BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Limfosit

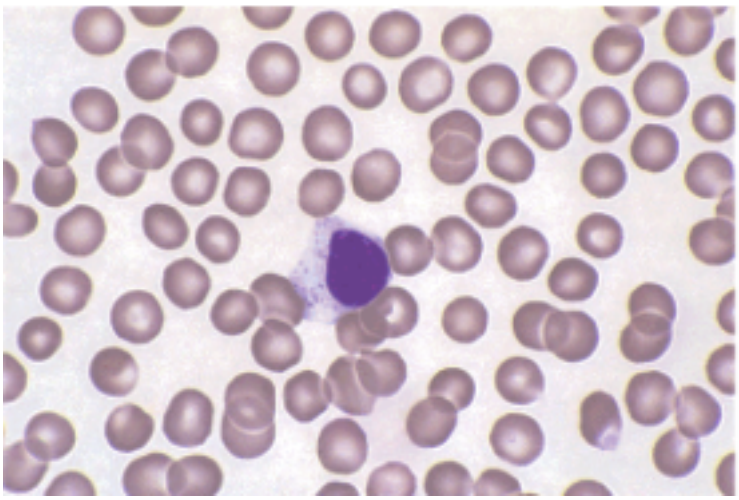
2.1.1 Morfologi limfosit

Dua puluh persen dari total jumlah leukosit manusia merupakan limfosit. Bertanggung jawab terhadap kontrol sistem imun adaptif, limfosit berdasarkan fungsi dan penanda permukaannya dibedakan menjadi dua kelas, yaitu limfosit B yang berperan dalam imunitas humoral, dan limfosit T yang berperan dalam imunitas selular.[17] Adapun kedua kelas limfosit ini tidak dapat dibedakan secara morfologis. Limfosit B dapat dibedakan berdasarkan adanya imunoglobulin, MHC kelas II, serta reseptor C3b dan C3d pada permukaannya. Limfosit T dibedakan berdasarkan kemampuannya untuk membentuk *rosette* pada eritrosit domba melalui molekul CD2 dan juga ekspresi TCR pada permukaannya.[1] Selain kedua kelas tersebut terdapat sel limfoid yang bukan termasuk dalam limfosit B maupun limfosit T, yaitu sel NK atau yang sering disebut *large granular lymphocyte* (LGL) yang tergolong dalam *innate lymphoid cells* (ILC). Sel NK memiliki fungsi sebagai imunitas bawaan terhadap virus dan bakteri intraseluler.[13, 18]

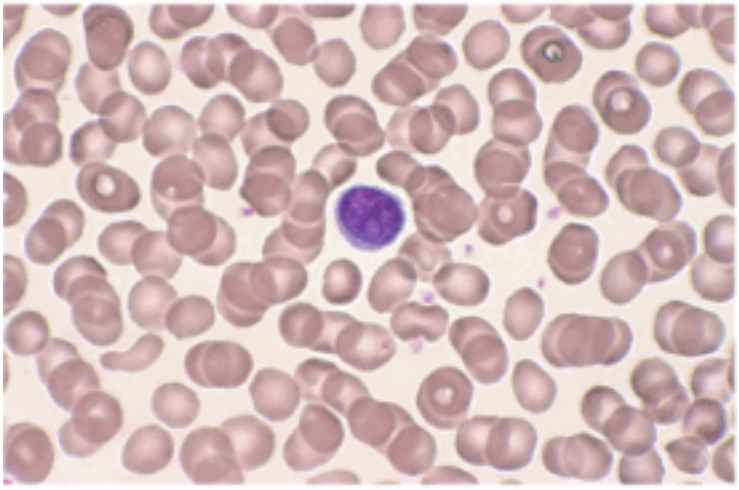
Berdasarkan ukurannya, limfosit dibedakan menjadi limfosit berukuran kecil dan besar. Limfosit berukuran kecil memiliki diameter 9-12 μm, dan limfosit berukuran besar memiliki diameter 12-16 μm. Perbedaan ukuran ini disebabkan oleh aktivitas dan posisi pada preparat hapusan darah tepi. Pada bagian hapusan yang tebal limfosit akan terlihat lebih kecil dan tebal. Berdasarkan ukurannya,

umumnya limfosit yang berukuran kecil merupakan limfosit T, sedangkan limfosit yang berukuran besar pada umumnya merupakan limfosit B. Namun untuk memastikan kelas limfosit dengan pasti diperlukan petanda yang telah disebutkan sebelumnya.[17, 19, 20]

Nukleus pada limfosit berbentuk bulat atau oval, dan terdapat celah. Pada nukleus tidak ditemukan nukleolus, terutama pada pengecatan Giemsa, dan terdapat kromatin yang padat dan menggumpal. Sitoplasma berjumlah sangat sedikit pada limfosit berukuran kecil dan meningkat jumlahnya sebanding dengan ukuran limfosit. Rasio nukleus-sitoplasma pada limfosit berukuran kecil, sedang, dan besar berturut-turut, 4:1, 3:1, dan 2:1. Pada sitoplasma limfosit kadang terdapat beberapa granula azurofilik yang pada limfosit berukuran besar cenderung terpusat pada bagian tertentu. Pada pengecatan *Wright* sitoplasma berwana biru terang.[19, 21]



Gambar 1. Limfosit besar
Sumber: Rozenberg. [20]



Gambar 2. Limfosit kecil
Sumber: Rozenberg. [20]

2.1.2 Regulasi limfosit

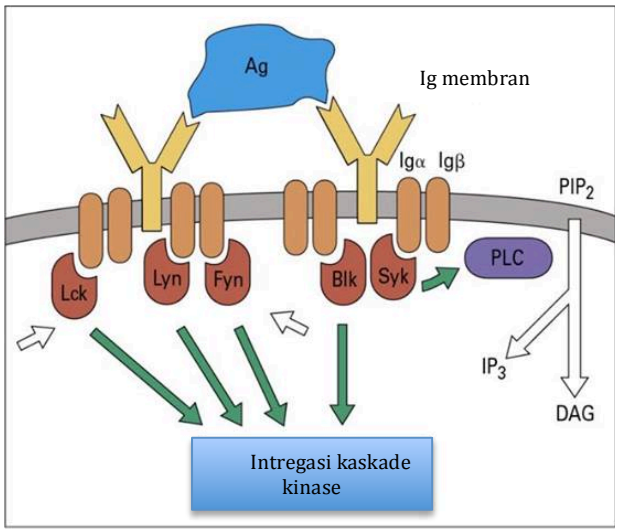
Fungsi utama limfosit adalah untuk meregulasi sistem imun. Apabila sel-sel asing (antigen eksogen, antigen endogen yang mengalami alterasi, sel- sel maligna, dan sebagainya) ditelan, didegradasi, atau dieliminasi sepenuhnya oleh fagosit, maka tidak ada sistem imun yang akan dibangkitkan. Sedangkan, apabila respon tersebut tidak terjadi, fragmen antigen ditransportasikan menuju sinus subkapsuler limfonodi. Pada bagian medula, antigen terfiksasi pada bagian eksterior, dan kemudian terbawa menuju ke lisozim makrofag. Selain itu antigen juga dibawa oleh sel dendritik untuk dipresentasikan kepada limfosit B. Sel dendritik dapat melepaskan sitokin yang memfasilitasi diferensiasi limfosit B menjadi sel yang dapat memproduksi antibodi. Ketika terjadi diferensiasi ini, terjadi proliferasi yang intens selama 48 jam. Makrofag akan melepaskan IL-1,

sedangkan limfosit T meningkatkan produksi dan aktivasi *antigen specific CD8$^+$ T cells*. Kerja faktor diferensiasi limfosit sitotoksik akan mengembangkan kloning dari limfosit B untuk antigen spesifik dan limfosit T sitotoksik. Dalam kerjanya, limfosit sitotoksik membutuhkan aktivasi awal dan antigen MHC kelas I. Limfosit T mengeluarkan beberapa *soluble factors* yang mengaktivasi sel limfosit sitotoksik. Sebagai umpan balik, sel supresor meredam respon imun spesifik dan menghambat kerja limfosit T yang sudah teraktivasi.[17]

2.1.2.1 Limfosit B

Limfosit B memiliki fungsi menghasilkan antibodi, internalisasi antigen, memproses antigen, dan mempresentasikan antigen kepada limfosit T untuk meningkatkan respon imun. Limfosit B yang teraktivasi akan berkembang menjadi sel memori yang mengekspresikan penanda permukaan CD45RO yang pada akhirnya akan berdeferensiasi menjadi sel plasma.[1] Aktivasi sel B memiliki pola yang serupa dengan sel T. Pada sel B pengkodean diatur oleh heterodimer Ig α dan Igβ yang pada bagian ekornya membawa *immunoreceptor tyrosine activation motifs* (ITAM). Heterodimer ini berhubungan dengan Ig permukaan untuk membentuk reseptor sel B. Terjadinya *cross-linking* pada Ig permukaan akan menyebabkan aktivasi dari tirosin kinase, yaitu Lck, Lyn, Fyn, dan Blk yang menyebabkan fosforilasi dari ITAM. Hal ini menyebabkan terikatnya kinase lain yaitu Syk (analog ZAP-70 pada limfosit T), yang akan mengaktifkan *phospholipase C* pada membrane PIP_2 untuk membangkitkan IP_3 dan DAG yang kemudian akan mengaktivasi protein kinase C. Semua sinyal ini akan

mengaktivasi kaskade kinase dan ditransduksikan untuk mengaktivasi *nuclear transcription factors.* Proses ini juga terjadi pada limfosit T. [22]



Gambar 3. Aktivasi sel B intraselular
Sumber: Male, dkk. [22]

2.1.2.2 Limfosit T

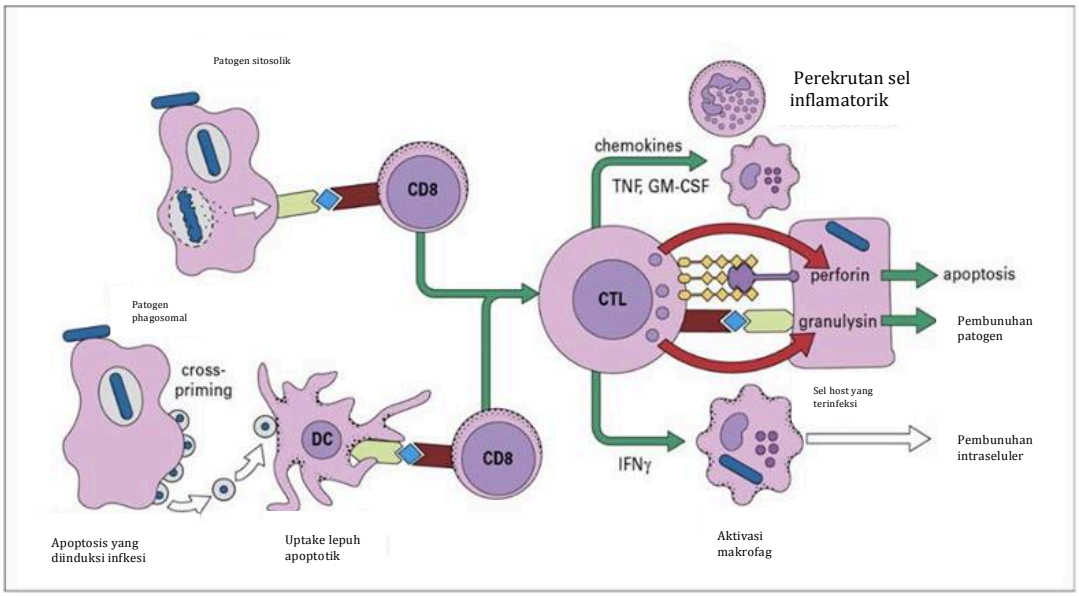
Limfosit T dapat dibedakan berdasar tipe reseptor antigen, yaitu sel T yang memiliki TCR δ/γ, dan sel T yang memiliki TCR α/β, yang dibagi berdasarkan koreseptor $CD4^+$ atau $CD8^+$. Sel T δ/γ ditemukan di epitel mukosa, darah, serta pada bagian tubuh lain, dan memiliki fungsi stimulasi terhadap imunitas bawaan dan mukosa. Sel T δ/γ ini akan memproduksi IFN-γ dan mengaktivasi sel dendritik dan makrofag. Jenis sel ini hanya berjumlah 5% dari seluruh limfosit yang tersirkulasi, namun dapat meningkat hingga 20-60% pada infeksi patogen tertentu. Sel T α /β diekspresikan pada sebagian besar sel T dan berperan dalam respon imun yang diaktivasi antigen. Sel T α /β terbagi menjadi

beberapa kelas oleh ekspresi molekul $CD4^+$ dan $CD8^+$ menjadi T helper, T sitotoksik, T regulatorik, dan sel NKT.[1]

Sel T Helper merupakan sel T yang mengekspresikan $CD4^+$. Sel ini berinteraksi dengan peptida yang dipresentasikan oleh molekul MHC kelas II yang diekspresikan di permukaan APC (sel dendritik, makrofag, dan sel B). Lebih lanjut sel T $CD4^+$ kemudian berdiferensiasi menjadi sel TH0, TH1, TH2, TH17. Diferensiasi ini salah satunya dipengaruhi oleh adanya sitokin proinflamasi terutama IL-2. Sel TH0 memproduksi sitokin yang dapat mengekspansi respon imunitas selular. Sel TH1 memproduksi IFN- γ dan IL-2 untuk mengaktivasi sel dendritik dan makrofag yang dapat meningkatkan respon imun terhadap bakteri intraselular, serta meningkatkan produksi subtipe tertentu dari IgG. Sel TH2 memiliki fungsi untuk meningkatkan respon antibodi. Sedangkan TH17 akan mensekresi IL-17 untuk mengaktifkan neutrofil serta meningkatkan respon inflamasi dan antifungal.[1, 23]

Limfosit T yang mengekspresikan $CD8^+$ memiliki aktivitas sitotoksik dan sering disebut sebagai *cytotoxic T lymphocytes* (CTLs). Aktivasi sel T $CD8^+$ naif diinduksi oleh antigen yang dipresentasikan terikat dengan MHC kelas I pada permukaan APC. Sel T $CD8^+$ dapat berespon terhadap bakteri intraseluler, terutama bakteri intraseluler yang lolos dari mekanisme fagosom seperti *Mycobacterium tuberculosis, Salmonellae, dan Chlamydiae.* Patogen lain yang tidak mampu bertahan dari mekanisme fagosom masih mampu mengaktivasi sel T $CD8^+$ melalui mekanisme *cross-priming* yang memungkinkan sel yang terinfeksi mengalami apoptosis dan melepaskan fragmen antigen yang ditangkap oleh sel

dendritik selaku APC. Sel T $CD8^+$ akan merespon dengan melepaskan sitokin proinflamasi dan sitokin yang dapat mengaktivasi makrofag serta membunuh sel yang terinfeksi melalui pelepasan perforin, Fas, dan *granulysin* pada sebagian kasus. Sel T $CD8^+$ juga akan melepaskan IFN-γ yang akan mengenali sel yang terinfeksi bakteri, dan kemudian mengaktivasi jalur proteksi oleh makrofag. Selain itu sel T $CD8^+$ melalui pengaruh IL-2 dapat berdeferensiasi menjadi sel T memori yang berperan dalam sistem imun spesifik terhadap antigen tertentu. Selain itu IL-2 juga mengoptimalkan diferensiasi sel T $CD8^+$ menjadi sel efektor.[22, 23]



Gambar 4. Jalur aktivasi sel T CD 8^+

Sumber: Murray, dkk. [1]

T reg mengekspresikan $CD4^+$ dan $CD25^+$ yang berfungsi untuk mengontrol respon imun dan menghindari respon berlebihan dari sel T.[1]

Sel NKT merupakan perpaduan antara sel NK dan sel T. Sel ini bereaksi terhadap molekul CD1 yang mempresentasikan glikolipid dan glikopeptida yang contohnya terdapat pada *Mycobacterium*.[1]

2.1.3 Imunitas terhadap bakteri intraseluler

Mikroorganisme fakultatif intraseluler memiliki kemampuan utnuk bertahan hidup dan bahkan bereplikasi di dalam sel fagosit yang merupakan salah satu bagian dari sistem imun bawaan. Oleh sebab itu diperlukan aktivasi dari sistem imun seluler terutama yang dimediasi oleh sel T melalui dua jalur yaitu dengan perantaraan sel T sitotoksik atau sel T $CD8^+$ dan melalui aktivasi sel yang terinfeksi oleh sel T helper atau sel T $CD4^+$. Pada aktivasi sistem imun bawaan, bakteri intraseluler resisten terhadap degradasi oleh fagosit. Hal ini menyebabkan induksi ekspresi ligan sel NK pada sel yang terinfeksi, yang kemudian akan mengaktivasi sel NK. Mekanisme lain aktivasi sel NK terjadi melalui stimulasi sel dendritik dan makrofag untuk memproduksi IL-12 dan IL-15 yang dapat mengaktivasi sel NK oleh sel yang terinfeksi. Sel NK yang teraktivasi akan memproduksi IFN-γ yang akan mengaktivasi makrofag untuk membunuh bakteri yang terfagositosis.[13, 22]

Sistem imun adaptif, yaitu sel T $CD4^+$ dan sel T $CD8^+$ akan berespon terhadap antigen dari mikroba yang terfagositosis yang terekspresi sebagai peptida yang terikat pada MHC kelas II dan kelas I. Selanjutnya IL-12 yang diproduksi makrofag dan sel dendritik akan mendorong diferensiasi sel T $CD4^+$ menjadi sel efektor TH1. Kemudian sel T akan mngekspresikan CD40 dan mensekresikan IFN-γ, yang keduanya akan mengaktifkan makrofag untuk

memproduksi substansi mikrobisidal, termasuk ROS, NO dan enzim lizosimal. Lebih lanjut terjadi produksi *isotype* antibodi (IgG2 pada tikus) yang akan mengopsonisasi bakteri dan mengaktivasi sistem komplen. Respon ini juga distimulasi oleh IFN-γ . Respon imun yang dimediasi oleh sel T $CD8^+$ akan teraktivasi apabila bakteri yang berada pada fagosom dapat menghindari ingesti oleh fagosom dan berada di sitoplasma sel yang terinfeksi. Respon mikrobisidal tidak dapat mengeliminasi bakteri yang berada di sitosol, sehingga perlu adanya aktivasi limfosit T sitotoksik. Sehingga dapat disimpulkan dalam mekanisme pertahanan terhadap bakteri intraseluler sel T $CD4^+$ dan sel T $CD8^+$ harus saling bekerja sama.[13]

2.1.4 Proliferasi limfosit

Perkembangan limfosit dapat terjadi di organ limfoid primer dan sekunder. Yang dimaksud organ limfoid primer adalah sumsum tulang dan timus. Sedangkan organ limfoid sekunder termasuk diantaranya limpa, plak Peyeri pada saluran gastrointestinal, cincin Waldeyer pada tonsil dan adenoid, serta limfonodi beserta nodulnya yang tersebar di seluruh tubuh.[17]

Limfosit berasal dari diferensiasi *lymphoid progenitor cells* (LPC) yang berasal dari *hematopoietic stem cells* bagian dari *adult stem cells* yaitu sel yang mampu melakukan pembaharuan diri dan diferensiasi sepanjang kehidupan organisme.[17]

Tahap maturasi limfosit terbagi menjadi beberapa tahapan. Tahapan yang pertama yaitu limfoblas. Memiliki ukuran 15-20 μm, limfoblas memiliki karakteristik yang mirip dengan limfosit kecuali tidak adanya granula dan warna

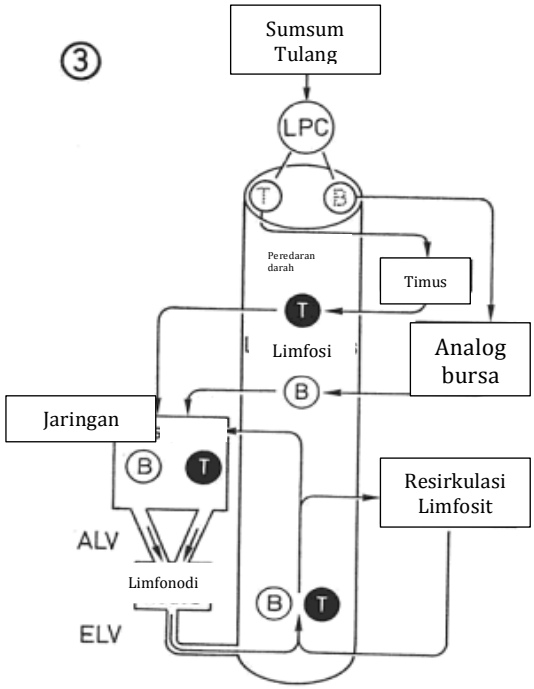
yang lebih gelap dengan 1- 2 buah nukleoli. Tahapan kedua yang nantinya akan berkembang menjadi limfosit matur adalah prolimfosit. Prolimfosit berukuran 15-18 μm. Sama seperti limfoblas, prolimfosit memiliki karakteristik yang mirip dengan limfosit kecuali, prolimfosit tidak memilik granula azurofilik, dapat memiliki sebuah nukleoli, kromatin mulai memadat, dan sitoplasmanya berwarna lebih gelap dengan bagian tipis di tepi yang berwarna lebih gelap lagi.[19]

2.1.5 Sirkulasi limfosit

Hanya sebesar 5% dari jumlah limfosit total beredar dalam pembuluh darah dan limfe. Sedangkan sisanya tersimpan di organ limfoid, baik primer maupun sekunder. Pada tempat penyimpanannya, 60-80% limfosit terdiri dari limfosit T, sedangkan sisanya yaitu 5-25 % terdiri dari limfosit B. Lima puluh persen limfosit B berasal dari sumsum tulang sedangkan 1/3-nya berasal dari kelenjar getah bening, limfe, dan kurang dari 1% berasal dari timus.[18, 19]

Sirkulasi limfosit merujuk pada proses migrasi limfosit dari darah menuju ke organ limfoid dan non-limfoid dan sebaliknya melalui sistem limfatik dan pembuluh darah khususnya venule. Limfosit T bermigrasi melalui aliran darah menuju ke organ timus dan mengalami maturasi dikarenakan kontak dengan epitel sel retikuler timus. Limfosit B tetap berada di sumsum tulang dan menjalankan fungsi pembaharuan diri, namun sebagian juga bermigrasi menuju ke organ analog dengan bursa pada unggas yaitu apendiks, yaitu plak Peyeri dan tonsil melalui aliran darah. Dari timus dan analog bursa tersebut limfosit kembali bermigrasi melalui aliran darah untuk menuju ke jaringan. Limfosit mencapai limfonodi melalui pembuluh limfe aferen atau *afferent lymphatic vessel* (ALV)

dan kemudian disalurkan kembali menuju pembuluh darah melalui pembuluh limfe eferen atau *efferent lymphatic vessel* (ELV) dan siklus kembali berulang. Sirkulasi limfosit membutuhkan waktu beberapa minggu lamanya.[24, 25]



Gambar 5. Sirkulasi limfosit
Sumber: Krstic.[25]

2.1.6 Limfosit darah tepi

Limfosit yang bersirkulasi merupakan campuran dari limfosit yang berasal dari limfosit B dan Limfosit T pada sumsum tulang dan timus yang sedang menuju ke organ limfoid, limfosit yang keluar dari limfonodi melalui sistem limfatik yang terkumpul pada duktus thorasikus dan menuju ke vena cava superior serta limfosit yang dikeluarkan langsung melalui sinus vaskular dari organ limpa.

Sebanyak 70% limfosit mengalami resirkulasi menuju ke organ limfoid sekunder yang kemudian menuju limfonodi dan akan kembali ke darah. Sedangkan 30 % limfosit tidak akan tersirkulasi kembali dan akan berada intravaskuler maupun teraktivasi dan keluar dari ruang intravaskuler.[24]

2.2 Sirih merah

Sirih merah merupakan tanaman yang tumbuh subur di berbagai wilayah di Indonesia seperti Papua, Aceh, Yogyakarta, dan Jawa Barat.[26] Tanaman ini memiliki nama ilmiah *Piper crocatum* Ruiz and Pav.[7] Tanaman ini tidak membutuhkan perawatan yang sulit, dapat tumbuh tanpa pemupukan, dan hanya bergantung pada jumlah air dan cahaya matahari yang cukup, yaitu sebanyak 60-70%.[5] Adapun kedudukan sirih merah dalam taksonomi yaitu:

Kingdom : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Kelas : Angiospermae
Ordo : Piperales
Famili : Piperaceae
Genus : Piper
Spesies **:** *Piper crocatum* [4]

Secara morfologis sirih merah merupakan tumbuhan herba merambat dengan permukaan daun berwarna hijau gelap berpadu dengan tulang daun berwarna merah hati keunguan, yang tampak keperakan dan mengkilap saat tertimpa cahaya. Tanaman ini memiliki batang bulat berwarna hijau keunguan dengan permukaan berkerut. Daun tumbuhan ini memiliki ukuran panjang 15

hingga 20 cm, kaku, dan tebal. Daunnya berbentuk menyerupai jantung dan bertangkai panjang, Bagian ujung daunnya meruncing, dan tumbuh berselang-seling dari batangnya.[5, 7, 26]

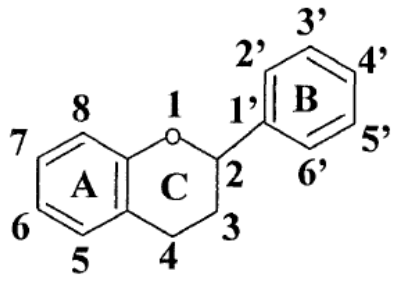
Piper crocatum diketahui memiliki berbagai kandungan senyawa aktif, diantaranya alkaloid, saponin, tanin, flavonoid, senyawa polevonolad, dan minyak atsiri. Berbagai senyawa tersebut khususnya senyawa utama flavonoid, alkaloid, tanin, dan minyak atsiri dipercaya memiliki peran dalam pengobatan berbgai macam penyakit. Flavonoid, merupakan senyawa yang memiliki sifat antioksidan, antidiabetik, antikanker, antiseptik, dan anti-inflamasi.[5]

Gambar 6. Daun sirih merah
Sumber: Lister, dkk.[6]

2.2.1 Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa yang banyak ditemukan di buah-buahan, sayuran, biji-bijian, bunga, teh, wine, serta akar dan batang tanaman. Senyawa ini memiliki berat molekuler rendah dan terdiri dari kelompok besar senyawa polifenol yang memiliki struktur *benzo–γ–pyrene*. Flavonoid disintesis oleh

tanaman sebagi respon terhadap infeksi bakteri.[27, 28] Klasifikasi flavonoid didasarkan pada struktur kimianya. Secara umum flavonoid terbagi menjadi 2 kategori utama, yaitu flavon dengan grup fenil pada posisi 2 dari bagian kromon, dan isoflavon dengan posisi grup fenil pada posisi. 3. Variasi dari kategori tersebut dapat terjadi bergantung kepada derajat oksidasi dari ikatan diantara C2-C3, dan tingkat hidroksilasi, metoksilasi, dan glikosilasi pada cincin A,B,dan C, serta ada tidaknya gugus karbonil pada posisi 4.[29] Lebih lanjut flavonoid dapat terbagi menjadi beberapa kelas, yaitu flavonol, flavanon, *catechin* (atau flavanol), *anthocyandin, dihydroflavonol*, dan *chalcon* berdasarkan struktur kimianya. Efek biologis flavonoid cukup luas, yaitu memiliki sifat antibakteri, antiviral, anti-inflamasi, anti-alergi, serta efek vasodilator, dan penghambatan peroksidasi lipid. Sebagai tambahan flavonoid juga memiliki efek penghambatan termasuk penghambatan agregasi platelet, permeabilitas dan fragilitas kapiler, serta penghambatan aktivitas enzimatik siklo-oksigenase dan lipoksigenase.[28] Secara khusus, flavonoid memiliki efek inhibisi terutama terhadap enzim yang berhubungan dengan aktivasi sel dan transduksi sinyal pada stimulasi sel seperti protein kinase c, protein tirosin kinase, fosfolipase A_2 , fosfolipase C, dan beberapa enzim lain. Namun semua efek biologis tersebut memiliki perbedaan antar kelas flavonoid dan tidak dapat digeneralisasikan terhadap semua kelas flavonoid.[29]



Gambar 7. Struktur dasar flavonoid

Sumber: Cook dan Saman.[28]

2.2.1.1 Efek flavonoid terhadap regulasi limfosit T dan B

Berdasarkan penelitian terdahulu didapatkan bahwa flavonoid tertentu dapat menghambat proliferasi limfosit yang distimulasi oleh fitomitogen, seperti fitohemaglutinin, dan concanavalin A. Beberapa flavonoid lain, tergantung oleh strukturnya, dapat menghambat proliferasi sel T sitotoksik pada kultur limpa mencit. Pada sel B, terjadi penghambatan aktivasi sel B dan fosforilasi dari residu tirosin pada beberapa protein yang terdapat pada sel B oleh isoflavon genistein. Percobaan lain memberikan hasil serupa. Pada percobaan dengan prekusor sel B yang distimulasi oleh rekombinan IL-7 manusia terjadi fosforilasi residu tirosin, yang disertai dengan peningkatan IP_3, serta penghambatan aktivasi oleh adanya isoflavon genistein, suatu flavonoid yang terdapat pada kacang kedelai.[29] Sedangkan penelitian oleh Jiao, dkk (1999) yang meneliti pengaruh flavonoid yang berasal dari batang dan daun *Astragalus membranaceus* terhadap regulasi sistem imun mendapatkan hasil bahwa flavonoid yang berasal dari batang dan daun *Astragalus membranaceus* meningkatkan proliferasi limfosit yang diinduksi concanavalin A, meningkatkan ekspresi IL-2 serta meningkatkan jumlah sel T.[30]

Namun kontras dengan hasil penelitian ini, penelitian lain mendapatkan bahwa flavonoid tertentu, seperti apigenin, kaempferol, luteolin, quercetin menghambat sekresi sitokin proinflamasi seperti IL-13, IL-2, IL-6, dan IFN-γ. Penelitian lain mengatakan bahwa *epicatechin, catechin, dan procyanidins* yang merupakan kelas lain dari flavonoid meningkatkan respon TH1 dan meningkatkan hitung limfosit T pada usus dan mensupresi respon antibodi. Sedangkan penelitian yang menggunakan suplementasi polifenol pada teh mendapatkan peningkatan proliferasi dan aktivasi dari limfosit T, dan menunjukkan presentase limosit T $CD4^+$/ Limfosit T $CD8^+$ yang meningkat yang menandakan perbaikan sistem imun.[31]

Penelitian menggunakan ekstrak *Urtica dioica* yang mengandung senyawa flavonoid, juga mendapatkan hasil serupa. Didapatkan bahwa ekstrak *Urtica dioica* menstimulasi proliferasi limfosit T disertai peningkatan presentase limosit T $CD4^+$/ Limfosit T $CD8^+$.[32]

2.3 *Salmonella* Typhimurium

Genus *Salmonella* merupakan kelompok bakteri batang gram negatif, anaerob fakultatif, yang merupakan anggota dari *Enterobacteriaceae.* Bakteri ini dapat memfermentasi laktosa dan tergolong bakteri dengan tes okidase negatif. Genus *Salmonella* memiliki lebih dari 2500 serotipe yang didasarkan pada antigen antigen lipopolisakarida somatik O dan antigen flagella H.[1, 3, 33]

Salmonella enterica subspecies *enterica* serovar Typhimurium, atau yang penulisannya kerap kali dipersingkat menjadi *Salmonella* Typhimurium,

merupakan salah satu *serotype* dari spesies *Salmonella enterica*, satu-satunya spesies yang merupakan patogen bagi manusia.[3, 33]

Sallmonella enterica dapat menginfeksi manusia melalui makanan yang terkontaminasi maupun melalui jalur fekal oral (pada anak-anak).[1] Terdapat 4 manifestasi utama sindrom yang disebabkan oleh bakteri ini, yaitu demam enterik, gastroenteritis, bakterimia dengan atau tanpa infeksi metastatik, dan keadaan karier asimptomatik.[33]

Patogenesis infeksi bakteri ini diawali dengan ingesti bakteri dengan jumlah yang mencukupi untuk dapat bertahan terhadap pajanan asam lambung dan getah empedu. Bakteri ini kemudian menginvasi sel M pada pada plak Peyeri. Bakteri dapat tetap berada dalam vakuol endositik dimana bakteri ini kemudian bereplikasi atau ditransportasikan menuju darah dan sistem limfe. Terdapat 2 kluster gen yang mengatur perlekatan, ingesti, dan replikasi bakteri ini, yaitu *pathogenicity island I* dan *II*. Gen PAIs I ini mengkode *salmonella-secreted invasion protein* (Ssps) dan sistem sekresi tipe III yang memediasi injeksi protein bakteri kedalam sel *host*. Sedangkan PAIs II memungkinkan bakteri menghindari sistem imun tubuh melalui mekanisme sekresi tipe III kedua. Infeksi bakteri ini di traktus gastrointestinal dibatasi oleh respon inflamasi, menyebabkan pelepasan prostagalndin dan menyebabkan aktivasi cAMP yang berujung pada peningkatan sekresi cairan di usus.[1] Dosis infeksius bakteri *Salmonella* bervariasi bergantung pada *serotype* yang menginfeksi. Umumnya dibutuhkan 10^6 sampai 10^9 dan kurang dari 1000 mikroorganisme dalam keadaan *outbreak* untuk menyebabkan penyakit pada manusia. Status imun dan status nutrisi pasien juga merupakan

kunci penting dalam patogenesis infkesi *Salmonella.* Setelah bakteri masuk ke lumen, bakteri harus melewati beberapa mekanisme pertahanan, meliputi getah pencernaan dan flora normal intestinal.[33]

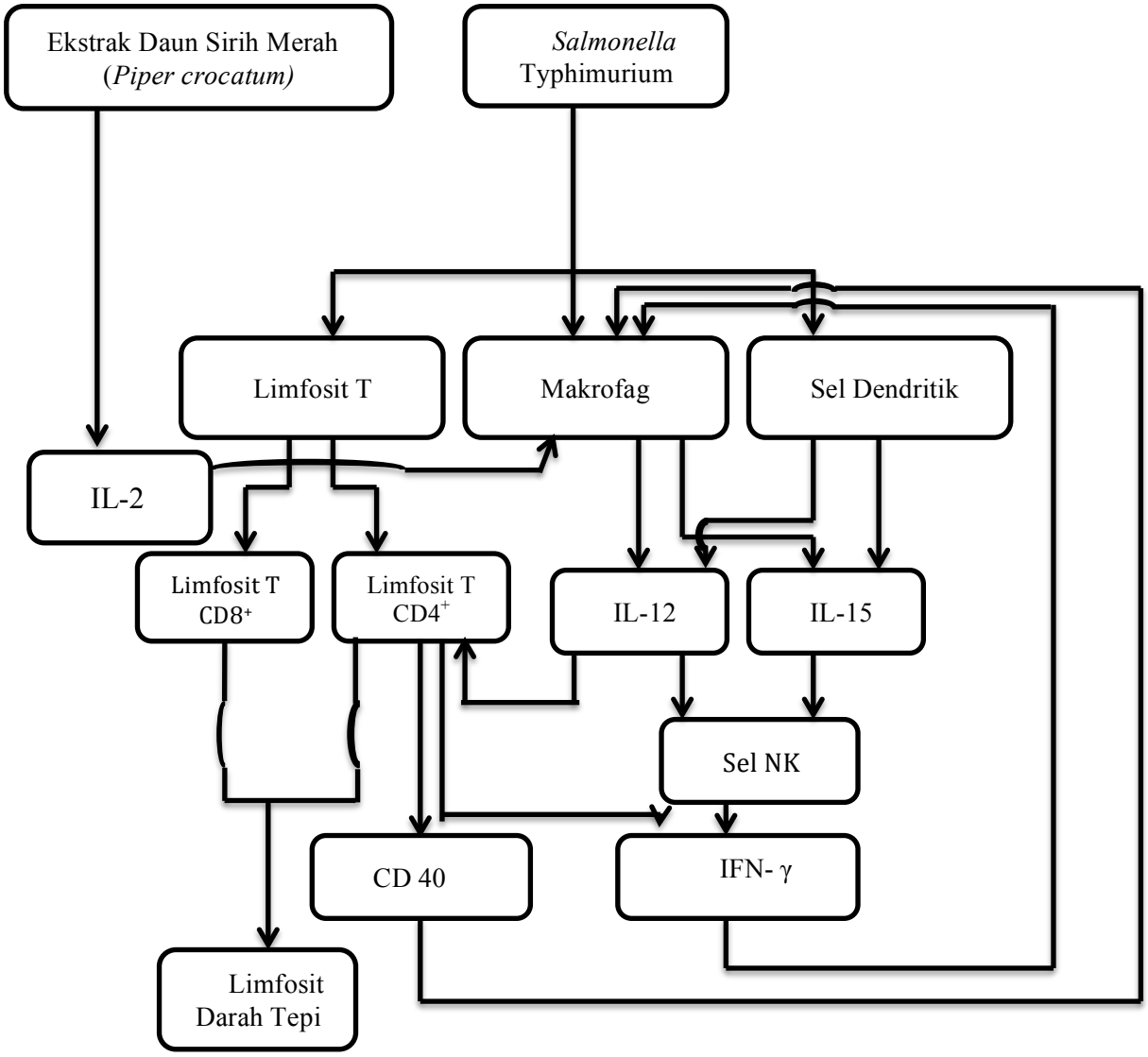
Salmonella Typhimurium memiliki suatu mekanisme adhesi berupa fimbria tipe 1 yang memungkinkan terjadinya perlekatan dengan *α-mannose-containing molecules* yang terdapat pada mikrovili mukosa ileum. Selain itu bersama dengan *Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Typhimurium juga memiliki suatu mekanisme adhesi yang tidak membutuhkan adanya fimbria. Yaitu melalui adanya PAIs yang mengkode mekanisme adhesi yang mengandung adhesin bakteri dan adhesin reseptor yang kemudian ditranslokasikan menuju usus dari *host*. Sehingga berbeda dengan fimbria pada mekanisme ini tidak dibutuhkan adanya reseptor fimbria yang berasal dari *host.* [33]

2.3.1 Respon imun tubuh terhadap infeksi *Salmonella* Typhimurium

Sistem imun bawaan maupun sistem memiliki efek protektif terhadap infeksi sistemik *Salmonella* Typhimurium. Sistem imun bawaan memiliki kemampuan untuk membatasi replikasi, sedangkan sistem imun adaptif berperan penting untuk mengontrol dan mengeradikasi bakteri *Salmonella* Typhimurium. Sel T $CD4^+$ dan sel T $CD8^+$ memiliki peran penting dalam respon primer maupun sekunder meskipun mekanisme pasti keterlibatan kedua sel belum diketahui. Selain itu respon antibodi terhadap antigen *Salmonella* Typhimurium juga memberikan efek protektif, kemampuan yang tidak didapatkan pada infeksi bakteri intraselular lain. [34]

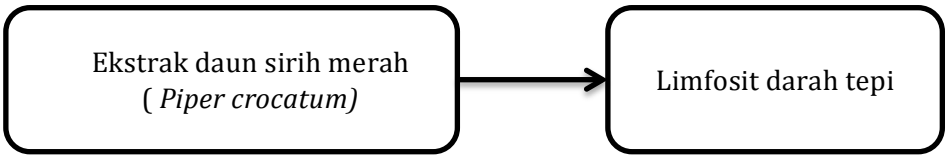
Respon imun tubuh juga dapat diamati pada plak Peyeri dalam fase intestinal salmonellosis. Pada penelitian didapatkan adanya regulasi yang signifikan 21 dari 30 gen yang mengkode *pattern recognition receptor* (PRR), *chemokine*, sel dendritik, dan marker aktivasi sel T. Dikarenakan adanya pengenalan dari infeksi *Salmonella* melalui PRR oleh makrofag dan sel dendritik terjadi peningkatan ekspresi gen proinflamatori, seperti IL1b, CXCL2 and TNF-α, serta peningkatkan sekresi *chemokine.* Secara umum didapatkan bahwa terjadi aktivasi gen yang mengkode molekul yang berfungsi untuk aktivasi sel dendritik ,yaitu CD80, CD83, CD40, IL-2p40, IL-23p19, dan CCR 7 serta peningkatan molekul yang berfungsi untuk aktivasi sel T, yaitu IFN-γ, CD40L, CD28, CCL19 dan IL-21, pada plak Peyeri yang terinfeksi *Salmonella* Typhimurium.[10]

2.4 Kerangka teori



Gambar 8. Kerangka teori

2.5 Kerangka konsep



Gambar 9. Kerangka konsep

2.6 Hipotesis

2.6.1 Hipotesis umum

Terdapat pengaruh pemberian ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum)* dosis bertingkat terhadap gambaran limfosit darah tepi mencit Balb/c yang diinfeksi *Salmonella* Typhimurium.

2.6.2 Hipotesis khusus

1. Terdapat perbedaan gambaran limfosit darah tepi mencit Balb/c yang diinfeksi *Salmonella* Typhimurium antar kelompok yang diberi ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum)* dosis 10 mg/hari/mencit dan kelompok kontrol.
2. Terdapat perbedaan gambaran limfosit darah tepi mencit Balb/c yang diinfeksi *Salmonella* Typhimurium antar kelompok yang diberi ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum)* dosis 30 mg/hari/mencit dan kelompok kontrol.
3. Terdapat perbedaan gambaran limfosit darah tepi mencit Balb/c yang diinfeksi *Salmonella* Typhimurium antar kelompok yang diberi ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum)* dosis 100 mg/hari/mencit dan kelompok kontrol.
4. Terdapat perbedaan gambaran limfosit darah tepi mencit Balb/c yang diinfeksi *Salmonella* Typhimurium antar kelompok perlakuan dengan masing-masing dosis.