

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Sistem imunitas

Sistem imunitas merupakan mekanisme pertahanan tubuh dimana sel, jaringan dan molekul memediasi terjadinya resistensi terhadap infeksi. Sistem imunitas terdiri dari imunitas natural, yang melindungi tubuh pertama kali dari invasi mikroorganisme melalui aktivitas makrofag, dan imunitas didapat (*acquired*), yang berperan dalam pembentukan antibodi dan sitokin-sitokin antiinflamasi yang berkembang lebih lambat namun lebih efektif.⁹

II.2 Imunitas natural

Imunitas natural atau imunitas bawaan merupakan pertahanan awal tubuh dari infeksi baik yang pernah terpapar sebelumnya ataupun belum pernah.¹⁰

1. Pertahanan mekanik

Barier epitel merupakan barier fisik yang dapat menghambat masuknya mikroba seperti proses deskuamasi dari epitel kulit yang membantu dalam pelepasan bakteri yang menempel di permukaan epitel. Pergerakan cilia dan peristalsis juga menjaga saluran nafas dan saluran pencernaan dari mikroorganisme.¹⁰

2. Pertahanan biokimia

Peran keringat dan cairan lambung pada PH rendah dapat menghambat pertumbuhan dari bakteri. Lisozim dan fosfolipase pada air mata, ludah, dan cairan hidung juga dapat menghancurkan dinding sel bakteri.¹⁰

3. Pertahanan biologis

Flora normal pada kulit dan saluran pencernaan dapat mencegah kolonisasi dari bakteri patogen dengan mensekresi substansi toksik atau dengan berkompetisi untuk mendapat nutrisi dan penempelan pada permukaan sel.¹⁰

4. Pertahanan humoral

Mikroorganisme yang dapat menembus epitel dan masuk jaringan atau sirkulasi darah akan mendatangkan sel fagosit seperti protein plasma dan bersama sistem komplemen akan menyerang mikroba yang masuk tersebut. Faktor humoral berperan penting dalam inflamasi dimana terjadi pengumpulan sel-sel fagosit dan terjadinya edema.

- Sistem komplemen

Berperan dalam opsonisasi bakteri, peningkatan permeabilitas vaskuler dan berperan dalam mendatang sel fagosit.

- Sistem koagulasi

Berperan dalam menjaga agar patogen tidak menyebar lebih jauh lagi kedalam tubuh dan memiliki produk seperti beta-lisin yang berperan sebagai antimikroba.

- Interferons

Interferons merupakan protein yang dikeluarkan tubuh akibat respon adanya patogen. Interferons berasal dari kata “*interfere*” akibat perannya dalam menghambat replikasi virus didalam sel. Interferon terdiri atas tipe I dan tipe II dimana tipe I terbagi lagi menjadi IFN- α dan IFN- β yang memiliki fungsi dalam respon infeksi virus serta IFN tipe II yaitu IFN- γ yang disintesis dalam respon akibat sel T dan sel NK yang teraktivasi.¹¹

- Sitokin

Sitokin merupakan protein yang berperan sebagai mediator imunitas, hematopoiesis dan inflamasi. Beberapa sebagai antimikroba melalui opsonisasi bakteri. Sitokin berdasar jenis sel penghasil utamanya, terbagi atas monokin yang dihasilkan oleh monosit dan limfokin yang dihasilkan limfosit.¹²

5. Pertahanan seluler

Bagian dari respon inflamasi yang berperan dengan mendatangkan makrofag dan polimorfonuklear eosinofil pada lokasi infeksi. Sel yang berperan dalam imunitas bawaan disebut sebagai sel sentinel, yang berarti sel lini pertama dalam mekanisme pertahanan tubuh seperti sel makrofag dan sel dendritik yang keduanya merupakan bagian dari *Antigen-presenting cells* (APC). Sel-sel ini akan mengekspresikan protein yaitu *Toll-like receptor* (TLR) untuk mengidentifikasi patogen spesifik yang dikenal dengan *Pathogen-associated molecular pattern* (PAMPs) seperti endotoksin yang berupa lipopolisakarida pada membran sel bakteri.¹⁰

II.3 Makrofag

Makrofag/makrofagosit adalah sel yang berasal dari hasil diferensiasi dari sel monosit dimana monosit yang beredar pada sirkulasi darah akan mengalami perubahan dan menetap di jaringan sebagai makrofag.¹³ Monosit dapat berdiferensiasi menjadi sel dendritik atau makrofag tergantung dari stimulasi yang diberikan. Stimulasi dari *Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor* (GM-CSF) dan IL-4 akan menghasilkan sel dendritik. Sebaliknya pada pemberian fibroblas akan merubah diferensiasi monosit menjadi makrofag, dimana fibroblas akan menghasilkan IL-6 yang meregulasi ekspresi reseptor M-CSF pada monosit.¹⁴

Makrofag dapat ditemukan di organ limfoid maupun non-limfoid, pada makrofag non-limfoid istilah yang digunakan berbeda pada berbagai organ tubuh seperti¹⁵:

1. Sel Kupfer pada hati,
2. Sel Langerhans pada kulit dan mukosa,
3. Makrofag alveolar pada paru-paru.
4. Mikroglia pada sistem saraf pusat.
5. Sel Hofbauer pada plasenta.
6. Osteoklas pada tulang.
7. Makrofag peritoneal pada kavum peritoneal.

Makrofag memiliki dua bentuk aktif yaitu makrofag M1 yang berfungsi untuk membunuh patogen melalui stimulasi limfokin yang dihasilkan oleh sel T dan

makrofag M2 berperan dalam penyembuhan luka dan memperbaiki jaringan yang rusak dengan mempercepat proses angiogenesis.¹⁶ IFN- γ dan LPS akan memacu aktivasi dari M1 dan sekresi dari sitokin IL-12. Sebaliknya, makrofag M2 akan memproduksi sitokin IL-10, TGF- β dan peningkatan IL-4 dimana memiliki fungsi sebagai antiinflamasi.¹⁶

Makrofag memiliki peran yang baik pada pertahanan non-spesifik maupun pertahanan yang spesifik dalam artian dapat berperan aktif pada semua stadium respon imun. Pada respon imun alamiah, makrofag dapat berperan sebagai sel efektor yaitu dengan menstimulasi respon sel T (Th1) ataupun sebagai sel penyaji (APC) dengan menstimulasi produksi antibodi (Th2). Makrofag dalam perannya sebagai sel efektor akan mengeluarkan berbagai sitokin yang dapat mempengaruhi aktivitas endotel, proliferasi sel NK dan sel T seperti TNF, IL-1, IL-12, IL-6, IL-15, IL-18 dan kemokin.¹⁶

Makrofag dalam aktivitasnya dapat meningkat atau menurun tergantung sitokin yang mempengaruhi, seperti IL-10 yang merupakan sitokin hasil produksi makrofag sendiri, memiliki fungsi sebagai respon umpan balik yaitu dengan menghambat pengeluaran hasil produksi makrofag, sedangkan IFN- γ yang merupakan hasil produksi sel NK dan sel T, akan mengaktifkan Fcy-R yaitu reseptor untuk IgG dan komplemen pada sel fagosit sehingga dapat meningkatkan aktivitas makrofag agar memfagosit patogen yang telah diopsonisasi.¹⁷

II.4 Respon fagosit terhadap infeksi

Makrofag dan neutrofil merupakan sel inflamator yang menyebabkan reaksi radang pada tubuh ketika ada patogen masuk, ditandai dengan warna kemerahan, sakit, bengkak dan panas.¹⁷ Proses kerja keduanya berawal ketika adanya mikroba yang masuk ke tubuh melalui epitel. Mikroba yang sampai pada jaringan sub-epitel akan memacu makrofag yang ada di jaringan tersebut untuk berespon dengan mengeluarkan sitokin yaitu diantaranya *Tumor Necrosis Factor* (TNF) dan Interleukin – 1 (IL-1).⁹ Kedua substansi ini akan memicu sel endotel untuk mengeluarkan molekul adesi yaitu *E-selectin* dan *P-selectin* pada tempat infeksi. Molekul ini akan berikatan lemah dengan neutrofil yang ada di sirkulasi darah dan akibat adanya aliran darah maka ikatan tadi rusak dan neutrofil akan bergelinding di dinding pembuluh darah. Neutrofil akan mengeluarkan Integrin yang merupakan molekul adesi untuk tetap dapat melakukan ikatan.⁹

Makrofag pada jaringan lokal infeksi juga mengeluarkan kemokin (kemoatraktan sitokin) yang akan berikatan dengan permukaan lumen sel endotel. Kemokin dapat menstimulasi kenaikan dari afinitas integrin leukosit terhadap ligan pada endotelium dimana ligan tadi hasil stimulasi TNF- α dan IL-1.⁹ Kemokin dapat disimpulkan dapat meningkatkan motilitas leukosit dari intravaskular menuju ekstravaskular tempat infeksi terjadi serta peningkatan permeabilitas membran dan dilatasi pembuluh darah juga akan memudahkan akumulasi dari leukosit pada lokasi infeksi.⁹

II.5 Fase-fase fagositosis patogen

Mikroba dapat dikenali oleh sel fagosit karena adanya struktur yang spesifik pada molekul bakteri seperti lipopolisakarida (LPS) dan manosa terminal dari glikoprotein. Struktur spesifik tersebut akan berikatan dengan reseptor spesifik di sel fagosit, contohnya LPS akan berikatan dengan TLR-4, flagellin dengan TLR-5, dan manosa dengan reseptor manosa.¹⁷ Proses selanjutnya setelah terjadi ikatan pada reseptor yaitu melebarnya plasma makrofag untuk melingkupi mikroba dan terbentuklah vesikel yang terikat membran yang berisi mikroba disebut sebagai fagosom.¹⁷ Fagosom akan berfusi dengan lisosom menjadi fagolisosom didalam sel dan akibat sinyal dari reseptor fagosit, enzim yang dibawa lisosom akan teraktivasi.¹⁷ Enzim lisosom yang teraktivasi akan menghancurkan patogen melalui reaksi biokimiawi dan kemudian makrofag akan mempresentasikan antigen yang merupakan molekul protein yang ada dipermukaan patogen ke Sel T *helper* di limfonodi melalui MHC kelas II.¹⁷

Fase-fase fagositosis dapat dibagi secara sederhana menjadi 4 fase yaitu:¹⁰

1. Kemotaksis

Keadaan dimana fagosit bergerak ketempat infeksi sebagai respon terhadap molekul bakteri.

2. Adhesi

Perlekatan antara permukaan mikroorganisme terhadap membran plasma fagosit. Sistem komplemen dan molekul antibodi akan melapisi mikroorganisme yang masuk dengan protein opsonin yang disebut

opsonisasi. Keadaan ini akan memudahkan makrofag untuk memfagosit mikroorganisme tersebut.

3. Ingesti

Proses penelanan patogen oleh sel fagosit dimana patogen tersebut akan terkurung dalam kantung yang disebut fagosom

4. Degranulasi

Fagosom akan berfusi dengan lisosom membentuk fagolisosom, dan dihasilkan ROI dan NO yang membunuh patogen dan terjadi degranulasi.

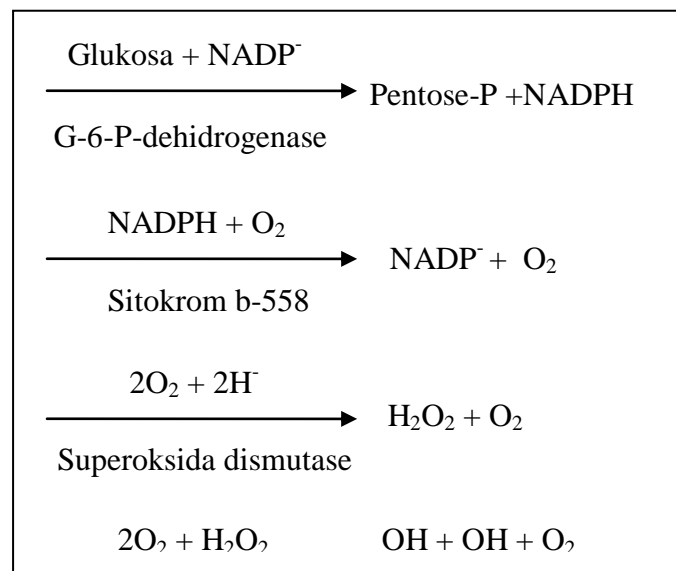
II.6 *Intracellular killing* dan *Respiratory burst*

IFN- γ akan merangsang enzim mieloperoxidase yang berperan pada proses fagositosis dalam terjadinya *respiratory burst* yaitu keadaan dimana terjadi peningkatan konsumsi oksigen dan glukosa oleh sel karena tubuh membutuhkan komponen molekul yang mengandung unsur oksigen untuk membunuh patogen yang sedang difagositosis. Tubuh, selain proses oksigen-*dependant*, juga dapat mengatasi patogen tersebut secara oksigen-*independent* yaitu dengan enzim yang dihasilkan lisosom saat berfusi dengan fagosom.¹⁸

II.6.1 Reactive Oxygen Intermediates (ROI)

Makrofag memiliki molekul efektor yang utama sebagai pertahanan antibakterial meliputi *reactive oxygen intermediate* (ROI) dan *reactive nitrogen intermediate* (RNI).¹⁹ ROI memegang peranan penting dalam proses inflamasi yaitu sebagai mediator luka dan berpotensi memacu transduksi sinyal untuk terjadinya ekspresi gen.²⁰ IFN- γ yang dihasilkan Th1 akan memacu makrofag

untuk melakukan fagositosis dan *respiratory burst* dengan diproduksinya ROI dan RNI dimana akan berperan membunuh bakteri dalam sel,²¹ memacu pengeluaran COX-2, memacu sitokin inflamasi (TNF α , IL-1 , IL-6), memacu kemokin (IL-8, CXCR4) dan memacu faktor transkripsi pro-inflamasi (NF-kB).²² Reaksi biokimia pada proses oksidatif yaitu:



Gambar 1. Reaksi Biokimia pada proses oksidatif

ROI dan RNI merupakan substansi yang dihasilkan akibat peran enzim-enzim lisosom yang berfusi dengan fagosom. Enzim yang berperan yaitu NADPH oksidase, nitrit oksida sintase, dan protease lisosom.²³ NADPH oksidase akan mengkonversi molekul oksigen menjadi anion superoksida, radikal bebas, dan hidrogen peroksida yang dapat disebut juga dengan ROIs. Superoksida disintesa secara spontan atau melalui katalisis dari enzim yang dikenal sebagai dismutase superoksida (Cu / ZnSOD dan MnSOD), hidrogen peroksida kemudian dikonversi menjadi asam hipoklorus (HOCl) oleh enzim heme mieloperoksidase. Enzim yang terdapat didalam neutrofil tersebut akan berikatan dengan peroksida dan halida

untuk menghancurkan dinding sel bakteri dengan bekerja pada molekul tirosin,²³ untuk merusak patogen melalui proses oksidasi yang mengakibatkan denaturasi dari protein patogen²⁴ dan untuk memperkuat dinding sel dengan tujuan mencegah patogen tersebut menyebar kebagian lain dari tubuh, yaitu dengan membentuk seperti jaring disekitar patogen untuk membatasi gerakan dan reproduksi. Nitrit oksida sintase berperan dengan mengkonversi arginin menjadi nitrit oksida (NO) yang juga merupakan substansi bakteriosidal dan dapat memodifikasi komponen biomolekul bakteri meliputi DNA, lipid dan protein serta protease yang dapat menghancurkan protein mikroba.¹⁷

II.7 Imunitas spesifik

Imunitas spesifik merupakan imunitas yang didapat setelah paparan antigen. Limfosit B dan limfosit T berperan dalam imunitas spesifik ini, dimana Limfosit T berperan dalam sistem imun spesifik selular yang mengaktifasi fagosit untuk menghancurkan mikroba yang telah tercerna, sedangkan limfosit B yang teraktivasi oleh antigen akan terdiferensiasi menjadi sel plasma untuk membentuk immunoglobulin seperti IgG, IgM, IgA, IgE dan IgD.⁹

II.8 Indeks fagositosis dan Pengukuran produksi ROI

Kemajuan terbaru dalam bidang biologi yaitu menggunakan *Latex beads* / manik lateks inert sebagai sistem model penelitian aktivitas fagositosis. Menurut Leijh dkk (1986), untuk mengetahui aktivitas fagositosis non spesifik digunakan 3 μ m *Latex beads* / manik lateks secara *in vitro*. Kemampuan untuk memurnikan manik lateks yang mengandung fagosom, memungkinkan untuk menganalisis

mekanisme molekuler yang mengatur fungsi fagosom.²⁵. Indeks Fagositosis dapat dihitung dengan menggunakan formula berikut ini:

$$\boxed{\text{Indeks Fagositosis Makrofag}} = \boxed{\text{Persentase Makrofag yang memfagosit}} \times \boxed{\text{Rata-rata jumlah partikel lateks yang difagosit oleh makrofag yang aktif}}$$

Gambar 2 : Rumus penghitungan indeks fagositosis

Pengukuran produksi ROI pada proses fagositosis dapat dilakukan dengan uji NBT yaitu uji semikuantitatif. NBT atau *Nitro Blue-Tetrazolium* adalah suatu reagen yang dapat menyerap superoksida dan dapat merubah warnanya dari kuning dan teroksidasi menjadi presipitat formazan berwarna ungu. Suatu stimulan dibutuhkan untuk meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag dan produksi ROI.

II.9 Kombinasi herbal

Kombinasi herbal yang digunakan pada penelitian ini secara lengkap terdiri dari berbagai macam ekstrak bahan tradisional yang berperan baik untuk tubuh. Beberapa bahan yang terkandung pada penelitian sebelumnya terbukti meningkatkan imunitas tubuh.

Tabel 2. Kombinasi herbal A, herbal B dan herbal C

Herbal A		5.67g	Herbal B		5.67g	Herbal C		5.67g
<i>Oryza sativa</i> (Beras)	20%	1.134g	<i>Oryza sativa</i> (Beras)	25%	<i>Oryza sativa</i> (Beras)	25%		
<i>Foeniculli fructus</i> (Adas)	10%	0.567g	<i>Foeniculli fructus</i> (Adas)	10%	<i>Foeniculli fructus</i> (Adas)	10%		
<i>Isorae fructus</i> (Kayu ulet)	10%	0.567g	<i>Isorae fructus</i> (Kayu ulet)	10%	<i>Isorae fructus</i> (Kayu ulet)	10%		

<i>Caryophylli folium</i> (Cengkeh)	10%	0.567g	<i>Caryophylli flos</i> (Cengkeh)	10%	<i>Caryophylli flos</i> (Cengkeh)	10%
<i>Menthae arvensitis</i> Herba (poko)	10%	0.567g	<i>Menthae arvensitis</i> Herba (poko)	10%	<i>Menthae arvensitis</i> Herba (poko)	10%
<i>Zingiberis rhizoma</i> (Jahe)	10%	0.567g	<i>Zingiberis rhizoma</i> (Jahe)	10%	<i>Zingiberis rhizoma</i> (Jahe)	10%
<i>Amomi fructus</i> (Kapulogo)	5%	0.2835g	<i>Amomi fructus</i> (Kapulogo)	5%	<i>Amomi fructus</i> (Kapulogo)	5%
<i>Myristicae semen</i> (Pala)	5%	0.2835g	<i>Myristicae semen</i> (Pala)	5%	<i>Myristicae semen</i> (Pala)	5%
<i>Burmanni cortex</i> (Manis jangan)	5%	0.2835g	<i>Burmanni cortex</i> (Manis jangan)	5%	<i>Burmanni cortex</i> (Manis jangan)	5%
<i>Usneae thallus</i> (Kayu angin)	5%	0.2835g	<i>Usneae thallus</i> (Kayu angin)	5%	<i>Usneae thallus</i> (Kayu angin)	5%
<i>Mel depuratum</i> (Madu) dan Bahan lain	X	Ad 18.9g	<i>Mel depuratum</i> (Madu) dan Bahan lain	Ad 18.9g	<i>Mel depuratum</i> (Madu) dan Bahan lain	Ad 18.9g
<i>Centellae herba</i> (Pegagan)	5%	0.2835g	<i>Imperetae radix</i> (Alang- alang)	5%	<i>Baeckeeae folium</i> (Jungrahap)	5%
<i>Parkiae semen</i> (Kedawung)	5%	0.2835g	<i>Oleum mentha piperita</i>	0.25g	<i>Oleum mentha piperita</i>	Ad 18.9g

II.9.1 Foeniculi fructus

Buah adas (*Foeniculi fructus*) mengandung minyak atsiri yang berkhasiat untuk mengatasi mual, muntah, mulas, diare, sesak nafas, nyeri haid dan dapat meningkatkan nafsu makan dan jumlah ASI. Bahan aktif yang terkandung didalamnya adalah Anethol dan Fitosterol yang juga dapat berperan sebagai sekretolitik (peluruh dahak) dan antispasmodik (anti kejang).

II.9.2 Isorae fructus

Isorae fructus memiliki nama lain kayu ules atau buah puteran. Tanin didalamnya berkhasiat sebagai antipiretik yaitu untuk menurunkan panas, anti spasmodik dan stomakik yaitu untuk meningkatkan nafsu makan.²¹

II.9.3 *Oryza sativa*

Oryza sativa/beras merupakan makanan pokok orang asia terutama indonesia. *Oryza sativa* memiliki fungsi sebagai adsorben logam berat.²⁶

II.9.4 *Caryophylli folium*

Caryophylli folium atau daun cengkeh dapat digunakan sebagai anti-cacing,²⁷ antimual, antimuntah dan mencegah kerusakan hati akibat bahan racun tertentu (CCl4) serta sebagai penambah tenaga.

II.9.5 *Menthae arvensitis* Herba

Menthae arvensitis Herba / poko / daun mint memiliki Menthol dan Menthon sebagai bahan aktif yang memiliki fungsi sebagai antispasmodik, karminatif, antiemetik, stimulan, antipiretik dan stomakin.²¹

II.9.6 *Zingiberis rhizoma*

Jahe telah diketahui dapat berfungsi untuk memperbaiki pencernaan, memperlancar peredaran darah, menguatkan lambung dan meningkatkan mobilitas gastrointestinal. Bahan aktif dari jahe yaitu gingerol, sogaol, dan zingiberol juga dapat digunakan sebagai antiinflamasi, antiemetik dan karminatif.²¹

II.9.7 *Amomi fructus*

Amomi fructus atau Kapulogo memiliki Sineol sebagai bahan aktif dan berfungsi sebagai antibakterial dan virustatik.²¹

II.9.8 Myristicae semen

Miristin, safrol dan eugenol yang terkandung didalam *Myristicae semen* atau pala berfungsi sebagai karminatif, antispasmodik, stomakik dan sedatif.²¹

II.9.9 Burmanni cortex

Burmanni cortex dikenal juga dengan nama manis jangan yang berfungsi sebagai anti bakterial, anti fungal, karminatif, anti spasmodik dan stomakik dengan sinamaldehyd, kumarin dan eugenol sebagai bahan aktifnya.²¹

II.9.10 Centellae herba

Centellae herba atau pegagan mengandung asiatikosid dan madekasosid untuk mengatasi tukak lambung, penurun panas dan diaforetik untuk peluruh keringat.²¹

II.9.11 Parkiae semen

Kedawung mengandung tanin dan glukosa yang berfungsi sebagai antimikrobia, karminatif, stomakik dan tonik.²¹

II.9.12 Usneae thallus

Usneae thallus atau kayu angin yang mengandung asam usnat juga berfungsi sebagai antibakterial, antifungal, karminatif dan antispasmodik.²¹

II.9.13 Imperetiae radix

Imperetiae radix atau yang dikenal dengan alang-alang kerap digunakan sebagai bahan obat tradisional untuk obat peluruh kencing atau obat diuretika dan untuk mengobati demam.²¹

II.9.14 Baeckeeae folium

Baeckeeae folium atau jungrahap merupakan tumbuhan obat yang daunnya digunakan untuk mengatasi datang bulan tidak teratur, lelah, diuretik, ngilu, perut nyeri, demam dan obat masuk angin (Mardisiswojo & Radjak Mangunsudarso, 1975; Heyne, 1987; Anonim, 1989; Yusuf, 2001). Daun dan bunganya dapat digunakan sebagai teh untuk minuman penyegar.²⁸

II.9.15 Oleum mentha piperita

Oleum mentha piperita atau *peppermint oil* memiliki efek radioprotektif pada pasien yang menjalani pengobatan kanker.²⁹ Aroma dari *peppermint* telah diteliti dapat meningkatkan memori dan kewaspadaan.³⁰ .

II.9.16 Mel depuratum

Mel depuratum atau madu memiliki kandungan zat aktif berupa gula, protein, asam amino, vitamin dan mineral yang mempunyai sifat farmakologis yaitu untuk mengembalikan stamina dan mengembalikan kesegaran tubuh.⁴