

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 MRSA

2.1.1 Definisi

MRSA adalah galur *S. aureus* yang resisten terhadap metisilin, antibiotik golongan β -laktam. MRSA pertama kali ditemukan pada tahun 1961. Galur MRSA dibagi menjadi dua yaitu HA-MRSA dan CA-MRSA.^{1,2,21}

HA-MRSA didefinisikan sebagai infeksi MRSA yang terdapat pada individu yang pernah dirawat di rumah sakit atau menjalani tindakan operasi dalam satu tahun terakhir, memiliki alat bantu medis permanen dalam tubuhnya, bertempat tinggal di fasilitas perawatan jangka panjang, atau individu yang menjalani dialisis. HA-MRSA memiliki resistensi yang sangat tinggi dan merupakan penyakit nosokomial yang penting.²¹

CA-MRSA merupakan galur MRSA yang sama sekali tidak berhubungan dengan infeksi nosokomial atau infeksi di rumah sakit. CA-MRSA berbeda dengan HA-MRSA secara fenotip, genotip dan virulensi. CA-MRSA memiliki virulensi lebih tinggi dan resistensi terhadap antimikroba non β -laktam lebih rendah jika dibandingkan HA-MRSA. Penelitian yang lain menyebutkan bahwa CA-MRSA hanya resisten terhadap antimikroba golongan β -laktam dan secara genotip tidak membawa gen resisten tambahan selain gen resisten terhadap metisilin.²

2.1.2 Struktur Bakteri

Struktur *S. aureus* terdiri dari komponen esensial dan non-esensial. Komponen esensial terdiri dari dinding sel, membran sitoplasma, ribosom, inti sel, mesosom dan periplasma. Komponen non esensial terdiri dari kapsul, plasmid, granula dan glikokaliks.²²

Dinding sel bakteri gram positif lebih tebal jika dibandingkan dengan gram negatif. Dinding sel *S. aureus* terdiri dari peptidoglikan dan asam teikhoat. Peptidoglikan berfungsi menyokong sel dan memproteksi sel terhadap tekanan osmotik. Peptidogllikan memiliki aktivitas seperti endotoksin, yaitu menstimulasi pengeluaran sitokin oleh makrofag, aktivasi komplemen dan agregasi trombosit. Struktur ini nantinya adalah tempat kerja penisilin dan sefalosporin. Peptidoglikan dapat terdegradasi oleh lisozim. Asam teikhoat merupakan antigen permukaan yang utama ditemukan pada dinding bakteri, namun secara klinis tidak digunakan untuk penegakan diagnosis.²²

Periplasma merupakan suatu ruangan antara membran plasma dengan membran luar. Berbagai macam enzim hidrolitik, seperti β -laktamase terletak di periplasma. β -laktamase berfungsi sebagai enzim yang memecah cincin β -laktam sehingga menyebabkan *S. aureus* resisten terhadap antibiotik golongan β -laktam.²²

Membran sitoplasma tersusun oleh fosfolipid lapisan ganda. Membran sitoplasma pada prokariot berbeda dengan eukariot karena tidak memiliki sterol. Lapisan ini memiliki empat fungsi yaitu transport aktif molekul ke dalam sel, menghasilkan energi melalui fosforilasi oksidatif, sintesis prekursor dinding sel dan

sekresi enzim dan toksin. Mesosom merupakan membran sitoplasma yang mengalami invaginasi. Mesosom berperan penting pada saat pembelahan sel, yaitu pada awal pembentukan septum, yang membagi sel menjadi dua.²²

Terdapat beberapa komponen bakteri yang terletak di sitoplasma, yaitu inti sel, ribosom, granula dan plasmid. Sel prokariot memiliki *Deoxyribonucleic Acid* (DNA) sirkuler tunggal yang berada di sitoplasma tanpa dibatasi oleh membran inti. Bakteri memiliki ribosom yang berukuran 70S dengan 50S dan 30S sebagai subunit. Ribosom merupakan tempat terjadinya sintesis protein. Granula pada bakteri berfungsi sebagai simpanan nutrisi bagi bakteri tersebut. Granula tersusun oleh glikogen, lipid dan polifosfat.²²

Plasmid adalah molekul DNA sirkuler, rantai ganda, yang terletak ekstrakromosom, yang dapat bereplikasi secara terpisah dari molekul DNA kromosom. Plasmid memiliki dua tipe yaitu *transmissible* dan *nontransmissible*. Plasmid mengkode gen untuk beberapa fungsi dan struktur, yang secara klinis berperan penting, yaitu: resistensi antibiotik, resistensi terhadap logam berat yang merupakan komponen antiseptik seperti merkuri dan perak, resisten terhadap sinar ultraviolet, pili (fimbria) dan eksotoksin.²²

Sebagian besar *Staphylococcus* memiliki mikrokapsul. Saat ini telah teridentifikasi 11 tipe mikrokapsul pada *S. aureus* dan 75% yang ditemukan pada kasus infeksi adalah mikrokapsul tipe 5 dan 8. Mikrokapsul ini berfungsi sebagai antifagositosis.²³

Komponen terakhir yang dimiliki *S. aureus* adalah glikokaliks. Glikokaliks merupakan suatu lapisan polisakarida yang menyebabkan bakteri dapat menempel secara kuat terhadap berbagai struktur, seperti kulit, katup jantung dan kateter.²²

2.1.3 Patogenesis Infeksi

S. aureus merupakan organisme komensal dan sekaligus patogen. Kolonisasi *S. aureus* umumnya terjadi di hidung, secara menetap terjadi pada 20% populasi dan tidak menetap pada 30% populasi. Organ lain yang juga menjadi tempat terjadinya kolonisasi *S. aureus* adalah ketiak, pangkal paha dan saluran cerna. Kolonisasi ini menyebabkan meningkatnya faktor resiko terjadinya infeksi *S. aureus* pada individu pembawa tersebut. Akibat lainnya dari kolonisasi ini adalah *S. aureus* dapat ditularkan antar individu, baik di sistem pelayanan kesehatan maupun komunitas.²³

Terjadinya infeksi bergantung kepada mekanisme pertahanan tubuh pejamu dan faktor virulensi patogen. Umumnya, infeksi *S. aureus* membutuhkan penurunan fungsi pertahanan tubuh seperti robeknya kulit atau insersi benda asing (sebagai contoh adalah luka, infeksi akibat pembedahan dan kateter), sumbatan pada folikel rambut atau imunitas tubuh yang rendah.²⁴ Selain itu, kemampuan *S. aureus* menimbulkan penyakit ditentukan oleh kemampuan menyebabkan kerusakan jaringan secara langsung dan kemampuan bertumbuh serta menghindari dari imunitas inang. Faktor virulensi yang terlibat dalam patogenesis yang mengakibatkan kerusakan jaringan meliputi *surface associated factor*, enzim ekstraseluler dan toksin. Ketiga macam faktor ini terlibat dalam perlekatan, penetrasi dan degradasi jaringan serta toksisitas.²

S. aureus memiliki sekelompok protein permukaan yang disebut *Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules* (MSCRAMMS). MSCRAMMS memediasi perlekatan dengan permukaan sel inang atau dengan benda mati (*inert*) misalnya kateter. MSCRAMMS terdiri dari beberapa protein yaitu protein A, *elastin-binding protein*, *collagen-binding protein*, *bone sialoprotein-binding protein*, *fibronectin-binding protein* dan *clumping factor*. Protein A merupakan komponen utama pada dinding sel *S. aureus*. Protein A berikatan dengan *Fragmen Crystallizable* (Fc) pada *Imunoglobulin G* (IgG) sehingga menyebabkan tidak terjadinya opsonisasi, sekaligus memiliki efek antifagositosis. *Fibronectin-binding protein* (FnBP) merupakan protein permukaan yang berfungsi memudahkan bakteri berikatan dengan sel mukosa dan matriks jaringan. *Clumping factor* merupakan *fibrinogen-binding protein* yang menyebabkan bakteri menggumpal saat berada pada plasma darah.^{2,23,24}

S. aureus dapat bertahan hidup dan bertumbuh dengan berbagai cara setelah terjadi perlekatan di sel inang maupun permukaan alat prostetik. *S. aureus* memiliki kemampuan membuat biofilm dan membentuk *Small-Variant Colony* (SVC) yang memberikan kemampuan bakteri untuk dapat bersembunyi di sel inang tanpa menyebabkan kerusakan sel yang signifikan dan menghindar dari sistem imunitas inang maupun antibiotik. Akibat adanya kedua faktor ini, *S. aureus* sulit untuk dieradikasi dan dapat menyebabkan infeksi berulang.²⁴

Staphylococcus menghasilkan bermacam-macam toksin yang terkelompok sesuai dengan mekanisme kerjanya, antara lain eksotoksin sitolitik dan superantigen

eksotoksin. Eksotoksin sitolitik merupakan toksin α , β , γ dan δ yang menyerang membran sel mamalia termasuk sel darah merah, sering disebut sebagai hemolisin.²⁴ Penelitian lain menyatakan bahwa eksotoksin sitolitik bekerja dengan cara merubah formasi inti dan merangsang proinflamasi pada sel mamalia. Perubahan ini akan menimbulkan kerusakan sel dan berperan dalam manifestasi sindroma sepsis.²¹

Superantigen eksotoksin merupakan toksin yang secara struktur mirip dengan sitotoksin dan memiliki afinitas tinggi terhadap reseptor sel T pada *Major Histocompatibility Complex II* (MHC II). Toksin ini menyebabkan proliferasi sel T dan pelepasan sitokin. Superantigen eksotoksin terdiri dari enterotoksin, *Toxic Shock Syndrome Toxin* (TSST-1) dan toksin eksfoliatif. Enterotoksin terdiri dari tipe A, B, C, D, E dan G. Enterotoksin tahan terhadap pemanasan dan dapat menimbulkan keracunan makanan. TSST-1 merupakan penyebab terjadinya *toxic shock syndrome*. TSST-1 memiliki struktur yang mirip dengan enterotoksin sehingga terkadang disebut sebagai enterotoksin F, tetapi tidak dapat menimbulkan keracunan makanan.² Toksin eksfoliatif termasuk juga toksin epidermolitik A dan B, menyebabkan eritema dan separasi kulit akibat lepasnya desmoglein 1 seperti yang terlihat pada *scalded skin syndrome*.^{24,25}

Staphylococcus menghasilkan berbagai macam enzim, seperti protease, lipase, dan elastase. Enzim-enzim ini merusak jaringan sehingga membantu penyebaran infeksi pada berbagai organ.²³ *S. aureus* memproduksi koagulase, protein sekretori, yang berfungsi mengikat protrombin untuk membentuk stafilotrombin. Stafilotrombin ini yang dapat mengkonversi fibrinogen menjadi fibrin melalui mekanisme non

proteolitik. Konversi fibrinogen menjadi fibrin penting bagi bakteri untuk membentuk lapisan pelindung fibrin di sekitar bakteri dan membatasi rekrutmen sel imun.²

Telah diketahui bahwa PBP2 merupakan protein yang mendasari resistensi MRSA. Sejauh ini gen *mecA* penyandi PBP2a dan gen *fem* tidak terbukti mempengaruhi tingkat virulensi. Pendapat ini mulai bergeser sejak ditemukan CA-MRSA, yaitu galur MRSA yang memiliki faktor virulensi *Panton Valentine Leukocidin* (PVL).² PVL membentuk pori pada membran sel sehingga menyebabkan lisis sel polimorfonuklear (PMN) sehingga terjadi penurunan jumlah leukosit atau keadaan ini disebut leukopeni.^{24,25}

2.1.4 Mekanisme Resistensi

S. aureus berubah menjadi galur resisten metisilin (MRSA) karena mendapat sisipan suatu elemen DNA berukuran besar antara 20-100 kb yang disebut SCCmec. SCCmec selalu mengandung *mecA*, yaitu gen yang menyandi PBP2a.²

PBP merupakan enzim yang mengkatalisa reaksi transpeptidase yaitu reaksi pembentukan anyaman peptida (biosintesa peptidoglikan). PBP 1,2 dan 3 memiliki aktifitas transpeptidase primer sedangkan PBP 4 memiliki aktifitas transpeptidase sekunder. PBP 2 juga mengkatalisa reaksi transglukolase, yaitu reaksi lain dalam pembentukan peptidoglikan.^{2,7}

Perubahan PBP2 menjadi PBP2a mendasari resistensi MRSA terhadap metisilin dan semua antimikroba golongan β -laktam. Eksplorasi pada struktur PBP2a menunjukkan adanya perubahan pada situs pengikatan (*binding site*) yang mengakibatkan rendahnya afinitas sehingga sekalipun bakteri ini dibiakkan pada

medium mengandung konsentrasi tinggi β -laktam, reaksi transpeptidase dan transglikolase tidak terpengaruh, MRSA tetap dapat hidup dan mensintesa peptidoglikan.²

Ekspresi gen *mecA* dikendalikan oleh gen regulator *mecR1* dan *mecI*. Pada keadaan tidak terinduksi atau tidak ada induser maka *mecI* akan menekan transkripsi *mecA* dan *mecR1-mecI* (*mec complex*), sebaliknya bila ada induser atau terinduksi maka akan terjadi transkripsi pada *mec complex*. Sejauh ini, baru metisilin dan antimikroba β -laktam lainnya yang diketahui merupakan induser. Selain oleh induser, induksi *mecI* juga dapat terjadi karena autokatalitik oleh protease pada membran sel dan mutasi pada kromosom yang belum diketahui secara persis. Autokatalitik pada regulator penisilinase *blaI* juga diperkirakan dapat mengaktifkan *mecA*, karena sekuen *blaI* dengan *mecI* memiliki homologi yang tinggi.²

Penelitian yang lain melaporkan bahwa adanya mutasi gen tertentu dapat meningkatkan atau mengurangi derajat resistensi MRSA. Regulator *mec complex* sering terpotong dan menjadi tidak aktif karena insersi IS431 atau IS1272, tetapi bukti lain menyebutkan bahwa insersi elemen tersebut justru meningkatkan ekspresi resistensi MRSA. Adanya suatu elemen pada kromosom yang disebut *chr** diduga dapat meningkatkan derajat resistensi. Keberadaan gen *High Methicillin Resistance A* (*hmrA*) dan *High Methicillin Resistance B* (*hmrB*) secara *in vitro* terbukti meningkatkan derajat resistensi. Inaktivasi pada gen *lytH* yang menyandi enzim autolitik, yaitu enzim yang bekerja pada awal pembentukan septum, dapat meningkatkan derajat resistensi.^{2,8}

Secara fenotipik resistensi MRSA bersifat heterogen artinya dalam satu biakan, nilai *Minimal Inhibitory Concentration* (MIC) sangat bervariasi tergantung tipe SCCmec yang dikandungnya. Ekspresi resistensi MRSA juga dipengaruhi konsentrasi paparan β -laktam. Nilai MIC akan mendekati nilai sensitif apabila terdapat pada kondisi terpapar β -laktam. Syarat mutlak resistensi MRSA adalah adanya PBP2a meskipun dalam jumlah minimal, tetapi ternyata peningkatan produksi PBP2a tidak berkorelasi dengan homogenitas resistensi. Sepasang galur MRSA dengan *mecA* yang sama dan produksi PBP2a yang juga sama tinggi ternyata menghasilkan ekspresi resistensi yang berbeda. Faktor genetik lain seperti gen β -laktamase dan faktor eksternal seperti temperatur, osmolaritas, kandungan ion, tekanan oksigen dan cahaya juga mempengaruhi resistensi.²

2.2 Seftriakson

Seftriakson merupakan sefalosporin generasi ketiga. Antibiotik ini memiliki cakupan gram negatif yang lebih luas dan mampu melintasi sawar darah otak. Seftriakson digunakan untuk mengobati berbagai macam infeksi berat yang disebabkan oleh organisme yang resisten terhadap kebanyakan obat lain.⁶

Mekanisme kerja seftriakson berbeda dengan penisilin, yaitu berikatan dengan PBP 1 dan PBP 3, bukan PBP 2.⁶ Terhambatnya proses transglukolase dan transpeptidase menyebabkan terhambatnya sintesis peptidoglikan pada dinding sel.⁸ Obat-obatan β -laktam memiliki efek bakterisidal dengan memicu enzim autolitik pada dinding sel.^{2,8} Saat ini ditemukan bahwa galur yang mengekspresikan β -laktamase

berspektrum luas sudah resisten terhadap seftriakson maupun golongan sefalosporin generasi-ketiga lainnya.⁶

Secara umum, jika diberikan infus intravena 1 g sefalosporin parenteral menghasilkan kadar serum sebesar 60-140 mcg/mL. Sefalosporin dapat mempenetrasi cairan dan jaringan tubuh dengan baik dan dapat mencapai kadar dalam cairan serebrospinal yang cukup untuk menghambat kebanyakan patogen. Seftriakson sendiri memiliki waktu paruh 7-8 jam sehingga dapat disuntikkan sekali tiap 24 jam pada dosis 15-50 mg/kg/hari. Dosis tunggal sebesar 1 g per hari cukup diberikan untuk kebanyakan infeksi berat, tetapi pada meningitis, dosis yang dianjurkan adalah 4 g per hari. Ekskresi seftriakson terutama dilakukan melalui traktus biliaris sehingga tidak diperlukan penyesuaian dosis jika ingin memberikan terapi seftriakson pada pasien dengan insufisiensi ginjal.⁶

2.3 *Nigella sativa*

N. sativa, anggota dari famili *Ranunculaceae*, merupakan rempah yang dikenal dengan khasiatnya dalam pengobatan tradisional.^{13,26,27} *N. sativa* pertama kali ditemukan di Asia Barat kemudian menyebar secara luas ke berbagai negara, seperti Timur Tengah, Eropa Selatan, Siria, Turki, Arab Saudi, Pakistan dan India.²⁶ *N. sativa* dikenal dengan berbagai nama berbeda di masing-masing negara, *panacea* (Latin), *habbah sawdaa* atau *habbat el Baraka* (Arab), *kalonji* (India), *hak jung chou* (China), *black seed* (Inggris), *siyadanah* (Persian) dan di Indonesia sendiri dikenal dengan nama jintan hitam.^{13,14}

N. sativa memiliki nilai historis dan religius. Dalam kebudayaan Mesir dan Yunani kuno, *N. sativa* digunakan untuk mengobati sakit kepala, hidung tersumbat, sakit gigi, infeksi cacing, menginduksi menstruasi dan produksi Air Susu Ibu (ASI).¹⁷ Negara-negara muslim menggunakan *N. sativa* dalam pengobatan tradisional untuk mengobati berbagai macam penyakit seperti yang dinyatakan oleh Nabi Muhammad bahwa jintan hitam dapat mengobati semua penyakit kecuali kematian.²⁸ *N. sativa* juga disebutkan dalam Alkitab sebagai jintan hitam yang dapat menyembuhkan dan dideskripsikan sebagai melanthion oleh Hippocrates dan Discroides.¹⁷ Secara umum, *N. sativa* digunakan sebagai anti-parasit, antifungi, antibakteri, antiviral, antioksidan, antineoplasma, antihipertensi dan anti-inflamasi.¹¹⁻¹³

2.3.1 Taksonomi^{29,30}

<i>Kingdom</i>	: <i>Plantae</i>
<i>Division</i>	: <i>Magnoliophyta</i>
<i>Class</i>	: <i>Magnoliopsida</i>
<i>Order</i>	: <i>Ranunculales</i>
<i>Family</i>	: <i>Ranunculaceae</i>
<i>Genus</i>	: <i>Nigella</i>
<i>Species</i>	: <i>Nigella sativa</i>

2.3.2 Komposisi

N. sativa terdiri dari minyak, protein, mineral, karbohidrat, serat dan air. Komposisi *N. sativa* berbeda antara satu daerah dengan daerah yang lain karena adanya perbedaan kondisi dari masing-masing daerah, penyimpanan dan tingkat

kematangan.²⁶ Bahan aktif minyak *N. sativa* adalah timokuinon, ditimokuinon yang dipercaya adalah nigelon, timohidrokuinon dan timol.¹⁷

Tabel 2. Komposisi *Nigella sativa*¹³

Komponen	Konsentrasi (%)	Rincian
<i>Fixed oil</i>	32-40	Asam lemak jenuh: asam palmitat, stearat, dan miristat. Asam lemak tak jenuh : asam eikosadinoat, linoleat, linolenat dan oleat.
Minyak atisiri	0,4-0,45	Nigelon, timokuinon, timohidrokuinon, ditimokuinon, timol, karvakrol, α - dan β -pinen, d-limonen, d-sitronelol, p-simen.
Protein	16-19,9	Arginin, asam glutamat, leusin, lisin, methionin, tirosin, prolin, threonin.
Mineral	1,79-3,74	Kalsium, fosfat, potasium, sodium, zat besi.
Karbohidrat	33,90	
Serat	5,50	
Air	6	

2.3.3 *Nigella sativa* sebagai Antibakteri

Saat ini, penelitian terhadap potensi terapeutik minyak *N. sativa* sedang dikembangkan. Topozad *et al.* untuk pertama kalinya melaporkan bahwa fraksi fenol dari minyak *N. sativa* berfungsi sebagai antibakteri. Penelitian lainnya melaporkan bahwa ekstrak dietil-eter *N. Sativa* dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan negatif, serta jamur patogen.²⁸ Minyak *N. sativa* juga dilaporkan dapat menghambat pertumbuhan MRSA secara *in vitro* sekalipun diencerkan hingga konsentrasi 1%.¹⁵

Golongan kuinon yang berperan sebagai antibakteri adalah timokuinon, ditimokuinon dan timohidrokuinon. Ditimokuinon yang terkandung dalam minyak *N. sativa* berfungsi sebagai antibakteri terhadap bakteri gram positif dan negatif.³¹

Penelitian lainnya menyebutkan bahwa timokuinon dan timohidrokuinon diduga dapat membentuk kompleks yang ireversibel dengan asam amino nukleofilik pada protein bakteri sehingga menyebabkan inaktivasi protein.¹⁴

Timohidrokuinon yang termasuk golongan kuinon bekerja pada proses replikasi. Enzim yang dipengaruhi oleh golongan kuinon adalah enzim girase dan topoisomerase IV. Enzim girase bekerja dengan cara menghilangkan super kumparan dari rantai ganda DNA hingga menyebabkan lepasnya ikatan dari rantai ganda DNA pada proses inisiasi replikasi. Enzim ini terdiri dari 2 sub unit yaitu *gyrase A* (*gyr A*) dan *gyrase B* (*gyr B*). Antibakteri kuinon akan mengikat sub unit B yang mengakibatkan DNA girase tidak dapat beraktifitas hingga tidak terjadi relaksasi dari kumparan DNA sehingga proses replikasi tidak terjadi dan berakhir dengan kematian bakteri.¹⁵

Zat aktif lainnya yang diketahui berfungsi sebagai antibakteri adalah tanin. Tanin bekerja dengan mengadakan kompleks hidrofobik dengan protein, menginaktivasi adhesi, enzim dan protein transport dinding sel. Tanin akan menyebabkan proses pertumbuhan bakteri terganggu.¹⁴

Saponin, salah satu bahan aktif yang terkandung dalam *N. sativa*, merupakan gugus glikosida yang termasuk gugus aminoglikosida. Efek dari aminoglikosida adalah menghambat sintesis protein. Secara molekuler proses inhibisi sintesis protein ini berlangsung pada proses translasi. Golongan aminoglikosida ini berikatan secara spesifik pada ribosom sub unit 30S, sehingga mengakibatkan sub unit 50S tidak dapat

bergabung dengan sub unit 30S. Antibakteri ini bersifat bakterisida karena akumulasi sub unit 30S yang berakibat fatal.¹⁵

Fenilpropanoid merupakan golongan fenol yang mampu mendenaturasi protein membran sel bakteri. Komponen zat aktif ini akan melewati membran sel melalui protein transmembran maupun protein porin. Fenol juga bersifat lipofilik sehingga semakin dapat merusak membran sel bakteri sehingga dapat menimbulkan kematian bakteri tersebut.¹⁵

2.3.4 *Nigella sativa* sebagai Imunomodulator

N. sativa juga memiliki fungsi penting lainnya, yaitu sebagai imunomodulator. Berbagai penelitian sedang dikembangkan untuk membuktikan bahwa bahan aktif yang terkandung pada *N. sativa* meningkatkan fungsi sistem imunitas tubuh manusia. Penelitian mengenai efek imunomodulator *N. sativa* dilakukan baik secara *in vitro* maupun *in vivo*.

Pemberian ekstrak maupun minyak *N. sativa* berpengaruh terhadap peningkatan fungsi imunitas bawaan. Pemberian ekstrak air *N. sativa* selama 1 minggu secara per oral meningkatkan jumlah sel NK. Penelitian lain memperlihatkan bahwa terdapat peningkatan rasio *Cluster of Differentiation 4* (CD4) terhadap *Cluster of Differentiation 8* (CD8) dan fungsi sel NK pada mayoritas subyek penelitian yang diterapi menggunakan minyak *N. sativa* selama 4 minggu. Selain itu, penelitian dengan menggunakan hamster yang diinduksi diabetes, menunjukkan peningkatan aktivitas fagositosis makrofag peritoneal dan hitung jumlah limfosit darah perifer setelah 6 minggu terapi minyak *N. sativa* per oral.¹⁷ Penelitian lainnya menyatakan *N. sativa*

meningkatkan aktivitas fagosit dan daya bunuh intrasel oleh PMN pada pasien rhinitis alergi dan jumlah CD8⁺.³²

N. sativa juga berpengaruh terhadap fungsi imunitas didapat, baik humoral maupun seluler. Penelitian secara *in vitro* membuktikan bahwa minyak *N. sativa* meningkatkan proliferasi sel T tetapi kandungan proteinnya yang sudah dimurnikan menurunkan proliferasi sel B. Hasil yang sama didapatkan pada penelitian dengan menggunakan ekstrak etil-asetat dan air *N. sativa*. Berdasarkan hasil penelitian-penelitian di atas, ada kandungan *N. sativa* yang bersifat imunomodulator terhadap imunitas seluler (sel T) dan immunosupresor terhadap imunitas humoral (sel B).

Penelitian secara *in vivo* memberikan hasil yang sama dengan penelitian secara *in vitro* mengenai meningkatnya proliferasi sel T yang berperan pada imunitas seluler. Peningkatan proliferasi sel T oleh *N. sativa* secara *in vivo* diperlihatkan pada penelitian dengan orang lanjut usia sebagai subjek penelitian. Secara fisiologis, orang yang sudah lanjut usia akan mengalami penurunan fungsi sel T. Namun, hal ini bisa dicegah dengan pemberian suplementasi yang tepat yaitu dengan mengganti jumlah dan tipe diet lemak. Minyak *N. sativa* yang mengandung asam lemak tak jenuh menyebabkan peningkatan proliferasi sel T dan pada akhirnya suplementasi ini meningkatkan respon imun pada orang lanjut usia.

Secara *in vitro*, *N. sativa* bersifat immunosupresor terhadap sel B. Hipotesis tersebut dibuktikan dengan adanya penelitian menggunakan tikus yang diinduksi antigen typhoid. Penelitian ini menilai produksi antibodi terhadap antigen spesifik dan didapatkan hasil bahwa terjadi penurunan produksi antibodi setelah diberi terapi

minyak *N. Sativa*.¹⁷ Namun, penelitian yang lain menyatakan bahwa *N. sativa* merangsang proliferasi sel splenosit dan meningkatkan *T-helper* tipe 2 (Th2) yang berperan dalam imunitas humoral.³³

Penelitian terhadap fungsi imunomodulator *N. sativa* tidak hanya terbatas pada fungsi sel B dan sel T, tetapi juga pada tingkat produksi sitokin. Jumlah dan kualitas sitokin berpengaruh penting terhadap terjadinya respon imun. Timokuinon pada *N. sativa* dapat meningkatkan maturasi dan pelepasan sitokin.³⁴ Kandungan protein *N. sativa* meningkatkan produksi IL-3 dan IL-1 tetapi ekstrak kasarnya tidak berpengaruh pada produksi Interleukin-2 (IL-2) dan Interleukin-4 (IL-4). Kandungan protein maupun ekstrak secara keseluruhan berpengaruh terhadap produksi *Tumor Necrosis Factor- α* (TNF- α). Penelitian yang lain melaporkan bahwa terapi minyak *N. sativa* meningkatkan kadar serum IFN- γ , yaitu sitokin yang diproduksi oleh *T-helper* tipe 1 (Th1).^{17,35} *N. sativa* juga berpengaruh terhadap IL-10 yang berhubungan dengan sel T regulator.³⁵ Kandungan melanin dapat berpengaruh terhadap meningkatnya TNF- α , IL-6 dan *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) oleh sel monosit.³⁶ Pengaruh *N. sativa* terhadap produksi sitokin bergantung pada sifat alami dan dosis *N. sativa* serta sifat alami dari sitokin masing-masing pejamu.¹⁷

2.4 Limpa

Limpa merupakan organ berwarna kemerahan, yang terletak di *hypochondrium sinistra*, di antara *costa IX* dan *X sinistra*, di antara lambung dan diafragma.^{19,37} Organ ini termasuk jaringan limfoid sekunder, yang mengintegrasikan respon imun bawaan dan adaptif.¹⁹ Limpa merupakan satu-satunya organ yang terlibat dalam filtrasi darah

sehingga limpa merupakan organ penting pada sistem pertahanan tubuh terhadap antigen yang beredar dalam darah, terutama dalam melawan infeksi bakteri dan jamur.^{19,20} Fungsi ini didukung oleh strukturnya sebagai jaringan limfoid dan memiliki vaskularisasi yang unik, yang memungkinkan darah berkontak langsung dengan sejumlah besar makrofag.³⁸

Limpa dikelilingi oleh suatu kapsul dan jaringan ikat padat yang membentuk trabekula, yang sebagian membagi-bagi parenkim atau pulpa limpa. Pulpa limpa terdiri dari dua komponen, pulpa putih dan pulpa merah. Pulpa putih terdiri atas nodul limfoid dan selubung limfoid periarteriolar (PALS) sedangkan pulpa merah terdiri atas anyaman sinusoid yang berisi darah dan korda limpa (korda Billroth), yang merupakan jaringan retikuler yang kaya akan limfosit.²⁰ Celah-celah pada retikulum dalam korda limpa dipenuhi oleh banyak sel bebas, yang mencakup makrofag, beberapa sel plasma, dan banyak sekali eritrosit dan trombosit.³⁸

Limpa, sebagai jaringan limfoid terbesar, melakukan fungsi imun pada darah serupa dengan yang dilakukan oleh kelenjar limfe pada limfe.^{20,39} Limpa membersihkan darah yang melaluinya dari mikroorganisme dan benda asing lain serta menyingkirkan sel-sel darah merah yang telah usang melalui kerja limfosit dan makrofag. Limfosit bekerja dengan menghasilkan antibodi dan sel T teraktivasi, yang dibebaskan ke dalam darah. Makrofag aktif memfagositosis suatu partikel inert, mikroba dan debris lain, yang berbentuk partikel terutama sel darah merah yang sudah usang, dari dalam darah.³⁹ Penangkapan dan penghancuran eritrosit tua serta pendaurulangan zat besi oleh makrofag terjadi di dalam celah korda limpa^{38,39}

2.5 Reaksi Imunitas Tubuh terhadap Infeksi Bakteri Ekstraseluler

Respon imun memegang peranan penting dalam melindungi tubuh terhadap infeksi. Aspek patologik yang tampak pada penyakit infeksi seringkali tidak disebabkan aksi langsung dari patogen agresor melainkan merupakan akibat dari respon imun. Reaksi imunitas tubuh yang berbeda untuk tiap jenis bakteri mulai terungkap pada tahun 1950-an, pada saat pertama kali diketahui bahwa antibodi dapat merusak bakteri ekstraseluler. Respon imun terhadap bakteri ekstraseluler terbagi menjadi dua yaitu reaksi non-spesifik dan reaksi spesifik.⁴⁰

2.5.1 Reaksi Non-Spesifik

Imunitas bawaan merupakan lini pertama pertahanan tubuh terhadap infeksi bakteri di dalam darah.⁴⁰ Reaksi imun non-spesifik terdiri dari tiga mekanisme utama yaitu aktivasi komplemen, fagositosis dan respon inflamasi.

a. Aktivasi Komplemen

Bakteri gram positif mengandung peptidoglikan dalam dinding selnya yang mengaktifkan jalur alternatif komplemen dengan pembentukan C3-konvertase. Salah satu hasil dari aktivasi komplemen adalah opsonisasi dan peningkatan fagositosis. Fagosit menggunakan berbagai reseptor termasuk di antaranya reseptor Fc, reseptor manose dan *Toll like receptors* (TLR).^{40,41}

b. Aktivasi fagosit dan inflamasi

Sel-sel PMN sebagai fagosit yang predominan dalam sirkulasi adalah sel yang pertama tiba di lokasi infeksi karena tertarik oleh sinyal faktor kemotaktik yang dikeluarkan oleh bakteri, neutrofil atau makrofag yang telah lebih dahulu berada di tempat infeksi atau dilepaskan oleh komplemen. PMN melakukan adhesi pada endotel atau jaringan lain maupun pada dinding sel bakteri, kemudian melakukan diapedesis untuk tiba di tempat infeksi lalu menangkap dan menelan bakteri.⁴⁰

Proses fagositosis oleh PMN berlangsung dalam lima fase secara berurutan, yaitu pergerakan, perlekatan, penelanan, degranulasi dan pembunuhan. Proses penelanan bakteri terjadi karena fagosit membentuk tonjolan pseudopodia, kemudian membentuk kantung yang mengelilingi bakteri dan mengurungnya, sehingga bakteri tertangkap dalam kantung (vakuola) yang disebut fagosom. Granula intraseluler yang berisi berbagai jenis enzim dan protein lain bergabung dengan fagosom, lalu dalam beberapa detik terjadi degranulasi. Enzim dan protein yang terdapat dalam granula mampu membunuh kuman, baik secara oksidatif maupun non-oksidatif.⁴⁰

2.5.2 Reaksi Spesifik

Pada reaksi imun yang spesifik terhadap mikroba, sistem imun yang berperan utama adalah imunitas humoral yang terdiri dari limfosit B yang memproduksi antibodi, limfosit T yang mengatur sintesis antibodi maupun sel T yang mempunyai fungsi efektor atau sitotoksitas langsung. Imunitas humoral ini berfungsi untuk menghalangi infeksi, mengeliminasi bakteri dan menetralkan toksin.⁴¹

Reaksi imun spesifik diawali dengan tertangkapnya mikroba oleh makrofag atau monosit yang berfungsi sebagai *Antigen Presenting Cell* (APC) yang menyajikan antigen mikroba kepada sel Th. Makrofag menangkap mikroba yang telah diopsonisasi dengan IgG dan melakukan endositosis. Makrofag akan memproses antigen menjadi peptida dalam vakuola lalu membentuk kompleks peptida dengan MHC kelas II dan menampilkannya kembali (eksositosis). Adanya reseptor sel-T CD4⁺ pada ikatan peptida – MHC kelas II mengakibatkan peptida terpapar sel-T CD4 dan terjadi aktivasi Th2 untuk mengeluarkan IL-4, IL-5, IL-10 dan IL-13 yang akan merangsang sel B untuk memproduksi antibodi spesifik terhadap bakteri yang bersangkutan.^{40,41}

Presentasi mikroba juga dapat dilakukan oleh sel B yang berfungsi sebagai APC. Mikroba ditangkap oleh sel B melalui sIg yang berfungsi sebagai reseptor, selanjutnya terjadi proses yang sama seperti di atas. Berkat adanya sIg, mikroba dapat ditangkap secara efisien.⁴⁰

Pada *S. aureus*, ditemukan adanya superantigen, yang tidak memerlukan pemrosesan dahulu menjadi peptida, tetapi dapat langsung berinteraksi dengan rantai β -TcR dan melakukan ikat silang dengan MHC kelas II pada APC. Hal ini mengakibatkan semua sel T dengan rantai V- β yang sesuai, teraktivasi. Namun, dengan adanya superantigen ini, sejumlah besar subset sel T terstimulasi sekaligus sehingga produksi sitokin berlebihan dan pada akhirnya berdampak toksik.⁴⁰

Bakteri memiliki berbagai faktor virulensi yang berfungsi untuk menghindarkan diri dari proses fagositosis dan respon imun tubuh manusia. Sebaliknya, sistem imun juga memiliki banyak cara untuk melawan upaya bakteri

untuk menghindar, sehingga proses fagositosis tetap dapat berlangsung. Antibodi spesifik terhadap mikroba berfungsi dalam hal ini yaitu dengan menetralkan toksin, opsonisasi dan fagositosis.^{40,41}

Antibodi dapat mengikat toksin sehingga toksin tidak bereaksi dengan substrat. Terikatnya toksin oleh antibodi menyebabkan terbentuknya kompleks yang dapat dihancurkan oleh fagosit, khususnya apabila kompleks itu berukuran besar akibat reaksi dengan anti-IgG atau anti-C3b yang terdapat sebagai autoantibodi alami. Opsonisasi bakteri dengan antibodi dan komplemen mempermudah fagosit melekat pada bakteri karena fagosit memiliki reseptor untuk fragmen Fc IgG dan untuk C3b. Proses selanjutnya yang terjadi adalah degranulasi mastosit dan pelepasan mediator sehingga terjadi reaksi inflamasi lokal. Sel-sel PMN yang tiba di tempat infeksi selanjutnya melakukan fagositosis, tetapi bila bakteri berukuran besar dan sulit difagositosis, bakteri dihancurkan melalui mekanisme sitotoksitas dengan bantuan antibodi atau disebut dengan *Antibody Dependent Cell Mediated Cytotoxicity* (ADCC).^{40,41}