

EFEK PYOCYANIN TERHADAP PERUBAHAN MORFOLOGI LIMFOSIT B

SKRIPSI

Untuk Memenuhi Sebagian Syarat
Memperoleh Derajat Sarjana Kedokteran
Universitas Kristen Duta Wacana



Disusun oleh :
Dyanasti Prasanti Siwi
41100085

FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS KRISTEN DUTA WACANA
YOGYAKARTA

2014

LEMBAR PENGESAHAN

Skripsi dengan judul:

**EFEK PYOCYANIN TERHADAP
PERUBAHAN MORFOLOGI LIMFOSIT B**

telah diajukan dan dipertahankan oleh:

**DYANASTI PRASANTI SIWI
41100085**

dalam Ujian Skripsi Program Studi Pendidikan Dokter
Fakultas kedokteran
Universitas Kristen Duta Wacana
dan dinyatakan DITERIMA
untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran pada tanggal 14 Juli 2014

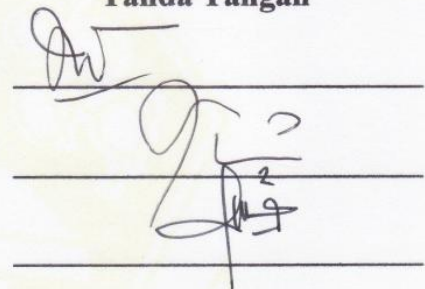
Nama Dosen

Prof. dr. J. Willy Siagian, Sp.PA
(Dosen Pembimbing I)

drg. MM Suryana Hutomo, MDSc
(Dosen Pembimbing II)

drg. Hani Susilowati, M.Kes., Ph.D
(Dosen Penguji)

Tanda Tangan



Yogyakarta, 14 Juli 2014

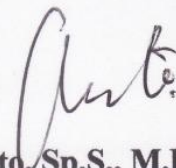
Disahkan Oleh:

Dekan,



Prof. dr. J. Willy Siagian, Sp.PA

Wakil Dekan I bidang Akademik,



dr. Sugianto, Sp.S., M.Kes., Ph.D

LEMBAR KEASLIAN PENELITIAN

Saya menyatakan bahwa sesungguhnya skripsi dengan judul:

EFEK PYOCYANIN TERHADAP PERUBAHAN MORFOLOGI LIMFOSIT B

Yang saya kerjakan untuk melengkapi sebagian syarat untuk menjadi Sarjana pada Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Duta Wacana Yogyakarta, adalah bukan hasil tiruan atau duplikasi dari karya pihak lain di Perguruan Tinggi atau instansi manapun, kecuali bagian yang sumber informasinya sudah dicantumkan sebagaimana mestinya.

Jika dikemudian hari didapati bahwa hasil skripsi ini adalah hasil plagiasi atau tiruan dari karya pihak lain, maka saya bersedia dikenai sanksi yakni pencabutan gelar saya.

Yogyakarta, Juli 2014



(DYANASTI PRASANTI SIWI)

41 10 0085

LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI

Sebagai mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Duta Wacana yang bertanda tangan di bawah ini, saya:

Nama : **DYANASTI PRASANTI SIWI**

NIM : **41 10 0085**

demikian demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Kristen Duta Wacana Hak Bebas Royalti Non Eksklusif (*Non Exclusive Royalty-Free Right*), atas karya ilmiah saya yang berjudul:

EFEK PYOCYANIN TERHADAP PERUBAHAN MORFOLOGI LIMFOSIT B

Dengan Hak Bebas Royalti Non Eksklusif ini, Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Duta Wacana berhak menyimpan, mengalih media/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat dan mempublikasikan Karya Tulis Ilmiah selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis dan sebagai pemilik hak cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Yogyakarta, 14 Juli 2014

Yang menyatakan,

Dyanasti Prasanti Siwi

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Tuhan Yesus Kristus atas berkat dan kasih-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi yang berjudul “EFEK PYOCYANIN TERHADAP PERUBAHAN MORFOLOGI LIMFOSIT B” yang menjadi salah satu syarat memperoleh derajat sarjana kedokteran di Universitas Kristen Duta Wacana. Penulis menyadari banyak pihak yang telah membantu dalam proses penyusunan skripsi ini. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada semua pihak yang terlibat di dalamnya. Secara pribadi, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Prof. dr. J. Willy Siagian, Sp.PA selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Duta Wacana sekaligus Pembimbing I yang memberi kesempatan, arahan, serta motivasi dalam pembuatan skripsi ini sehingga dapat selesai pada waktunya,
2. drg. MM. Suryani Hutomo, MDSc selaku Pembimbing II yang telah memberikan ilmu, arahan, serta kepercayaan untuk melakukan dan menyelesaikan rangkaian penyusunan skripsi ini,
3. drg. Heni Susilowati, M.Kes., Ph.D selaku dosen Penguji yang telah bersedia untuk memberikan waktu, ilmu, dan kepercayaan dalam setiap proses penelitian yang telah dilakukan,

4. Bp. Sucipto dan Ibu Kismirahayu sebagai orang tua yang tidak henti-hentinya memberikan doa, semangat, dan kasih sayang sehingga penulis dapat diberi kekuatan dan kesehatan sampai saat ini,
5. Keluarga penulis yaitu Mas Gaib, Mbak Dasus, Mbak Nina dan saudara-saudara persekutuan yang telah banyak memberi doa, kekuatan, serta kepercayaan diri untuk menyelesaikan tanggung jawab penulis terhadap skripsi ini,
6. Sahabat-sahabat terkasih dan teman-teman sejawat di Fakultas Kedokteran terkhusus Septian Dewi, Bernadet Dhani, Aditya, Rani Oktaviani, Sostenis Virginia dan teman-teman angkatan 2010 yang telah memberikan semangat, motivasi, dan dukungan selama melakukan penelitian dan penyusunan skripsi,
7. Staf dan karyawan Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPPT) Universitas Gadjah Mada, terutama Bu Istini dan Bu Yuli yang telah mendampingi dan memberi arahan dalam melakukan penelitian,
8. Staf dan karyawan bagian Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada yang telah memberikan waktu dan tenaga dalam membantu penyelesaian proses penelitian,
9. Teman-teman bimbingan skripsi, Mbak Ella, Sonia, Puji, Nadia, Anton, dan Sindhu yang telah banyak memberi masukan dan pelajaran dalam proses pembuatan skripsi,

10. Adik-adik angkatan 2011, 2012, dan 2013 serta teman-teman angkatan 2010 yang telah memberikan senyuman dan semangat kepada penulis,
11. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu yang telah membantu kelancaran penyusunan skripsi ini.

Demikianlah kata pengantar dan ucapan terima kasih dari penulis. Apabila dalam penulisan dan proses pembuatan skripsi ini terdapat kesalahan, penulis memohon maaf sebesar-besarnya. Penulis juga menerima setiap kritikan dan saran yang membangun dari siapa saja yang telah membaca karya tulis ini. Biarlah hasil dari setiap proses dalam pembuatan skripsi ini dapat menjadi berkat bagi kita semua.

Yogyakarta,

Dyanasti Prasanti Siwi

DAFTAR ISI

| | |
|-----------------------------------|------|
| Halaman Judul..... | i |
| Halaman Pengesahan | ii |
| Lembar Pernyataan Keaslian | iii |
| Lembar Persetujuan Publikasi..... | iv |
| Kata Pengantar | v |
| Daftar Isi | viii |
| Daftar Tabel | x |
| Daftar Gambar | xi |
| Daftar Lampiran | xii |
| Abstrak | xiii |
| Abstract | xiv |
| Bab I PENDAHULUAN..... | 1 |
| a. Latar Belakang..... | 1 |
| b. Permasalahan | 4 |
| c. Tujuan | 4 |
| d. Manfaat | 4 |
| e. Keaslian Penelitian | 5 |
| Bab II TINJAUAN PUSTAKA | 6 |
| a. Studi Pustaka..... | 6 |
| b. Kerangka Konseptual..... | 14 |

| | |
|---|----|
| c. Hipotesis | 14 |
| Bab III METODOLOGI PENELITIAN | 15 |
| a. Jenis Penelitian | 15 |
| b. Variabel..... | 15 |
| c. Definisi Operasional | 15 |
| d. Alat dan Bahan..... | 16 |
| e. Metode Penelitian | 18 |
| f. Kerangka Penelitian | 22 |
| Bab IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN..... | 23 |
| a. Hasil | 23 |
| b. Pembahasan | 28 |
| BAB V KESIMPULAN DAN SARAN..... | 32 |
| Daftar Pustaka | 33 |
| Lampiran | 37 |

DAFTAR TABEL

| | |
|---|----|
| Tabel 1. Hasil rerata kematian sel pada ketiga kelompok perlakuan..... | 25 |
| Tabel 2. Hasil tes normalitas menunjukkan distribusi data tidak normal, ditunjukkan dengan beberapa data mempunyai nilai $p < 0,05$ | 26 |
| Tabel 3. Hasil tes homogenitas menunjukkan varians data tidak sama, ditunjukkan dengan nilai $p = 0,020$ ($p < 0,05$)..... | 26 |
| Tabel 4. Hasil uji Kruskal Wallis keenam kelompok pada variasi waktu pemaparan 24 jam dan 48 jam | 27 |

@UKDW

DAFTAR GAMBAR

| | |
|---|----|
| Gambar 1a. Fragmentasi inti pada limfosit B yang dipaparkan pyocyanin pada variasi waktu 48 jam (dengan perbesaran obyektif 40x) | 35 |
| Gambar 1b. Pembentukan badan apoptotik pada limfosit B yang dipaparkan pyocyanin pada variasi waktu 48 jam (dengan perbesaran obyektif 40x) | 35 |
| Gambar 2. Nekrosis limfosit B yang dipaparkan pyocyanin pada variasi waktu 48 jam (dengan perbesaran obyektif 40x) | 35 |

@UKDM

DAFTAR LAMPIRAN

| | |
|---|----|
| Lampiran 1. Keterangan Kelaikan Etik..... | 37 |
| Lampiran 2. Surat Keterangan LPPT UGM..... | 38 |
| Lampiran 3. Hasil Uji Normalitas Data | 39 |
| Lampiran 4. Hasil Uji Varians Data..... | 40 |
| Lampiran 5. Hasil Uji Mann-Whitney antara PCN 24 jam dan Kontrol Negatif 24 jam..... | 41 |
| Lampiran 6. Hasil Uji Mann-Whitney antara PCN 48 jam dan Kontrol Negatif 48 jam..... | 42 |
| Lampiran 7. Hasil Uji Mann-Whitney antara PCN 24 jam dan PCN 48 jam | 43 |

ABSTRAK

Pseudomonas aeruginosa merupakan salah satu bakteri gram negatif yang sering menyebabkan infeksi oportunistik dan infeksi nosokomial terutama pneumonia di rumah sakit. Angka kematian yang disebabkan oleh pneumonia nosokomial adalah 20-50%. Bakteri ini memproduksi pigmen pyocyanin yang berperan dalam patogenesis *P. aeruginosa* terhadap manusia dengan menyebabkan apoptosis neutrofil dan antiproliferasi limfosit. Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui mekanisme kematian limfosit B yang dipapar pyocyanin. Penelitian menggunakan sel Raji (Raji cell line) dan pyocyanin (Sigma-Aldrich St. Louis, USA no. P0046) dengan konsentrasi 5µg/mL. Identifikasi perubahan morfologi menggunakan pengecatan Feulgen. Doksorubisin dipakai sebagai kontrol positif dan limfosit B yang tanpa diberi perlakuan sebagai kontrol negatif. Variasi waktu yang digunakan adalah 24 jam dan 48 jam untuk setiap kelompok. Perhitungan jumlah kematian sel dilakukan dengan uji nonparametrik Kruskal Wallis. Didapatkan bahwa pyocyanin menyebabkan perubahan morfologi limfosit B ke arah apoptosis dan nekrosis. Proses apoptosis sel ditandai dengan adanya formasi bleb dan karioreksis sedangkan nekrosis ditandai dengan adanya kariolisis. Pada kedua proses tersebut terlihat perubahan pada membran sel limfosit B. Hasil statistik tidak menunjukkan perbedaan jumlah kematian sel yang dipapar pyocyanin pada pemaparan 24 jam dan 48 jam. Kesimpulan yang didapatkan adalah pyocyanin menyebabkan kematian sebagian besar limfosit B melalui mekanisme apoptosis.

Kata kunci : pyocyanin, limfosit B, Feulgen, morfologi

ABSTRACT

Pseudomonas aeruginosa is one of negative gram bacteria which often causes opportunistic and nosocomial infection, especially pneumonia in hospital. Death rate that is caused by nosocomial pneumonia is 20-50%. This bacteria produces pyocyanin pigment which acts for *P. aeruginosa* pathogenesis in human body, that causes neutrophil apoptosis and lymphocyte antiproliferation. This research was aimed to know the death mechanism of B lymphocyte which was exposed by pyocyanin. It used Raji cell line and pyocyanin (Sigma Aldrich St. Louis, USA no. P0046) with concentration was 5µg/mL. Morphology change identification used Feulgen staining. Doxorubicin was used as positive control and B lymphocyte without exposure as negative control. Time variations were 24 hours and 48 hours for each group. The cell death number was counted by Kruskal Wallis non parametric test. The result of this research was pyocyanin causes morphology change of B lymphocyte to apoptosis and necrosis. The apoptosis process was obviously seen by the bleb formation and karyorhexis, meanwhile necrosis was seen by karyolysis. In those both processes, there was destruction of B lymphocyte cell membrane. The statistical result did not show the difference of cell death number, which was exposed by pyocyanin in 24 hours and 48 hours exposure. Therefore, the conclusion is pyocyanin causes the death of most B lymphocyte through apoptosis mechanism.

Keywords: pyocyanin, B lymphocyte, Feulgen, morphology.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Pseudomonas aeruginosa dikenal sebagai bakteri yang sering menimbulkan infeksi, khususnya pada pasien imunokompromis, penderita HIV, dan berperan pada infeksi paru kronis dengan fibrosis kistik (Sadikot dkk, 2005; Lessnau dkk, 2013). Bakteri oportunistik ini dapat pula menyebabkan infeksi nosokomial pada pasien di rumah sakit atau fasilitas kesehatan lainnya, dimana infeksi tersebut belum muncul pada saat pasien diterima di rumah sakit. Kebanyakan kasus infeksi nosokomial ini terjadi di negara berkembang dengan standard ekonomi yang rendah. Berdasarkan data WHO, 8,7% pasien yang dirawat di rumah sakit mengalami infeksi nosokomial dan 1,4 juta pasien telah mengalami komplikasi karena infeksi ini (WHO, 2012).

Prevalensi tertinggi infeksi nosokomial terjadi di *Intensive Care Units* (ICU), ruang operasi, dan ortopedi. Dalam kurun waktu 2002 sampai 2007 diidentifikasi tingginya angka kejadian berasal dari *central-line associated Blood Stream Infection* (BSI), *Ventilator Associated Pneumonia* (VAP), dan *catheter-associated Urinary Tract Infection* (WHO, 2012; Haidee dkk., 2013). Pemakaian ventilator sebagai alat mekanik dalam membantu proses pernapasan diketahui menjadi penyebab utama pneumonia nosokomial di rumah sakit. Penyakit ini

merupakan infeksi nosokomial kedua terbanyak yang disebabkan oleh bakteri (Burke dkk., 2013). Berdasarkan data yang dihimpun oleh PDPI (2003) pneumonia nosokomial terjadi 5-10 kasus per 1000 pasien yang masuk rumah sakit dan menjadi lebih tinggi 6-20x pada pasien yang memakai alat bantu napas mekanis. Angka kematian yang disebabkan oleh pneumonia nosokomial adalah 20%-50% dan angka ini akan meningkat pada pneumonia yang disebabkan oleh *P. aeruginosa*.

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri gram negatif berbentuk batang dan dapat dengan mudah berkembang di berbagai media termasuk di disinfektan, alat bantu napas, makanan, baso cuci piring, dan alat-alat pembersih lainnya. Penyebarannya dapat dengan mudah terjadi, baik melalui kontak langsung dari orang ke orang, melalui makanan ataupun dengan alat yang terkontaminasi bakteri (Lisena dkk, 2013). Pada pasien yang mempunyai kerentanan pada barrier mukosa, mukositis akibat kemoterapi, dan pemakaian antibiotik berspektrum luas mempunyai faktor resiko yang tinggi terhadap infeksi bakteri ini (Sadikot dkk, 2005).

Faktor virulensi *P. aeruginosa* berperan penting dalam proses patologis di pejamu, pertahanan bakteri, dan invasinya pada jaringan. Bakteri ini mempunyai flagel monotrik dan pili yang berguna untuk menempel pada epitel traktus respiratorius. Pigmen yang diproduksi oleh *P. aeruginosa* salah satunya adalah pigmen yang berwarna biru kehijauan yaitu pyocyanin (Sadikot dkk, 2005). Pyocyanin (PCN) merupakan senyawa aktif redoks yang dapat mengganggu proses

oksidasi intraseluler dan gerakan silia serta menghambat pertumbuhan sel epidermis dan proliferasi limfosit (Hassett dkk, 1992).

Imunitas seluler maupun humoral berperan dalam pertahanan infeksi bakteri ini. Sel imun limfosit akan berinfiltrasi di daerah pusat infeksi dan memicu terjadinya opsonisasi. *Pseudomonas aeruginosa* menstimulasi proliferasi dari limfosit B dan akhirnya mencetuskan produksi antibodi. Antibodi yang diproduksi merupakan opsonin penting untuk menuntun bakteri (Mody dkk, 1995).

Berdasarkan penelitian awal yang dilakukan oleh Susilowati dkk (naskah dalam persiapan) dijelaskan bahwa PCN mempunyai efek sitotoksik terhadap limfosit B dan menyebabkan kematian sel tersebut sebesar setengah dari jumlah sel awal pada konsentrasi 5 µg/L. Pada penelitian ini, masih belum diketahui secara jelas proses kematian yang terjadi sehingga diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai perubahan morfologi membran, sitoplasma dan inti sel untuk mengidentifikasi proses kematian sel termasuk ke dalam proses apoptosis atau nekrosis. Identifikasi morfologi sel merupakan dasar yang penting mengenai peran aktif PCN pada proses infeksi *P.aeruginosa* dengan melihat morfologi sel imun yaitu limfosit B sebagai pertahanan pertama dan utama pada mekanisme infeksi mikroorganisme di traktus respiratorius.

B. Permasalahan

Berdasarkan latar belakang di atas maka dirumuskan permasalahan sebagai berikut :

Bagaimana perubahan morfologi limfosit B setelah terpapar pyocyanin?

C. Tujuan

Untuk mengetahui mekanisme kematian limfosit B setelah terpapar pyocyanin.

D. Manfaat

Dari penelitian ini diharapkan:

1. Hasil penelitian dapat memberikan informasi ilmiah mengenai perubahan bentuk limfosit B setelah pemaparan dengan pyocyanin. Perubahan bentuk limfosit B yang mengarah ke proses nekrosis ataupun apoptosis membuka kesempatan terhadap pengembangan penelitian mengenai pengobatan infeksi *P.aeruginosa*.
2. Hasil penelitian dapat digunakan lebih lanjut untuk mengetahui mekanisme patologi seluler lain mengenai efek dari pyocyanin terhadap limfosit B.

E. Keaslian Penelitian

Pada penelitian yang dilakukan oleh Sorensen dkk (1983) ditemukan bahwa PCN yang merupakan purifikasi dari pigmen phenazine hasil kultur *Pseudomonas aeruginosa* secara kuat menghambat proliferasi limfosit. Penelitian serupa juga dilakukan oleh Ulmer dkk (1990). Pada penelitian mereka, diketahui konsentrasi PCN 0,1µg/mL atau kurang meningkatkan laju proliferasi limfosit T dan limfosit B, tetapi pada konsentrasi 5µg/mL proliferasi kedua limfosit tersebut dihambat. Penelitian selanjutnya dilakukan oleh Usher dkk (2002) dan menghasilkan temuan bahwa PCN menginduksi percepatan konsentrasi dan waktu apoptosis neutrofil. Pyocyanin 50µM menyebabkan apoptosis 10 kali lipat pada 5 jam pertama pemaparan. Berbeda hal dengan perubahan pada neutrofil, PCN tidak menyebabkan apoptosis yang signifikan pada makrofag ataupun sel epitel respiratorius. Penelitian mengenai PCN kembali dilakukan oleh Susilowati dkk (naskah dalam persiapan). Pada penelitian ini PCN dipaparkan dengan limfosit B, dan diketahui bahwa konsentrasi PCN yang paling efektif berpengaruh pada viabilitas limfosit B adalah 5µg/mL.

Penelitian ini merupakan penelitian lanjutan yang dilakukan oleh Susilowati dkk (naskah dalam persiapan) mengenai pengaruh PCN terhadap morfologi sel dan viabilitas limfosit B (*raji cell line*). Pengamatan morfologi sel pada penelitian sebelumnya diamati menggunakan metode pengecatan Hoechst, sedangkan pada penelitian ini, perubahan morfologi sel diidentifikasi menggunakan pengecatan Feulgen.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Pyocyanin menyebabkan kematian sebagian besar limfosit B melalui apoptosis.

B. Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai mekanisme lain dari kematian limfosit B akibat paparan pyocyanin dengan teknik pewarnaan yang berbeda.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai efek sitotoksitas pyocyanin terhadap sel imun lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Burke, A., Talavera F., Greenfield, R., & Stuart M. (2013) Nosocomial Pneumonia available from: <http://emedicine.medscape.com/article/234753-overview> [Accessed 6 December 2013].
- Caldwell, C., Yi Chen, Goetzmann, H., Yonghua, H., Borchers, M., Hassett, D., Young, L., Mavrodi, D., Thomashow, L., & Lau, G. (2009) Pseudomonas aeruginosa Exotoxin Pyocyanin Causes Cystic Fibrosis Airway Pathogenesis: *The American Journal of Pathology*. 75 (6): 2474-2488.
- Dorshkind, K. & Rawling, DJ. (2005) *Hoffman: Histology: Basic Principles and Practice ed. 4th*. United States: An imprint of Elsevier.
- Elmore, S. (2007) Apoptosis: A Review of Programmed Cell Death: *Toxicologic Pathology*.35: 495-516.
- Epstein, MA., Achong, BG., Barr, Y.M., Zajac, P., Henie, G., & Henle, W. (1966) Morphological and Virologic Investigations on Cultured Burkitt Tumor Lymphoblast: *Journal of National Cancer Institute*. 37(4): 547-559.
- Haidee, T., Russel, David J., Mary, L., Joseph, & Tolan, R. (2013) Hospital Acquired Infections available from: <http://emedicine.medscape.com/article/967022-overview> [Accessed 6 December 2013].
- Hassett, D., Chernigoi, L., Karen, B., Ohman, D., & Cohen, M. (1992) Response of Pseudomonas aeruginosa to Pyocyanin: Mechanisms of Resistance, Antioxidant Defense, and Demonstration of a Manganese-Cofactored Superoxide Dismutase: *Infection and Immunity*. 60(2):328-336.
- Higuchi, M., Honda, T., Proske, RJ., & Yeh, TH. (1998) Regulation of Reactive Oxygen Species-Induced Apoptosis and Necrosis by Caspase 3-like Proteases: *Oncogene*. 17: 2753-2760.
- Ikawati, Z., Nugroho, A., & Astutiningsih, W; All-one study group. (2010) Penekanan Ekspresi Enzim COX-2 pada Kultur Sel Raji oleh Ekstrak Kloroform Daun Cangkring (*Erythrina fusca Lour*), *Majalah Obat Tradisional*.11.

- Kanthakumar, K., Taylor, G., Tsang, Cundell, D., Rutman, A., Smith, S., Jeffery, P., Cole, P., & Wilson, R. (1993) Mechanisms of Action of Pseudomonas aeruginosa Pyocyanin on Human Ciliary Beat In Vitro: *Infection and Immunity*. 61(7): 2848-2853.
- Kern, W. (2002) *PDQ Hematology ed. 1st*. United States of America: PMPH USA.
- Kimball, JW. (2013) B Cells and T Cells available from: http://users.rcn.com/jkimball.ma.ultranet/BiologyPages/B/B_and_Tcells.html [Accessed 9 July 2013].
- Kumar, V., Cotran, R., & Robbins, S. (2007) *Buku Ajar Patologi 7th ed.* Jakarta: EGC.
- Lauredo, I., Sabater, J., Ashfaq A., Yelena., & Williams A. (1998) Mechanism of Pyocyanin and 1-hydroxyphenazine induced Lung Neutrophilia n Sheep Airways: *Journal of Applied Physiology*. 85: 2298-2304.
- Lessnau, KD., Cunha, B., Dua, P., Farah, M., Marrie, T., Talavera, F., Bruschi, J., & Stuart, M. (2013) Pseudomonas aeruginosa Infections available from: <http://emedicine.medscape.com/article/226748-overview> [Accessed 6 December 2013].
- Madigan, M., Martinko, J., Dunlap, P., & Clark, D. (2009) *Biology of Microorganism 12th ed.* United States: Pearson International.
- Mattson, C. (2009) *Pathophysiology Concepts of Altered Health States*. United States: Lippincott Williams & Wilkins.
- Mattson, C. & Martin G. (2009) *Pathophysiology: Concepts of Altered Health States*. United States: Wolters Kluwer.
- Mayasari, E. (2006) *Pseudomonas aeruginosa: Karakteristik, Infeksi, dan Penanganan*. Sumatera Utara: USU.
- Mody, C., Buser, D., Syme, R., & Woods, D. (1995) Pseudomonas aeruginosa Exoenzyme S Induces Proliferation of Human T Lymphocytes: *Infection and Immunity*. 63(5):1800-1805.
- Murray, P., Rosenthal, K., & Pfaller, M. (2009) *Medical Microbiology 6th ed.* United States: Mosby Elsevier.
- Perhimpunan Dokter Paru Indonesia (PDPI). (2003) *Pneumonia Nosokomial. Pedoman Diagnosis dan Penatalaksanaan di Indonesia*.

- Pier, G. & Ramphal, R. (2010) *Mandell: Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Disease, 7th ed.* (Internet). United States: Elsevier. Available from: <http://clinicalkey.com> [Accessed 26 August 2013].
- Rada B., Lekstrom K., Damian, S., Dupuy C., & Leto, T. (2008) The Pseudomonas Toxin Pyocyanin Inhibits the Dual Oxidase-based Antimicrobial System as It Imposes Oxidative Stress on Airway Epithelial Cells: *Journal of Immunology*. 181(7): 4883-4893.
- Rada, B. & Thomas, L. (2013) Pyocyanin Effects on Respiratory Epithelium: Relevance in Pseudomonas aeruginosa Airway Infections: *Trends in Microbiology*. 21(2): 73-81.
- Ran, H., Hassett, D., & Gee (2003) Human Targets of Pseudomonas aeruginosa Pyocyanin: *Proceedings of the National Academy of Sciences U S A*. 100 (24): 14315-14320.
- Sadikot, Blackwell, T., John, & Alie (2005) Pathogen-Host Interaction in Pseudomonas aeruginosa Pneumonia: *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 71: 1209-1223.
- Sagiri, M., Ghozali, A., Herijanto, & Totok U. (2001) *Patologi Umum 1st*. Yogyakarta: Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran UGM.
- Sorensen, RU., Klinger, J.D., Cash, HA., Chase, PA., & Dearborn, DG. (1983) In Vitro Inhibition of Lymphocyte Proliferation by Pseudomonas aeruginosa Phenazine Pigments: *Infection and Immunity*. 41(1): 321-330.
- Todar, K. (2012) *Pseudomonas Aeruginosa* (Internet). Madison: University of Wisconsin. Available from: www.textbooffofbacteriology.net/pseudomonas.html [Accessed 18 August 2013].
- Ulmer, AJ., Pryjma, J., Tarnok, Z., Ernst, M., & Flad, HD. (1990) Inhibitory and Stimulatory Effects Of Pseudomonas aeruginosa Pyocyanin on Human T And B Lymphocyte and Human Monocyte: *Infection and Immunity*. 58(3): 808-815.
- Usher, Lawson, Geary, Taylor, Bingle, Taylor, & G., Whyte. (2002) Induction of Neutrophil Apoptosis by Pseudomonas aeruginosa Exotoxin Pyocyanin: a Potential Mechanism of Persistent Infection: *Journal of Immunology*. 168(4): 1861-1868.

World Health Organization. (2012) Prevention of Hospital-acquired infections 2nd ed. Available from: <http://www.who.int/emc> [Accessed 30 August 2013].

Xing Ming. (2009) Gambogic Acid induces Raji Cell Apoptosis in vitro and its Mechanism: *Journal of Leukemia and Lymphoma*. 18(11): 643-646.

Young, B., Stewart, W., & O'Dowd, G. (2011) *Basic Pathology: A Text, Atlas, dan Review of Histopathology 5th ed.* United States: Churchill Livingstone Elsevier.

@UKDWN