

**DISERTASI**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN MIANA  
(*Coleus scutellarioides* (L.) Benth.) DAN QUERCETIN TERHADAP  
EKSPRESI mRNA DAN KADAR PROTEIN *NUCLEAR FACTOR KAPPA  
BETA* (NF- $\kappa$ B) PADA INFEKSI *Salmonella typhi* MENCIT Balb/c**



**ADE RIFKA JUNITA**

**C013211002**

**PROGRAM DOKTOR ILMU KEDOKTERAN  
FAKULTAS KEDOKTERAN, UNIVERSITAS HASANUDIN**

**2023**

**DISERTASI**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN MIANA (*Coleus scutellarioides* (L.)  
*Benth.*) DAN QUERCETIN TERHADAP EKSPRESI mRNA DAN KADAR  
PROTEIN NUCLEAR FACTOR KAPPA BETA (NF- $\kappa$ B) PADA  
INFEKSI *Salmonella typhi* MENCIT**

**THE EFFECT OF GIVING MIANA LEAF EXTRACT  
(*COLEUS SCUTELLARIOIDES* (L) BENTH.) AND QUERCETIN ON mRNA  
EXPRESSION AND LEVELS OF PROTEIN NUCLEAR FACTOR KAPPA  
BETA (NF- $\kappa$ B) IN *SALMONELLA TYPHI* INFECTION IN BALB/c MICE**

Disusun dan diajukan

Oleh

**Ade Rifka Junita**  
**C013211002**

Telah dipertahankan di hadapan Penilai Ujian yang dibentuk dalam rangka  
Penyelesaian Studi Program Studi Doktor Ilmu Kedokteran  
Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin  
pada tanggal, 2 Oktober 2023  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui

Promotor,

**dr. Firdaus Hamid, Ph.D, Sp.MK(K)**

Nip.19771231 200212 1 002

Co. Promotor

Co. Promotor

**Prof. dr. Budu, Ph.D, Sp.M(K), M.Med.Ed**

Nip. 19661231 199503 1 009

**Prof. dr. Rosdiana Natzir, Ph.D, Sp.Biok**

Nip. 19570326 198803 2 001

Ketua Program Studi S3  
Ilmu Kedokteran,

Dekan Fakultas Kedokteran  
Universitas Hasanuddin,

**Dr. dr. Irfan Idris, M.Kes**

Nip.19671103 199802 1 001

**Prof. Dr. dr. Haerani Rasyid, M.Kes, Sp.PD-KGH, FINASIM Sp.GK**

Nip.19680530 199603 2 001

## ABSTRAK

ADE RIFKA JUNITA. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Miana (Colel's Scutellariodes) dan Quercetin terhadap Ekspresi MRNA dan Kadar Protein Nuclear Factor Kappa Beta (NF-k $\beta$ ) pada Infeksi Salmonella Typhi Mencit BALB/c (dibimbing oleh Firdaus Hamid, Budu, Rosdiana Natzir).*

Penelitian ini bertujuan membuktikan pengaruh Miana (M), *Quercetin* (Q), *Cefixime* (C), dan kombinasinya sebagai antiinflamasi dan antibakteria pada mencit Balb/c yang diinfeksi *S. typhi* dan kaitannya dengan dinamika ekspresi mRNA NF-kp dan kadar protein NF-k $\beta$ . Miana (*Coleuscutellariodes*), dan *Quercetin* merupakan herbal suplemen yang sering digunakan penyakit infeksi. Mekanisme antibakteri dan antiinflamasinya terhadap infeksi *Salmonella typhi* (*S. typhi*) belum diketahui dengan jelas. Nuclear Factor Kappa Beta (NF-kp) berperan sebagai pengatur utama dalam proses infeksi dan menginduksi kuat sitokin proinflamasi melalui ikatan I- k $\beta$  dengan reseptor NF-k $\beta$ . Mencit Balb/c jantan dengan subjek terdiri dari 8 kelompok dengan masing-masing 5 kelompok dengan pemberian Miana (M), *Quercetin* (Q), M+Q, M+ *Cefixime* (C), Q+C, M+ Q+C, C saja dan kelompok pemberian distilled waterl sebagai kontrol negatif. Signifikansi statistik dari kelompok perbedaan didefinisikan sebagai nilai P kurang dari 0,05. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penurunan ekspresi mRNA NF-k $\beta$ , kadar protein NF- k $\beta$ , dan *bacterial load* setelah pemberian M+C, Q+C, atau M+Q+C menunjukkan perbedaan yang signifikan jika dibandingkan dengan kontrol negatif. Penurunan NF-k $\beta$  lebih kuat ketika M+Q+C diberikan dibandingkan dengan M, Q, M+Q, atau C saja. Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa efek penekanan NF-k $\beta$  terlihat sama antara pemberian M,Q dan M+Q ketika C ditambahkan. Namun, penekanan NF-k $\beta$  tidak signifikan tanpa penambahan C.

Kata kunci : *Miana (Coleus scutellariodes)*, Nuclear Factor Kappa Beta (NF-k $\beta$ ) mRNA kadar protein, *Salmonella typhi*, Balb/c, Bacterial load





## ABSTRACT

ADE RIFKA JUNITA *The Effect of Giving Miana Leaf Extract (Coleus scutellarioides) and Quercetin on mRNA Expression and Level of Protein Nuclear Factor Kappa Beta (NF- $\kappa$ B) in Salmonella Typhi Infection in Balb/c Mice* (supervised by Firdaus Hamid, Budu, Rosdiana Natzir)

The research aims to prove the effect of Miana (M), Quercetin (Q), Cefixime (C) and their combination as anti-inflammatory and antibacterial agents in Balb/c mice infected with *Salmonella typhi* (S.typhi) and their relation to the dynamics of NF- $\kappa$ B mRNA expression and NF-protein levels.  $\kappa$ B. Miana (*Coleus scutellarioides*) and Quercetin are herbal supplements that are often used for the infectious diseases. Its antibacterial and anti-inflammatory infection are not clearly known. Nuclear Factor Kappa Beta (NF- $\kappa$ B) acts as a key regulator in the infection process and induces the strong proinflammatory cytokines through I- $\kappa$ B binding to NF- $\kappa$ B receptors. The Balb/c male mice with the subjects consisted of 8 groups with 5 groups each receiving Miana (M), Quercetin (Q), M+Q, M+ Cefixime (C), Q+C, M+ Q+C, C only and the group given distilled water as the negative control. The statistical significance of the group difference was defined as a P value of less than 0.05. The research results indicate that the decrease in NF- $\kappa$ B mRNA expression, NF- $\kappa$ B protein level, and bacterial load after the administration of M+C, Q+C, or M+Q+C shows the significant difference when compared with the negative control. The decrease in NF- $\kappa$ B is stronger when M+Q+C is administered compared with M, Q, M+Q, or C alone. From the research results, it can be concluded that the suppression effect of NF- $\kappa$ B looks the same between M.Q and M+Q administration when C is added. However, the suppression of NF- $\kappa$ B is not significant without the addition of C.

Key words: Miana (*Coleus scutellarioides*). Nuclear Factor Kappa Beta (NF- $\kappa$ B), mRNA, protein content, *Salmonella typhi*, Balb/c, bacterial load





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 : **Ade Rifka Junita**  
Nomor Pokok : C013211002  
Program Studi : Doktor Ilmu Kedokteran  
Jenjang : S3

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulis saya berjudul : **Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Miana (*Coleus scutellarioides*) dan Quercetin Terhadap Ekspresi mRNA dan Kadar Protein Nuclear Factor Kappa Beta (NF- $\kappa$ B) Pada Infeksi *Salmonella typhi* Mencit Balb/c**

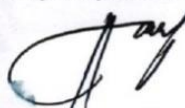
Adalah karya tulis saya sendiri dan bukan merupakan pengambilan alihan tulisan orang lain, bahwa Disertasi yang saya tulis ini benar- benar merupakan hasil karya saya sendiri.

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

Makassar, 5 Agustus 2023

Yang menyatakan,



  
**Ade Rifka Junita**

**DISERTASI**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN MIANA (*Coleus  
scutellarioides (L.) Benth.*) DAN QUERCETIN TERHADAP EKSPRESI  
mRNA DAN KADAR PROTEIN *NUCLEAR FACTOR KAPPA BETA* (NF-  
k $\beta$ ) PADA INFEKSI *Salmonella typhi* MENCIT Balb/c**

Disusun dan diajukan oleh  
**ADE RIFKA JUNITA**  
Nomor Pokok C013211002  
telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Disertasi  
pada tanggal ....  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat  
Menyetujui

Komisi Penasehat,

---

dr. Firdaus Hamid, PhD, SpMK(K)  
Promotor

---

Prof. dr. Budu, PhD, SpM(K),  
M.Ed  
Kopromotor

Ketua Program Studi S3  
Ilmu Kedokteran,

---

Dr.dr. Irfan Idris, M.Kes

---

Prof. dr. Rosdiana Natzir, PhD, SpBiok  
Kopromotor

Dekan Fakultas Kedokteran  
Universitas Hasanuddin

---

Prof.Dr.dr. Haerani Rasyid, MSc,  
SpPD-KGF, SpGK, FINSIM

## **PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN**

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Ade Rifka Junita

Nomor Mahasiswa : C013211002

Program Studi : Ilmu Kedokteran

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

Makassar, Oktober 2023

Yang menyatakan,

**Ade Rifka Junita**

## PRAKATA

Puji dan syukur kehadiran Tuhan Maha Esa, karena atas Rahmat dan karuniaNya sehingga saya dapat menyelesaikan disertasi yang berjudul: PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN MIANA (*Coleus scutellariodes* (L.) Benth.) DAN QUERCETIN TERHADAP EKSPRESI mRNA DAN KADAR PROTEIN NUCLEAR FACTOR KAPPA BETA (NF- $\kappa$ B) PADA INFEKSI *Salmonella typhi* MENCIT Balb/c.

Selesainya penulisan disertasi ini tidak terlepas dari peran dan dukungan berbagai pihak yang membantu, mendorong, membimbing penulis selama proses mulai dari proposal, penelitian dan penyusunan disertasi ini.

Pada kesempatan ini penulis dengan tulus menyampaikan terima kasih yang tidak terhingga kepada semua pihak yang telah membantu baik dalam proses penelitian maupun penulisan disertasi ini. Ucapan terima kasih ini penulis sampaikan kepada:

1. dr. Firdaus Hamid, PhD, Sp.MK(K) selaku promotor dan pembimbing dari disertasi ini dalam memberikan bimbingan dan masukan serta saran sehingga penelitian dan penulisan disertasi ini dapat terlaksana dengan baik.
2. Prof. dr. Budu, PhD, Sp.M(K), M.Ed, selaku kopromotor pertama dari disertasi ini dalam memberikan dorongan, bimbingan dan masukan serta saran sehingga penelitian dan penulisan disertasi ini dapat terlaksana dengan baik.
3. Prof. dr. Rosdiana Natzir, PhD, Sp.Biok, selaku kopromotor kedua dari disertasi ini dalam memberikan bimbingan mulai dari proposal, permasalahan penelitian sehingga penulisan disertasi ini dapat diselesaikan dengan baik.



4. Prof. Dr. Yusmina Hala MS, Prof Dr. Gemini Alam, MSc, Dr. Rosana Agus, MSi, Dr.dr. Burhanuddin Bahar, MS selaku penguji yang telah memberikan bimbingan masukan dan bantuannya dalam penulisan disertasi ini.
5. Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, MSc, selaku Rektor Universitas Hasanuddin, Prof, Dr. dr. Haerani Rasyid, MKes, Sp.PD-KGH, FINASIM. Sp.GK selaku Dekan Fakultas Kedokteran, Universitas Hasanuddin, Dr. dr. Irfan Idris, MKes selaku Ketua Program Studi S3 Ilmu Kedokteran, Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin yang telah memberi kesempatan untuk mengikuti dan menyelesaikan studi Pendidikan Doktor Ilmu Kedokteran di Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.
6. Akhirnya penulis mengucapkan terima kasih yang tidak terhitung kepada orang tua tercinta Prof. dr. Mochammad Hatta, PhD, Sp.MK (K) dan dr. Ratnawati, kedua mertua Prof. Dr. Ir. H.M. Saleh Ali, MSc dan Hj. A. Mulyati, suami tercinta dr. Ahmad Syukri Saleh, Sp.JP, anak-anak tersayang A. Muh. Yafie Asshofie dan A. Syarifah Nasyrh Asshofie yang tidak henti hentinya mendoakan, memberi semangat dan mendukung penulis selama proses Pendidikan doctor hingga penulisan disertasi ini.
7. Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada mereka yang tidak sempat dituliskan namun mempunyai kontribusi dalam penyelesaian disertasi ini.

Penulis menyadari bahwa tulisan ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu kritik dan saran dalam perbaikan disertasi ini sangat penulis harapkan dan semoga disertasi ini memberi manfaat kepada para pembaca dan masyarakat.

Makassar, Oktober 2023

**Ade Rifka Junita**

## ABSTRAK

**ADE RIFKA JUNITA. PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN MIANA (*COLEUS SCUTELLARIODES (L.) BENTH.* ) DAN QUERCETIN TERHADAP EKSPRESI mRNA DAN KADAR PROTEIN NUCLEAR FACTOR KAPPA BETA (*NF-k $\beta$* ) PADA INFEKSI *SALMONELLA TYPHI* MENCIT BALB/c**

Miana (*Coleus scutellariodes*) dan Quercetin merupakan herbal suplemen yang sering digunakan penyakit infeksi. Mekanisme antibakteri dan anti-inflamasinya terhadap infeksi *Salmonella typhi* (*S.typhi*) belum diketahui dengan jelas. Nuclear Factor Kappa Beta (*NF-k $\beta$* ) berperan sebagai pengatur utama dalam proses infeksi dan menginduksi kuat sitokin proinflamasi melalui ikatan I-*k $\beta$*  dengan reseptor *NF-k $\beta$* .

Tujuan penelitian ini ialah membuktikan pengaruh Miana (M), Quercetin (Q), Cefixime (C) dan kombinasinya sebagai antiinflamasi dan antibakteria pada mencit Balb/c yang diinfeksi *S. typhi* dan kaitannya dengan dinamika ekspresi mRNA *NF-k $\beta$*  dan kadar protein *NF-k $\beta$* .

Mencit Balb/c jantan dengan subjek terdiri dari 8 kelompok dengan masing-masing 5 ekor dengan pemberian Miana (M), Quercetin (Q), M+Q, M+ Cefixime (C), Q+C, M+ Q+C, C saja dan kelompok pemberian distilled waterl sebagai kontrol negatif. Signifikansi statistik dari kelompok perbedaan didefinisikan sebagai nilai P kurang dari 0,05.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa penurunan ekspresi mRNA *NF-k $\beta$* , kadar protein *NF-k $\beta$* , dan bacterial load setelah pemberian M+C, Q+C, atau M+Q+C menunjukkan perbedaan yang signifikan jika dibandingkan dengan kontrol negatif. Penurunan *NF-k $\beta$*  lebih kuat ketika M+Q+C diberikan dibandingkan dengan M, Q, M+Q, atau C saja.

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkn bahwa efek penekanan *NF-k $\beta$*  terlihat sama antara pemberian M,Q dan M+Q ketika C ditambahkan. Namun, penekanan *NF-k $\beta$*  tidak signifikan tanpa penambahan C.

**Kata kunci:** Miana (*Coleus scutellariodes (L) Benth.*), Nuclear Factor Kappa Beta (*NF-k $\beta$* ), mRNA, kadar protein, *Salmonella typhi*, Balb/c, Bacterial load

## ABSTRACT

**ADE RIFKA JUNITA. THE EFFECT OF GIVING MIANA LEAF EXTRACT (*COLEUS SCUTELLARIOIDES (L.) BENTH.*) AND QUERCETIN ON MRNA EXPRESSION AND LEVELS OF PROTEIN NUCLEAR FACTOR KAPPA BETA (*NF-k $\beta$* ) IN *SALMONELLA TYPHI* INFECTION IN BALB/c MICE**

Miana (*Coleus scutellariodes (L.) Benth.*) and Quercetin are herbal supplements that are often used for infectious diseases. Its antibacterial and anti-inflammatory mechanisms against *Salmonella typhi* (*S.typhi*) infection are not clearly known. Nuclear Factor Kappa Beta (*NF-k $\beta$* ) acts as a key regulator in the infection process and induces strong proinflammatory cytokines through I-*k $\beta$*  binding to *NF-k $\beta$*  receptors.

The aim of this study was to prove the effect of Miana (M), Quercetin (Q), Cefixime (C) and their combination as anti-inflammatory and antibacterial agents in Balb/c mice infected with *S. typhi* and their relation to the dynamics of *NF-k $\beta$*  mRNA expression and *NF-k $\beta$* -protein levels. *k $\beta$*  .

Balb/c male mice with subjects consisted of 8 groups with 5 tails each receiving Miana (M), Quercetin (Q), M+Q, M+ Cefixime (C), Q+C, M+ Q+C, C only and the group given distilled water as a negative control. The statistical significance of the group difference was defined as a P value of less than 0.05.

The results of this study indicated that the decrease in *NF-k $\beta$*  mRNA expression, *NF-k $\beta$*  protein levels, and bacterial load after administration of M+C, Q+C, or M+Q+C showed a significant difference when compared to the negative control. The decrease in *NF-k $\beta$*  was stronger when M+Q+C was administered compared to M, Q, M+Q, or C alone.

vszxFrom the results of this study it can be concluded that the suppression effect of *NF-k $\beta$*  looks the same between M,Q and M+Q administration when C is added. However, the suppression of *NF-k $\beta$*  was not significant without the addition of C.

**Keywords:** Miana (*Coleus scutellariodes (L.) Benth. (L.) Benth*), Nuclear Factor Kappa Beta (*NF-k $\beta$* ), mRNA, protein content, *Salmonella typhi*, Balb/c, Bacterial load



## DAFTAR ISI

PRAKATA.....	iv
ABSTRAK.....	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR SINGKATAN.....	xiv
<b>BAB I PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
A. LATAR BELAKANG.....	1
B. RUMUSAN MASALAH.....	6
C. HIPOTESIS.....	6
D. TUJUAN PENELITIAN.....	7
E. MANFAAT PENELITIAN.....	7
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>9</b>
A. <i>Salmonella typhi</i> ( <i>S.typhi</i> ).....	9
1. Morfologi <i>S.typhi</i> .....	9
2. Patogenesis infeksi <i>S.typhi</i> .....	14
3. Epidemiologi Infeksi <i>S.typhi</i> .....	17
4. Mekanisme respon imunologi penderita DT akibat infeksi <i>S.typhi</i> .....	18
5. Pengaruh infeksi <i>S.typhi</i> pada proses inflamasi.....	19
6. Pengaruh infeksi <i>S.typhi</i> dengan sinyal Tool like Receptor (TLR) dan Nuclear Factor kappa beta (NF- $\kappa$ B) dan pengaruhnya pada aktivasi Hypoxia Inducible Factor-1 $\alpha$ (HIF-1 $\alpha$ ).....	29
B. MIANA ( <i>COLEUS SCUTELLARIOIDES</i> (L.) BENTH.) DAN QUERCETIN.....	34
1. Miana ( <i>Coleus scutellariodes</i> (L.) Benth. (L.) Benth.).....	34
2. Quercetin.....	42
C. NUCLEAR FACTOR KAPPA BETA (NF-KB).....	50
1. Mekanisme kerja NF- $\kappa$ B.....	51
2. Target NF- $\kappa$ B.....	54
3. Efek obat tradisional yang mengandung Flavonoid dan Quercetin terhadap aktivasi NF- $\kappa$ B dan proses inflamasi.....	61
<b>BAB III KERANGKA TEORI.....</b>	<b>72</b>
<b>BAB IV KERANGKA KONSEP.....</b>	<b>75</b>

<b>BAB V</b>	<b>METODE PENELITIAN .....</b>	<b>76</b>
	A. RANCANGAN PENELITIAN .....	76
	B. TEMPAT DAN WAKTU PENELITIAN .....	76
	C. POPULASI DAN SAMPEL PENELITIAN .....	76
	D. KRITERIA INKLUSI.....	77
	E. KRITERIA EKSKLUSI .....	77
	F. KRITERIA <i>DROP OUT</i> .....	77
	G. PENENTUAN JUMLAH SAMPEL .....	77
	H. CARA PENGAMBILAN SAMPEL .....	78
	I. METODE KERJA .....	78
	J. ALUR PENELITIAN .....	88
	K. IZIN PENELITIAN DAN ETIKA PENELITIAN .....	89
	L. IDENTIFIKASI VARIABEL DAN KLASIFIKASI VARIABEL PENELITIAN .....	90
	M. DEFINISI OPERASIONAL DAN KRITERIA OBJEKTIF .....	91
	N. PENGOLAHAN DAN ANALISIS DATA.....	94
<b>BAB VI</b>	<b>HASIL PENELITIAN.....</b>	<b>95</b>
<b>BAB VII</b>	<b>PEMBAHASAN .....</b>	<b>111</b>
<b>BAB VIII</b>	<b>KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>115</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>		<b>117</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1. Jenis mikroorganisme yang dapat mengaktifkan NF- $\kappa$ B dan menyebabkan terjadinya proses inflamasi dan kerusakan jaringan.....	28
Tabel 2.2. Efek derivat Flavonoid sebagai antiinflamasi pada intestinal.....	40
Tabel 6.1. Perbandingan ekspresi mRNA NF- $\kappa$ B antara sebelum infeksi, setelah infeksi dan setelah perlakuan.....	96
Tabel 6.2. Perbandingan kadar protein NF- $\kappa$ B antara sebelum infeksi, setelah infeksi dan setelah perlakuan.....	100
Tabel 6.3. Ekspresi mRNA NF- $\kappa$ B setelah pemberian Miana (M), Quercetin (Q), dan/atau Cefixime (C) pada mencit yang diinduksi <i>Salmonella typhi</i> ..	104
Tabel 6.4. Kadar protein NF- $\kappa$ B setelah pemberian Miana (M), Quercetin (Q), dan/atau Cefixime (C) pada mencit yang diinduksi <i>Salmonella typhi</i> ..	106

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Morfologi <i>S.typhi</i> dibawah elektron mikroskop.....	10
Gambar 2.2. Distribusi filogenetik dari plasmid IncHI1 dan IncN yang resisten- multi resisten pada isolat <i>S. typhi</i> H58 yang dilakukan sequencing .	13
Gambar 2.3. Jalur hidup <i>S.typhi</i> dan hubungannya dengan diagnosa DT.....	15
Gambar 2.4. Patogenesis demam tifoid.....	16
Gambar 2.5. Proses Inflamasome pada Infeksi <i>S.typhi</i> .....	22
Gambar 2.6. Peran sentral NF-k $\beta$ pada infeksi bakteri .....	25
Gambar 2.7. Pengaruh Reactive Oxygen Species (ROS) terhadap NF-k $\beta$ dan HIF- 1 $\alpha$ pada keadaan hipoksia akibat infeksi mikroorganisme .....	30
Gambar 2.8. Jalur pensinyalan NF-k $\beta$ canonical dan non-canonical pada proses inflamasi.....	31
Gambar 2.9. Efek fitokimia dalam menekan ativitas NF-k $\beta$ .....	33
Gambar 2.10. Miana ( <i>Coleus scutellariodes</i> (L.) Benth.) .....	36
Gambar 2.11. Struktur kimia derivate Flavonoid .....	39
Gambar 2.12. Mekanisme penghambatan proses inflamasi melalui penekanan jalur sinyal NF-k $\beta$ oleh Flavonoid.....	42
Gambar 2.13. Struktur kimia quercetin :quercetin aglycone (I), quercetin glucoside (II) pada bawang, quercetin galactoside (III) pada buah apel dan quercetin rutinoside atau rutin (IV).....	44
Gambar 2.14. Efek Penghambatan Flavonoid dan Quercetin pada jalur pensinyalan NF-k $\beta$ .....	48
Gambar 2.15. Pengaruh ROS dalam keadaan hipoksia dan aktivasi HIF-1 dan NF- k $\beta$ .....	53
Gambar 2.16. Target gen NF-k $\beta$ yang terlibat dalam proses inflamasi .....	55
Gambar 3.1. Kerangka Teori.....	72
Gambar 4.1. Kerangka Konsep .....	75
Gambar 5.1. Metode Spread-plate dan Pour-plate .....	87
Gambar 5.2. Alur Penelitian.....	88



Gambar 6.1. Pola ekspresi mRNA NF-kB pada Kelompok Miana (M), Quercetin (Q), M+Cefixime (C), M+Q+C, Kontrol Positif (KP) dan Kontrol Negative (KN).....	98
Gambar 6.2. Pola kadar protein NF-kB pada Kelompok Miana (M), Quercetin (Q), M+Cefixime (C), M+Q+C, Kontrol Positif (KP) dan Kontrol Negatif (KN) .....	103
Gambar 6.3. Perbandingan ekspresi mRNA NF-k $\beta$ setelah pemberian Miana (M), Quercetin (Q), dan/atau Cefixime (C) dan negative control .....	107
Gambar 6.4. Perbandingan kadar protein NF-k $\beta$ setelah pemberian Miana (M), Quercetin (Q), dan/atau Cefixime (C) dan negatif control .....	108
Gambar 6.5. Pertumbuhan bakteri (bacterial load) setelah pemberian Miana (M), Quercetin (Q) dan/atau Cefixime (C).....	110

## DAFTAR SINGKATAN

ADP	: Adenosine diphospat
AIM2	: Absent in Melanoma 2
AP-1	: activating protein-1
APAP	: acetaminophen
ASK	: apoptosis-signaling kinase
ATP	: Adenosine tri-phosphate
BSA	: Bovine Serum Albumin
cAMP	: Cyclic adenosine 3',5'-monophosphate
cIAP	: inhibitor of cellular apoptosis proteins
CLP	: cecal ligation dan puncture
CLR	: C-type lectin receptor
DAMP	: damage associated molecular patterns
DD	: dimerization domain
DNA	: Asam deoksiribonukleat
dNTP	: Deoksiribonukelotida trifosfat
ds-RNA	: double-stranded RNA
DT	: Demam Tifoid
EDTA	: Etilen Diamin Tetra Acetat
ELISA	: Enzyme linked-immunosorbent Assay
Etk	: epithelial tyrosine kinase
FADD	: Fas associated DD protein
FAN	: factor associated with neutral SMase activation
FIH	: HIF asparaginyl hydroxylase
GABA	: Asam gamma-aminobutirat
GPC-Rs	: G protein-coupled receptors
HMGB-1	: High Mobility Group Box-1

ICAM-1	: intercellular adhesion molecule-1
IECs	: Intestinal epithelial Cells
IFN- $\gamma$	: interferon- $\gamma$
I $\kappa$ $\beta$	: Inhibitor k $\beta$
IKK	: complex inhibitor k $\beta$ kinase
IL	: interleukin
IRAK	: Interleukin 1 receptor associated kinase
IRF	: interferon response factor
JNKs	: C-Jun N-Terminal kinases
LPS	: lipopolysaccharida
MAMPs	: microbe associated molecular patterns
MAP3Ks	: mitogen activated protein kinase kinase kinases
MCP-1	: monocyte chemotactic protein-1
MD-2	: myeloid differentiation protein 2
MEKK	: mitogen activated protein kinase kinase
MHC	: major histocompatibility complex
mRNA	: messenger Ribonucleic acid
MSU	: monosodium urate
mTOR	: mammalian target of rapamycin
NAIPs	: NLR family of apoptosis inhibitory proteins (NAIPs)
NEMO	: NF-k $\beta$ essential modulator
NF-k $\beta$	: Nuclear Factor Kappa- $\beta$
NIK	: NF-k $\beta$ inducing kinase
NK	: Natural Killer
NLRs	: NOD like receptor
NLS	: nuclear localization sequence
NRAMP-1	: Natural Resistance Associated macrophage Protein-1
NTD	: N-terminal domain

PABA	: para aminobenzoic acid
PAMPs	: pathogen-associated molecular patterns
PCR	: Polymerase Chain Reaction
PHD	: prolyl hydroxylase
PI3K	: phosphatidylinositol-3 kinase
PIP 2	: phosphatidylinositol 4,5 diphosphate
PIP 3	: phosphatidylinositol 3, 4, 5 triphosphate
PKA	: cAMP-dependent protein kinase A
PKC	: Protein kinase
PKR	: dsRNA-dependent protein kinase
PLAD	: pre ligand assembly domains
PMN	: polymorphonuclear
PRR	: Pathogen recognition receptors
RAGE	: Receptor for Advanced Glycation End Product
RANK	: Receptor activator of NF- $\kappa$ B
RFLP	: Restriction Fragment Length Polymorphism
RHD	: Rel homology domain
RHIM	: RIP homotypic interaction motifs
RIP	: Receptor Interacting Protein
RLRs	: RIG-I-like receptors
RNA	: Asam ribonukleat
ROS	: reactive oxygen species
RT-PCR	: Realtime PCR
SCV	: Salmonella Containing Vacuole.
SCI	: spinal cord injury
SDS	: Sodium Dodecyl Sulfate
SODD	: Silencer of death domain
TACE	: TNF $\alpha$ converting enzyme



TAK	: TGF $\beta$ activated kinase
TEG	: thromboplastography
TGF $\beta$	: Transforming growth factor-beta
TLRs	: Toll like receptor
TNFR	: TNF receptor
TNF- $\alpha$	: Tumor Necrosis Factor- $\alpha$
TRADD	: TNFR associated death domain protein
TRAF	: TNF associated factor
TRAPS	: TNF associated periodic syndrome
Trex-1	: three prime exonucleases
TTSS	: Type III secretion system
VCAM-1	: Vascular cell adhesion molecule-1
VEGFR2	: Vascular endothelial growth receptor

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **A. LATAR BELAKANG**

*Salmonella typhi* (*S.typhi*) adalah genus bakteri enterobakteria Gram-negatif berbentuk batang yang menyebabkan demam tifoid (DT), dimana angka kejadian DT masih tinggi di Indonesia dan ini berhubungan erat dengan rendahnya sanitasi lingkungan dan kebersihan perorangan (Hatta, dkk, 2009; Alba, dkk, 2016). Disamping itu angka resistensi *S. typhi* terhadap antibiotik masih tinggi dan memungkinkan terjadi karier yang merupakan sumber penularan *S.typhi* melalui saluran pencernaan (Hatta, dkk, 2008; Hatta, dkk, 2011). Penelitian sebelumnya menunjukkan gambaran adanya penularan *S.typhi* yang resisten terhadap beberapa antibiotik (MDR) yang terdapat di Indonesia dan Asia (Wong, dkk, 2015; Wong, dkk, 2016; International Typhoid Consortium, 2016).

Bakteri *S.typhi* mempunyai dinding yang mengandung komponen lipopolisakarida (LPS) dimana akan merangsang sistem kekebalan tubuh memproduksi berbagai mediator inflamasi untuk fungsi proteksi atau perlindungan tubuh. Peradangan adalah respon alami yang diperlukan untuk melawan patogen atau kerusakan jaringan dan dimanifestasikan oleh sistem kekebalan terhadap organisme (Zha, dkk, 2019). Infeksi *S.typhi* berkontribusi dalam menimbulkan respon sitokin pro-inflamasi pada binatang percobaan dimana terjadi peningkatan kadar IL-6 dan TNF- $\alpha$ , (Kasim, dkk, 2020; Febriza, dkk, 2020). Respon inflamasi berlebihan bila dibiarkan berlangsung terus akan mengganggu sistim imunitas

tubuh menimbulkan gejala respon inflamasi secara sistemik dan kerusakan organ (Schultz, dkk, 2021).

Pada penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa dengan adanya infeksi atau stimulus maka HMGB1 dapat berinteraksi dengan beberapa reseptor dan sensor imun pada kondisi inflamasi, reseptor tersebut diantaranya adalah TLR4, TLR9, TLR2, RAGE. Ikatan tertentu antara HMGB1 dengan TLR4 dapat memicu aktivasi dari NF- $\kappa$ B dan produksi dari sitokin. Aktivasi pensinyalan NF- $\kappa$ B mengarah pada produksi berbagai sitokin inflamasi, kemokin, faktor transkripsi, yang memulai dan memodulasi reaksi inflamasi, dan mengatur respon host terhadap kerusakan jaringan (Martin, dkk, 2016; Lin dkk, 2016), selain itu NF- $\kappa$ B memainkan peran penting dalam mengatur kelangsungan hidup, aktivasi dan diferensiasi sel imun bawaan dan sel T inflamasi (Zhang, dkk, 2015; Liu dkk, 2017). Nuclear factor-  $\kappa$  B (NF- $\kappa$ B) telah lama dianggap sebagai jalur pensinyalan proinflamasi prototipikal, sebagian besar didasarkan pada aktivasi NF- $\kappa$ B oleh sitokin proinflamasi seperti interleukin1 (IL-1) dan tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) (Lawrence, 2009). Nuclear factor- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B), faktor transkripsi yang penting untuk respon inflamasi, adalah salah satu molekul terpenting yang menghubungkan inflamasi kronis dengan infeksi dan aktivitasnya diatur secara ketat oleh beberapa mekanisme.

Aktivasi NF- $\kappa$ B terutama diperantarai oleh endotoksin bakteri seperti lipopolisakarida dan sitokin pro-inflamasi seperti TNF $\alpha$  dan IL-1. Aktivasi NF- $\kappa$ B terjadi pada sel kanker dan pada lingkungan mikro tumor dari sebagian besar kanker padat dan keganasan hematopoietic (Taniguchi, dkk, 2018).

Infeksi mikroba biasanya menyebabkan respon imun bawaan dan peradangan pada host. Ini salah satu hal yang paling penting dalam membatasi replikasi patogen meskipun bakteri juga dapat mengakibatkan kerusakan jaringan host tersebut. Bakteri enteropatogen *Salmonella Typhimurium* menginduksi peradangan usus dengan memberikan protein efektor spesifik yang merangsang jalur transduksi sinyal yang menghasilkan produksi sitokin pro-inflamasi. Beberapa efektor yang terkait dengan infeksi *S.typhi* secara berlebihan akan menginduksi komponen pada jalur NF- $\kappa$ B dan menghambat respon transkripsi yang menyebabkan peradangan. Dengan demikian patogen bakteri dapat meningkatkan respon perangsangan sitokin yang merupakan cara untuk mengurangi bakteri pathogen tersebut (Sun, dkk, 2016)

Terjadinya aktivasi transkripsi NF- $\kappa$ B akibat adanya infeksi dengan translokasi inti kompleks pada sitoplasma dan memainkan peran sentral dalam proses inflamasi melalui kemampuannya untuk menginduksi transkripsi gen proinflamasi. Jalur ini diaktifkan pada stimulasi seluler yang sesuai, paling sering oleh sinyal yang berhubungan dengan bakteri patogen atau hipoksia (Tak, dkk, 2001)

NF- $\kappa$ B memainkan peran sentral dalam respon host terhadap infeksi oleh patogen mikroba, melalui respon inate imun. NF- $\kappa$ B diaktifkan oleh pensinyalan yang beragam jalur yang berasal dari banyak reseptor dan sensor seluler yang berbeda. Kebanyakan mikroorganisme patogen yang paling mampu untuk mengatur aktivasi NF- $\kappa$ B dan selanjutnya akan menginduksi signal untuk berbagai jenis sitokin proinflamasi (Rahman, dkk, 2011).



Infeksi sel epitel usus oleh *Salmonella typhi* menyebabkan aktivasi pensinyalan NF- $\kappa$ B yang akhirnya memulai program gen proinflamasi. Faktor transkripsi NF- $\kappa$ B adalah pengatur/aktivator kunci dari program gen ini dan diaktifkan secara potensial. Dari hasil penelitian sebelumnya ditemukan bahwa mekanisme infeksi *S. typhi* dalam mengaktifkan NF- $\kappa$ B selama infeksi sel epitel usus yang dikultur disebabkan adanya flagelin yang terdapat pada *S.typhi* sehingga dapat menyebabkan aktivasi NF- $\kappa$ B di semua sel (Tallant, dkk, 2004).

Miana (*Coleus scutellarioides (L.) Benth.*) termasuk tumbuhan bertahun-tahun, tinggi tanaman antara 15-30 cm dengan variasi warna tanaman atau warna daun sangat beranekaragam, Miana telah banyak digunakan sebagai obat tradisional oleh masyarakat di Indonesia (Karo, dkk, 2018). Komposisi senyawa kimia Miana yang bermanfaat yaitu minyak atsiri (karvakrol, eugenol, etil salisilat) tanin, flavonoid, saponin, dan kandungan zat aktif seperti minyak atsiri, alkaloid, flavonoid dan turunan fenolik (polifenol) dapat bersifat antibakteri (Rahmawati, 2008; Anita, dkk, 2018).

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak daun Miana mempunyai efek sebagai anti inflamasi dengan menekan ekspresi mRNA Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF), Hypoxia Inducible Factor-1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ) dan Intercellular Adhesion Molecule-1 (ICAM-1) pada mencit Balb/c mice yang diinfeksi *Mycobacterium tuberculosis* (Rosamarlina, dkk, 2021; Rosamarlina, dkk, 2022). Penelitian sebelumnya juga menunjukkan Miana dapat menekan ekspresi mRNA IL-37 pada mencit Balb/c yang diinfeksi *Candida albicans* (Karo, dkk, 2018; Yanto, dkk, 2020).

Quercetin adalah derivat dari flavonoid, dimana penelitian sebelumnya menunjukkan efek Quercetin dengan dosis 1000 mg/hari selama 11 hari dapat menghambat proses inflamasi (Johnson Kressler, dkk, 2011; Mian, dkk, 2001).

Pada akhirnya dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak daun Miana yang mengandung flavonoid dan Quercetin yang merupakan derivat dari flavonoid mempunyai efek anti inflamasi (Shukla, dkk, 2015; Vezza, dkk, 2016 ; Rahmawati, 2008, Wakhidah, dkk, 2018) karena mampu menghambat pelepasan sitokin inflamasi dan sitokin pro inflamasi, menghambat aktifitas metabolik leukosit, dan pelepasan histamin (Chekalina, dkk, 2018). Efek anti inflamasi dari Miana dan Quercetin dapat dimediasi oleh penekanan dari aktivasi NF- $\kappa$ B dan pelepasan sitokin (Choy, dkk, 2019). Miana juga secara signifikan menurunkan level dari HIF-1 $\alpha$ , VEGF dan mengurangi inflamasi pada infeksi *M.tuberculosis* (Rosamarlina, dkk, 2022; Rosamarlina, dkk, 2021). Mekanisme kerja Miana dan Quercetin sebagai anti inflamasi pada infeksi *S.typhi* melalui penekanan aktivitas NF- $\kappa$ B menjadi salah satu bagian penting dalam penurunan proses inflamasi

Penelitian ini dilakukan untuk membuktikan pengaruh pemberian Miana, Quercetin dan kombinasi sebagai anti inflamasi pada mencit Balb/c yang diinfeksi *S.typhi* dan dihubungkan dengan dinamika ekspresi mRNA gen NF- $\kappa$ B, kadar protein NF- $\kappa$ B, dan bacterial load.

## B. RUMUSAN MASALAH

Berdasarkan uraian dalam latar belakang masalah tersebut diatas, maka dapat dirumuskan pertanyaan penelitian sebagai berikut:

1. Bagaimanakah ekspresi mRNA gen NF- $\kappa$ B dan kadar protein NF- $\kappa$ B pada mencit Balb/c sebelum diinfeksi *S.typhi*?
2. Bagaimana ekspresi mRNA gen NF- $\kappa$ B dan kadar protein NF- $\kappa$ B pada mencit Balb/c setelah diinfeksi *S.typhi*?
3. Bagaimana efek pemberian ekstrak daun Ekstrak daun miana, Quercetin dan kombinasi terhadap ekspresi mRNA gen NF- $\kappa$ B dan kadar protein NF- $\kappa$ B pada mencit Balb/c setelah diinfeksi *S.typhi* hubungannya dengan bacterial load ?

## C. HIPOTESIS

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah.

1. Terjadi peningkatan ekspresi mRNA dan kadar protein NF- $\kappa$ B pada mencit Balb/c yang diinfeksi *S.typhi*.
2. Pemberian ekstrak daun miana (M), Quercetin (Q) dan Kombinasi M+Q menurunkan ekspresi mRNA, kadar protein NF- $\kappa$ B, dan bacterial load pada mencit Balb/c setelah diinfeksi *S.typhi*.
3. Pemberian kombinasi Cefixime (C) dengan Ekstrak daun miana (M), Quercetin dan M+Q menekan ekspresi mRNA, kadar protein NF- $\kappa$ B, dan bacterial load lebih kuat dibandingkan tanpa Cefixime pada mencit Balb/c setelah diinfeksi *S.typhi*.

## **D. TUJUAN PENELITIAN**

### **Tujuan umum**

Untuk melihat pengaruh ekstrak daun Miana, Quercetin dan Kombinasi terhadap ekspresi mRNA, kadar protein NF- $\kappa$ B, dan bacterial load pada mencit Balb/c yang diinfeksi *S.typhi*.

### **Tujuan khusus**

1. Mengetahui ekspresi mRNA dan kadar protein NF- $\kappa$ B, pada mencit Balb/c sebelum diinfeksi *S.typhi*.
2. Mengetahui ekspresi mRNA dan kadar protein NF- $\kappa$ B pada mencit Balb/c setelah diinfeksi *S.typhi*.
3. Mengetahui pengaruh pemberian Ekstrak daun miana, Quercetin dan Kombinasi terhadap ekspresi mRNA, kadar protein NF- $\kappa$ B, dan bacterial load pada mencit Balb/c setelah diinfeksi *S.typhi*.

## **E. MANFAAT PENELITIAN**

### **Kegunaan Ilmiah**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah baru bahwa pemberian Ekstrak daun miana, Quercetin dan Kombinasi dapat digunakan sebagai anti inflamasi pada mencit Balb/c setelah diinfeksi *S.typhi* dilihat dari penurunan ekspresi mRNA gen NF- $\kappa$ B, kadar protein NF- $\kappa$ B, dan bacterial load.

### **Kegunaan Praktis**

Hasil penelitian ini diharapkan bahwa Ekstrak daun miana, Quercetin atau Kombinasi dapat digunakan sebagai suplemen dalam praktek klinik untuk mengatasi inflamasi yang dialami pasien-pasien yang menderita Demam tifoid (DT).

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. *Salmonella typhi* (*S.typhi*)

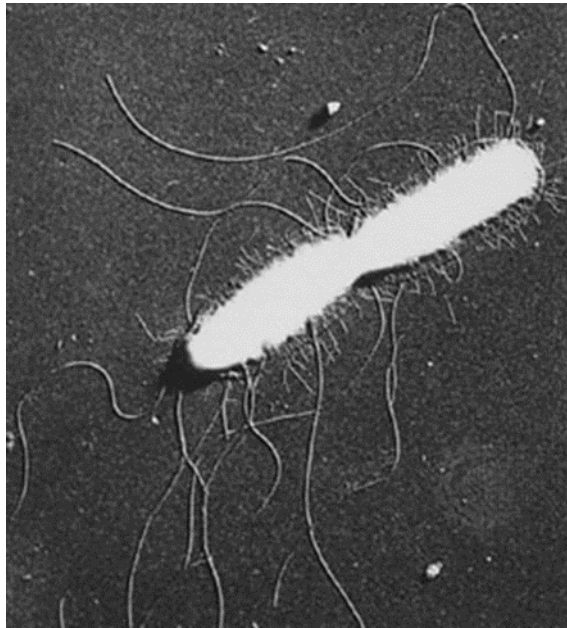
##### 1. Morfologi *S.typhi*

*Salmonella typhi* atau sering disebut *Salmonella enterica* serotype Typhi (*S typhi*). Sementara demam paratifoid adalah penyakit infeksi yang gejalanya mirip namun lebih ringan dari Demam Tifoid (DT) disebabkan oleh *S. paratyphi* A, B atau C (Easmon C, 2015; Gunn, dkk 2014). Bakteri *S. typhi* hanya menginfeksi manusia dan umumnya infeksi terjadi setelah mengkonsumsi makanan atau minuman yang terkontaminasi oleh kotoran (feses) yang mengandung *S. typhi* (Hatta dkk, 2009).

*S.typhi* adalah genus yang termasuk dalam keluarga Enterobacteriaceae, yaitu bakteri yang hidup pada saluran pencernaan dengan bentuk morfologi merupakan bakteri berbentuk batang dan bersifat gram negatif, berkapsul, motil, tidak menghasilkan spora, bersifat aerobik dan dapat hidup pada keadaan fakultatif anaerobik . *S. typhi* mempunyai ukuran 2 - 4  $\mu\text{m}$  x 0.5 - 0.8  $\mu\text{m}$ . Semua spesies *Salmonella* yang telah diketahui mempunyai flagella, kecuali *S. pullorum* dan *S. gallinarum* dan fimbria pada *S. parathyphi* A (Cruischack R, 1968).

Sel terluar terdiri atas struktur lipopolisakarida kompleks (LPS) yang terbebas dari lisis sel sampai batas tertentu selama kultur. Bagian lipopolisakarida dapat berfungsi sebagai endotoksin, dan berperan penting dalam menentukan virulensi

organisme. Kompleks endotoksin makromolekul ini terdiri dari tiga komponen, mantel O-polisakarida luar, bagian tengah (inti R), dan lapisan dalam lipid A.



Gambar 2.1. Morfologi *S.typhi* dibawah elektron mikroskop (Adam,dkk 2022, <https://www.britannica.com/science/Salmonella>)

Dengan menggunakan electron mikroskop maka terlihat *S.typhi* berbentuk batang dengan adanya fimbria sebagai alat untuk melekat pada dinding usus dan flagella yang berfungsi sebagai alat bergerak (motility) (Gambar 2.1)

Bakteri *S. typhi* memiliki tiga antigen utama:

1) Antigen O (antigen somatic), yaitu berada pada lapisan luar tubuh bakteri. Bagian ini memiliki struktur kimia lipopolisakarida (endotoksin). Antigen ini tahan dengan suhu panas dan alkohol tetapi tidak tahan dengan formaldehid.

- 2) Antigen H (antigen flagela), yakni terletak pada flagela, fimbriae atau fili dari kuman. Antigen ini mempunyai struktur kimia suatu protein dan tahan terhadap formaldehid tetapi tidak tahan dengan panas diatas 60° C, asam serta alkohol.
- 3) Antigen Vi adalah polimer polisakarida bersifat asam yang berada pada kapsul (envelope) dari bakteri sebagai pelindung bagi bakteri salmonella terhadap fagositosis (Fattinger, dkk, 2021).

Telah dilakukan beberapa penelitian genotyping bakteri *S.typhi* dimana ditemukan variasi fase yang unik dari beberapa jenis *Salmonella enterica* serovar Typhi dari Indonesia. Dimana isolat *S.typhi* dari Indonesia ditemukan selain mengandung gen flagellin fase 1 Hd dan gen flagellin kedua bernama z66, juga ditemukan isolat dengan gen flagellin Hd mutan bernama variasi Hj. Selanjutnya pada penelitian ini pertama diidentifikasi gen flagellin lain dari *S. typhi*, bernama z66Ind (GenBank: HQ645960.1), menunjukkan homologi terdekat dengan gen flagellin dari *Serratia marcescens*. Gen z66Ind terdeteksi pada 21,8% pada isolat *S. typhi* dari Indonesia dan semuanya mengandung gen Hd. Gen Hj tidak terdeteksi. Gen z66 terdeteksi sebesar 15,4% dari isolat. Adanya gen flagellin "baru" ini dapat dikaitkan dengan peningkatan risiko untuk menimbulkan keparahan dari gejala klinis Demam Tifoid (DT) (Hatta, dkk, 2011).

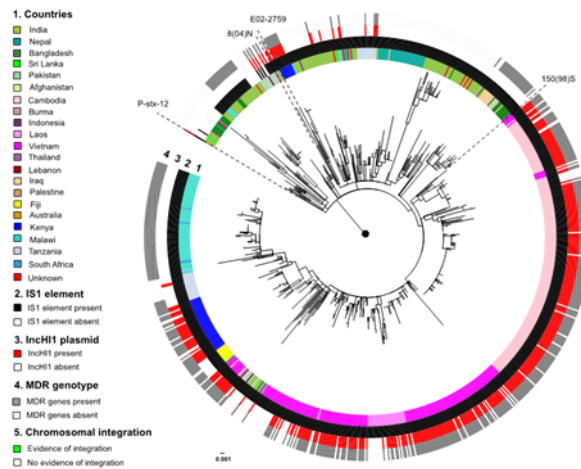
Selanjutnya telah menemukan adanya lokus H58 dari bakteri *S. typhi* yang berhubungan dengan gen yang menyandi terjadinya Multidrug resistant (MDR), dimana MDR ini merupakan ancaman dalam bidang kesehatan secara global yang mempengaruhi banyak negara terutama pada endemis. Pada penelitian ini telah



analisis urutan genome utuh sebanyak 1832 isolat *Salmonella enterica* serovar Typhi (*S. typhi*) mengidentifikasi H58 merupakan salah satu dominan dari lokus tersebut.

Garis keturunan MDR, lokus H58, yang telah muncul dan menyebar ke seluruh Asia dan Afrika selama 30 tahun terakhir dimana terjadi banyak transmisi dari lokus H58, termasuk beberapa transfer dari Asia ke Afrika dan epidemi MDR yang sedang berlangsung dimana di Afrika sendiri tidak diketahui. Dari analisis secara khusus menunjukkan bahwa garis keturunan lokus pada H58 menggantikan antibiotik yang sensitif dan mengubah struktur populasi secara global bakteri ini. Isolat bakteri *S.typhi* dengan H58 dapat menyimpan elemen MDR yang kompleks yang berada di tempat yang dapat ditransmisikan IncHI plasmid atau dalam beberapa situs integrasi kromosom. Juga telah dilakukan identifikasi mutasi baru yang menentukan garis keturunan lokus H58.

Dari analisis filogenesis ini dapat memperlihatkan bagaimana memfasilitasi dan mengatur MDR pada penderita DT secara global dan juga bisa diterapkan untuk melihat garis keturunan MDR lokus H58 serupa muncul dalam spesimen bakteri lainnya (Wong, dkk, 2015; Wong, dkk, 2016; International Typhoid Consortium, 2016).



Gambar 2.2. Distribusi filogenetik dari plasmid IncHI1 dan IncN yang resisten-multi resisten pada isolat *S. typhi* H58 yang dilakukan sequencing (Wong, dkk, 2015).

Pada gambar 2.2 terlihat bahwa rooted kemungkinan maksimum filogeni dari 1832 isolat milik H58 (1,534 SNPs) digambarkan di pusat diikuti oleh lingkaran band berwarna mewakili 1. negara, 2. Warna (hitam) atau tidak adanya (putih) dari elemen IS1, 3. Warna (merah) atau tidak adanya (putih) dari plasmid IncHI1, dan 4. Warna (abu-abu) atau tidak adanya (putih) gen berunding MDR fenotip, dan 5. bukti integrasi kromosom (hijau) atau tidak adanya (putih) bukti integrasi kromosom. Lingkaran hitam menunjukkan akar, isolat *S. typhi* lain dari gugus tetangga terdekat dari non-H58 (isolat 10060\_5\_62\_ Fij107364\_2012). Garis putus-putus radial hitam menunjukkan posisi strain referensi publik. Panjang cabang adalah indikasi dari tingkat substitusi yang diperkirakan per situs variabel. Skala bar, 0,001 substitusi per situs variabel.

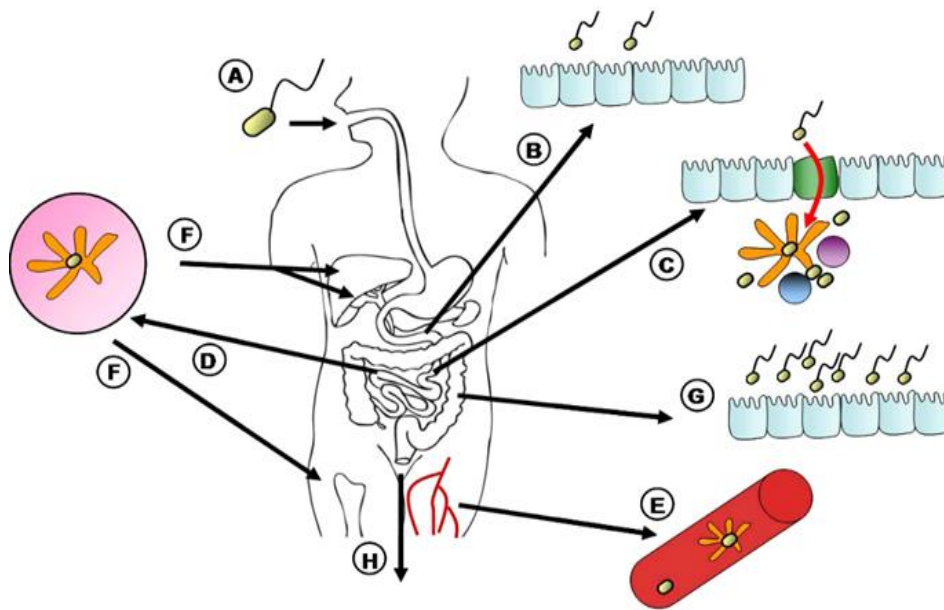
Struktur dinding sel merupakan target ideal untuk agen antibiotik. Dinding sel terdiri dari zat yang disebut peptidoglikan, yang terdiri dari polimer pengulangan dari dua gula: N-asetilglukosamin dan asam N-asetilmuramin. Jika

dinding sel terdiri dari polimer-polimer ini saja, itu akan sangat lemah. Namun, dalam polimer ini terdapat rantai samping peptida memanjang dari gula dan membentuk ikatan silang, satu peptida ke yang lain. Cara kerja cefixime termasuk dalam golongan antibiotik sefalosporin generasi III. Cefixime bekerja dengan cara menghentikan pembentukan dinding sel bakteri yang dibutuhkan bakteri untuk bertahan hidup.

## **2. Patogenesis infeksi *S. typhi***

Bakteri *S.typhi* mempunyai port d'entry melalui mulut dan masuk ke dalam tubuh manusia melalui makanan atau minuman yang terkontaminasi dengan bakteri tersebut. Sebagian bakteri akan mati dalam lambung akibat pengaruh asam lambung, sebagian hidup selanjutnya masuk ke dalam usus dan kemudian akan berkembang biak. Jumlah bakteri *S. typhi* yang dapat menimbulkan gejala klinis DT pada manusia sebanyak  $\geq 10^5$  Colony Forming Units (CFU). Apabila imunitas tubuh host yang bersifat humoral pada mukosa dalam hal ini imunoglobulin A (IgA) tidak mampu mengeliminasi bakteri maka bakteri tersebut akan menembus sel-sel epitel (terutama sel-M) dan selanjutnya ke lamina propria. Di lamina propria kuman berkembang biak dan difagosit oleh sel-sel fagosit terutama makrofag. Bakteri *S.typhi* dapat berkembang biak dalam makrofag dan selanjutnya di bawa ke plaque Payeri ileum distal dan kemudian ke kelenjar getah bening mesenterika. Melalui duktus torasikus kuman yang terdapat pada makrofag ini masuk ke dalam sirkulasi darah (mengakibatkan bakteremia pertama yang asimtomatik) dan menyebar ke seluruh organ retikuloendotelial tubuh terutama hati dan limpa dan empedu. Di

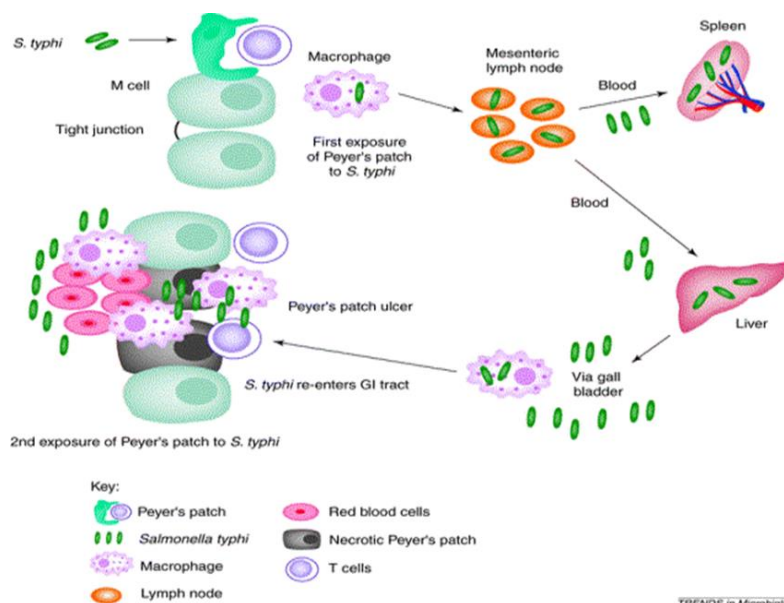
organ tersebut bakteri ini akan meninggalkan sel-sel fagosit dan kemudian berkembang biak di luar sel atau ruang sinusoid dan selanjutnya masuk kembali ke dalam sirkulasi mengakibatkan bakteremia kedua kalinya dengan disertai tanda-tanda dan gejala penyakit infeksi sistemik (Baker, dkk, 2010).



Gambar 2.3. Jalur hidup *S.typhi* dan hubungannya dengan diagnosa DT (Baker, dkk, 2010)

Bila bakteri berada dalam hati dan selanjutnya bakteri akan masuk ke dalam kandung empedu, berkembang biak, dan bersama cairan empedu diekskresikan secara intermiten ke dalam lumen usus. Sebagian kuman dikeluarkan melalui feses dan sebagian lagi masuk kembali ke dalam sirkulasi setelah menembus usus. Proses yang sama terulang kembali, berhubung makrofag telah teraktivasi dan hiperaktif maka saat fagositosis kuman *Salmonella* terjadi pelepasan beberapa mediator inflamasi yang selanjutnya akan menimbulkan gejala reaksi inflamasi sistemik

seperti demam, malaise, mialgia, sakit kepala, sakit perut, instabilitas vaskuler, gangguan mental, dan koagulasi (Baker, dkk, 2010). Di dalam plaque Payeri makrofag hiperaktif menimbulkan reaksi hiperplasia jaringan *S. typhi* intra makrofag menginduksi reaksi tipe lambat, hiperplasia jaringan dan nekrosis organ). Perdarahan saluran cerna dapat terjadi akibat erosi pembuluh darah sekitar plaque Payeri yang sedang mengalami nekrosis dan hiperplasia akibat akumulasi sel-sel mononuklear di dinding usus. Proses ini berkembang hingga ke lapisan otot, serosa usus, dan dapat mengakibatkan perforasi (Baker dkk, 2010). Waktu yang dibutuhkan bakteri *S. typhi* pada periode bakteremia memperbanyak diri antara 10 – 14 hari dari periode inkubasi. Didalam proses *S. typhi* mengeluarkan endotoksin lipopolisakarida dalam proses inflamasi lokal yang menempel pada reseptor sel endotel kapiler bisa menyebabkan demam, leukopenia, gangguan neuropsikiatrik, kardiovaskuler, pernapasan (Baker, dkk, 2010).



Gambar 2.4. Patogenesis demam tifoid (Baker, dkk, 2010)

### 3. Epidemiologi Infeksi *S.typhi*

Insidens (angka kejadian) dari infeksi *S.typhi* yang menyebabkan DT sangat berbeda pada negara maju dengan negara yang sedang berkembang, dimana diperkirakan 24.4 juta penderita setiap tahun dengan kematian antara 208.000 penderita. Di negara sedang berkembang insidens mencapai 500/100.000 kasus kematian tiap tahun (Antillon, dkk, 2017)

Demam Tifoid dapat diklasifikasikan berdasarkan ditemukan bakteri *S.typhi* pada penderita (Abdoel, dkk, 2007) :

1. Confirmed case: pasien dengan demam ( $38^{\circ}\text{C}$  atau lebih) yang berlangsung  $\geq 3$  hari, dan dikonfirmasi oleh tes laboratorium kultur positif *S. typhi*.
2. Probable case: pasien dengan demam ( $38^{\circ}\text{C}$  atau lebih) yang berlangsung  $\geq 3$  hari, dan dikonfirmasi oleh tes laboratorium serodiagnosis positif atau deteksi antigen tanpa isolasi *S. typhi*.
3. Chronic carrier: ekskresi bakteri *S. typhi* di urin atau feses (atau diulang dengan kultur empedu atau usus duodenum) tetap positif selama lebih dari 1 tahun setelah terjangkit DT akut.

Sedangkan angka kejadian DT berdasarkan jenis kelamin maka lebih sering pada pria, hal ini dimungkinkan karena laki-laki lebih sering bekerja dan makan di luar rumah dan tidak terjamin kebersihannya. Berdasarkan teori daya tahan tubuh wanita lebih rentan untuk menderita DT karena pada saat *S. typhi* masuk ke dalam sel-sel hati, maka hormon estrogen pada wanita akan bekerja lebih berat karena menangani dua hal sekaligus (Hatta, dkk, 2009).

#### **4. Mekanisme respon imunologi penderita DT akibat infeksi *S.typhi***

Setelah bakteri *S.typhi* masuk kedalam tubuh maka penderita akan merespon secara imunologis baik dengan jalur seluler dan humoral. Dengan adanya respon imun humoral dimana terjadi peningkatan kadar antibodi imunoglobulin M (IgM) maka hal ini dapat diaplikasikan untuk diagnosis DT dengan tes serologi yang mudah dan cepat.

Salah satu kendala dalam diagnosa DT ialah sulit untuk mendeteksi bakteri *S.typhi* pada darah penderita. Walaupun kultur dapat dilakukan namun mempunyai tingkat sensitivitas dan spesifisitas yang rendah dibandingkan dengan teknik Polymerase Chain Reaction dalam mendeteksi DNA gen flagellin yang spesifik *S.typhi* (Hatta dan Smits, 2007). Hal yang lain untuk menunjang diagnosa DT yang disebabkan infeksi *S.typhi* ialah reaksi imunologi secara invitro. Tes serologi cepat dan mudah telah dikembangkan sebagai alat bantu diagnose DT misal Dipstick, Lateral flow maupun drydot (Hatta, dkk, 2002a; Hatta, dkk, 2002b; Abdoel, dkk, 2007; Pstoor, dkk, 2008).

Pada penelitian sbelumnya tes ideal dipstick dapat digunakan sebagai alat bantu serodiagnosis DT pada daerah di mana fasilitas kultur tidak tersedia. Kombinasi dari hasil uji dipstick dan kultur dapat meningkatkan sensitivitas menjadi 82,5%. Di laboratorium yang melakukan kultur darah, uji dipstick dapat digunakan sebagai tes skrining cepat untuk memfasilitasi pemeriksaan cepat diagnosa. Sensitivitas uji dipstick sangat meningkat sesuai dengan durasi penyakit dan lebih tinggi untuk kultur positif daripada untuk pasien kultur negatif. Lama sakit, patogenisitas, antigenisitas, dan penggunaan antibiotik cenderung

mempengaruhi respon imun dalam hal ini hasil dipstick IgM. Lamanya sakit dan keberadaan *S. typhi* dalam darah merupakan faktor utama yang menentukan keparahan penyakit (Hatta, dkk, 2002b)

Disamping itu kerentanan host (host susceptibility) juga mempengaruhi perjalanan penyakit infeksi *S.typhi*, dimana pada penelitian sebelumnya ditemukan bahwa gen susceptibility Natural Resistance Associated macrophage Protein-1 (NRAMP-1) berhubungan erat dengan kejadian akut rekuren DT (Junita, dkk, 2020). Dari penelitian sebelumnya ditemukan Tidak ada perbedaan ekspresi NRAMP-1 pada akut rekuren DT dibandingkan DT. Namun, ekspresi NRAMP-1 pada akut rekuren DT dan DT menunjukkan secara signifikan lebih rendah diandingkan orang sehat (Junita, dkk, 2020).

## **5. Pengaruh infeksi *S.typhi* pada proses inflamasi**

Fungsi utama peradangan adalah pembersihan patogen dan pembentukan kembali homeostasis jaringan. Selain infeksi patogen, peradangan steril didefinisikan sebagai respon inflamasi yang disebabkan oleh trauma, cedera iskemia-reperfusi, atau cedera yang disebabkan oleh bahan kimia. Respon inflamasi akut pada jaringan yang rusak memulai pelepasan mediator kimia yang meningkatkan permeabilitas pembuluh darah dan leukosit infiltrasi melalui aktivasi endotelium lokal. Leukosit yang diinfiltrasi, termasuk neutrofil dan makrofag, dapat mengenali sel debris nekrotik dan mengeluarkan sitokin proinflamasi dan kemokin untuk lebih meningkatkan infiltrasi sel imun. Sel yang diinfiltrasi menelan jaringan yang rusak dan sel debris, dan mengeluarkan proteinase dan faktor



pertumbuhan untuk memfasilitasi remodeling dan rekonstruksi jaringan. Keberhasilan pembersihan rangsangan inflamasi disertai dengan peningkatan antiinflamasi dan reparatif sitokin untuk menyelesaikan respon inflamasi dan membangun kembali homeostasis jaringan (Chen dan Nuñez, 2010). Namun, jika tidak terselesaikan, peristiwa ini dapat berkembang menjadi peradangan kronis ketika peradangan tetap menstimulasi di jaringan yang rusak. Hasil dari sekresi berkelanjutan dari sitokin yang meningkatkan kerusakan jaringan dan merusak homeostasis.

#### 1. Inflamasi Akut Dan Inflamasi Kronik

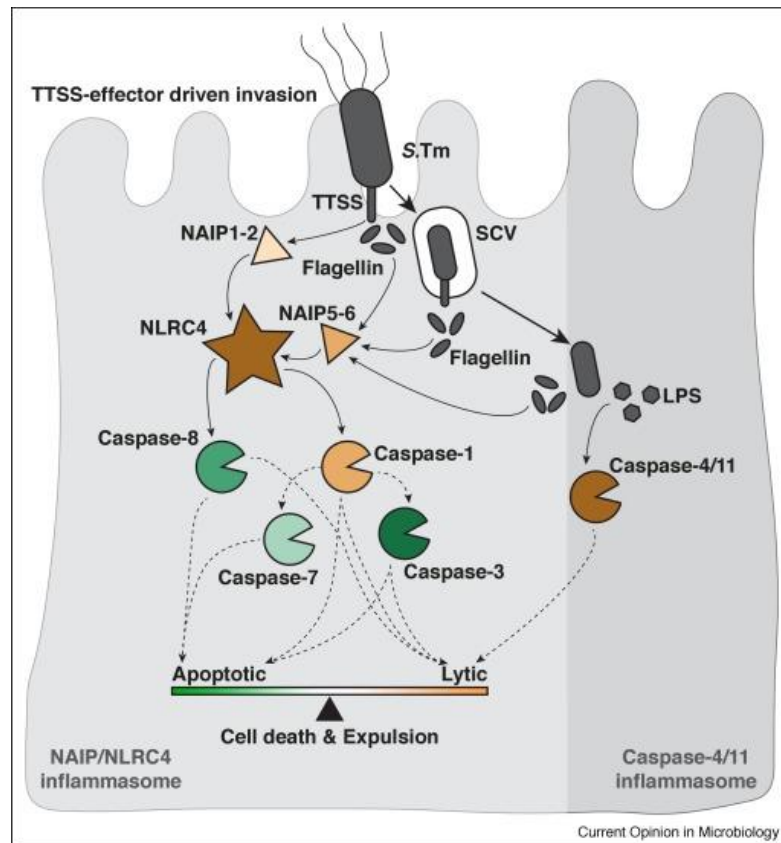
Peradangan akut dimulai dengan pengenalan dari rangsangan inflamasi termasuk mikroorganisme atau puing-puing sel yang rusak melalui pattern reseptor-recognition (PRR). Ada beberapa kelas PRR yang mengenali beragam rangsangan dan memicu respons inflamasi hilir, termasuk Toll like receptor (TLRs), NOD like receptor (NLRs), RIG-I- like receptors (RLRs), C-type lectin receptor (CLR), dan tidak adanya reseptor seperti melanoma 2 (AIM2). PRR dapat mengenali pathogen associated molecular patterns (PAMP) dari mikroorganisme. Pada peradangan steril, PRRs dapat mengenali damage associated molecular patterns (DAMP) dari jaringan yang rusak. Pengenalan PAMP dan DAMP dan aktivasi respon proinflamasi telah didokumentasikan dengan baik oleh Chen dan Nuñez (2010) dan Takeuchi dan Akira (2010). DAMP adalah protein intraseluler seperti protein heat shock, asam nukleat, dan sitokin intraseluler. Pelepasan DAMP dari sel nekrotik dengan integritas membran terganggu merupakan indikator kerusakan jaringan. Pengenalan dari DAMP via PRR dalam makrofag jaringan menyebabkan sekresi

kemoattractan dan rekrutmen lokal neutrofil dan monosit atau makrofag yang bersirkulasi (Lin dkk, 2017).

Inflammasome adalah mesin pengolah sinyal yang menjalankan fungsi sensor dan transduksi sinyal penting dari sistem kekebalan bawaan, yaitu dengan mengamati sitosol sel inang untuk pola molekuler terkait patogen atau bahaya. (PAMPs, DAMPs masing-masing). Mereka secara ekstensif ditinjau di tempat lain dalam masalah ini. Singkatnya, inflamasi dibagi menjadi inflamasi kanonik dan non-kanonik (Bauer, dkk, 2020; Broz, dkk, 2019; Winsor, dkk, 2019).

Pada penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa epitel usus akan mencegah akses bakteri ke jaringan host dan mengkoordinasikan sejumlah pertahanan pada mukosa usus. Fungsi inflammasome pada epitel dari host yang terinfeksi akan berperan dalam pertahanan melawan *Salmonella Typhimurium* (*S.typhimurium*) yang pathogen, dimana menggunakan flagela *S.typhimurium* akan menuju epitel dan type III secretion system (TTSS) untuk menuju dan menyerang sel epitel usus. Komponen flagela dan TTSS dikenali oleh inflammasome NAIP/NLRC4 kanonik, sementara LPS mengaktifkan inflammasome Caspase-4/11 non-kanonik. Kontribusi secara relatif dari inflammasome dimana jalur kematian dari sel yang diaktifkan dan pertahanan mukosa yang ditimbulkan dipengaruhi pada kontrol lingkungan dan akan menunjukkan perubahan di sepanjang lintasan infeksi. Ini akan menjadi fungsi selanjutnya yang penting untuk menjelaskan bagaimana mukosa usus mempertahankan kondisinya terhadap perubahan yang ditimbulkan oleh enteropatogen bakteri yang beragam (Fattinger, dkk, 2021).

Inflammasome kanonik termasuk keluarga NLRP dengan NLRP1, NLRP3, keluarga NLRC dengan anggota tunggal NAIP/NLRC4, dan keluarga non-NLR dengan inflamasi pyrin dan AIM2.



Gambar 2.5. Proses Inflammasome pada Infeksi *S.typhi* (Fattinger, ddk, 2021)

Semua inflammasome kanonik ini memiliki kaskade pensinyalan yang sama: Setelah merasakan PAMP atau DAMP, platform aktivasi Caspase-1 dirakit, yang mengarah pada perekrutan dan pemrosesan pro-Caspase-1 ke dalam bentuk aktifnya. Caspase-1 yang diaktifkan memotong target hilir seperti sitokin pro-inflamasi pro-IL-1 $\beta$  dan pro-IL-18 dan Gasdermin D (GsdmD). GsdmD membentuk pori-pori di membran

sel yang mengarah ke piroptosis - jenis kematian sel tertentu yang menampilkan lisis membran sel dan sekresi sitokin pro-inflamasi ke dalam ruang seluler (Fattinger, dkk, 2021)

Proses inflammasome akibat adanya infeksi *S.typhi* dapat terlihat pada gambar 2.5. Setelah bakteri *S.typhi* menginvasi usus maka pensinyalan inflamasi epitel usus dan potensi crosstalk pada infeksi *S.typhi* yang mengarah pada kerusakan Intestinal epithelial Cells (IECs) dan apoptosis IEC. *S.typhi* yang menginvasi ke IEC dapat dirasakan oleh NLR family of apoptosis inhibitory proteins (NAIPs)/NLRC4 dan inflammasome Caspase-4/11.

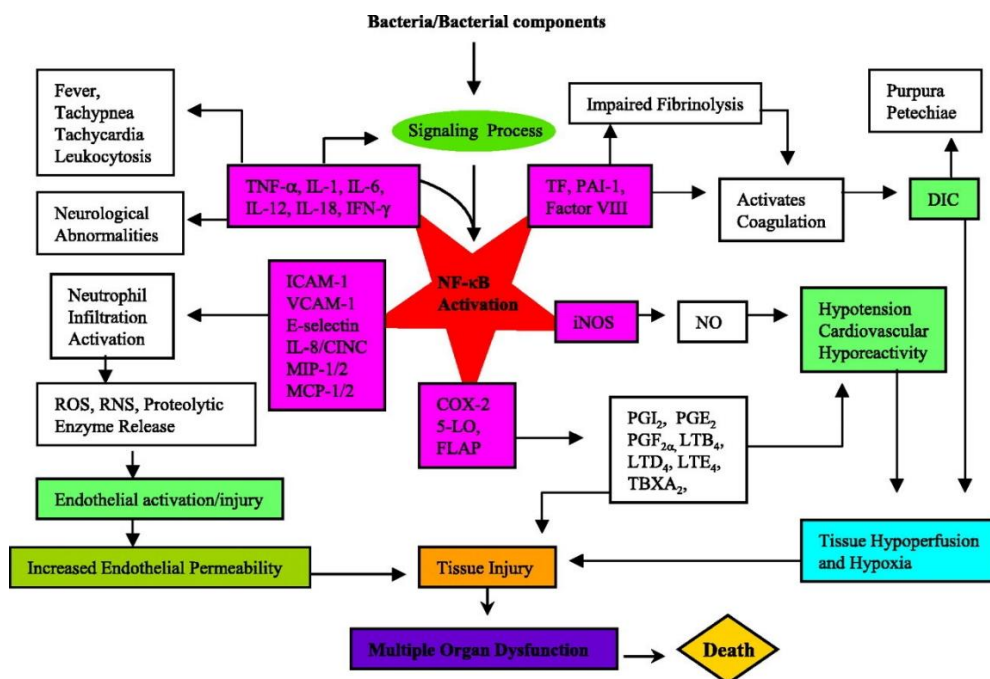
NAIP1-2 mengenali type III secretion system (TTSS) dan flagelin dirasakan oleh NAIP5-6. Caspase-11 diaktifkan oleh LPS sitosol. Sementara Caspase-11 berfungsi sebagai sensor dan pelaksana, reseptor NAIP mengaktifkan inflammasome NAIP/NLRC4, yang mengarah ke pensinyalan Caspase dihilir yang saling berhubungan. Hal ini dapat mengakibatkan kematian sel atau apoptosis. Respon peradangan dapat beralih dari peradangan akut ke kronis ketika stimuli bertahan akibat kerusakan jaringan dan infeksi. Peradangan kronis ditandai oleh infiltrasi makrofag dan limfosit, serta upaya perbaikan yang sedang berlangsung. Produksi sitokin inflamasi yang berlebihan dari makrofag selama peradangan kronis dapat menyebabkan kerusakan jaringan dan fibrosis. Sebagai contoh pada infeksi yang kronik maka akan ditemukan proses peradangan yang berupa granuloma dan nekrosis pada daerah infeksi. yang menginduksi peradangan kronis dan terjadinya lisis dari daerah peradang yang terbatas (Lin dkk, 2014). Sehingga pada keadaan infeksi dapat terjadi peradangan atau proses inflamasi yang bersifat akut dan juga

kronis yang ditandai dengan meningkatnya sitokin pro-inflamasi sebagai respon imun

## 2. Fungsi Proinflamasi dan Antiinflamasi Dari Makrofag

Makrofag merupakan regulator penting dari inisiasi, progresi, dan resolusi dari peradangan. Makrofag terpolarisasi dapat memperoleh bentuk fenotipe berbeda dengan proinflamasi (M1) atau antiinflamasi (M2) (Mantovani dkk, 2013). Aktivasi klasik dari makrofag dengan interferon- $\gamma$  dan atau lipopolisakarida mengarah ke polarisasi makrofag M1. Makrofag M1 mensekresi sitokin proinflamasi (tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), dll.), dan kemokin (monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1), protein inflamasi makrofag-1 $\alpha$  (MIP-1 $\alpha$ ), dll.) Dalam jalur NF- $\kappa$ B dependen, yang dapat menyebabkan kerusakan jaringan dengan tambahan infiltrasi leukosit. Sebagai alternatif, makrofag yang terpapar IL-4 atau IL-13 dipolarisasi ke dalam makrofag M2, ditandai dengan peningkatan arginase-1 dan sitokin antiinflamasi seperti IL-10 dan IL-1 receptor antagonist (IL-1Ra). Interaksi antara jalur NF- $\kappa$ B dan makrofag polarisasi M2 masih belum jelas. M2 atau M2-like macrophage mampu memodulasi dan mengakhiri respons inflamasi dan sangat penting untuk perbaikan dan remodeling jaringan (Liu dkk, 2017). Dengan demikian, peran biologis peradangan adalah untuk menghilangkan patogen dan benda asing serta memulai perbaikan dan mengeleminasi mikroorganisme. Garis silang makrofag dan sel-sel lain dalam lingkungan mikro jaringan melalui modulasi dari status inflamasi dan remodeling jaringan dapat menentukan status dari kondisi yang berkaitan dengan inflamasi seperti perbaikan dan mengeleminasi mikroorganisme (Lin dkk, 2017)

Bila bakteri masuk kedalam tubuh maka akan terjadi respon tubuh akibat bakteri itu sendiri maupun komponen bakteri dan akan memberikan signal untuk proses inflamasi. Selanjutnya akan terjadi aktivasi NF- $\kappa$ B yang memainkan peran sentral dalam patofisiologi syok septik. Bakteri dan komponen bakteri mengaktifkan NF- $\kappa$ B melalui beberapa jalur sinyal, yang pertama jalur yang mengarah ke ekspresi sitokin inflamasi seperti TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-1, IL-6, IL-12, dan IL-18, yang menyebabkan demam dan gangguan neurologis. kelainan dan yang lebih penting mengaktifkan NF- $\kappa$ B dan molekul pensinyalan akibat komponen bakteri di hulunya dan selanjutnya akan memperkuat dan menjamin agar respon inflamasi yang dimediasi oleh NF- $\kappa$ B berjalan terus menerus (Gambar 2.6).



Gambar 2.6. Peran sentral NF- $\kappa$ B pada infeksi bakteri (Lui, dkk, 2006)

Jalur kedua akibat adanya infeksi bakteri, virus dan jamur ialah meningkatnya ekspresi Tissue Factor (TF), Factor VIII, dan inhibitor aktivator plasminogen tipe-1 (PAI-1), yang mengarah pada aktivasi koagulasi ekstrinsik dan intrinsic kaskade dan gangguan fibrinolisis, mengakibatkan koagulasi intravaskular diseminata (DIC). Jalur ketiga ialah ekspresi inducible nitric oxide synthase (iNOS) dan siklooksigenase-2 (COX-2), dan produksi berlebihan oksida nitrat (NO) dan prostaglandin vasodilator, mengakibatkan hipotensi sistemik, tekanan jantung, kon-traktilitas, dan hiporeaktivitas vascular.

Selanjutnya jalur keempat yang dapat terjadi akibat adanya infeksi bakteri, virus, dan jamur atau komponennya ialah akan terjadi peningkatan ekspresi molekul adhesi (ICAM-1, VCAM-1, E-selection, P-selectin) dan kemokin [(IL-8, makrofag protein inflamasi (MIP)-1/2, protein kemoatraktan monosit (MCP)-1/2, kemoatraktan neutrofil yang diinduksi sitokin (CINC)] dan akan mengakibatkan infiltrasi dan aktivasi dari sel neutrophil dan terjadinya pelepasan spesies oksigen reaktif (ROS), spesies nitrogen reaktif (RNS), dan enzim proteolitik, yang menyebabkan cedera pada mikrovaskular endotel, peningkatan permeabilitas endotel dan cedera organ multipel yang dihasilkan.

Jalur kelima ialah melalui ekspresi COX-2, 5-lipoxygenase (5-LO), 5-LO-activating protein (FLAP), menyebabkan produksi proinjurious prostaglandin (PGs), leukotriene (LTs), dan tromboksan A2 (TBXA2) yang menyebabkan cedera jaringan. Rangkaian peristiwa itu saling terkait. Aktivasi koagulasi akan meningkatkan produksi mediator inflamasi dan memperkuat proses peradangan.

Hipotensi sistemik dan koagulasi menyebabkan hipoperfusi dan hipoksia jaringan, yang merupakan prasyarat untuk terjadinya cedera organ (Liu, dkk, 2006).

NF- $\kappa$ B adalah target akhir dari penginduksi syok septik pada keadaan multiplikasi mikroorganisme berkelanjutan, dimana bakteri dan komponen bakteri memicu respons inflamasi dengan mengikat dan mengaktifkan reseptornya, seperti Toll reseptor (TLR). TLR adalah homolog mamalia dari Protein Drosophila, Toll, yang termasuk dalam reseptor Toll/IL-1 (TIR) superfamili protein yang mengandung domain. Pada setidaknya ada 13 anggota TLR, dan 10 di antaranya (TLR1–TLR10) telah diidentifikasi pada manusia.

Mekanisme yang mengatur aktivitas NF-B. NF-B diketahui diaktifkan oleh 460 aktivator, termasuk stres fisik, stres kimia, oksidan stres, stres lingkungan, stres fisiologis, mitogen, protein yang dimodifikasi, ligan reseptor, fisiologis dan patologis mediator logis, mediator apoptosis dari sel, bakteri baik yang patogen dan produknya bakteri, jamur dan produknya, virus dan produknya, parasit dan produknya, sitokin proinflamasi, dan berbagai kondisi patologis. Transduksi sinyal jalur yang mengarah ke aktivasi NF-B banyak dan kompleks. (Liu, dkk, 2006).

Selanjutnya dilaporkan bahwa banyak infeksi mikroorganisme yang dapat mengaktifkan NF- $\kappa$ B diantara infeksi *S.typhimurium* (Tabel 2.1)

Dari penelitian sebelumnya menunjukkan beberapa mikroorganisme yang dapat mengaktifkan NF- $\kappa$ B ialah *Anaplasma phagocytophilum*, *Bacteroides forsythus*, *Bartonella henselae*, *Bordetella pertussis*, *Chlamydia pneumoniae*, *Chlamydia psittaci*, *Chlamydia trachomatis*, *Enteropathogenic Escherichia coli*, *Ehrlichia chaffeensis*, *Enteroinvasive Escherichia coli*, *Fusobacterium nucleatum*,



*Gardnerella vaginalis, Helicobacter pylori, Hemophilus influenzae, Lactobacilli Lactobacillus, Listeria monocytogenes, Mycobacteria, Mycobacterium tuberculosis, Mycoplasma fermentans, Neisseria gonorrhoeae, Neisseria meningitides, Porphyromonas gingivalis, Porphyromonas gingivalis, Prevotella intermedia, Prevotella intermedia, Pseudomonas aeruginosa, Rhodococcus equi. Rickettsia rickettsia, Salmonella Dublin, Salmonella typhimurium, Shigella flexneri, Staphylococcus aureus, Streptococci group A, Streptococci group B, Streptomyces californicus, Ureaplasma urealyticum, Yersinia enterocolitica* (Liu, dkk, 2006)

<i>Anaplasma phagocytophilum</i>	<i>Hemophilus influenzae</i>	<i>Rhodococcus equi</i>
<i>Bacteroides forsythus</i>	<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Rickettsia rickettsii</i>
<i>Bartonella henselae</i>	<i>Lactobacilli Lactobacillus</i>	<i>Salmonella Dublin</i>
<i>Bordetella pertussis</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<b><i>Salmonella typhimurium</i></b>
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	<i>Mycobacteria Mycobacterium</i>	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Chlamydia psittaci</i>	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Mycoplasma fermentans</i>	<i>Streptococci group A</i>
<i>Enteropathogenic Escherichia coli</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Streptococci group B</i>
<i>Ehrlichia chaffeensis</i>	<i>Neisseria meningitides</i>	<i>Streptomyces californicus</i>
<i>Enteroinvasive Escherichia coli,</i>	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	<i>Ureaplasma urealyticum</i>
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>
<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Prevotella intermedia</i>	
<i>Helicobacter pylori</i>	<i>Prevotella intermedia</i>	
<i>Hemophilus influenzae</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	

Tabel 2.1. Jenis mikroorganisme yang dapat mengaktifkan NF- $\kappa$ B dan menyebabkan terjadinya proses inflamasi dan kerusakan jaringan (Liu, dk, 2006).

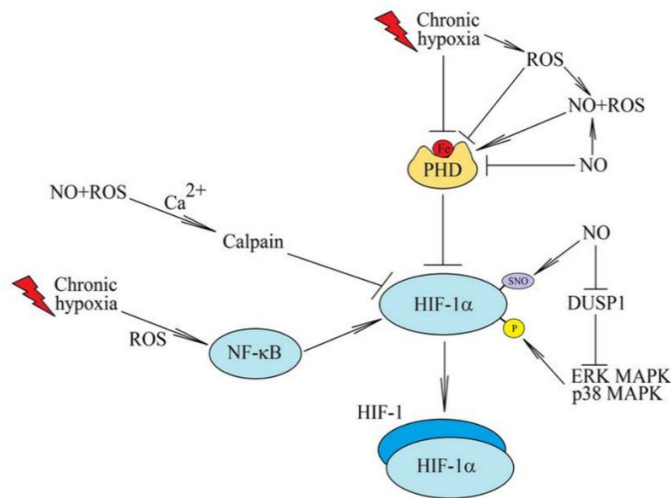
## **6. Pengaruh infeksi *S.typhi* dengan sinyal Toll like Receptor (TLR) dan Nuclear Factor kappa beta (NF- $\kappa$ B) dan pengaruhnya pada aktivasi Hypoxia Inducible Factor-1 $\alpha$ (HIF-1 $\alpha$ )**

Bila ada infeksi yang disebabkan oleh mikroorganisme maka akan terjadi proses hipoksia dari sel, dimana hipoksia ini dapat terjadi secara kronik. Selanjutnya akan terjadi efek Reactive Oxygen Species (ROS) dan Nitric oxide (NO) pada aktivasi HIF-1, dimana pada hipoksia kronis. ada terkait dengan peningkatan tingkat ROS yang menonaktifkan HIF asparaginyl hydroxylase (FIH) dan prolyl hydroxylase (PHD). Sehingga akan meningkatkan aktivasi terhadap HIF-1.

ROS juga terlibat dalam aktivasi NF-B, faktor transkripsi penting dalam aktivasi penuh HIF-1. Aktivasi HIF-1 juga dapat diinduksi oleh NO, terutama pada tempat reaksi inflamasi. NO menyebabkan S-nitrosilasi HIF-1, yang meningkatkan stabilitas dari protein ini. Modifikasi pasca-translasi lain dari HIF-1 yang diinduksi oleh NO adalah fosforilasi terkait dengan inaktivasi DUSP1. NO juga dapat mengikat atom besi di PHD dan dengan demikian menonaktifkan enzim ini.

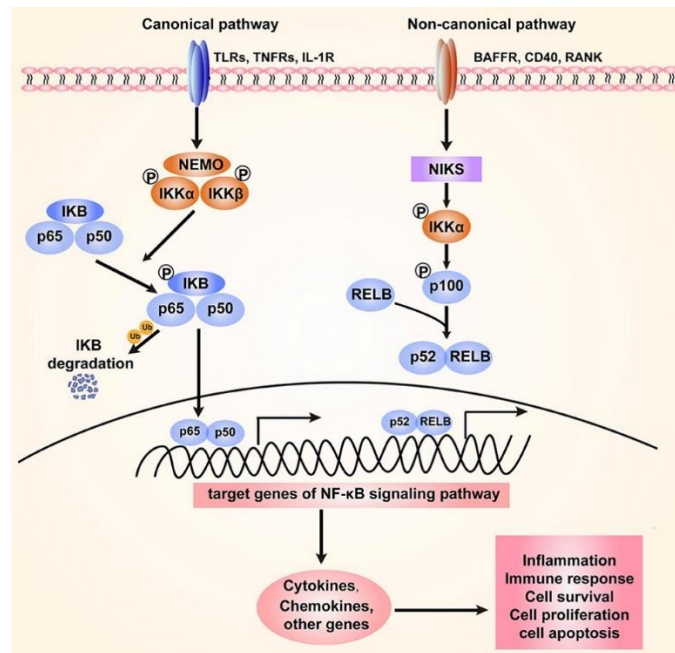
Namun, dalam kombinasi dengan ROS, NO dapat mengembalikan aktivitas PHD dalam hipoksia kronis. Ini juga dapat meningkatkan kadar ion kalsium dalam sitoplasma (Gambar 2.7)

Dengan adanya oksidasi stress maka akan menginduksi Reactive Oxygen Species (ROS) dan berpengaruh terhadap aktivasi NF- $\kappa$ B dan HIF-1 $\alpha$  pada keadaan hipoksia akibat infeksi mikroorganisme



Gambar 2.7. Pengaruh Reactive Oxygen Species (ROS) terhadap NF- $\kappa$ B dan HIF-1 $\alpha$  pada keadaan hipoksia akibat infeksi mikroorganisme (Korecki, dkk, 2021).

Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa pada keadaan kronik hipoksia yang dapat disebabkan oleh infeksi mikroorganisme maka ROS akan menginduksi dan NK- $\kappa$ B sehingga mengakibatkan aktivasi dari HIF-1 $\alpha$ . Induksi NK- $\kappa$ B oleh ROS dapat melalui berbagai jalur mulai dari High Mobility Group Box-1 (HMGB-1), Damage Associated Molecular Patterns (DAMPs) maupun Pathogen Associated Molecular Patterns (PAMPs).



Gambar 2.8. Jalur pensinyalan NF- $\kappa$ B canonical dan non-canonical pada proses inflamasi (Peng, dkk, 2020).

Penelitian sebelumnya menunjukkan dengan infeksi mikroorganisme maka dapat terjadi pengikatan pada TLR yang akan mengaktifkan NF- $\kappa$ B melalui Canonical dan non canonical pathway (Peng, dkk, 2020)

Bila ada infeksi mikroorganisme maka akan terjadi pengikatan dengan receptor pada Tool like Receptor (TLR). Jalur canonical diinduksi oleh TLR, TNFR, dan IL-1R. Aktivasi kaskade ini menyebabkan fosforilasi dan degradasi dari inhibitory protein (I $\kappa$ B). NF- $\kappa$ B dapat diaktifkan oleh karena adanya pelepasan dari kompleks yang mengandung I $\kappa$ B dimana selanjutnya terjadi translokasi ke dalam nukleus.

Jalur non-kanonik bergantung pada aktivasi kompleks NF- $\kappa$ B2 (p100)/RelB oleh BAFFR, CD40, dan Receptor activator of NF- $\kappa$ B (RANK). Kaskade ini menginduksi fosforilasi NIK, yang selanjutnya memfosforilasi IKK. Kemudian heterodimer p52-RelB diaktifkan dan translokasi ke nukleus. Aktivasi pengaturan

pensinyalan NF- $\kappa$ B berbagai proses seluler melalui penargetan ekspresi sitokin, kemokin, dan gen lainnya (Gambar 2.8).

Telah banyak dilakukan penelitian yang memperlihatkan hubungan antara receptor TLR dengan mikroorganisme termasuk infeksi *S.typhi*, dimana infeksi *S.typhi* dapat meningkatkan ekspresi TLR pada hewan coba (Kasim, dkk, 2020; Yanto, dkk, 2020).

Beberapa penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa Ekstrak daun miana sebagai phytochemical yang mengandung komponen flavonoid dapat menekan proses inflamasi pada infeksi *S.typhi*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Candida albicans* (Rosamarlina dkk, 2021; Rosamarlina dkk, 2022; Karo, dkk, 2018; Yanto, dkk, 2020 ; Wahyuni, dkk, 2021)

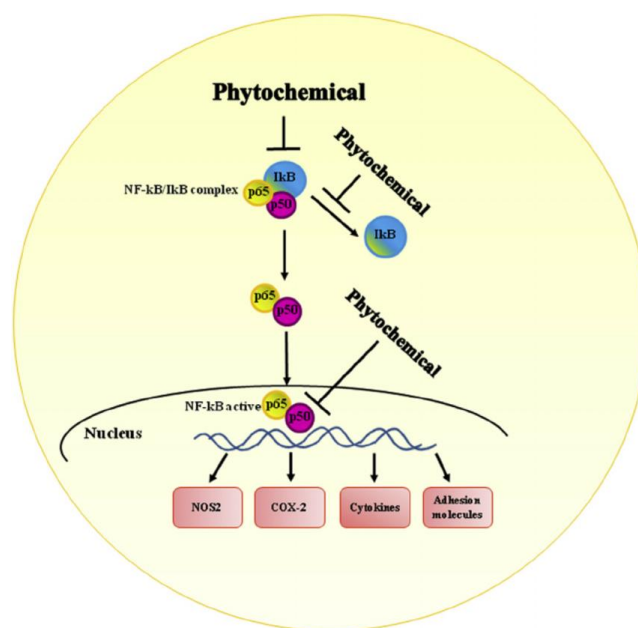
Pada gambar 2.9. menunjukkan mekanisme penekanan dari aktivitas NF- $\kappa$ B yang bisa terjadi dengan pemberian fitokimia.

Beberapa mediator dapat mempengaruhi respon inflamasi pada hewan dan manusia setelah rangsangan eksogen dan endogen yang dapat berupa infeksi mikroorganisme. Faktor transkripsi nuclear factor kappa beta (NF- $\kappa$ B) memainkan peran utama untuk memediasi proses peradangan pada manusia; dan aktivasinya dimodulasi dari produk fitokimia.

Faktor NF- $\kappa$ B adalah kompleks dimer yang diturunkan dari keluarga polipeptida Rel/NF- $\kappa$ B. Kompleks heterodimer p50/RelA (p50/p65) diekspresikan secara berlebihan dalam sel yang berbeda. NF- $\kappa$ B mengikat secara selektif protein inhibitor dari keluarga I $\kappa$ B, mis. I $\kappa$ B $\alpha$ , I $\kappa$ B $\beta$  dan I $\kappa$ B $\epsilon$ , sehingga menurunkan regulasi ekspresinya. Setelah mengikat, sel diaktifkan dan I $\kappa$ B dapat terfosforilasi dan/atau

terdegradasi. NF- $\kappa$ B juga dapat dipisahkan dari IKK kinase dan memediasi translokasi nuklir NF- $\kappa$ B. Kelompok IKK kinase, mis. IKK $\alpha$  dan IKK $\beta$ , memainkan peran utama untuk translokasi nuklir NF- $\kappa$ B dan selanjutnya mengaktifkan ekspresi gen pada nucleus sel.

Aktivasi NF- $\kappa$ B memainkan peran penting untuk memodulasi respon imun dan inflamasi melalui regulasi gen, yang mengkode sitokin proinflamasi (TNF- $\alpha$ ), seri interleukin (IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-18), molekul adhesi (molekul adhesi sel vaskular-1 atau VCAM-1), molekul adhesi interseluler-1 (ICAM-1), kemokin, enzim yang dapat diinduksi (siklooksigenase atau COX-2) dan diinduksi sintase oksida nitrat (iNOS atau NOS2) (Marzio, dkk, 2016).



Gambar 2.9. Efek fitokimia dalam menekan aktivitas NF- $\kappa$ B.

Dari beberapa penemuan di atas maka dapat disimpulkan zat fitokimia yang berasal dari berbagai tanaman/obat tradisional mempunyai potensi untuk digunakan

sebagai suplemen atau supporting dalam pengobatan penyakit infeksi yang disebabkan oleh berbagai macam mikroorganisme melalui jalur pensinyalan NF- $\kappa$ B.

Disamping itu zat fitokimia yang terkandung dalam obat tradisional juga mempunyai efek sebagai antiinflamasi dan antioksidan karena dapat menekan produksi sitokin proinflamasi dan iNOS

## **B. MIANA (*Coleus scutellarioides* (L.) Benth.) DAN QUERCETIN**

### **A. Miana (*Coleus scutellarioides* (L.) Benth.)**

Miana adalah tanaman yang tumbuh pada daerah tropis dan merupakan tanaman semak dengan tinggi dapat mencapai 1,5 m. Daunnya berkhasiat sebagai obat wasir, obat bisul, obat demam nifas, obat radang telinga dan obat haid tidak teratur.

Taksonomi Miana ialah:

Kingdom : Plantae

Divisio : Spermatophyta

Sub Divisi : Angiospermae

Kelas : Dicotyledonae

Ordo : Solanales

Famili : Lamiaceae

Genus : *Coleus*

Spesies : *Coleus scutellarioides* (L.) Benth. (L.) Benth. (Tabalubun, 2013).

Tanaman ini memiliki nama lain, yaitu Sigresing (Batak), Adong-adong (Palembang), Jawek Kotok (Sunda), Iler (Jawa Tengah), Ati-ati (Bugis) ,

Bulunangko (Toraja) dan Serewung (Minahasa). Miana (*Coleus scutellarioides* (L) Benth). merupakan tumbuhan asli India dan Thailand.

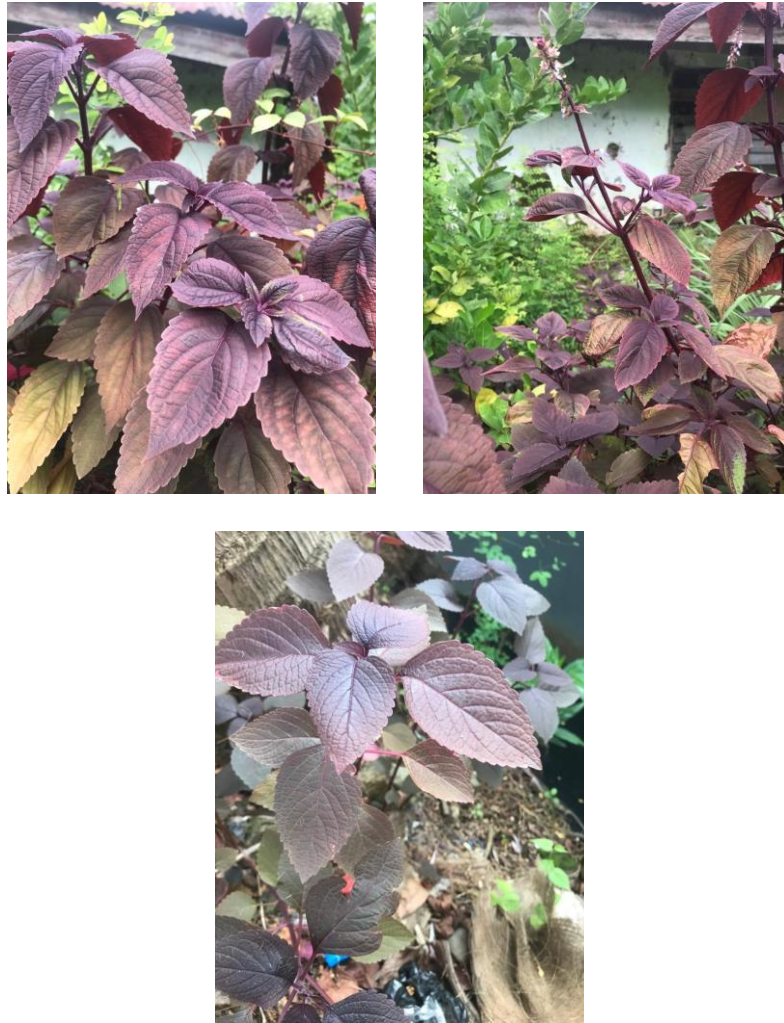
Tanamam Miana juga mempunyai nama latin yang berbeda beda yaitu dengan nama *Coleus blunei*, *Coleus atropurpureus*. Bent, *C. ingrates*. Benth, *Coleus laciniatus*. Benth, *Coleus hybridus Hort* *Plectranthus scutellarioides*, (Linn), *Solenostemon scutellarioides Codd* (Hariana, 2013).

Morfologi akar miana berupa akar tunggang, yang ditandai dengan adanya 1 batang akar yang membesar. Tanaman miana termasuk tanaman terna, di mana batangnya lunak dan mudah dipatahkan. Struktur batangnya tegak atau berbaring pada pangkalnya. Tumbuh tinggi hingga mencapai 1,5 m.

Daun miana termasuk daun tunggal, berbentuk hati, pangkal membulat atau melekok menyerupai bentuk jantung. Tiap tepi daunnya memiliki lekuk-lekuk tipis yang bersambungan dan panjang tangkainya berukuran 3-4 cm dengan warna yang beraneka ragam. Tipe ujung daunnya meruncing dan tulang daunnya menyirip. Bunga miana berbentuk seperti untaian bunga bersusun, dan berwarna merah dan ungu. Aromanya khas dan rasanya agak pahit.

Tingginya tingkat resistensi terhadap antibiotik akan menyebabkan *S. typhi* yang menjadi agen penyebab tifoid tidak lagi memiliki efek maksimal untuk lini pertama terapi tifoid pada beberapa penderita.





Gambar 2.10. Miana (*Coleus scutellarioides* (L.) Benth.)

Berdasarkan kepustakaan dan publikasi yang telah dilakukan sebelumnya dapat disimpulkan bahwa hingga saat ini tingkat resistensi cenderung meningkat dan kemungkinan telah banyak penderita yang terinfeksi mikroorganisme tidak berhasil dengan antibiotik (Tushar, dkk, 2021). Melihat kondisi tersebut, maka mulai diarahkan untuk mencari terapi tambahan yang memiliki efek yang hampir sama dengan terapi antibiotik, salah satunya dengan pemberian obat herbal yang mempunyai fitokimia bermanfaat untuk menekan proses inflamasi yang terjadi.

Terdapat 32 tanaman yang telah diujikan dan memiliki efektivitas antimikroba yang sama dengan pemberian antibiotik, namun di Indonesia masih belum diteliti secara mendalam mekanisme kerja tanaman herbal tersebut baik secara molekuler dan imunologi (Syarif, dkk, 2020; Syamsuri, dkk, 2018).

Salah satu tanaman yang banyak ditemukan di Indonesia adalah Daun miana (*Coleus scutellarioides (L.) Benth.*), dimana berdasarkan studi yang menilai etnofarmakologi miana di Halmahera Barat menilai bahwa didaerah ini pemanfaatan daun miana sangat bervariasi mulai budidaya hingga diramu untuk dijadikan obat pada beberapa penyakit diantaranya seperti nyeri pinggang, batuk, bisul, dan ambeyen, namun konsumsi langsung pada penderita tifoid belum ada yang melaporkan. Efektivitas miana dalam mengobati penyakit tersebut diduga disebabkan oleh karena kandungan zat fitokimia dalam Miana, antara lain flavonoid, tannin, saponin, fitol, asam rosmarik, stroptozocin, steroid, eugenol, minyak atsiri, dan quercetin.

Kandungan fitokimia dalam daun miana seperti flavonoid sebagai anti-inflamasi yang kemudian juga dinilai mampu memberikan efek terhadap ekspresi gen HMGB-1 sebagai sitokin pro inflamasi khususnya pada infeksi *S.typhi*. Diantara zat fitokimia tersebut, yang memiliki aktivitas antibakteri adalah flavonoid, steroid, tannin, saponin, alkaloid. Selain sebagai antibakterial, kandungan flavonoid dalam tanaman miana dinilai memiliki efektivitas sebagai antiinflamasi (Anita, dkk, 2018; Rahmawati, 2008; Wakhidah, dkk, 2018).

Daun Miana dari tumbuhan ungu telah dikenal mempunyai sifat antioksidan. Sifat antioksidan ini disebabkan oleh keberadaan senyawa metabolit sekunder

golongan fenolat. Flavonoid merupakan senyawa golongan fenolat terbesar yang ditemukan di alam. Warna ungu dari daun ungu memperlihatkan bahwa sifat antioksidan berasal dari senyawa golongan flavonoid (Salim, dkk, 2021)

Struktur kimia derivat flavonoid yang terkandung pada Miana (Gambar 2.11) dimana Flavonoid dapat dibagi dalam beberapa kelas antara lain anthocyanins, aurones, biflavones, chalcones, dihydrochalcones, dihydroflavonols, flavan dan proanthocyanidins, flavanones, flavones, flavonols, isoflavonoids.

Struktur dasar Anthocyanins adalah garam flavilium (Gambar 2.11; no.1)

Flavon memiliki substitusi pada cincin A dan B tetapi kekurangan oksigenasi pada posisi 3 cincin C (Gambar 2.11; no. 2). Meskipun flavon umumnya terdapat dalam vakuola sel sebagai O- dan/atau C glikosida (C-glikosil flavon), beberapa senyawa terutama flavon sederhana dan polimetoksilasi, terdapat dalam kayu jantung dan sebagai eksudat farinosa, lilin tunas, dan sebagainya. Flavonol adalah flavon yang terikat pada gugus hidroksil pada posisi 3 (Gambar 2.11; no.3).

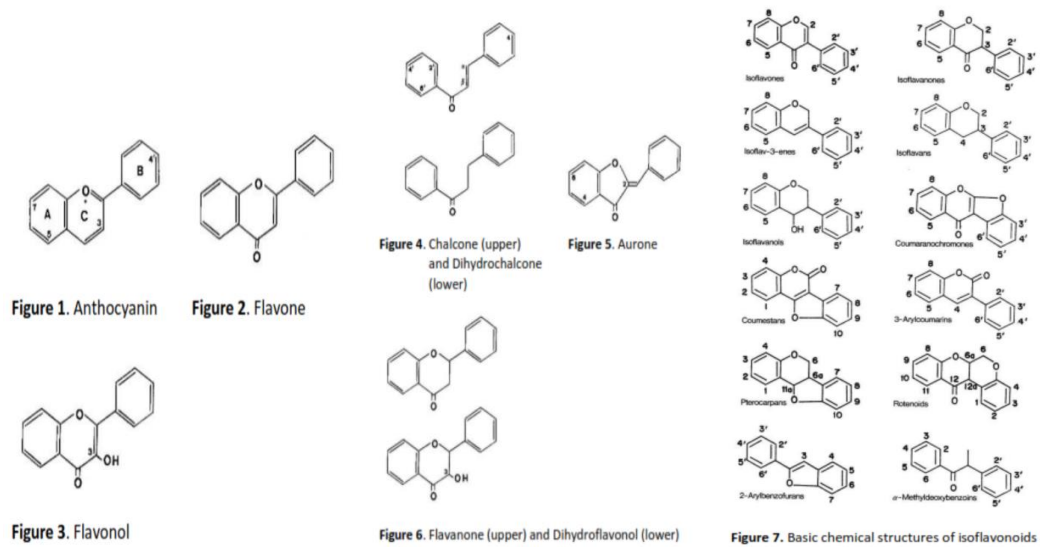
Chalcone adalah ikatan rangkap antara posisi dan , tetapi tidak pada dihidrokalkon. Sehingga warna banyak chalcones menjadi kuning (Gambar 2.11. no. 4).

Glikosida auron bertindak sebagai pigmen kuning yang larut dalam air pada bunga Mina (Gambar 2.11; no. 5)

Dihydroflavonol, yaitu 3-hidroksi-flavanon merupakan zat antara yang diperlukan pada jalur menuju flavonol melalui satu jalur dan ke antosianin melalui flavan 3,4-diol melalui jalur lainnya (Gambar 2.11; no. 6).

Isoflavonoid berbeda dari kelas flavonoid lainnya karena memiliki fitur struktural dasar yang mengikat C-3 tetapi tidak C-2, dan dibagi menjadi beberapa kelas, mis.

isoflavon, coumestans, coumaronochromones, pterocarpan, rotenoids, dan seterusnya (Gambar 2.11; no. 7)



Gambar 2.11. Struktur kimia derivate Flavonoid (Tsukasa Iwashina, 2020)

Penelitian yang telah dilakukan oleh menilai potensi ekstrak daun miana sebagai immunomodulator pada kasus infeksi *Klebsiella pneumonia* dan didapatkan hasil bahwa ekstrak daun miana (*Coleus scutellarioides (L.) Benth.*) dapat meningkatkan ekspresi Natural Resistance Associated Marophage Protein-1 (NRAMP-1) (Wahyuni, dkk, 2021)

Menurut Vezza, dkk, 2016 bahwa derivate flavonoid mempunyai efek sangat bervariasi (table 2.2). Aktivitas biologis dari flavonoid, termasuk sifat antioksidan, menghambat aktivitas enzimatik dan dapat menekan proses inflamasi, baik in vivo dan in vitro, sehingga mengurangi keparahan penyakit inflamasi yang terjadi pada saluran pencernaan.

Chemical Class	Plant Source	Mechanism
<b>Anthocyanins</b>		
Cyanidin-3-glucoside	<i>Hibiscus sabdariffa</i> <i>Hibiscus sabdariffa</i>	Inhibition PGE <sub>2</sub> release by regulating COX-2 activity. Reduction pro-inflammatory mediator production. Inhibition STAT pathway.
<b>Chalcones</b>		
Cardamomin	<i>Alpinia katsumadai</i> <i>Alpinia conchigera</i>	Inhibition leukocyte migration. Inhibition reactive nitrogen species generation. Reduction pro-inflammatory mediators. Inhibition NF-κB activity.
<b>Flavanones</b>		
Naringenin	Grapefruit ( <i>Citrus paradise</i> )	Inhibition COX-2 activity. Inhibition leukocyte migration. Inhibition reactive nitrogen species generation. Reduction pro-inflammatory mediator production. Inhibition NF-κB activity. Improvement epithelial barrier function. Antimicrobial effects and gut microbiota modulation.
<b>Flavones</b>		
Chrysin	<i>Picea crassifolia</i>	Inhibition leukocyte migration. Inhibition reactive nitrogen species generation. Reduction pro-inflammatory mediators. Inhibition NF-κB activity.
Baicalin	<i>Scutellaria buicalensis</i>	Modulation T cell activity. Inhibition NF-κB activity.
<b>Flavonols</b>		
Quercetin	<i>Dyosma veitchii</i>	Inhibition reactive nitrogen species generation. Reduction pro-inflammatory mediator production. Inhibition NF-κB activity.
Rutin	<i>Ruta graveolens</i>	Inhibition COX-2 activity. Inhibition leukocyte migration. Reduction pro-inflammatory mediators. Inhibition NF-κB activity. Improvement epithelial barrier function.
Quercitrin	Tartary buckwheat ( <i>Fagopyrum tataricum</i> ) Oaks species ( <i>Quercus</i> sp.)	Inhibition leukocyte migration. Inhibition reactive nitrogen species generation. Reduction pro-inflammatory mediator production. Inhibition NF-κB activity. Improvement epithelial barrier function.

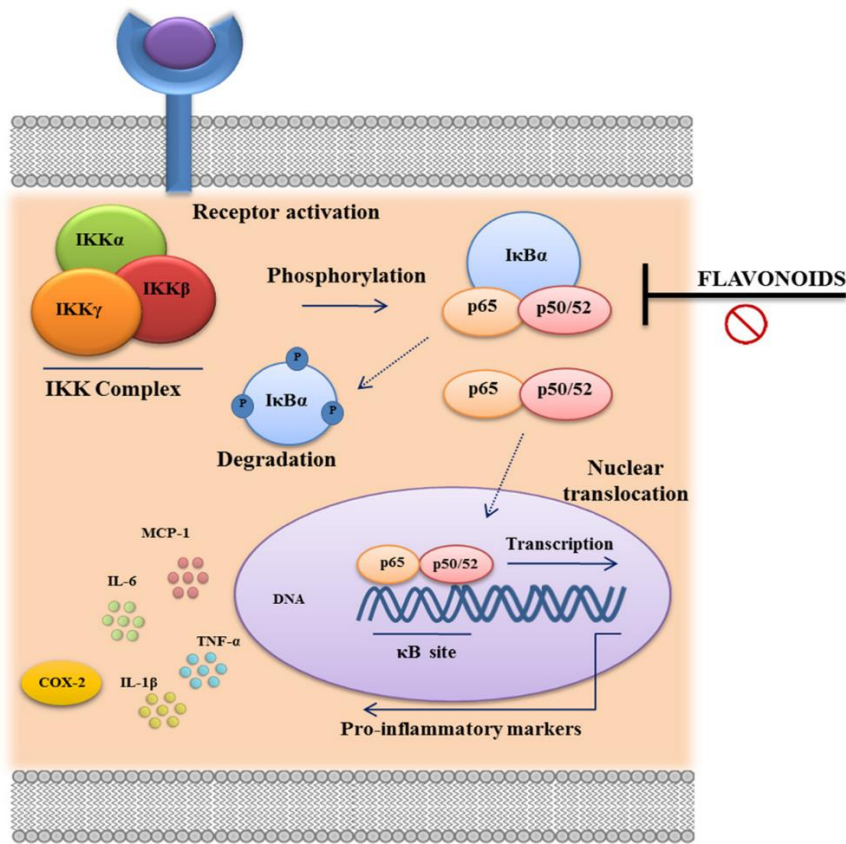
Table 2.2. Efek derivate Flavonoid sebagai antiinflamasi pada intestinal.

Efek antibakterial daun miana dapat melalui jalur Toll-like reseptors (TLRs) yang merupakan salah satu protein yang berperan penting dalam pengaktifan respon imunitas tubuh khususnya untuk infeksi yang disebabkan oleh kuman *S. typhi*.

Penelitian sebelumnya dengan menggunakan metode kualitatif Spektrofotometer UV-V menunjukkan total komponen flavonoid dari ekstrak etanol 96% daun Miana (*Coleus atropurpureus*) adalah 8,59 mg RE/gram ekstrak (kadar flavonoid total dari ekstrak dan fraksi daun Miana) yang mana dapat digunakan sebagai imunostimulator dalam mencegah dan menyembuhkan berbagai penyakit (Reny, dkk, 2021; Anita, dkk, 2018).

Kandungan flavonoid dalam Miana dapat menghambat aktivitas NF- $\kappa$ B melalui penekanan jalur transduksi sinyal NF- $\kappa$ B (Gambar 2.12). Setelah reseptor NF- $\kappa$ B terinduksi oleh komponen mikroorganisme maka kompleks protein NF- $\kappa$ B (p65-p50) akan saling berikatan dan dihambat oleh protein IK- $\kappa$ B. Sitokin pro-inflamasi misalnya LPS dari *S.typhi* akan bertindak sebagai reseptor antigen untuk mengaktifkan kompleks IKK (IKK, IKK, dan IKK), yang memfosforilasi protein IK- $\kappa$ B. Fosforilasi IB dan menyebabkan degradasi proteasomal, sehingga akan melepaskan NF- $\kappa$ B. Protein NF- $\kappa$ B aktif selanjutnya diaktifkan oleh modifikasi pasca-translasi (fosforilasi, asetilasi, glikosilasi) dan mengalami translokasi ke nukleus di mana selanjutnya akan menginduksi ekspresi gen target dan mempengaruhi berbagai proses biologis termasuk imunitas bawaan dan adaptif, inflamasi, respons stres, perkembangan sel B, dan organogenesis limfoid. Dengan demikian efek anti inflamasi dari beberapa derivat flavonoid dapat berhubungan dengan penekanan jalur transduksi sinyal NF- $\kappa$ B. (Veza, dkk, 2016).

Berdasarkan penemuan diatas maka dapat disimpulkan bahwa efek pemberian ekstrak daun Miana dapat menekan ekspresi sitokin proinflamasi misalnya TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$  dan MCP-1.



Gambar 2.12. Mekanisme penghambatan proses inflamasi melalui penekanan jalur sinyal NF-κβ oleh Flavonoid (Veza, dkk, 2016)

## B. Quercetin

Quercetin adalah pigmen tanaman yang memiliki efek antioksidan yang kuat, yaitu flavonoid. Biasanya, pigmen tanaman ini bisa ditemukan pada bawang, anggur, buah beri, brokoli, dan jeruk. Sebagai salah satu antioksidan yang cukup kuat, quercetin dapat memberikan perlindungan terhadap jaringan yang rusak akibat terpapar oleh obat-obatan. Dengan menggunakan nanoformulation dan liposomal formula dari Quercetin memungkinkan untuk digunakan pada obat pada berbagai penyakit (Deepika, dkk, 2022)

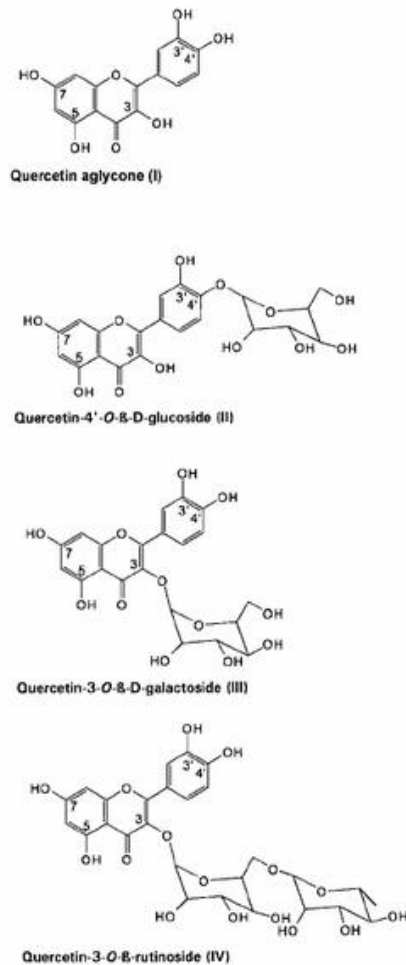
Terdapat sekitar 62 tanaman tropis yang dapat dimakan dimana mengandung flavonoid yang terdiri dari myricetin, quercetin, kaempferol, luteolin, dan apigenin. Dalam sayuran ditemukan glikosida Quercetin dalam jumlah yang banyak, tetapi juga mengandung glikosida kaempferol, luteolin, dan apigenin. Pada umumnya buah-buahan mengandung glikosida Quercetin, sedangkan glikosida kaempferol dan myricetin hanya ditemukan dalam jumlah sedikit (Meian, dkk, 2001). Disamping itu Quercetin banyak ditemukan pada produk tumbuhan alami dan dapat menurunkan aktivitas NF- $\kappa$ B melalui mekanisme menghambat perubahan dalam sel yang dimediasi jalur pensinyalan NF- $\kappa$ B (Pandiman, dkk, 2009).

Quercetin dapat berperan sebagai antioksidan kuat dan antiinflamasi pada penderita coronary artery disease (CAD) dengan menurunkan aktivitas transkripsi dari NF- $\kappa$ B, IL-1 $\beta$  dan TNF- $\alpha$  serta kecenderungan meningkatkan IL-10 (Chekalina, dkk, 2018).

Struktur kimia quercetin dapat terdiri dari quercetin aglycone, quercetin glucoside pada bawang, quercetin galactoside pada buah apel dan quercetin rutinose atau rutin (Gambar 2.13; Hollman, dkk, 1997).

Flavonoid adalah senyawa polifenol yang terdapat didalam makanan yang berasal dari tumbuhan. Quercetin adalah subklas dari flavonoid flavonol. Quercetin merupakan antioksidan kuat karena dapat menutupi logam, mengambil oksigen radikal bebas dan mencegah oksidasi low density lipoprotein (LDL) secara in vitro. LDL teroksidasi dihipotesiskan menjadi perantara dalam pembentukan plak aterosklerotik.





Gambar 2.13. Struktur kimia quercetin :quercetin aglycone (I), quercetin glucoside (II) pada bawang, quercetin galactoside (III) pada buah apel dan quercetin rutinoside atau rutin (IV) (Hollman. Dkk. 1997).

Quercetin mungkin berkontribusi pada pencegahan aterosklerosis. Memang, asupan flavonol berbanding terbalik dengan penyakit kardiovaskular meskipun tidak semua studi epidemiologi prospektif menunjukkan hal yang sama.

Flavonol terdapat dalam makanan sebagai senyawa glikosida, atau lebih khusus glukosida, rutinosida, atau xylosides tergantung pada bagian gulanya. Ikatan gula-flavonol merupakan ikatan (3-glikosidik yang resisten terhadap hidrolisis oleh enzim pankreas, diperkirakan tidak dapat diserap oleh glikosida.

Pada penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa Quercetin pada feses dari subjek ileostomy ditemukan adanya penyerapan quercetin-o-glucosides dari bawang oleh manusia sekitar 52%, sedangkan penyerapan quercetin-3-rutinoside keduanya hanya sekitar 20%. Data ini menunjukkan bahwa bagian gula dari aglikon quercetin mempengaruhi penyerapannya. (Hollman, dkk, 1997)

Salah satu efek quercetin adalah membantu tubuh melawan radikal bebas, hal ini disebabkan quercetin mengandung senyawa flavonol yang termasuk dalam kategori antioksidan yang cukup kuat. Berdasarkan penelitian sebelumnya Quercetin mempunyai efek sebagai antioksidan yang mampu menghambat reaksi oksidasi yang dapat menciptakan radikal bebas. Oleh karena itu, quercetin bisa digunakan untuk membantu mengurangi bahaya yang disebabkan oleh radikal bebas, seperti asma dan penuaan dini. (Johnson, dll, 2011; Miean, dkk, 2001). Bahkan, quercetin juga dipercaya bisa melindungi tubuh dari bahaya radikal bebas akibat rokok. Tar yang dihasilkan dari rokok merupakan sumber radikal bebas yang bisa merusak membran eritrosit. Namun, berkat quercetin dalam tubuh, kerusakan membran pun bisa dihindari dan eritrosit dalam tubuh pun terlindungi. Selain membantu tubuh melawan radikal bebas, manfaat lainnya dari quercetin adalah membantu mengurangi gejala alergi.

Tidak hanya mengandung senyawa antioksidan tetapi quercetin dapat menekan inflamasi yang bisa digunakan sebagai obat anti-alergi. Cara kerjanya dengan menghambat pelepasan histamin dari sel mast dan senyawa alergi lainnya, sehingga quercetin bertindak sebagai antihistamin alami. Dengan mencegah efek

tersebut, ternyata quercetin dipercaya bisa dipakai dalam mengobati asma dan bronchitis (Fortunato, dkk, 2012).

Menurut penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa dengan pemberian suplemen quercetin pada tikus percobaan bisa mengurangi reaksi anafilaktik. Walaupun demikian, masih dibutuhkan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui apakah efeknya sama efektifnya pada manusia. (Shishehbor, dkk, 2010).

Quercetin tidak hanya dikenal sebagai sumber antioksidan yang baik, melainkan juga bisa mengurangi risiko pertumbuhan sel kanker. Hal ini dikarenakan senyawa yang memiliki nama latin Querceti ini memiliki sifat anti-karsinogenik yang cukup kuat. Sifat tersebut dipercaya bisa mengurangi pertumbuhan tumor di otak, hati, usus besar, dan jaringan lainnya serta menghambat penyebaran sel kanker (Rauf, dkk, 2019). Bahkan, manfaat dari quercetin juga bisa digunakan sebagai pencegah dan obat untuk kanker prostat pada tikus percobaan. Hasilnya memang cukup menjanjikan, tetapi masih diperlukan penelitian yang melibatkan manusia untuk melihat apakah efeknya sama atau tidak (Ghafouri-Fard, dkk, 2021). Dari penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa berbagai derivat flavonoid dapat menghambat aktivitas glycogen synthase kinase-3 $\beta$  (GSK-3 $\beta$ ) dan mempunyai potensi kuat untuk menghambat pertumbuhan sel kanker prostat (Jonshon, dkk, 2011).

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa quercetin dapat menghalangi berkumpulnya trombosit dan meningkatkan kesehatan endotelium, yaitu lapisan tipis yang melapisi pembuluh darah, termasuk ke jantung (Deng, dkk, 2020).

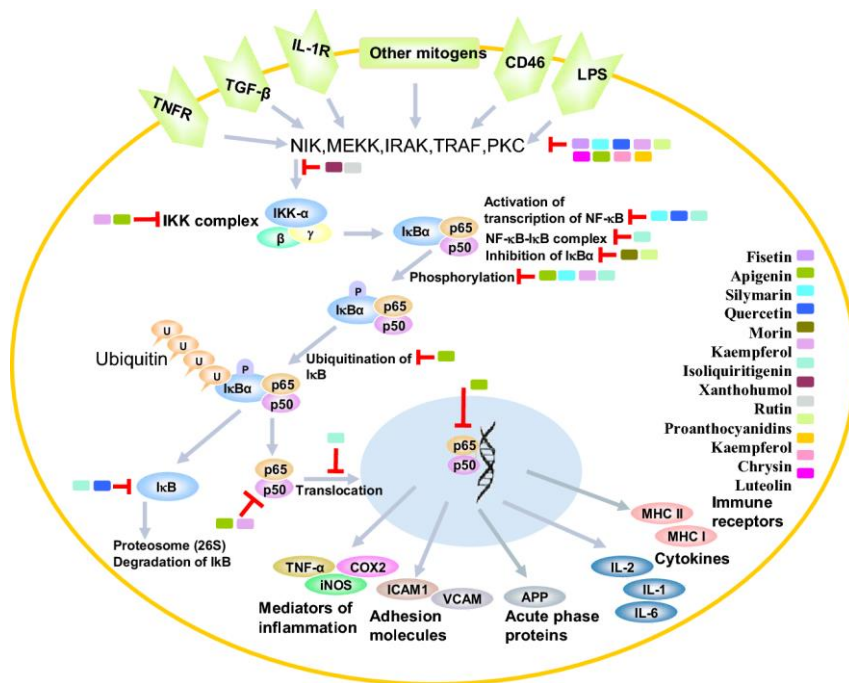
Disamping itu, senyawa yang bisa ditemukan pada buah dan sayuran yang mengandung flavonoid dan Quercetin dapat mengurangi risiko kematian akibat low-density lipoprotein (LDL) (Sahebkar, dkk, 2017).

Rauf, dkk, 2019 menemukan bahwa quercetin bisa menurunkan risiko pertumbuhan tumor di otak, sehingga potensi kerusakan otak pun juga berkurang. Adanya kandungan antioksidan pada quercetin membantu melindungi tubuh dari gangguan otak, misalnya penyakit Alzheimer dan demensia. Hal ini mungkin dikarenakan manfaat dari quercetin membuat peningkatan pada efek neuroprotektif. Quercetin pun telah terbukti memiliki kemampuan untuk menetralkan racun yang memengaruhi neuron akibat stres oksidatif dan melindungi saraf otak. Oleh karena itu, konsumsi sayur dan buah sering dikaitkan dengan peningkatan kesehatan otak karena kandungan quercetin yang ada di dalamnya. (Zu, dkk, 2021).

Quercetin termasuk derivat flavonoid yang berguna untuk kesehatan tubuh dan memperoleh manfaat dari quercetin bisa dilakukan dengan rutin makan sayur dan buah agar tubuh lebih sehat dan terlindungi dari penyakit (Deepika, dkk, 2022).

Penelitian Liu dkk, 2014 pada tikus sepsis setelah di induksi dengan injeksi *lipopolysaccharida* (LPS) memberikan efek perlindungan terhadap disfungsi ginjal dan hati tikus sepsis dengan menurunkan regulasi TLR4, menghambat aktivasi NF- $\kappa$ B dan menurunkan kadar sitokin pro inflamasi IL-6 dengan menghambat jalur penanda TLR4. Pada penelitian yang dilakukan Rosamarlina, dkk, 2021 menyatakan pemberian ekstrak daun Miana yang mengandung Flavonoid dan Quercetin menunjukkan penurunan signifikan pada kadar *Vascular endothelial Growth Factor* (VEGF) dalam sampel plasma pada binatang percobaan yang

diinfeksi *M. tuberculosis* dibandingkan dengan kelompok kontrol. Selanjutnya dengan pemberian ekstrak daun Miana secara peroral akan menekan aktivitas *Hypoxia Inducible Factor\_1α* (HIF-1 $\alpha$ ) dan ICAM-1 pada mencit yang diinfeksi dengan *M.tuberculosis* (Rosamarlina, dkk, 2022), namun belum dilakukan penelitian yang menyangkut efek aktivasi NF- $\kappa$ B pada binatang percobaan yang diinfeksi *S.typhi* setelah pemberian ekstrak daun Miana dan Quercetin.



Gambar 2.14. Efek Penghambatan Flavonoid dan Quercetin pada jalur pensinyalan NF- $\kappa$ B (Pandima, dkk, 2009)

Pada umumnya dimer NF- $\kappa$ B terletak di sitoplasma sel yang terikat pada protein penghambat I $\kappa$ B. Setelah sel menerima sinyal induksi atau dalam keadaan stres oksidatif dan inflamasi maka sitokin pro inflamasi merangsang gen (NIK, MEKK, IRAK, TRAF, PKC) menghasilkan aktivasi I $\kappa$ B kinase (IKK). I $\kappa$ B

difosforilasi oleh IKK aktif dan sistem ligase ubiquitin (ULS) disemua jalur. I $\kappa$ B selanjutnya terdegradasi oleh 26S proteasome (26S). NF- $\kappa$ B yang diaktifkan dapat bertranslokasi ke dalam nukleus untuk memulai proses transkripsi gen yang dipengaruhi oleh NF- $\kappa$ B (misalnya TNF $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$ , IL-2, COX-2, Major Histocompatibility complex-1 (MHC-1), MHC-2, APP, intercellular adhesion molecule (ICAM) , vascular cell adhesion molecule (VCAM). NF- $\kappa$ B yang teraktivasi dapat melewati membran nukleus dan berinteraksi dengan sekuens pengikatan  $\kappa$ B untuk meningkatkan dalam menambah gen yang diatur oleh NF- $\kappa$ B. Sistem ini akhirnya akan dikembalikan ke keadaan istirahat melalui sistem auto-regulasi, di mana NF- $\kappa$ B mengaktifkan ekspresi gen yang mengkode I $\kappa$ B , dan kemudian I $\kappa$ B yang baru disintesis akan mencari lagi NF- $\kappa$ B yang lain dalam sitoplasma. (Pandima, dkk, 2009).

Dengan adanya induksi flavonoid yang dapat terdiri dari derivat fisetin, apigenin, silymarin, Quercetin, Morin, Kaempferol, Isoliquiritigenin, Xanthohumol, Rutin, Proanthocyanidin, Chrysin, luteolin, maka akan menghambat kerja NF- $\kappa$ B inducing kinase (NIK), mitogen activated protein kinase kinase (MEKK), interleukin 1 associated kinase (IRAK), tumor necrosis factor associated factor (TRAF), protein kinase (PKC). Selain itu flavonoid dapat menghambat kerja NIK, MEKK, IRAK, TRAF, PKC dalam menginduksi IKK- $\alpha$  dan IKK kompleks sendiri.

Flavonoid juga dapat menekan proses aktivasi dari transkripsi NF- $\kappa$ B; menghambat ikatan NF- $\kappa$ B dengan I $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B-I $\kappa$ B complex); menekan I $\kappa$ B dan

proses fosforilasi I $\kappa$ B. Selanjutnya flavonoid dapat pula menghambat kelangsungan fungsi/kerja dari I $\kappa$ B dan I $\kappa$ B yang terdegradasi oleh 26S proteasome (26S) sendiri.

Pada tahap yang lebih dalam flavonoid dapat menghambat proses translokasi NF- $\kappa$ B ke dalam nucleus sel dan pada tahap akhir flavonoid juga dapat menekan proses transkripsi gen yang dipengaruhi oleh NF- $\kappa$ B. (Pandima, dkk, 2009).

### **C. NUCLEAR FACTOR KAPPA BETA (NF- $\kappa$ B)**

Pensinyalan aktivasi Nuclear Factor kappa Beta (NF- $\kappa$ B) dapat terjadi melalui dua jalur utama yaitu jalur kanonikal dan non-kanonikal. Jalur kanonikal memperantarai aktivasi NF- $\kappa$ B, p50, RELA dan c-REL (yang disebut juga anggota keluarga NF- $\kappa$ B kanonikal), sedangkan jalur non-kanonikal secara selektif mengaktifkan anggota NF- $\kappa$ B terikat p100, utamanya NF- $\kappa$ B $\beta$ 2 p52 dan RELB (biasa disebut anggota keluarga NF- $\kappa$ B non-kanonikal).

Proses aktivasi (kanonikal/klasikal) dimulai dengan aktivasi NF- $\kappa$ B diinisiasi oleh degradasi protein I $\kappa$ B dalam merespon suatu stimulus sinyal. Hal ini terjadi terutama melalui aktivasi kinase yang disebut I $\kappa$ B kinase (IKK). IKK terdiri dari heterodimer dari subunit IKK $\alpha$  dan IKK $\beta$  katalitik dan protein pengatur "utama" yang disebut NEMO (modulator penting NF- $\kappa$ B) atau gamma IKK. Bila diaktifkan oleh sinyal, biasanya berasal dari luar sel, kinase I $\kappa$ B memfosforilasi dua residu serin yang terletak di domain pengaturan I $\kappa$ B. Ketika fosforilasi pada serin ini (misalnya, serine 32 dan 36 pada manusia I $\kappa$ B $\alpha$ ), protein I $\kappa$ B dimodifikasi oleh

proses yang disebut ubiquitinasi, yang kemudian menyebabkannya terdegradasi oleh organel sel yang disebut proteasom.

Pengaktifan jalur NF- $\kappa$ B non-kanonikal didasarkan pada proses p100. Berbeda dengan pemrosesan konstitutif p105, pemrosesan p100 dikontrol dengan ketat dan terjadi dengan cara diinduksi. Pengolahan p100 yang diinduksi sinyal mengarah pada pembentukan NF- $\kappa$ B2 p52 serta translokasi inti anggota NF- $\kappa$ B p100, yang sebagian besar adalah RELB dan NF- $\kappa$ B2 p52. Proses p100 diinduksi melalui fosforilasi pada residu serin C-terminal spesifik (serine 866 dan 870), yang memicu ubiquitinasi p100 melalui perekrutan E3 ubiquitin ligase  $\beta$ TrCP. Komponen pensinyalan sentral dari jalur NF- $\kappa$ B non-kanonikal adalah NF- $\kappa$ B-inducing kinase (NIK; juga dikenal sebagai MAP3K14), yang menginduksi fosforilasi p100 melalui aktivasi kinase IKK $\alpha$ 1. Berbeda dengan aktivasi jalur NF- $\kappa$ B kanonikal yang cepat dan sementara, aktivasi jalur NF- $\kappa$ B non-kanonikal sangat lambat dan terus-menerus. Pendorong khas jalur NF- $\kappa$ B non-kanonikal adalah ligan dari subset anggota superfamili reseptor faktor nekrosis tumor (TNFR).

### **1. Mekanisme kerja NF- $\kappa$ B**

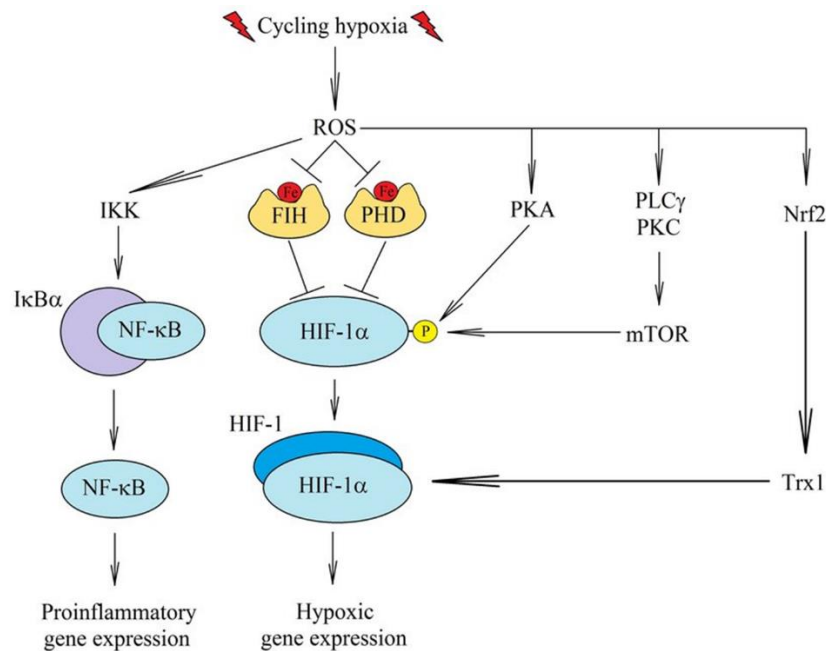
Protein faktor kappa Beta (NF- $\kappa$ B) pada nukleus terdiri dari keluarga faktor transkripsi dari golongan eukariotik yang terkait secara struktural. Pada awalnya NF- $\kappa$ B ditemukan dalam limfosit, tetapi kemudian ditemukan di seluruh sel tubuh dan diekspresikan di hampir semua jenis sel manusia. Pada mamalia, keluarga NF- $\kappa$ B (juga dikenal sebagai keluarga Rel) terdiri dari lima anggota: p50 (produk dari gen NF- $\beta$ 1), p52 (produk dari gen NF- $\beta$ 2), p65 (juga dikenal sebagai RelA), c-Rel



dan RelB. Dimer NF- $\kappa$ B ada dalam bentuk laten di sitoplasma yang terikat oleh protein penghambat I $\kappa$ B. Dengan adanya stimulus akan menginduksi NF- $\kappa$ B (stres, sitokin, radikal bebas, radiasi UV, LDL teroksidasi, antigen bakteri atau virus) dan mengaktifkan kompleks I $\kappa$ B kinase yang memfosforilasi I- $\kappa$ B, menyebabkan ubiquitinasi dan degradasi selanjutnya. Degradasi I- $\kappa$ B mengekspos domain pengikatan DNA dan urutan lokalisasi nuklir NFB dan memungkinkan translokasi stabilnya ke nukleus dan regulasi gen target. Jalur pensinyalan NF- $\kappa$ B memainkan peran kunci dalam inflamasi, respons imun, kontrol pertumbuhan sel, dan perlindungan terhadap apoptosis. Downregulation / penghambatan NF- $\kappa$ B dianggap sebagai target obat potensial untuk intervensi terapeutik pada banyak penyakit seperti kanker, penyakit inflamasi dan autoimun (Pandima, dkk, 2009)

Nuclear factor kappa Beta (NF- $\kappa$ B) terdeteksi dalam berbagai jenis sel yang mengekspresikan sitokin, kemokin, faktor pertumbuhan, molekul adhesi sel, dan beberapa protein fase akut dalam keadaan sehat maupun kondisi sakit (Park , dkk 2016).

NF- $\kappa$ B diaktifkan oleh berbagai macam rangsangan seperti sitokin, radikal bebas oksidan, partikel inhalasi, iradiasi ultraviolet, dan produk bakteri atau virus. Aktivasi yang tidak tepat dari NF- $\kappa$ B telah dikaitkan dengan peristiwa inflamasi yang terkait dengan arthritis autoimun, asma, syok septik, fibrosis paru, glomerulonefritis, aterosklerosis, dan AIDS. Sebaliknya, penghambatan NF- $\kappa$ B yang lengkap dan persisten telah dikaitkan langsung dengan apoptosis, perkembangan sel imun yang tidak tepat, dan keterlambatan pertumbuhan sel (Park, dkk, 2016).



Gambar 2.15. Pengaruh ROS dalam keadaan hipoksia dan aktivasi HIF-1 dan NF-κB (Korbecki, 2021).

Dengan adanya ke hipoksia maka akan menginduksi pembentukan Reactive Oxygen Species (ROS), yang menyebabkan peningkatan aktivasi HIF-1 $\alpha$  dan NF- $\kappa$ B. Secara khusus, ROS menonaktifkan HIF asparaginyl hydroxylase (FIH) dan prolyl hydroxylase (PHD), yang menghasilkan peningkatan stabilitas protein HIF-1 $\alpha$ . ROS juga mengaktifkan cAMP-dependent protein kinase A (PKA) dan mammalian target of rapamycin (mTOR), yang memfosforilasi HIF-1 $\alpha$  dan dengan demikian meningkatkan stabilitas protein ini dan akumulasinya di dalam sel. ROS juga menyebabkan peningkatan ekspresi three prime exonucleases-1 (Trx1), yang meningkatkan aktivitas transkripsi HIF-1 $\alpha$  (Korbecki, dkk, 2021)

NFKB1 atau NFKB2 terikat ke REL, RELA, atau RELB untuk membentuk kompleks NF- $\kappa$ B. Kompleks NF- $\kappa$ B dihambat oleh protein I $\kappa$ B (NFKBIA atau

NFKBIB), yang menonaktifkan NF- $\kappa$ B dengan memerangkapnya dalam sitoplasma.

Fosforilasi residu serin pada protein I $\kappa$ B oleh kinase (IKBKA atau IKBKB) menandai mereka untuk dihancurkan melalui jalur ubiquitinasi, sehingga memungkinkan aktivasi kompleks NF- $\kappa$ B. Kompleks NF- $\kappa$ B teraktivasi mentranslokasi ke dalam nukleus dan mengikat DNA pada motif pengikat kappa- $\beta$  seperti 5-prime GGGRNNYYCC 3-prime atau 5-prime HGGARNYYCC 3-prime (di mana H adalah A, C, atau T; R adalah A atau G purin, dan Y adalah C atau T pirimidin) (Sun, 2011).

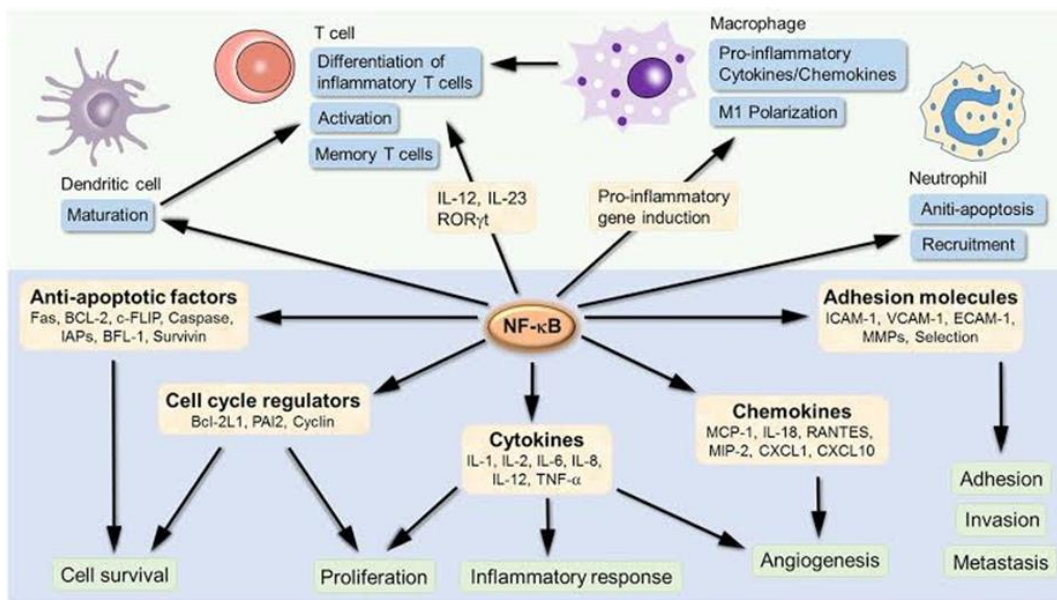
## **2. Target NF- $\kappa$ B.**

Faktor transkripsi NF- $\kappa$ B berfungsi untuk mengatur berbagai aspek fungsi imun innate (bawaan) dan adaptif dan berfungsi sebagai mediator penting dari respons inflamasi. NF- $\kappa$ B menginduksi ekspresi berbagai gen pro-inflamasi, termasuk yang mengkode sitokin dan kemokin, dan juga berpartisipasi dalam regulasi inflamasi. Selain itu, NF- $\kappa$ B memainkan peran penting dalam mengatur kelangsungan hidup, aktivasi dan diferensiasi sel imun bawaan dan sel T inflamasi.

Akibatnya, aktivasi NF- $\kappa$ B yang dideregulasi berkontribusi pada proses patogen berbagai penyakit inflamasi. Berdasarkan hal tersebut maka aktivasi dan fungsi NF- $\kappa$ B dalam kaitannya dengan penyakit inflamasi dan dapat dikembangkan sebagai terapi berdasarkan penghambatan aktifitas NF- $\kappa$ B. (Liu, dkk, 2017).

Gen target NF- $\kappa$ B selalu terlibat dalam perkembangan dan progresivitas proses inflamasi NF- $\kappa$ B adalah faktor transkripsi yang dapat diinduksi oleh infeksi

mikroorganisme. Setelah teraktivasi maka NF- $\kappa$ B dapat mengaktifkan proses transkripsi berbagai gen dimana dapat mengatur proses peradangan. NF- $\kappa$ B akan menargetkan proses inflamasi tidak hanya secara langsung dengan meningkatkan produksi sitokin inflamasi, kemokin dan molekul adhesi, tetapi juga mengatur proliferasi sel, apoptosis, morfogenesis dan diferensiasi (Gambar 2.16; Liu, dkk, 2017)



Gambar 2.16. Target gen NF- $\kappa$ B yang terlibat dalam proses inflamasi. (Liu, dkk, 2017)

Inflamasi adalah respon protektif dari tubuh terhadap infeksi dan kerusakan jaringan, yang ditandai dengan serangkaian reaksi, termasuk vasodilatasi dan peningkatan sel imun dan protein plasma ke tempat infeksi atau cedera jaringan. Biasanya, inflamasi bermanfaat bagi tubuh penderita dan akan menurun kembali sesuai waktu, akan tetapi bila respon inflamasi yang tidak terderegulasi maka akan dapat menyebabkan kerusakan jaringan yang berlebihan atau bertahan lama,

berkontribusi pada perkembangan penyakit inflamasi akut atau kronis. NF- $\kappa$ B adalah mediator sentral dari induksi gen pro-inflamasi dan berfungsi baik pada sel imun bawaan maupun adaptif (Liu, dkk, 2017).

Sel imun bawaan, termasuk makrofag, sel dendritik dan neutrofil, adalah pemain penting dari imunitas bawaan dan peradangan. Sel-sel ini mengekspresikan PRR yang mendeteksi berbagai komponen mikroba, yang disebut pola molekul terkait patogen (patogen-associated molecular pattern/PAMPs)(Newton, 2018). PRR juga mengenali pola molekul terkait kerusakan (DAMPs), yang merupakan molekul yang dilepaskan oleh sel nekrotik dan jaringan yang rusak.

Sel mamalia mengekspresikan lima keluarga PRR, termasuk reseptor seperti tol (TLR), reseptor seperti RIG-I, reseptor seperti NOD (NLR), reseptor seperti lektin tipe-C dan sensor DNA sitosolik. keluarga PRR yang berbeda memiliki sifat struktural yang berbeda dan merespons PAMP dan DAMP yang berbeda, tetapi mereka memiliki banyak kesamaan dalam jalur transduksi sinyal hilir (Liu, dkk, 2017).

Inflammasome adalah sekelompok kompleks multi-protein intraseluler yang dirancang sebagai respon terhadap PAMP dan DAMP, dan dicirikan oleh aktivasi caspases inflamasi. Inflammasome kanonik terdiri dari reseptor penginderaan ligan, yang mencakup anggota keluarga NLR serta absent in melanoma 2 (AIM2), protein adaptor dari apoptosis-associated speck-like protein containing CARD (ASC) dan pro-caspase 1. Di antara reseptor inflammasome yang ditandai dengan baik adalah NLRP1, NLRP3, NLRC4 dan AIM2. Setelah stimulasi, reseptor inflammasome oligomerisasi dan merekrut pro-caspase 1 melalui ASC, sehingga merangsang

pemrosesan dan konversi pro-caspase 1 menjadi caspase aktif 1. Caspase 1 yang diaktifkan kemudian membelah pro-IL-1 $\beta$  dan pro-IL-18 menjadi bentuk matangnya dan akan mengarah ke sekresi sitokin pro-inflamasi ini.

Inflammasome membentuk bagian integral dari imunitas bawaan terhadap infeksi patogen dan juga memainkan peran penting dalam mengatur komposisi mikrobiota usus. Namun, aktivasi inflammasome yang dideregulasi berkontribusi terhadap berbagai penyakit autoimun dan penyakit inflamasi. Sekarang jelas bahwa jalur pensinyalan NF- $\kappa$ B terlibat dalam regulasi inflammasome, berkontribusi pada inisiasi dan perkembangan penyakit inflamasi (Guo, dkk, 2015).

NF- $\kappa$ B merupakan karakteristik faktor transkripsi terbaik yang meregulasi inflamasi dan reaksi imunitas adaptif dan imunitas bawaan (Hayden, dkk 2011). Respon inflamasi ditandai dengan aktivasi koordinat berbagai jalur pensinyalan yang mengatur ekspresi pro dan mediator anti-inflamasi di sel jaringan tempat tinggal dan leukosit yang direkrut dari darah. Saat ini, sebagian besar pengetahuan kita tentang pensinyalan dalam peradangan diperoleh dari studi anggota kelompok reseptor IL-1 dan TNF dan *Toll Like Receptor* (TLRs) yang mengenali pola mikroba, yang termasuk dalam keluarga IL-1R. IL-1 dan TNF- $\alpha$  mewakili pola dasar sitokin proinflamasi yang dirilis dengan cepat pada cedera jaringan atau infeksi. TLR mengenali pola molekuler mikroba, karena nya dikenal sebagai *pattern recognition receptor* (PRRs). TLRs mewakili *germline encoded nonself* sistem pengenalan yang dirancang untuk memicu peradangan (Banoth dkk, 2015). Namun, ada beberapa acuan bahwa ligan endogen dapat memicu TLR selama cedera jaringan dan pada kondisi penyakit tertentu, yang mungkin berperan

mempromosikan peradangan tanpa adanya infeksi. Meskipun secara struktural berbeda, reseptor ini menggunakan mekanisme sinyal transduksi yang sama yang mencakup aktivasi I $\kappa$ B kinase (IKK) dan NF- $\kappa$ B.

Sel reseptor kedua yang mengaktifkan jalur kanonikal NF- $\kappa$ B adalah PRRs yang menghantarkan sinyal bahaya yang berasal dari kerusakan jaringan dan menyerang patogen. Kelompok PRR pertama yang diakui dan paling terkenal adalah TLRs (Kawai, dkk, 2010).

Serangkaian reseptor ini mengenali berbagai struktur pengulangan molekuler yang dilindungi dengan baik yang diekspresikan pada berbagai patogen; yang paling terkenal contohnya termasuk TLR2 ligan lipoteichoic acid (LTA) dan TLR4 ligan lipopolysaccharide (LPS) yang keduanya merupakan komponen struktural mendasar dari dinding sel bakteri Gram positif atau Gram negatif. TLR juga mengenali virus yang dikonservasi (mis. RNA untai tunggal dan ganda, dikenali oleh TLR3, TLR7, dan TLR8) dan jamur (mis. zymosan, dikenali oleh TLR2) struktur. Sebagai tambahan pathogen derived molecules atau PAMPs, telah disarankan bahwa beberapa TLRs mengenali ligan endogen secara kolektif dikenal sebagai alarmins. Keluarga lain dari PRRs, termasuk NLRs dan RLRs, mengaktifkan jalur kanonikal NF- $\kappa$ B dan diperantarai produksi IRF3 interferon tipe 1 (Kawai, dkk, 2010).

Tidak seperti TLR yang dibatasi untuk membran sel dan endosom, NLRs dan RLRs terletak pada sitoplasma sel ditempatkan secara optimal untuk mengenali struktur virus dan melengkapi mesin pengindraan sinyal bahaya pada sel.

Apoptosis adalah mekanisme penting untuk mencegah peradangan yang berkepanjangan: Apoptosis neutrophil selama peradangan akut dan activation induced cell death (AICD) dari antigen spesifik sel T merupakan mekanisme penting yang membatasi peradangan dan respon imun. Seperti yang dijelaskan sebelumnya, NF- $\kappa$ B memiliki peran proapoptosis dalam neutrofil selama peradangan, yang dapat mewakili mekanisme anti-inflamasi yang penting untuk NF- $\kappa$ B selama peradangan akut.

Namun, NF- $\kappa$ B juga telah terbukti sebagai inhibitor penting dari patogen yang menginduksi apoptosis pada makrofag, setidaknya secara in vitro (Varfolomeev, ddk, 2021). Dalam konteks ini, NF- $\kappa$ B mungkin memiliki peran proinflamasi dengan memungkinkan aktivasi makrofag yang lebih panjang.

Hal ini akan meningkatkan resistensi bawaan terhadap infeksi dan juga memblokir patogen yang menginduksi inflamasi selama infeksi. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa penghambatan Aktivasi NF- $\kappa$ B menurunkan ekspresi ligan Fas (CD95) pada sel T, yang diperlukan untuk AICD. Jalur pensinyalan kanonikal NF- $\kappa$ B terutama terlibat dalam identifikasi yang disebabkan oleh bahaya untuk kerusakan jaringan atau infeksi, dan diikuti oleh inisiasi dan perkembangan yang cepat dari suatu reaksi inflamasi dan fungsi antimikroba (Lawrence, 2014).

Dalam konteks kekebalan bawaan, jalur diaktifkan oleh sinyal yang berasal dari dua kelompok besar reseptor; reseptor untuk sitokin proinflamasi dan pattern recognition receptors (PRRs) untuk berbagai molekul sinyal bahaya. Sinyal paling akhir dari reseptor ini berkumpul untuk mengaktifkan kompleks kinase yang



dibentuk oleh IKK1, IKK2, dan IKK $\gamma$ , dengan IKK2 memainkan peran kunci, yang mengarah ke pelepasan dan translokasi inti terutama dimer p50-RelA dan p50-cRel.

Faktor-faktor ini mendorong transkripsi proinflamasi multiple sitokin, prostaglandin, kemokin, molekul adhesi endotel dan leukosit sebagai serta proteinase yang mengarah ke rekrutmen dan aktivasi sel inflamasi lebih lanjut, terutama neutrofil dan makrofag (Hayden, dkk, 2011).

Molekul efektor antimikroba yang bersifat pertahanan dan oksigen reaktif dan spesies nitrogen, juga diproduksi dan mesin penyajian antigen diinduksi untuk aktivasi selanjutnya dari sistem imun adaptif. Selanjutnya akan diperlukan untuk transkripsi sinyal proinflamasi, sitokin antiinflamasi seperti IL-10 dan IL-1 receptor  $\alpha$  serta beberapa inhibitor jalur NF- $\kappa$ B, misalnya, protein I $\kappa$ B, diproduksi sehingga membatasi reaksi inflamasi dengan cara loop umpan balik autokrin (Yilmaz, dkk, 2014).

Sitokin proinflamasi termasuk TNF- $\alpha$  dan IL-1 merupakan induser yang paling terkenal dan juga target jalur kanonikal NF- $\kappa$ B (Hayden, dkk, 2011). Pola dasar sitokin proinflamasi ini banyak diproduksi selama reaksi inflamasi dan memainkan peran kunci dalam beberapa kondisi inflamasi kronis. Diikatnya sitokin TNF ke reseptor TNF receptor 1 (TNFR1), diekspresikan secara luas) dan TNF receptor 2 (TNFR2), diekspresikan pada sel imun), dan reseptor IL-1 tipe I (IL-1R1) mengaktifkan pensinyalan jalur NF- $\kappa$ B tetapi juga jalur MAP kinase/AP-1 memperkuat reaksi peradangan. (Hayden, dkk, 2011; Yilmaz, dkk, 2014).

Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa NF- $\kappa$ B mempunyai fungsi sentral dalam proses inflamasi pada keadaan infeksi yang disebabkan mikroorganisme baik

bakteri, virus dan jamur. Proses inflamasi yang terjadi akan melalui beberapa jalur, dimana pada akhirnya akan meningkatkan produksi sitokin pro inflamasi.

### **3. Efek obat tradisional yang mengandung Flavonoid dan Quercetin terhadap aktivasi NF- $\kappa$ B dan proses inflamasi.**

Sebagian besar tanaman dan buah buahan mengandung unsur flavonoid dan warna yang mengandung derivat dari flavonoid yaitu Quercetin. Quercetin adalah antioksidan kuat dan flavonoid merupakan kandungan dari makanan utama manusia. Studi epidemiologis menunjukkan bahwa konsumsi quercetin melindungi terhadap penyakit kardiovaskular, tetapi penyerapannya pada manusia masih kontroversial. Pada penelitian ini dilakukan pemberian makanan tambahan pada 9 subjek dengan satu dosis besar bawang Bombay (mengandung konjugat glukosa dari quercetin), apel (mengandung glikosida Quercetin glukosa dan non-glukosa, atau quercetin-3-rutinoside murni), teh (mengandung glikosida quercetin utama). Kesimpulan dari penelitian ini ialah konjugasi dengan glukosa meningkatkan penyerapan dari usus kecil. Karena waktu paruh eliminasi yang panjang, konsumsi makanan yang mengandung Quercetin secara berulang akan menyebabkan akumulasi Quercetin dalam darah (Hollman, dkk, 1997).

Quercetin adalah flavonoid yang secara alami ditemukan di banyak buah dan sayuran dan telah terbukti memberikan beberapa efek biologis dalam model eksperimental, termasuk pengurangan gejala utama asma, hiperaktif bronkial, produksi lendir dan peradangan saluran napas. Berdasarkan kepustakaan maka ada potensi dari Quercetin untuk mengobati asma dan eksaserbasinya, dimana terapi

saat ini termasuk 2-agonis, antagonis reseptor 1 sisteinil leukotrien dan kortikosteroid, mempunyai efek samping yang merugikan terutama penggunaan jangka panjang. Dengan demikian, pengembangan senyawa baru dengan aktivitas terapeutik yang serupa dan efek samping yang kurang sangat diperlukan. Senyawa alami yang digunakan dalam beberapa terapi mempunyai efek metabolit yang terdapat pada tumbuhan dapat meredakan gejala penyakit dengan cara yang sama seperti obat-obatan allopathic (Fortunato, dkk, 2012).

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa Quercetin sebagai family flavonoid dengan subgroup flavonol mempunyai efek terhadap reaksi anafilaksis hewan model tikus yang diinduksi kacang. Dari hasil penelitian terlihat bahwa Quercetin flavonoid cukup kuat untuk menekan respons Imunoglobulin E yang sedang berlangsung terhadap alergi akibat protein kacang. Hal ini dapat dipakai sebagai obat alternatif untuk pencegahan terhadap alergi makanan yang dimediasi oleh Imunoglobulin E. (Shishehbor, dkk, 2010)

Diet memainkan peran kunci untuk menjaga hidup sehat. Banyak produk alami yang ada dalam makanan, seperti flavonoid, dapat mencegah perkembangan kanker. Quercetin sebagai zat bioaktif flavonoid dimana bersifat antioksidan kuat dan memiliki peran dalam menghambat pertumbuhan sel kanker pada manusia. Quercetin memiliki efek proapoptosis langsung pada sel tumor dan dengan demikian dapat menghambat perkembangan berbagai kanker manusia. Efek antikanker dari Quercetin telah banyak dilakukan baik secara in vitro dan in vivo yang melibatkan beberapa cell line dan model hewan. Di sisi lain, efek toksik Quercetin yang tinggi terhadap sel kanker disertai dengan sedikit atau tanpa efek

samping atau membahayakan sel normal. Pada penelitian sebelumnya dikatakan bahwa penggunaan Quercetin sebagai agen antikanker dan berpotensi dalam pemanfaatan senyawa alami ini sebagai pengobatan komplementer atau alternatif untuk mencegah dan mengobati kanker (Rauf, dkk, 2018).

Quercetin adalah agen flavonoid yang terdapat dalam buah-buahan dan sayuran dengan efek antiinflamasi, antioksidan, dan antikanker. Flavonoid ini dapat menekan transisi siklus sel dan menginduksi apoptosis pada sel neoplastik. Efek terapeutik Quercetin telah dilakukan pada berbagai jenis kanker termasuk kanker prostat baik secara *in vitro* dan *in vivo*. Selain itu, agen ini dapat mencegah inisiasi kanker jenis ini karena secara tidak langsung memblokir aktivitas promotor dua gen penting dalam patogenesis kanker prostat yaitu reseptor androgen (AR) dan antigen spesifik prostat (PSA). Beberapa penelitian secara *in vitro* telah memperlihatkan pengaruh diferensial Quercetin pada sel prostat normal versus sel neoplastic dan menekankan efek sitotoksik spesifiknya pada sel kanker. Jalur efek Quercetin yang utama pada sel kanker prostat adalah dengan pelepasan Bax dari Bcl-xL dan stimulasi keluarga caspase. Selain itu, Quercetin dapat meningkatkan efek pilihan terapi lain pada kanker prostat, misalnya dengan kombinasi TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) dan Quercetin sebagai modalitas baru untuk pengobatan kanker prostat. Strategi semacam ini dapat mengatasi resistensi terhadap apoptosis pada sel kanker. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa Quercetin dapat digunakan sebagai preventif dan terapeutik pada kanker prostat (Ghafouri-Fard, dkk, 2021)

Selain itu telah dilakukan penelitian tentang efek Quercetin pada penyakit Atherosclerotic cardiovascular disease (ASCVD), dimana ditemukan bahwa Quercetin yang diekstrak dari makanan dan berupa komponen flavonoid mempunyai potensi dalam pengobatan alternatif atau komplementer pada penderita aterosklerosis. Quercetin dapat berfungsi sebagai antiaterosklerosis dalam mengobati ASCVD seperti anti-inflamasi, sifat antioksidan, dimana akan berefek pada endothelium-dependent vasodilation dan penurunan kadar lipid darah. (Deng, dkk, 2020)

Efek suplementasi Quercetin pada profil kadar lipid plasma dengan menggunakan metode randomized controlled trials (RCT) tidak menunjukkan efek yang relevan secara klinis, tetapi terlihat penurunan trigliserida yang signifikan pada dosis di atas 50 mg/hari. (Sahebkar, dkk, 2017)

Quercetin selain mempunyai efek sebagai antioksidan, anti-inflamasi, hipoglikemik, dan hipolipidemik juga menunjukkan potensi sebagai terapeutik terhadap diabetes mellitus tipe 2 (T2DM) dan penyakit Alzheimer (AD). Pada penelitian sebelumnya dikatakan bahwa target molekuler yang potensial pada Quercetin pertama kali diidentifikasi menggunakan platform Prediksi Target Swiss dan target patogen T2DM dan AD diidentifikasi menggunakan pewarisan Mendelian online pada manusia (OMIM), DisGeNET, TTD, DrugBank, dan database GeneCards. Ada 95 target yang dibagi di antara Quercetin, T2DM, dan AD digunakan untuk membangun jaringan interaksi protein-protein (PPI), 25 gen inti teratas, dan modul fungsional protein menggunakan MCODE. Metascape kemudian digunakan untuk ontologi gen dan kyoto encyclopedia of genes and

genomes (KEGG). Modul fungsional protein dengan skor terbaik diperoleh dari jaringan PPI menggunakan CytoHubba, dan 6 target Quercetin dengan probabilitas tinggi yaitu AKT1, JUN, MAPK, TNF, VEGFA, dan EGFR) yang dikonfirmasi dengan simulasi docking. Simulasi dinamika molekul dilakukan sesuai dengan hasil docking molekuler. Analisis pengayaan jalur KEGG menyarankan bahwa mekanisme bersama utama untuk T2DM dan AD termasuk "jalur pensinyalan AGE-RAGE pada komplikasi diabetes," "jalur pada kanker," dan "jalur pensinyalan MAPK" yang merupakan jalur kunci. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa Quercetin mungkin memiliki aplikasi terapeutik pada DM2 dan AD dengan menargetkan pensinyalan MAPK, memberikan landasan teoretis untuk penelitian klinis di masa depan. (Zu, dkk, 2021).

Polifenol adalah kelompok fitokimia yang dikenal yang pada dasarnya terdiri dari cincin fenolik. Ini adalah produk tanaman yang ada dalam berbagai buah dan sayuran. Metabolit sekunder ini melakukan fungsi pelindung pada tanaman dari stres lingkungan dan biologis. Ketika dikonsumsi sebagai makanan manusia, ini juga dikenal untuk mencegah berbagai penyakit terkait usia. Polifenol diketahui memiliki sifat antioksidan dan melindungi terhadap stres oksidatif dan merupakan fungsi utama dari Flavonoid dan Quercetin. Quercetin adalah salah satu polifenol yang banyak ditemukan dan berlimpah di alam dimana umumnya ada dalam produk tanaman. Bawang bombay diketahui memiliki jumlah Quercetin tertinggi. Senyawa tanaman ini memiliki sifat antioksidan dan dianggap memiliki fungsi pelindung terhadap penuaan. Senyawa Quercetin ini ditemukan dalam bentuk bebas dan terkonjugasi. Quercetin memiliki sifat anti-oksidatif, anti-inflamasi, anti-

proliferasi, anti-karsinogenik, anti-diabetes, dan anti-virus. Molekul Quercetin bersifat lipofilik dan dapat dengan mudah melewati BBB (Blood-Brain Barrier) oleh karena itu dapat melindungi dari penyakit neurodegeneratif. Pada beberapa penelitian in vivo dan in vitro menunjukkan peran Quercetin sebagai agen kuratif dalam neurodegenerasi, diabetes, kanker, dan inflamasi. Disamping itu telah dibuktikan bahwa Quercetin memainkan peran penting dalam pencegahan gangguan yang berkaitan dengan usia. Quercetin adalah antioksidan kuat yang saat ini digunakan dalam berbagai obat-obatan. Sifat quercetin dapat dieksplorasi lebih lanjut di berbagai gangguan lainnya. Formulasi nano dan formulasi liposomal dari Quercetin dapat dibuat untuk mengobati penyakit terkait usia lainnya. (Deepika, dkk, 2022).

Quercetin adalah derivat Flavonoid yang banyak ditemukan pada makanan dan dapat meningkatkan daya tahan kapasitas latihan pada manusia, dengan demikian dapat dikatakan dengan mengonsumsi Quercetin dapat meningkatkan daya tahan kapasitas latihan pada manusia. Hasil penelitian ini memperlihatkan bahwa Quercetin mempunyai effect sizes (ES) yang dihitung dengan menggabungkan  $VO_2$  max dan ukuran kinerja daya tahan. Quercetin memberikan manfaat yang signifikan dalam meningkatkan kapasitas latihan daya tahan manusia ( $O_2$  max) dan efek minimal terhadap kinerja latihan daya tahan tubuh. Namun pada penelitian ini masih dibutuhkan faktor eksperimental yang menjelaskan variabel lain yang berpengaruh pada kinerja latihan daya tahan tubuh. (Kressler, dkk, 2011).

Produk tanaman alam saat ini banyak digunakan sebagai pengobatan beberapa penyakit termasuk DT yang disebabkan infeksi *S.typhi*. Meningkatnya

strain resistensi antibiotik maka diperlukan mencari alternatif terapi baru. Telah ditemukan 32 tanaman yang memiliki efek antimikroba, antiinflamasi, bakterisida, dan efek stimulasi fagositosis terhadap *S. typhi* yang dapat digunakan sebagai terapi alternatif DT. Tumbuhan yang terdapat di Indonesia seperti *Coleus scutellarioides* (L.) Benth., *Punica granatum*, *Carica papaya*, *Cocus nucifera*, *Cymbopogon citratus*, *Mangifera Indica*, *Solanum lycopersicum*, *Solanum nigrum*, *Manilkara zapota*, *Myristica fragrans*, *Cymbopogon citratus*, *Citratus aurantifolia*, *Momordica charantia*, *Moringa charantia acutangula*, *Aloe vera*, *Psidium guajava*, *Allium sativum*, *Occimum gratissimum* dan *Apium graveolens* L (Lelismika, dkk, 2020).

Pada penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa efek kombinasi Demineralization Freeze Dried Dentin Matrix (DFDDM) dan *Moringa Oleifera* Lam dapat menurunkan aktivitas NF- $\kappa$ B dan dapat digunakan sebagai biomarker tulang (Djais, dkk, 2020).

Upaya menggabungkan berbagai senyawa herbal dilakukan di tengah banyaknya kasus resistensi antibiotik. Curcumin merupakan senyawa aktif yang terdapat pada tanaman herbal dan memiliki efek antimikroba yang dapat menginduksi ekspresi gen mRNA Cathelicidin Antimicrobial Peptide (CAMP) dan menekan pertumbuhan *S.typhi* pada binatang percobaan Balb/c dengan dosis 200 mg/kg selama 5 hari (Febriza, dkk, 2020).

Selanjutnya jenis herbal jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) merupakan tanaman tradisional dan mempunyai efek antibakteri dan antiinflamasi pada mencit Balb/c yang diinfeksi *S.typhi*. Pengaruh ekstrak kulit jeruk nipis terhadap kolonisasi dan



pertumbuhan *S.typhi* yang dimediasi oleh aktivitas sitokin proinflamasi IL-6. Kadar sitokin proinflamasi IL-6 meningkat pada hari ke 5 setelah injeksi *S. typhi* dan menurun kembali pada hari ke 10 setelah intervensi ekstrak kulit jeruk nipis. Dari hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak kulit jeruk nipis dapat menurunkan kadar serum IL-6 dan menghambat pertumbuhan koloni *S. typhi* pada mencit Balb/c, sehingga ekstrak kulit jeruk nipis berpotensi sebagai antibakteri dan antiinflamasi (Kasim, dkk, 2020).

Peran *Astragalus* (MLC901) dapat terlihat dalam mereduksi vacular endothelial growth factor (VEGF) sebagai penanda permeabilitas vaskular pada binatang percobaan dengan cedera tulang belakang. Kerusakan jaringan saraf akibat spinal cord injury (SCI) dapat menginduksi VEGF yang dapat memperburuk kondisi pada fase lanjut dengan meningkatkan permeabilitas pembuluh darah, sehingga menyebabkan edema dan infark jaringan.

*Astragalus* (MLC 901) telah banyak digunakan di Asia untuk pasien stroke karena mekanismenya diketahui menurunkan kadar VEGF pada jaringan iskemik. Pada penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian *Astragalus* (MLC 901) dapat menekan ekspresi mRNA VEGF pada binatang percobaan dengan SCI mulai dari 3 jam sampai hari ke 14 setelah cedera tulang belakang. (Wahyudi, dkk, 2022).

Penelitian sebelumnya dengan menggunakan ekstrak daun Miana (*Coleus scutellarioides* (L.) Benth.) atau daun Miana ungu yang merupakan salah satu sumber daya alam yang berasal dari Kabupaten Soppeng di Sulawesi Selatan pada penderita periodontitis dan hubungannya dengan ekspresi mRNA sitokin anti-inflamasi IL-10. Pemberian ekstrak daun Miana berpengaruh nyata sama dengan

pemberian antibiotik levofloksasin terhadap ekspresi mRNA IL-10 pada binatang percobaan dengan periodontitis yang disebabkan infeksi *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Amsyah,dkk, 2019).

Selanjutnya, Ekstrak daun Miana (*Coleus scutellariodes* (L.) Benth. (L) Benth) berpengaruh terhadap ekspresi mRNA IL-37 pada mencit Balb/c yang diinfeksi *Candida albicans*. Pada penelitian ini ditemukan bahwa pemberian ekstrak daun Miana dengan dosis 750 mg/kg berat badan pada hewan model kandidiasis vulvovaginal yang disebabkan *C. albicans* akan meningkatkan ekspresi mRNA IL-37. Efek ekstrak daun Miana sebagai fungistatik sama dengan antifungal ketoconazole dan bersifat anti-inflamasi melalui perannya sebagai antioksidan sehingga berpotensi digunakan sebagai pengobatan alternatif pada infeksi khususnya pasien kandidiasis vulvovaginal. (Karo,dkk, 2018).

Rosamarlina, dkk, 2021 menemukan bahwa pengaruh Miana (*Coleus scutellariodes* (L.) Benth.) terhadap ekspresi VEGF pada binatang percobaan yang diinfeksi *M.tuberculosis*. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun miana dapat mengatur TLR 4, jumlah sel T CD4, kadar IFN- $\gamma$ , dan TNF- $\alpha$ . VEGF memediasi angiogenesis dan vasodilatasi untuk menyediakan oksigenasi dan akses bagi sel imun pada keadaan hipoksia terutama akibat infeksi. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian Miana dapat menekan kadar VEGF pada mencit yang diinfeksi *M. tuberculosis* (Rosamarlina,dkk, 2021).

Selanjutnya, perubahan kadar protein Hypoxia Inducible Factor-1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ) dan Intercellular Adhesion Molecule-1 (ICAM-1) setelah pemberian Miana (*Coleus scutellariodes* (L.) Benth. (L.) Benth.) pada mencit Balb/c dengan infeksi

*M.tuberculosis*. Kadar protein HIF-1 $\alpha$  dan ICAM-1 menurun setelah pemberian ekstrak daun Miana pada mencit Balb.c yang diinfeksi *M. tuberculosis*, sehingga ekstrak daun Miana dapat menjadi suplemen dalam pengobatan anti-TB yang potensial tetapi tidak dapat menggantikan rifampisin sebagai obat anti-TB (Rosamarlina, dkk, 2022).

Pada penelitian sebelumnya, tentang ekspresi mRNA gen TLR-4 pada mencit Balb/c yang diinduksi *S. typhi* setelah pemberian ekstrak daun Miana (*Coleus scutellaroides* (L.) Benth) memberikan pengaruh yang sama dengan pemberian antibiotik terhadap ekspresi mRNA gen TLR-4 (Syamsuri, dkk, 2018).

Mekanisme molekuler dan imunologi dari ekstrak daun Miana (*Coleus scutellaroides* (L.) Benth. [L] Benth) pada infeksi yang disebabkan mikroorganisme telah banyak diketahui, terutama yang berhubungan dengan anti-inflamasi, antioksidan and antibacterial. Ekstrak daun Miana memiliki peran potensial dalam mengatur respon imun terhadap infeksi. Beberapa penelitian telah mengungkapkan mekanisme molekuler ekstrak daun Miana dalam respon imun, seperti meningkatkan IL 37, IL 10, mengatur regulasi TLR-4, IFN- $\gamma$  dan NF-k $\beta$ . Mekanisme molekuler dan imunologi dari ekstrak daun Miana dalam proses respon imun tubuh sangat kompleks dan dapat melibatkan berbagai jalur inflamasi. (Yanto, dkk, 2020).