

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Infeksi bakteri

Indonesia saat ini menghadapi *triple burden* dalam menghadapi penyakit infeksi yaitu masih sering terjadi KLB beberapa penyakit menular tertentu, munculnya kembali penyakit yang telah lama terbasmi, dan munculnya penyakit-penyakit menular baru.¹ Berdasarkan data WHO dalam *Global burden Disease Death Estimates 2008*, perkiraan angka kematian di Indonesia karena penyakit menular mencapai 1.608 tiap 1.000.000 orang.²

Permasalahan infeksi ini diperparah dengan munculnya bakteri yang resisten terhadap antibiotik. Jika dibiarkan, hal ini akan mempersulit pemberantasan penyakit infeksi di Indonesia. Beberapa bakteri yang telah diketahui memiliki strain yang resisten terhadap antibiotik diantaranya *Streptococcus pneumoniae*, *S. aureus*, *Eschericia coli*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Klebsiella pneumoniae* dll. *Extended spectrum β -lactamase* (ESBL) *E. coli* dan *Klebsiella spp*, *Multi-drug Resistant* (MDR) *Mycobacterium tuberculosis* serta *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) menjadi permasalahan resistensi utama di Indonesia.^{3,19}

Salah satu infeksi bakteri yang sering terjadi dan mudah menimbulkan resistensi ialah infeksi *Staphylococcus aureus*. *S. aureus* merupakan bakteri komensal yang sering menimbulkan penyakit lokal maupun sistemik. Infeksi biasanya karena kontaminasi luka seperti luka pascaoperasi atau pada

trauma. Bakteriemia akibat *S. aureus* dapat menyebabkan endokarditis, meningitis, osteomyelitis serta *toxic shock syndrome* yang dapat berujung kematian.

S. aureus merupakan bakteri Gram positif berbentuk bulat bergerombol, tidak bergerak dan tidak membentuk spora. Bakteri ini merupakan bakteri aerobik yang berkembang biak pesat pada suhu 37°C. *S. aureus*. Koloni berbentuk bulat, halus, dan mengkilat berwarna abu hingga kuning keemasan.

S. aureus menyebabkan penyakit melalui berbagai faktor virulensi. Faktor virulensi dapat berupa molekul kimiawi seperti peptidoglikan, asam teikoik dan protein A; enzim seperti katalase, koagulase, faktor penggumpal, hemolisin, dan *Panton-Valentine leukocidin* (PVL), ataupun toksin seperti *toxic shock syndrome toxin*, *enterotoxin*, dan *exfoliative toxin*. Koagulase melekat pada prothrombin dan memulai polimerisasi fibrin. Fibrin melekat pada permukaan *S. aureus* dan mengganggu ingesti oleh fagosit. Hemolysin dan PVL dapat memecah leukosit dengan melubangi membran sel sehingga meningkatkan permeabilitas kation.⁴

S. aureus dapat meningkatkan kerja faktor virulensi walau dalam kondisi sulit (terdapatnya respon imun, antibiotik). Kemampuan ini memudahkan *S. aureus* bertahan dalam aliran darah, menjangkau jaringan dalam, dan membentuk koloni baru. Asam teikoik dapat melekatkan *S. aureus* dan membentuk koloni pada nares, kulit dan mukosa yang rusak, serta pada alat implant. Koloni baru ini menimbulkan masalah dalam aliran darah. Toksin eksfoliatif, hemolysin, PVL dan enzim lainnya dapat melubangi sel. *S. aureus* dapat menghindari respon imun dengan mensekresikan protein anti-opsonin yang dapat mencegah fagositosis. Protein A pada permukaan sel *S. aureus* pun dapat mencegah fagositosis.²⁰

2.2 Makrofag

Makrofag adalah fagosit mononuklear jaringan yang berfungsi sebagai pertahanan utama tubuh terhadap invasi mikroorganisme ataupun molekul asing. Monosit yang bermigrasi ke berbagai jaringan berdiferensiasi menjadi makrofag spesifik jaringan. Makrofag yang matang dapat berukuran 5-10x lipat ukuran monosit. Makrofag dapat hidup dan menetap di dalam jaringan selama berbulan-bulan hingga ia diaktivasi.

Makrofag merupakan bentuk sel matur dari monosit yang hidup dalam jaringan ataupun hasil diferensiasi langsung dari monosit saat terdapat rangsangan. Makrofag menetap di jaringan dan dinamakan sesuai lokasi jaringan. Makrofag dapat hidup lama di jaringan dan bukan merupakan stadium akhir karena masih dapat membelah diri. Makrofag memiliki beberapa granul dan dapat melepas berbagai bahan seperti lisozim, komplemen, interferon, dan sitokin yang akan memberikan kontribusi dalam respon imun.

Makrofag jaringan memiliki beberapa fungsi penting dalam sistem imun seperti membunuh mikroba sebagai fungsi utama, mencerna sel mati, memakan dan mencerna antigen eksogen, partikel tidak larut, dan mengeksresi berbagai sitokin. Makrofag berperan pula sebagai *Antigen Presenting Cell* (APC) yang mempresentasikan antigen kepada limfosit T.^{5,21}

2.3 Fagositosis

Fagositosis merupakan proses aktif menggunakan energi yang memakan partikel ke dalam vesikel. Fagositosis terjadi karena interaksi fagosit dengan berbagai efektor endogen ataupun eksogen. Fagositosis dalam tubuh terdiri dari

beberapa fase yaitu kemotaksis, opsonisasi, ingesti, degranulasi, dan pembunuhan. Kemotaksis dilakukan oleh sitokin TNF, IL-1, dan IL-6 yang diproduksi oleh makrofag. Proses ini menarik makrofag serta neutrofil dan monosit darah ke lokasi infeksi. Opsonisasi dilakukan oleh berbagai protein komplemen dan antibodi yang diproduksi sel B. Opsonin menggunakan antibodi merupakan metode paling efektif, salah satunya karena adanya reseptor Fc γ RI milik fagosit yang memiliki afinitas yang tinggi terhadap antibodi IgG yang diproduksi sel B. Opsonisasi berfungsi untuk 'menandai' bakteri sehingga dapat meningkatkan aktivitas fagosit. Setelah bakteri atau partikel melekat pada fagosit, membran plasma fagosit 'memakan' bakteri ke dalam vesikel fagosom. Fagosom kemudian menyatu dengan lisosom membentuk fagolisosom. Fagolisosom memiliki tiga jenis molekul untuk membunuh bakteri di dalamnya yaitu *reactive oxygen species* (ROS), *nitrite oxide* (NO), dan enzim-enzim proteolitik. Peptida yang dibentuk dari protein mikroba yang dibunuh dipresentasikan kepada limfosit T untuk memulai respon imun adaptif. Untuk mengukur kemampuan fagositosis tubuh terdapat banyak indikator, diantaranya dapat digunakan aktivitas dan kapasitas fagositosis.^{5,21}

2.3.1 Aktivitas Fagositosis

Aktivasi makrofag dapat terjadi melalui beberapa jenis rangsangan seperti mikroba dan produknya, antigen, sel mati, membrane protein limfosit T, ataupun sitokin. Berbagai molekul ini berinteraksi dengan reseptor pada permukaan ataupun di dalam makrofag. Fungsi dari makrofag sangat bergantung pada molekul yang mengaktifkannya.

Makrofag dapat diaktivasi melalui beberapa jalur, yang terkait patogen dan terkait kerusakan pada jaringan. Molekul yang tergolong *Pathogen-Associated Molecular Patterns* (PAMPs) atau pola yang terkait patogen merupakan bagian atau produksi dari patogen. Tiap mikroorganisme seperti virus, bakteri Gram positif, bakteri Gram negatif, dan jamur mengekspresikan PAMPs yang berbeda. Contohnya seperti RNA *double strain* pada virus, protein *N-formylmethionine* pada bakteri, serta kompleks lipid dan karbohidrat seperti LPS pada bakteri gram negatif, asam lipoteikoik pada bakteri gram positif, dan residu oligosakarida dengan terminal manosa yang diproduksi mikroorganisme tetapi tidak pada manusia. Molekul-molekul ini terdapat pada mikroba dan tidak dapat dilepaskan ataupun dihilangkan karena penting untuk kelangsungan hidup mikroba tersebut. *Damage-Associated Molecular Patterns* (DAMPs) dapat terbentuk dari kerusakan sel akibat infeksi ataupun akibat racun, trauma dan penyebab lainnya. DAMPs biasanya tidak diproduksi oleh sel yang mengalami apoptosis. Beberapa contoh PAMPs dan DAMPs dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2 Contoh PAMPs dan DAMPs

<i>Pathogen-Associated Molecular Patterns</i> (PAMPs)		Mikroba
Asam Nukleat	ssRNA	Virus
	dsRNA	Virus
	CpG	Virus, bakteri
Protein	Pilin	Bakteri
	Flagellin	Bakteri
Lipid dinding sel	LPS	Gram negatif
	Asam Lipoteikoik	Gram positif
Karbohidrat	Mannan	Jamur, bakteri
	Glukan	Jamur

Tabel 2 Contoh PAMPs dan DAMPs (lanjutan)

<i>Damage-Associated Molecular Patterns (DAMPs)</i>	
Protein terinduksi stres	HSPs
Kristal	Monosodium urat
Protein nuclear	HMGB1

Makrofag memiliki berbagai reseptor yang berfungsi sebagai pendeteksi bakteri ataupun molekul perangsang lainnya. Beberapa jalur reseptor tersebut seperti *Toll-like receptors (TLRs)*, *NOD-like receptors (NLRs)*, *RIG-like receptors (RLRs)*, *Cytosolic DNA sensors (CDSs)*, *C-type lectin-like receptors (CLRs)*, *Scavenger receptors*, dan *N-formyl met-leu-phe receptors*. TLRs dan tiga reseptor terakhir berada pada membrane plasma makrofag. TLRs memiliki jenis ligan yang beragam seperti LPS dan asam lipoteikoik yang terdapat pada dinding sel bakteri Gram negatif dan Gram positif berturut-turut. TLRs merupakan reseptor yang paling berperan dalam fagositosis bakteri. Sementara itu, NLRs, RLRs dan CDSs berada di dalam sel makrofag tepatnya pada sitosol sel. Reseptor di dalam sitosol ini penting untuk mendeteksi mikroba yang dapat keluar dari vesikel fagosit dan bersembunyi di dalam sitosol. Aktivasi melalui TLRs ataupun ketiga reseptor sitosol dapat merangsang produksi interferon tipe 1 (IFN- α dan IFN- β) oleh makrofag. Contoh reseptor dan ligannya dapat dilihat dalam tabel 3.

Tabel 3 Pola Deteksi Molekul pada Sistem Imun Bawaan

Reseptor	Lokasi	Contoh	Ligan PAM/DAMP
TLRs	Membran plasma dan membrane endosom seldendrit, fagosit, sel B, sel endotel dan sel lainnya	TLRs 1-9	Berbagai molekul mikroba seperti LPS dan peptidoglikan bakteri, asam nukleat virus

Tabel 3 Pola Deteksi Molekul pada Sistem Imun Bawaan (lanjutan)

Reseptor	Lokasi	Contoh	Ligan PAM/DAMP
NLRs	Sitosol fagosit, sel epitel	NOD1/2 NLRP <i>family</i>	Peptidoglikan bakteri Kristal intraseluler
RLRs	Sitosol fagosit	RIG-1, MDA-5	RNA virus
CDSs	Sitosol berbagai sel	AIM2 STING- associated CDSs	DNA bakteri dan virus
CLRs	Membran fagosit	plasma Reseptor manosa Dektin	Karbohidrat dengan terminal manosa dan fruktosa pada permukaan mikroba
<i>Scavenger receptors</i>	Membran fagosit	plasma CD36	Diacilgliseril mikroba
<i>N-Formyl met-leu-phe receptors</i>	Membran fagosit	plasma FPR, FPRL1	Peptida yang mengandung residu <i>N-formylmethionyl</i>

Makrofag yang teraktivasi akan memproduksi sitokin-sitokin yang akan memicu inflamasi akut, menarik neutrofil dan monosit, dan selanjutnya memacu diferensiasi limfosit. Sitokin proinflamasi utama yang diproduksi ialah TNF, IL-1, dan IL-6. TNF, IL-1, maupun IL-6 diproduksi atas rangsangan oleh PAMPs ataupun DAMPs. TNF dapat merangsang peningkatan produksi IL-1 dan IL-6, dan IL-1 dapat merangsang produksi IL-6. Ketiga sitokin ini memicu respon inflamasi akut lokal dan sistemik serta memicu produksi mediator inflamasi lainnya. Sitokin lain pun diproduksi oleh makrofag seperti IL-12 yang merangsang produksi IFN- γ oleh sel NK dan sel T, meningkatkan sel NK dan CTL-mediated cytotoxicity, serta merangsang diferensiasi sel T_H1. Tidak jauh

berbeda, IL-15 meningkatkan produksi IFN- γ dan berperan sebagai faktor tumbuh dan hidup dari sel NK dan sel T. Respon inflamasi akut akan menarik neutrofil dan monosit dalam darah keluar menuju jaringan melalui peningkatan adhesi terhadap sel endotel dan peningkatan pergerakan sel.^{5,21}

2.3.2 Kapasitas Fagositosis

Kapasitas fagositosis digunakan untuk mengukur jumlah kuman yang dapat difagosit oleh makrofag. Terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi kapasitas fagositosis baik meningkatkan ataupun menurunkan. Beberapa faktor yang dapat meningkatkan kapasitas fagositosis seperti keberadaan antigen, luas membran plasma fagosit, keberadaan opsonin, dan sensitivitas reseptor. Sedangkan faktor yang dapat menurunkan diantaranya keberadaan radikal bebas, infeksi *Mycobacterium tuberculosis* atau bakteri lainnya yang dapat menghindari fagositosis, dan faktor lainnya yang dapat menjadikan tubuh imunodefisiensi.^{5,21,22}

2.4 Kayu manis (*Cinnamomum burmanii*)

Kayumanis (*Cinnamom* sp) termasuk famili Lauraceae dengan 54 spesies dan 12 jenis diantaranya ada di Indonesia. Jenis kayu-manis yang banyak ditanam di Indonesia adalah *C. burmanii*, *C. zeylanicum* dan *C. cassia*. Disamping itu juga banyak tumbuh liar di hutan-hutan jenis *C. massoi* dan *C. culilawan*. Kelima jenis kayumanis ini dapat menghasilkan minyak atsiri, terutama dari kulit dan daunnya. Spesies yang sudah berkembang di Indonesia dalam perdagangan yaitu *C burmanii*²³.

Kayu manis spesies *C. burmanii* merupakan spesies kayu manis yang banyak tumbuh di Indonesia. Pertanaman kayu manis tersebar di 19 provinsi, dengan Sumatra Barat dan Jambi sebagai produsen utama (80%). Luas areal pertanaman mencapai 135.000 ha dengan produksi 103.594 ton/tahun. Bagian

kayu manis yang banyak digunakan ialah kulit batang. Secara tradisional, pemanfaatan kulit batang kayu manis masih terbatas sebagai bumbu dapur. Namun seiring berkembangnya teknologi, kayu manis telah digunakan sebagai campuran makanan dan minuman, obat herbal, kosmetik, dan aroma terapi⁷.



Gambar 1 Pohon Kayu Manis

Komponen utama minyak atsiri dari kulit batang *C. burmannii* adalah *trans-cinnamaldehyde* (60,72%), *eugenol* (17,62%) dan kumarin (13,39%)⁸. *Cinnamaldehyde* diketahui memiliki potensi sebagai antibakteri, antitumor, antioksidan, antidiabetik, antihelmintik, antimutagenik, dll¹¹.



Gambar 2 Kulit Batang Kayu Manis

Penelitian mengenai aktivitas antibakteri dari ekstrak kulit batang *C. burmannii* dari berbagai spesies maupun senyawa *cinnamaldehyde* murni telah

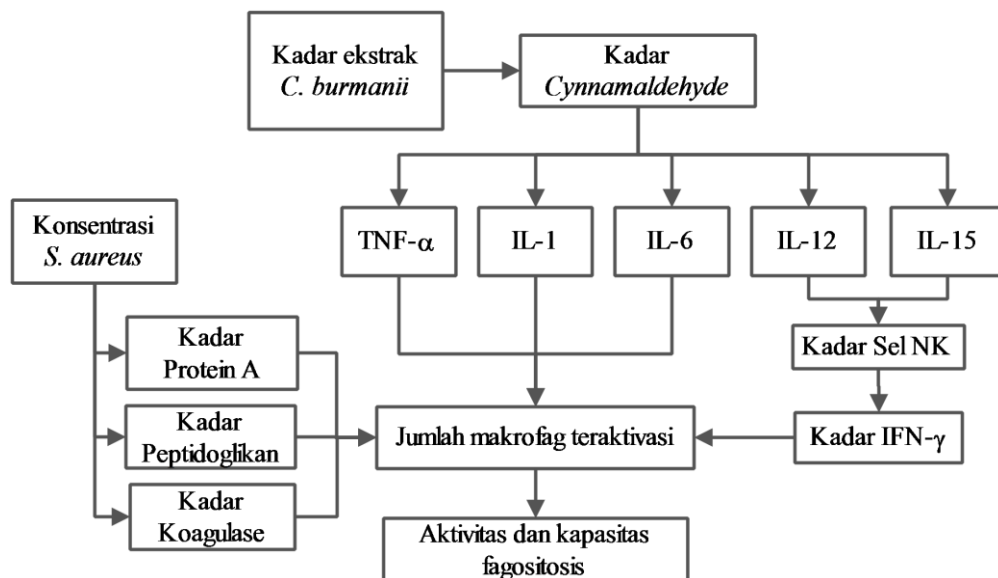
banyak dilakukan. Minyak atsiri *C. burmanii* secara umum memiliki aktivitas antibakteri yang tinggi terhadap bakteri gram positif dan beberapa gram negatif. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak *Cinnamomum verum* memiliki diameter hambat yang lebih luas dibandingkan ampisillin, cefotaxime, ceftazidime, dan amikacin untuk *Staphylococcus* koagulase negatif, *S. aureus*, dan *Enterococcus spp*⁹. Minyak atsiri *Cinnamomum cassia* dapat menghambat pertumbuhan 6 strain non-O157 *Shiga Toxin-producing Eschericia coli* walau dengan konsentrasi rendah 0,025% (v/v)¹⁰. Terhadap *Pseudomonas putida*, ekstrak daun *Cinnamomum cassia* menunjukkan MIC 0,05% dan MTC 0,025% sedangkan ekstrak kulit batang *Cinnamomum verum* menunjukkan MIC 0,1% dan MTC 0,05%²⁴.

Beberapa penelitian secara *in vitro* menemukan bahwa *cinnamaldehyde* menghambat adesi monosit yang diinduksi TNF α kepada sel endotel dan menekan ekspresi dari molekul adesi sel.¹² *Cinnamaldehyde* juga dapat menghambat sekresi IL-1 β dan TNF α dalam *lipopolysaccharide* (LPS). Masih secara *in vitro*, *cinnamaldehyde* tidak menunjukkan aktivitas sitotoksik terhadap makrofag tetapi dapat menurunkan proliferasi makrofag.¹³ Namun, penelitian lainnya secara *in vivo* memberikan hasil bahwa ekstrak kulit batang *C. burmanii* memiliki efek imunostimulator yaitu dengan peningkatan jumlah sel B220 dan sel BB220 - Imunoglobulin G, peningkatan jumlah sel T CD4, sel T CD8, dan sel T CD4 yang mengekspresikan IFN- γ , serta peningkatan GR-1 yang mengekspresikan IFN γ dan aktivitas fagositosis makrofag.¹⁴⁻¹⁷

2.5 Levamisol

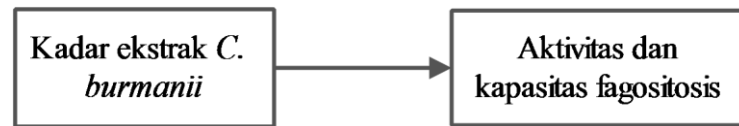
Levamisol merupakan derivat tetramizol yang penggunaan utamanya sebagai obat cacing tetapi memiliki efek imunostimulator. Levamisol dapat meningkatkan efek antigen, mitogen, limfokin, dan faktor kemotaktik untuk merangsang limfosit B, limfosit T, granulosit, monosit, dan makrofag. Obat ini telah digunakan untuk pengobatan arthritis rheumatoid, penyakit virus, serta LES. Levamisol sebagai terapi adjuvan dapat meningkatkan efek 5-fluorourasil pada terapi kanker kolon. Pada penelitian terhadap mencit jantan galur *Swiss*, levamisol dosis 2,5 mg/kgBB dapat meningkatkan aktivitas dan kapasitas fagositosis. Efek samping yang dapat ditimbulkan berupa mual, muntah, manifestasi alergi hingga agranulositosis.^{18,21,26-27}

2.6 Kerangka teori



Gambar 3 Kerangka teori

2.7 Kerangka konsep



Gambar 4 Kerangka konsep

2.8 Hipotesis

2.8.1 Hipotesis mayor

Berdasarkan tinjauan pustaka diatas, maka hipotesisi mayor dari penelitian ini ialah pemberian ekstrak kulit batang *C. burmanii* meningkatkan aktivitas dan kapasitas fagositosis pada tikus wistar jantan yang diinduksi *S. aureus*.

2.8.2 Hipotesis minor

Adapun hipotesis minor dari penelitian ini diantaranya

- 1) Terdapat pengaruh aktivitas dan kapasitas fagositosis makrofag pada tikus wistar jantan yang diinduksi *S. aureus* antara tiap dosis ekstrak kulit batang *C. burmanii*
- 2) Terdapat pengaruh aktivitas dan kapasitas fagositosis tikus wistar jantan yang diinduksi *S. aureus* antara pemberian ekstrak kulit batang *C. burmanii* dengan kontrol negatif
- 3) Terdapat pengaruh aktivitas dan kapasitas fagositosis tikus wistar jantan yang diinduksi *S. aureus* antara pemberian ekstrak kulit batang *C. burmanii* dengan kontrol positif (pemberian levamisol)