

DISERTASI

**EFEK PEMBERIAN EKSTRAK DAUN MIANA (*Coleus scutellariodes* (L) Benth)
TERHADAP PERTUMBUHAN KLEBSIELA PNEUMONIA DAN
HUBUNGANNYA DENGAN EKSPRESI mRNA GEN HIGH MOBILITY GROUP
BOX 1 (HMGB1) DAN SOLUBEL PROTEIN HMGB1 PADA MENCIT Balb/c**

**EFFECT OF MIANA LEAF EXTRACT (COLEUS SCUTELLARIODES (L) BENTH)
ON THE GROWTH OF KLEBSIELA PNEUMONIAE AND ITS RELATIONSHIP
TO MRNA EXPRESSION OF THE HIGH MOBILITY GROUP BOX 1 (HMGB1)
GENE AND SOLUBLE PROTEIN HMGB1 IN BALB/C MICE**



RISKY AKAPUTRA
C013172018

PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU KEDOKTERAN

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS HASANUDIN

MAKASAR

2023

**EFEK PEMBERIAN EKSTRAK DAUN MIANA (*Coleus scutellariodes* (L) Benth)
TERHADAP PERTUMBUHAN KLEBSIELA PNEUMONIA DAN
HUBUNGANNYA DENGAN EKSPRESI mRNA GEN HIGH MOBILITY GROUP
BOX 1 (HMGB1) DAN SOLUBEL PROTEIN HMGB1 PADA MENCIT Balb/c**

**EFFECT OF MIANA LEAF EXTRACT (COLEUS SCUTELLARIODES (L) BENTH)
ON THE GROWTH OF KLEBSIELLA PNEUMONIAE AND ITS RELATIONSHIP
TO MRNA EXPRESSION OF THE HIGH MOBILITY GROUP BOX 1 (HMGB1)
GENE AND SOLUBLE PROTEIN HMGB1 IN BALB/C MICE**

Disertasi

Sebagai Salah Satu Sarat Untuk Mencapai Gelar Doktor

Program Studi

Ilmu Kedokteran

Disusun dan diajukan oleh

**RISKY AKAPUTRA
C013172018**

Kepada

**PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU KEDOKTERAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDIN
MAKASAR
2023**

DISERTASI

**EFEK PEMBERIAN MIANA (COLEUS SCUTELLARIODES (L) BENTH) TERHADAP
PERTUMBUHAN KLEBSIELA PNEUMONIA DAN HUBUNGANNYA DENGAN
EKSPRESI MRNA GEN HIGH MOBILITY GROUP BOX 1 (HMGB1) DAN
SOLUBEL PROTEIN HMGB1 PADA MENCIT BALB/C**

**EFFECT OF MIANA LEAF EXTRACT (COLEUS SCUTELLARIODES (L) BENTH)
ON THE GROWTH OF KLEBSIELLA PNEUMONIAE AND ITS RELATIONSHIP
TO MRNA EXPRESSION OF THE HIGH MOBILITY GROUP BOX 1 (HMGB1)
GENE AND SOLUBLE PROTEIN HMGB1 IN BALB/C MICE**

Disusun dan diajukan
Oleh

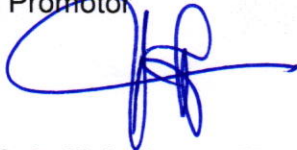
Risky Akaputra
C013172018

*Telah dipertahankan di hadapan Penilai Ujian yang dibentuk dalam rangka
Penyelesaian Studi Program Studi Doktor Ilmu Kedokteran
Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin
pada tanggal, 12 April 2023
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan*

Menyetujui
Promotor,

Prof. dr. Mochammad Hatta, Ph.D, Sp.MK(K)
Nip. 19570416 198503 1 001

Co. Promotor



Prof. dr. Muh Nasrum Massi, Ph.D, Sp.MK(K)
Nip.19670910 199603 1 001

Co. Promotor



Dr. dr. Irawaty Djaharuddin, Sp.P(K)
Nip.19720617 200012 2 001

Ketua Program Studi S3
Ilmu Kedokteran



Dr. dr. Irfan Idris, M.Kes
Nip.19671103 199802 1 001

Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas Hasanuddin,



Prof. Dr. dr. Haerani Rasyid, M.Kes, Sp.PD-KGH, FINASIM Sp.GK
Nip.19680530 199603 2 001

TIM PENILAI UJIAN PROMOSI

Promotor : Prof. dr. Mochammad Hatta, Ph.D, Sp.MK(K)

KoPromotor : Prof. Dr. Muh. Nasrum Massi, Ph.D, Sp.MK(K)
Dr. dr. Irawaty Djaharuddin, Sp.P(K)

Penguji Eksternal : Dr. dr. Muhammad Fachri, Sp.P, FISR, FAPSR

Penilai : Prof. Dr. Rosdiana Natzir, Ph.D, Sp.Biok
dr. Agussalim Ilukhari, M.Clin.Med, Ph.D, Sp.GK(K)
dr. Arif Santoso, Ph.D, Sp.P(K), FAPSR
dr. Aminuddin, M.Nut & Diet, Ph.D, Sp,GK
Dr. dr. Burhanudin Bahar, MS
Ketua Sidang Ujian Promosi Doktor



KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN, RISET DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
FAKULTAS KEDOKTERAN

Jl. Perintis Kemerdekaan Kampus Tamalanrea Km. 10 Makassar 90245
Telp. (0411) 586010, 585836, 586200 Psw. 2767 Fax. (0411) 586297

PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : **Risky Akaputra**
Nomor Pokok : C013172018
Program Studi : Doktor Ilmu Kedokteran
Jenjang : S3

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulis saya berjudul : **Efek Pemberian Miana (Coleus scutellarioides (L) Benth) Terhadap Pertumbuhan Klebsiela Pneumonia dan Hubungannya Dengan Ekspresi mRNA Gen HIGH Mobility Group Box 1 (HMGB1) dan Solubel Protein HMGB1 Pada Mencit Balb/c**

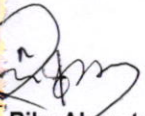
Adalah karya tulis saya sendiri dan bukan merupakan pengambilan alihan tulisan orang lain, bahwa Disertasi yang saya tulis ini benar- benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila dikemudian hari terbukti bahwa sebagian atau keseluruhan Disertasi ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 9 Desember 2022

Yang menyatakan,




Riky Akaputra

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur saya panjatkan ke hadirat ALLAH SWT atas segala Berkah, Rahmat dan Karunia yang dilimpahkan-Nya kepada kita semua. Salawat dan Salam Kepada Nabi Muhammad SAW. Berkat kehendak dan perkenan-Nya jualah saya dapat menyelesaikan disertasi yang berjudul:

EFEK PEMBERIAN EKSTRAK DAUN MIANA (*Coleus scutellariodes* (L) Benth) TERHADAP PERTUMBUHAN *KLEBSIELA PNEUMONIA* DAN HUBUNGANNYA DENGAN EKSPRESI mRNA GEN HIGH MOBILITY GROUP BOX 1 (HMGB1) DAN SOLUBEL PROTEIN HMGB1 PADA MENCIT Balb/c

Pada kesempatan ini saya haturkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu saya selama menjalani Program Pendidikan Doktor (S3) dan dalam penyusunan disertasi ini. Sebagai manusia yang tak sempurna, saya juga hendak menyampaikan permohonan maaf kepada semua pihak terkait atas kekhilafan saya selama menjalani pendidikan di Departemen Program Pendidikan Doktor (S3) Ilmu Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar. Saya menyadari bahwa selesainya program doktor yang saya jalani ini, tidak lepas dari bantuan, dukungan, serta perhatian dari berbagai pihak. Untuk itu, ijinakan saya menyampaikan ucapan terima kasih ini.

Pada kesempatan yang berbahagia ini, perkenankan saya untuk menyampaikan ucapan terima kasih kepada Rektor Universitas Hasanuddin **Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, M.Sc.** yang telah memberikan kesempatan bagi saya untuk mengikuti Program Doktor Ilmu Kedokteran di Universitas Hasanudin yang beliau pimpin.

Kepada **Prof. Dr. dr. Haerani Rasyid Sp.PD-KGH SpGK MKes** selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, yang saya hormati, saya mengucapkan terima kasih atas kesempatan yang diberikan kepada saya untuk mengikuti Program S3 Ilmu Kedokteran.

Kepada **Dr. dr. Irfan Idris, M.Kes** selaku Ketua Program Studi S3 Ilmu Kedokteran FKUH, dan anggota/ penilai disertasi, saya menyampaikan rasa hormat dan terima kasih yang tak terhingga.

Kepada seluruh staf administrasi Program studi S3 ilmu Kedokteran Fakultas Kedokteran UNHAS pak Akmal, pak Mumu, pak Rahmat saya ucapkan banyak terimakasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya untuk semua bantuannya dalam melancarkan proses perkuliahan.

Kepada **Prof. dr. Mochammad Hatta, PhD., SpMK(K)** selaku Ketua/ promotor, yang sangat saya hormati dan kagumi, saya sampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya dan penghargaan yang setinggi-tingginya, yang telah memberikan kesempatan awal kepada saya saat beliau amsih menjadi kaprodi dan menerima saya sebagai mahasiswa S3 ilmu doktor. Dengan sepenuh hati melakukan bimbingan mulai dari pengembangan ide penelitian, pembuatan proposal , penelitian sampai dengan penyelsaian disertasi. Beliau dengan teliti dan sabar meluangkan sebagian besar waktunya untuk mengajar dan mengawal penelitian ini bahkan ditengah-tengah pandemi dan kesibukan beliau tetap melakukan bimbingan baik itu secara daring maupun secara luring. Terimakasih yang tulus juga saya sampaikan pada seluruh staff laboratorium Mikrobiologi Molekuler dan Imunologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin yang telah banyak membantu dalam proses penelitian.

Kepada **Prof. dr. Muh. Nasrum Massi, Ph.D, Sp.MK(K)** selaku co-promotor, yang sangat saya hormati, saya sampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya dan penghargaan yang setinggi-tingginya, dengan sabar meluangkan sebagian besar waktunya untuk mengajar dan mengawal penelitian ini bahkan ditengah-tengah pandemi dan kesibukan tetap melakukan bimbingan baik itu secara daring maupun secara luring.

Saya juga mengucapkan banyak terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada **Dr. dr. Irawaty Djaharuddin, Sp.P(K)** selaku co-promotor yang telah banyak melakukan Bimbingan dan koreksi terhadap disertasi saya di tengah kesibukan beliau dalam mengajar dan melakukan pelayanan paru kepada pasien-pasiennya.

Saya juga mengucapkan banyak terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada **Dr. dr. Muhammad Fachri, Sp.P, FISR, FAPSR** selaku penilai/penguji eksternal yang bukan berasal dari Universitas Hasanudin. Beliau juga selaku Dekan Fakultas Kedokteran dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Jakarta yang telah memberikan motivasi dan dukungan dalam menyelesaikan disertasi ini.

Terima kasih saya haturkan kepada **Prof. Dr. Rosdiana Natzir, Ph.D, Sp.Biok**, selaku panitia anggota/ penilai yang berkenan meluangkan waktu untuk menjadi penguji ditengah-tengah kesibukan beliau.

Terima kasih saya haturkan kepada **dr. Agussalim Bukhari, M.Clin.Med, Ph.D, Sp.GK(K)**, selaku panitia anggota/ penilai yang berkenan meluangkan waktu untuk menjadi penguji ditengah-tengah kesibukan beliau sebagai Wakil Dekan 1 Fakultas Kedokteran Universitas Hasanudin.

Terima kasih saya haturkan kepada **dr. Arif Santoso, Ph.D, Sp.P(K), FAPSR**, selaku panitia anggota/ penilai yang berkenan meluangkan waktu untuk menjadi penguji ditengah-tengah kesibukan beliau sebagai dokter spesialis paru, Ketua PDPI caban Sulawesi dan Kepala departement Pulmonologi di Fakultas Kedokteran Universitas Hasanudin.

Terima kasih saya haturkan kepada **dr. Aminuddin, M.Nut & Diet, Ph.D, Sp,GK**, selaku panitia anggota/ penilai yang berkenan meluangkan waktu untuk menjadi penguji ditengah-tengah kesibukan beliau.

Terima kasih saya haturkan kepada **Dr. dr. Burhanudin Bahar, MS**, selaku panitia anggota/ penilai yang berkenan meluangkan waktu untuk menjadi penguji disaat beliau masih dalam perawatan Rumah Sakit menyempatkan diri untuk melakukan Ujian proposal dan ditengah-tengah kesibukan beliau tetap hadir dalam ujian disertai.

Terimakasih yang tulus dan penghargaan yang sebesar-besarnya juga saya sampaikan untuk segenap guru dan dosen yang telah membimbing saya dalam semua tahapan pendidikan yang telah saya lalui hingga jenjang pendidikan doktor ini.

Kepada orang tua saya yang sangat saya hormati dan saya muliakan **ayahanda (ALM) H. Rosman Yahya** dan **ibunda Hj. Syam Arni**, sembah sujud dan terima kasih yang tak terhingga ananda sampaikan atas segala doa dan dukungan yang diberikan sejak saya dalam kandungan, dilahirkan dan dibesarkan hingga saat ini saya dapat menyelesaikan jenjang pendidikan doktor. Capaian pendidikan S3 Ilmu Kedokteran ini tentunya dapat tercapai atas doa, dorongan, motivasi serta rasa sayang sepanjang masa yang tulus ikhlas dari kedua orang tua.

Kepada kedua mertua saya yang sangat saya hormati dan saya saya muliakan **Prof. dr. Muchlis Ramli Sp.B(K)Onk** dan **dr . Mariati Suny Sp.M** yang selalu memberikan semangat dan

dukungan untuk saya dapat menyelesaikan pendidikan S3 Ilmu Kedokteran terima kasih dan salam hormat atas dukungan serta doa selama ini.

Kepada Keluarga yang saya cintai khususnya kepada Istriku **dr. Riska Fitriani** terima kasih yang tulus dan sebesar-besarnya atas doa dan dukungan moral serta dengan sabar dan pengertian menemani selama pernikahan dan dalam menjalani pendidikan S3 Ilmu Kedokteran. Kepada anak-anak ku tercinta , **Muhammad Rafa Akilarasky Akaputra, Zahra Quinnsetta Raska Akaputri, Muhammad Alfath Rasky Akaputra** , papa mengucapkan terima kasih atas pengertian dan memohon maaf untuk waktu yang berkurang selama menjalani pendidikan S3 Ilmu Kedokteran ini. Semoga capaian ini dapat menjadi inspirasi, motivasi dan kebanggaan buat anak-anakku.

Kepada teman teman seperjuangan angkatan Januari 2018 yang mungkin tidak dapat saya sebutkan satu satu namanya, saya mengucapkan banyak terima kasih

Tentu masih banyak pihak-pihak yang berjasa selama saya menjalankan pendidikan S3 Ilmu Kedokteran yang tidak dapat saya sebutkan satu satu namanya di sini. Ucapan terima kasih sebesar-besarnya buat mereka semua, dan semoga ALLAH SWT membalas segala kebaikan mereka. Semoga disertasi yang saya tulis ini dapat meelngkapi khazanah ilmu pengetahuan di bidang ilmu Kedokteran dan dapat bermanfaat buat masyarakat.

Makassar , Januari 2023

Risky Akaputra

ABSTRAK

RISKY AKAPUTRA. *Efek pemberian ekstrak daun miana (coleus scutellariodes (L) benth) terhadap pertumbuhan klebsiela pneumonia dan hubungannya dengan ekspresi mRNA gen high mobility group box 1 (HMGB1) dan solubel protein HMGB1 pada mencit balb/c* (dibimbing oleh Mochammad Hatta, Muh Nasrum Massi, dan Irawaty Djaharuddin).

Penelitian ini bertujuan mengetahui efek ekstrak daun *Miana* terhadap pertumbuhan *Klebsiela Pneumonia* dan hubungannya dengan ekspresi mRNA gen HMGB1 dan solubel protein HMGB1 pada mencit Balb/c. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang menggunakan hewan coba mencit Balb/c dengan membagi mencit ke dalam dua kelompok besar, yaitu (1) kelompok A adalah mencit yang diberikan *Miana* sebelum diinduksi dengan *Klebsiela Pneumonia* dan (2) kelompok B adalah mencit yang tidak mendapatkan *Miana* sebelum diinduksi dengan *Klebsiela Pneumonia*. Setiap kelompok besar dibagi kembali menjadi empat kelompok kecil yang diberikan perlakuan dengan memberikan *aquades*, *Miana*, *levofloxacin*, dan mendapatkan keduanya. Total keseluruhan kelompok berjumlah delapan. Penelitian ini menggunakan hewan coba mencit *strain* Balb/c berumur sepuluh minggu dengan berat 30-35 gram yang diperoleh dari Laboratorium Biologi Molekuler dan Imunologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin. Hasil penelitian menunjukkan bahwa (a) terdapat pengaruh *Miana* terhadap *bacterial load* pada kelompok preventif lebih sedikit dibandingkan dengan kelompok kuratif, (b) terdapat pengaruh pemberian ekstrak daun *Miana* dan *Levofloxacin* dalam menurunkan ekspresi gen mRNA HMGB1 setelah infeksi *Klebsiela Pneumonia*, (c) terdapat pengaruh pemberian ekstrak daun *Miana* dan *Levofloxacin* dalam menurunkan kadar solubel protein HMGB1 setelah infeksi *Klebsiela Pneumonia*, (d) terdapat hubungan antara penurunan jumlah *bacterial load* dan penurunan ekspresi mRNA gen HMGB1 pada kelompok preventif dan kuratif, (e) terdapat hubungan antara penurunan jumlah *bacterial load* dan penurunan kadar solubel protein HMGB1 pada kelompok preventif dan kuratif, dan (f) terdapat hubungan antara ekspresi mRNA gen HMGB1 dan solubel protein HMGB1 pada mencit Balb/c yang diinduksi dengan *Klebsiela Pneumonia* setelah pemberian *Miana* pada kelompok preventif dan kuratif.

Kata kunci: ekstrak daun miana, klebsiela Pneumonia, HMGB1, solubel protein HMGB1



ABSTRACT

RISKY AKAPUTRA. *Effect of Miana Leaf Extract (Coleus scutellarioides (L) Benth) on The Growth of Klebsiella Pneumonia and Its Relationship with The Expression of High Mobility Group Box 1 (HMGB1) Gene and HMGB1 Soluble Protein in Balb/c Mice* (Supervised by Mochammad Hatta, Muh. Nasrum Massi. and Irawaty Djaharuddin).

This study aims to determine the effect of Miana leaf extract on the growth of Klebsiella Pneumonia and its relationship to the expression of HMGB1 gene mRNA and HMGB 1 soluble protein in balb/c mice. This study was an experimental study using Balb/c mice by dividing the mice into 2 large groups, namely Group A were mice that were given Miana before being induced with Klebsiella Pneumonia and Group B were mice that did not get Miana before being induced with Klebsiella Pneumonia. Each large group will be divided again into 4 small groups which will be given treatment by giving distilled water, Miana, levofloxacin and getting both, a total of 8 groups. This study used mice of 10-week-old Balb/c strain weighing 30-35 grams, obtained from the Laboratory of Molecular Biology and Immunology, Faculty of Medicine, Hasanuddin University. There is a effect of miana on bacterial load in the preventive group less than in the curative group, there is an effect of giving miana leaf extract and levofloxacin in reducing HMGB1 mRNA gene expression after Klebsiella Pneumonia infection, there is an effect of giving miana leaf extract and levofloxacin in reducing soluble protein levels HMGB1 after klebsiella Pneumonia infection, there is a relationship between decreased bacterial load and decreased HMGB1 gene mRNA expression in the preventive and curative groups, there is a relationship between decreased bacterial load and decreased HMGB1 soluble protein levels in the preventive and curative groups, there is a relationship between gene mRNA expression HMGB1 and HMGB1 soluble protein in Babl/c mice induced with klebsiella pneumonia after administration of miana in the preventive and curative groups.

Keywords: miana leaf extract, klebsiella Pneumonia, HMGB1, soluble protein
HMGB1



DAFTAR ISI

Daftar Isi.....	xi
Daftar Ilustrasi	xiv
Daftar Tabel	xv
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Pneumonia	6
2.1.1. Definisi.....	6
2.1.2 Etiologi.....	7
2.1.3 Manifestasi Klinis.....	9
2.1.4 Diagnosis	11
2.1.5 Tatalaksana	12
2.2 Klebsiella pneumoniae.....	14
2.2.1 Sejarah dan Karakteristik.....	14
2.2.2 Taksonomi <i>Klebsiella pneumoniae</i>	15
2.2.3 Patofisiologi.....	16
2.2.4 Virulensi.....	17
2.3 Miana	19
2.3.1 Karakteristik Miana	19
2.3.2 Efek Terapi Miana terhadap infeksi.....	22

2.4	Gen High Mobility Group Box 1 (HMGB1).....	24
2.4.1	Struktur HMGB1.....	24
2.4.2	Fisiologi dan Peranan HMGB1.....	26
BAB III KERANGKA TEORI.....		32
BAB IV KERANGKA KONSEP		33
4.1	Kerangka Konsep.....	33
4.2	Variabel Penelitian.....	33
4.3	Hipotesis	33
4.4	Definisi Operasional.....	34
BAB V METODE PENELITIAN.....		35
5.1	Desain Penelitian.....	35
5.2	Subjek Penelitian.....	35
5.2.1	Kriteria Inklusi	35
5.2.2	Kriteria Eksklusi.....	35
5.3	Tempat dan Waktu Penelitian.....	36
5.4	Alat dan bahan Penelitian.....	36
5.5	Protokol Penelitian	37
5.6	Cara kerja ekstraksi mRNA , Realtime PCR.....	38
5.7	Cara Kerja ELISA	41
5.8	Pengolahan data dan Analisa data	43
5.9	Etika Penelitian	43
5.10	Alur penelitian	44
5.11	Hasil Penelitian	45
5.12	Diskusi.....	50

5.13	Kesimpulan	54
	Lampiran	63

DAFTAR ILUSTRASI

- Gambar 2.1 : Penilaian derajat berat pneumonia menggunakan sistem skor CURB-65
- Gambar 2.2 : Struktur Klebsiela Pneumonia
- Gambar 2.3 : Tanaman Miana (*Coleus scutellariodes* (L) Benth)
- Gambar 2.4 : Struktur HMGB-1
- Gambar 2.5 : Pelepasan HMGB1 secara aktif dan pasif
- Gambar 2.6 : Mekanisme sekresi HMGB1 peran dalam inflamasi
- Gambar 3.1 : Kerangka Teori
- Gambar 4.1 : Kerangka Konsep
- Gambar 5.1 : Kelompok Sampel
- Gambar 5.2 : Alur Penelitian
- Gambar 5.3 : Pertumbuhan Klebsiella Pneumonia pada Kelompok A
- Gambar 5.4 : Pertumbuhan Klebsiella Pneumonia pada Kelompok B

DAFTAR TABEL

- Tabel 2.1 : Penyebab pneumonia komunitas menurut ATS/IDSA 2007
- Tabel 2.2 : Sistem skor berdasarkan *Pneumonia Severity Index*
- Tabel 5.1 : Tabel 5.1 : Hasil pemeriksaan Ekspresi mRNA gen HMGB1 dan Solubel protein HMGB1 pada kelompok preventif
- Tabel 5.2 : Tabel 5.1 : Hasil pemeriksaan Ekspresi mRNA gen HMGB1 dan Solubel protein HMGB1 pada kelompok kuratif
- Tabel 5.3 : Hasil Pemeriksaan variabel hari ke 12 setelah di induksi *K. Pneumonia*

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pneumonia merupakan salah satu penyakit infeksi saluran napas akut yang mengenai paru dan mengakibatkan gangguan pada alveoli yang dalam kondisi normal terisi udara saat bernapas. Ketika seseorang menderita pneumonia, alveoli berisi cairan yang dapat menyebabkan nyeri saat bernapas dan membatasi asupan oksigen. (WHO,2022) Pneumonia penyebab kematian pada penyakit menular terbesar pada anak-anak dan orang tua di seluruh dunia. (Armstrong *et al*, 2011) Pneumonia mengakibatkan kematian sebanyak 808.694 anak di bawah usia 5 tahun pada tahun 2017, angka kematian tersebut sebanyak 15% dari semua kematian anak di bawah usia lima tahun. Pneumonia di Amerika Serikat merupakan salah satu penyakit infeksi yang menyebabkan kematian dengan angka mortalitas 20 per 100 ribu penduduk. Arnold dkk melakukan penelitian dan mendapatkan angka kematian akibat pneumonia di Amerika dan Kanada sebesar 7% , Eropa 9,1% dan Amerika Latin 13.3%.(Arnold *et al* ,2013) Pneumonia dapat menyerang anak-anak dan dewasa di 15 negara berkembang paling umum terjadi di Asia Selatan dan Afrika sub-Sahara dengan jumlah kematian terbanyak berasal dari India sebanyak 158.176 orang. (WHO,2022)

Berdasarkan data dari Riset Dasar Kesehatan tahun 2018 prevalensi pneumonia di Indonesia sebesar 2% sedangkan pada tahun 2013 sebesar 1.8%. Sekitar 14 propinsi di Indonesia prevalensi pneumonia masih berada pada angka lebih dari 2 % atau diatas rata rata prevalensi di Indonesia.(Riskesdas,2018) Menurut data Profil Kesehatan Indonesia tahun 2019 pneumonia termasuk 10 besar penyakit rawat inap dengan angka Case Fatality rate (CFR) tertinggi yaitu 7,6%.(Kemenkes profil kesehatan Indonesia, 2019).

Pneumonia dapat disebabkan oleh infeksi mikroorganisme seperti bakteri, virus, jamur dan parasit. Pneumonia di Indonesia sering disebabkan oleh infeksi bakteri gram negatif yang terbanyak adalah *Klebsiella Pneumonia*, *Acinetobacter baumannii* dan *Pseudomonas aeruginosa*. (Firmansyah *et al*,2015) *Klebsiella Pneumonia* merupakan bakteri oportunistik yang dapat menyebabkan infeksi serius terutama pada pasien dengan gangguan sistem kekebalan, tetapi kemunculan dan penyebaran strain hipervirulen baru-baru ini telah memperluas jumlah orang yang rentan terhadap infeksi, termasuk mereka yang sehat dan immunosufisiensi. Munculnya strain hipervirulen telah mendorong sejumlah penelitian untuk mengevaluasi faktor faktor yang terkait selama infeksi terjadi.(Paczosa *et al*,2016) World Health Organization mencantumkan bahwa *Klebsiella pneumonia* merupakan salah satu spesies yang menjadi prioritas tinggi terkait dengan permasalahan resistensi terhadap antibiotik (WHO,2017), oleh karena itu diperlukan pengembangan antibiotik dalam penanganan infeksi yang disebabkan oleh *Klebsiella pneumonia*. Selain pengembangan antibiotik yang memiliki keterbatasan dalam pengobatan infeksi pneumonia, perlu dikembangkan terapi tambahan untuk meningkatkan respon imunitas sebagai mekanisme pertahanan tubuh.

Sistem imun memiliki peran yang penting pada awal terjadinya infeksi saat sistem imun mengenali patogen. Sistem imun *innate* dan *adaptive* memiliki peran terhadap perkembangan pada penyakit pneumonia. Pada saat proses sistem imun ini bekerja sel yang mati dan makrofag akan melepaskan HMGB1 yang akan menginduksi pelepasan sitokin proinflamasi (Hemandes *et al*,2015) *High Mobility Group Box 1* (HMGB1) adalah protein nuklir non-histone yang terdiri dari 215 asam amino yang tersusun dalam dua struktur kotak (kotak A dan kotak B) dan terminal C ekor dengan asam amino glutamat dan aspartik. HMGB1 mengandung tiga residu sistein, dua di kotak A, (C23 dan C45), dan satu di kotak B (C106) yang peka terhadap redoks, dan dua urutan lokalisasi nuklir

(NSL) yang terletak satu di kotak A dan yang lainnya di kotak B, keduanya mengandung residu lisin. (Yang H,*et al* 2015) Pada penelitian yang dilakukan pada tikus Balb/c yang terinfeksi, konsentrasi HMGB1 maksimal dalam cairan lavage bronchoalveolar (BALF) adalah pada hari 1 setelah infeksi, dan HMGB1 terutama dari epitel bronkus dan makrofag. Dari hari ke 7 hingga 21 setelah infeksi. (Hemandes *et al*,2015)

High Mobility Group Box 1 yang disekresikan secara ekstraseluler dapat merangsang jalur pensinyalan pro-inflamasi, seperti jalur inflammasome dan NF- κ B, untuk menginduksi pelepasan sitokin proinflamasi, membentuk loop positif untuk mempercepat respons inflamasi. Selanjutnya, HMGB1 dapat dilepaskan secara pasif dari sel yang rusak. HMGB1 yang teroksidasi adalah yang utama pada saat awal, sedangkan bentuk tereduksi terdeteksi selama tahap lanjut. Sementara itu, memblokir HMGB-1 selama periode awal infeksi dapat meringankan penyakit, tetapi memblokir aktivitas HMGB1 pada periode akhir infeksi dapat mengakibatkan perburukan penyakit.(Ding *et al*, 2017) Peningkatan darah HMGB1 berkorelasi dengan 10% peningkatan risiko penurunan fungsi paru-paru, sedangkan peningkatan serum HMGB1 dikaitkan dengan peningkatan risiko 5% perkembangan penyakit paru. Peran pro inflamasi yang kuat dari HMGB1 telah ditunjukkan pada penyakit autoimun, trauma, sepsis, dan pneumonia bakteri. HMGB1 adalah biomarker independen untuk kematian pada pneumonia berat, pneumonia akibat infeksi virus atau sindrom gangguan pernapasan akut (Ding *et al*, 2017)

Pneumonia dapat dicegah dengan intervensi sederhana, dan diobati dengan pengobatan dan perawatan berbiaya rendah dan berteknologi rendah dan dalam beberapa tahun terakhir, penggunaan tanaman obat telah menarik perhatian bagi sebagian masyarakat Indonesia sebagai pengobatan alternatif dan standar. Bahkan beberapa tanaman obat tersebut mengandung sumber zat antimikroba. (Romulo, Zuhud and Rondevaldova, 2018) Tanaman obat sekarang digunakan sebagai terapi primer atau

komplementer untuk meningkatkan imunitas atau menjaga kesehatan dan kebugaran. Salah satu tanaman obat yang digunakan dalam komunitas etnis Toraja (di provinsi Sulawesi Selatan, Indonesia) adalah Miana (*Coleus scutellarioides*, (L) Benth). Studi pendahuluan pada 2013 di Tana Toraja, menyimpulkan bahwa masyarakat telah menggunakan daun Miana untuk pengobatan. Oleh karena itu, penggunaan Miana menjadi potensi untuk diteliti dan dikembangkan.(Pakadang *et al.*, 2015) Berdasarkan penjelasan diatas penulis tertarik untuk mengetahui bagaimana efek ekstrak daun Miana terhadap ekspresi gen mRNA HMGB1, *soluble protein* HMGB1 dan pertumbuhan *Klebsiela pneumonia*.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut maka dapat dirumuskan masalah dengan pertanyaan penelitian yaitu bagaimana peranan ekstrak daun Miana terhadap pertumbuhan *Klebsiela pneumonia* dan hubungannya dengan ekspresi mRNA gen HMGB1 dan *soluble protein* HMGB1 pada mencit Balb/c

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui efek ekstrak daun Miana terhadap pertumbuhan *Klebsiela pneumonia* dan hubungannya dengan ekspresi mRNA gen HMGB1 dan *soluble protein* HMGB1 pada mencit Balb/c

1.3.2 Tujuan Khusus

1.3.2.1 Diketuinya efek ekstrak daun Miana terhadap *bacterial load* *Klebsiela pneumonia* pada mencit Balb/c

1.3.2.2 Diketuahuinya efek ekstrak daun Miana terhadap ekspresi mRNA gen HMGB1 pada mencit Balb/c yang diinduksi dengan *Klebsiela pneumonia*

1.3.2.3 Diketuahuinya efek ekstrak daun Miana terhadap soluble protein HMGB1 pada mencit Balb/c yang diinduksi dengan *Klebsiela pneumonia*

1.3.2.4. Diketuahuinya hubungan antara bacterial load dan ekspresi mRNA gen HMGB1 pada mencit Balb/c yang diinduksi dengan *Klebsiela pneumonia* setelah pemberian ekstrak daun Miana

1.3.2.5. Diketuahuinya hubungan antara bacterial load dan soluble protein HMGB1 pada mencit Balb/c yang diinduksi dengan *Klebsiela pneumonia* setelah pemberian Miana

1.3.2.6. . Diketuahuinya hubungan antara ekspresi mRNA gen HMGB1 dan soluble protein HMGB1 pada mencit Balb/c yang diinduksi dengan *Klebsiela pneumonia* setelah pemberian Miana

4. Manfaat Penelitian

4.1. Manfaat dari aspek pengembangan ilmu

4.1.1. Mengembangkan pengetahuan tentang patomekanisme HMGB1 sebagai biomarker pada infeksi *Klebsiella pneumonia*

4.1.2. Menambahkan pemahaman tentang peran Miana pada infeksi *Klebsiella Pneumonia* dan hubungannya dengan *bacterial load*

4.2. Manfaat dari aspek klinis

4.2.1. Penelitian ini dapat berguna bagi klinisi dalam memahami peran HMGB1 sebagai biomarker pada infeksi *Klebsiella pneumonia*

4.2.2. Penelitian ini dapat berguna bagi klinisi dalam peran Miana sebagai suplemen pada infeksi *Klebsiella pneumonia*

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. PNEUMONIA

2.1.1. Definisi

Pneumonia adalah suatu peradangan pada parenkim paru yang disebabkan oleh mikroorganisme seperti bakteri, virus, jamur dan parasit. Peradangan pada paru yang disebabkan oleh mikroorganisme tertentu seperti *Mycobacterium Tuberculosis* tidak dimasukkan sebagai pneumonia. (PDPI, 2014). Pneumonia biasanya ditandai dengan keluhan batuk dengan dahak yang produktif, demam dan pada pemeriksaan radiologi ditandai dengan gambaran infiltrate atau konsolidasi pada paru pasien. (PDPI, 2014). Pneumonia merujuk kepada peradangan pada parenkim paru yang disebabkan oleh mikroorganisme, sedangkan jika disebabkan oleh non mikroorganisme disebut sebagai pneumonitis. (Zul Dahlan *et al*, 2007) Pneumonia berdasarkan tempat didapatnya dikelompokkan ke dalam 2 kelompok besar yaitu Pneumonia Komunitas (Community Acquired Pneumonia) yaitu pneumonia yang didapatkan di masyarakat atau di luar rumah sakit. Pneumonia Nosokomial (Hospital Acquired Pneumonia) adalah pneumonia yang didapatkan di rumah sakit atau terkait dengan perawatan rumah sakit. Pneumonia ini di bagi lagi menjadi pneumonia yang berkaitan dengan penggunaan ventilator (Ventilator Acquired Pneumonia) dan pneumonia yang didapatkan di pusat perawatan Kesehatan (Health-care Associated Pneumonia). (Zul Dahlan *et al*, 2007)

2.1.2. Etiologi

Pneumonia dapat disebabkan oleh berbagai macam mikroorganisme seperti bakteri, virus, jamur dan parasit. (PDPI, 2007) Pneumonia bakteri dibagi berdasarkan bakteri penyebabnya antara lain pneumonia *typical* dan pneumonia *atypical*. Pneumonia *atypical* merujuk kepada infeksi paru yang disebabkan oleh *Mycoplasma Pneumonia*, *Chlamydia Pneumonia* dan *Legionella Pneumonia*. Pneumonia *typical* disebabkan oleh bakteri tipikal seperti; *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus Grup A*, *Klebsiella pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, bakteri anaerob, dan organisme gram negatif lainnya. Organisme ini dapat dengan mudah dibiakkan pada media standar atau terlihat pada pewarnaan Gram, tidak seperti organisme atipikal. *Streptococcus pneumoniae* adalah bakteri penyebab CAP yang paling sering diidentifikasi pada semua kelompok umur di seluruh dunia. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Escherichia coli*, dan *Enterobacteriaceae* lainnya adalah penyebab utama HAP, VAP, dan HCAP. (Pahal et al, 2020).

Pneumonia berdasarkan penyebabnya pada tabel 2.1 dilihat dari tempat didapatnya infeksi tersebut menurut IDSA/ATS 2007 (Mandell *et al.*, 2007)

Tabel 2.1. Penyebab pneumonia komunitas menurut ATS/IDSA 2007

Tipe pasien	Etiologi
Rawat jalan	<i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Mycoplasma pneumoniae</i> <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Chlamidophila pneumoniae</i> <i>Virus respirasi</i>
Rawat inap (non ICU)	<i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Mycoplasma pneumoniae</i> <i>Chlamidophila pneumoniae</i> <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Legionella spp</i> <i>Aspirasi</i> <i>Virus respirasi</i>
Rawat ICU	<i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Legionella spp</i> Basil gram negatif <i>Haemc</i>

Dikutip dari (Mandell *et al.*, 2007)

(Dikutip dari 10)

Penyebab Pneumonia di Indonesia didapatkan hasil yang cukup berbeda dibandingkan dengan data tersebut. Berdasarkan laporan 5 tahun terakhir dari beberapa pusat paru di Indonesia (Medan, Jakarta, Surabaya, Malang, dan Makasar) dengan cara pengambilan bahan dan metode pemeriksaan mikrobiologi yang berbeda didapatkan hasil pemeriksaan sputum sebagai berikut : (PDPI,2003)

- o *Klebsiella pneumoniae* 45,18%
- o *Streptococcus pneumoniae* 14,04% o *Streptococcus viridans* 9,21%
- o *Staphylococcus aureus* 9%
- o *Pseudomonas aeruginosa* 8,56%
- o *Streptococcus hemolyticus* 7,89%
- o *Enterobacter* 5,26%
- o *Pseudomonas spp* 0,9%

Penelitian yang di lakukan oleh Faisal dkk di RSUP Persahabatan Biakan bakteri sputum pada penelitian ini sebagian besar didapatkan hasil Gram negatif, yaitu *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli*, meskipun gram positif *Streptococcus viridans* juga banyak ditemukan. Bakteri terbanyak hanya pada *K. Pneumoniae* yaitu 16 pasien (34,0%), sedangkan lainnya ditemukan bakteri *Staphylococcus epidermidis*, *Enterobacter*, *Escherichia cloacae*, dan *Klebsiella oxytica* memiliki angka insiden yang rendah.(Faisal,et al, 2014)

Penelitian lain yang dilakukan oleh Firmansyah dkk di RS. Cipto Mangunkusumo, etiologi pneumonia terbanyak dalam penelitian ini adalah kuman Gram-negatif yakni *Klebsiella pneumoniae* (28%) diikuti oleh *Pseudomonas spp.* (14%), dan *Acinetobacter spp.* (11,4%). *Klebsiella pneumoniae*, sebagai etiologi CAP terbanyak, juga didapatkan pada beberapa penelitian di Indonesia dan tempat lainnya. Bakteri Gram-negatif termasuk

Pseudomonas aeruginosa, sebagai etiologi CAP juga dijumpai pada beberapa penelitian lain (Firmansyah et al, 2015).

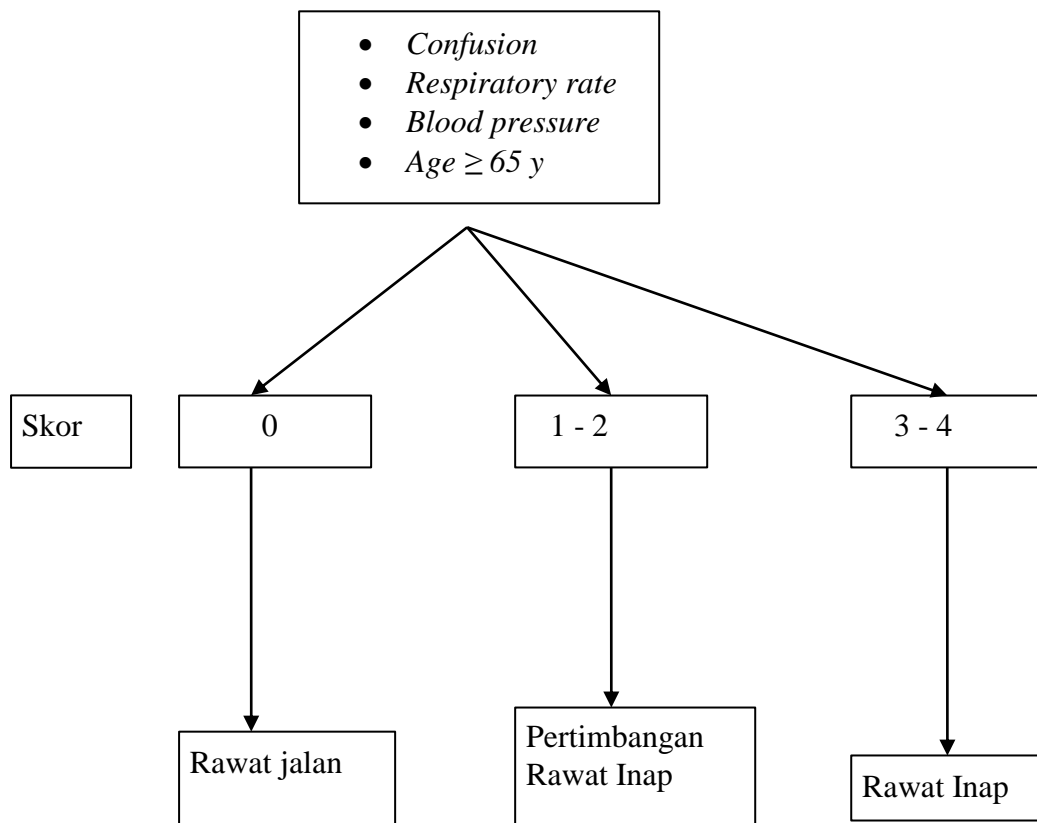
Meskipun tidak perlu memiliki faktor predisposisi untuk terkena pneumonia, tetapi beberapa faktor-faktor tersebut di bawah ini membuat seseorang lebih mungkin untuk terkena infeksi paru. Beberapa faktor tersebut antara lain ; kondisi atau penyakit yang mengganggu respon imun seseorang, misalnya usia yang lebih tua (lebih dari 65 tahun), immunosupresi, diabetes, *cystic fibrosis*, kanker paru-paru, dan lain-lain. (Zul Dahlan et al,2007) Kondisi yang meningkatkan risiko makro atau mikro-aspirasi termasuk stroke, kejang, anestesi, keracunan obat. Merokok, alkoholisme, malnutrisi, penyumbatan bronkus akibat tumor adalah kondisi predisposisi umum lainnya. (Zul Dahlan et al,2007)

2.1.3. Manifestasi Klinis

Gejala Klinis pasien pneumonia data bervariasi mulai dari gejala yang ringan sampai dengan gejala berat. Gejala yang sering muncul pada pneumonia adalah batuk tidak berdahak atau batuk dengan dahak yang purulen , *muroid* dan mengandung darah. Keluhan demam yang kadang juga disertai dengan respon denyut nadi yang meningkat (takikardi), pasien bisa merasakan menggigil dan atau berkeringat. Penelitian yang dilakukan oleh Faisal dkk, keluhan terbanyak pneumonia pada awal pengobatan adalah sesak sebanyak 51,0% diikuti dengan batuk 32,0%, demam 12,8%, dan yang paling jarang dikeluhkan adalah nyeri dada 4,3%. (Faisal,et al, 2014)

Keluhan lain yang bisa dirasakan oleh pasien adalah sesak napas , nyeri dada pleuritik jika disertai keterlibatan pleura. Keluhan di luar sistem pernapasan yang juga bisa dirasakan oleh pasien seperti gangguan di gastrointestinal seperti rasa mual, muntah , diare, nafsu makan yang menurun dan bahkan dengan gejala yang berat bisa mengalami gangguan perubahan status mental. (Firmansyah et al, 2015)

Pada pemeriksaan fisik dada perubahan pola napas dan suara napas tergantung dari luas lesi paru pasien. Pada inspeksi dapat terlihat bagian dada yang mengalami kelainan tertinggal saat bernapas, terdapat otot bantu napas yang terlibat. Pada pemeriksaan palpasi dapat di dengarkan suara fremitus yang mengeras, atau berbeda disalah satu hemitoraks. Pada pemeriksaan perkusi bisa di dapatkan perkusi redup dan pemeriksaan auskultasi terdengar bunyi napas dasar bronkovesikuler sampai dengan bronchial. Pemeriksaan auskultasi pada suara napas tambahan dapat didengar ronki basah halus yang nantinya akan berubah menjadi ronki basah kasar pada saat stadium resolusi(PDPI,2007)



Gambar 2.1. Penilaian derajat berat pneumonia menggunakan sistem skor CURB-65

Dikutip dari (Armitage and Woodhead, 2007)

Untuk mendapatkan tatalaksana yang tepat pada pasien pneumonia, menghindari kesalahan dalam pengobatan dan penentuan perawatan pasien pneumonia diperlukan sistem skoring. Sistem skoring digunakan untuk menentukan prognosis dan menentukan perawatan pada pasien pneumonia. Sistem skor yang digunakan ada beberapa antara lain

pneumonia severity index (PSI) yang dipakai oleh ATS/IDSA dapat dilihat pada Tabel 2.2 dan CuRB-65 (confusion, respiratory rate, blood pressure and age > 65 years) yang dipakai oleh *British Thoracic Society* (BTS) pada gambar 2.1. Terdapat kelebihan dan kekurangan pada masing-masing skoring, Dalam mendeteksi pasien dengan tingkat mortalitas yang rendah lebih baik di deteksi jika menggunakan PSI sedangkan mengidentifikasi pasien dengan tingkat mortalitas yang lebih berat terutama pada pasien usia muda tanpa penyakit penyerta skor ini kurang dapat diandalkan. Sistem CRB-65 lebih lebih baik untuk mengidentifikasi pasien dengan tingkat mortalitas yang tinggi pada pasien dengan pneumonia komunitas (Liem *et al* 2009).

2.1.4. Diagnosis

Diagnosis pneumonia dapat ditegakkan berdasarkan manifestasi klinis dari pasien mulai dari keluhan ; batuk kering dan berdahak, demam, sesak napas dan nyeri dada. Keluhan tersebut juga didukung dengan gambaran radiologi toraks bisa dengan menggunakan rontgen dada dan bisa dengan menggunakan *CT-Scan* dada atau modalitas yang lainnya. Pada pemeriksaan fisik sangat tergantung dari seberapa luas organ yang terkena, pada pemeriksaan suara napas bisa didapatkan perubahan bunyi suara napas dasar sampai dengan didapatkan suara napas tambahan.. Pemeriksaan mikrobiologi dapat digunakan sebagai diagnostic bakteri penyebab atau mikroorganisme lainnya. Selain itu pemeriksaan mikrobiologi juga di gunakan untuk menentukan terapi definitif pada pasien pneumonia. Mikroorganisme yang spesifik harus dicari untuk menentukan terapi antibiotik yang tepat. Pemeriksaan mikrobiologi ini dapat dilakukan pemeriksaan gram untuk menetapkan antibiotic atau evaluasi sebelum didapatkannya hasil kultur pasien. Kualitas sputum yang buruk untuk pemeriksaan mikrobiologi mempengaruhi hasil. Sehingga dibutuhkan metodologi molekular dibanding kultur. Tes diagnostik rutin untuk

identifikasi etiologi pada pasien rawat jalan adalah optional. Kultur darah dan sputum harus diambil pada kasus rawat inap. Pasien yang di intubasi atau mengalami pneumonia berat, dilakukan pemeriksaan kultur darah, urin dan sputum. (Society., 1995)

2.1.5. Tatalaksana Pneumonia

Penatalaksanaan pada pneumonia mencakup kepada tatalaksana farmakologi dan non farmakologi. Pada tatalaksana farmakologi, pemberian antibiotik secara empirik yang tepat sangat penting untuk pengelolaan pneumonia. pneumonia ringan mungkin dapat sembuh sendiri, tetapi penggunaan antibiotik tepat dan waktu yang tepat dapat mempersingkat penyakit, mengurangi risiko komplikasi dan menurunkan angka kematian. Penilaian keparahan dan hubungan penyakit komorbiditas yang sudah ada sebelumnya sangat penting dalam memprediksi prognosis dan, pada gilirannya, menentukan manajemen, pilihan terapi antibiotik dan metode pemberiannya (Armitage *et al*, 2007). Pemberian antibiotik tepat jenis dan dosis sejak awal dapat meningkatkan angka ketahanan hidup pasien tersebut pada saat data mikrobiologi belum tersedia dan sebaliknya pemberian antibiotik yang tidak tepat dapat mengakibatkan kegagalan terapi akibat timbulnya resistensi kuman terhadap obat. Terapi empiris yang tepat jika satu atau lebih antibiotik yang digunakan masih sensitif terhadap kuman penyebab. Pemilihan antibiotic secara empiris ini tentu saja berdasarkan pola kuman yang terdapat di wilayah atau rumah sakit setempat.(Lutfiyya *et al.*, 2006).

Tabel 2.2. Sistem skor berdasarkan *Pneumonia Severity Index*

Karakteristik pasien		Jumlah Poin		
Faktor demografi				
Usia : laki-laki		Usia (tahun)		
Perempuan		Usia (tahun) - 10		
Perawatan di rumah		+10		
Penyakit penyerta				
Keganasan		+30		
Penyakit hati		+20		
Gagal jantung kongestif		+10		
Penyakit serebrovaskular		+10		
Penyakit ginjal		+10		
Pemeriksaan fisis				
Perubahan status mental		+20		
Pernapasan > 30 kali/menit		+20		
Tekanan darah sitolik < 90 mmHg		+20		
Suhu tubuh < 35 ⁰ C atau > 40 ⁰ C		+15		
Nadi > 125 kali/menit		+10		
Hasil laboratorium / Radiologi				
Analisis gas darah arteri pH < 7,35		+30		
BUN > 64 mg/dL		+20		
Natrium < 130 mEq/liter		+20		
Glukosa > 250 mg/dL		+10		
Hematokrit < 30%		+10		
PO ₂ < 60 mmHg atau sat. O ₂ < 90%		+10		
Efusi pleura		+10		
Total poin	Risiko	kelas Risiko	Mortalitas	Perawatan
Tidak diprediksi jalan	Rendah	I	0,1%	Rawat
≤70 jalan		II	0,6%	Rawat
71 – 90 jalan		III	2,8%	Rawat
inap/ jalan				
91 – 130 inap	Sedang	IV	8,2%	Rawat
> 130 inap	Berat	V	29,2%	Rawat

Dikutip dari (Armitage and Woodhead, 2007)

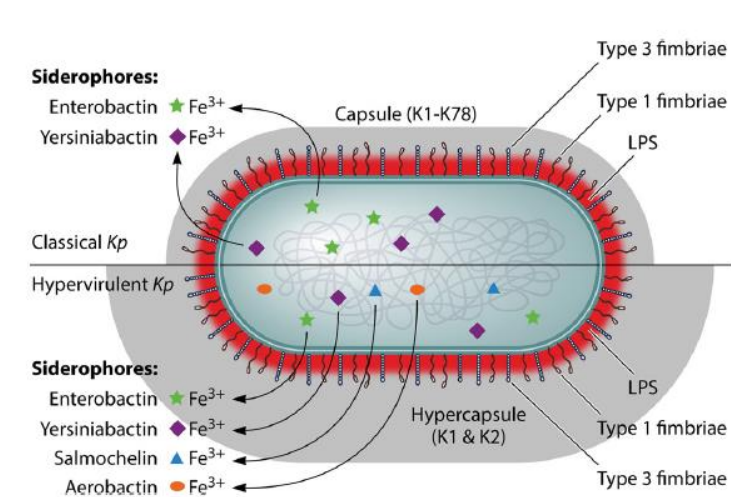
Pemilihan antibiotik empirik berdasarkan pertimbangan kuman yang spesifik. Terapi antibiotik dapat diganti berdasarkan respons klinis pasien dalam 2 sampai 3 hari dan ditemukan hasil kultur semikuantitatif dari sekret saluran napas bawah. Terapi yang tepat dan adekuat sejak awal merupakan faktor penting pada kesembuhan pasien. (Chastre and Fagon, 2001) Para ahli tersebut merekomendasikan agar durasinya disesuaikan dengan tingkat keparahan penyakit, waktu untuk respons klinis, dan mikroorganisme yang menjadi penyebabnya. Pada perawatan yang lama dengan pneumonia berat durasi pengobatan minimal 14 hingga 21 hari, ditentukan untuk situasi berikut: keterlibatan multilobar, malnutrisi, kavitas, pneumonia nekrotikans gram negatif, dan/atau isolasi *P. aeruginosa* atau *Acinetobacter* sp. Durasi berdasarkan pada data risiko kekambuhan yang cukup tinggi. Perawatan pneumonia ringan dan sedang dapat diberikan pengobatan singkat selama 7 sampai 10 hari, direkomendasikan untuk *S. aureus* atau *H. influenzae* pneumonia. (Chastre *et al*, 2001)

2.2. KLEBSIELA PNEUMONIA

2.2.1. Sejarah dan Karakteristik

Pada tahun 1882, Carl Friedlander pertama kali mengisolasi bakteri *Klebsiella pneumoniae* yang didapatkan pada paru orang yang meninggal akibat pneumonia. Pada awalnya bakteri ini disebut sebagai basil Friedlander sampai dengan pada tahun 1886 bakteri tersebut disebut sebagai *Klebsiella*. *Klebsiella pneumoniae* adalah bakteri gram negatif, berkapsul, non-motil yang ditemukan di lingkungan dan dikaitkan dengan pneumonia pada populasi pasien dengan gangguan penggunaan alkohol atau diabetes mellitus. Bakteri ini biasanya menempel pada permukaan mukosa orofaring dan saluran gastrointestinal (GI) manusia. Begitu bakteri memasuki tubuh, ia dapat menunjukkan

tingkat virulensi dan resistensi antibiotik yang tinggi. Saat ini, *K. pneumoniae* dianggap sebagai penyebab paling umum dari hospital-acquired pneumonia di Amerika Serikat, dan organisme ini menyumbang 3% hingga 8% dari semua infeksi bakteri nosokomial. Kegiatan ini mengkaji evaluasi dan pengobatan pasien *Klebsiella pneumoniae* dan peran tim interprofesional dalam menangani pasien dengan kondisi ini. (Ashurst JV *et al*, 2021)



Gambar 2.2 Struktur *Klebsiella Pneumoniae*

2.2.2. Taksonomi *Klebsiella Pneumoniae*

- Kingdom : Bakteri
- SubKingdom : Negibacteria
- Filum : Proteobacteria
- Kelas : Gammaproteobacteria
- Ordo : Enterobacteriaes
- Family : Enterobacteriaceae
- Genus : *Klebsiella*
- Spesies : *Klebsiella Pneumoniae*.

2.2.3 Patofisiologi

Perlindungan inang dari invasi bakteri terutama bergantung pada dua hal: granulosit polimorfonuklear, yang memfagositkan bakteri, dan protein komplemen serum, yang bersifat bakterisidal. Jalur alternatif aktivasi komplemen lebih aktif pada infeksi *Klebsiella pneumoniae*. Neutrofil myeloperoksidase dan protein pengikat lipopolisakarida memfasilitasi pertahanan terhadap infeksi *Klebsiella pneumoniae*. Bakteri memiliki kapsul polisakarida yang terdiri dari polisakarida asam kompleks dan menentukan patogenitasnya. Kapsul melindungi bakteri dari fagositosis dan protein bakterisida serum. Ia melekat pada sel inang dengan banyak adhesi fimbrial dan non-fimbrium, yang sangat penting untuk proses infeksi. (Paczosa *et al*, 2016).

Pneumonia yang disebabkan oleh *K. pneumoniae* gejala yang di dapat mirip dengan yang terlihat pada pneumonia komunitas yang lain. Pasien mungkin mengalami batuk, demam, nyeri dada karena pleuritik, dan sesak napas. Satu perbedaan mencolok antara pneumonia yang didapat dari komunitas yang disebabkan oleh *Streptococcus pneumoniae* dan *K. pneumoniae* adalah jenis dahak yang dihasilkan. Dahak yang dihasilkan oleh penderita *S. pneumoniae* digambarkan sebagai "bercak darah" atau "berwarna karat", namun, dahak yang dihasilkan oleh mereka yang terinfeksi oleh *K. pneumoniae* disebut sebagai "jeli kismis". Kondisi tersebut terjadi pada *K. pneumoniae* karena terdapat peradangan dan nekrosis yang signifikan pada jaringan sekitarnya. (Paczosa *et al*, 2016) Bakteri melewati imunitas innate dengan melewati kapsul polisakarida yang terdiri dari acid polisakarida kompleks. Lapisannya melindungi bakteri terhadap fagositosis polimorfonuklear granulosit. Kapsul juga mencegah kematian bakteri karena faktor serum bakterisid. Hal ini diikuti juga dengan menghambat aktivasi komponen komplemen khususnya C3b. Bakteri juga memproduksi adhesin multiple. (Lim *et al.*, 2009)

Lipopolisakarida (LPS) mampu mengaktifkan komplemen, yang menyebabkan deposisi C3b pada molekul LPS pada membran sel bakteri. Hal ini menghambat pembentukan C5b-C9 yang mencegah kerusakan membran dan kematian sel bakteri. Keberadaan zat besi meningkatkan kerentanan host terhadap infeksi *K pneumoniae*. Bakteri berkompetisi dengan ikatan zat besi pada protein host karena sekresi afinitas yang tinggi, low molecular weight iron chelators dikenal sebagai siderophores. Hal ini penting karena kebanyakan zat besi host berikatan dengan intracellular dan extracellular protein. (Lim *et al.*, 2009)

2.2.4. Virulensi

Klebsiella pneumoniae menggunakan banyak strategi untuk tumbuh dan melindungi dirinya dari respon imun pejamu. Pada penelitian di laboratorium terhadap *K. pneumoniae* pada tikus, eliminasi dari paru terjadi lebih cepat daripada strain *K. pneumoniae* tipe liar, hal ini menunjukkan bahwa *K. pneumoniae* tipe liar menggunakan berbagai faktor untuk menghindari respon awal inang. Sampai saat ini, ada empat kelas utama faktor virulensi yang telah dikarakterisasi dengan baik pada *K. pneumoniae*, dan dibahas secara rinci pada bagian ini (Gbr. 2.2). Faktor virulensi ini terdiri dari kapsul, termasuk produksi hiperkapsul pada strain HV; lipopolisakarida (LPS); siderofor; dan fimbriae, juga dikenal sebagai pili. (Paczosa *et al.*, 2016)

Beberapa faktor lain baru-baru ini diidentifikasi sebagai penting untuk virulensi *K. pneumoniae*. Namun, faktor-faktor ini belum sepenuhnya dicirikan, dan masih banyak pekerjaan yang harus dilakukan untuk sepenuhnya memahami mekanisme aksi dan signifikansi klinisnya. Faktor virulensi ini termasuk OMPs, porins, pompa penghabisan, sistem transportasi besi, dan gen yang terlibat dalam metabolisme allantoin. Faktor virulensi yang dicirikan untuk *K. pneumoniae* memainkan berbagai peran dalam berbagai

jenis infeksi *K. pneumoniae* dan pada strain *K. pneumoniae* yang berbeda. Selain itu, beberapa penelitian menarik baru-baru ini mengungkapkan sejumlah faktor lain yang memainkan peran penting dalam infeksi mamalia. Berdasarkan faktor virulensi yang diketahui ini, *K. pneumoniae* tampak defensif daripada ofensif dalam melindungi dirinya sendiri terhadap respon imun pejamu. Misalnya, spesies *Yersinia* patogen menggunakan sistem sekresi tipe III untuk menyuntikkan racun ke dalam sel-sel kekebalan yang menyerang untuk menonaktifkan kemampuan fagositosis sel-sel ini. Sebaliknya, *K. pneumoniae* menghindari fagositosis daripada secara aktif menekan fagositosis dengan menggunakan kapsul untuk membuat bakteri lebih sulit untuk diikat dan diambil oleh fagosit. (Paczosa *et al*, 2016)

Ada empat faktor virulensi untuk *K. pneumoniae* patogen: kapsul, LPS, fimbriae (tipe 1 dan tipe 3), dan siderophores (Gambar 2.2). Kapsul adalah matriks polisakarida ekstraseluler yang membungkus bakteri. Strain *K. pneumoniae* klasik menghasilkan kapsul salah satu serotipe K1 hingga K78; K1 dan K2 dikaitkan dengan peningkatan patogenisitas. Strain HV membuat hypercapsule, yang memperkuat produksi bahan kapsuler, menghasilkan kapsul yang relatif lebih besar dan lebih dominan dari serotipe K1, sedangkan strain yang tersisa adalah serotipe K2. LPS, bagian membran luar, diproduksi oleh *K. pneumoniae* klasik dan HV dan dapat berupa serotipe O-antigen 1 sampai 9 (O1 hingga 9). Kedua jenis *K. pneumoniae* membuat membrane-bound adhesive structures, fimbriae tipe 1 dan tipe 3, dan mensekresikan siderofor pemulung zat besi. Dari siderophores, enterobactin dibuat oleh hampir semua strain, dan yersiniabactin dibuat oleh sekitar setengah dari strain klasik dan hampir semua HV. Salmochelin dan aerobaktin jarang diproduksi oleh strain klasik tetapi biasanya disekresikan oleh strain HV, dengan aerobaktin menjadi yang paling tinggi diekspresikan oleh siderophores. (Paczosa, 2016)

Sel-sel yang terlibat pada infeksi *K. pneumoniae* adalah neutrofil, makrofag (dan monosit), sel dendritik, dan sel epitel. Interaksi ini ditandai dengan panah hitam. Peran sitokin yang mengaktifkan respons inang digambarkan dengan panah biru. TLR4 berperan penting dalam pertahanan terhadap infeksi *Klebsiella*. TLR4 menurun, menunjukkan penurunan kelangsungan hidup setelah infeksi dengan peningkatan bakteri load di paru-paru. Kurangnya signalling TLR4 dikaitkan dengan penurunan tingkat IL17 dan IL23 di paru tikus yang mungkin menjelaskan kerentanan tikus-tikus ini terhadap infeksi *Klebsiella*. (Bengoechea *et al*, 2019)

2.3. MIANA (*Coleus scutellaroides*)

2.3.1. Karakteristik Miana

Pada tahun 1896, Siebert dan Voss menempatkan *coleus* Blume, *Coleus scutellarioides* (L) Benth, *Coleus bicolor*, *Coleus vershaffelti* dan *Coleus hybridus* sebagai sub species dari *Coleus scutellarioides*. Oleh karena itu legitimasi nama tanaman ini adalah *Coleus scutellarioides* (L) Bentham (Lebowitz, 1985). Pengobatan tradisional memberi harapan besar sebagai sumber bahan obat-obatan, termasuk antimikroba, yang efektif untuk masyarakat di daerah tropis, termasuk Indonesia. Tanaman juga menawarkan keuntungan berupa mudah didapatkan, ramah lingkungan, dan efektif untuk pengendalian penyakit. Mendapatkan sediaan antimikroba dapat dimulai dengan mempelajari pengobatan tradisional, atau menyeleksinya dalam pengobatan tradisional yang potensial untuk dikembangkan menjadi antimikroba. Miana merupakan salah satu tanaman yang termasuk kedalam daftar 66 komoditas tanaman biofarmaka berdasarkan Keputusan Menteri Pertanian Nomor: 511/Kpts/PD.310/9/2006 (Promosiana, 2007).

Coleus scutellaroides merupakan salah satu jenis tumbuhan berbunga yang termasuk dalam famili Lamiaceae. Tanaman ini berasal dari India dan tumbuh di banyak

negara Asia Tenggara seperti Indonesia, Malaysia dan wilayah lainnya. Genus Solenostemon berisi lebih dari 500 spesies. Tanaman membutuhkan tanah yang dikeringkan dengan lembab untuk tumbuh dan biasanya tumbuh setinggi 0,5-1 m, meskipun beberapa dapat tumbuh setinggi 2 meter. Tanaman yang lebat, abadi berdasar kayu sepanjang tahun dan sebagian besar tumbuh karena daunnya yang beraneka ragam hias. Tanaman ini juga dikenal dengan nama umumnya seperti 'jelatang dicat' yang mencerminkan keluarga jelatang yang dimilikinya. Ia juga dikenal sebagai *Coleus blumei* dan *Plectranthus scutellarioides*. Miana memiliki daun yang biasa digunakan sebagai obat-obatan Herbal terutama pada masyarakat di Halmahera. (Wakhidah, et al 2017)

Berikut adalah klasifikasi taksonomi dari daun Miana:

Kingdom : Plantae (Tumbuhan)
Subkingdom : Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi : Spermatophyta (Menghasilkan biji)
Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas : Magnoliopsida (berkeping dua / dikotil)
Sub Kelas : Asteridae
Ordo : Lamiales
Famili : Lamiaceae
Genus : *Coleus*
Spesies : *Coleus scutellarioides* (L) Benth

Miana (*Coleus scutellarioides* [L.] Benth), merupakan tanaman tropis yang dapat hidup bertahun tahun dan daunnya memiliki berbagai bentuk dan warna. Sebagian daunnya ada yang berwarna kuning kekuningan, merah, krem dan ungu-hitam. Semakin gelap bintik-bintik merah pada daun semakin tinggi manfaatny. Tanaman Miana berbau

harum, rasanya agak pahit dan mekar saat musim panas. *Coleus* tumbuh dengan baik didataran rendah dan tinggi dengan permukaan hangat dan drainase yang layak tetapi tidak dalam kondisi kering. Tanaman yang tumbuh di bawah sinar matahari yang terlalu banyak dapat layu. (Suva, et al. 2015)



Gambar 2.3 Tanaman Miana (*Coleus scutellarioides* (L) Benth)

Miana juga berkembang di Indonesia dan dibudidayakan sebagai tanaman hias karena memiliki warna warni daun yang indah. Miana juga memiliki beberapa pemanfaatan untuk berbagai macam penyakit, yaitu sakit pinggang karena haid, obat batuk, obat bisul, meredakan nyeri haid, membantu menghentikan pendarahan setelah melahirkan, penambah nafsu makan, obat bibir pecah-pecah, obat ambeyen, dan meningkatkan kesuburan. Miana dapat menghambat pertumbuhan sel leukemia. Pada penelitian tentang kanker dengan penggunaan daun Miana sebagai senyawa antikanker ditemukan bahwa terdapat 4 fraksi toksik dari daun Miana diantaranya adalah fraksi asam palmitat, asam stearat, 9-Oktadekenamida dan Ester dioktil heksadioat (Swantara, 2010). Penelitian fitokimia yang terkandung dalam Miana antara lain, minyak atsiri, tanin,

flavonoid, eugenol, steroid, tannin, saponin, fitol, asam rosmarik, streptozocin, dan quersetin.(Wakhidah,et al 2017).

Penggunaan Miana memberikan efek penyembuhan luka pada hewan coba, karena mampu menyebabkan penyempitan luka, membentuk keropeng dan menutup luka (Marpaung, et al . 2014). Menurut penelitian Kumala Miana merupakan salah satu tumbuhan yang dapat digunakan sebagai obat tradisional. Hasil ekstrak daun Miana (*Coleus scutellarioides* (L.) Benth.) dapat digunakan sebagai penghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans*. Hal ini disebabkan bagian tumbuhan tersebut mengandung tanin yang secara farmakologi dapat bermanfaat sebagai anti jamur. Daun Miana juga mengandung minyak atsiri, antara lain karvakrol yang bersifat anti biotik, eugenol bersifat menghilangkan nyeri, etil salisilat menghambat iritasi.(Kumala, et al,2009). Miana merupakan sebuah tanaman yang unik karena memiliki varietas yang sangat banyak, termasuk ke dalam famili *Lamiaceae*. Perbedaan varietas dapat di bedakan dari warna daun yang sangat bervariasi. Warna daun yang beragam tersebut disebabkan karena pigmen yang dimilikinya. Formasi pigmen di dalam daun ditentukan secara genetik dan juga dipengaruhi faktor lingkungan seperti cahaya dan lingkungan (Harborne, 1996). Perbedaan warna daun antar varietas Miana ditentukan oleh kandungan pigmen yang termasuk ke dalam golongan flavonoid. Flavonoid merupakan kelompok fenol yang terbesar yang ditemukan dialam (Achmad S.A., 1986)..

2.3.2. Efek Terapeutik Miana dalam penyakit infeksi

Keberadaan bakteri endofit di dalam jaringan tanaman diketahui dapat memacu pertumbuhan tanaman dan kemampuan bakteri untuk mempenetrasi jaringan internal tanaman dapat disebabkan oleh enzim ekstraseluler berupa selulase yang dihasilkan oleh bakteri tersebut. Setelah penetrasi, bakteri tersebut akan berkolonisasi sehingga

menghambat pertumbuhan bakteri patogen melalui mekanisme kompetisi ruang dan nutrisi serta produksi zat antibakteri (Kusumawati et al., 2014).

Kusumawati dkk melakukan penelitian terhadap Miana dan menemukan bahwa ekstrak daun Miana dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli* dan *S.aureus* (Kusumawati et al., 2014). Ekstrak aseton daun Miana dapat menghambat pertumbuhan *S.aureus*, *S.epidermidis*, *E.coli* dan *S.enteritidis*, sedangkan ekstrak etanol daun Miana pada konsentrasi 10% dan 20% memiliki daya antibakteri terhadap *S.aureus*, *E.coli*, *Bacillus subtilis*, dan *S.paratyphosa* (Kumala et al, 2009). Keberadaan Bakteri endofit yang menetap di tanaman Miana dapat memacu kemampuan bakteri melakukan penetrasi bagian dalam tanaman dapat disebabkan oleh enzim ekstraseluler berupa selulase yang dihasilkan oleh bakteri tersebut memiliki kemampuan untuk mensintesis senyawa antibakteri yang diketahui mengandung derivat asam ftalat (Kusumawati et al., 2014). Miana dapat meningkatkan proliferasi sel T dengan signifikan dan dapat berfungsi sebagai immunostimulant. Ekstrak daun Miana yang dapat memengaruhi proliferasi sel limfosit T tersebut diberikan pada mencit dengan dosis 714 mg/kg. (Pakadang et al., 2015).

Miana pada penelitian lain juga dapat memperbaiki imunitas dengan cara memodifikasi tingkat dan kualitas respons imun dari sel T, sel B, dan sitokin. Selain dapat mengobati penyakit tertentu, Miana juga memiliki peranan penting dalam pencegahan dengan meningkatkan imunitas inang sebelum paparan terhadap infeksi. Pakadang dkk. Melakukan penelitian dan mendapatkan bahwa daun Miana dapat meningkatkan jumlah sel limfosit T, jumlah sel T CD4, kadar IFN- γ , dan TNF- α serta menurunkan kadar koloni *M.tuberculosis* pada paru-paru mencit Wistar (Pakadang et al., 2015). Miana juga memiliki efek antioksidan sebesar 84.64 % berupa antosianin, khususnya pada ekstrak etil asetat sebesar 84,43 \pm 0,92 mg AEAC/g. Senyawa flavonoid dari daun Miana memiliki aktivitas antioksidan dan senyawa golongan tersebut berupa gugus fungsi OH, C=C

aromatik, C-H aromatik, dan C-H alifatik (Podungge *et al.*, 2017). Rahmawati dkk dalam penelitiannya mendapatkan bahwa bakteri gram negatif memiliki sistem seleksi terhadap zat asing yaitu lapisan lipopolisakarida. Penjelasananya adalah bakteri gram positif hanya memiliki lapisan peptidoglikan yang mudah ditembus oleh senyawa antimikroba dan menemukan sasaran kerjanya (Rahmawati F., 2008).

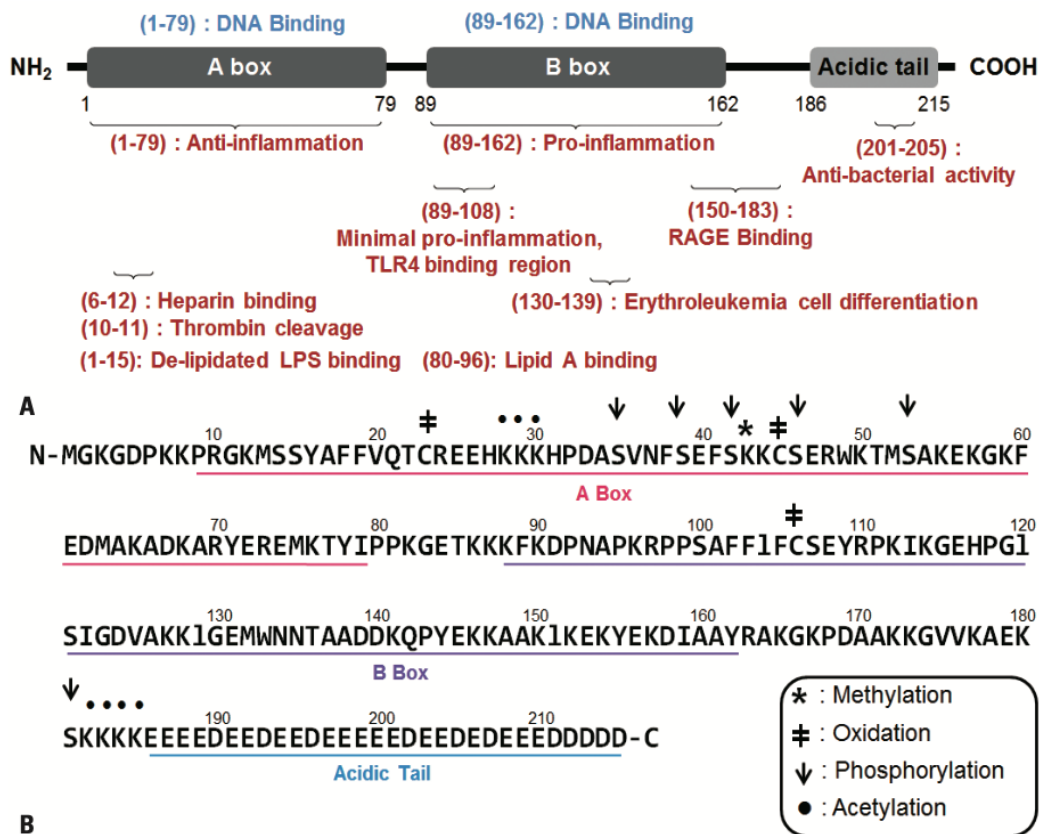
2.4 Gen *High Mobility Group Box 1*

2.4.1. Struktur HMGB 1

High Mobility Group Box 1 (HMGB1) berfungsi dalam nukleus sebagai pendamping DNA dan terkait dalam transkripsi, replikasi, rekombinasi, dan perbaikan melibatkan perubahan dalam struktur dan organisasi DNA. Selain itu HMGB1 juga memiliki aktivitas seperti sitokin ketika disekresikan oleh rangsangan injuri atau infeksi.(Lee, Kwak *et al.* 2014). *High Mobility Group Box 1* (HMGB1) sebelumnya disebut sebagai HMG-1 adalah protein kromosom non-histone yang berfungsi pada beberapa jalur di lingkungan mikro intraseluler dan ekstraseluler.(Morbee *et al.*, 2009).

High Mobility Group Box 1 (HMGB1) merupakan protein yang terstruktur dengan berat molekul 25--30 kDa terdiri dari dua domain DNA-binding homolog, kotak A dan kotak B masing-masing terdiri dari sekitar 80 residu asam amino dan ekor C-terminal asam bermuatan negatif yang terdiri dari sekitar 30 berturut-turut aspartat dan glutamat residu. Struktur HMGB1 (gambar 2.4) terlihat dalam gambar protein HMGB1 terdiri dari 215 asam amino dalam tiga domain structural. Kotak A (1--79), kotak B (89--162), dan C ekor asam (186--215). .(Morbée 2009) Fungsi Kotak dalam DNA mengikat dan menginduksi efek anti-inflamasi, sedangkan domain kotak B memainkan peran penting dalam DNA-binding dan merangsang respon proinflamasi. Domain Kotak B terdiri dari dua tempat pengikatan penting untuk TLR4 dan RAGE yang memediasi pelepasan sitokin

proinflamasi. Secara khusus, 20 asam amino tempat mengikat TLR4 (89--108) adalah urutan minimal yang diperlukan untuk menginduksi aktivitas sitokin. Dua wilayah peptida (3--15, 80--96) dari HMGB1 mengikat LPS dan lipid. (B) Komponen fungsional HMGB1 diwakili dalam diagram linear menggaris bawah residu asam amino yang membentuk Sebuah kotak domain A (pink), kotak domain B (ungu), dan bagian C ekor (biru). Simbol yang digunakan untuk menunjukkan tempat tertentu untuk empat modifikasi paska-translasi yang dilalui HMGB1 selama sekresi aktif: metilasi, oksidasi, fosforilasi, dan asetilasi. (Lee, Kwak *et al.* 2014)



Gambar 2.4 Struktur HMGB-1

High Mobility Group Box 1 adalah protein penting yang terdiri dari 215 asam amino, terdiri dari tiga domain: Kotak (residu asam amino 9-79), kotak B (residu asam amino 95–163) dan ekor terminal-C yang asam (residu asam amino 186-215, situs pengikatan

reseptor). Sebuah kotak berisi situs antagonis dari kotak B dan menunjukkan sifat anti-inflamasi *in vivo* dan *in vitro*. Selain itu, ia berfungsi sebagai antagonis kompetitif untuk HMGB1 dan menghambat aktivitas HMGB1. Kotak B juga telah diidentifikasi sebagai domain fungsi, yang dapat dikenali oleh toll-like receptor (TLR)-4 . Kotak A dan B bisa mengikat DNA dan berperan dalam melipat dan menyangkal DNA untai ganda. Rantai 89–108 asam amino HMGB1 bertanggung jawab untuk mengikat reseptor TLR4 , dan Rantai 150–183 asam amino bertanggung jawab untuk mengikat *receptor for advanced glycation end product* (RAGE). Sementara ekor C-terminal bermuatan negatif, terminal-N terdiri dari lisin yang kaya muatan positif, memberi HMGB1 muatan bipolar. HMGB1 mengandung dua sekuens lokalisasi nuklir (NLS), yang dapat menstabilkan struktur kromatin dan memodulasi transkripsi gen dengan menekuk struktur heliks DNA. (Morbee *et al*, 2009).

2.4.2. Fisiologi dan Peranan HMGB 1

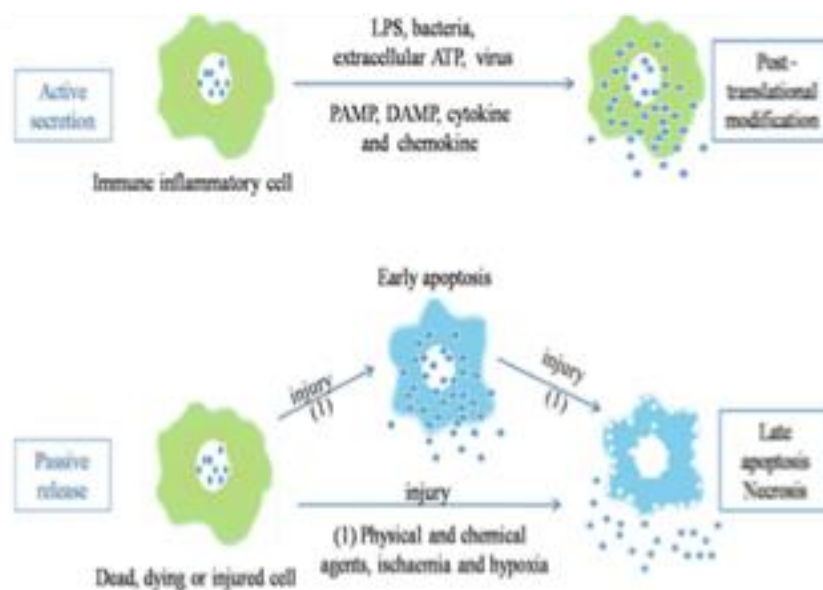
High Mobility Group Box 1 adalah anggota dari superfamili HMGB, yang ditandai oleh bentuk fungsional kelompok yang berikatan dengan DNA, atau pada kotak HMG. Anggota superfamili ini, seperti HMGB1 dan HMGB2, faktor transkripsi nukleus Upstream binding factor (UBF), faktor transkripsi limfoid factors T-cell factor (TCF)-1 dan limfoid enhancer factor (LEF)-1, gen pengabungan jamur *mat-Mc* and *MATa1*, dan gen determinan sex mamalia *SRY*, kesemua ini kelompok yang berikatan DNA dalam satu urutan spesifik atau non urutan spesifik. (Laudet V. *Et al.*,1993)

High Mobility Group Box 1 dalam sitoplasma mengambil bagian dalam mengatur autophagy dan menjaga keseimbangan antara autophagy dan apoptosis. (Tang D. *et al.*,2010) HMGB 1 sitoplasma juga terlihat berperan sebagai pembawa dalam sitoplasma, menggunakan model Huntington's dari sifat poliglutamin yang diperluas dengan

mengurangi agregasi protein yang disebabkan stress panas atau kimia. HMGB 1 ekstraselular bertindak sebagai sitokin proinflamasi, yang disekresikan oleh makrofag teraktivasi sebagai mediator inflamasi lambat. (Wang H. Et al.,1999). Translokasi HMGB1 ke lingkungan ekstraseluler melalui dua mekanisme sekresi: sekresi aktif oleh sel inflamasi atau sekresi pasif oleh sel nekrotik atau apoptosis terlihat dalam gambar 2.5. Pelepasan HMGB1 secara aktif disekresi ketika sel- sel imun kompeten diaktifkan oleh stimulus inflamasi dan mengalami modifikasi pasca-translasi seperti asetilasi, fosforilasi, metilasi, dan perubahan redoks. Sekresi pasif HMGB1 dimediasi oleh kematian sel nekrotik dan apoptosis yang disebabkan oleh cedera salah satunya akibat infeksi. Sekresi HMGB1 memicu respon inflamasi dalam tubuh. Aktivitas inflamasi akibat sekresi HMGB1 ekstraseluler tergantung pada keadaan redoks nya. HMGB1 terdiri dari tiga residu sistein (C23, C45, C106) yang dimodifikasi selama perubahan redoks. Bentuk HMGB1 redoks pada semua kelompok tiol mendefinisikan aktivitas kemokin dari HMGB1, sedangkan disulfida-HMGB1 dengan C23 dan C45, membentuk ikatan disulfida antarmolekul, menginduksi aktivitas sitokin. Bentuk teroksidasi penuh dari HMGB1 berfungsi sebagai kekebalan tubuh dalam sel.(gambar 2.6) ((Lee, Kwak *et al.* 2014)

Berbagai fungsi HMGB1 sangat tergantung pada modifikasi pasca-translasi yang berbeda seperti asetilasi, metilasi, glikosilasi dan fosforilasi. Secara khusus, asetilasi HMGB1 diatur oleh histone deacetylase (HDAC) atau histone acetylase (HAT). HAT dapat meningkatkan asetilasi HMGB1, sementara HDAC dapat menurunkan asetilasi HMGB1 [18]. Banyak penelitian menunjukkan pentingnya modifikasi redoks dalam mengatur translokasi, rilis, dan aktivitas HMGB1. Sistein (Cys) dimodifikasi oleh beragam sinyal redoks dengan oksidasi side chain thiol (-SH) ke beberapa keadaan redoks yang dapat diubah seperti disulfida (RSSR), asam sulfenat (R-SOH) dan gugus sulfonat (R-SO₃H), yang pada gilirannya mengatur struktur sekunder protein. Tiga sistein hadir

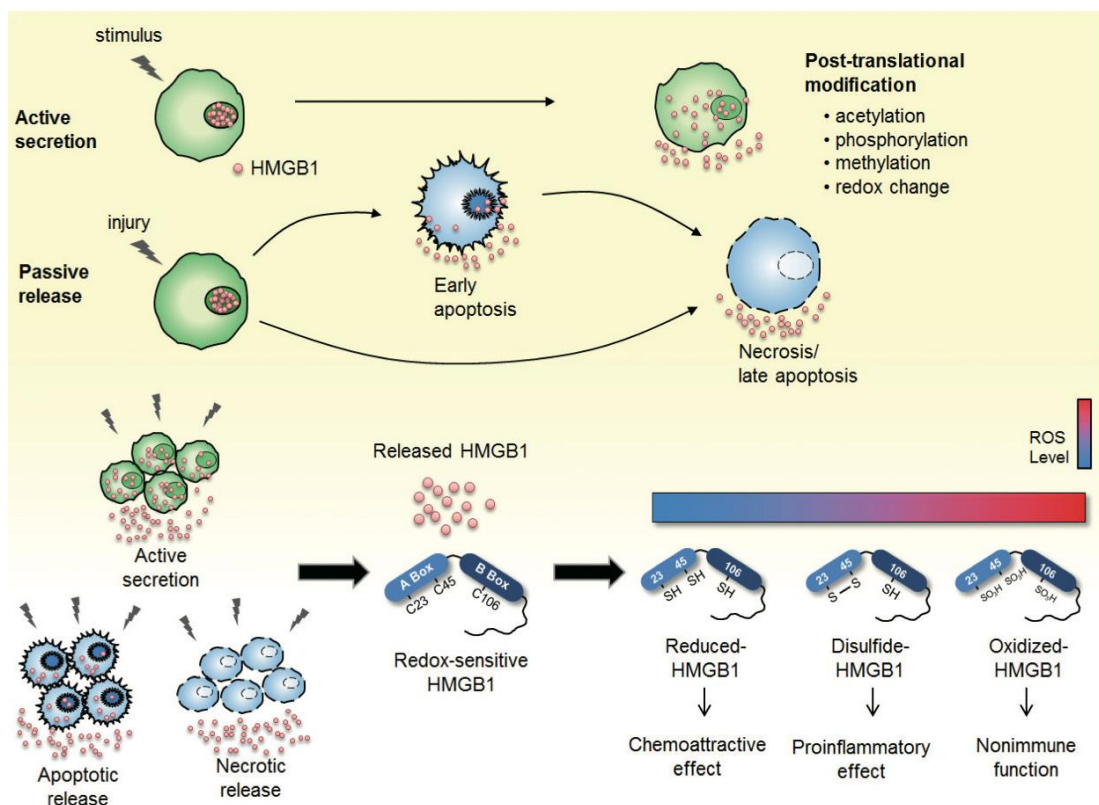
dalam HMGB1, dua sistein vicinal di kotak A (C23 dan C45) dan satu di kotak B (C106). Penggantian Cys23 atau / dan 45 tidak mempengaruhi distribusi nuklir protein mutan, sedangkan C106 dan tri-sistein mutasi dapat merusak lokalisasi nuklir HMGB1, yang memungkinkan masuknya beberapa protein ke dalam sitosol . Selain itu, peningkatan spesies oksigen reaktif endogen dan eksogen (ROS) dapat mempromosikan HMGB1 untuk mentranslokasi dan melepaskan. Pengurangan C106 diperlukan untuk mengikat HMGB1 ke TLR4 dan merangsang pelepasan dan peradangan sitokin. Ikatan disulfide antara C23 dan C45 sangat penting untuk aktivitas HMGB1. Selain itu, mutasi C45 atau C23 dapat menghapus aktivitas sitokin HMGB1. ((Lee, Kwak *et al.* 2014)



Gambar 2.5 Pelepasan HMGB1 secara aktif dan pasif

Mayoritas HMGB1 biasanya terlokalisasi dalam nukleus. Setelah terpapar agen infeksi atau sinyal bahaya endogen, termasuk bakteri, virus, lipopolysaccharide (LPS) dan ekstraseluler adenosin trifosfat (ATP), sel-sel kekebalan dapat memobilisasi HMGB1 nuklir ke dalam sitoplasma. Ketika sel-sel imun distimulasi oleh sinyal eksternal, beberapa residu lisin dari HMGB1 diasetilasi. HMGB1 dipicu oleh lysophosphatidylcholine untuk secara aktif

mensekresikan ke dalam matriks ekstraseluler, dan ini merupakan langkah penting dalam pelepasan HMGB1 dari sel-sel kekebalan yang diaktifkan. Inflammasome berpartisipasi dalam regulasi sekresi HMGB1 yang diinduksi LPS / ATP. Menanggapi *damage associated molecular patterns* (DAMP) seperti ATP, *pathogen-associated molecular pattern* (PAMP) seperti ds-RNA, Cp G-DNA dan endotoksin, atau sitokin, sel imun, seperti makrofag atau monosit, dapat secara aktif mengeluarkan HMGB1 dalam dosis dan cara tergantung waktu. ATP ekstraseluler dapat Ekstrak daun Miana menginduksi pelepasan HMGB1 dari sel-sel kekebalan, menunjukkan bahwa sel-sel imun dapat melepaskan HMGB1 secara aktif selama cedera. (Lee, Kwak *et al.* 2014)



Gambar 2.6 Mekanisme sekresi HMGB1 peran dalam inflamasi

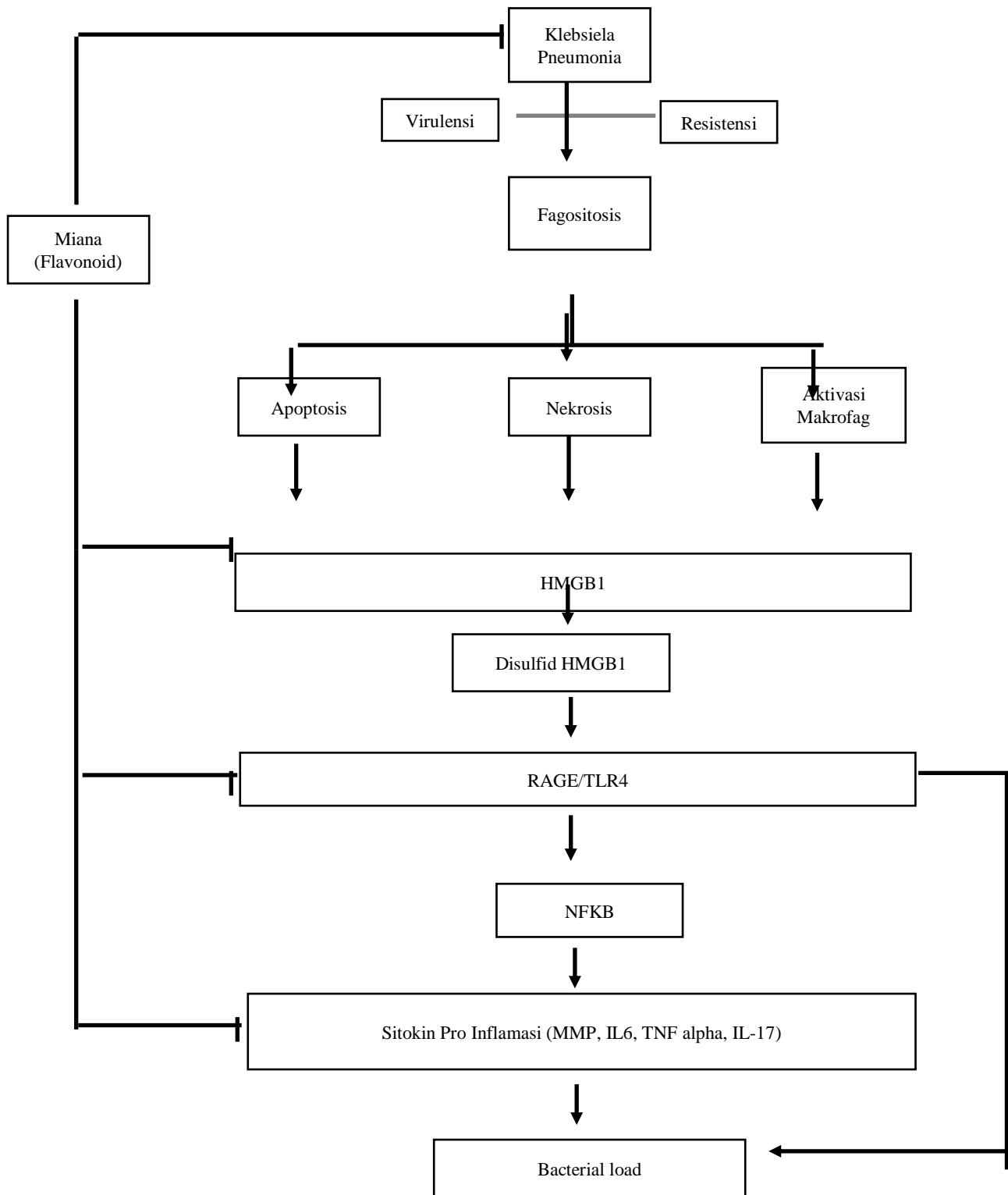
Di sisi lain, HMGB1 dapat mentranslokasi selama kematian sel dan dilepaskan secara pasif. Selama cedera jaringan, HMGB1 bisa dilepaskan oleh sel yang rusak atau nekrotik secara pasif. Sebaliknya, sel-sel apoptosis tidak melepaskan HMGB1 pada tahap awal. Selama apoptosis, HMGB1 menunjukkan peningkatan pengikatan pada kromatin karena modifikasi pasca-translasi. Akibatnya, HMGB1 dapat kehilangan mobilitas intra nuklear pada tahap awal apoptosis. Selain itu, oksidasi HMGB1 dapat merusak aktivitas imunologisnya. Sebaliknya, selama nekrosis, HMGB1 dilepaskan segera dari sel dalam bentuk aktif, difusi untuk ikatan kromatin terbatas. (Lee, Kwak *et al.* 2014)

Pada pneumonia, HMGB1 adalah biomarker independen untuk kematian pada pneumonia berat, pneumonia akibat infeksi virus atau sindrom gangguan pernapasan akut (ARDS). HMGB1 juga memainkan peran patogen dalam kerusakan paru akibat hiperoksia. Infiltrasi leukosit mendorong sekresi HMGB1 pada hipoksia, cedera atau rangsangan inflamasi. HMGB1 yang disekresikan secara ekstraseluler dapat merangsang jalur pensinyalan proinflamasi, seperti jalur inflammasome dan NF- κ B, untuk menginduksi pelepasan sitokin proinflamasi dan mempercepat respons inflamasi. Selanjutnya, HMGB1 dapat dilepaskan secara pasif dari sel yang rusak. HMGB1 ekstraseluler, sebagai DAMP, memungkinkan sel imun bawaan untuk merespons cedera steril. Kondisi cedera dan infeksi dapat menyatu dalam proses peradangan umum yang diatur oleh HMGB1 yang dilepaskan secara aktif atau pasif. (Ding *et al.*, 2017)

High Mobility Group Box 1 ekstraseluler dapat mengganggu fagositosis makrofag dan meningkatkan mortalitas mencit yang terinfeksi. Selain itu, 2-O, 3-O-desulfated heparin (ODSH) dapat menghambat pelepasan HMGB1 dalam lavage bronchoalveolar dan memblokir pelepasan neutrofil elastase (NE) yang merangsang pelepasan HMGB1 dari makrofag murine secara *in vitro*. Antibodi monoklonal anti-HMGB1 yang memberikan perlindungan yang signifikan terhadap perekrutan neutrofil pada mencit yang

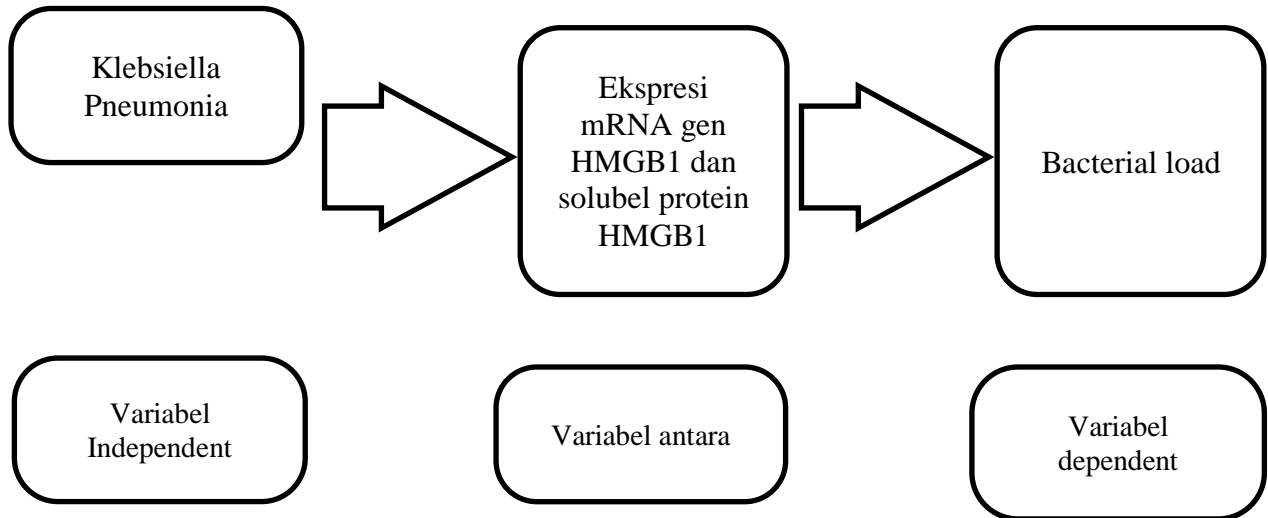
diinduksi *Pseudomonas aeruginosa* , infeksi bakteri dan cedera paru-paru. Dengan adanya HMGB1, *Advanced glycation end products* (AGEs) diet tinggi dapat meningkatkan ekspresi RAGE untuk meningkatkan respon inflamasi terhadap aspirasi . Secara keseluruhan, ikatan HMGB1-RAGE memainkan peran penting dalam pneumonia dan merupakan target yang menjanjikan untuk pengobatan pneumonia. (Ding *et al*, 2017)

BAB III
KERANGKA TEORI



BAB IV KERANGKA KONSEP

4.1 Kerangka Konsep



4.2 Variabel Penelitian

4.2.1 Variabel Independen

Klebsiella Pneumonia dan Ekstrak daun Miana

4.2.2 Variabel Antara

Ekspresi mRNA gen HMGB1 dan solubel protein HMGB1

4.2.2 Variabel Dependent

Bacterial load

4.3 Hipotesis

4.3.1. Ada efek Ekstrak Daun Miana terhadap menghambat pertumbuhan *bacterial load Klebsiella pneumonia* pada mencit Balb/c

4.3.2. Ada efek Ekstrak Daun Miana terhadap penghambatan ekspresi mRNA gen HMGB1 pada mencit Balb/c yang diinduksi dengan *Klebsiella pneumonia*

4.3.3. Ada efek Ekstrak Daun Miana terhadap penghambatan soluble protein HMGB1 pada mencit Balb/c yang diinduksi dengan *Klebsiella pneumonia*

4.3.4. Ada hubungan antara pertumbuhan *bacterial load* dan ekspresi mRNA gen HMGB1 pada mencit Balb/c yang diinduksi dengan *Klebsiella pneumonia* setelah pemberian Ekstrak Daun Miana

4.3.5. Ada hubungan antara pertumbuhan *bacterial load* dan kadar soluble protein HMGB1 pada mencit Balb/c yang diinduksi dengan *Klebsiella pneumonia* setelah pemberian Ekstrak Daun Miana

4.3.6. Ada hubungan antara ekspresi mRNA gen HMGB1 dan soluble protein HMGB1 pada mencit Balb/c yang diinduksi dengan *Klebsiella pneumonia* setelah pemberian Ekstrak Daun Miana

4.4 Definisi Operasional

4.4.1 *Klebsiella pneumonia* : Mikroorganisme yang diambil dari unit koleksi kultur *deep freezer* -80° C di Departement Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanudin

4.4.2 Ekstrak daun Miana : Merupakan ekstra daun Miana yang menggunakan pelarut etanol dengan mengikuti metode yang dilakukan Syamsuri dkk

4.4.3 Mencit Balb/c adalah mencit albino jantan dengan galur tikus rumah dikembang-biakan di laboratorium dengan umur 10 minggu dan berat 30-35 gram.

4.4.4 *Bacterial load* : Jumlah bakteri dalam cairan peritoneum dan paru, diukur dengan menggunakan metode dilusi

4.4.5 Ekspresi mRNA gen HMGB1 adalah nilai dengan satuan fold change yang diukur dengan menggunakan teknik realtime PCR

4.4.6 Kadar soluble protein HMGB1 adalah nilai dengan satuan ng/mL yang diukur dengan menggunakan teknik ELISA .