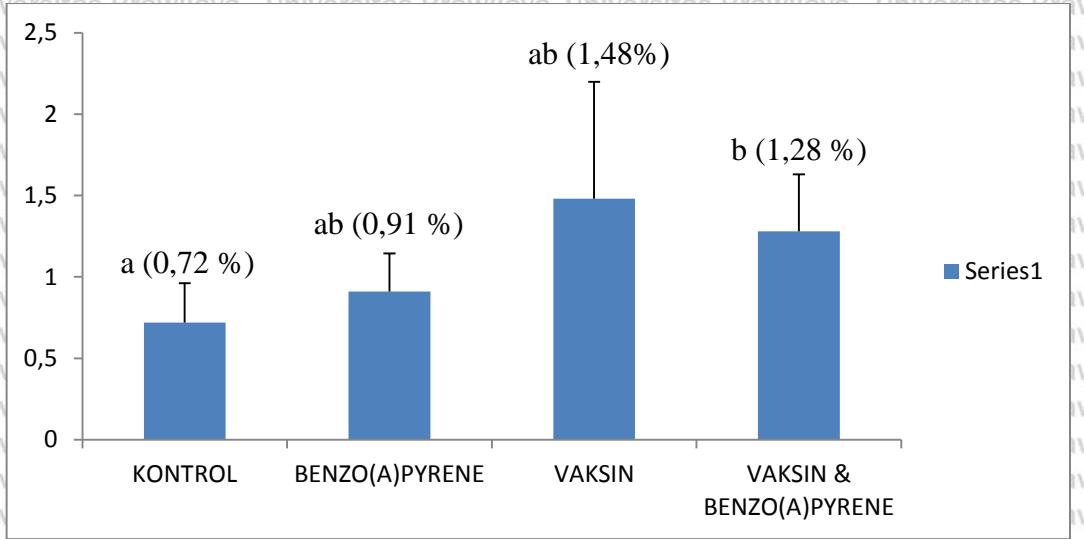


#### 4. Antibodi CD4-CD8-IFN

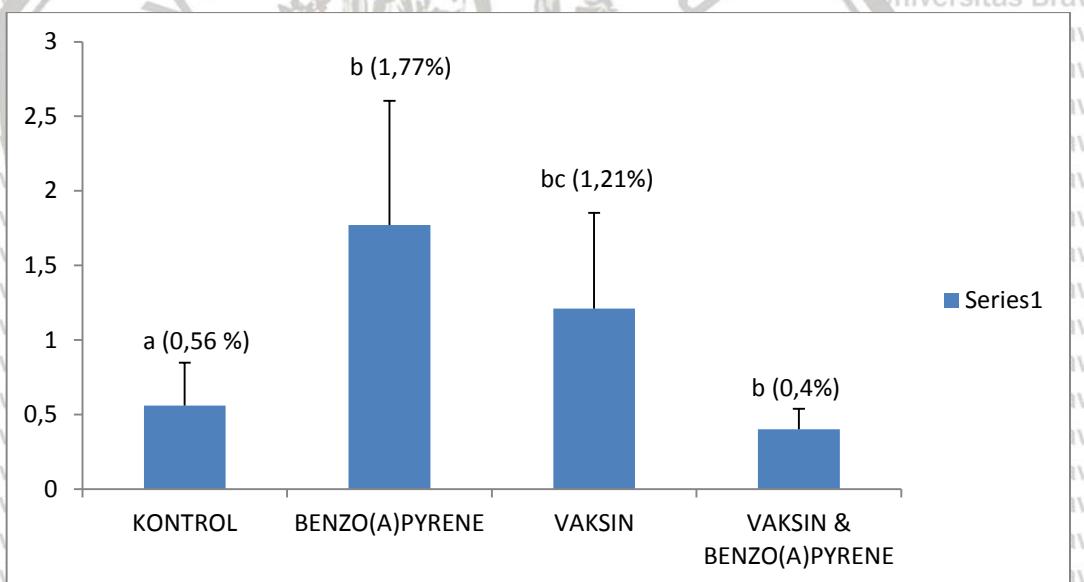
##### CD8-IFN



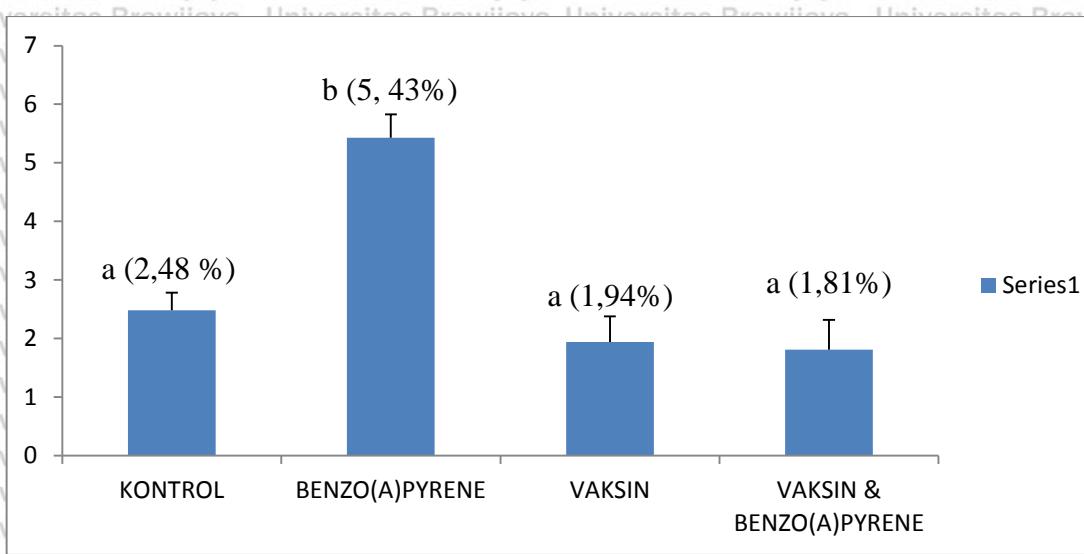
5. Antibodi CD11B-CD4-IL1  
CD4-IL1



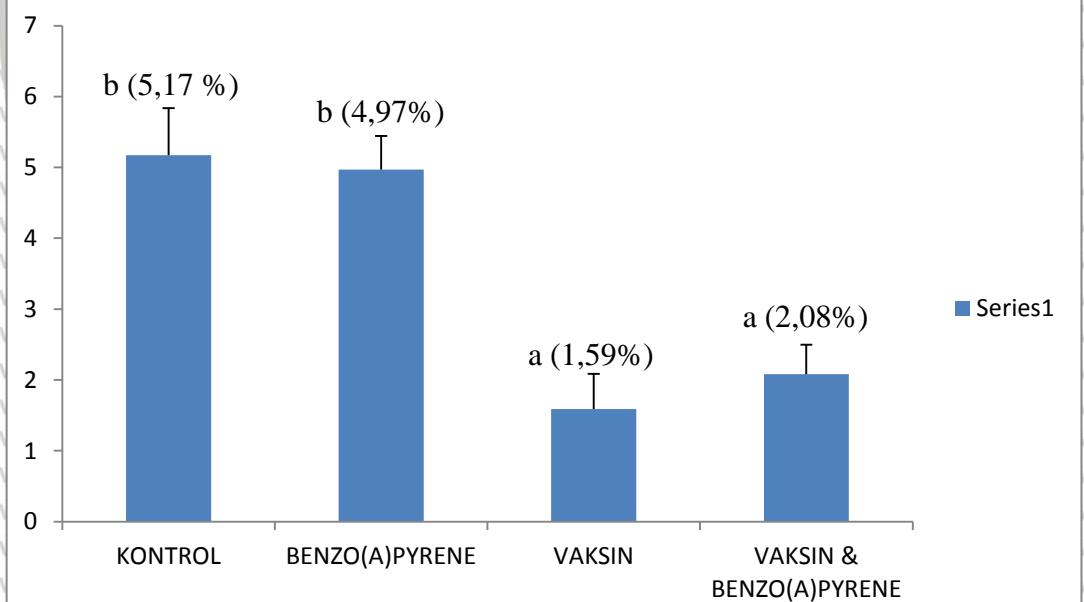
CD11b-IL1



6. Antibodi CD11B-CD4-IL17  
CD11B-IL17



7. Antibodi CD4-CD25-TGF  
CD4-CD25



Universitas Brawijaya  
 Universitas Brawijaya  
 Universitas Brawijaya  
 Lampiran 5  
 Universitas Brawijaya  
 [DataSet1] D:\Konsul statistik\Suwoyo\Hasil Analisis Penelitian S3 Pak Woyo\Pemeriksaan 1\CD4\_CD\_621.sav  
 Universitas Brawijaya  
 Universitas Brawijaya

### Descriptives

Imun

|                        | N  | Mean    | Std. Deviation | Std. Error |
|------------------------|----|---------|----------------|------------|
| Kontrol                | 5  | 17,2982 | 8,09182        | 3,61877    |
| Vaksin                 | 5  | 41,7312 | 7,94072        | 3,55120    |
| Benzupirene            | 5  | 4,4626  | 3,42206        | 1,53039    |
| Vaksin dan Benzopirine | 5  | 33,6998 | 3,41446        | 1,52699    |
| Total                  | 20 | 24,2979 | 15,86350       | 3,54719    |

### Descriptives

Imun

|                        | 95% Confidence Interval for Mean |             | Minimum | Maximum |
|------------------------|----------------------------------|-------------|---------|---------|
|                        | Lower Bound                      | Upper Bound |         |         |
| Kontrol                | 7,2509                           | 27,3455     | 3,13    | 22,87   |
| Vaksin                 | 31,8715                          | 51,5909     | 35,61   | 54,11   |
| Benzupirene            | ,2135                            | 8,7117      | 2,00    | 10,47   |
| Vaksin dan Benzopirine | 29,4602                          | 37,9394     | 28,12   | 37,38   |
| Total                  | 16,8736                          | 31,7223     | 2,00    | 54,11   |

### Test of Homogeneity of Variances

Imun

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| 1,913            | 3   | 16  | ,168 |

### ANOVA

Imun

|                | Sum of Squares | df | Mean Square | F      | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|--------|------|
| Between Groups | 4173,754       | 3  | 1391,251    | 36,636 | ,000 |
| Within Groups  | 607,607        | 16 | 37,975      |        |      |
| Total          | 4781,361       | 19 |             |        |      |

Universitas Brawijaya  
Universitas Brawijaya

## Post Hoc Tests

### Multiple Comparisons

Imun

LSD

| (I) Kelompok           | (J) Kelompok           | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. |
|------------------------|------------------------|-----------------------|------------|------|
| Kontrol                | Vaksin                 | -24,43302*            | 3,89746    | ,000 |
|                        | Benzupirene            | 12,83558*             | 3,89746    | ,005 |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -16,40162*            | 3,89746    | ,001 |
| Vaksin                 | Kontrol                | 24,43302*             | 3,89746    | ,000 |
|                        | Benzupirene            | 37,26860*             | 3,89746    | ,000 |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | 8,03140               | 3,89746    | ,056 |
| Benzupirene            | Kontrol                | -12,83558*            | 3,89746    | ,005 |
|                        | Vaksin                 | -37,26860*            | 3,89746    | ,000 |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -29,23720*            | 3,89746    | ,000 |
| Vaksin dan Benzopirine | Kontrol                | 16,40162*             | 3,89746    | ,001 |
|                        | Vaksin                 | -8,03140              | 3,89746    | ,056 |
|                        | Benzupirene            | 29,23720*             | 3,89746    | ,000 |

### Multiple Comparisons

Imun

LSD

| (I) Kelompok           | (J) Kelompok           | 95% Confidence Interval |             |
|------------------------|------------------------|-------------------------|-------------|
|                        |                        | Lower Bound             | Upper Bound |
| Kontrol                | Vaksin                 | -32,6953                | -16,1708    |
|                        | Benzupirene            | 4,5733                  | 21,0978     |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -24,6639                | -8,1394     |
| Vaksin                 | Kontrol                | 16,1708                 | 32,6953     |
|                        | Benzupirene            | 29,0064                 | 45,5308     |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -,2308                  | 16,2936     |
| Benzupirene            | Kontrol                | -21,0978                | -4,5733     |
|                        | Vaksin                 | -45,5308                | -29,0064    |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -37,4994                | -20,9750    |
| Vaksin dan Benzopirine | Kontrol                | 8,1394                  | 24,6639     |
|                        | Vaksin                 | -16,2936                | ,2308       |
|                        | Benzupirene            | 20,9750                 | 37,4994     |

Universitas Brawijaya  
Universitas Brawijaya

Universitas Brawijaya  
Universitas Brawijaya  
Universitas Brawijaya  
Universitas Brawijaya  
Universitas Brawijaya  
Universitas Brawijaya  
Universitas Brawijaya  
Universitas Brawijaya

Universitas Brawijaya  
Universitas Brawijaya  
Universitas Brawijaya  
Universitas Brawijaya  
Universitas Brawijaya  
Universitas Brawijaya  
Universitas Brawijaya  
Universitas Brawijaya

[DataSet2] D:\Konsul statistik\Suwoyo\Hasil Analisis Penelitian S3 Pak Woyo\Pemeriksaan 1\CD8\CD62L.sav

### Descriptives

Imun

|                        | N  | Mean    | Std. Deviation | Std. Error |
|------------------------|----|---------|----------------|------------|
| Kontrol                | 5  | 57,0000 | 7,93725        | 3,54965    |
| Vaksin                 | 5  | 30,9586 | 8,40925        | 3,76073    |
| Benzupirene            | 5  | 13,0468 | 7,55691        | 3,37955    |
| Vaksin dan Benzopirine | 5  | 33,9966 | 20,35705       | 9,10395    |
| Total                  | 20 | 33,7505 | 19,60950       | 4,38482    |

### Descriptives

Imun

|                        | 95% Confidence Interval for Mean |             | Minimum | Maximum |
|------------------------|----------------------------------|-------------|---------|---------|
|                        | Lower Bound                      | Upper Bound |         |         |
| Kontrol                | 47,1446                          | 66,8554     | 50,00   | 66,00   |
| Vaksin                 | 20,5171                          | 41,4001     | 21,00   | 41,33   |
| Benzupirene            | 3,6637                           | 22,4299     | 1,23    | 22,00   |
| Vaksin dan Benzopirine | 8,7200                           | 59,2732     | 3,69    | 57,25   |
| Total                  | 24,5730                          | 42,9280     | 1,23    | 66,00   |

### Test of Homogeneity of Variances

Imun

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| 2,607            | 3   | 16  | ,088 |

### ANOVA

Imun

|                | Sum of Squares | df | Mean Square | F      | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|--------|------|
| Between Groups | 4885,189       | 3  | 1628,396    | 10,762 | ,000 |
| Within Groups  | 2420,928       | 16 | 151,308     |        |      |
| Total          | 7306,116       | 19 |             |        |      |



## Post Hoc Tests

### Multiple Comparisons

Imun

LSD

| (I) Kelompok           | (J) Kelompok           | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. |
|------------------------|------------------------|-----------------------|------------|------|
| Kontrol                | Vaksin                 | 26,04140*             | 7,77967    | ,004 |
|                        | Benzupirene            | 43,95320*             | 7,77967    | ,000 |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | 23,00340*             | 7,77967    | ,009 |
| Vaksin                 | Kontrol                | -26,04140*            | 7,77967    | ,004 |
|                        | Benzupirene            | 17,91180*             | 7,77967    | ,035 |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -3,03800              | 7,77967    | ,701 |
| Benzupirene            | Kontrol                | -43,95320*            | 7,77967    | ,000 |
|                        | Vaksin                 | -17,91180*            | 7,77967    | ,035 |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -20,94980*            | 7,77967    | ,016 |
| Vaksin dan Benzopirine | Kontrol                | -23,00340*            | 7,77967    | ,009 |
|                        | Vaksin                 | 3,03800               | 7,77967    | ,701 |
|                        | Benzupirene            | 20,94980*             | 7,77967    | ,016 |

### Multiple Comparisons

Imun

LSD

| (I) Kelompok           | (J) Kelompok           | 95% Confidence Interval |             |
|------------------------|------------------------|-------------------------|-------------|
|                        |                        | Lower Bound             | Upper Bound |
| Kontrol                | Vaksin                 | 9,5492                  | 42,5336     |
|                        | Benzupirene            | 27,4610                 | 60,4454     |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | 6,5112                  | 39,4956     |
| Vaksin                 | Kontrol                | -42,5336                | -9,5492     |
|                        | Benzupirene            | 1,4196                  | 34,4040     |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -19,5302                | 13,4542     |
| Benzupirene            | Kontrol                | -60,4454                | -27,4610    |
|                        | Vaksin                 | -34,4040                | -1,4196     |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -37,4420                | -4,4576     |
| Vaksin dan Benzopirine | Kontrol                | -39,4956                | -6,5112     |
|                        | Vaksin                 | -13,4542                | 19,5302     |
|                        | Benzupirene            | 4,4576                  | 37,4420     |

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

[DataSet3] D:\Konsul statistik\Suwoyo\Hasil Analisis Penelitian S3 Pak Woyo\Pemeriksaan 1\CD4 IFN.sav

### Descriptives

Imun

|                        | N  | Mean   | Std. Deviation | Std. Error |
|------------------------|----|--------|----------------|------------|
| Kontrol                | 5  | ,9588  | ,11167         | ,04994     |
| Vaksin                 | 5  | 2,0619 | ,65113         | ,29120     |
| Benzupirene            | 5  | 1,1810 | ,42461         | ,18989     |
| Vaksin dan Benzopirine | 5  | 1,8122 | 1,17406        | ,52505     |
| Total                  | 20 | 1,5035 | ,79538         | ,17785     |

### Descriptives

Imun

|                        | 95% Confidence Interval for Mean |             | Minimum | Maximum |
|------------------------|----------------------------------|-------------|---------|---------|
|                        | Lower Bound                      | Upper Bound |         |         |
| Kontrol                | ,8201                            | 1,0975      | ,85     | 1,13    |
| Vaksin                 | 1,2534                           | 2,8704      | 1,40    | 3,05    |
| Benzupirene            | ,6538                            | 1,7082      | ,68     | 1,83    |
| Vaksin dan Benzopirine | ,3545                            | 3,2700      | ,51     | 3,47    |
| Total                  | 1,1312                           | 1,8757      | ,51     | 3,47    |

### Test of Homogeneity of Variances

Imun

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| 3,548            | 3   | 16  | ,038 |

### ANOVA

Imun

|                | Sum of Squares | df | Mean Square | F     | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|-------|------|
| Between Groups | 4,039          | 3  | 1,346       | 2,699 | ,080 |
| Within Groups  | 7,981          | 16 | ,499        |       |      |
| Total          | 12,020         | 19 |             |       |      |

## Post Hoc Tests

### Multiple Comparisons

Imun

LSD

| (I) Kelompok           | (J) Kelompok           | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. |
|------------------------|------------------------|-----------------------|------------|------|
| Kontrol                | Vaksin                 | -1,10312*             | ,44667     | ,025 |
|                        | Benzupirene            | -,22220               | ,44667     | ,626 |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -,85344               | ,44667     | ,074 |
| Vaksin                 | Kontrol                | 1,10312*              | ,44667     | ,025 |
|                        | Benzupirene            | ,88092                | ,44667     | ,066 |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | ,24968                | ,44667     | ,584 |
| Benzupirene            | Kontrol                | ,22220                | ,44667     | ,626 |
|                        | Vaksin                 | -,88092               | ,44667     | ,066 |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -,63124               | ,44667     | ,177 |
| Vaksin dan Benzopirine | Kontrol                | ,85344                | ,44667     | ,074 |
|                        | Vaksin                 | -,24968               | ,44667     | ,584 |
|                        | Benzupirene            | ,63124                | ,44667     | ,177 |

### Multiple Comparisons

Imun

LSD

| (I) Kelompok           | (J) Kelompok           | 95% Confidence Interval |             |
|------------------------|------------------------|-------------------------|-------------|
|                        |                        | Lower Bound             | Upper Bound |
| Kontrol                | Vaksin                 | -2,0500                 | -,1562      |
|                        | Benzupirene            | -1,1691                 | ,7247       |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -1,8003                 | ,0935       |
| Vaksin                 | Kontrol                | ,1562                   | 2,0500      |
|                        | Benzupirene            | -,0660                  | 1,8278      |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -,6972                  | 1,1966      |
| Benzupirene            | Kontrol                | -,7247                  | 1,1691      |
|                        | Vaksin                 | -1,8278                 | ,0660       |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -1,5781                 | ,3157       |
| Vaksin dan Benzopirine | Kontrol                | -,0935                  | 1,8003      |
|                        | Vaksin                 | -1,1966                 | ,6972       |
|                        | Benzupirene            | -,3157                  | 1,5781      |

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

universitas brawijaya Universitas Brawijaya [DataSet4] D:\Konsul statistik\Suwoyo\Hasil Analisis Penelitian S3 Pak Woyo\Pemeriksaan 1\CD4 TNF.sav

### Descriptives

Imun

|                        | N  | Mean  | Std. Deviation | Std. Error |
|------------------------|----|-------|----------------|------------|
| Kontrol                | 5  | ,8140 | ,83724         | ,37443     |
| Vaksin                 | 5  | ,2060 | ,05822         | ,02603     |
| Benzupirene            | 5  | ,2020 | ,08029         | ,03591     |
| Vaksin dan Benzopirine | 5  | ,1940 | ,05615         | ,02511     |
| Total                  | 20 | ,3540 | ,47389         | ,10597     |

### Descriptives

Imun

|                        | 95% Confidence Interval for Mean |             | Minimum | Maximum |
|------------------------|----------------------------------|-------------|---------|---------|
|                        | Lower Bound                      | Upper Bound |         |         |
| Kontrol                | -,2256                           | 1,8536      | ,36     | 2,31    |
| Vaksin                 | ,1337                            | ,2783       | ,11     | ,27     |
| Benzupirene            | ,1023                            | ,3017       | ,14     | ,34     |
| Vaksin dan Benzopirine | ,1243                            | ,2637       | ,14     | ,28     |
| Total                  | ,1322                            | ,5758       | ,11     | 2,31    |

### Test of Homogeneity of Variances

Imun

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| 5,905            | 3   | 16  | ,007 |

### ANOVA

Imun

|                | Sum of Squares | df | Mean Square | F     | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|-------|------|
| Between Groups | 1,411          | 3  | ,470        | 2,635 | ,085 |
| Within Groups  | 2,856          | 16 | ,178        |       |      |
| Total          | 4,267          | 19 |             |       |      |

**Post Hoc Tests****Multiple Comparisons**

Imun

LSD

| (I) Kelompok           | (J) Kelompok           | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. |
|------------------------|------------------------|-----------------------|------------|------|
| Kontrol                | Vaksin                 | ,60800*               | ,26720     | ,037 |
|                        | Benzupirene            | ,61200*               | ,26720     | ,036 |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | ,62000*               | ,26720     | ,034 |
| Vaksin                 | Kontrol                | -,60800*              | ,26720     | ,037 |
|                        | Benzupirene            | ,00400                | ,26720     | ,988 |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | ,01200                | ,26720     | ,965 |
| Benzupirene            | Kontrol                | -,61200*              | ,26720     | ,036 |
|                        | Vaksin                 | -,00400               | ,26720     | ,988 |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | ,00800                | ,26720     | ,976 |
| Vaksin dan Benzopirine | Kontrol                | -,62000*              | ,26720     | ,034 |
|                        | Vaksin                 | -,01200               | ,26720     | ,965 |
|                        | Benzupirene            | -,00800               | ,26720     | ,976 |

**Multiple Comparisons**

Imun

LSD

| (I) Kelompok           | (J) Kelompok           | 95% Confidence Interval |             |
|------------------------|------------------------|-------------------------|-------------|
|                        |                        | Lower Bound             | Upper Bound |
| Kontrol                | Vaksin                 | ,0416                   | 1,1744      |
|                        | Benzupirene            | ,0456                   | 1,1784      |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | ,0536                   | 1,1864      |
| Vaksin                 | Kontrol                | -1,1744                 | -,0416      |
|                        | Benzupirene            | -,5624                  | ,5704       |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -,5544                  | ,5784       |
| Benzupirene            | Kontrol                | -1,1784                 | -,0456      |
|                        | Vaksin                 | -,5704                  | ,5624       |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -,5584                  | ,5744       |
| Vaksin dan Benzopirine | Kontrol                | -1,1864                 | -,0536      |
|                        | Vaksin                 | -,5784                  | ,5544       |
|                        | Benzupirene            | -,5744                  | ,5584       |

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

[DataSet5] D:\Konsul statistik\Suwoyo\Hasil Analisis Penelitian S3 Pak Woyo\Pemeriksaan 1\CD8 IFN.sav

### Descriptives

Imun

|                        | N  | Mean   | Std. Deviation | Std. Error |
|------------------------|----|--------|----------------|------------|
| Kontrol                | 5  | 1,9145 | 1,13006        | ,50538     |
| Vaksin                 | 5  | 2,3984 | ,65111         | ,29119     |
| Benzupirene            | 5  | 2,3372 | 1,73756        | ,77706     |
| Vaksin dan Benzopirine | 5  | 2,7500 | 2,23895        | 1,00129    |
| Total                  | 20 | 2,3500 | 1,46346        | ,32724     |

### Descriptives

Imun

|                        | 95% Confidence Interval for Mean |             | Minimum | Maximum |
|------------------------|----------------------------------|-------------|---------|---------|
|                        | Lower Bound                      | Upper Bound |         |         |
| Kontrol                | ,5113                            | 3,3177      | 1,13    | 3,85    |
| Vaksin                 | 1,5899                           | 3,2069      | 1,58    | 3,31    |
| Benzupirene            | ,1797                            | 4,4947      | ,17     | 5,00    |
| Vaksin dan Benzopirine | -,0300                           | 5,5300      | ,65     | 5,57    |
| Total                  | 1,6651                           | 3,0349      | ,17     | 5,57    |

### Test of Homogeneity of Variances

Imun

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| 2,839            | 3   | 16  | ,071 |

### ANOVA

Imun

|                | Sum of Squares | df | Mean Square | F    | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|------|------|
| Between Groups | 1,761          | 3  | ,587        | ,241 | ,866 |
| Within Groups  | 38,932         | 16 | 2,433       |      |      |
| Total          | 40,693         | 19 |             |      |      |

**Post Hoc Tests****Multiple Comparisons**

Imun

LSD

| (I) Kelompok           | (J) Kelompok           | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. |
|------------------------|------------------------|-----------------------|------------|------|
| Kontrol                | Vaksin                 | -,48390               | ,98656     | ,630 |
|                        | Benzupirene            | -,42270               | ,98656     | ,674 |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -,83550               | ,98656     | ,410 |
| Vaksin                 | Kontrol                | ,48390                | ,98656     | ,630 |
|                        | Benzupirene            | ,06120                | ,98656     | ,951 |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -,35160               | ,98656     | ,726 |
| Benzupirene            | Kontrol                | ,42270                | ,98656     | ,674 |
|                        | Vaksin                 | -,06120               | ,98656     | ,951 |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -,41280               | ,98656     | ,681 |
| Vaksin dan Benzopirine | Kontrol                | ,83550                | ,98656     | ,410 |
|                        | Vaksin                 | ,35160                | ,98656     | ,726 |
|                        | Benzupirene            | ,41280                | ,98656     | ,681 |

**Multiple Comparisons**

Imun

LSD

| (I) Kelompok           | (J) Kelompok           | 95% Confidence Interval |             |
|------------------------|------------------------|-------------------------|-------------|
|                        |                        | Lower Bound             | Upper Bound |
| Kontrol                | Vaksin                 | -2,5753                 | 1,6075      |
|                        | Benzupirene            | -2,5141                 | 1,6687      |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -2,9269                 | 1,2559      |
| Vaksin                 | Kontrol                | -1,6075                 | 2,5753      |
|                        | Benzupirene            | -2,0302                 | 2,1526      |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -2,4430                 | 1,7398      |
| Benzupirene            | Kontrol                | -1,6687                 | 2,5141      |
|                        | Vaksin                 | -2,1526                 | 2,0302      |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -2,5042                 | 1,6786      |
| Vaksin dan Benzopirine | Kontrol                | -1,2559                 | 2,9269      |
|                        | Vaksin                 | -1,7398                 | 2,4430      |
|                        | Benzupirene            | -1,6786                 | 2,5042      |

[DataSet7] D:\Konsul statistik\Suwoyo\Hasil Analisis Penelitian S3 Pak Woyo\Pemeriksaan 1\CD4 IL1.sav

### Descriptives

Imun

|                        | N  | Mean  | Std. Deviation | Std. Error |
|------------------------|----|-------|----------------|------------|
| Kontrol                | 5  | ,6056 | ,34438         | ,15401     |
| Vaksin                 | 5  | ,5834 | ,42542         | ,19025     |
| Benzupirene            | 5  | ,4934 | ,34943         | ,15627     |
| Vaksin dan Benzopirine | 5  | ,5490 | ,27418         | ,12262     |
| Total                  | 20 | ,5578 | ,32632         | ,07297     |

### Descriptives

Imun

|                        | 95% Confidence Interval for Mean |             | Minimum | Maximum |
|------------------------|----------------------------------|-------------|---------|---------|
|                        | Lower Bound                      | Upper Bound |         |         |
| Kontrol                | ,1780                            | 1,0332      | ,27     | 1,11    |
| Vaksin                 | ,0552                            | 1,1116      | ,20     | 1,24    |
| Benzupirene            | ,0595                            | ,9272       | ,15     | 1,00    |
| Vaksin dan Benzopirine | ,2086                            | ,8894       | ,26     | 1,00    |
| Total                  | ,4051                            | ,7106       | ,15     | 1,24    |

### Test of Homogeneity of Variances

Imun

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| ,643             | 3   | 16  | ,599 |

### ANOVA

Imun

|                | Sum of Squares | df | Mean Square | F    | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|------|------|
| Between Groups | ,036           | 3  | ,012        | ,096 | ,961 |
| Within Groups  | 1,987          | 16 | ,124        |      |      |
| Total          | 2,023          | 19 |             |      |      |

## Post Hoc Tests

### Multiple Comparisons

Imun

LSD

| (I) Kelompok           | (J) Kelompok           | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. |
|------------------------|------------------------|-----------------------|------------|------|
| Kontrol                | Vaksin                 | ,02220                | ,22290     | ,922 |
|                        | Benzupirene            | ,11224                | ,22290     | ,621 |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | ,05660                | ,22290     | ,803 |
| Vaksin                 | Kontrol                | -,02220               | ,22290     | ,922 |
|                        | Benzupirene            | ,09004                | ,22290     | ,692 |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | ,03440                | ,22290     | ,879 |
| Benzupirene            | Kontrol                | -,11224               | ,22290     | ,621 |
|                        | Vaksin                 | -,09004               | ,22290     | ,692 |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -,05564               | ,22290     | ,806 |
| Vaksin dan Benzopirine | Kontrol                | -,05660               | ,22290     | ,803 |
|                        | Vaksin                 | -,03440               | ,22290     | ,879 |
|                        | Benzupirene            | ,05564                | ,22290     | ,806 |

### Multiple Comparisons

Imun

LSD

| (I) Kelompok           | (J) Kelompok           | 95% Confidence Interval |             |
|------------------------|------------------------|-------------------------|-------------|
|                        |                        | Lower Bound             | Upper Bound |
| Kontrol                | Vaksin                 | -,4503                  | ,4947       |
|                        | Benzupirene            | -,3603                  | ,5848       |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -,4159                  | ,5291       |
| Vaksin                 | Kontrol                | -,4947                  | ,4503       |
|                        | Benzupirene            | -,3825                  | ,5626       |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -,4381                  | ,5069       |
| Benzupirene            | Kontrol                | -,5848                  | ,3603       |
|                        | Vaksin                 | -,5626                  | ,3825       |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -,5282                  | ,4169       |
| Vaksin dan Benzopirine | Kontrol                | -,5291                  | ,4159       |
|                        | Vaksin                 | -,5069                  | ,4381       |
|                        | Benzupirene            | -,4169                  | ,5282       |

[DataSet8] D:\Konsul statistik\Suwoyo\Hasil Analisis Penelitian S3 Pak Woyo\Pemeriksaan 1\CD11b IL 1.sav

### Descriptives

Imun

|                        | N  | Mean   | Std. Deviation | Std. Error |
|------------------------|----|--------|----------------|------------|
| Kontrol                | 5  | ,4476  | ,12708         | ,05683     |
| Vaksin                 | 5  | 3,7146 | 1,36772        | ,61166     |
| Benzupirene            | 5  | 5,1382 | 1,01958        | ,45597     |
| Vaksin dan Benzopirine | 5  | 4,6874 | 1,98743        | ,88881     |
| Total                  | 20 | 3,4970 | 2,23358        | ,49944     |

### Descriptives

Imun

|                        | 95% Confidence Interval for Mean |             | Minimum | Maximum |
|------------------------|----------------------------------|-------------|---------|---------|
|                        | Lower Bound                      | Upper Bound |         |         |
| Kontrol                | ,2898                            | ,6054       | ,32     | ,64     |
| Vaksin                 | 2,0163                           | 5,4129      | 1,95    | 5,00    |
| Benzupirene            | 3,8722                           | 6,4042      | 4,00    | 6,00    |
| Vaksin dan Benzopirine | 2,2197                           | 7,1551      | 1,95    | 7,14    |
| Total                  | 2,4516                           | 4,5423      | ,32     | 7,14    |

### Test of Homogeneity of Variances

Imun

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| 4,789            | 3   | 16  | ,014 |

### ANOVA

Imun

|                | Sum of Squares | df | Mean Square | F      | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|--------|------|
| Between Groups | 67,284         | 3  | 22,428      | 13,047 | ,000 |
| Within Groups  | 27,505         | 16 | 1,719       |        |      |
| Total          | 94,789         | 19 |             |        |      |

**Post Hoc Tests****Multiple Comparisons**

Imun

LSD

| (I) Kelompok           | (J) Kelompok           | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. |
|------------------------|------------------------|-----------------------|------------|------|
| Kontrol                | Vaksin                 | -3,26700*             | ,82923     | ,001 |
|                        | Benzupirene            | -4,69060*             | ,82923     | ,000 |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -4,23980*             | ,82923     | ,000 |
| Vaksin                 | Kontrol                | 3,26700*              | ,82923     | ,001 |
|                        | Benzupirene            | -1,42360              | ,82923     | ,105 |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -,97280               | ,82923     | ,258 |
| Benzupirene            | Kontrol                | 4,69060*              | ,82923     | ,000 |
|                        | Vaksin                 | 1,42360               | ,82923     | ,105 |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | ,45080                | ,82923     | ,594 |
| Vaksin dan Benzopirine | Kontrol                | 4,23980*              | ,82923     | ,000 |
|                        | Vaksin                 | ,97280                | ,82923     | ,258 |
|                        | Benzupirene            | -,45080               | ,82923     | ,594 |

**Multiple Comparisons**

Imun

LSD

| (I) Kelompok           | (J) Kelompok           | 95% Confidence Interval |             |
|------------------------|------------------------|-------------------------|-------------|
|                        |                        | Lower Bound             | Upper Bound |
| Kontrol                | Vaksin                 | -5,0249                 | -1,5091     |
|                        | Benzupirene            | -6,4485                 | -2,9327     |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -5,9977                 | -2,4819     |
| Vaksin                 | Kontrol                | 1,5091                  | 5,0249      |
|                        | Benzupirene            | -3,1815                 | ,3343       |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -2,7307                 | ,7851       |
| Benzupirene            | Kontrol                | 2,9327                  | 6,4485      |
|                        | Vaksin                 | -,3343                  | 3,1815      |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -1,3071                 | 2,2087      |
| Vaksin dan Benzopirine | Kontrol                | 2,4819                  | 5,9977      |
|                        | Vaksin                 | -,7851                  | 2,7307      |
|                        | Benzupirene            | -2,2087                 | 1,3071      |

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

[DataSet9] D:\Konsul statistik\Suwoyo\Hasil Analisis Penelitian S3 Pak Woyo\Pemeriksaan 1\CD11b IL17.sav

### Descriptives

Imun

|                        | N  | Mean   | Std. Deviation | Std. Error |
|------------------------|----|--------|----------------|------------|
| Kontrol                | 5  | ,5476  | ,10630         | ,04754     |
| Vaksin                 | 5  | 3,9146 | 1,64723        | ,73666     |
| Benzupirene            | 5  | 2,9259 | 1,93990        | ,86755     |
| Vaksin dan Benzopirine | 5  | 7,7994 | 1,33566        | ,59733     |
| Total                  | 20 | 3,7969 | 2,98980        | ,66854     |

### Descriptives

Imun

|                        | 95% Confidence Interval for Mean |             | Minimum | Maximum |
|------------------------|----------------------------------|-------------|---------|---------|
|                        | Lower Bound                      | Upper Bound |         |         |
| Kontrol                | ,4156                            | ,6796       | ,38     | ,64     |
| Vaksin                 | 1,8693                           | 5,9599      | 1,95    | 6,00    |
| Benzupirene            | ,5172                            | 5,3346      | ,87     | 5,62    |
| Vaksin dan Benzopirine | 6,1410                           | 9,4578      | 5,86    | 9,00    |
| Total                  | 2,3976                           | 5,1962      | ,38     | 9,00    |

### Test of Homogeneity of Variances

Imun

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| 4,731            | 3   | 16  | ,015 |

### ANOVA

Imun

|                | Sum of Squares | df | Mean Square | F      | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|--------|------|
| Between Groups | 136,752        | 3  | 45,584      | 22,043 | ,000 |
| Within Groups  | 33,087         | 16 | 2,068       |        |      |
| Total          | 169,839        | 19 |             |        |      |

## Post Hoc Tests

### Multiple Comparisons

Imun

LSD

| (I) Kelompok           | (J) Kelompok           | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. |
|------------------------|------------------------|-----------------------|------------|------|
| Kontrol                | Vaksin                 | -3,36700*             | ,90950     | ,002 |
|                        | Benzupirene            | -2,37834*             | ,90950     | ,019 |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -7,25180*             | ,90950     | ,000 |
| Vaksin                 | Kontrol                | 3,36700*              | ,90950     | ,002 |
|                        | Benzupirene            | ,98866                | ,90950     | ,293 |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -3,88480*             | ,90950     | ,001 |
| Benzupirene            | Kontrol                | 2,37834*              | ,90950     | ,019 |
|                        | Vaksin                 | -,98866               | ,90950     | ,293 |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -4,87346*             | ,90950     | ,000 |
| Vaksin dan Benzopirine | Kontrol                | 7,25180*              | ,90950     | ,000 |
|                        | Vaksin                 | 3,88480*              | ,90950     | ,001 |
|                        | Benzupirene            | 4,87346*              | ,90950     | ,000 |

### Multiple Comparisons

Imun

LSD

| (I) Kelompok           | (J) Kelompok           | 95% Confidence Interval |             |
|------------------------|------------------------|-------------------------|-------------|
|                        |                        | Lower Bound             | Upper Bound |
| Kontrol                | Vaksin                 | -5,2950                 | -1,4390     |
|                        | Benzupirene            | -4,3064                 | -,4503      |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -9,1798                 | -5,3238     |
| Vaksin                 | Kontrol                | 1,4390                  | 5,2950      |
|                        | Benzupirene            | -,9394                  | 2,9167      |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -5,8128                 | -1,9568     |
| Benzupirene            | Kontrol                | ,4503                   | 4,3064      |
|                        | Vaksin                 | -2,9167                 | ,9394       |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -6,8015                 | -2,9454     |
| Vaksin dan Benzopirine | Kontrol                | 5,3238                  | 9,1798      |
|                        | Vaksin                 | 1,9568                  | 5,8128      |
|                        | Benzupirene            | 2,9454                  | 6,8015      |

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

[DataSet10] D:\Konsul statistik\Suwoyo\Hasil Analisis Penelitian S3 Pak Woyo\Pemeriksaan 1\CD4\CD25.sav

### Descriptives

Imun

|                        | N  | Mean    | Std. Deviation | Std. Error |
|------------------------|----|---------|----------------|------------|
| Kontrol                | 5  | 10,5774 | 2,57680        | 1,15238    |
| Vaksin                 | 5  | 8,7034  | 1,32507        | ,59259     |
| Benzupirene            | 5  | 8,6674  | 1,60859        | ,71938     |
| Vaksin dan Benzopirine | 5  | 6,7456  | 3,97405        | 1,77725    |
| Total                  | 20 | 8,6734  | 2,75125        | ,61520     |

### Descriptives

Imun

|                        | 95% Confidence Interval for Mean |             | Minimum | Maximum |
|------------------------|----------------------------------|-------------|---------|---------|
|                        | Lower Bound                      | Upper Bound |         |         |
| Kontrol                | 7,3779                           | 13,7769     | 6,06    | 12,00   |
| Vaksin                 | 7,0581                           | 10,3487     | 6,63    | 9,94    |
| Benzupirene            | 6,6701                           | 10,6647     | 6,08    | 10,03   |
| Vaksin dan Benzopirine | 1,8112                           | 11,6800     | 1,45    | 10,51   |
| Total                  | 7,3858                           | 9,9611      | 1,45    | 12,00   |

### Test of Homogeneity of Variances

Imun

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| 3,654            | 3   | 16  | ,035 |

### ANOVA

Imun

|                | Sum of Squares | df | Mean Square | F     | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|-------|------|
| Between Groups | 36,713         | 3  | 12,238      | 1,828 | ,183 |
| Within Groups  | 107,105        | 16 | 6,694       |       |      |
| Total          | 143,818        | 19 |             |       |      |

## Post Hoc Tests

### Multiple Comparisons

Imun

LSD

| (I) Kelompok           | (J) Kelompok           | Mean             |            |      |
|------------------------|------------------------|------------------|------------|------|
|                        |                        | Difference (I-J) | Std. Error | Sig. |
| Kontrol                | Vaksin                 | 1,87400          | 1,63635    | ,269 |
|                        | Benzupirene            | 1,91000          | 1,63635    | ,260 |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | 3,83180*         | 1,63635    | ,032 |
| Vaksin                 | Kontrol                | -1,87400         | 1,63635    | ,269 |
|                        | Benzupirene            | ,03600           | 1,63635    | ,983 |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | 1,95780          | 1,63635    | ,249 |
| Benzupirene            | Kontrol                | -1,91000         | 1,63635    | ,260 |
|                        | Vaksin                 | -,03600          | 1,63635    | ,983 |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | 1,92180          | 1,63635    | ,257 |
| Vaksin dan Benzopirine | Kontrol                | -3,83180*        | 1,63635    | ,032 |
|                        | Vaksin                 | -1,95780         | 1,63635    | ,249 |
|                        | Benzupirene            | -1,92180         | 1,63635    | ,257 |

### Multiple Comparisons

Imun

LSD

| (I) Kelompok           | (J) Kelompok           | 95% Confidence Interval |             |
|------------------------|------------------------|-------------------------|-------------|
|                        |                        | Lower Bound             | Upper Bound |
| Kontrol                | Vaksin                 | -1,5949                 | 5,3429      |
|                        | Benzupirene            | -1,5589                 | 5,3789      |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | ,3629                   | 7,3007      |
| Vaksin                 | Kontrol                | -5,3429                 | 1,5949      |
|                        | Benzupirene            | -3,4329                 | 3,5049      |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -1,5111                 | 5,4267      |
| Benzupirene            | Kontrol                | -5,3789                 | 1,5589      |
|                        | Vaksin                 | -3,5049                 | 3,4329      |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -1,5471                 | 5,3907      |
| Vaksin dan Benzopirine | Kontrol                | -7,3007                 | -,3629      |
|                        | Vaksin                 | -5,4267                 | 1,5111      |
|                        | Benzupirene            | -5,3907                 | 1,5471      |

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Lampiran 6 [DataSet11] D:\Konsul statistik\Suwoyo\Hasil Analisis Penelitian S3 Pak Woyo\Pemeriksaan 2\CD4\_CD62I.sav

### Descriptives

Imun

|                        | N  | Mean    | Std. Deviation | Std. Error |
|------------------------|----|---------|----------------|------------|
| Kontrol                | 6  | 18,7037 | 12,34964       | 5,04172    |
| Vaksin                 | 6  | 11,5032 | 10,66191       | 4,35271    |
| Benzupirene            | 6  | 12,7633 | 7,33907        | 2,99616    |
| Vaksin dan Benzopirine | 6  | 5,2697  | 6,42608        | 2,62344    |
| Total                  | 24 | 12,0600 | 10,11464       | 2,06464    |

### Descriptives

Imun

|                        | 95% Confidence Interval for Mean |             | Minimum | Maximum |
|------------------------|----------------------------------|-------------|---------|---------|
|                        | Lower Bound                      | Upper Bound |         |         |
| Kontrol                | 5,7435                           | 31,6638     | 2,03    | 29,72   |
| Vaksin                 | ,3142                            | 22,6922     | 2,28    | 29,54   |
| Benzupirene            | 5,0614                           | 20,4652     | 1,75    | 21,32   |
| Vaksin dan Benzopirine | -1,4740                          | 12,0135     | ,64     | 17,99   |
| Total                  | 7,7889                           | 16,3310     | ,64     | 29,72   |

### Test of Homogeneity of Variances

Imun

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| 2,354            | 3   | 20  | ,103 |

### ANOVA

Imun

|                | Sum of Squares | df | Mean Square | F     | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|-------|------|
| Between Groups | 546,305        | 3  | 182,102     | 2,016 | ,144 |
| Within Groups  | 1806,733       | 20 | 90,337      |       |      |
| Total          | 2353,037       | 23 |             |       |      |

## Post Hoc Tests

### Multiple Comparisons

Imun

LSD

| (I) Kelompok           | (J) Kelompok           | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. |
|------------------------|------------------------|-----------------------|------------|------|
| Kontrol                | Vaksin                 | 7,20050               | 5,48746    | ,204 |
|                        | Benzupirene            | 5,94033               | 5,48746    | ,292 |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | 13,43393*             | 5,48746    | ,024 |
| Vaksin                 | Kontrol                | -7,20050              | 5,48746    | ,204 |
|                        | Benzupirene            | -1,26017              | 5,48746    | ,821 |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | 6,23343               | 5,48746    | ,269 |
| Benzupirene            | Kontrol                | -5,94033              | 5,48746    | ,292 |
|                        | Vaksin                 | 1,26017               | 5,48746    | ,821 |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | 7,49360               | 5,48746    | ,187 |
| Vaksin dan Benzopirine | Kontrol                | -13,43393*            | 5,48746    | ,024 |
|                        | Vaksin                 | -6,23343              | 5,48746    | ,269 |
|                        | Benzupirene            | -7,49360              | 5,48746    | ,187 |

### Multiple Comparisons

Imun

LSD

| (I) Kelompok           | (J) Kelompok           | 95% Confidence Interval |             |
|------------------------|------------------------|-------------------------|-------------|
|                        |                        | Lower Bound             | Upper Bound |
| Kontrol                | Vaksin                 | -4,2461                 | 18,6471     |
|                        | Benzupirene            | -5,5063                 | 17,3870     |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | 1,9873                  | 24,8806     |
| Vaksin                 | Kontrol                | -18,6471                | 4,2461      |
|                        | Benzupirene            | -12,7068                | 10,1865     |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -5,2132                 | 17,6801     |
| Benzupirene            | Kontrol                | -17,3870                | 5,5063      |
|                        | Vaksin                 | -10,1865                | 12,7068     |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -3,9530                 | 18,9402     |
| Vaksin dan Benzopirine | Kontrol                | -24,8806                | -1,9873     |
|                        | Vaksin                 | -17,6801                | 5,2132      |
|                        | Benzupirene            | -18,9402                | 3,9530      |

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

universitas brawijaya Universitas Brawijaya [DataSet12] D:\Konsul statistik\Suwoyo\Hasil Analisis Penelitian S3 Pak Woyo\Pemeriksaan 2\CD8\CD62L.sav

### Descriptives

Imun

|                        | N  | Mean    | Std. Deviation | Std. Error |
|------------------------|----|---------|----------------|------------|
| Kontrol                | 6  | 22,2037 | 8,37607        | 3,41952    |
| Vaksin                 | 6  | 10,2265 | 5,22450        | 2,13289    |
| Benzupirene            | 6  | 6,4453  | 3,61103        | 1,47420    |
| Vaksin dan Benzopirine | 6  | 28,1582 | 12,84107       | 5,24235    |
| Total                  | 24 | 16,7584 | 11,84817       | 2,41850    |

### Descriptives

Imun

|                        | 95% Confidence Interval for Mean |             | Minimum | Maximum |
|------------------------|----------------------------------|-------------|---------|---------|
|                        | Lower Bound                      | Upper Bound |         |         |
| Kontrol                | 13,4135                          | 30,9938     | 10,00   | 29,72   |
| Vaksin                 | 4,7437                           | 15,7093     | ,71     | 15,00   |
| Benzupirene            | 2,6558                           | 10,2349     | ,67     | 10,00   |
| Vaksin dan Benzopirine | 14,6823                          | 41,6340     | 2,93    | 39,22   |
| Total                  | 11,7554                          | 21,7615     | ,67     | 39,22   |

### Test of Homogeneity of Variances

Imun

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| 1,679            | 3   | 20  | ,203 |

### ANOVA

Imun

|                | Sum of Squares | df | Mean Square | F     | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|-------|------|
| Between Groups | 1851,784       | 3  | 617,261     | 8,966 | ,001 |
| Within Groups  | 1376,934       | 20 | 68,847      |       |      |
| Total          | 3228,718       | 23 |             |       |      |

## Post Hoc Tests

### Multiple Comparisons

Imun

LSD

| (I) Kelompok           | (J) Kelompok           | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. |
|------------------------|------------------------|-----------------------|------------|------|
| Kontrol                | Vaksin                 | 11,97717*             | 4,79050    | ,021 |
|                        | Benzupirene            | 15,75833*             | 4,79050    | ,004 |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -5,95450              | 4,79050    | ,228 |
| Vaksin                 | Kontrol                | -11,97717*            | 4,79050    | ,021 |
|                        | Benzupirene            | 3,78117               | 4,79050    | ,439 |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -17,93167*            | 4,79050    | ,001 |
| Benzupirene            | Kontrol                | -15,75833*            | 4,79050    | ,004 |
|                        | Vaksin                 | -3,78117              | 4,79050    | ,439 |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -21,71283*            | 4,79050    | ,000 |
| Vaksin dan Benzopirine | Kontrol                | 5,95450               | 4,79050    | ,228 |
|                        | Vaksin                 | 17,93167*             | 4,79050    | ,001 |
|                        | Benzupirene            | 21,71283*             | 4,79050    | ,000 |

### Multiple Comparisons

Imun

LSD

| (I) Kelompok           | (J) Kelompok           | 95% Confidence Interval |             |
|------------------------|------------------------|-------------------------|-------------|
|                        |                        | Lower Bound             | Upper Bound |
| Kontrol                | Vaksin                 | 1,9844                  | 21,9700     |
|                        | Benzupirene            | 5,7655                  | 25,7511     |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -15,9473                | 4,0383      |
| Vaksin                 | Kontrol                | -21,9700                | -1,9844     |
|                        | Benzupirene            | -6,2116                 | 13,7740     |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -27,9245                | -7,9389     |
| Benzupirene            | Kontrol                | -25,7511                | -5,7655     |
|                        | Vaksin                 | -13,7740                | 6,2116      |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -31,7056                | -11,7200    |
| Vaksin dan Benzopirine | Kontrol                | -4,0383                 | 15,9473     |
|                        | Vaksin                 | 7,9389                  | 27,9245     |
|                        | Benzupirene            | 11,7200                 | 31,7056     |

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

[DataSet13] D:\Konsul statistik\Suwoyo\Hasil Analisis Penelitian S3 Pak Woyo\Pemeriksaan 2\CD4 IFN.sav

### Descriptives

Imun

|                        | N  | Mean   | Std. Deviation | Std. Error |
|------------------------|----|--------|----------------|------------|
| Kontrol                | 6  | 1,7766 | 1,48097        | ,60461     |
| Vaksin                 | 6  | 2,0480 | 1,44345        | ,58929     |
| Benzupirene            | 6  | 2,3347 | 2,69618        | 1,10071    |
| Vaksin dan Benzopirine | 6  | 1,8337 | 2,67441        | 1,09183    |
| Total                  | 24 | 1,9982 | 2,02855        | ,41408     |

### Descriptives

Imun

|                        | 95% Confidence Interval for Mean |             | Minimum | Maximum |
|------------------------|----------------------------------|-------------|---------|---------|
|                        | Lower Bound                      | Upper Bound |         |         |
| Kontrol                | ,2224                            | 3,3308      | ,65     | 4,59    |
| Vaksin                 | ,5332                            | 3,5628      | ,87     | 4,71    |
| Benzupirene            | -,4948                           | 5,1641      | ,40     | 7,69    |
| Vaksin dan Benzopirine | -,9730                           | 4,6403      | ,32     | 7,24    |
| Total                  | 1,1417                           | 2,8548      | ,32     | 7,69    |

### Test of Homogeneity of Variances

Imun

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| ,545             | 3   | 20  | ,657 |

### ANOVA

Imun

|                | Sum of Squares | df | Mean Square | F    | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|------|------|
| Between Groups | 1,151          | 3  | ,384        | ,082 | ,969 |
| Within Groups  | 93,494         | 20 | 4,675       |      |      |
| Total          | 94,645         | 23 |             |      |      |

**Post Hoc Tests****Multiple Comparisons**

Imun

LSD

| (I) Kelompok           | (J) Kelompok           | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. |
|------------------------|------------------------|-----------------------|------------|------|
| Kontrol                | Vaksin                 | -,27138               | 1,24829    | ,830 |
|                        | Benzupirene            | -,55805               | 1,24829    | ,660 |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -,05705               | 1,24829    | ,964 |
| Vaksin                 | Kontrol                | ,27138                | 1,24829    | ,830 |
|                        | Benzupirene            | -,28667               | 1,24829    | ,821 |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | ,21433                | 1,24829    | ,865 |
| Benzupirene            | Kontrol                | ,55805                | 1,24829    | ,660 |
|                        | Vaksin                 | ,28667                | 1,24829    | ,821 |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | ,50100                | 1,24829    | ,692 |
| Vaksin dan Benzopirine | Kontrol                | ,05705                | 1,24829    | ,964 |
|                        | Vaksin                 | -,21433               | 1,24829    | ,865 |
|                        | Benzupirene            | -,50100               | 1,24829    | ,692 |

**Multiple Comparisons**

Imun

LSD

| (I) Kelompok           | (J) Kelompok           | 95% Confidence Interval |             |
|------------------------|------------------------|-------------------------|-------------|
|                        |                        | Lower Bound             | Upper Bound |
| Kontrol                | Vaksin                 | -2,8753                 | 2,3325      |
|                        | Benzupirene            | -3,1619                 | 2,0458      |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -2,6609                 | 2,5468      |
| Vaksin                 | Kontrol                | -2,3325                 | 2,8753      |
|                        | Benzupirene            | -2,8906                 | 2,3172      |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -2,3896                 | 2,8182      |
| Benzupirene            | Kontrol                | -2,0458                 | 3,1619      |
|                        | Vaksin                 | -2,3172                 | 2,8906      |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -2,1029                 | 3,1049      |
| Vaksin dan Benzopirine | Kontrol                | -2,5468                 | 2,6609      |
|                        | Vaksin                 | -2,8182                 | 2,3896      |
|                        | Benzupirene            | -3,1049                 | 2,1029      |

[DataSet14] D:\Konsul statistik\Suwoyo\Hasil Analisis Penelitian S3 Pak Woyo\Pemeriksaan 2\CD4 TNF.sav

### Descriptives

Imun

|                        | N  | Mean   | Std. Deviation | Std. Error |
|------------------------|----|--------|----------------|------------|
| Kontrol                | 6  | 3,1348 | 4,44187        | 1,81339    |
| Vaksin                 | 6  | 6,8002 | 5,20269        | 2,12399    |
| Benzupirene            | 6  | ,9373  | ,37016         | ,15112     |
| Vaksin dan Benzopirine | 6  | 4,0532 | 4,69357        | 1,91614    |
| Total                  | 24 | 3,7314 | 4,42781        | ,90382     |

### Descriptives

Imun

|                        | 95% Confidence Interval for Mean |             | Minimum | Maximum |
|------------------------|----------------------------------|-------------|---------|---------|
|                        | Lower Bound                      | Upper Bound |         |         |
| Kontrol                | -1,5266                          | 7,7963      | ,53     | 12,01   |
| Vaksin                 | 1,3403                           | 12,2601     | 1,46    | 13,91   |
| Benzupirene            | ,5489                            | 1,3258      | ,29     | 1,27    |
| Vaksin dan Benzopirine | -,8724                           | 8,9788      | ,14     | 10,00   |
| Total                  | 1,8617                           | 5,6011      | ,14     | 13,91   |

### Test of Homogeneity of Variances

Imun

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| 5,581            | 3   | 20  | ,006 |

### ANOVA

Imun

|                | Sum of Squares | df | Mean Square | F     | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|-------|------|
| Between Groups | 106,101        | 3  | 35,367      | 2,051 | ,139 |
| Within Groups  | 344,824        | 20 | 17,241      |       |      |
| Total          | 450,926        | 23 |             |       |      |

**Post Hoc Tests****Multiple Comparisons**

Imun

LSD

| (I) Kelompok           | (J) Kelompok           | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. |
|------------------------|------------------------|-----------------------|------------|------|
| Kontrol                | Vaksin                 | -3,66533              | 2,39730    | ,142 |
|                        | Benzupirene            | 2,19750               | 2,39730    | ,370 |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -,91833               | 2,39730    | ,706 |
| Vaksin                 | Kontrol                | 3,66533               | 2,39730    | ,142 |
|                        | Benzupirene            | 5,86283*              | 2,39730    | ,024 |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | 2,74700               | 2,39730    | ,265 |
| Benzupirene            | Kontrol                | -2,19750              | 2,39730    | ,370 |
|                        | Vaksin                 | -5,86283*             | 2,39730    | ,024 |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -3,11583              | 2,39730    | ,208 |
| Vaksin dan Benzopirine | Kontrol                | ,91833                | 2,39730    | ,706 |
|                        | Vaksin                 | -2,74700              | 2,39730    | ,265 |
|                        | Benzupirene            | 3,11583               | 2,39730    | ,208 |

**Multiple Comparisons**

Imun

LSD

| (I) Kelompok           | (J) Kelompok           | 95% Confidence Interval |             |
|------------------------|------------------------|-------------------------|-------------|
|                        |                        | Lower Bound             | Upper Bound |
| Kontrol                | Vaksin                 | -8,66660                | 1,3354      |
|                        | Benzupirene            | -2,8032                 | 7,1982      |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -5,9190                 | 4,0824      |
| Vaksin                 | Kontrol                | -1,3354                 | 8,66660     |
|                        | Benzupirene            | ,8621                   | 10,8635     |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -2,2537                 | 7,7477      |
| Benzupirene            | Kontrol                | -7,1982                 | 2,8032      |
|                        | Vaksin                 | -10,8635                | -,8621      |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -8,1165                 | 1,8849      |
| Vaksin dan Benzopirine | Kontrol                | -4,0824                 | 5,9190      |
|                        | Vaksin                 | -7,7477                 | 2,2537      |
|                        | Benzupirene            | -1,8849                 | 8,1165      |

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

[DataSet15] D:\Konsul statistik\Suwoyo\Hasil Analisis Penelitian S3 Pak Woyo\Pemeriksaan 2\CD8\IFN.sav

### Descriptives

Imun

|                        | N  | Mean    | Std. Deviation | Std. Error |
|------------------------|----|---------|----------------|------------|
| Kontrol                | 6  | 65,2795 | 10,55977       | 4,31101    |
| Vaksin                 | 6  | 67,1938 | 7,95592        | 3,24799    |
| Benzupirene            | 6  | 73,9723 | 3,61142        | 1,47435    |
| Vaksin dan Benzopirine | 6  | 79,8310 | 2,65646        | 1,08450    |
| Total                  | 24 | 71,5692 | 8,77482        | 1,79115    |

### Descriptives

Imun

|                        | 95% Confidence Interval for Mean |             | Minimum | Maximum |
|------------------------|----------------------------------|-------------|---------|---------|
|                        | Lower Bound                      | Upper Bound |         |         |
| Kontrol                | 54,1977                          | 76,3613     | 50,00   | 79,05   |
| Vaksin                 | 58,8446                          | 75,5431     | 60,00   | 79,05   |
| Benzupirene            | 70,1824                          | 77,7623     | 70,00   | 78,26   |
| Vaksin dan Benzopirine | 77,0432                          | 82,6188     | 75,75   | 83,79   |
| Total                  | 67,8639                          | 75,2744     | 50,00   | 83,79   |

### Test of Homogeneity of Variances

Imun

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| 6,483            | 3   | 20  | ,003 |

### ANOVA

Imun

|                | Sum of Squares | df | Mean Square | F     | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|-------|------|
| Between Groups | 796,419        | 3  | 265,473     | 5,448 | ,007 |
| Within Groups  | 974,523        | 20 | 48,726      |       |      |
| Total          | 1770,942       | 23 |             |       |      |

## Universitas Brawijaya

## Universitas Brawijaya

## Universitas Brawijaya

## Post Hoc Tests

### Multiple Comparisons

Imun

LSD

| (I) Kelompok           | (J) Kelompok           | Mean             |            |      |
|------------------------|------------------------|------------------|------------|------|
|                        |                        | Difference (I-J) | Std. Error | Sig. |
| Kontrol                | Vaksin                 | -1,91433         | 4,03014    | ,640 |
|                        | Benzupirene            | -8,69283*        | 4,03014    | ,043 |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -14,55150*       | 4,03014    | ,002 |
| Vaksin                 | Kontrol                | 1,91433          | 4,03014    | ,640 |
|                        | Benzupirene            | -6,77850         | 4,03014    | ,108 |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -12,63717*       | 4,03014    | ,005 |
| Benzupirene            | Kontrol                | 8,69283*         | 4,03014    | ,043 |
|                        | Vaksin                 | 6,77850          | 4,03014    | ,108 |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -5,85867         | 4,03014    | ,162 |
| Vaksin dan Benzopirine | Kontrol                | 14,55150*        | 4,03014    | ,002 |
|                        | Vaksin                 | 12,63717*        | 4,03014    | ,005 |
|                        | Benzupirene            | 5,85867          | 4,03014    | ,162 |

### Multiple Comparisons

Imun

LSD

| (I) Kelompok           | (J) Kelompok           | 95% Confidence Interval |             |
|------------------------|------------------------|-------------------------|-------------|
|                        |                        | Lower Bound             | Upper Bound |
| Kontrol                | Vaksin                 | -10,3211                | 6,4924      |
|                        | Benzupirene            | -17,0996                | -,2861      |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -22,9582                | -6,1448     |
| Vaksin                 | Kontrol                | -6,4924                 | 10,3211     |
|                        | Benzupirene            | -15,1852                | 1,6282      |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -21,0439                | -4,2304     |
| Benzupirene            | Kontrol                | ,2861                   | 17,0996     |
|                        | Vaksin                 | -1,6282                 | 15,1852     |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -14,2654                | 2,5481      |
| Vaksin dan Benzopirine | Kontrol                | 6,1448                  | 22,9582     |
|                        | Vaksin                 | 4,2304                  | 21,0439     |
|                        | Benzupirene            | -2,5481                 | 14,2654     |

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

[DataSet18] D:\Konsul statistik\Suwoyo\Hasil Analisis Penelitian S3 Pak Woyo\Pemeriksaan 2\CD 4\IL1.sav

### Descriptives

Imun

|                        | N  | Mean   | Std. Deviation | Std. Error |
|------------------------|----|--------|----------------|------------|
| Kontrol                | 6  | ,5580  | ,25695         | ,10490     |
| Vaksin                 | 6  | ,8962  | ,75672         | ,30893     |
| Benzupirene            | 6  | 1,2865 | 1,09368        | ,44649     |
| Vaksin dan Benzopirine | 6  | 1,6667 | 1,03280        | ,42164     |
| Total                  | 24 | 1,1018 | ,90059         | ,18383     |

### Descriptives

Imun

|                        | 95% Confidence Interval for Mean |             | Minimum | Maximum |
|------------------------|----------------------------------|-------------|---------|---------|
|                        | Lower Bound                      | Upper Bound |         |         |
| Kontrol                | ,2883                            | ,8277       | ,33     | ,89     |
| Vaksin                 | ,1020                            | 1,6903      | ,20     | 2,30    |
| Benzupirene            | ,1388                            | 2,4342      | ,10     | 3,23    |
| Vaksin dan Benzopirine | ,5828                            | 2,7505      | 1,00    | 3,00    |
| Total                  | ,7215                            | 1,4821      | ,10     | 3,23    |

### Test of Homogeneity of Variances

Imun

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| 2,120            | 3   | 20  | ,130 |

### ANOVA

Imun

|                | Sum of Squares | df | Mean Square | F     | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|-------|------|
| Between Groups | 4,147          | 3  | 1,382       | 1,906 | ,161 |
| Within Groups  | 14,507         | 20 | ,725        |       |      |
| Total          | 18,654         | 23 |             |       |      |

## **Post Hoc Tests**

## Multiple Comparisons

| Imun

LSD

| (I) Kelompok           | (J) Kelompok           | Mean                  |            |      |
|------------------------|------------------------|-----------------------|------------|------|
|                        |                        | Difference (I-J)      | Std. Error | Sig. |
| Kontrol                | Vaksin                 | -,33817               | ,49172     | ,500 |
|                        | Benzupirene            | -,72850               | ,49172     | ,154 |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -1,10867 <sup>*</sup> | ,49172     | ,036 |
| Vaksin                 | Kontrol                | ,33817                | ,49172     | ,500 |
|                        | Benzupirene            | -,39033               | ,49172     | ,437 |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -,77050               | ,49172     | ,133 |
| Benzupirene            | Kontrol                | ,72850                | ,49172     | ,154 |
|                        | Vaksin                 | ,39033                | ,49172     | ,437 |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -,38017               | ,49172     | ,448 |
| Vaksin dan Benzopirine | Kontrol                | 1,10867 <sup>*</sup>  | ,49172     | ,036 |
|                        | Vaksin                 | ,77050                | ,49172     | ,133 |
|                        | Benzupirene            | ,38017                | ,49172     | ,448 |

## Multiple Comparisons

Imun

LSD

| (I) Kelompok           | (J) Kelompok           | 95% Confidence Interval |             |
|------------------------|------------------------|-------------------------|-------------|
|                        |                        | Lower Bound             | Upper Bound |
| Kontrol                | Vaksin                 | -1,3639                 | ,6875       |
|                        | Benzupirene            | -1,7542                 | ,2972       |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -2,1344                 | -,0830      |
| Vaksin                 | Kontrol                | -,6875                  | 1,3639      |
|                        | Benzupirene            | -1,4160                 | ,6354       |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -1,7962                 | ,2552       |
| Benzupirene            | Kontrol                | -,2972                  | 1,7542      |
|                        | Vaksin                 | -,6354                  | 1,4160      |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -1,4059                 | ,6455       |
| Vaksin dan Benzopirine | Kontrol                | ,0830                   | 2,1344      |
|                        | Vaksin                 | -,2552                  | 1,7962      |
|                        | Benzupirene            | -,6455                  | 1,4059      |

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

[DataSet22] D:\Konsul statistik\Suwoyo\Hasil Analisis Penelitian S3 Pak Woyo\Pemeriksaan 2\CD11b\_ILL.sav

### Descriptives

Imun

|                        | N  | Mean   | Std. Deviation | Std. Error |
|------------------------|----|--------|----------------|------------|
| Kontrol                | 6  | ,2077  | ,07869         | ,03213     |
| Vaksin                 | 6  | 1,1418 | ,58524         | ,23892     |
| Benzupirene            | 6  | 1,4363 | ,95107         | ,38827     |
| Vaksin dan Benzopirine | 6  | 1,0722 | ,64070         | ,26157     |
| Total                  | 24 | ,9645  | ,76185         | ,15551     |

### Descriptives

Imun

|                        | 95% Confidence Interval for Mean |             | Minimum | Maximum |
|------------------------|----------------------------------|-------------|---------|---------|
|                        | Lower Bound                      | Upper Bound |         |         |
| Kontrol                | ,1251                            | ,2903       | ,10     | ,35     |
| Vaksin                 | ,5277                            | 1,7560      | ,68     | 2,30    |
| Benzupirene            | ,4382                            | 2,4344      | ,42     | 3,23    |
| Vaksin dan Benzopirine | ,3998                            | 1,7445      | ,22     | 2,21    |
| Total                  | ,6428                            | 1,2862      | ,10     | 3,23    |

### Test of Homogeneity of Variances

Imun

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| 1,427            | 3   | 20  | ,265 |

### ANOVA

Imun

|                | Sum of Squares | df | Mean Square | F     | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|-------|------|
| Between Groups | 5,031          | 3  | 1,677       | 4,032 | ,021 |
| Within Groups  | 8,319          | 20 | ,416        |       |      |
| Total          | 13,349         | 23 |             |       |      |

**Post Hoc Tests****Multiple Comparisons**

Imun

LSD

| (I) Kelompok           | (J) Kelompok           | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. |
|------------------------|------------------------|-----------------------|------------|------|
| Kontrol                | Vaksin                 | -,93417*              | ,37235     | ,021 |
|                        | Benzupirene            | -1,22867*             | ,37235     | ,004 |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -,86450*              | ,37235     | ,031 |
| Vaksin                 | Kontrol                | ,93417*               | ,37235     | ,021 |
|                        | Benzupirene            | -,29450               | ,37235     | ,438 |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | ,06967                | ,37235     | ,853 |
| Benzupirene            | Kontrol                | 1,22867*              | ,37235     | ,004 |
|                        | Vaksin                 | ,29450                | ,37235     | ,438 |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | ,36417                | ,37235     | ,340 |
| Vaksin dan Benzopirine | Kontrol                | ,86450*               | ,37235     | ,031 |
|                        | Vaksin                 | -,06967               | ,37235     | ,853 |
|                        | Benzupirene            | -,36417               | ,37235     | ,340 |

**Multiple Comparisons**

Imun

LSD

| (I) Kelompok           | (J) Kelompok           | 95% Confidence Interval |             |
|------------------------|------------------------|-------------------------|-------------|
|                        |                        | Lower Bound             | Upper Bound |
| Kontrol                | Vaksin                 | -1,7109                 | -,1575      |
|                        | Benzupirene            | -2,0054                 | -,4520      |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -1,6412                 | -,0878      |
| Vaksin                 | Kontrol                | ,1575                   | 1,7109      |
|                        | Benzupirene            | -1,0712                 | ,4822       |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -,7070                  | ,8464       |
| Benzupirene            | Kontrol                | ,4520                   | 2,0054      |
|                        | Vaksin                 | -,4822                  | 1,0712      |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -,4125                  | 1,1409      |
| Vaksin dan Benzopirine | Kontrol                | ,0878                   | 1,6412      |
|                        | Vaksin                 | -,8464                  | ,7070       |
|                        | Benzupirene            | -1,1409                 | ,4125       |

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

[DataSet23] D:\Konsul statistik\Suwoyo\Hasil Analisis Penelitian S3 Pak Woyo\Pemeriksaan 2\CD11b IL17.sav

### Descriptives

Imun

|                        | N  | Mean   | Std. Deviation | Std. Error |
|------------------------|----|--------|----------------|------------|
| Kontrol                | 6  | 1,4057 | ,47738         | ,19489     |
| Vaksin                 | 6  | 1,4025 | ,37752         | ,15412     |
| Benzupirene            | 6  | 2,6590 | ,42866         | ,17500     |
| Vaksin dan Benzopirine | 6  | 1,5288 | ,53773         | ,21953     |
| Total                  | 24 | 1,7490 | ,68853         | ,14055     |

### Descriptives

Imun

|                        | 95% Confidence Interval for Mean |             | Minimum | Maximum |
|------------------------|----------------------------------|-------------|---------|---------|
|                        | Lower Bound                      | Upper Bound |         |         |
| Kontrol                | ,9047                            | 1,9066      | ,75     | 2,00    |
| Vaksin                 | 1,0063                           | 1,7987      | ,93     | 1,93    |
| Benzupirene            | 2,2092                           | 3,1088      | 2,00    | 3,00    |
| Vaksin dan Benzopirine | ,9645                            | 2,0931      | ,74     | 2,04    |
| Total                  | 1,4583                           | 2,0397      | ,74     | 3,00    |

### Test of Homogeneity of Variances

Imun

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| ,394             | 3   | 20  | ,758 |

### ANOVA

Imun

|                | Sum of Squares | df | Mean Square | F      | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|--------|------|
| Between Groups | 6,687          | 3  | 2,229       | 10,573 | ,000 |
| Within Groups  | 4,217          | 20 | ,211        |        |      |
| Total          | 10,904         | 23 |             |        |      |

**Post Hoc Tests****Multiple Comparisons**

Imun

LSD

| (I) Kelompok           | (J) Kelompok           | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. |
|------------------------|------------------------|-----------------------|------------|------|
| Kontrol                | Vaksin                 | ,00317                | ,26510     | ,991 |
|                        | Benzupirene            | -1,25333*             | ,26510     | ,000 |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -,12317               | ,26510     | ,647 |
| Vaksin                 | Kontrol                | -,00317               | ,26510     | ,991 |
|                        | Benzupirene            | -1,25650*             | ,26510     | ,000 |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -,12633               | ,26510     | ,639 |
| Benzupirene            | Kontrol                | 1,25333*              | ,26510     | ,000 |
|                        | Vaksin                 | 1,25650*              | ,26510     | ,000 |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | 1,13017*              | ,26510     | ,000 |
| Vaksin dan Benzopirine | Kontrol                | ,12317                | ,26510     | ,647 |
|                        | Vaksin                 | ,12633                | ,26510     | ,639 |
|                        | Benzupirene            | -1,13017*             | ,26510     | ,000 |

**Multiple Comparisons**

Imun

LSD

| (I) Kelompok           | (J) Kelompok           | 95% Confidence Interval |             |
|------------------------|------------------------|-------------------------|-------------|
|                        |                        | Lower Bound             | Upper Bound |
| Kontrol                | Vaksin                 | -,5498                  | ,5561       |
|                        | Benzupirene            | -1,8063                 | -,7004      |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -,6761                  | ,4298       |
| Vaksin                 | Kontrol                | -,5561                  | ,5498       |
|                        | Benzupirene            | -1,8095                 | -,7035      |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -,6793                  | ,4266       |
| Benzupirene            | Kontrol                | ,7004                   | 1,8063      |
|                        | Vaksin                 | ,7035                   | 1,8095      |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | ,5772                   | 1,6831      |
| Vaksin dan Benzopirine | Kontrol                | -,4298                  | ,6761       |
|                        | Vaksin                 | -,4266                  | ,6793       |
|                        | Benzupirene            | -1,6831                 | -,5772      |

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

[DataSet24] D:\Konsul statistik\Suwoyo\Hasil Analisis Penelitian S3 Pak Woyo\Pemeriksaan 2\CD4\CD25.sav

### Descriptives

Imun

|                        | N  | Mean   | Std. Deviation | Std. Error |
|------------------------|----|--------|----------------|------------|
| Kontrol                | 6  | 8,3445 | 3,95896        | 1,61624    |
| Vaksin                 | 6  | 1,7283 | ,49226         | ,20096     |
| Benzupirene            | 6  | 9,4993 | 5,31635        | 2,17039    |
| Vaksin dan Benzopirine | 6  | 3,6405 | 2,88629        | 1,17832    |
| Total                  | 24 | 5,8032 | 4,71334        | ,96211     |

### Descriptives

Imun

|                        | 95% Confidence Interval for Mean |             | Minimum | Maximum |
|------------------------|----------------------------------|-------------|---------|---------|
|                        | Lower Bound                      | Upper Bound |         |         |
| Kontrol                | 4,1898                           | 12,4992     | 4,15    | 13,28   |
| Vaksin                 | 1,2117                           | 2,2449      | 1,03    | 2,40    |
| Benzupirene            | 3,9202                           | 15,0785     | 4,15    | 16,93   |
| Vaksin dan Benzopirine | ,6115                            | 6,6695      | 1,65    | 9,42    |
| Total                  | 3,8129                           | 7,7934      | 1,03    | 16,93   |

### Test of Homogeneity of Variances

Imun

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| 10,297           | 3   | 20  | ,000 |

### ANOVA

Imun

|                | Sum of Squares | df | Mean Square | F     | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|-------|------|
| Between Groups | 248,409        | 3  | 82,803      | 6,308 | ,003 |
| Within Groups  | 262,550        | 20 | 13,127      |       |      |
| Total          | 510,958        | 23 |             |       |      |

## Post Hoc Tests

### Multiple Comparisons

Imun

LSD

| (I) Kelompok           | (J) Kelompok           | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. |
|------------------------|------------------------|-----------------------|------------|------|
| Kontrol                | Vaksin                 | 6,61617*              | 2,09185    | ,005 |
|                        | Benzupirene            | -1,15483              | 2,09185    | ,587 |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | 4,70400*              | 2,09185    | ,036 |
| Vaksin                 | Kontrol                | -6,61617*             | 2,09185    | ,005 |
|                        | Benzupirene            | -7,77100*             | 2,09185    | ,001 |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -1,91217              | 2,09185    | ,372 |
| Benzupirene            | Kontrol                | 1,15483               | 2,09185    | ,587 |
|                        | Vaksin                 | 7,77100*              | 2,09185    | ,001 |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | 5,85883*              | 2,09185    | ,011 |
| Vaksin dan Benzopirine | Kontrol                | -4,70400*             | 2,09185    | ,036 |
|                        | Vaksin                 | 1,91217               | 2,09185    | ,372 |
|                        | Benzupirene            | -5,85883*             | 2,09185    | ,011 |

### Multiple Comparisons

Imun

LSD

| (I) Kelompok           | (J) Kelompok           | 95% Confidence Interval |             |
|------------------------|------------------------|-------------------------|-------------|
|                        |                        | Lower Bound             | Upper Bound |
| Kontrol                | Vaksin                 | 2,2526                  | 10,9797     |
|                        | Benzupirene            | -5,5184                 | 3,2087      |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | ,3405                   | 9,0675      |
| Vaksin                 | Kontrol                | -10,9797                | -2,2526     |
|                        | Benzupirene            | -12,1345                | -3,4075     |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | -6,2757                 | 2,4514      |
| Benzupirene            | Kontrol                | -3,2087                 | 5,5184      |
|                        | Vaksin                 | 3,4075                  | 12,1345     |
|                        | Vaksin dan Benzopirine | 1,4953                  | 10,2224     |
| Vaksin dan Benzopirine | Kontrol                | -9,0675                 | -,3405      |
|                        | Vaksin                 | -2,4514                 | 6,2757      |
|                        | Benzupirene            | -10,2224                | -1,4953     |

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.