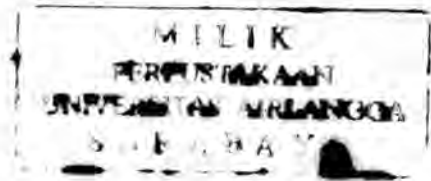


BAB 1

PENDAHULUAN



1.1 Latar Belakang Masalah

Tuberkulosis adalah penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri ganas *Mycobacterium tuberculosis* yang dapat menyerang pada beberapa bagian tubuh manusia, tetapi 80-90 % dari semua kasus yang tidak terinfeksi HIV, TBC-nya menyerang paru-paru (Rom and Garay, 2004). Penyakit ini lebih banyak menyerang usia muda dan dewasa daripada penyakit infeksi yang lain (Barmawi, 2004).

Tuberkulosis membunuh hampir 2-3 juta masyarakat di dunia per tahun. Diperkirakan sepertiga penduduk dunia telah terinfeksi kuman *Mycobacterium Tuberculosis* yang mungkin berkembang menjadi penyakit tuberkulosis dimasa yang akan datang. Pertambahan kasus baru mencapai jumlah sembilan juta kasus dan apabila tidak dikendalikan maka dalam 20 tahun mendatang tuberkulosis akan membunuh 35 juta orang Pada tahun 2005 terdapat sembilan juta kasus baru dan kira-kira 1,6 juta kematian akibat tuberkulosis, termasuk 219.000 kematian akibat koinfeksi dengan HIV (WHO, 2006).

Meskipun terjadi peningkatan dalam *incidensi rate*, namun secara global angka prevalensi tuberkulois telah menurun dari 309 menjadi 245 per 100.000 penduduk (WHO, 2006).

Proporsi tuberkulosis di Indonesia dalam peta dunia, menurut laporan WHO tahun 1999, Indonesia merupakan “penyumbang” angka insidensi tuberkulosis terbesar ketiga di dunia, sesudah India dan China dan juga dilaporkan bahwa di Indonesia setiap empat menit terdapat satu penderita meninggal akibat

tuberkulosis (Barmawi, 2004; Dutha dkk., 2005; Enarson *et al.*, 2004). Diperkirakan setiap hari terjadi sekitar 300 kematian akibat tuberkulosis dan setiap tahunnya kasus baru bertambah sebanyak seperempat juta dan masih menjadi masalah di semua wilayah di Indonesia (WHO, 2006).

Pada tahun 1993, WHO mendeklarasikan kegawat daruratan global tuberkulosis. Fakta bahwa tuberkulosis sebagai ancaman kegawatan dunia antara lain: tahun ini lebih banyak penderita tuberkulosis yang meninggal daripada tahun lalu; dalam satu detik ada seorang terinfeksi tuberkulosis; setiap 10 detik seorang akan meninggal; setiap tahun satu persen penduduk dunia terinfeksi dengan *Mycobacterium tuberculosis* (Barmawi, 2004).

Basil *Mycobacterium tuberculosis* sangat menular, dan telah menyebabkan sepertiga atau sekitar dua milyar penduduk dunia menderita penyakit tuberkulosis dan sekitar delapan juta sampai 10 juta kasus tuberkulosis aktif terjadi setiap tahunnya (WHO, 1999; Vincenti *et al.*, 2003). Apabila seorang penderita, dengan alasan apapun, tidak berobat, dalam waktu setahun akan menularkan antara 10 – 15 ke orang lain. Hal yang mengerikan, penyakit tuberkulosis seperti influenza, ditularkan lewat udara, menginfeksi orang lain melalui batuk, dan percikan ludah. Berbicara dengan penderita tuberkulosis paru dapat menularkan ke lawan bicara. Bahkan dengan bersinpun, mudah sekali menularkan ke orang lain. Tuberkulosis membunuh penderita dengan perlahan-lahan, menggerogoti, melubangi paru, dengan akibat kematian yang sangat mengerikan (Barmawi, 2004).

Penyakit tuberkulosis ada hubungannya dengan penyakit yang mulai mewabah di dunia yaitu HIV (*Human Immunodeficiency Virus*), termasuk di

Indonesia. WHO tahun 1997 melaporkan adanya epidemi HIV merupakan beban bagi penderita tuberkulosis. Di dunia sekitar 2 milyar orang terinfeksi basil *Mycobacterium tuberculosis*, 16 juta terinfeksi HIV. HIV merupakan faktor penunjang memburuknya penyakit tuberkulosis dan menambah resiko berkembangnya tuberkulosis aktif (WHO, 1998; Abbas *et al.*, 2000; Shin, 2002; Barmawi, 2004).

Penyakit tuberkulosis mempunyai ciri khas menyerang usia muda, 60 % menyerang wanita, sebagian besar anak-anak. Akibat penyakit tuberkulosis menyebabkan lebih banyak anak terkena serangan tuberkulosis berat yang menyerang otak dan tulang belakang, banyak anak menjadi yatim piatu dari pada penyakit yang lain (WHO,1998).

Penyakit tuberkulosis menyerang sebagian besar kelompok usia kerja produktif, kelompok ekonomi lemah, dan berpendidikan rendah. Sebagian penderita tuberkulosis beranggapan bahwa penyakit yang diderita tidak dapat disembuhkan yang pada akhirnya mempengaruhi perilaku pengobatan. Penderita enggan berobat, atau berobat tidak teratur, sehingga meningkatkan angka MDR (Barmawi, 2002; WHO,1998).

Penderita dengan terapi yang tidak teratur, akan mejadi sumber penularan yang berbahaya, karena basil *Mycobacterium tuberculosis* yang ditularkannya bersifat kebal obat ganda yang dikenal engan istilah *multi drug resistant* (MDR). Hal ini berarti seseorang yang tertular akan menjadi kebal terhadap obat anti tuberkulosis (OAT) (Barmawi, 2004). Diperparah lagi dengan keterlambatan diagnosis yang menyebabkan infeksi tuberkulosis nosokomial yang

sensitive yaitu tuberkulosis yang tahan terhadap berbagai obat (Enarson *et al.*, 2004).

Saat ini telah terjadi *multi drug resistant* (MDR) di beberapa negara antara lain telah terjadi resistensi terhadap genotype Beijing TB yaitu di Denmark (resisten terhadap rifampin dan ethambutol), Finlandia (resisten terhadap rifampin dan streptomycin), Netherlands (resisten terhadap streptomycin) (Judith, 2006). Dilaporkan juga bahwa isolate California menunjukkan resistensi terhadap isoniazid, rifampin, ethambutol dan streptomycin (Ching *et al.*, 2006).

Setiap tahun terjadi 425.000 kasus MDR tuberkulosis dengan prevalensi MDR TB terjadi di negara Eropa Timur dan beberapa provinsi di China. Semua wilayah melaporkan setidaknya ada satu atau lebih Negara yang memiliki prevalensi MDR –TB sebesar 5%-6% dari kasus baru yang terjadi.

Bahkan beberapa wilayah di dunia menghadapi meluasnya resisten obat yang mengancam keberhasilan upaya penanggulangan tuberkulosis dan mengakibatkan rendahnya tingkat kesembuhan. Diperkirakan terjadi setengah juta kasus baru dan kasus lama yang telah diobati. Setidaknya dilaporkan di 139 dari 309 negara yang disurvei oleh WHO dan mitra-mitranya. Adapun di Indonesia belum diketahui berapa jumlah pasien tuberkulosis resisten secara nasional (Depkes RI, 2006).

Dunia tidak hanya menghadapi MDR TB, bahkan saat ini telah terjadi kejadian luar biasa tentang XDR (*Extreme/Extensive Drug Resistance*) di Afrika selatan, suatu bentuk tuberkulosis yang resisten pada obat primer dan sekunder yang mematikan pasiennnya dalam waktu 25 hari. Data lain XDR sedikitnya 2 dari 53 pasien yang meninggal dengan XDR TB dalam 25 hari di Afrika Selatan

adalah petugas kesehatan (dokter dan perawat), 18.000 sampel yang diamati CDC dan WHO didapat 20% adalah MDR dan 2% XDR, 4% dari MDR TB di Amerika Serikat adalah XDR, 19 % dari MDR di Latvia adalah XDR dan 15 % dari MDR di Korea Selatan adalah XDR (Aditama, 2006).

Extreme/Extensive Drug Resistance yaitu suatu kondisi MDR ditambah resistensi terhadap tiga atau lebih obat lini kedua. *Extreme/Extensive Drug Resistance* amat serius dan akan lebih mendekatkan pasien ke bakteri yang belum ada obatnya sama sekali.

Patogenesis tuberkulosis paru dimulai sejak terjadinya infeksi pada organ paru akibat menghirup partikel basil *Mycobacterium tuberculosis (nucleus)* yang berukuran 1-5 μm yang berasal dari penderita tuberkulosis yang keluar melalui batuk, berbicara, maupun bersin (Freeman, 1985; Warren, 1992). Kuman yang mencapai permukaan alveolus melalui inhalasi merupakan suatu unit yang terdiri dari satu sampai tiga *Mycobacterium tuberculosis* yang akan ditangkap oleh makrofag. Kuman yang lebih besar cenderung tertahan di saluran hidung dan cabang bronchus (Frieden *et al.*, 2003). Diperkirakan 5-15 % individu yang terinfeksi basil *Mycobacterium tuberculosis* akan berkembang menjadi penderita tuberkulosis aktif, yang mempunyai variasi dalam hubungannya dengan waktu setelah infeksi primer atau beberapa tahun kemudian melalui reaktivasi (Barnes dkk, 1991). Pada 5 - 15 % kasus individu akan berkembang menjadi penderita tuberkulosis paru diduga sebagai konsekuensi adanya defek sel T dan fungsi makrofag atau kedua-duanya sehingga kemampuan fagositosis dan daya bunuh terhadap basil *Micobacterium tuberculosis* menjadi lemah (Barnes dkk., 1991; Warren, 1992).

Mycobacterium tuberculosis adalah patogen intraseluler pada manusia yang mampu menghindar atau bertahan dari proses daya bunuh (*killing*) intraseluler oleh makrofag (Roitt *et al.*, 2001) dan apabila *Mycobacterium tuberculosis* ini tetap bertahan hidup, maka respon inang selanjutnya dimanifestasikan melalui pembentukan granuloma yang bertindak membuat dinding batas atau melokalisasi daerah infeksi (Rom and Garay, 2001). *Mycobacterium tuberculosis* dapat mengeluarkan suatu molekul yang menghambat fusi fagosom dan lisosom (Abbas *et al.*, 2001). Respon imunologis oleh makrofag, fagositosis dan daya bunuh intraseluler sebagai bentuk pertahanan tubuh pertama terhadap infeksi bakteri diharapkan dapat memusnahkan *Mycobacterium tuberculosis* dalam rangka membantu pengobatan serta menurunkan insiden penyakit ini, akan tetapi efektifitas respon imun makrofag tersebut masih menjadi suatu diskusi (Roitt *et al.*, 2001; Betjes, 1994).

Daya bunuh intraseluler dan fagositosis oleh makrofag merupakan bentuk pertahanan pertama tubuh terhadap infeksi berbagai macam bakteri (Betjes, 1994). Peningkatan daya bunuh intraseluler dan fagositosis dari makrofag diharapkan dapat menurunkan insiden penyakit tuberkulosis. *Mycobacterium tuberculosis* adalah patogen intrasel pada manusia yang mampu menghindar atau bertahan dari proses pembunuhan intraseluler oleh makrofag normal atau istirahat. Karena *tuberculosis* menginvasi sel maka serum antibodi dan komplemen tidak bisa membunuh bakteri ini (Parslow *et al.*, 2001). *Mycobacterium tuberculosis* mampu hidup dan melangsungkan pertumbuhannya dalam sitoplasma makrofag setelah bakteri tersebut masuk melalui proses fagositosis (Roitt *et al.*, 1985). Respons seluler utama terhadap *Mycobacterium tuberculosis* adalah fagositosis

oleh makrofag, tetapi organisme ini dapat hidup intraseluler bahkan untuk periode yang lebih lama. Pada ingesti, ada suatu rangsangan simultan peristiwa seluler (hipersensitifitas lambat) dengan menghasilkan produk-produk seperti *Migration Inhibiting Factor* (MIF) dan faktor kemotaktik yang dapat meningkatkan aktivitas makrofag lebih lanjut, tetapi jika *Mycobacterium tuberculosis* ini tetap bertahan hidup, respon inang selanjutnya dimanifestasikan melalui pembentukan granuloma yaitu histosit termodifikasi yang dikelilingi oleh limfosit dan kapiler (Bellanti, 1993; Enarson *et al.*, 2004). *Mycobacterium tuberculosis* dapat mengeluarkan molekul yang menghambat fusi lisosom dengan fagosom. (Abbas *et al.*, 2000; Roitt *et al.*, 2001). Molekul yang dikeluarkan oleh *Mycobacterium tuberculosis* adalah ammonia (Palilingan, 2001).

Makrofag yang teraktivasi pada akhirnya mempunyai kemampuan untuk membunuh sebagian besar organisme yang telah difagositosis (Greenwood and Whittle, 1981).

Pengobatan tuberculosis di Indonesia , sesuai dengan program dari WHO dan IUATLD (*International Union Tuberculosis and Lung Disease*) merekomendasikan paduan OAT standar, yaitu obat kategori pertama (*first line drugs*) diantaranya isoniazid, pirazinamid, rifampisin, ethambutol dan streptomisin. Obat garis kedua (*second line drugs*) diantaranya etionamid, sikloserin, asam amino salisilat, rifabutin, quinolon, kapreomisin, viomisin dan tiasetazon (Depkes, 2000; Somaraju, 2002).

Masalah besar dalam pengobatan adalah XDR, yang bukan saja mematikan amat cepat dan juga tidak ada obat yang tersedia. Dalam hal pengobatan mungkin tidak mudah bagi Indonesia untuk menemukan obat

baru, tetapi bukan tidak mungkin dicari kemungkinan dari obat tradisional yang dapat digali lebih lanjut (Aditama, 2006).

Karena pada 5 - 15 % kasus individu yang berkembang menjadi penderita tuberkulosis paru diduga sebagai konsekuensi adanya defek sel T dan fungsi makrofag atau kedua-duanya sehingga kemampuan fagositosis dan daya bunuh terhadap basil *Mycobacterium tuberculosis* menjadi lemah, maka penggunaan imunoterapi tambahan mulai menarik perhatian untuk mengatasi tuberkulosis, terutama karena peningkatan persentase penderita yang resisten terhadap obat antituberkulosis. Perlu pemahaman yang lebih baik terhadap patogenesis tuberkulosis jika ingin mengembangkan terapi baru untuk menanggulangi tuberkulosis (Lucy *et al.*, 2002; Rom and Garay, 2004).

Daya tarik terhadap aspek imunologi dari penyakit infeksi tuberkulosis terus berlanjut, terutama karena adanya kasus HIV yang meningkat (Shin, 2002; Vincenti *et al.*, 2003). Meluasnya kejadian gangguan fungsi sistim imun membutuhkan pendekatan baru. Pengaturan respons imun (imunomodulasi), khususnya peningkatan respons imun (imunopotensiasi), dengan menggunakan bahan alam atau sintetik sebagai imunomodulator merupakan alternatif yang menarik untuk pencegahan dan pengobatan penyakit infeksi (Azuma dan Jolles, 1987). Imunomodulator diharapkan dapat digunakan untuk memperbaiki atau membangun kembali (imunorestorasi) sistim imun yang kurang sempurna atau mengalami gangguan fungsinya (Morahan *et al.*, 1982; Dimov *et al.*, 1991).

Imunomodulator ada yang bersifat spesifik dan ada yang bersifat nonspesifik. Imunomodulator spesifik misalnya antibodi monoklonal dan imunomodulator non spesifik misalnya vaksin BCG dan *Corynebacterium*

parvum, yang telah dimanfaatkan secara klinis. Imunomodulator nonspesifik ini dapat meningkatkan respons makrofag terhadap infeksi serta kanker karena adanya sekresi interleukin oleh limfosit T, misalnya IFN- γ dan TNF α (Miller, 1991; Abbas *et al.*, 2000). Hanya saja diperlukan pemaparan berulang untuk menghasilkan interleukin yang mampu mengaktivasi makrofag. Tanpa adanya pemaparan berulang maka dalam tubuh tidak akan dijumpai limfosit T spesifik teraktivasi yang mensekresi interleukin yang mengaktivasi makrofag, tetapi hanya ada sel memori yang tidak mensekresi interleukin (Roitt *et al.*, 2001).

Dengan pertimbangan tersebut, maka imunomodulator yang berasal dari alam merupakan alternatif menarik untuk dipelajari dan dikembangkan, selain karena tingkat ketersediaannya yang tinggi, juga pemberian dapat dilakukan setiap hari. Contoh Imunomodulator bahan alam adalah andrographolide. Andrographolide didapat dari tanaman sambiloto (*andrographis paniculate*) yang termasuk famili Acanthaceae (Mc Adam, 2006).

Andrographis paniculata adalah tanaman obat tradisional yang digunakan di kawasan Asia dan China untuk pengobatan infeksi virus dan rheumatoid arthritis dimana dilaporkan dapat menghambat produksi ROS pada Neutrophils dan NO pada makrofag yang diinduksi dengan LPS (Chiou *et al.*, 1998; Shen *et al.*, 2002).

Andrographolide adalah suatu diterpenoid lactone mempunyai rumus molekul $C_{20}H_{30}O_5$ dengan berat molekul 350,45. Andrographolide merupakan komponen terbanyak dari *Andrographis paniculata* (Lu *et al.*, 1981) yang disari dari tanaman *Andrographis paniculata*. Gugus lakton akan berikatan dengan rantai karbohidrat dari protein transmembran pada permukaan sel T, akibatnya sel

T helper menjadi aktif untuk selanjutnya mensekresikan sitokin yang dapat mengaktifasi sel lain seperti makrofag dan neutrofil.

Innate Immunity salah satunya diperankan oleh makrofag. Makrofag memiliki berbagai fungsi dalam tubuh, seperti fagositosis, pelepasan enzim, menghasilkan radikal bebas, dan sebagai mediator dalam proses inflamasi. Percobaan pada mice menunjukkan bahwa *Andrographis paniculata* sebagai stimulator system imun yang potensial meningkatkan kemampuan daya bunuh makrofag (Mc Adam, 2006).

Beberapa penelitian lain menunjukkan bahwa tanaman *Andrographis paniculata* bersifat menurunkan panas, anti demam, anti diare, antiinflamasi, anti tumor dan hepatoprotektor. Penelitian lain menunjukkan bahwa *Andrographis paniculata* sangat efektif mengobati infeksi dan merangsang fagositosis, mempunyai efek hipoglikemik, hipotermia, antibakteri, diuretik, analgesik, meningkatkan kekebalan tubuh seluler serta meningkatkan aktivitas kelenjar-kelenjar tubuh (Lewis, 2003; Winarto, 2003).

Andrographolide dapat meningkatkan produksi IFN- α , IFN- γ pada PBMCs dan juga dapat meningkatkan kemampuan fagositosis peritoneal makrofag guinea pig untuk memfagositosis eritrosit ayam (Peng et al., 2002). Andrographolide berkasiat sebagai anti inflamasi (Xia et al., 2005). Andrographolide dapat menghambat perkembangbiakan beberapa potongan sel kanker secara *in vitro* (Rajagopal et al., 2003). Telah dilaporkan pula bahwa Andrographolide dapat berfungsi sebagai imunostimulan (Puri et al., 1993) hingga bisa dikatakan bahwa Andrographolide mempunyai aktivitas farmakologi

yang meyakinkan sebagai kandidat dalam pengobatan immunomodulator (Kumar *et al.*, 2004).

Beberapa praktisi, serta keluarga secara turun menurun menggunakan *Andrographis paniculata* atau campurannya untuk pengobatan: tipus, borok, keracunan, demam, gatal-gatal, digigit serangga atau ular berbisa, disentri, kencing manis, eksema, radang telinga, radang usus buntu, radang amandel, radang saluran kencing, radang kantung empedu, radang vagina, radang payudara, antikanker (kanker tulang, otak, payudara), tuberkulosis paru, gangguan prostat, masuk angin, kencing nanah, anti malaria, keputihan, asma menahun (Widyawaruyanti, 1999; Marianto, 2003; Winarto, 2003).

Sampai saat ini pengaruh *Andrographolide* terhadap kemampuan daya bunuh makrofag terhadap *Micobacterium tuberculosis* intraseluler pada kultur in vitro belum diketahui. Berdasarkan beberapa penelitian tentang pengaruh immunomodulator *Andrographolide*, diduga bahwa *Andrographolide* ini mampu mengaktivasi makrofag, sehingga kemampuan daya bunuh intraseluler meningkat terhadap *Mycobacterium tuberculosis*, yang selanjutnya *Andrographolide* dapat digunakan sebagai pengobatan alternatif dan komplemen (*CAM = complementary and alternative medicine*) (Rajagopal *et al.*, 2003), untuk pengobatan dan pencegahan penyakit tuberkulosis dengan meningkatkan daya tahan tubuh penderita dengan gangguan fungsi sistem imun.

1.1 Rumusan Masalah

Apakah pemberian imunomodulator Andrographolide berpengaruh terhadap kemampuan daya bunuh intraseluler makrofag pada *Mycobacterium tuberculosis*, pada kultur *in vitro* ?.

1.2 Tujuan Penelitian

1.2.1 Tujuan umum

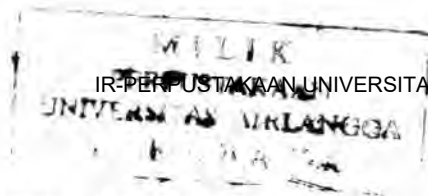
Mengetahui pengaruh imunomodulator Andrographolide terhadap kemampuan daya bunuh intraseluler makrofag pada *Mycobacterium tuberculosis*, secara *in vitro*.

1.2.2 Tujuan Khusus

- a. Membuktikan bahwa kemampuan daya bunuh intraseluler makrofag pada *Mycobacterium tuberculosis* yang diberi imunomodulator Andrographolide, lebih tinggi daripada daya bunuh makrofag tanpa pemberian Andrographolide, secara *in vitro*.
- b. Membuktikan bahwa waktu makrofag membunuh *Mycobacterium tuberculosis* yang diberi imunomodulator Andrographolide, lebih cepat daripada waktu makrofag membunuh *tuberculosis* tanpa pemberian Andrographolide, secara *in vitro*.

1.3 Manfaat Penelitian

1.3.1 Manfaat bagi perkembangan Ilmu Pengetahuan dan Teknologi



Mengungkap informasi tentang pengaruh pemberian imunomodulator Andrographolide, khususnya terhadap kemampuan daya bunuh intraseluler makrofag pada *Mycobacterium tuberculosis*, secara *in vitro*.

1.3.2 Manfaat untuk penggunaan praktis

Sebagai dasar penggunaan Andrographolide untuk pengobatan komplemen dan pencegahan dengan meningkatkan daya tahan tubuh penderita yang mengalami gangguan fungsi sistem imun.