

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Tuberkulosis (TB) adalah penyakit infeksi yang disebabkan oleh *M. tuberculosis*. Tuberkulosis sampai saat ini masih menjadi masalah kesehatan masyarakat yang serius di seluruh negara di dunia. Lebih dari 2 miliar orang atau sekitar sepertiga dari penduduk dunia diperkirakan terpapar *M. tuberculosis*, dengan gambaran klinik yang sangat bervariasi dari gejala ringan hingga TB yang berat. Delapan sampai dua belas juta kasus baru terjadi setiap tahun dengan angka kematian dua sampai tiga juta pertahun. Gambaran seperti ini menjadikan TB merupakan penyakit infeksi dengan angka kematian tertinggi di dunia. Hampir 75% infeksi ini menyerang kelompok usia produktif kerja yaitu umur 15 sampai 50 tahun, sehingga dapat mengakibatkan kerugian ekonomi dari suatu Negara (Depkes RI, 2007; WHO, 2011).

Prevalensi dan angka kematian TB secara global dilaporkan mulai turun beberapa tahun terakhir, tetapi di beberapa wilayah masih menunjukkan peningkatan kasus yaitu di kawasan Asia Tenggara, Afrika dan Mediterania Timur. Faktor utama peningkatan ini terkait dengan peningkatan kasus *Human Immunodeficiency virus* (HIV), resistensi obat (*drug-resistant*) dan kurangnya kepatuhan pasien dengan kemoterapi (Chopra *et al.*, 2003; WHO, 2011).

Insiden penderita tuberkulosis di Indonesia saat ini menempati peringkat ke lima di dunia setelah India, Cina, Afrika Selatan, dan Nigeria (WHO, 2010). Insiden semua kasus TB di Indonesia adalah 450.000 orang atau 189 per 100.000 penduduk dengan prevalensi semua kasus TB adalah 690.000 orang atau 289 per

100.000 penduduk, dan jumlah kematian akibat TB adalah 64.000 orang atau 27 per 100.000 penduduk (WHO, 2011).

Survei Kesehatan Rumah Tangga (SKRT) tahun 2004, menempatkan tuberkulosis sebagai penyebab kematian ketiga terbesar setelah penyakit kardiovaskuler dan penyakit saluran pernafasan, dan merupakan nomor satu terbesar dalam kelompok penyakit infeksi (Litbangkes, 2004). Indonesia juga merupakan satu dari enam belas negara dengan angka keberhasilan pemberantasan tuberkulosis yang belum memuaskan (Depkes, 2009).

Tingginya insiden tuberkulosis menunjukkan masih kurangnya keberhasilan dalam penanggulangan tuberkulosis. Berbagai strategi pengobatan telah digunakan untuk menurunkan insiden dan angka kematian karena tuberkulosis, tetapi kasus dan angka kematiannya tetap tinggi bahkan cenderung meningkat terlebih dengan adanya ko-infeksi tuberkulosis dengan *human immunodeficiency virus* (HIV) dan multi drug resistance (MDR) terhadap *M. tuberculosis* (WHO, 2012).

Upaya pemberantasan penyakit TB di Indonesia menggunakan strategi *Directly observed Treatment Short-Course* (DOTS) dengan pengobatan gratis. Meski telah tersedia obat anti tuberkulosis namun penanggulangan dan pemberantasan TB sampai saat ini masih belum memuaskan. Faktor yang harus diperhatikan dalam pengobatan tuberkulosis sangat kompleks. Selain waktunya lama, obat anti tuberkulosis (OAT) kombinasi dapat menimbulkan resistensi, juga kepatuhan serta keteraturan penderita untuk berobat, daya tahan tubuh, dan faktor sosial ekonomi (Depkes, 2009).

Penemuan vaksin *Bacillus Calmette Guerin* (BCG) walaupun pada awalnya dapat menekan insiden tuberkulosis, tetapi belakangan mulai muncul keraguan atas efektivitas vaksin BCG (Chopra *et al.*, 2003).

M. tuberculosis sebagai penyebab penyakit tuberkulosis paru merupakan bakteri intraseluler di dalam makrofag. Bakteri tersebut disamping mempunyai kemampuan menghindari dari antibiotik juga mampu mengubah respons imun makrofag. Kemampuan *M. tuberculosis* mengubah respon imun makrofag ditentukan oleh respon imun inang. Apabila terjadi gangguan respon imun pada inang maka bakteri akan terhindar dari mekanisme eliminasi system imun. Oleh karena itu respon imun memegang peranan penting bagi luaran infeksi *M. tuberculosis*. Salah satu penyebab kegagalan penanganan tuberkulosis, karena kegagalan respon imun penderita (Kritszki *et al.*, 2007).

Pertahanan tubuh terhadap kuman *M. tuberculosis* diperankan oleh *cell mediated immunity* (immunitas selluler), yaitu limposit T dan makrofag. Makrofag berperan penting sebagai eksekutor non spesifik dan limposit T sebagai mediator spesifik dalam mengeliminasi *M. tuberculosis*. Makrofag merupakan kunci utama dalam proses eliminasi kuman *M. tuberculosis*. Kuman *M. tuberculosis* dapat bertahan hidup dan membelah diri di dalam makrofag yang belum teraktivasi, tetapi apabila makrofag telah teraktifasi maka sel ini dapat menghambat atau membunuh kuman *M. tuberculosis* yang telah difagosit. Sebagian besar *M. tuberculosis* dieliminasi oleh makrofag, namun pada sebagian orang, kuman ini mampu bertahan hidup sehingga menyebabkan terjadinya infeksi tuberkulosis yang aktif (Flynn, 2005).

Pengaktifan respon imun seluler diawali oleh masuknya *M. tuberculosis* pada saluran nafas yang selanjutnya masuk ke dalam alveolar makrofag. LAM sebagai salah satu ligand dari *M. tuberculosis* dikenali oleh reseptor TLR-2 pada permukaan makrofag. Selanjutnya Makrofag memberikan transmisi sinyal transduksi dan mensekresikan berbagai sitokin sebagai respons imunitas tubuh. Aktivasi signal transduksi melalui TLR-2 tersebut mengaktifkan NF-kB. NF-kB adalah suatu protein kompleks yang merupakan faktor transkripsi indukibel pada sel eukariota NF-kB sering disebut sebagai mediator utama pada respons imun. Berbagai macam bakteri dan virus dapat memicu aktivasi NF-kB, yang akan mengontrol ekspresi bermacam sitokin, chemokin, reseptor imun, dan beberapa molekul perlekatan pada permukaan sel (Karin, 2000).

Aktivasi NF-kB menyebabkan translokasi NF-kB aktif ke dalam inti. Di dalam inti NF-kB merupakan promotor dari gen target dan memodulasi ekspresi berbagai gen termasuk gen yang memproduksi sitokin, antara lain IL-12, TNF- α dan IFN- γ (Crevel *et al.*, 2002). Sekresi IL-12 dari makrofag merupakan awal dari regulasi respons imun, dapat merangsang produksi IFN- γ oleh sel Th1 dan sel NK. Produksi IFN- γ akan mengaktifasi makrofag kembali. Makrofag yang teraktivasi mengalami peningkatan sekresi molekul-molekul yang bersifat bakterisidal terhadap *M. tuberculosis* seperti peningkatan produksi *reactive oxygen intermedite* (ROI), *reactive nitrogen intermediate* (RNI) dan *Nitric Oxide* (NO) sehingga meningkatkan mekanisme efektor makrofag untuk membunuh *M. tuberculosis*. Peningkatan produksi ROI, RNI dan NO akan meningkatkan maturasi fagosom dan lisosom sehingga terjadi fusi fagolisosom yang menyebabkan peningkatan daya bunuh *M. tuberculosis* intraseluler (Joost *et al.*,

2001; Raja, 2004). Makrofag yang teraktivasi mengalami peningkatan ekspresi protein Nramp1. Peningkatan protein Nramp1 tersebut juga meningkatkan proses asidifikasi dan fusi fagolisosom. Makrofag yang teraktivasi akan meningkatkan produksi enzim lisosom sebagai respons dari fagositosis. Bersamaan dengan maturasi fagosom, lisosom mengalami maturasi sehingga terbentuk enzim hidrolisa yaitu *acid phosphatase*, *cathepsin D*, *β -glucoronidase* yang berperan untuk mendegradasi *M. tuberculosis* di dalam fagolisosom. Peningkatan aktivitas fagositosis makrofag tersebut akan meningkatkan apoptosis sel alveolar makrofag dan mencegah terjadinya nekrosis (Crevel *et al.*, 2002).

Pada penderita tuberkulosis terjadi depresi dari Th1 yang ditandai dengan rendahnya kadar IFN- γ dan meningkatnya produksi IL-10, IL-4 dan TGF- β sebagai sitokin profil dari Th2. Kultur sel mononuklear dari darah tepi penderita tuberkulosis menunjukkan tingkat proliferasi sel mononuklear menurun, terjadi peningkatan produksi IL-4, IL-10 dan TGF- β , sebaliknya produksi IFN- γ mengalami penurunan. Ini berarti pada penderita tuberkulosis, respons imun mengarah ke respons Th2 dan terjadi penekanan pada respon Th1 (Lin *et al.*, 1995; Zhang *et al.*, 1995; Flesch *et al.* 1998, Raja, 2004). Sitokin IL-12 juga menginduksi produksi TNF- α . Pada infeksi *M. tuberculosis*. TNF- α memainkan peran dikotom karena selain berperan sebagai kontrol terhadap infeksi *M. tuberculosis* juga berperan sebagai penyebab kerusakan jaringan yang berat bila ekspresinya terlalu tinggi (Crevel *et al.*, 2002). TNF- α berperan sinergis dengan IFN- γ , merangsang produksi *intermediet nitrogen reaktif* (RNI), mediasi fungsi bakterisidal makrofag, merangsang migrasi sel-sel imun ke tempat

infeksi, kontribusi pada pembentukan granuloma yang mengontrol perkembangan penyakit.

Produksi IL-12 juga mengaktifasi sel Th2 untuk memproduksi sitokin antiinflamasi IL-10. Proses ini akan berulang dan menggambarkan transduksi sinyal inflamasi. Interleukin 10 (IL-10) menghambat respons Th1 untuk memproduksi sitokin IFN- γ . IL-10 penting untuk keseimbangan yang memadai antara respon inflamasi dan imunopatologi tuberkulosis. Peningkatan kadar IL-10 mendukung kelangsungan hidup *M. tuberculosis* dalam tubuh inang, menekan respon imunitas tubuh dan meningkatkan perkembangan keparahan penyakit (Condos *et al.*, 2004; Raja, 2004).

Infeksi *M. tuberculosis* juga menginduksi ekspresi enzim *matrix metalloproteinase-1* (MMP-1). MMP-1 telah dibuktikan mempunyai kemampuan melakukan degradasi terhadap kolagen tipe 1 yang menyebabkan kerusakan jaringan paru (Salgame, 2011). Peningkatan enzim MMP-1 mempunyai korelasi yang kuat dengan peningkatan kerusakan jaringan alveoli dan secara signifikan terjadi peningkatan degradasi kolagen tipe-1 (Elkington *et al.*, 2011).

Berdasarkan berbagai penelitian yang berhubungan dengan mekanisme imunopatogenesis tuberkulosis di atas, maka perlu dilakukan penelitian tentang penanganan tuberkulosis yang lebih tepat. Karena respons imun mempunyai peranan penting dalam perkembangan infeksi tuberkulosis, maka penanganan tuberkulosis tidak hanya dengan menggunakan antibiotik tetapi perlu penambahan imunostimulan untuk meningkatkan respon imun penderita. Terutama dalam meningkatkan respons makrofag dalam mengeliminasi *M. tuberculosis*. Dengan demikian pengobatan tuberkulosis dapat optimal.

Beberapa peneliti menggunakan imunomodulator sebagai terapi penunjang dalam peningkatan respons imun pada penderita tuberkulosis. Dasar pemikiran penggunaan imunomodulator adalah adanya kenyataan bahwa dari sepertiga populasi manusia yang terpapar *M. tuberculosis* hanya sepersepuluhnya yang menjadi sakit. Hal ini menunjukkan sistem imun bekerja cukup efektif untuk melawan infeksi tuberkulosis. Selain itu penelitian pada hewan coba menunjukkan bahwa beberapa hewan yang ditekan produksi sitokinya ternyata menjadi lebih rentan dibandingkan dengan hewan normal. Sehingga penelitian tentang peran sitokin dalam mekanisme pertahanan tubuh menjadi target bagi usaha untuk menemukan strategi baru pengobatan tuberkulosis. Selain itu penyakit tuberkulosis merupakan proses inflamasi kronis akibat infeksi *M. tuberculosis* utamanya terjadi pada jaringan paru. Proses inflamasi akibat infeksi tersebut akan menyebabkan kerusakan jaringan paru. Telah diketahui *M. tuberculosis* adalah bakteri patogen bersifat fakultatif intraseluler di dalam makrofag yang mampu memanipulasi respon imun inang pada makrofag, dan menghambat proses bakterisidal makrofag sehingga bakteri dapat hidup dan multiplikasi dalam makrofag. Hal ini mengakibatkan menurunnya daya tahan tubuh inang (Behar *et al.*, 2010; Rudel *et al.*, 2010). Oleh karena itu perlu diupayakan terapi penunjang (imunoterapi) untuk menunjang terapi tuberkulosis yang sudah ada, antara lain dengan menggunakan tanaman obat yang mampu meningkatkan respons imun inang.

Salah satu tanaman yang belum banyak dikenal masyarakat Indonesia namun memiliki prospek sebagai salah satu sumber bahan pengobatan adalah bidara upas dengan nama ilmiah *Merremia mammosa* (Lour.) Hall.f. Umbi bidara

upas secara empiris banyak dimanfaatkan masyarakat Indonesia terutama masyarakat Sumenep-Madura untuk mengobati tuberkulosis. Selain itu, Umbi bidara upas digunakan sebagai obat radang amandel, batuk rejan, bronkitis, batuk darah, disentri, perut sakit, demam, tipes, difteri, digigit ular, busung lapar, hidung bernanah, kudis, kencing manis (diabetes), kencing batu, kurang darah, eksema, luka kanker, radang usus, lepra (Mardisiswojo, 1986; Heyne, 1987; Widowati *et al.*, 1997).

Umbi bidara upas mengandung senyawa dammar, resin atau resin glikosida, amilum, zat pahit, alkaloid, tanin dan flavonoid (Chairani *et al.*, 1984). Selain itu umbi bidara upas mengandung 2 macam resin glikosida yaitu merremosida dan mammosida (Kitagawa *et al.*, 1997).

Pada ekstrak n-heksana umbi bidara upas mengandung terpenoid (Agil dkk (2010; Kriselina, 1997). Berbagai macam aktivitas fisiologi yang ditunjukkan oleh terpenoid, antara lain adalah peningkatkan respon imun, antiinflamasi, dan antibakterial (Djoukeng *et al.*, 2005; Jose, 2010).

Penelitian yang dilakukan oleh Agil dkk (2010), tentang uji daya hambat *M. tuberculosis* dari umbi bidara upas, menunjukkan bahwa uji daya hambat ekstrak n-heksana memberikan konsentrasi hambatan minimum 400 µg/ml. Penelitian yang dilakukan oleh Kriselina (1997), menunjukkan bahwa dengan metode cakram kertas, ekstrak n-heksana bidara upas mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*.

Penelitian lain menyatakan bahwa pemberian ekstrak etanol umbi bidara upas meningkatkan fagositosis makrofag dan produksi nitrit oksida (NO) makrofag mencit balb/c yang diinfeksi *Salmonella typhimurium* (Ukhrowi, 2011).

Penelitian yang dilakukan oleh Farizal (2012), menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol umbi bidara upas meningkatkan proliferasi limfosit dan produksi ROI makrofag mencit balb/c yang diinfeksi *Salmonella typhimurium*.

Penelitian ini merupakan upaya pengembangan obat terapi penunjang berasal dari tanaman obat yang diharapkan dapat meningkatkan dan memodulasi respons imun dalam meningkatkan fungsi fagositosis dan bakterisidal makrofag sehingga dapat mengurangi dan mencegah kerusakan jaringan paru yang lebih luas. Banyaknya angka kesakitan dan kematian yang disebabkan oleh infeksi *M. tuberculosis* sementara pengobatan belum memuaskan, masalah penelitian adalah bahwa mekanisme terjadinya respon imun terhadap *M. tuberculosis* pada penderita yang diberi ekstrak bidara upas belum jelas.

1.1 Rumusan Masalah

1. Apakah ekstrak n-heksana umbi bidara upas meningkatkan ekspresi NF- κ B pada jaringan paru mencit yang diinfeksi *M. tuberculosis*?
2. Apakah ekstrak n-heksana umbi bidara upas meningkatkan kadar IFN- γ pada serum mencit yang diinfeksi *M. tuberculosis* ?
3. Apakah ekstrak n-heksana umbi bidara upas meningkatkan kadar TNF- α pada serum mencit yang diinfeksi *M. tuberculosis* ?
4. Apakah ekstrak n-heksana umbi bidara upas menurunkan kadar IL-10 pada serum mencit yang diinfeksi *M. tuberculosis* ?
5. Apakah ekstrak n-heksana umbi bidara upas menurunkan kerusakan jaringan paru mencit yang diinfeksi *M. tuberculosis* ?

6. Apakah ada hubungan antara ekspresi NF-kB, kadar IFN- γ , TNF- α , IL-10, dan perbaikan kerusakan jaringan paru akibat pemberian ekstrak n-heksana umbi bidara upas pada mencit yang diinfeksi *M. tuberculosis* ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Tujuan umum penelitian ini adalah menjelaskan efek dan mekanisme ekstrak n-heksana umbi bidara upas terhadap respon imun seluler dan perbaikan kerusakan jaringan paru mencit yang diinfeksi *M. tuberculosis* berdasarkan peran NF-kB, IFN- γ , TNF- α , dan IL-10.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Menganalisis efek ekstrak n-heksana umbi bidara upas terhadap peningkatan ekspresi NF-kB pada jaringan paru mencit yang diinfeksi *M. tuberculosis*.
2. Menganalisis efek ekstrak n-heksana umbi bidara upas terhadap peningkatan kadar IFN- γ pada serum mencit yang diinfeksi *M. tuberculosis*.
3. Menganalisis efek ekstrak n-heksana umbi bidara upas terhadap peningkatan kadar TNF- α pada serum mencit yang diinfeksi *M. tuberculosis*.
4. Menganalisis efek ekstrak n-heksana umbi bidara upas terhadap penurunan kadar IL-10 pada serum mencit yang diinfeksi *M. tuberculosis*.
5. Menganalisis efek ekstrak n-heksana umbi bidara upas terhadap penurunan kerusakan jaringan paru mencit yang diinfeksi *M. tuberculosis*.

6. Membuktikan hubungan antara ekspresi NF-kB, kadar IFN- γ , TNF- α , IL-10, dan perbaikan kerusakan jaringan paru akibat pemberian ekstrak n-heksana umbi bidara upas pada mencit yang diinfeksi *M. tuberculosis*.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat teoritis

Temuan pada penelitian ini memberikan kontribusi keilmuan dalam menjelaskan efek dan mekanisme pemberian ekstrak n-heksana umbi bidara upas dalam meningkatkan respon imun seluler pada infeksi *M. tuberculosis* berdasarkan peran NF-kB, IFN- γ , TNF- α , IL-10, yang dapat menurunkan kerusakan jaringan paru.

1.4.2 Manfaat praktis

Hasil temuan penelitian ini dapat digunakan sebagai dasar penelitian lanjut uji klinis dan diharapkan berguna menunjang pengembangan obat baru dari ekstrak n-heksana umbi bidara upas sebagai terapi penunjang terhadap pengobatan tuberkulosis pada masyarakat.