

**STUDI EFEK KOMBINASI EKSTRAK PEGAGAN
(*Centella asiatica* (L.) Urban.) DENGAN OBAT ANTITUBERKULOSIS
ISONIAZID PADA SEL MAKROFAG SECARA *IN VITRO***

*STUDY OF COMBINATION EFFECT OF
Centella asiatica EXTRACT WITH ANTITUBERCULOSIS ISONIAZID
ON MACROPHAGE CELLS IN VITRO*

AMRULLAH

P2500207002



PROGRAM PASCASARJANA

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2010

**STUDI EFEK KOMBINASI EKSTRAK PEGAGAN
(*Centella asiatica* (L.) Urban.) DENGAN OBAT ANTITUBERKULOSIS
ISONIAZID PADA SEL MAKROFAG SECARA *IN VITRO***

*STUDY OF COMBINATION EFFECT OF
Centella asiatica EXTRACT WITH ANTITUBERCULOSIS ISONIAZID
ON MACROPHAGE CELLS IN VITRO*

Tesis

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Magister

Program Studi

Farmasi

Disusun dan diajukan oleh

AMRULLAH

Kepada

PROGRAM PASCASARJANA

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2010

TESIS

STUDI EFEK KOMBINASI EKSTRAK PEGAGAN
(*Centella asiatica* (L.) Urban.) DENGAN OBAT ANTITUBERKULOSIS
ISONIAZID PADA SEL MAKROFAG SECARA *IN VITRO*

Disusun dan diajukan oleh

AMRULLAH

Nomor Pokok P2500207002

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Tesis

Pada tanggal

dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui

Komisi Penasihat,

Prof. Dr. H. Elly Wahyudin, DEA.

Ketua

Prof. Dr. rer. nat. Marianti A. Manggau

Anggota

Ketua Program Studi
Farmasi,

Prof. Dr. Amran Ilyas Tandjung, M.Sc.

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Amrullah
Nomor mahasiswa : P25002070002
Program Studi : Farmasi

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa tesis yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 7 Januari 2010

Yang menyatakan

Amrullah

PRAKATA

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT atas limpahan berkat dan rahmat-Nya sehingga tesis dengan judul “Studi Efek Kombinasi Ekstrak Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban.) dengan Obat Antituberkulosis Isoniazid pada Sel Makrofag secara *In Vitro*” ini dapat selesai.

Peningkatan jumlah penderita TBC yang disebabkan oleh berbagai faktor, termasuk pengobatan yang tidak adekuat dan kurangnya daya tahan (imunitas) penderita terhadap mikobakteria menjadi gagasan yang melatari tajuk permasalahan ini timbul. Melalui tesis ini penulis bermaksud mengemukakan bukti ilmiah akan peran ekstrak pegagan sebagai imunomodulator dalam manajemen terapi tuberkulosis.

Dalam kesempatan ini penulis dengan tulus menyampaikan terima kasih kepada :

1. Prof. Dr. H. Elly Wahyudin, DEA. sebagai Ketua Komisi Penasihat dan Prof. Dr. rer. nat. Marianti A. Manggau sebagai Anggota Komisi Penasihat atas bantuan dan bimbingan yang diberikan mulai dari pengembangan minat terhadap permasalahan penelitian ini, pelaksanaan penelitian, hingga penulisan tesis ini.
2. Bapak Rektor Universitas Hasanuddin, Direktur Program Pascasarjana, dan Ketua Program Studi Farmasi Pascasarjana.
3. Seluruh Dosen dan Staf di lingkup Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.

4. Prof. dr. Supargiyono, Ph.D., yang telah memberikan kesempatan untuk melaksanakan penelitian di Laboratorium Parasitologi UGM.
5. Prof. Dr. H. Muin Salim selaku Rektor Universitas Indonesia Timur dan Jangga, S.Si, M.Kes, Apt. selaku Dekan F. MIPA Universitas Indonesia Timur Makassar yang telah memberikan rekomendasi untuk mendapatkan Beasiswa BPPS.
6. Bapakku H. Junaid dan Ibundaku H. Masuara tercinta, Kakandaku H. Rohani dan H. Rahmania tersayang yang tak kenal lelah memberikan motivasi dan doa.
7. Adinda Astuti, S.Farm. Apt tersayang yang selalu memberi perhatian dan motivasi
8. Ibu Rumbi dan sahabatku Asran, S.Farm, Apt. yang telah banyak membantu dalam pelaksanaan penelitian.
9. Rekan-rekan kerja di Dinas Kesehatan Kabupaten Soppeng dan mereka yang namanya tidak tercantum, namun telah banyak membantu penulis dalam menyelesaikan tesis ini.

Semoga tesis ini dapat memberikan sumbangsih bagi pengembangan ilmu pengetahuan.

Makassar, Januari 2010

Amrullah

ABSTRAK

AMRULLAH. "Studi Efek Kombinasi Ekstrak Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban.) dengan Obat Antituberkulosis Isoniazid pada Sel Makrofag secara *In Vitro*". (Dibimbing oleh Elly Wahyudin dan Marianti A. Manggau).

Penelitian ini bertujuan mengetahui efek ekstrak herba pegagan, isoniazid, dan kombinasi keduanya terhadap produksi nitrogen monoksida (NO) pada sel makrofag.

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental dengan rancangan *post test only control group design*. Pengujian dilakukan secara *in vitro*, makrofag mencit dikultur dan dinkubasi selama 48 jam dengan berbagai variasi konsentrasi ekstrak pegagan, INH, dan kombinasi keduanya dan ditentukan kadar NO dengan *microplate reader*. Data dianalisis dengan rancangan Faktorial yang dilanjutkan dengan uji beda nyata terkecil.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak pegagan dan kombinasi ekstrak pegagan dengan INH (1 : 1) dapat meningkatkan produksi NO oleh sel makrofag, sedangkan INH tidak dapat meningkatkan produksi NO oleh sel makrofag. Adapun produksi NO tertinggi ditunjukkan oleh pemberian kombinasi ekstrak pegagan dengan INH (1 : 1) pada konsentrasi 20 µg/ml.

Kata kunci : Pegagan, INH, NO, Makrofag.

ABSTRACT

AMRULLAH. *A Study of the Effect of Centella asiatica (L.) Urban Combination with Antituberculosis Medicine on Macrophage Cells In Vitro*". (guided by Elly Wahyudin and Marianti A. Manggau).

The aim of the study was to discover the effect of Centella extract, isoniazid, and the combination of the two to NO production of macrophage cell.

The study was experimental using a post test only control group design. The peritoneal macrophages were cultured and incubated for 48 hours using various concentrations of the Centella extract, INH, and combination of the two, then the NO level was measured by microplate reader. The data were analyzed statistically using factorial design followed by Least Significant Difference test.

The result of the study indicated that the provision of Centella extract combined with INH (1 : 1) can improve NO production by the macrophage cell, whereas INH can not improve the NO production. The highest NO production is shown by the combination of Centella extract with INH (1 : 1) at the concentration 20 µg/ml.

Key Words : *Centella asiatica*, INH, NO, Macrophage.

DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN TESIS	iv
PRAKATA	v
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xii
DAFTAR GAMBAR	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	6
C. Tujuan Penelitian	6
D. Manfaat Penelitian	6
E. Definisi dan Istilah	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	7
A. Tuberkulosis	7
1. Etiologi dan Patogenesis	7
2. Gejala Klinis	8
3. Diagnosis	9
4. Terapi	10
B. Isoniazida	11
1. Mekanisme Kerja	11
2. Mekanisme kerja	11

3.	Farmakokinetik	12
4.	Efek Samping	12
D.	Imunologi Tuberkulosis	15
1.	Respon imun alamiah terhadap <i>M. tuberculosis</i>	15
2.	Respon imun adaptif terhadap <i>M. tuberculosis</i>	20
E.	Nitric Oxide	23
F.	Herba Pegagan	25
1.	Klasifikasi Tanaman	25
2.	Morfologi Tanaman	26
3.	Kandungan Kimia	26
4.	Khasiat	27
G.	Kerangka Konseptual	30
H.	Hipotesis	30
BAB III	METODE PENELITIAN	31
A.	Rancangan Penelitian	31
B.	Lokasi dan Waktu	31
C.	Populasi dan Sampel	31
D.	Penyiapan alat dan bahan	31
1.	Bahan yang digunakan dalam penelitian	31
2.	Alat yang digunakan dalam penelitian	32
E.	Tahapan Penelitian	32
1.	Pengambilan Sampel	32
2.	Pengolahan Sampel	32
3.	Ekstraksi Sampel	32
4.	Penyiapan sampel	33
4..	Pembuatan medium RPMI-1640	33
5	Isolasi dan kultur makrofag dari peritoneum mencit	35
6.	Pengujian	35

7. Penentuan Kadar NO	36
F. Analisis Data	36
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	37
A. Hasil Penelitian	37
B. Pembahasan	38
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	43
A. Kesimpulan	43
B. Saran	43
DAFTAR PUSTAKA	44

DAFTAR TABEL

nomor	halaman
1. Hasil pengukuran kadar NO setelah pemberian sampel	37
2. Hasil pengukuran serapan sampel dengan Mikroplate Reader	54
3. Tabel Anova	58
4. Tabel hasil uji lanjutan LSD dengan variabel sampel	58
5. Tabel hasil uji lanjutan LSD dengan variabel konsentrasi sampel	59

DAFTAR LAMPIRAN

nomor	halaman
1. Skema kerja	53
2. Hasil pengukuran serapan	54
3. Kurva baku NaNO ₂	55
4. Kurva peningkatan produksi NO oleh sel makrofag dengan beberapa variasi konsentrasi sampel	56
5. Reaksi antara nitrit dengan reagent Griess	57
6. Hasil analisis statistik	58
7. Hasil ekstraksi	60
8. Komposisi medium RPMI 1640	61
9. Daftar Istilah dan Singkatan	63

DAFTAR GAMBAR

nomor	halaman
1. Struktur Isoniazida	13
2. Mencit yang telah dibuka kulit abdomen dan disuntikkan medium RPMI-1640	49
3. Makrofag yang telah diinkubasi pada suhu 37°C, 5% CO ₂ , selama 24 jam.	49
4. Makrofag yang telah ditambahkan ekstrak pegagan 5 µg/ml dan diinkubasi pada suhu 37°C, 5% CO ₂ , selama 48 jam	50
5. Makrofag yang telah ditambahkan INH 5 µg/ml dan diinkubasi pada suhu 37°C, 5% CO ₂ , selama 48 jam.	50
6. Makrofag yang telah ditambahkan campuran ekstrak pegagan 5 µg/ml + INH 5 µg/ml dan diinkubasi pada suhu 37°C, 5% CO ₂ , selama 48 jam	51
7. Microplate berisi standar NaNO ₂ , sampel, dan kontrol setelah penambahan reagen Griess	51
8. Microplate Reader	52
9. Tumbuhan Pegagan (<i>Centella asiatica</i> (L.) Urban)	52

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Penyakit tuberkulosis (TBC) masih merupakan masalah utama kesehatan masyarakat di Indonesia. Indonesia menduduki urutan ketiga dengan penderita 583.000 orang (Depkes RI, 2002). Menurut WHO (1999), diperkirakan setiap tahun terjadi 583.000 kasus baru TBC dengan kematian sekitar 140.000 kasus (Depkes RI, 2002). Kejadian kasus tuberkulosa paru yang tinggi ini paling banyak terjadi pada kelompok masyarakat dengan sosio ekonomi lemah. Peningkatan jumlah penderita TBC disebabkan oleh berbagai faktor, diantaranya yaitu diagnosis yang tidak tepat; pengobatan yang tidak adekuat; kurangnya daya tahan (imunitas) *hospes* terhadap mikobakteria; infeksi endemik *human immunodeficiency virus* (HIV); meningkatnya kemiskinan; dan pelayanan kesehatan yang kurang memadai (Depkes RI, 2005).

Respon imun memainkan peran penting pada tingkat infeksi *M. tuberculosis*. Sistem imun bereaksi secara efisien pada sebagian besar infeksi (Dannenber, 1991). Umumnya orang dengan imunokompeten, tidak menunjukkan perkembangan penyakit yang serius jika terinfeksi mikobakteria (Ulrichs, et.al., 2003).

Salah satu imunitas seluler yang erat kaitannya dengan infeksi *M. tuberculosis* adalah makrofag. Makrofag pada alveolus memainkan peran utama dalam mengeliminasi partikel yang masuk melalui jalur tersebut dan

diketahui sebagai populasi sel pertama yang akan berinteraksi dengan basil tuberkulosa melalui fagositosis (Dannenberg, 1991), namun mikobakteria dapat bertahan dalam waktu yang lama dalam fagosom dari makrofag dan dapat aktif kembali ketika terjadi malnutrisi, penuan, dan penurunan imunitas (Saxena, et.al., 2002). Makrofag dapat membunuh mikobakteria intraseluler setelah diaktifasi (Marino and Denise, 2003). Sel-sel ini dapat diaktifasi oleh berbagai stimuli seperti komponen-komponen bakteri, sitokin terutama oleh interferon gamma (INF- γ), tumor necrosis factor alfa (TNF- α) dan senyawa kimiawi lainnya (Takuji, et.al., 1999). Saat diaktifasi, makrofag menghasilkan dan melepaskan sejumlah produk penting yang memiliki aktifitas biologis, termasuk beberapa sitokin seperti TNF- α , *reactive oxygen intermediate* (ROI) seperti H₂O₂ dan *reactive nitrogen intermediate* (RNI) seperti nitrogen monoksida. Nitrogen monoksida (NO) dihasilkan dalam jumlah besar dan aktif secara biologis dalam konsentrasi nanomolar, memainkan peran penting secara fisiologis sebagai pertahanan molekular dalam sistem imun (Stevenson, et.al., 2005)

NO merupakan suatu radikal bebas yang sangat reaktif, dapat berdifusi, larut dalam air dan lemak, serta dapat bereaksi dengan oksigen dan membentuk NO₂, NO₂⁻, NO₃⁻, N₂O₃, dan ONOO⁻ (peroksinitrit) yang bersifat mikrobiasidal kuat (Davis, et.al., 2007), NO dan *nitrogen intermediate* lainnya dapat menyebabkan modifikasi DNA, protein, dan lipid bakteri. NO juga dapat menyebabkan deaminasi dan kerusakan

secara langsung pada DNA bakteri dengan memutus rantai DNA. Mekanisme lain NO melalui interaksi dengan protein bakteri, yang menyebabkan inaktivasi enzim dan atau kerusakan fungsi protein (Yang, et.al., 2009; Jerca, et.al., 2002). Penelitian sebelumnya membuktikan, pemberian inhibitor produksi NO pada hewan uji tikus dapat memperburuk infeksi tuberkulosis (dinilai berdasarkan tingkat kematian, pertumbuhan bakteri, dan histopatology) (Dannenberg, 1991).

Saat ini pengobatan tuberkulosis utamanya dilakukan dengan penggunaan antimikroba, baik antibiotik maupun antimikroba sintetis yang aktif terhadap *M. tuberculosis*, yang umum dipakai adalah Isoniazida, Etambutol, Rifampisin, Pirazinamid, dan Streptomisin . Kelompok obat ini disebut sebagai obat primer (Depkes RI, 2005). Isoniazida adalah obat TB yang paling poten dalam hal membunuh bakteri dibandingkan yang lainnya, mampu menembus ke dalam sel-sel fagosit, sehingga sangat aktif melawan organisme-organisme yang berada ekstrasel maupun intrasel (Katzung, 2004)

Keefektifan suatu antimikroba dalam pengobatan penyakit infeksi bergantung pada interaksi antara bakteri, obat antimikroba dan sistem fagosit dalam tubuh terutama neutrofil dan makrofag. Beberapa antimikroba dilaporkan dapat menimbulkan modifikasi terhadap sistem imunitas tubuh baik secara *in vitro* maupun secara *in vivo*. Obat antimikroba akan mempengaruhi interaksi antara neutrofil dan makrofag dengan mikroba melalui berbagai cara, begitu juga sebaliknya neutrofil

dan makrofag dapat mengganggu aktivitas antimikroba dalam tubuh (Made, 2006). Antimikroba dapat menangkap atau menghambat pembentukan oksidan oleh makrofag, seperti ROI seperti H_2O_2 dan RNI seperti NO, akibatnya kemampuan menghancurkan kuman akan menurun (Labro, 2000).

Meningkatnya angka *Multidrug-Resistant Tuberculosis TB* (MDR-TB) juga merupakan salahsatu akibat menurunnya efektifitas antimikroba terhadap *M. tuberculosis*. Setiap tahunnya terdapat lebih dari 400.000 kasus MDR-TB atau mencapai angka 5% dari total 9 juta kasus baru TB di seluruh dunia tiap tahunnya (WHO, 2007)

Berdasarkan uraian di atas, untuk menunjang keberhasilan pengobatan tuberkulosis, diperlukan suatu manajemen terapi yang baru yaitu terapi kombinasi antara antimikroba (antituberkulosis) dengan imunomodulator. Imunomodulator sebagai terapi adjuvant diharapkan dapat meningkatkan aktivitas antituberkulosis terhadap mikobakteria.

Kita mengenal berbagai bahan yang dinyatakan sebagai imunomodulator, diantaranya adalah herba pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban.) dari suku umbelliferae (apiaceaea), khasiatnya sebagai imunomodulator didasarkan pada beberapa hasil penelitian. Jayathirtha and Mishra (2004) melaporkan bahwa ekstrak metanol pegagan memiliki aktifitas immunomodulator berdasarkan kemampuannya meningkatkan secara signifikan indeks fagositosis dan white blood cells (WBC) pada rentang dosis 100 mg – 500 mg /Kg BB. Fatmasari dan Maria

membuktikan pada uji terhadap respon imun non spesifik dengan uji bersihan karbon, ekstrak air pegagan dosis 150 mg/kg bb menunjukkan efek imunostimulasi paling kuat dengan indeks fagositis 1,78, pada uji terhadap respon imun spesifik mencit, ekstrak air pegagan dapat menstimulasi respon imun humoral yang terlihat dari peningkatan titer antibodi primer dan pada dosis 37,5 mg/kg bb dari ekstrak dapat menstimulasi respon imun seluler yang terlihat dari meningkatnya tebal kaki mencit pada uji reaksi hipersensitivitas tipe lambat. Selain itu di India, masyarakat menggunakan tumbuhan ini untuk leprosis, sifilis, dan tuberkulosis serta untuk meningkatkan fungsi mental (Sagrawat and Khan, 2007). Keampuhan pegagan juga telah diuji oleh Boiteau P., dkk, yang menginokulasi binatang percobaan marmut dengan bakteri basil tuberkulosis selama 15 hari. Injeksi 0,5 ml 4% asiaticoside yang diberikan pada marmut, terbukti dapat mengurangi jumlah lesi tuberkular di paru-paru, hati, dan limpa (WHO, 1999)

Mekanisme kerja herba pegagan sebagai imunomodulator belum diketahui. Diduga aktivitasnya sebagai imunomodulator salah satunya melalui peningkatan aktivitas makrofag untuk memproduksi NO, serta efeknya pada kombinasi dengan obat antituberkulosis isoniazida terhadap aktivitas makrofag belum jelas. Oleh sebab itu telah diteliti efek ekstrak pegagan, isoniazida dan kombinasi keduanya terhadap produksi NO oleh makrofag secara *in vitro*.

B. Rumusan Masalah

1. Bagaimana efek ekstrak pegagan, isoniazida, dan kombinasi ekstrak pegagan dengan isoniazida terhadap produksi NO pada sel makrofag?
2. Apakah terdapat perbedaan efek antara ekstrak pegagan, isoniazida, dan kombinasi ekstrak pegagan dengan isoniazida terhadap produksi NO pada sel makrofag?

C. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui efek ekstrak herba pegagan, isoniazida, dan kombinasi keduanya terhadap produksi NO pada sel makrofag.
2. Membandingkan efek ekstrak herba pegagan, isoniazida, dengan kombinasi keduanya terhadap produksi NO pada sel makrofag.

D. Manfaat Penelitian

Dari penelitian ini diharapkan akan diperoleh data mengenai efek kombinasi ekstrak pegagan dengan isoniazida terhadap aktivitas makrofag, sehingga penggunaan ekstrak pegagan sebagai immunomodulator dalam manajemen terapi kombinasi dengan antituberkulosis INH dapat dipertanggungjawabkan secara ilmiah.

E. Definisi dan Istilah

1. Tuberkulosis adalah penyakit menular yang disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis*

2. Imunomodulator adalah zat atau obat yang dapat mengembalikan dan memperbaiki sistem imun yang fungsinya terganggu atau untuk menekan yang fungsinya berlebihan.
3. Antimikroba adalah zat atau obat yang dapat menghambat atau membunuh mikroorganisme.
4. Makrofag adalah sel hasil diferensiasi monosit di dalam jaringan yang memiliki kemampuan fagositosis bahan asing yang masuk ke dalam tubuh.
5. Fagositosis adalah suatu proses ingesti partikel oleh sel
6. Eosinofil adalah sel darah putih yang memiliki kecenderungan menyerap zat warna merah eosin
7. Hepatotoksik efek toksik berupa kerusakan parenkim hati
8. Imunitas humoral adalah imunitas yang diperantarai antibodi yang dihasilkan oleh sel B akibat adanya rangsangan antigen
9. Imunitas selular adalah imunitas yang diperantarai oleh sel yang dilaksanakan oleh sel T
10. Beta defensin adalah salah satu peptida yang dihasilkan sel epitel, yang memiliki aktivitas antimikroba yang luas terhadap sejumlah mikroorganisme.
11. Interferon alfa adalah sitokin yang diproduksi oleh makrofag atau limfosit T
12. Insufisiensi adalah berkurangnya kemampuan organ
13. Neuritis perifer adalah radang saraf-saraf perifer

14. Pleuritis adalah infeksi rongga pleura ditandai dengan penimbunan cairan pada rongga tersebut
15. Sitokin adalah polipeptida yang memiliki fungsi penting dalam regulasi semua fungsi sistem imun
16. Spondilitis adalah infeksi pada sendi-sendi tulang belakang yang nampak pada sinar rontgen sebagai tonjolan, gerigi, atau lekukan pada sendi tersebut.
17. Sistem Komplemen adalah komponen immunitas bawaan yang terdiri dari 30 protein-protein dalam serum atau di permukaan sel

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tuberkulosis

1. Etiologi dan Patogenesis

Tuberkulosis (TB) adalah penyakit menular langsung yang disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis*, yang sebagian besar (80%) menyerang paru-paru. *Mycobacterium tuberculosis* termasuk basil gram positif, berbentuk batang, dinding selnya mengandung kompleks lipida-glikolipida serta lilin (wax) yang sulit ditembus zat kimia.

Umumnya *Mycobacterium tuberculosis* menyerang paru dan sebagian kecil organ tubuh lain. Kuman ini mempunyai sifat khusus, yakni tahan terhadap asam pada pewarnaan, hal ini dipakai untuk identifikasi dahak secara mikroskopis. Sehingga disebut sebagai Basil Tahan Asam (BTA). *Mycobacterium tuberculosis* cepat mati dengan matahari langsung, tetapi dapat bertahan hidup pada tempat yang gelap dan lembab. TB timbul berdasarkan kemampuannya untuk memperbanyak diri di dalam sel-sel fagosit.

Sumber penularan adalah penderita TB BTA positif pada waktu batuk atau bersin, penderita menyebarkan kuman ke udara dalam bentuk droplet (percikan dahak). Droplet yang mengandung kuman dapat bertahan di udara pada suhu kamar selama beberapa jam. Orang dapat terinfeksi jika droplet tersebut terhirup ke dalam saluran pernafasan. Jadi

penularan TB tidak terjadi melalui perlengkapan makan, baju, dan perlengkapan tidur.

Kuman TB yang masuk ke dalam tubuh manusia melalui pernafasan dapat menyebar dari paru kebagian tubuh lainnya, melalui sistem peredaran darah, sistem saluran limfe, saluran nafas, atau penyebaran langsung ke bagian-bagian tubuh lainnya. Daya penularan dari seorang penderita ditentukan oleh banyaknya kuman yang dikeluarkan dari parunya. Makin tinggi derajat positif hasil pemeriksaan dahak, makin menular penderita tersebut. Bila hasil pemeriksaan dahak negatif (tidak terlihat kuman), maka penderita tersebut dianggap tidak menular.

Secara klinis, TB dapat terjadi melalui infeksi primer dan pasca primer. Infeksi primer terjadi saat seseorang terinfeksi TB untuk pertama kalinya. Setelah terjadi infeksi melalui saluran pernafasan, di dalam alveoli (gelembung paru) terjadi peradangan. Hal ini disebabkan oleh kuman TB yang berkembang biak dengan cara pembelahan diri di paru. Waktu terjadinya infeksi hingga pembentukan kompleks primer adalah sekitar 4-6 minggu.

Kelanjutan infeksi primer bergantung pada banyaknya kuman yang masuk dan respon daya tahan (imunitas) tubuh dapat menghentikan perkembangan kuman TB dengan cara menyelubungi kuman dengan jaringan pengikat. Ada beberapa kuman yang menetap sebagai "persister" atau "*dormant*", sehingga daya tahan tubuh tidak dapat menghentikan perkembangbiakan kuman, akibatnya yang bersangkutan akan menjadi

penderita TB dalam beberapa bulan. Pada infeksi primer ini biasanya menjadi abses (terselubung) dan berlangsung tanpa gejala, hanya batuk dan nafas berbunyi. Tetapi pada orang-orang dengan sistem imun lemah dapat timbul radang paru hebat, ciri-cirinya batuk kronik dan bersifat sangat menular. Masa inkubasi sekitar 6 bulan.

Infeksi paska primer terjadi setelah beberapa bulan atau tahun setelah infeksi primer. Ciri khas TB paska primer adalah kerusakan paru yang luas dengan terjadinya kavitas atau efusi pleura (Depkes RI, 2005)

2. Gejala Klinis

Gejala TB pada orang dewasa umumnya penderita mengalami batuk dan berdahak terus-menerus selama 3 minggu atau lebih, batuk darah atau pernah batuk darah. Adapun gejala-gejala lain dari TB pada orang dewasa adalah sesak nafas dan nyeri dada, badan lemah, nafsu makan dan berat badan menurun, rasa kurang enak badan (malaise), berkeringat malam, walaupun tanpa kegiatan, demam meriang lebih dari sebulan.

Gejala khusus, sesuai dengan bagian tubuh yang diserang, misalnya TB kulit atau skrofuloderma,

a. TB tulang dan sendi, meliputi :

Tulang punggung (spondilitis) : gibbus

Tulang panggul (koksitis): pincang, pembengkakan di pinggul

Tulang lutut: pincang dan atau bengkak

b. TB otak dan saraf

Meningitis dengan gejala kaku kuduk, muntah-muntah dan kesadaran menurun.

c. Gejala mata (*Conjunctivitis phlyctenularis*)

Tuberkel koroid (hanya terlihat dengan funduskopi)

3. Terapi

Obat Anti TB yang dipakai dalam pengobatan TB adalah antibiotik dan anti infeksi sintetis untuk membunuh kuman *Mycobacterium*. Aktifitas obat TB didasarkan atas tiga mekanisme, yaitu aktifitas membunuh bakteri, aktifitas sterilisasi, dan mencegah resistensi. Obat yang umum dipakai adalah Isoniazida, Etambutol, Rifampisin, Pirazinamid, dan Streptomisin. Kelompok obat ini disebut sebagai obat primer. Isoniazida adalah obat TB yang paling poten dalam hal membunuh bakteri dibandingkan dengan rifampisin dan streptomisin. Rifampisin dan pirazinamid paling poten dalam mekanisme sterilisasi.

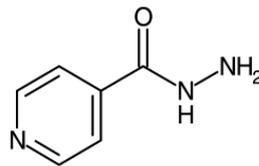
Sedangkan obat lain yang juga pernah dipakai adalah Natrium Para Amino Salisilat, Kapreomisin, Sikloserin, Etionamid, Kanamisin, Rifapentin dan Rifabutin. Natrium Para Amino Salisilat, Kapreomisin, Sikloserin, Etionamid, dan Kanamisin umumnya mempunyai efek yang lebih toksik, kurang efektif, dan dipakai jika obat primer sudah resisten. Sedangkan Rifapentin dan Rifabutin digunakan sebagai alternatif untuk Rifampisin dalam pengobatan kombinasi anti TB (Depkes RI, 2005)

B. Isoniazida

Isoniazida adalah obat antituberkulosis yang sangat efektif saat ini, bersifat bakterisid dan sangat efektif terhadap kuman dalam keadaan metabolik aktif yaitu kuman yang sedang berkembang dan bersifat bakteriostatik terhadap kuman yang diam (*dormant*). Obat ini efektif pada intrasel dan ekstrasel kuman, dapat berdifusi ke dalam seluruh jaringan dan cairan tubuh termasuk cairan serebrospinal (CSS), cairan pleura, cairan acsites (Depkes RI, 2005; Katzung, 2004).

1. Uraian Fisika-Kimia (Depkes RI, 1995)

- a. Nama resmi : Isoniazidum
- b. Nama lain : Isoniazida, INH, asam isonikotinat hidrazida
- c. Rumus molekul : $C_6H_7N_3O$
- d. Bobot molekul : 137,14
- e. Struktur kimia :



Gambar 1. Struktur Isoniazida

- f. Pemerian : serbuk putih atau tidak berwarna, tidak berbau, rasa pahit
- g. Kelarutan : mudah larut dalam air, agak sukar larut dalam alkohol, sukar larut dalam kloroform, sangat sukar larut dalam eter.

2. Mekanisme Kerja

INH menghambat sintesis dari asam mikolat (*mycolic acid*), yang merupakan komponen penting dinding sel mikobakteri. INH adalah suatu *prodrug* yang diaktifkan oleh KatG, *catalase-peroxidase* mikobakteri menjadi kompleks isonikotinat asil-NADH (*isonicotinic acyl-NADH*). INH aktif menghasilkan efek mematikan dengan membentuk sebuah kompleks kovalen dengan protein pembawa (AcpM) dan KasA, suatu pembawa *beta-ketoacyl protein synthetase*, yang mengkatalisis sintesis asam mikolat (Katzung, 2004)

3. Farmakokinetik

INH langsung diserap dari saluran cerna. Pemberian dosis oral sebesar 300 mg (5 mg/Kg untuk anak-anak) menghasilkan konsentrasi puncak 3-5 µg/ml dalam 1-2 jam, langsung berdifusi secara cepat dalam darah ke seluruh cairan tubuh dan jaringan. INH dimetabolisme melalui asetilasi oleh *N-acetyltransferase* hati. Metabolit-metabolit INH dan sebagian besar dalam bentuk obat tetap dikeluarkan melalui urin. Dosisnya tidak perlu disesuaikan pada pasien gagal ginjal, tetapi direkomendasikan dosis 1/3 sampai dengan 1/2 dari dosis normal pada beberapa insufisiensi hati yang parah (Katzung, 2004)

4. Efek samping

INH mempunyai dua efek toksik utama yaitu hepatotoksik dan neuritis perifer. Hepatotoksisitas yang bermakna secara klinis sangat jarang terjadi. Idealnya perlu pemantauan kadar transaminase pada 2

bulan pertama tetapi karena jarang menimbulkan hepatotoksik maka pemantauan laboratorium tidak rutin kecuali ada gejala dan tanda klinis. Hepatotoksisitas akan meningkat apabila INH diberikan bersama dengan rifampisin dan pirazinamid. Penggunaan INH bersama dengan fenobarbital atau fenitoin dapat meningkatkan risiko terjadinya hepatotoksik. INH tidak dilanjutkan pemberiannya pada keadaan kadar transaminase serum naik lebih dari 3 kali harga normal atau terjadi manifestasi klinik hepatitis, berupa mual, muntah, nyeri perut dan kuning.

Neuritis perifer timbul akibat defisiensi piridoksin, karena INH dapat mempercepat ekskresi dari piridoksin, sehingga diperlukan pemberian piridoksin dosis rendah 10 mg/hari. Manifestasi klinis neuritis perifer yang paling sering adalah mati rasa atau kesemutan pada tangan dan kaki. Piridoksin diberikan satu kali sehari 25-50 mg atau 10 mg piridoksin setiap 100 mg INH. Manifestasi alergi atau reaksi hipersensitivitas yang disebabkan oleh INH sangat jarang terjadi. Kadang-kadang, INH berinteraksi dengan teofilin sehingga diperlukan penyesuaian dosis. Efek samping yang jarang terjadi antara lain adalah pellagra, anemia hemolitik, dan reaksi mirip-lupus yang disertai ruam dan artritis (Katzung, 2004)

C. Imunologi Tuberkulosis

Sejak lahir setiap individu sudah dilengkapi dengan sistem pertahanan, sehingga tubuh dapat mempertahankan keutuhannya dari berbagai gangguan yang datang dari luar maupun dari dalam tubuh (Baratawidjaya, 2002). Sistem imun dirancang untuk melindungi inang

(host) dari patogen-patogen penginvansi dan untuk menghilangkan penyakit (Katzung, 2004). Sistem imun diklasifikasikan sebagai sistem imun bawaan (*innate immunity system*) atau sering juga disebut respon/sistem imun nonspesifik serta sistem imun adaptif (*adaptive immunity system*) atau respon/sistem imun spesifik, bergantung pada derajat selektivitas mekanisme pertahanan (Sherwood, 2001; Katzung, 2004).

Respon imun terhadap tuberculosis (TB) memainkan peran mendasar pada tingkat infeksi *M. tuberculosis*. Telah jelas bahwa sistem imun bereaksi secara efisien pada sebagian besar infeksi. Terdapat bukti pada kasus TB, pada sebagian besar orang yang terinfeksi basil tuberkulosa (~ 90 %) tidak mengalami berkembang penyakit sepanjang hidupnya. Resiko perkembangan penyakit sangat meningkat ketika terjadi perubahan pada sistem imun, seperti pada infeksi bersama dengan *human immunodeficiency virus* (HIV). Sistem imun yang terlibat dalam infeksi tuberculosis :

1. Respon imun alamiah terhadap *M. tuberculosis*

a. Neutrofil

Makrofag dianggap sebagai sasaran utama infeksi *Mycobacterium tuberculosis*, namun populasi sel lainnya juga dapat terinfeksi mikobakteria dan oleh karena itu juga penting dalam perkembangan penyakit. Neutrofil termasuk dalam kelompok sel ini. Secara khas sel-sel ini ditemukan

segera diantara sel-sel lainnya ditempat infeksi dan memicu respon inflamasi, juga memiliki mekanisme mibrobisidal (Palomino, et.al., 2007).

b. Makrofag

Makrofag adalah sel yang erat kaitannya dengan infeksi *M. tuberculosis*. Makrofag memainkan peran penting dalam mengeliminasi partikel-partikel asing yang memasuki tubuh dan dianggap populasi sel pertama yang berinteraksi dengan basil tuberkulosa. Dibutuhkan lebih banyak makrofag dari pembuluh darah setelah infeksi, dan bertanggungjawab mempertahankan inang terhadap infeksi (Dannenber, 1991).

Bakteri yang difagositosis oleh makrofag umumnya akan tetap bertahan hidup dalam fagosom, berbeda dengan fagositosis normal yang mampu mendegradasi bakteri dengan lysosom, namun mikobakteria dapat menghambat proses ini. Makrofag dapat membunuh mikobakteria intraseluler setelah diaktifasi (Marino and Denise, 2003). Sel-sel ini dapat diaktifasi oleh berbagai stimuli seperti komponen-komponen bakteri, sitokin terutam oleh *interferon gamma* (INF- γ), *tumor necrosis factor alfa* (TNF- α) dan senyawa kimiawi lainnya (Takuji et.al., 1999). Saat diaktifasi, makrofag menghasilkan dan melepaskan sejumlah produk penting yang memiliki aktifitas biologis, termasuk beberapa sitokin seperti TNF- α , ROI dan RNI (Palomino, et.al., 2007).

c. Sel Dendrit

Sel dendrit secara nyata terlibat dalam respon imun protektif terhadap infeksi *M. tuberculosis*. Saat basil *M. tuberculosis* terhirup dan difagositosis oleh makrofag dalam paru-paru, *M. tuberculosis* bertahan dan dapat bereplikasi dalam sel-sel fagosom. Sel dendrit didapatkan dari darah dan juga dari jaringan paru-paru, memainkan peran penting dalam imunitas protektif karena jumlahnya ditemukan meningkat dalam lesi TB dengan cara menginduksi pematangan sel T menjadi *T helper 1* (Th1) dengan cara mensekresikan sitokin, seperti IL-12, IL-18, IL-23, dan kadang-kadang IFN- α dan β . Sel Th1 berkembang dalam merespon antigen BCG yang dipresentasikan oleh sel dendrit dalam jaringan limfoid dan bermigrasi ke arah tempat infeksi, seperti jaringan paru-paru, dengan melepaskan IFN- λ , yang akan mengaktifkan makrofag setempat yang akan mengontrol replikasi basil-basil tuberkulosa (Palomino, et.al., 2007).

d. Sel *Natural killer* (Sel NK)

Sel *Natural killer* memainkan peran sangat penting dalam perkembangan respon imun alamiah. Fungsi utamanya berkaitan dengan perkembangan sitotoksitas terhadap sel target dan termasuk diantara populasi sel pertama yang memproduksi IFN- γ . Sel natural killer dapat meningkatkan sitotoksitas terhadap makrofag terinfeksi *M. tuberculosis*. Sel ini juga mengoptimalkan kemampuan limfosit T CD8+ untuk memproduksi IFN- γ dan untuk melisis sel yang terinfeksi *M. tuberculosis* (Palomino, et.al., 2007).

e. Sel-sel epitel

Makrofag di alveolus dikenal sebagai populasi sel pertama yang berinteraksi dengan infeksi *M. tuberculosis* sejak lama, namun jumlah sel epitel dalam alveolus 30 kali lebih banyak dari jumlah makrofag, jadi kemungkinan bahwa sel epitel merupakan sel pertama yang terpapar basil penginfeksi. Indikasi awal keterlibatan sel epitel dalam infeksi *M. tuberculosis* dihasilkan dari suatu penelitian, dimana telah dideteksi DNA mikobakteria dalam spesimen *necropsy* dari manusia yang meninggal akibat penyakit TB. Dalam penelitian tersebut, DNA *M. tuberculosis* dideteksi dalam makrofag, pneumocytes tipe II, fibroblast, dan sel endotel (Hernandez-Pando, 2000). Beberapa penelitian *in vitro* juga membuktikan interaksi antara sel epitel dengan *M. tuberculosis*. Sel ini juga menjadi inang basil *M. tuberculosis* dan membiarkan replikasi. Selain itu, sel epitel juga mampu menghasilkan respon inflamasi dengan mensekresikan IL-8 dan menginduksi produksi NO (Roy, et.al., 2004).

f. Defensin

Terdapat sebuah elemen menarik dalam respon imun alamiah terhadap mikroorganisme yaitu kelompok peptida endogen yang berkhasiat antimikroba yang dikenal sebagai defensin. Peptida kationik ini terdiri dari sekitar 30 sampai 50 asam amino, terdapat di dalam sel myeloid dan sel epitel dari semua jenis hewan. Peptida ini menunjukkan aktifitas antibakteri, antifungi, dan antivirus. Molekul ini diklasifikasikan menjadi defensin alpha, beta, dan theta, didasarkan pada posisi residu

sistein dan jumlah ikatan disulfurnya. Di dalam sel fagositosis, defensin merupakan komponen destruksi utama terhadap mikroorganisme yang bergantung pada metabolisme oksigen. Diduga peptida ini memecah membran mikroorganisme serta mampu melintasi membran sitoplasma dan masuk ke dalam sel terinfeksi (Palomino, et.al., 2007).

Tikus yang terinfeksi *M. tuberculosis* mengekspresikan defensin beta mBD-3 and mBD-4. Pada tahap awal infeksi, sel epitel dalam saluran pernafasan mengekspresikan kedua defensin tersebut, yang memiliki hubungan dalam mengontrol proliferasi bakteri. Namun, ekspresinya menurun sejalan dengan perkembangan penyakit. Pada infeksi laten, mBD-3 dan mBD-4 diekspresikan secara terus-menerus, tetapi ekspresinya ditekan jika infeksi aktif kembali (Rivas-Santiago, 2006). Sel epitel pada alveolus manusia yang terinfeksi *M. tuberculosis* juga mengekspresikan *human beta-defensin* (HBD-2) (Rivas-Santiago, 2005).

2. Respon imun adaptif terhadap *M. tuberculosis*

Respon imun spesifik atau adaptif memiliki mekanisme berbeda dengan imunitas alamiah. Respon imun spesifik membutuhkan pengenalan khas dari antigen asing. Sistem imun alamiah memiliki pengaruh besar pada mekanisme imun adaptif, respon imun adaptif melaksanakan berbagai fungsi efektor melalui aktivasi komponen-komponen dari imunitas alamiah. Respon imun spesifik dapat dibagi kedalam mekanisme yang diperantarai sel (cell-mediated immunity), termasuk aktivasi sel-T dan mekanisme efektor, serta respon imun

humoral, terdiri dari pematangan sel-B dan produksi antibodi. Sel-B juga berfungsi sebagai *antigen presenting cells* dengan mengaktifasi sel-T.

M. tuberculosis adalah contoh yang sangat penting dari bakteri intrasel yang bertahan dalam waktu yang lama, menyebabkan infeksi laten, yaitu suatu infeksi kronik asimtomatik dan tanpa kerusakan jaringan. Kenyataannya bahwa dari dua juta manusia yang terinfeksi *M. tuberculosis*, namun lebih dari 90 % dari mereka tetap sehat dan bebas dari penyakit klinis dan basil tuberkulosa bertahan di dalam sel dalam bentuk dorman. Olehnya itu, meskipun *cell-mediated immunity* cukup dalam mengontrol perkembangan penyakit, namun gagal dalam membasmi/mensterilkan, jadi dua juta manusia yang terinfeksi tetap menderita bentuk laten dari TB (Collins, 2002).

a. Respon imun humoral (Humoral immune response)

Basil tuberkulosa sering diasumsikan tidak dapat terpapar dengan antibodi karena lokasinya di dalam sel, olehnya itu tipe respon imun ini dianggap non-protektif, namun antibodi sendiri atau bersama dengan sitokin tertentu dapat menghasilkan fungsi penting saat tahap awal infeksi, seperti mencegah masuknya bakteri pada permukaan mukosa. Antibodi dapat meningkatkan imunitas sebagai bentuk proteksi terhadap TB melalui beberapa mekanisme termasuk menetralkan toksin, opsonisasi, aktivasi komplemen, merangsang pelepasan sitokin, *antibody-dependent cytotoxicity*, dan meningkatkan pemaparan antigen.

De Valliere, et.al. (2005) Membuktikan bahwa antibodi tertentu dapat meningkatkan internalisasi dan penghancuran BCG oleh neutrofil dan monosit/makrofag. Lebih daripada itu, basil BCG yang telah diselimuti anitibodi (*antibody-coated bacilli*) lebih mudah diproses dan dipresentasikan oleh sel dendrit untuk merangsang respon sel-T CD4+ dan CD8+. Antibodi IgG dan IgA telah terbukti terdapat dalam sekresi mukosa dari saluran pernafasan bagian bawah manusia. Serum IgG meningkat secara signifikan pada individu divaksinasi BCG dan pasien TB aktif. Vaksinasi BCG oral mengarah pada peningkatan nyata sekresi IgA.

Telah dilakukan pengujian pada hewan uji tikus menggunakan inokulasi pasif antibodi IgA, pada inokulasi intranasal dengan antibodi monoklonal IgA bentuk kristal alfa mereduksi koloni *M. tuberculosis* sampai dengan 10 kali coloni forming units (cfu) dalam paru-paru, sembilan hari setelah pemberian aerosol atau intra-nasal (Palomino, et.al., 2007).

b. Respon imun seluler (*Cellular immune response*)

Saat basil tuberkulosa masuk ke dalam makrofag, antigennya dipresentasikan oleh molekul MHC klas II ke limfosit T CD4+. Sel-sel ini memainkan peran penting dalam respon protektif terhadap *M. tuberculosis*, dan ketika sel ini tidak ada, pertumbuhan sel tidak dapat dikontrol. Ini adalah kasus pada pasien dengan immunodefisiensi, seperti akibat infeksi HIV.

Fungsi utama sel-T CD4+ adalah memproduksi sitokin termasuk IFN- γ , yang akan mengaktifkan makrofag dan memicu kerusakan basil tuberkulosa. Fungsi lain dari sel ini, seperti membantu respon yang diperantarai sel-T CD8+. Dalam hal yang sama, sel-T CD4+ dapat berperan dalam menginduksi apoptosis sel-sel terinfeksi dan setelah itu mereduksi viabilitas bakteri melalui sistem CD95 Fas ligand.

Peran sel-T CD8+ dalam mengontrol infeksi telah dikenal dengan baik. Mencit yang kekurangan molekul seperti CD8 α , *transporter associated with antigen processing* (TAP), dan perforin, menunjukkan lebih rentan terhadap infeksi *M. tuberculosis* dibandingkan hewan yang memproduksi molekul tersebut. Mekanisme yang digunakan sel ini dalam mengontrol TB utamanya dengan produksi sitokin dan melisis bakteri. Pada paru-paru mencit terinfeksi, sel-T CD8+ nampak dapat mensekresikan IFN- γ melalui aktivasi reseptor sel-T receptor atau dengan interaksi dengan sel dendrit terinfeksi (Palomino, et.al., 2007).

D. Nitrogen Monoksida

Makrofag teraktifasi memproduksi sejumlah *reactive oxygen intermediates* (ROI) dan *reactive nitrogen intermediates* (RNI) yang memiliki aktifitas antimikroba yang besar. Saat Fagositosis, proses metabolisme yang dikenal dengan istilah *respiratory burst* terjadi dalam makrofag teraktifasi. Proses ini mengaktifkan enzim *membran-bound oxidase* yang mengkatalisis reduksi oksigen menjadi anion superoksida O $_2^-$, suatu molekul ROI yang sangat toksik terhadap mikroorganisme

yang terfagositosis. Anion superoksida juga menghasilkan sejumlah senyawa oksidan yang kuat, termasuk radikal hidroksil (OH^\cdot) dan hidrogen peroksida (H_2O_2). Enzim myeloperoksidase menghasilkan hipoklorit (ClO^-) dari hidrogen peroksida dan ion klorida. Hipoklorit juga merupakan bahan yang sangat toksik terhadap mikroba yang terfagositosis. Saat makrofag diaktifasi, makrofag juga akan menghasilkan RNI seperti NO , NO_2 , HNO_2 , dan monokloroamin (NH_2Cl) (Goldsby, et. al. 2002).

Nitrogen monoksida atau *nitric oxide* (NO) adalah suatu molekul gas yang sangat kecil, bersifat radikal-bebas, NO merupakan senyawa yang bersifat toksik dan berumur pendek, diproduksi oleh monosit, makrofag, atau neutrofil dengan dikatalisis enzim *NO synthetase* (nNOS, iNOS and eNOS), dengan cara mengkatalisis reaksi antara L-Arginine, NADPH dan oksigen menghasilkan sitrulin, NO dan NADP. Karena bersifat larut air dan lemak dan berukuran kecil sehingga dapat melintasi sel membran (Yang, et.al., 2009; Jerca, et.al., 2002).

NO memiliki beberapa efek, pada sistem sirkulasi, NO bersifat vasodilator kuat dan selektif dengan meningkatkan produksi *cyclic guanosine monophosphate* (cGMP) yang mencegah masuknya ion kalsium dan menghasilkan relaksasi-vasodilatasi otot polos. NO juga suatu neurotransmitter yang membantu dalam proses penyampaian sinaps pada sel saraf. Dalam sistem *innate immune* (imun alamiah), NO dihasilkan oleh monosit, makrofag, dan neutrofil, diekspresikan dalam kondisi tertentu, seperti induksi oleh sitokin, adanya endotoksin (lipopolisakarida bakteri)

dan sitotoksin (bahan-bahan yang mempengaruhi sekresi sitokin) (Yang, et.al., 2009; Jerca, et.al., 2002).

NO memainkan peran kunci sebagai bahan antimikroba non-spesifik terhadap berbagai mikroorganisme, termasuk bakteri dan virus, NO bersifat tidak stabil, dapat bereaksi dengan oksigen dan membentuk NO_2 , NO_2^- , NO_3^- , N_2O_3 , dan ONOO^- (peroksinitrit) yang bersifat mikrobiasidal kuat (Davis, et.al., 2007). NO dapat menyebabkan modifikasi DNA, protein, dan lipid bakteri. NO juga dapat menyebabkan deaminasi dan kerusakan secara langsung pada DNA bakteri dengan memutus rantai DNA. Mekanisme lain NO melalui interaksi dengan protein bakteri, yang menyebabkan inaktivasi enzim dan atau kerusakan fungsi protein (Yang, et.al., 2009; Jerca, et.al., 2002).

E. Herba Pegagan

1. Klasifikasi Tumbuhan

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermathophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Class	: Dicotyledonae
Ordo	: Umbilales
Family	: Umbeliferae (Apiaceaea)
Genus	: Centella
Species	: <i>Centella asiatica</i> (L.) Urban.

Sinonim : *Centella coriacea* Nannfd., *Hydrocotyle asiatica* L., *Hydrocotyle lunata* Lam. dan *Trisanthus cochinchinensis*

2. Nama Daerah

Sumatera : daun kaki kuda, daun penggaga, pegagan, pegaga, rumput kaki kuda, pegago; **Jawa** : antanan gede, antanan rambat (Sunda), gagan-gagan, ganggagan, kerok batok, panegowang, rendeng, calingan rambat (Jawa), gan gagan, kos tekosan (Madura); **Bali** : taidah; **Nusa Tenggara** : belele (Sasak), kelai lere (Sawo); **Sulawesi** : wisu-wisu, pagaga (Makassar), daun tungke-tungke, cipubalawo (Bugis), hisu-hisu (Aselayar); **Halmahera** : sarowati, kori-kori; **Ternate** : kolotidi manora; **Irian** : dogauke, gogauke, sandanan.

3. Morfologi Tumbuhan

Tumbuhan ini merupakan terna tahunan yang tumbuh merambat. Pegagan tidak mempunyai batang, rimpang pendek, dan stolon yang merayap. Panjangnya antara 10 cm – 80 cm. Akar keluar dari setiap bonggol, banyak bercabang yang dapat membentuk tumbuhan baru. Pegagan berdaun tunggal, berbentuk ginjal, panjang tangkai daun antara 5 cm – 15 cm. Tepi daun bergerigi atau beringgit, penampang 1 cm – 7 cm tersusun dalam roset yang terdiri atas 2 – 10 helai daun, kadang-kadang agak berambut. Bunga berwarna putih atau merah muda yang tersusun dalam karangan berbentuk payung, tunggal atau 3 – 5 bersama-sama keluar dari ketiak daun, panjang tangkai bunga 5 mm – 50 cm. Buah

pegagan berbentuk lonjong atau pipih, berbau harum dan rasanya pahit. Panjang buah antara 2 mm – 2,5 mm.

4. Kadungan Kimia

Asiatikosida, tankunisida, isotankunisida, madekassosida, brahmosida, brahminosida, asam brahmat, asam madasiatat, meso-inositol, centellosa, karotenoida, garam-garam mineral seperti garam kalium, natrium, magnesium, kalsium, besi, vellarin, zat samak.

5. Khasiat

Pegagan berasal dari Asia Tropik, tersebar di Asia Tenggara, India, Cina, Jepang, Australia, dan negara-negara lain. Sejak ribuan tahun lalu, tumbuhan ini telah digunakan sebagai obat untuk mengobati berbagai penyakit pada hampir seluruh belahan dunia. Selain digunakan sebagai obat, pegagan juga dikonsumsi sebagai lalap terutama oleh masyarakat di Jawa Barat.

Di India, masyarakat menggunakan tumbuhan ini untuk leprosis, sifilis, dan tuberkulosis serta meningkatkan fungsi mental (Sagrawat and Khan, 2007). Rao (2006) dalam penelitiannya menyimpulkan bahwa ekstrak pegagan memiliki sifat yang dapat merangsang pertumbuhan dendrit sel saraf sehingga dapat digunakan pada neurodegeneratif dan gangguan daya ingat.

Serbuknya dapat meningkatkan titer antibodi dan *cell-mediated response* (DTH) pada dosis 100 mg/kg berat badan. Antony et.al. (2006), melaporkan ekstrak pegagan memiliki efek hepatoprotektif, asiatikosida

yang diisolasi dari pegagan meningkatkan secara signifikan enzim-enzim antioksidan seperti *super oksida dismutans* (SOD), *katalase*, dan *glutathion peroksidase*. Jayathirtha and Mishra (2004) melaporkan bahwa ekstrak metanol pegagan memiliki aktifitas immunomodulator berdasarkan kemampuannya meningkatkan secara signifikan indeks fagositosis dan *white blood cells* (WBC) pada rentang dosis 100 mg – 500 mg /Kg berat badan. Fatmasari dan Maria membuktikan pada uji terhadap respon imun non spesifik dengan uji bersihan karbon, ekstrak air pegagan dosis 150 mg/kg berat badan menunjukkan efek imunostimulasi paling kuat dengan indeks fagositosis 1,78. Pada uji terhadap respon imun spesifik mencit, ekstrak air pegagan dapat menstimulasi respon imun humoral yang terlihat dari peningkatan titer antibodi primer dan pada dosis 37,5 mg/kg berat badan dari ekstrak dapat menstimulasi respon imun selular yang terlihat dari meningkatnya tebal kaki mencit pada uji reaksi hipersensitivitas tipe lambat.

Tenni, et.al. (1988) melaporkan bahwa ekstrak pegagan (25 µg/ml) dapat menstimulasi lapisan sel fibronectin pada kultur fibroblas kulit manusia. Fowst, et.al. (1987) melaporkan bahwa ekstrak pegagan (15-70 µg/ml) berpengaruh positif terhadap kecepatan penggabungan sel endotel pada kultur dan menunjukkan aktivitas stimulasi fibronectin dan produksi PGI_2 .

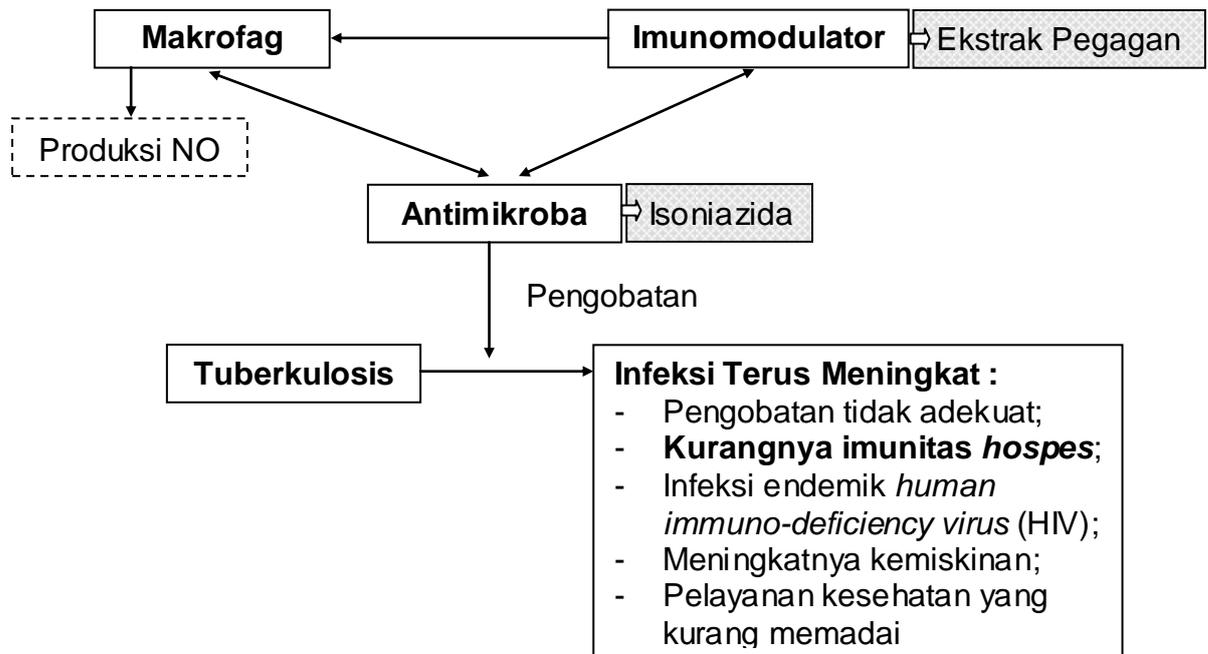
Pada uji klinik dibuktikan bahwa salep yang mengandung 1 % ekstrak pegagan atau 2 % serbuk dapat mempercepat penyembuhan luka

(Bosse, et.al., 1979). Penggunaan lokal ekstrak pegagan dalam pengobatan luka bakar derajat dua dan tiga, dapat mencegah borok akibat serta dapat menghambat pembentukan *scar hypertropic* (Farnsworth and Bunyapraphatsara, 1992)

Pemberian oral kapsul pegagan atau asiatikosida dan kalium klorida dilaporkan efektif seperti terapi dapson pada pasien leprosis. Pada suatu penelitian melibatkan 90 pasien leprosis dengan lesi perforasi, penggunaan serbuk pegagan menunjukkan hasil yang lebih baik secara nyata dibandingkan plasebo (Chakrabarty and Deshmukh, 1976).

.Uji klinis membuktikan aktifitasnya sebagai antiulcer setelah pemberian oral. Pada pasien *peptic* atau *duodenal ulcer* yang diobati dengan ekstrak herba pegagan (60.0 mg/orang), 93% pasien menunjukkan perbaikan gejala dan 73% penyembuhan ulcer, diamati secara endoscopik dan radiologi (Shin, et.al., 1982).

F. Kerangka Konseptual



Keterangan :

 = *Independent variable*

 = *Dependent variable*

G. Hipotesis

Berdasarkan aktifitas imunomodulator ekstrak metanol pegagan yang dibuktikan kemampuannya meningkatkan secara signifikan indeks fagositosis dan *white blood cells* (WBC), maka dapat diramalkan bahwa ekstrak pegagan dan kombinasi ekstrak pegagan dengan INH dapat meningkatkan produksi NO oleh sel makrofag.