

DISERTASI

EFEK CURCUMIN TERHADAP EKSPRESI GEN mRNA Cathelicidin Antimicrobial Peptide (CAMP) dan Kadar Reseptor Vitamin D (VDR) PADA MENCIT BALB/c YANG TELAH TERINDUKSI DENGAN *SALMONELLA TYPHI*

Effect of Curcumin on Gene mRNA Expreessin of Cathelicidin Antimicrobial Peptide (CAMP) and Vitamin D Receptor in BALB/c Mice that has been Induced with *Salmonella Typhi*



**AMI FEBRIZA ACHMAD
C013171004**

**SEKOLAH PASCASARJANA
PROGRAM DOKTOR ILMU KEDOKTERAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN**

2020

**EFEK CURCUMIN TERHADAP EKSPRESI GEN mRNA Cathelicidin
Antimicrobial Peptide (CAMP) dan Kadar Reseptor Vitamin D (VDR) PADA
MENCIT BALB/c YANG TELAH TERINDUKSI DENGAN *SALMONELLA*
*TYPHI***

Disertasi

Sebagai Salah Satu Syarat untuk mencapai Gelar Doktor

Program Studi

Ilmu Kedokteran

Disusun dan diajukan oleh

AMI FEBRIZA ACHMAD

Kepada

PROGRAM STUDI S3 ILMU KEDOKTERAN

SEKOLAH PASCA SARJANA

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2020

DISERTASI

**EFEK CURCUMIN TERHADAP EKSPRESI GEN mRNA CATHELICIDIN
ANTIMICROBIAL PEPTIDE (CAMP) DAN KADAR RECEPTOR VITAMIN D (VDR)
PADA MENCIT BALB/C YANG TELAH TERINDUKSI DENGAN
SALMONELLA TYPHI**


Disusun dan diajukan oleh

**AMI FEBRIZA ACHMAD
C013171004**

telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Disertasi
pada tanggal 4 September 2020
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui
Komisi Penasehat,



Prof. dr. Rosdiana Natzir, Ph.D, Sp.Biok(K)
Promotor


Prof. Dr. dr. Suryani Asjad, M.Sc, Sp.GK(K)
Ko-Promotor


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

Ketua Program Studi S3
Ilmu Kedokteran,

Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas Hasanuddin


dr. Agussalim Bukhari, M. Med, Ph.D, Sp.GK (K)


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

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Ami Febriza Achmad

Nomor Mahasiswa : C013171004

Program Pendidikan : Doktor (S3)

Program Studi : Ilmu Kedokteran

Menyatakan secara benar, jujur dan bertanggung jawab bahwa disertasi yang berjudul "Efek Curcumin terhadap Ekspresi mRNA Gen Cathelicidin Antimicrobial Peptide (CAMP) dan Kadar Reseptor Vitamin D (VD) pada Mencit BALB/c yang telah diinduksi dengan *Salmonella typhi*" adalah **asli dan bukan plagiat/bebas dari plagiat**.

Jika dikemudian hari ternyata disertasi ini sebagian/seluruhnya mengandung unsur plagiat maka disertasi dibatalkan dan bersedia menerima sanksi secara hukum dari Fakultas maupun Universitas.

Demikian Surat Pernyataan ini dibuat tanpa tekanan siapapun.

Makassar 23 Agustus 2020



Ami

Ami Febriza Achmad

DAFTAR TIM PENGUJI

PROMOTOR : Prof. dr. Rosdiana Natzir, Ph.D, Sp.Bio

CO-PROMOTOR : Prof. Dr. dr. Suryani As'ad, M.Sc, Sp.GK(K)

CO-PROMOTOR : Prof. dr. Mochammad Hatta, Ph.D, Sp.MK(K)

ANGGOTA :

1. Prof. Dr. Yusminah Hala, MS
2. Prof. dr. Budu, Ph.D, Sp.M(K), M.Med.Ed
3. Prof. Veni Hadju, M.Sc, Ph.D
4. Prof. Dr. Gemini Alam, M.Sc, Apt
5. Dr. dr. Burhanuddin Bahar, MS
6. dr. Cahyono Kaelan, Ph.D, Sp.PA(K), Sp.S

PRAKATA

Segala puji dan syukur penulis panjatkan pada Allah SWT atas nikmat kesempatan dan keseharian serta karuniaNya sehingga dapat menyelesaikan penulisan disertasi dengan judul “Efek Curcumin terhadap Ekspresi mRNA Gen Cathelicidin Antimicrobial Peptide (CAMP) dan Kadar Reseptor Vitamin D (VD) pada Mencit BALB/c yang telah diinduksi dengan *Salmonella typhi*”. Disertasi ini merupakan salah satu syarat untuk mencapai gelar kesarjanaan S3 di Universitas Hasanuddin Program Studi Ilmu Kedokteran.

Selesainya penulisan disertasi ini berkat bantuan berbagai pihak, sehingga penulis ingin menyampaikan rasa hormat, terima kasih dan penghargaan tak terhingga pada **Prof.dr. Rosdiana Natzir, Ph.D, Sp.Biok** sebagai Promotor, **Prof. Dr.dr. Suryani As’ad, M.Sc, Sp.GK(K)** dan **Prof. dr. Mochammad Hatta, Ph,D, Sp.MK(K)** sebagai co-promotor yang telah banyak memberikan inspirasi, membantu mengatasi masalah, memberikan bimbingan dan motivasi sampai penulis dapat menyelesaikan disertasi ini.

Terima kasih juga kepada tim penguji, **Prof. Dr. Yusminah Hala, MS, Prof. dr. Budu, Ph.D, Sp.M(K), M.Med.Ed** yang senantiasa membimbing, memberikan inspirasi dan memotivasi terus menerus. **Prof. Veni Hadju, M.Sc, Ph.D** dan **Prof. Dr. Gemini Alam, M.Sc, Apt** yang dalam penulisan ini sangat banyak memberikan masukan dan arahan. Dr. dr. Burhanuddin Bahar, MS yang sangat baik dan bersedia meluangkan waktu untuk berdiskusi dalam pengolahan data penelitian saya. Serta **dr. Cahyono Kaelan, Ph.D, Sp.PA(K), Sp.S** yang memberikan dukungan dalam penelitian ini.

Penulis juga menyampaikan terima kasih yang sangat dalam sebagai wujud penghargaan yang tulus kepada kedua orang tua tercinta ayahanda Achmad Habib dan ibunda Adrina Zadaruddin. Teristimewa kepada suami tercinta Iqramansyah terima kasih yang tak terhingga atas segala kesabaran, semangat, motivasi dan dukungan moril dan material serta curahan doa selama penulis menempuh pendidikan. Kepada ananda kami tersayang Ayla Muzayna, Muh. Azzam, dan Aleena Mayesha, terima kasih atas dukunagn, pengertian dan doa kalian selama penulis menjalani pendidikan ini.

Penulis juga ingin mengucapkan terima kasih setinggi-tingginya kepada :

1. LPDP yang telah memberikan bantuan beasiswa pendidikan BUDI DN selama penulis mengikuti pendidikan di Universitas Hasanuddin.
2. Jajaran Pimpinan Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Makassar yang telah memberikan izin kepada penulis untuk mengikuti pendidikan program S3 Ilmu Kedokteran Universitas Hasanuddin, serta senantiasa mendukung segala proses pendidikan penulis.
3. Seluruh staf dan pengajar S3 Ilmu Kedokteran Universitas Hasanuddin yang telah banyak membantu penulis dalam menyelesaikan proses administrasi dan lainnya selama penulis mengikuti proses pendidikan.
4. Semua pihak yang telah ikut membantu dalam kelancaran penulisan disertasi ini.

Tiada kata dapat kami ucapkan selain ungkapan terima kasih yang tidak terhingga serta panjatan doa kepada Allah SWT, semoga bantuan, simpati dan doa yang disampaikan penulis mendapat balasan dan pahala yang berlipat dari Allah SWT. Semoga disertasi ini dapat bermanfaat bagi semua masyarakat. Amin.

Makassar, September 2020

Penulis

Ami Febriza Achmad

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL.....	i
HALAMAN PERSETUJUAN.....	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI.....	iv
LEMBAR PENGUJI	v
PRAKATA.....	vi
ABSTRAK.....	viii
ABSTRACT.....	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xiii
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
A. LATAR BELAKANG	1
B. RUMUSAN MASALAH.....	2
C. PERTANYAAN PENELITIAN.....	2
D. TUJUAN PENELITIAN.....	3
E. MANFAAT PENELITIAN.....	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
A. TINJAUAN TENTANG CURCUMIN	5
B. TINJAUAN TENTANG CATHELICIDIN ANTIMICROBIAL PEPTIDE ...	9
C. TINJAUAN TENTANG VITAMIN D.....	20
D. HUBUNGAN CURCUMIN, VITAMIN D DAN	23
CATHELICIDIN ANTIMICROBIAL PEPTIDE (CAMP)	
E. TINJAUAN TENTANG SALMONELLA TYPHI.....	24
F. TINJAUAN TENTANG IMUNITAS	36
G. KERANGKA TEORI	44
H. KERANGKA KONSEP.....	45
I. DEFENISI OPERASIONAL	45
J. HIPOTESIS.....	46

BAB III. METODE PENELITIAN.....	47
A. RANCANGAN PENELITIAN	47
B. LOKASI DAN WAKTU PENELITIAN	47
C. SUBJEK PENELITIAN.....	48
D. BAHAN DAN PROTOKOL PENELITIAN	49
E. JENIS DAN CARA PENGUMPULAN DATA.....	55
F. ANALISIS DATA	56
G. ETIKA PENELITIAN	56
H. ALUR PENELITIAN	59
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	62
A. HASIL.....	62
B. PEMBAHASAN.....	70
BAB. V KESIMPULAN DAN SARAN.....	75
A. KESIMPULAN	75
B. SARAN	76
DAFTAR PUSTAKA.....	77
LAMPIRAN	

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Senyawa Curcumin (i)	5
Gambar 2. Senyawa Curcumin (ii)	6
Gambar 3. Gambar skematik interaksi peptida antimikroba LL-37 atau cathelicidin dengan membrane plasma hewan dan membran sitoplasma bakteri	9
Gambar 4. Gambar resonansi magnetik nuklear LL-37 yang terikat pada misel dodecylphosphocholine. Gambar menunjukkan struktur heliks α -amphipathic dan mendukung mekanisme <i>carpet-like mechanism</i>	13
Gambar 5. Struktur dasar cathelicidin LL-37/hCAP 18 untuk manusia dan CRAM tikus	14
Gambar 6. Gambar skematik gen CAMP dan Proses Pembentukan Cathelicidin (LL-37).....	15
Gambar 7. Sintesis Cathelicidin/hCAP18	16
Gambar 8. Fungsi Biologik yang Multipel dari Cathelicidin yang Berfungsi Sebagai Pertahanan Alamiah pada Permukaan Epitel Inang Melawan Infeksi Bakteri	19
Gambar 9. Sintesis dan Metabolisme Vitamin D	21
Gambar 10. Mekanisme vitamin D memodulasi sekresi cathelicidin dan beta-2-defensi	24
Gambar 11. Klasifikasi S. Typhi	25
Gambar 12. Mikroskopis kuman Salmonella	27
Gambar 13. Gambar kuman S. typhi secara skematik	28
Gambar 14. Struktur dinding bakteri Sel Gram Negatif	29
Gambar 15. Skema Patofisiologi Infeksi Demam Tifoid.....	32
Gambar 16. Skema Patogenesis Infeksi Demam Tifoid	34
Gambar 17. Lokasi seluler dari reseptor sistem imun alami	40
Gambar 18. Fungsi sinyal Toll-Like Receptor	41

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Jenis Peptida Antimikroba Pada Manusia.....	10
Tabel 2. Cathelicidin antimicrobial peptide yang telah teridentifikasi pada mamalia.....	11
Tabel 3. Zat Yang Dapat Meningkatkan Ekspresi gen CAMP	17
Tabel 4. Klasifikasi <i>Salmonella</i> menurut Kauffman-White.....	28
Tabel 5. PAMPs dan DAMPs pada Imunitas Innate	38
Tabel 6. Perbedaan dinamika perhitungan koloni bakteri antar kelompok sebelum intervensi (H3) setelah intervensi (H10) dan 3 minggu setelah intervensi (H30).....	62
Tabel 7. Perbedaan dinamika kadar Vitamin D Reseptor antar kelompok pada baseline, sebelum intervensi (H3) setelah intervensi (H10) dan 3 minggu setelah intervensi (H30)	64
Tabel 8. Perubahan rerata kadar vitamin D Reseptor pada masing-masing kelompok pada baseline, sebelum intervensi (H3) setelah intervensi (H10) dan 3 minggu setelah intervensi (H30).....	65
Tabel 9. Perbedaan dinamika ekspresi mRNA gen CAMP antar kelompok pada baseline, sebelum intervensi (H3) setelah intervensi (H10) dan 3 minggu setelah intervensi (H30).....	67
Tabel 10. Perubahan rerata ekspresi mRNA gen CAMP pada masing-masing kelompok pada baseline, sebelum intervensi (H3) setelah intervensi (H10) dan 3 minggu setelah intervensi (H30).....	68
Tabel 11. Korelasi jumlah koloni bakteri, kadar Vitamin D dan ekspresi mRNA gen CAMP.....	70

ABSTRACT

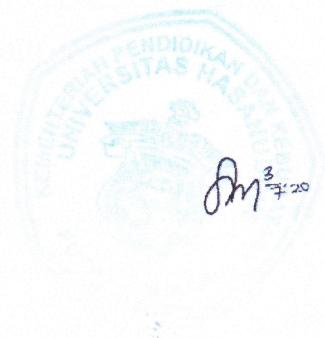
AMI FEBRIZA ACHMAD. *The Effect of Curcumin on Cathelicidin Antimicrobial Peptide (CAMP) mRNA Gene Expression and Vitamin D Receptor (VDR) Levels in Mice Having been Induced with Salmonella Typhi* (supervised by **Rosdiana Natsir, Suryani As'ad, and Mochammad Hatta**)

The aim of this study is to determine the effect of curcumin on Cathelicidin (CAMP) mRNA gene expression and Vitamin D receptor (VDR) levels in mice having been induced with *Salmonella typhi*.

This research type was an experimental laboratory research with a pre-test post-test with control group design. The sample consisted of 25 BALB / C mice divided into five study groups. The data were analyzed statistically using paired T test, repeated Anova test, and Pearson correlation test.

The results of the research indicate that curcumin at a dose of 200 mg/kg BB, 400 mg/kg BB, 200 mg/kg BB and Vitamin D, and positive control group with Levofloxacin are able to increase CAMP mRNA gene expression after intervention for five days. Such an increase is the highest in the group given a positive control with Levofloxacin and almost coincides with curcumin group of 200 mg/kg BB and Vitamin D. Mice group that receives curcumin treatment, together with Vitamin D indicates an increase with a mean level of CAMP mRNA gene expression after five days of administration (mean \pm SD; H3; 8.05 ± 0.47 , H10; 13.53 ± 0.22 , p-value 0.002).

Key words: curcumin, CAMP, VDR, *Salmonella typhi*



ABSTRAK

AMI FEBRIZA ACHMAD. *Efek Curcumin terhadap Ekspresi gen mRNA Cathelicidin Antimicrobial Peptide (CAMP) dan Kadar Vitamin D Reseptor (VDR) pada Mencit yang Telah Diinduksi oleh Salmonella typhi (dibimbing Rosdiana Natzir, Suryani As'ad, Mochammad Hatta).*

Penelitian ini bertujuan mengetahui efek curcumin terhadap ekspresi gen mRNA gen Cathelicidin (CAMP) dan kadar Vitamin D Reseptor (VDR) pada mencit yang telah diinduksi dengan Salmonella typhi.

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratorium dengan desain pretest posttest with control group. Sampel terdiri dari dua puluh lima mencit BALB/C yang dibagi dalam lima kelompok penelitian. Analisis dilakukan secara statistik dengan menggunakan uji paired T, uji repeated anova dan uji korelasi Pearson.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa curcumin dosis 200 mg/kgBB, curcumin dosis 400 mg/kgBB, curcumin 200 mg/kgBB dan Vitamin D, serta kelompok kontrol positif dengan Levofloxacin, mampu meningkatkan ekspresi mRNA gen CAMP, setelah intervensi selama 5 hari peningkatan ekspresi mRNA gen CAMP paling tinggi pada kelompok yang diberikan kontrol positif yang diberikan Levofloxacin, dan hampir berhimpitan dengan kelompok curcumin 200 mg/kgBB dan vitamin D. Kelompok mencit yang mendapatkan terapi curcumin bersama vitamin D, memperlihatkan peningkatan rata-rata kadar ekspresi mRNA gen CAMP setelah pemberian terapi selama 5 hari (mean \pm SD H3; 8.05 \pm 0.47, H10; 13.53 \pm 0.22, p-value 0.002).

Kata kunci: *Curcumin, CAMP, VDR, Salmonella Typhi*

Ami Febriza Achmad
2020

BAB I

PENDAHULUAN

A. LATAR BELAKANG

Salmonella Typhi atau *S.Typhi* adalah basil Gram negatif yang menyebabkan demam tifoid pada manusia. Bakteri ini bisa bertahan dalam phagosome sehingga bisa lolos dari sistem imunitas tubuh. Beberapa komplikasi demam tifoid yaitu perforasi ileum, bakteremia, dan infeksi endovaskular (1,2). Terapi umum demam tifoid adalah agen antimikroba, seperti kloramfenikol, ampicilin, dan Cotrimoxazole (trimetoprim-sulfametoksazol). Cotrimoxazole biasanya digunakan untuk terapi demam tifoid pada orang dewasa dan anak-anak, termasuk carrier, sebagai alternatif ampicilin dan kuinolon. Cotrimoxazole menghambat sintesis asam folat yang dibutuhkan oleh bakteri untuk mensintesis asam nukleat (3). Curcumin adalah senyawa aktif utama curcuma (*Curcuma longa*), yang banyak digunakan sebagai terapi tradisional untuk demam dan gangguan gastrointestinal di benua Asia. Curcumin memiliki efek anti-inflamasi dan anti-bakteri. Ini mungkin berikatan dengan reseptor vitamin D dan merangsang ekspresi protein anti-bakteri yang disebut Cathelicidin (4,5).

Antibiotik pertama untuk mengobati demam tifoid adalah kloramfenikol, digunakan pada tahun 1948 dan selanjutnya menjadi terapi pilihan sampai tiga dekade di samping ampicilin dan trimetoprim-sulfametoksazol (6,7). Laporan pertama mengenai resistensi *S. Typhi* terhadap kloramfenikol pada tahun 1974 (8), dua puluh tahun kemudian dilaporkan resistensi *S. Typhi* terhadap kloramfenikol, ampicilin, dan trimetoprim-sulfametoksazol, atau dikenal sebagai MDR (multiple drug resistance) *S. typhi* (9). Saat ini peningkatan resistensi *S.Typhi* terhadap terapi lini kedua yaitu sefalosporin generasi ke-3 dan golongan kuinolon juga telah banyak dilaporkan (10–13).

Mekanisme anti-mikroba kurkumin berkorelasi dengan kemampuannya untuk mengikat reseptor vitamin D (VDR) sebagai ligan potensial. Kondisi ini meningkatkan ekspresi peptida antimikroba Cathelicidin (CAMP) dan membasmi bakteri. Selain itu, Curcumin dapat meningkatkan ekspresi mRNA CAMP; sehingga dapat meningkatkan kadar Cathelicidin pada jaringan(4). Cathelicidin adalah peptida kecil yang memiliki kesamaan struktur dengan protein antimikrobal lainnya, seperti defensin. Cathelicidin memiliki kemampuan untuk membasmi bakteri Gram positif dan Gram-negatif dan juga beberapa jamur dan parasit. Cathelicidin menginfiltrasi

membran bakteri untuk mengubah integritas membran, namun beberapa bakteri diketahui memiliki resistensi intrinsik terhadap Cathelicidin. Bakteri-bakteri seperti *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus pyogenes*, dan *Proteus mirabilis*, dapat mensintesis enzim protease tertentu yang dapat menghancurkan Cathelicidin (14).

Berdasarkan banyaknya kasus resistensi terhadap antibiotik dalam kasus demam tifoid, maka upaya mengkombinasikan antara agen antimikroba dan obat herbal telah menjadi topik tren terkini. Namun penelitian tidak cukup untuk membuktikan bahwa kombinasi ini bermanfaat untuk mengobati demam tifoid. Masih banyak penelitian diperlukan untuk menemukan kemungkinan efek kombinasi ini. Penelitian ini didahului dengan studi eksplorasi untuk memastikan efek antimikroba dari curcumin terhadap *S. Typhi*.

B. RUMUSAN MASALAH

Berdasarkan latar belakang seperti tersebut di atas, maka dapat diajukan beberapa rumusan masalah sebagai berikut :

1. Apakah curcumin berpengaruh pada ekspresi gen mRNA CAMP (Cathelicidin Antimicrobial Peptide) pada mencit balb/c yang telah diinduksi dengan *Salmonella Typhi*?
2. Apakah curcumin berpengaruh pada kadar Vitamin D Reseptor (VDR) pada mencit balb/c yang telah diinduksi dengan *Salmonella Typhi*?
3. Apakah curcumin berpengaruh pada jumlah kolonisasi bakteri pada mencit balb/c yang telah diinduksi dengan *Salmonella Typhi*?

C. PERTANYAAN PENELITIAN

1. Apakah terdapat perbedaan tingkat ekspresi gen mRNA CAMP (Cathelicidin Antimicrobial Peptide) pada kelompok mencit yang mendapatkan curcumin dosis 200 mg/kg BB, curcumin dosis 400 mg/kg BB, curcumin 200 mg/kg BB dan vitamin D, dan membandingkan dengan kelompok kontrol levofloxacin 750 mg?
2. Apakah terdapat perbedaan kadar Vitamin D Reseptor (VDR) pada kelompok mencit yang mendapatkan curcumin, curcumin dan vitamin D, dan membandingkan dengan kelompok kontrol levofloxacin 750 mg?
3. Apakah terdapat perbedaan jumlah kolonisasi bakteri *Salmonella Typhi* pada kelompok mencit yang mendapatkan curcumin dosis 200 mg/kg BB,

curcumin dosis 400 mg/kg BB, curcumin dosis 200 mg/kg BB dan vitamin D, serta membandingkan dengan kelompok kontrol levofloxacin 750 mg ?

D. TUJUAN PENELITIAN

TUJUAN UMUM

Untuk mengetahui efek curcumin terhadap ekspresi gen mRNA CAMP (Cathelicidin Antimicrobial Peptide) dan kadar Vitamin D Reseptor (VDR) pada mencit balb/c yang telah terinduksi dengan *Salmonella Typhi*

TUJUAN KHUSUS

1. Untuk mengetahui efek pemberian curcumin dosis 200 mg/kg BB, curcumin 400 mg/kgBB, curcumin 200 mg/kg BB dan vitamin D terhadap jumlah koloni bakteri antar kelompok sebelum intervensi (H3) setelah intervensi (H10) dan 3 minggu setelah intervensi (H30), dibandingkan dengan kelompok kontrol pada mencit bab/c yang diinduksi *Salmonella Typhi*
2. Untuk mengetahui efek pemberian curcumin dosis 200 mg/kg BB, curcumin 400 mg/kgBB, curcumin 200 mg/kg BB dan vitamin D terhadap kadar vitamin D Reseptor antar kelompok sebelum intervensi (H3) setelah intervensi (H10) dan 3 minggu setelah intervensi (H30), dibandingkan dengan kelompok kontrol pada mencit bab/c yang diinduksi *Salmonella Typhi*
3. Untuk mengetahui efek pemberian curcumin dosis 200 mg/kg BB, curcumin 400 mg/kgBB, curcumin 200 mg/kg BB dan vitamin D terhadap ekspresi mRNA gen CAMP (Cathelicidin Antimicrobial Peptide) antar kelompok sebelum intervensi (H3) setelah intervensi (H10) dan 3 minggu setelah intervensi (H30), dibandingkan dengan kelompok kontrol pada mencit bab/c yang diinduksi *Salmonella Typhi*
4. Untuk mengetahui hubungan antara dosis curcumin dengan jumlah koloni bakteri, kadar Vitamin D Reseptor dan ekspresi mRNA gen CAMP (Cathelicidin Antimicrobial Peptide) pada mencit bab/c yang diinduksi *Salmonella Typhi*

E. MANFAAT PENELITIAN

Pada dasarnya suatu penelitian tidak dapat memecahkan semua masalah yang ada, akan tetapi selalu diupayakan untuk mempersempit kesenjangan antara kenyataan. Penelitian ini tidak tertutup dari keterbatasan, tetapi masih diharapkan dapat memberikan manfaat baik dalam bidang ilmu maupun praktis.

1. Aspek Teoritis (keilmuan)

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan sumber informasi tentang mekanisme efek curcumin sebagai anti-mikroba dalam infeksi *Salmonella Typhi*

2. Aspek Penelitian

Sebagai data yang bisa dijadikan dasar untuk penelitian lanjutan curcumin sebagai obat herbal terstandar

3. Aspek Praktis

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan gambaran tentang efek anti-mikroba curcumin sehingga diharapkan dapat digunakan sebagai terapi adjuvant yang dapat meningkatkan efektivitas terapi utama, sehingga akan mengurangi jumlah kolonisasi bakteri *Salmonella Typhi*

BAB II

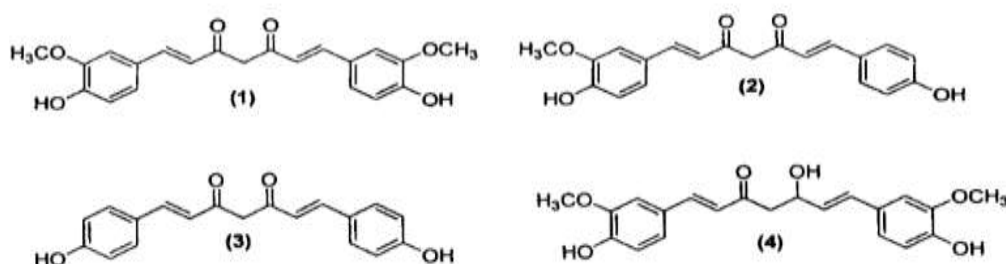
TINJAUAN PUSTAKA

A. TINJAUAN TENTANG CURCUMIN

1. Senyawa Curcumin

Curcumin merupakan senyawa kurkuminoid yang merupakan pigmen warna kuning pada rimpang temulawak dan kunyit. Senyawa ini termasuk golongan fenolik. Kurkuminoid yang sudah diisolasi berwarna kuning atau kuning jingga, dan berasa pahit. Kurkuminoid mempunyai aroma yang khas dan tidak bersifat toksik. Kelarutan kurcumin sangat rendah dalam air dan eter, namun larut dalam pelarut organik seperti etanol dan asam asetat glasial. Curcumin stabil pada suasana asam, tidak stabil pada kondisi basa dan adanya cahaya. Pada kondisi basa dengan pH di atas 7,45, 90% kurcumin terdegradasi membentuk produk samping berupa trans-6-(4'-hidroksi-3'-metoksifenil)-2,4-dioksa-5-heksenal (mayoritas), vanilin, asam ferulat dan feruloil metan. Sementara dengan adanya cahaya, kurcumin terdegradasi menjadi vanilin, asam vanilat, aldehyd ferulat, asam ferulat dan 4-vinilguaiakol (15).

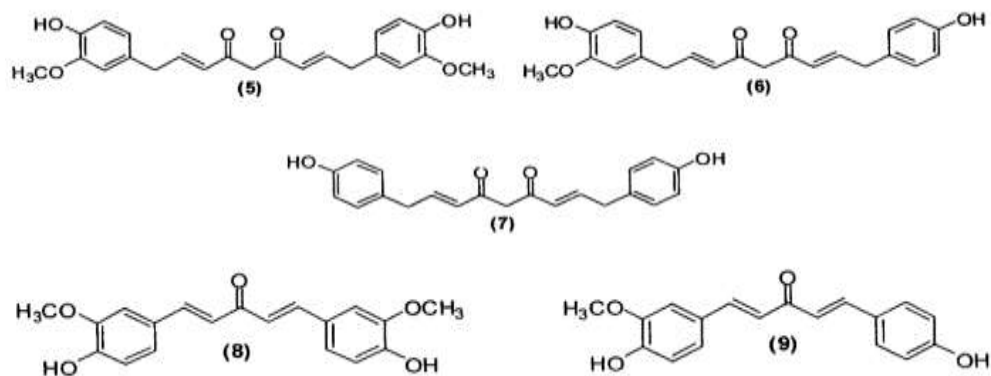
Senyawa kurkuminoid yang diisolasi dari rimpang tanaman kunyit antara lain bisferuloilmetan atau curcumin(1), 4-hidroksi-sinamoil feruloil atau demetoksikurcumin(2) dan bis(4-hidroksisinamoil)-metan atau bisdemetoksikurcumin(3) yang merupakan senyawa turunan diariheptanoid, disamping itu ditemukan juga suatu turunan kurkuminoid yang tidak simetri, yaitu dihidrokurcumin(4) (16).



Gambar 1. Senyawa Curcumin (i)

Hasil yang juga diperoleh dari isolasi *Curcuma longa* adalah beberapa turunan curcumin berupa homolog dengan rantai C9 yang diberi nama Curcumin I (5), Curcumin II (6) dan Curcumin III (7) selanjutnya diisolasi pula beberapa homolog

curcumin dengan rantai C5 yaitu 1,5-bis(4-hidroksi-3-metoksifenil)-penta-(1E,4E)-1,4 dien-3-on (**8**) dan 1-(4-hidroksi-3-metoksifenil)-5(4-hidroksifenil)-penta-(1E,4E)-1,4-dien-on (**9**) (16).



Gambar 2. Senyawa Curcumin (ii)

2. Efek Curcumin

2.1 Anti Inflamasi

Aktivitas curcumin dalam kunyit yang banyak diteliti dalam satu dekade terakhir ini adalah aktivitasnya sebagai obat anti inflamasi. Suatu penelitian (17), menyatakan bahwa pemberian curcumin dengan dosis 1000 mg/kg BB pada tikus yang di injeksi dengan karagenin 1% menunjukkan efek anti-inflamasi dengan terjadinya menekan atau menghambat udem sebesar 78,3 %. Laporan lain tentang efek anti inflamasi curcumin, yang menyatakan efek anti inflamasi curcumin dengan dosis 50-200 mg/kg BB dan pengurangan ukuran edema sebanyak 50% bisa dicapai dengan dosis 48 mg/kg (18).

Anti-inflamasi curcumin karena curcumin mampu menghambat biosintesis prostaglandin. Hambatan biosintesis prostaglandin ini dengan jalan menghambat aktivitas protein Cyclooxygenase-2. Protein ini berperan sebagai katalisator biosintesis prostaglandin dari asam arakidonat (19).

Cyclooxygenase-2 (COX-2) mengkatalis sintesis prostanoid, yaitu famili metabolit dari asam arakidonat. Termasuk prostaglandin, prostasiklin dan tromboksan. COX-2 adalah isoform yang bisa terinduksi karena adanya growth factor, sitokin dan molekul pro-inflamasi yang lain. Adanya enzim COX-2 ini, maka mediator radang dilepaskan sehingga menyebabkan terjadinya inflamasi yang ditandai dengan 4 hal, yaitu kemerahan, nyeri, kebengkakan dan kenaikan suhu (20).

Curcumin telah terbukti dapat menghambat sejumlah molekul yang berbeda yang terlibat dalam inflamasi termasuk fosfolipase, lipooksigenase, COX-2, leukotrien, tromboksan, prostaglandin, oksida nitrat, kolagenase, elastase, hyaluronidase, MCP-1, protein interferon-inducible, faktor nekrosis tumor, dan interleukin-12 (19).

Penelitian telah membuktikan bahwa bisdemethylcurcumin (BDC) lebih manjur sebagai agen anti-inflamasi seperti yang ditunjukkan oleh penekanan aktivasi NF- κ B yang menginduksi pembentukan TNF, lebih potent sebagai anti-proliferatif, dan dalam menginduksi spesies oksigen reaktif (ROS). Analog hispolon, yang kekurangan satu unit aromatik dalam kaitannya dengan kurkumin, juga menunjukkan peningkatan aktivitas anti-inflamasi dan anti-proliferatif (21). Efek menguntungkan dari kurkumin sebagai anti inflamasi pada sepsis dimediasi oleh upregulasi PPAR- γ , yang menyebabkan penekanan sitokin pro-inflamasi, ekspresi dan pelepasan TNF- α (22).

2.2 Anti Oksidan

Curcumin yang diisolasi dari kunyit sangat potensial sebagai antioksidan yang diduga disebabkan oleh gugus fenolik dan 1,3diketon. Senyawa antioksidan alami polifenolik ini bersifat multifungsional dan dapat berfungsi sebagai (1) penangkal radikal bebas seperti superoksida dan radikal hidroksil, (2) pengkelat logam seperti besi (Fe) (3) menghambat aktivitas enzim oksidatif seperti sitokrom p-450, dan (4) peredam terbentuknya oksigen radikal (23). Aktivitas antioksidan gugus fenolik ditunjukkan dengan adanya penghambatan lipid peroksidasi dan penangkal radikal bebas seperti 1,1'diphenyl picryl hydrazyl (DPPH) dan 2,2'-azinobis (3-ethyl-benthiazoline-6-sulphonic acid (ABTS+) (24).

Penelitian terhadap pemberian curcumin pada punggung mencit menunjukkan penghambatan pertumbuhan sel tumor kulit yang terinduksi oleh benzo[a]piren atau DMBA (7,12-dimetilbenz[a]anthrasen). Aktivitas antioksidan senyawa curcumin dapat terjadi karena pembentukan radikal bebas dihambat oleh senyawa kurkumin dengan cara menekan aktivitas sitokrom p450 (isoenzim yang penting untuk bioaktivasi awal pada benzo[a]pyrene) atau adanya spesies oksigen reaktif dideaktivasi secara enzimatik oleh GST (glutathione S-transferase) sehingga dapat menghambat aktivitas mutagenik dari benzo[a]pyrene (24,25).

3. Efek Antimikroba Curcumin

Pada penelitian Ramprasad dan Sirsi (26) menunjukkan bahwa, curcumin mempunyai sifat antibakteri, terutama terhadap *Micrococcus pyrogenes var. aureus*. Fenol dan senyawa turunannya dalam curcumin telah terbukti mempunyai sifat bakteristatik dan bakterisidal sehingga sering digunakan sebagai desinfektan. Senyawa fenol berfungsi sebagai antimikroba dengan cara mendenaturasi protein sel dan merusak membran sel dan bersifat aktif terhadap sel vegetatif bakteri, tetapi tidak terhadap spora bakteri. Curcumin juga diduga memiliki struktur yang mirip dengan senyawa nordihidroguaiaretik (NDGA) yang mempunyai sifat antibakteri yang kuat. Penelitian oleh Shih dan Harris melaporkan bahwa NDGA pada konsentrasi 1000 ppm mempunyai pengaruh letalitas yang kuat terhadap *Escherichia coli* (27).

Penelitian yang dilakukan oleh Tyagi, et al bertujuan untuk melihat aktivitas antibakteri curcumin, terhadap empat kelompok bakteri, yaitu Gram positif (*Staphylococcus aureus* dan *Enterococcus faecalis*) dan Gram negatif (*Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*). Hasil penelitian tersebut membuktikan kebocoran membran pada bakteri Gram negatif dan Gram positif pada paparan curcumin (28). Sebuah penelitian oleh Rai, et al menunjukkan bahwa curcumin dapat menghambat proliferasi sel bakteri dengan menghambat dinamika perakitan FtsZ (protofilamen bakteri), yang mengalami polimerasi membentuk cincin Z (Z-ring) pada bagian tengah sel yang memicu pembelahan/proliferasi sel bakteri. Perakitan dan stabilitas protofilamen FtsZ telah terbukti berperan penting dalam sitokinesis bakteri. Hasilnya, curcumin menghambat pembentukan cincin Z sitokinetik (Z-ring), sehingga akan menghambat proliferasi bakteri (29).

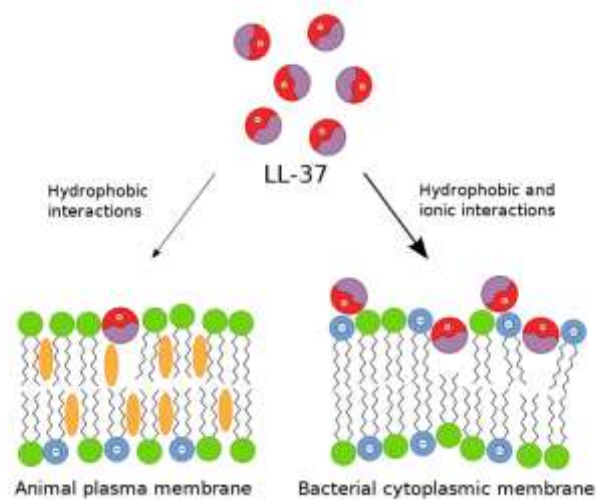
Pada penelitian *in vivo* menunjukkan bahwa pemberian dosis curcumin 100 mg/kg, melindungi tikus dari pneumonia yang disebabkan oleh *S. aureus*, termasuk strain resisten methicillin (MRSA), dengan target pada protein α -hemolysin (HIIa) *S. Aureus* (30). Penelitian *in vivo* lain terhadap mencit yang diinduksi dengan *S. Typhi*, setelah tiga hari pemberian curcumin dosis 200 mg/kg, terdapat banyak koloni bakteri yang pada bagian distal ileum. Namun, jumlah koloni ini berkurang setelah lima hari pemberian curcumin (31).

B. TINJAUAN TENTANG CATHELICIDIN ANTI MICROBIAL PEPTIDE (CAMP)

1. Peptida Antimikroba

Antimicrobial peptides (AMP) atau peptide antimikroba adalah suatu grup molekul yang diproduksi oleh sel-sel dan jaringan dalam tubuh makhluk hidup yang berperan penting sebagai sistem pertahanan tubuh, mulai dari prokariot hingga manusia diketahui memproduksi AMP di dalam tubuhnya (32). Peptida antimikroba diketahui berperan aktif sebagai antibakteria dan anti jamur. Beberapa diantaranya bahkan mempunyai efek sebagai antivirus dan anti parasit (33).

Peptida antimikroba berasal dari prekursor yang lebih besar dan tersusun dari panjang rantai 100 asam amino, bersifat kationik pada pH netral, amfipatik (memiliki kedua sifat hidrofilik dan hidrofobik dalam strukturnya), dan memiliki aktivitas antimikroba spektrum luas. Aktivitas antimikroba yang tinggi dan sitotoksisitas yang relatif rendah adalah karena adanya perbedaan mendasar dalam komposisi lipid membran organisme bakteri dan multiseluler. Di sisi luar membran bakteri, terdapat sangat banyak fosfolipid yang bermuatan negatif, sedangkan di sisi luar membran organisme multiseluler tidak memiliki muatan. Dengan demikian, karakter kationik dari peptida antimikroba menjelaskan spesifisitasnya terhadap membran bakteri (34).



Gambar 3. Gambar skematik interaksi peptida antimikroba LL-37 atau cathelicidin dengan membrane plasma hewan dan membran sitoplasma bakteri (34)

Selain itu, AMP sangat bervariasi dalam struktur. Contoh sederhana, AMP tersusun mulai dari rantai peptida single α -heliks, ikatan β -sheet dan disulfida yang mengandung peptida. Pada manusia ada dua kelas utama AMP, defensins dan

cathelicidin. Beberapa defensin berbeda telah ditemukan pada manusia, namun hanya satu jenis cathelicidin (34).

Defensin adalah famili peptida antimikroba yang memiliki karakteristik ikatan β -sheet dan kerangka tiga jembatan disulfida. Defensin memiliki aktivitas antimikroba yang luas dan banyak diekspresikan oleh sel epitel manusia dan sel-sel darah. Ada dua famili defensin yang diekspresikan pada manusia, yaitu α dan β -defensin, dikategorikan berdasarkan lokasi sistein dan pola disulfida-jembatan. α -defensin paling menonjol diekspresikan oleh sel Paneth di usus halus dan neutrofil, sementara β -defensin lebih banyak diekspresikan oleh berbagai sel darah dan epitel. Beberapa peptida antibakteri pada manusia yang telah diidentifikasi dapat dilihat pada tabel berikut (34).

Tabel 1. Jenis Peptida Antimikroba Pada Manusia

Famili	Nama lain	Referensi
α-defensin	HNP1	(35)
	HNP2	
	HNP3	
	HNP4	
	HD5	
	HD6	
β-defensin	hBD-1	(35,36)
	hBD-2	
	hBD-3	
	hBD-4	
Cathelicidin	LL-37	(37)

2. Cathelicidin Antimicrobial Peptide (CAMP)

Peptida antimikroba merupakan molekul efektor dari sistem imun alamiah yang memegang peranan sentral dalam pertahanan sebagai antimikroba. Cathelicidin merupakan salah satu jenis peptida antimikroba (38), merupakan peptida molekul kecil (terdiri dari 12-100 asam amino) yang mempunyai aktivitas antimikroba

spektrum luas, diperkirakan mempunyai fungsi dalam sistem imun alamiah, sebagai pertahanan pertama melawan mikroorganisme (39).

Cathelicidin memiliki prosequence N-terminal, diikuti oleh sequence variabel C-terminal, yang memiliki aktivitas antimikroba tinggi saat terbentuk secara enzimatik. Karena prosequence tersebut sangat identik dengan protein yang disebut cathelin, yang pada awalnya diidentifikasi sebagai inhibitor Cathepsin L, maka nama cathelicidin pun diambil untuk kelompok peptida antimikroba ini (40). Cathelicidin, dalam berbagai jumlah, telah ditemukan di setiap spesies mamalia sampai saat ini.

Manusia dan tikus mempunyai satu cathelicidin, sedangkan sapi dan babi mempunyai beberapa cathelicidin (41). Cathelicidin manusia dan tikus disandi oleh gen yang serupa dan mempunyai struktur α -heliks, spektrum antimikroba, serta distribusi di jaringan yang serupa sehingga cathelicidin tikus sering dipakai sebagai analisis *in vivo* cathelicidin manusia (42).

Tabel 2. Cathelicidin antimicrobial peptide yang telah teridentifikasi pada mamalia

Spesies	Cathelicidin antimicrobial peptide (CAMP)
Kuda	eCATH-1, -2, dan -3
Babi	Prophenin, PR-39, PAMP-23, -36, & -37, Protegrins 1-5
Sapi	Indolicidin, dodecapep, Bac5 & 7, BAMP-27, -28 & -34
Domba	s-dodecapep, oaBac6 & 11, sBac5 & 7.5, SAMP-29 & -34
Kambing	chBac5 & 7.5, chMAP-28 & -34
Kera	RL-37
Manusia	LL-37, hCAP18
Kelinci	CAP18
Mencit (mouse)	CRAMP
Tikus (rat)	rCRAMP

Seperti ditunjukkan pada Tabel 2, manusia hanya memiliki satu peptida antimikroba cathelicidin yang disebut LL-37 (43) atau hCAP18, yang merupakan pro-peptida (44). Nama LL-37 berdasarkan peptida yang mature, terdiri dua residu leusin dan mengandung total 37 asam amino. Sedangkan hCAP-18, berasal dari homolog

kelinci CAP18, sebuah peptida antimikroba kationik berukuran 18 kDa. Dalam disertasi ini, peptida mature akan disebut LL-37, prekursor LL-37 disebut sebagai pro-LL-37, prekursor dengan sinyal peptida disebut sebagai pra-pro-LL-37 dan gennya disebut sebagai sebagai CAMP.

Cathelicidin pada manusia disebut human cathelicidin anti-microbial protein (hCAP) yang terdiri dari sebuah domain C-terminal aktif yang terdiri dari 37 asam amino sehingga disebut juga LL-37 yang mencerminkan panjang dari residu 37 asam amino dengan residu 2 leusin (44,45). Human cathelicidin anti-microbial protein mempunyai massa molekul 18 kDa sehingga disebut juga hCAP18 (44,46). Studi in vitro telah mengkonfirmasi peranan antiinfeksius dari hCAP18 maupun hubungannya yang erat dengan metabolisme vitamin D dan mekanisme lainnya dari imunitas alamiah (45).

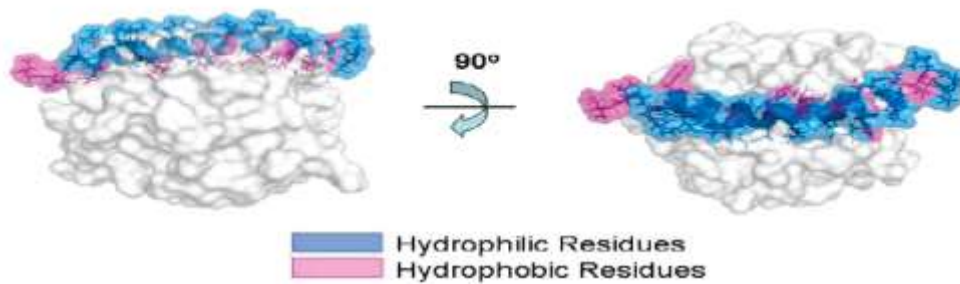
3. Struktur Molekul Cathelicidin Antimicrobial Peptide (CAMP)

Human cathelicidin anti-microbial protein mempunyai massa molekul 18 kDa sehingga disebut juga hCAP18 (44,46) dengan struktur α -helikal dengan 2 jembatan disulfida terletak di antara 2 molekul sistein (C85-C96 dan C107-C124) (46). Molekul hCAP18 berisi domain N-terminal tidak aktif (yang merupakan lokasi katelin) dan C-terminal PAM (LL-37) (14). Katelin adalah domain tidak aktif dari ketelisin, diaktivasi oleh kerja serin protease untuk memunculkan domain multifungsional yang sangat spesifik (38). Katelin merupakan sebuah protein dari procine neutrophils yang menghambat protease cathepsin L (karenanya disebut cath-e-L-in) (47).

Setelah aktivasi hCAP18, LL-37 dilepas ke plasma, selanjutnya aktivitas antimikroba diperankan oleh struktur α -helikal. Komposisi ionik, pH atau kadar garam di lingkungannya memengaruhi struktur α -helikal mengganggu aktivitas antibakterial dari LL-37. Pada pH plasma yang lebih tinggi, struktur α -helikal akan terpelihara dan menjamin aktivitas mikrobial peptida. Pada keadaan dengan $\text{pH} < 7,2$, peptida sebagian besar membuka dan tidak aktif. Human cathelicidin antimicrobial protein mempunyai struktur amfifilik dengan fragmen hidrofobik dan hidrofilik yang memungkinkan interaksinya baik di lingkungan encer (aqueous) maupun membran lipid (14).

LL-37 mengadopsi struktur heliks α -amphipathic dalam larutan yang mengandung konsentrasi garam fisiologis (48). Karena muatan positif membrannya, ia memiliki afinitas yang kuat terhadap membran lipid bakteri, yang memiliki

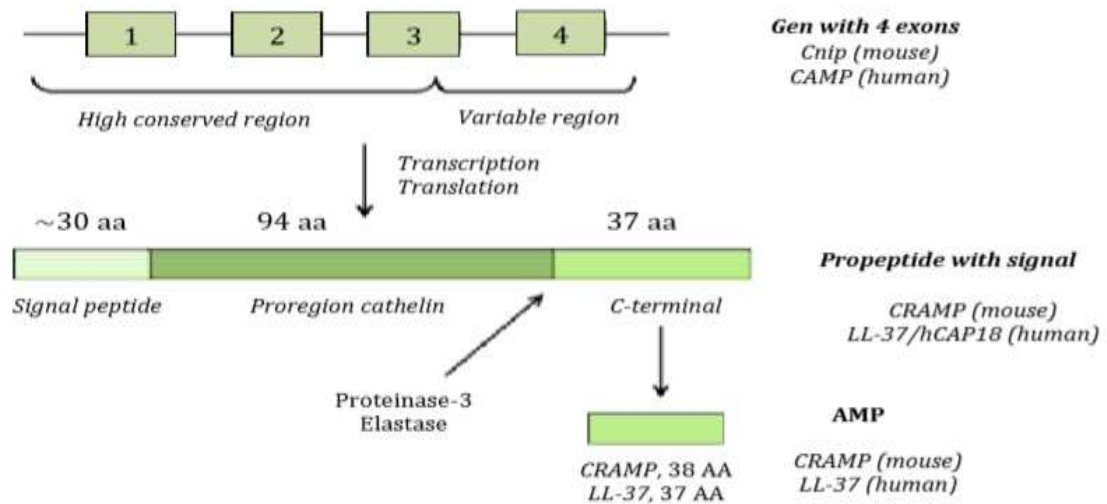
fosfolipid bermuatan negatif pada sisi luar membran. Berbagai penelitian menunjukkan, bahwa LL-37 merusak membran bakteri melalui mekanisme seperti karpet (*carpet-like mechanism*) (37,49) dan tidak membentuk pori-pori sebagai yang dilakukan oleh komplemen dan perforin.



Gambar 4. Gambar resonansi magnetik nuklear LL-37 yang terikat pada misel dodecylphosphocholine. Gambar menunjukkan struktur heliks α -amphipathic dan mendukung mekanisme *carpet-like mechanism* (50)

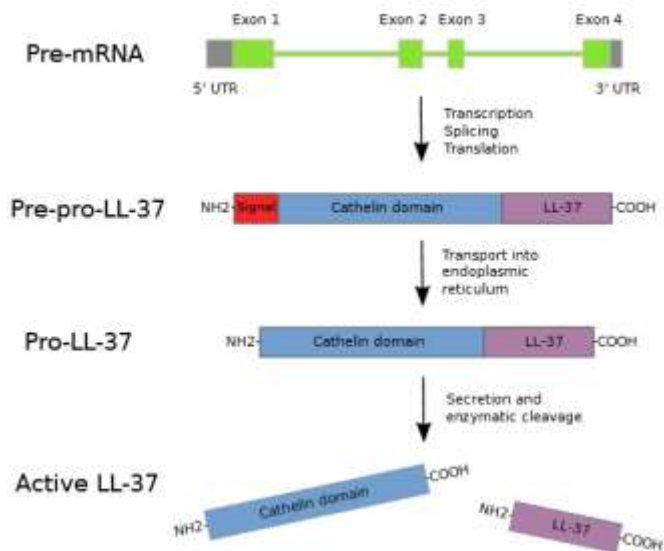
4. Struktur Genetik Cathelicidin Antimicrobial Peptide (CAMP)

Struktur genetik hCAP18 dengan panjang 2 kb terdiri dari 4 ekson dan 3 intron seperti yang terlihat pada Gambar 6 (40). Ekson 1-3 menyandi sinyal peptida dan domain katelin, sedangkan ekson ke-4 menunjukkan tempat yang dibelah dan muncul peptida aktif LL-37(40,51) Proteolitik memecah molekul prekursor tidak aktif untuk melepaskan PAM C-terminal matur dari prodomain katelin yang dikerjakan oleh elastase (Panyutich dkk., 1997) atau proteinase-3 (Sorensen dkk., 2001) pada saat degranulasi dari neutrofil yang teraktivasi (activated neutrophils).



Gambar 5. Struktur dasar cathelicidin LL-37/hCAP 18 untuk manusia dan CRAMP tikus. Manusia dan tikus mengekspresikan cathelicidin tunggal yang disandi oleh gen dan struktur alfa-heliks serupa. Cathelicidin disintesis sebagai sebuah protein prekursor tidak aktif dengan sebuah amino-terminal signal sequence, sebuah domain katelin sentral, dan sebuah domain PAM karboksi-terminal tidak aktif (40)

Gen cathelicidin anti-microbial peptide (CAMP) terletak pada kromosom 3 (3p21) dekat gen-gen lainnya yang mempunyai fungsi sama seperti gen untuk macrophage colony stimulating factor 1 (sebuah sitokin antivirus), gen untuk hepatocyte growth factor like protein (sebuah faktor multifungsional yang diperlukan dalam reparasi jaringan dan angiogenesis), gen untuk collagen VII alpha-1 polypeptide (sebuah protein yang bertanggung jawab untuk integritas jaringan), dan gen gen untuk natural killer-tumour recognition (sebuah molekul yang terlibat dalam aktivitas limfosit T-killer). Berdasarkan sebuah studi, cathelicidin up-regulates 49 gen, mengontrol ekspresi beberapa kemokin atau reseptor kemokin (CXCR-4, CCR2) dan beberapa sitokin (IL-8) (51). Transkripsi CAMP ditingkatkan selama infeksi bakteri, virus, jamur atau protozoa. Kalsitriol [1,25(OH)2D] adalah penginduksi transkripsi cathelicidin mRNA yang sangat kuat (52).



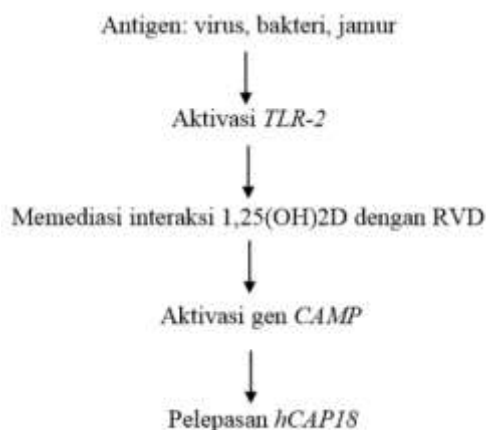
Gambar 6. Gambar skematik gen CAMP dan Proses Pembentukan Cathelicidin (LL-37) (34)

Gen CAMP tersusun dari empat ekson. Tiga ekson pertama mengkode peptida sinyal dan bagian pro cathelin, sedangkan yang ekson keempat mengkode sebuah situs pengolahan (*processing site*) dan peptida. Setelah proses transkripsi dan translasi, pre-pro-LL-37 dihantarkan ke retikulum endoplasma, sementara sinyal peptida dibelah selama proses tersebut berlangsung. Bergantung pada jenis dan keadaan sel, pro-LL-37 kemudian diangkut lebih lanjut dan disimpan dalam granula, atau langsung disekresikan. Pro-LL-37 yang disekresikan kemudian dirubah menjadi LL-37 oleh enzim proteinase 3 yang dihasilkan oleh granula azurophil neutrofil (53).

Cathelicidin anti-microbial peptide disintesis oleh sejumlah sel seperti sel-sel polimorfonuklear (PMN), monosit, limfosit, mastosit, dan sel-sel epitel seperti keratinosit atau sel-sel saluran cerna, saluran respiratori, dan endotelial genitalia. Pada orang sehat, kadar plasma hCAP18 antara 50-80ng/mL. Cathelicidin anti-microbial peptide disintesis dan disimpan sebagai sebuah preproprotein. Adanya rangsangan antigen, prekursor secara enzimatik membelah peptida terminal LL-37 yang merupakan domain aktif secara biologis, kemudian LL-37 dilepas ke plasma, ruangan ekstraselular atau ke saliva, susu, sekresi sudaripera, cairan seminal, dan amnion. Human cathelicidin anti microbial protein 18 mempunyai peran penting dalam pertahanan alamiah yang cepat melalui sintesis pada sel-sel pengawal (sentinel cells)

seperti sel-sel epitel dan endotel, maupun pelepasan yang cepat ke dalam plasma oleh sel-sel darah setelah stimulasi spesifik.

Vitamin D memediasi sintesis cathelicidin melalui ekspresi RVD. Molekul-molekul mikrobial seperti asam lipoteikoat, peptidoglikan, dan lipopolisakarida atipikal dari spesies *Leptospira* dan *Porphyromona gingivalis*, lipomanan dari famili mikobakteria, sejumlah antigen virus dan jamur, mengaktivasi toll-like receptors 2 (TLR-2), kemudian reseptor ini akan mencetuskan respon yang dimediasi oleh vitamin D berupa interaksi antara 1,25(OH)₂D dengan RVD. Interaksi ini akan mengaktivasi gen *CAMP* untuk mengekspresikan cathelicidin. Peningkatan atau penurunan ekspresi RVD akan mengubah kadar cathelicidin. Pada keadaan adanya rangsangan oleh infeksi, kadar vitamin D juga meningkatkan ekspresi TLR-2, memungkinkan peningkatan respon terhadap aktivasi TLR. Beberapa polimorfisme gen yang menyandi TLR-2 atau RVD berperan terhadap terjadinya sepsis yang serius yang disebabkan oleh bakteri Gram positif atau infeksi oleh mikobakterium. Bukti ini menempatkan vitamin D sebagai faktor terpenting dalam regulasi cathelicidin dan dapat menjelaskan kerja antimikrobia yang dihubungkan dengan vitamin D (54). Secara skematis sintesis cathelicidin terlihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Sintesis Cathelicidin/hCAP18

5. Regulasi Ekspresi Gen *CAMP*

Mekanisme terperinci terhadap regulasi gen *CAMP* (Cathelicidin Antimicrobial Peptide) masih belum diketahui, dimana Cathelicidin ditemukan mengalami upregulasi jika terdapat infeksi bakteri (55). Telah ditunjukkan, bahwa produk dari bakteri akan meningkatkan ekspresi Cathelicidin pada sel manusia yang dikultur (56),

yang mengindikasikan peran Cathelicidin berperan dalam melawan infeksi. Bukti lebih lanjut memperlihatkan peran Cathelicidin dalam pertahanan bakteri, yaitu bahwa *Shigella* (57) dan *Neisseria gonorrhoeae* (58) menyebabkan downregulasi Cathelicidin sebagai bagian dari mekanisme invasi bakteri tersebut.

Penginduksi ekspresi gen CAMP yang paling ampuh adalah 1,25-dihydroxyvitamin D₃ (1,25(OH)₂ D₃), yang merupakan bentuk aktif dari vitamin D. 1,25(OH)₂ D₃ bekerja melalui reseptor vitamin D (VDR) yang kemudian mengikat elemen responsif vitamin D (VDRE), sekitar 500 bp hulu promotor gen CAMP (54,59) Selain itu, histone deacetylase inhibitor butirir dan trichostatin A, telah terbukti menginduksi ekspresi gen CAMP (54,60) Sebuah penelitian baru-baru ini (61) mengemukakan, zat tersebut bekerja langsung pada promotor CAMP dengan meningkatkan asetilasi histone dan dengan demikian membuka struktur kromatin untuk transkripsi. Tabel dibawah ini merangkum semua zat yang dapat meningkatkan ekspresi gen CAMP, yang telah diidentifikasi.

Tabel 3. Zat Yang Dapat Meningkatkan Ekspresi gen CAMP

Zat	Referensi
1,25-dihydroxyvitamin D ₃	(54,59)
Butyrate	(60,62)
Trichostatin A	(62)
Lithocholic acid	(63)
Lipopolysaccharide	(56)
Interleukin-6	(56)
Retinoic acid	(56)

6. Mekanisme Kerja Cathelicidin

Cathelicidin anti-microbial peptide mempunyai kerja yang multipel. Beberapa studi melaporkan kerja cathelicidin adalah sebagai berikut: aktivitas antimikrobia (64), aktivitas kemotaktik PMN, monosit, limfosit, dan mastosit (65), pelepasan histamin oleh sel mast (66), stimulasi ekspresi gen (51), aktivitas antitoksik dengan berikatan dengan lipopolisakarida yang merupakan endotoksin basil Gram negatif (51),

angiogenesis (67), aktivasi sel-sel epitel selama trauma dan reepitelisasi kulit selama infeksi kulit (68), dan regulasi diferensiasi sel dendritik (69).

7. Mekanisme Anti Mikroba Cathelicidin

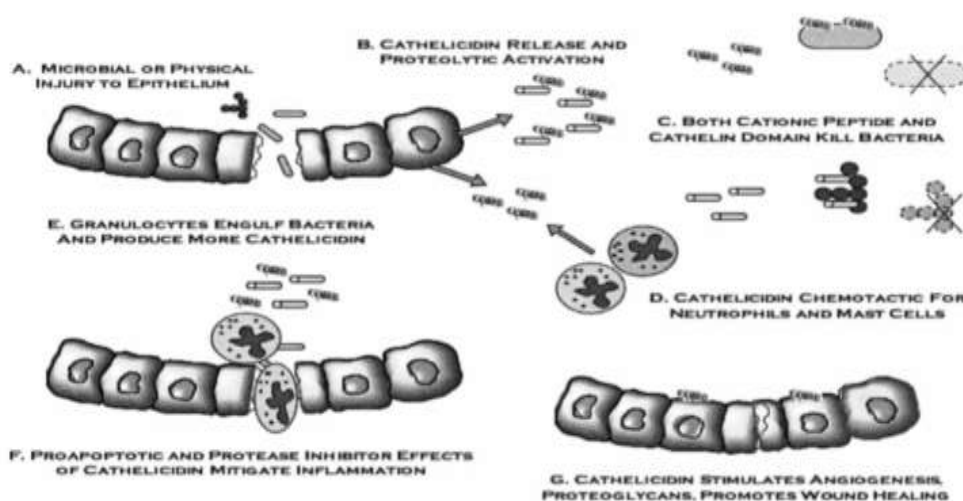
Sebagian besar efek antimikroba secara langsung dari cathelicidin dapat dikaitkan dengan struktur fisiknya serta sifat kationik dan hidrofobik yang dimilikinya (70). Heliks N-terminal berperan dalam kemotaksis dan pertahanan terhadap proteolisis, sedangkan heliks C-terminal bertanggung jawab untuk efek antimikroba. Cathelicidin menuju membran mikroba, lalu menutupi permukaan membrane mikroba tersebut, dan melubangnya, membentuk pori-pori pada membran yang akhirnya menghancurkan kuman. Cathelicidin pada dasarnya mengikat membran sel yang mengandung lipopolisakarida (Gram-negatif) atau asam teichoic (Gram-positif) dengan muatan negatif, berbeda dengan membran zwitterionik eukariota. Cathelicidin juga memiliki kemampuan sebagai antivirus juga dengan interaksi dengan selaput kapsul dan kapsid protein.

Cathelicidin dapat berikatan dengan asam lipoteikoat maupun lipoarabinomanan, mencegah aktivasi makrofag pada infeksi stafilokokus dan tuberkulosis (51). Pada kasus-kasus tertentu, beberapa enzim proteolitik dari bakteri yang resisten dapat merusak cathelicidin maupun antimicrobial peptide lainnya (71).

Induksi proses autophagy pada sel monosit atau makrofag manusia adalah mekanisme yang memperhitungkan kemampuan Cathelicidin untuk membunuh patogen intraselular. Autophagy adalah proses biologis yang sangat primitif yang berfungsi untuk memastikan homeostasis sitoplasma sel (72). Saat proses autophagy aktif, beberapa bahan sitoplasma terjebak di dalam vakuola membran ganda yang disebut autophagosome, kemudian bergabung dengan lisosom, menjadi autophagolysosome. Di dalamnya, enzim lisosom menghancurkan semua bahan yang terperangkap tadi. Autophagy pada mulanya berfungsi utama untuk mendaur ulang nutrisi dari molekul yang rusak, namun sekarang diketahui bahwa autophagy terlibat dalam berbagai macam proses, termasuk aktivitas antimikroba (73,74).

Cathelicidin adalah protein penting dalam pembentukan dan menjalankan fungsi autophagosomes dan autophagolysosomes pada sel monosit manusia (72–74), tapi bukan satu-satunya, karena banyak mekanisme lain yang menginduksi autophagy yang terlepas dari sistem calcitriol-cathelicidin yang telah ditemukan. Cathelicidin menginduksi ekspresi dua faktor kunci untuk pengembangan autophagy, beclin-1 dan

autophagin (Atg)-5 (72–75). Kedua protein, beclin-1 dan autophagin (Atg)-5, penting untuk proses pematangan autophagy dan penggabungan autophagosom dan lisosom. Autophagy yang dimediasi oleh kurkumin, puasa sel, atau rapamycin tidak diatur oleh sistem calcitriol-cathelicidin (74).



Gambar 8. Fungsi Biologik yang Multipel dari Cathelicidin yang Berfungsi Sebagai Pertahanan Alamiah pada Permukaan Epitel Inang Melawan Infeksi Bakteri (14)

Cathelicidin memiliki efek tambahan, yang dapat bervariasi tergantung pada konsentrasi local (75). Telah ditunjukkan secara in vitro, misalnya bahwa pada dosis kurang dari 1 mol, Cathelicidin membantu menginduksi kemositaksis neutrofil dan kelangsungan hidup neutrofil, dan merangsang angiogenesis dan migrasi fibroblas dan proliferasi (bermanfaat efek pada penyembuhan luka), sementara konsentrasi sangat tinggi, biasanya di luar yang dicapai dalam respons yang biasa, memiliki efek sitotoksik dan pro-inflamasi (75).

Selain efek bakterisidal dengan merusak membran bakteri, hCAP18 juga dapat menetralkan LPS yang diproduksi oleh bakteri Gram negatif, proteksi terhadap syok endotoksik melalui tiga mekanisme (76) : [a] menghambat reseptor sel-sel dendritik TLR-4, jadi mencegah aktivasinya dan respon terhadap LPS, [b] memblokir pelepasan TNF- α pada tingkat limfosit CD14, dan [c] memblokir senyawa lainnya pada proses inflamasi seperti nitric oxide, tissue factor, PGE2, kemokin, dan lain-lain.

Sebagai antimikrobal melawan virus, bakteri, dan jamur, kerja cathelicidin cepat dan tidak selektif. Cathelicidin memperlihatkan efek yang berbeda pada kadar yang berbeda. Untuk bakteri Gram positif, efek antibakterial terlihat pada kadar 0,75 μ M, sedangkan untuk Gram negatif pada kadar $>5 \mu$ M, dan untuk aktivitas

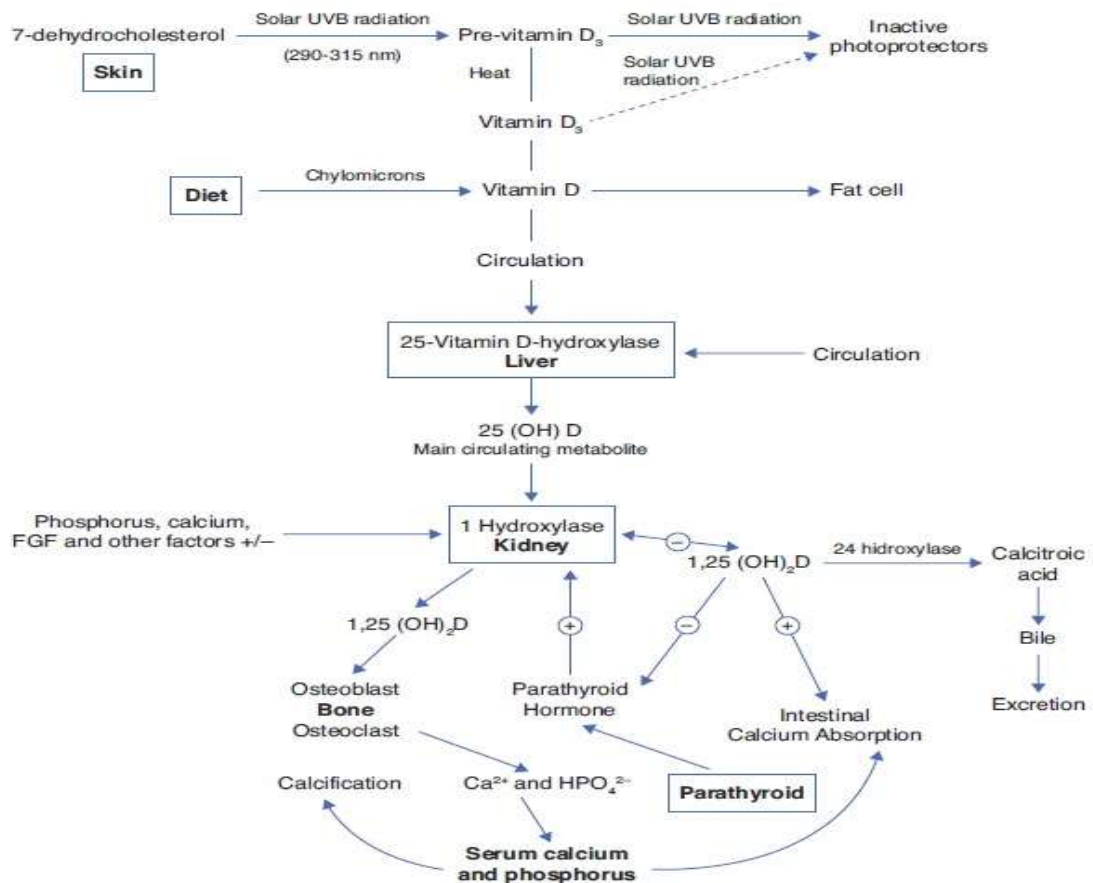
kemotaktik pada kadar $10 \mu\text{M}$. Kadar $>15 \mu\text{M}$ bersifat sitotoksik dan perlu secara cepat di-non-aktifkan dengan berikatan dengan lipoprotein plasma (apolipoprotein A). Efek antibakteri hCAP18 berhubungan dengan keadaan lingkungan fisik dan kimiawi, dan juga ditingkatkan oleh imunomodulator dan aktivitas yang berhubungan dengan kemotaktik (45).

Penelitian tentang cathelicidin pada dewasa oleh Gombart, et al. (77) melaporkan bahwa cathelicidin kadar rendah di sirkulasi berhubungan dengan lebih tingginya angka kematian akibat penyakit infeksi pada pasien yang menjalani hemodialisa [RO=3,7 (IK95% 1,2 sampai 11,2)]. Penelitian lain dengan desain kohort yang dilakukan pada orang dewasa penderita pneumonia, sampel dipilih secara convenient, dilakukan pada musim dingin, melaporkan bahwa baik cathelicidin maupun β -defensin-2 tidak bisa memprediksi kematian. Sebaliknya dengan vitamin D, kadar 25(OH)D $<30 \text{ nmol/L}$ meningkatkan risiko kematian dibanding kadar 25(OH)D $>50 \text{ nmol/L}$ dengan RO=12,7 (IK95% 2,2 sampai 73,3) (78).

C. TINJAUAN TENTANG VITAMIN D

1. Fisiologi dan Metabolisme Vitamin D

Ada dua sumber vitamin D bagi manusia, yaitu eksogen yang disediakan oleh diet dalam bentuk vitamin D₂ dan D₃. Dalam produksi endogen, cholecalciferol (D₃) disintesis di kulit dengan bantuan radiasi sinar ultraviolet B (UV-B) melalui fotolisis 7-dehydrocholesterol dan berubah menjadi vitamin D₃. Proses ini berlangsung dalam dua tahap, yang pertama terjadi di lapisan dalam dermis dan terdiri dalam konversi foto 7-dehydrocholesterol menjadi pra-vitamin D atau parakalsiferol. Pada tahap kedua, pra-vitamin D perlahan dan bertahap menghasilkan 1,25(OH)₂D dengan fungsi autokrin atau parakrin lokal. Beberapa faktor mengatur kadar 1,25(OH)₂D adalah 1-OHase, yang hidroksilasi diaktifkan oleh parathormon (PTH), dan kalsitonin, yang dihambat oleh kadar serum kalsium, fosfor dan 1,25(OH)₂D sendiri (79).



Gambar 9. Sintesis dan Metabolisme Vitamin D (79)

2. Vitamin D Reseptor (VDR)

Vitamin D reseptor (VDR) adalah mediator penting dari tindakan biologis $1,25(\text{OH})_2\text{D}$. VDR adalah reseptor intraseluler milik keluarga reseptor nuklir steroid/tiroid, dan dinyatakan oleh beberapa jenis sel termasuk sel-sel imun. Reseptor vitamin D juga dikenal dengan nama kalcitrol, reseptor yang dikenal sebagai NR1H1 (subfamily nuclear reseptor) yang terdapat di hampir semua sel dan jaringan tubuh manusia. Gen VDR. Terletak pada wilayah kromosom 12q13-14, terdiri dari 14 ekson (ekson 2-9) dan 6 diantaranya terletak pada region 5' yang tidak ditranslasi (ekson 1a-1f) (80).

Vitamin D reseptor (VDR) merupakan factor transkripsi ligan-diinduksi yang dimiliki oleh superfamily reseptor nuklir. Vitamin D reseptor memiliki struktur modular yang terdiri dari DNA-binding domain yang berikatan dengan C-terminal ligand-binding domain (LBD), termasuk dimerisasi RXR. Bentuk aktif dari VDR setelah berinteraksi dengan reseptor retinoid X (RXR) untuk membentuk heterodimer yang mengikat vitamin D responsive elements (VDRE), yang terletak pada promoter

gen $1,25(\text{OH})_2\text{D}$. Ikatan tersebut menyebabkan perekrutan protein koregulator lain yang penting untuk modifikasi kromatin dan aktivasi transkripsional (81).

Terbentuknya kompleks multiprotein yang mengandung VDR-RXR, enzim histone-modifying dan komponen regulator apparatus transkripsional basal merupakan kunci keberhasilan perubahan transkripsi gen yang dimediasi $1,25(\text{OH})_2\text{D}$. Vitamin D reseptor mampu meregulasi ekspresi gen tertentu, positif maupun negative melalui ikatan dengan VDRE yang terdapat di region promoter, atau menghambat ekspresi beberapa gen melalui kerja factor transkripsi antagonis, seperti nuclear factor (NF-AT dan NF- κ B) (81).

3. Vitamin D dan Sistem Imun

Pengaruh metabolit vitamin D dapat mempengaruhi dari kedua fungsi sistem kekebalan tubuh yaitu imunitas adaptif dan imunitas bawaan. Secara umum, $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ mengurangi aktivitas sistem imunitas adaptif dan meningkatkan imunitas bawaan. Dalam imunitas adaptif, $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ menghambat produksi IgG, proliferasi dan diferensiasi limfosit B dan menghambat proliferasi limfosit T. $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ juga menghambat proliferasi sel T-helper 1 (Th-1) dan dengan demikian membatasi sitokin yang diproduksi oleh sel-sel ini. Sebaliknya, $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ menginduksi sitokin T helper-2 (Th-2) dan sel T regulator (Treg). Sel Th-1 memproduksi interferon gamma (IFN- γ), interleukin-2 (IL-2) dan tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) dan sel Th-2 memproduksi IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10 dan IL-13. Mungkin karena kemampuannya menghambat respon adaptif kekebalan dan peradangan, vitamin D efektif dalam menekan gangguan autoimun, seperti rheumatoid arthritis, diabetes tipe I, penyakit radang usus dan lupus eritematosus sistemik (82).

Sistem imun bawaan segera bertindak ketika dihadapkan dengan infeksi mikroba. Proses ini melibatkan vitamin D dan myeloid dan sel-sel epitel yang mengekspresikan reseptor Toll like (TLRs), CYP27B1 dan VDR. Peptida antimikroba, termasuk α dan β -defensin dan cathelicidin, membunuh organisme dalam makrofag dan disekresikan oleh sel-sel epitel. Sebuah peptide antimikroba khas disekresi oleh epitel adalah cathelicidin anti microbial peptide (CAMP), yang juga disebut LL-37/FALL-39. Aktivasi TLR dapat meningkatkan transkripsi CYP27B1, $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ dan transkripsi CAMP. Aktivasi dan kemampuan respon CAMP terbatas jika VDR diblokir, CYP27B1 dihambat, atau kekurangan 25-hydroxyvitamin D ($25(\text{OH})\text{D}$). Hal ini menunjukkan bahwa vitamin D dengan jelas dapat

mempengaruhi sistem imunitas tubuh, baik sistem imun adaptif maupun sistem imun bawaan (82).

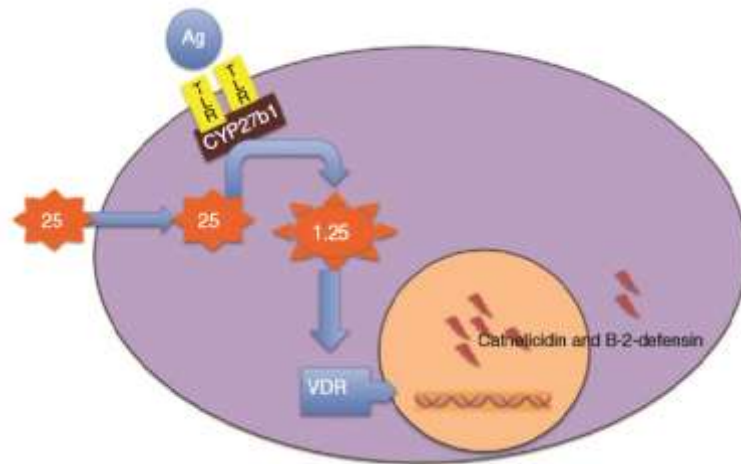
Menggunakan microarray DNA dan PCR kuantitatif analisis, Liu, et al. (83) menemukan bahwa aktivasi TLR2 dan TLR 1 oleh ligan mikrobakteri dapat meningkatkan ekspresi VDR dan CYP27B1, vitamin D 1-hidroksilase yang mengkatalis konversi vitamin D menjadi bentuk aktifnya dalam monosit dan makrofag, tetapi tidak pada sel dendritik. Cytometric aliran intraseluler dan analisis PCR kuantitatif menunjukkan bahwa perlakuan monosit dengan vitamin D meningkatkan ekspresi CYP24 (CYP24A1), vitamin D 24-hidroksilase dan cathelicidin (CAMP), sebuah peptida antimikroba, tetapi tidak pada DEF4. Stimulasi ligan TLR2 dan TLR1 meningkatkan ekspresi CYP24 dan CAMP di dalam serum manusia dan upregulation CAMP lebih efisien pada serum kaukasia dibandingkan serum Afrika-Amerika, di mana kadar vitamin D secara signifikan lebih rendah. Suplementasi vitamin D serum Afrika-Amerika membalik defek induksi CAMP. Liu mengusulkan bahwa suplementasi vitamin D pada populasi Afrika dan Asia, yang mungkin memiliki kemampuan berkurang dalam mensintesis vitamin D dari sinar ultraviolet, menjadi intervensi yang efektif dan murah untuk meningkatkan imunitas bawaan terhadap infeksi mikroba dan penyakit neoplastik.

D. HUBUNGAN CURCUMIN, VITAMIN D DAN CATHELICIDIN ANTI MICROBIAL PEPTIDE (CAMP)

Penelitian oleh Wang, et al. menunjukkan bahwa calcitriol atau 1,25-dihydroxyvitamin D menginduksi ekspresi gen dari dua peptida antimikroba pada manusia, cathelicidin dan beta-2-defensin (59). Pada tahun 2006, ditunjukkan adanya pengenalan antigen Mycobacterium tuberculosis oleh reseptor seperti Toll-like-receptors (TLRs) di membran sel monosit, atau sel yang berperan dalam imunitas alamiah (pada epitel kulit, saluran pernafasan dan genitourinaria, dll.), kemudian akan menginduksi aktivasi gen 1-hidroksilase dan Vitamin D Receptor (VDR) (83), yang diikuti oleh pengaktifan gen cathelicidin dan beta-2-defensin. Penelitian yang dilakukan oleh Liu, et al. juga menunjukkan bahwa pengaktifan tersebut memerlukan kadar 25-hydroxyvitamin D dalam batas medium (83,84) yang menunjukkan bahwa kondisi hipovitaminosis D akan membatasi produksi peptide antimikroba tersebut.

Mekanisme vitamin D memodulasi sekresi cathelicidin dan beta-2-defensin yaitu diawali oleh pengikatan beberapa antigen mikroba (Ag) ke Toll-like-reseptor

(TLRs) yang kemudian akan mengaktifasi enzim 25-hydroxyvitamin D-1-hydroxylase (CYP27B1). Enzim tersebut akan mensintesis 1,25-dihydroxyvitamin D dari 25-hydroxyvitamin D, sehingga kondisi ini sangat tergantung bergantung pada konsentrasi intraselular 25-hydroxyvitamin D. 1,25-dihydroxyvitamin D lalu berikatan pada reseptornya (VDR), dan kompleks reseptor hormon tersebut di intranuklear akan mengaktifkan transkripsi gen cathelicidin dan beta-2-defensin (84–86).



Gambar 10. Mekanisme vitamin D memodulasi sekresi cathelicidin dan beta-2-defensin (84–86)

Penelitian *in vitro* terbaru menunjukkan bahwa curcumin juga mengikat VDR dengan afinitas rendah (87). Sebagai ligand potensial untuk VDR, penelitian ini berhipotesis bahwa curcumin juga akan menginduksi ekspresi gen target VDR yang diketahui di dalam sel, yaitu gen yang menginduksi pembentukan peptida antimikroba manusia cathelicidin (CAMP). Peneliti lain mendapatkan adanya korelasi positif antara kadar cathelicidin dengan kadar vitamin D di sirkulasi pada dewasa sehat (88).

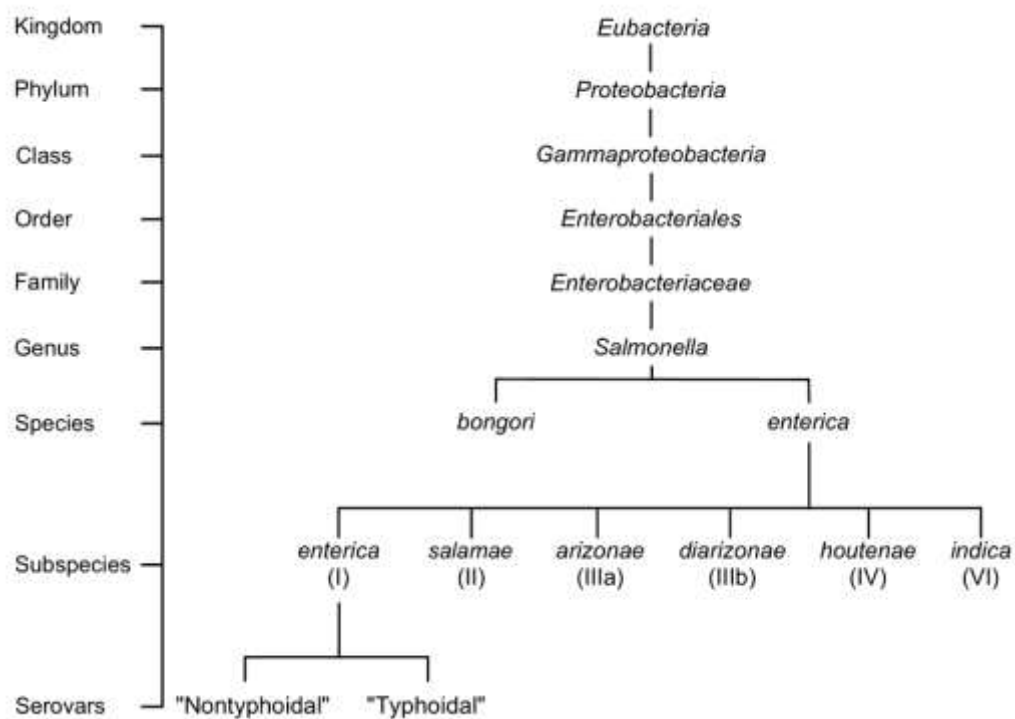
E. TINJAUAN TENTANG SALMONELLA TYPHI

1. Klasifikasi Salmonella Typhi

Klasifikasi Salmonella bersifat kompleks karena organisme ini merupakan suatu rangkaian yang berkesinambungan, dan bukan satu spesies umum. Anggota genus Salmonella awalnya diklasifikasikan berdasarkan epidemiologi, pejamu, reaksi biokimia dan struktur antigen O,H dan Vi (jika ada). Penelitian hibridasi DNA telah menunjukkan adanya tujuh kelompok evolusioner. Saat ini, genus salmonella dibagi menjadi dua spesies yang masing-masing terbagi atas banyak subspecies dan

serotype. Kedua spesies tersebut adalah *Salmonella enterica* dan *Salmonella bongori* (dahulu disebut subspecies V). *Salmonella enterica* terdiri dari lima subspecies. Subsies enterica (subsies I); subsies salamae (subsies II); subsies arizonae (subsies IIIa); subsies diarizonae (subsies IIIb); subsies houtenae (subsies IV) dan subsies indica (subsies VI) (89).

Menurut nomenklatur yang baru, *Salmonella* dibedakan menurut adanya keterkaitan DNA-nya, sehingga sekarang hanya terdapat dua spesies *Salmonella* yaitu *Salmonella bongori* dan *Salmobella enterica*. Nama semula *S.Typhi* menjadi *S. enterica serovar Typhi* yang disingkat *S.Typhi*. *Salmonella* yang menyerang manusia disebut sebagai strain dalam subsies I atau *S.enterica* (90).



Gambar 11. Klasifikasi *S.Typhi* (91)

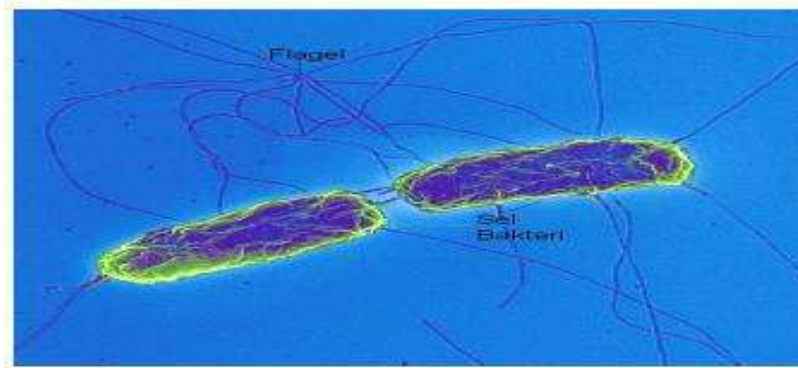
Sebagian besar penyakit pada manusia disebabkan oleh galur subspecies I. Sesekali infeksi pada manusia dapat disebabkan oleh subspecies IIIa dan IIIb atau subspecies lain yang biasanya ditemukan pada hewan berdarah-dingin, misalnya reptil. Nomenklatur klasifikasi yang mungkin akan diterima secara luas adalah sebagai berikut : *S.enterica* subspecies *enterica* serotype *Typhimurium*, yang dapat dipersingkat menjadi *Salmonella Typhimurium* dengan nama genus yang dituliskan dalam bentuk miring dan nama serotipe dituliskan dalam bentuk regular (89).

Terdapat lebih dari 2.500 serotipe salmonella, meliputi lebih dari 1.400 serotipe dalam grup I hibridisasi DNA yang dapat menginfeksi manusia. Empat serotype salmonella yang dapat menyebabkan demam enteric dapat diidentifikasi di laboratorium klinis melalui pemeriksaan serologis dan biokimia. Serotipe tersebut harus secara rutin diidentifikasi karena kepentingan klinisnya. Keempat serotype tersebut adalah *Salmonella* Paratyphi A (serogrup A), *Salmonella* Paratyphi B (serogrup B), *Salmonella* Cholerasius (serogrup C1) dan *Salmonella* Typhi (serogrup D). Lebih dari 1.400 salmonella lain yang diisolasi di laboratorium klinis dikelompokkan ke dalam serogrup berdasarkan antigen O yang dimilikinya menjadi serogrup A,B,C₁,C₂,D dan E (89).

2. Sifat Kuman

Salmonella memiliki panjang yang bervariasi. Sebagian besar isolat bersifat motil dengan flagella peritriks. *Salmonella* mudah tumbuh pada medium sederhana, tetapi hampir tidak pernah memfermentasi laktosa dan sukrosa. Bakteri ini membentuk asam dan terkadang membentuk gas dari glukosa dan manosa. Mereka umumnya menghasilkan H₂S. Organisme ini dapat bertahan hidup pada air yang beku untuk periode yang lama. *Salmonella* resisten terhadap zat kimia tertentu (misalnya *brilliant green*, natrium tetrahionat, natrium deoksikolat) yang menghambat bakteri enterik lain ; dengan demikian penambahan zat tersebut ke dalam medium bermanfaat untuk mengisolasi salmonell dari feses (89).

Etiologi demam tifoid diakibatkan oleh bakteri *Salmonella typhi* atau *Salmonella paratyphi* dari family Enterobacteriaceae. Bakteri ini merupakan bakteri gram negatif batang, tidak membentuk spora, motil, berkapsul dan berflagella (bergerak dengan rambut getar). Bakteri ini dapat hidup pada pH 6-8 pada suhu 15-41⁰C (suhu optimal 37 0C). Bakteri ini dapat mati dengan pemanasan 54,4⁰C selama satu jam dan suhu 60⁰C selama 15 – 20 menit, pasteurisasi, pendidihan dan khlorinisasi. Terjadinya penularan *S. typhi* pada manusia yaitu secara jalur fekal- oral. Sebagian besar akibat kontaminasi makanan atau minuman yang tercemar (92).



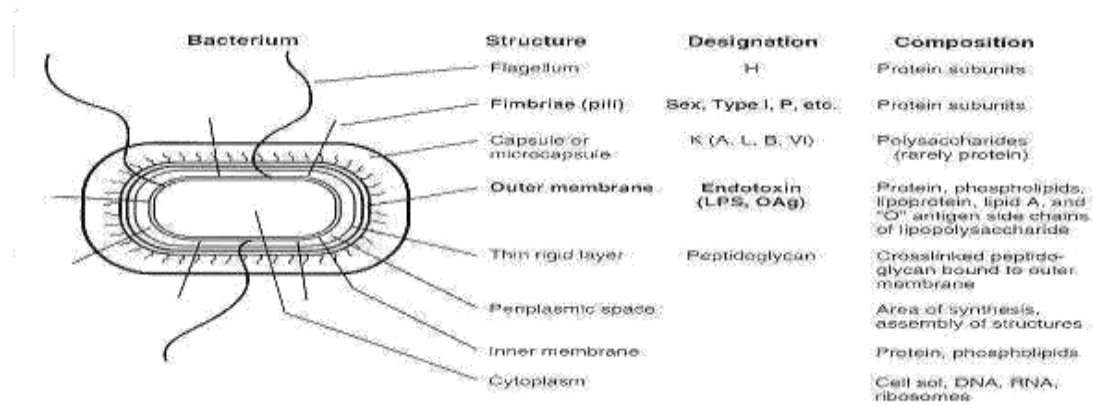
Gambar 12. Mikroskopis kuman Salmonella

3. Struktur Antigen

Struktur antigen *S. typhi* terdiri dari 3 macam antigen, yaitu:

- a) Antigen O (Antigenik somatik) merupakan bagian terpenting dalam menentukan virulensi kuman. Bagian ini mempunyai struktur kimia lipopolisakarida disebut endotoksin dan terletak pada lapisan luar dari tubuh kuman. Antigen ini bersifat hidofilik, tahan terhadap pemanasan suhu 100⁰C selama 2-5 jam dan tahan alkohol 96 % dan etanol 96% selama 4 jam pada suhu 37⁰C tetapi tidak tahan terhadap formaldehid.
- b) Antigen H (Antigen flagella) yang terletak pada flagella dan fimbria (pili) dari kuman. Flagel ini terdiri dari badan basal yang melekat pada sitoplasma dinding sel kuman, struktur kimia ini berupa protein yang tahan terhadap formaldehid tetapi tidak tahan terhadap panas dan alkohol pada suhu 60 ⁰C,. Selain itu flagel juga terdiri dari *the hook* dan filamen yang terdiri dari komponen protein polimerase yang disebut flagelin dengan BM 51-57 kDa yang dipakai dalam pemeriksaan asam nukleat kuman *S. typhi*
- c) Antigen Vi (permukaan) yang terletak pada kapsul (*envelope*) dari kuman yang dapat melindungi kuman terhadap fagositosis. Struktur kimia proteinnya dapat digunakan untuk mendeteksi adanya karier dan akan rusak jika diberi pemanasan selama 1 jam pada suhu 60 ⁰C dan pada pemberian asam serta fenol (93).

Ketiga komponen antigen tersebut di atas di dalam tubuh penderita akan menimbulkan pembentukan 3 macam antibodi yang lazim disebut agglutinin.



Gambar 13. Gambar kuman *S. typhi* secara skematik. (94)

Organisme dapat kehilangan antigen H dan menjadi nonmotil. Hilangnya antigen O berhubungan dengan perubahan bentuk koloni licin menjadi kasar. Antigen Vi dapat hilang secara parsial atau komplet. Antigen dapat diperoleh atau dihilangkan pada proses transduksi (89).

Salmonella diklasifikasikan berdasarkan Kauffman dan White berdasarkan struktur antigen somatik nya dan antigen flagellanya

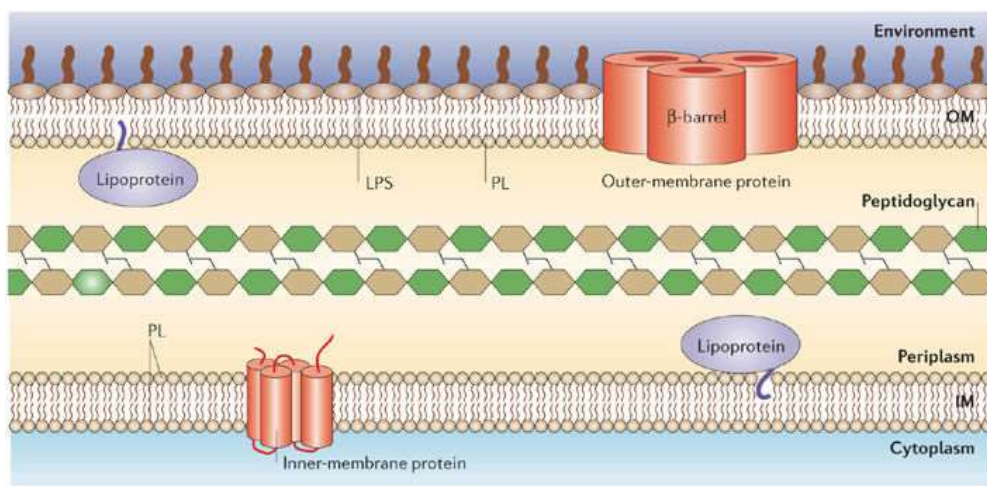
Tabel 4. Klasifikasi *Salmonella* menurut Kauffman-White (95)

Group	Salmonella serotype	O Antigens	H antigens	
			Phase 1	Phase 2
A	<i>S. Paratyphi A</i>	1, 2, 12	a	—
B	<i>S. Paratyphi B</i>	1, 4, (5), 12	b	1, 2
	<i>S. Stanley</i>	1, 4, (5), 12, 27	d	1, 2
	<i>S. Typhimurium</i>	1, 4, (5), 12	i	1, 2
C1	<i>S. Paratyphi C</i>	6, 7, (Vi)	c	1, 5
	<i>S. Choleraesuis</i>	6, 7	c	1, 5
C2	<i>S. Manhattan</i>	6, 8	d	1, 5
D	<i>S. Sendai</i>	1, 9, 12	a	1, 5
	<i>S. Typhi</i>	9, 12, Vi	d	—
	<i>S. Dublin</i>	1, 9, 12, (Vi)	g, p	—
E1	<i>S. Anatum</i>	3, 10	e, h	1, 6

Dinding sel *S. typhi* dibentuk 20% nya oleh lapisan lipoprotein. Sementara itu lapisan fosfolipid dan LPS membentuk 80% dinding sel kuman *S. typhi*. lipopolisakarida yang terdiri dari lipid A, oligosakarida, dan polisakarida yang merupakan bagian terpenting dan utama yang menentukan sifat antigenik dan aktivitas eksotoksin. Lipid A merupakan asam lemak jenuh yang menentukan aktivitas endotoksin dari LPS yang selanjutnya dapat mengakibatkan demam dan reaksi imunologis sang pejamu (96).

Outer Membran Protein (OMP) ialah dinding sel terluar membran sitoplasma dan lapisan peptidoglikan yang berfungsi sebagai sawar untuk mengendalikan aktivitas masuknya cairan ke dalam membran sitoplasma serta berfungsi sebagai reseptor bakteriofag dan bakteriolisin (94).

Antigen OMP merupakan bagian dinding sel yang terletak di luar membrane sitoplasma dan lapisan peptidoglikan yang membatasi sel terhadap lingkungan sekitarnya. OMP ini terdiri dari 2 bagian yaitu bagian protein porin dan protein non porin. Porin merupakan komponen utama OMP, terdiri atas ompC, ompD dan ompF dan merupakan saluran hidrofilik yang berfungsi untuk difusi solute dengan BM < 6.000. Sifat resisten terhadap proteolysis dan denaturasi pada suhu 85-100⁰C. Protein non porin terdiri atas protein ompA, protein A dan lipoprotein, bersifat sensitive terhadap protease, tetapi fungsinya masih belum diketahui dengan jelas.



Copyright © 2006 Nature Publishing Group
Nature Reviews | Microbiology

Gambar 14. Struktur dinding bakteri Sel Gram Negatif (97)

4. Demam Tifoid

Demam tifoid akut merupakan penyakit infeksi akut bersifat sistemik yang disebabkan oleh mikroorganisme *Salmonella enterica* serotipe *typhi* yang dikenal dengan *Salmonella typhi* (*S. typhi*). Penyakit ini masih sering dijumpai di negara berkembang yang terletak di subtropis dan daerah tropis seperti Indonesia (98). Menurut WHO, ada 3 macam klasifikasi demam tifoid dengan perbedaan gejala klinis (92):

1) Demam tifoid akut non komplikasi

Demam tifoid akut dikarakterisasi dengan adanya demam berkepanjangan abnormalis fungsi bowel (konstipasi pada pasien dewasa, dan diare pada anak-anak), sakit kepala, malaise, dan anoksia. Bentuk bronchitis biasa terjadi pada fase awal penyakit selama periode demam, sampai 25% penyakit menunjukkan adanya *rose spot* pada dada, abdomen dan punggung

2) Demam tifoid dengan komplikasi

Pada demam tifoid akut keadaan mungkin dapat berkembang menjadi komplikasi parah. Bergantung pada kualitas pengobatan dan keadaan kliniknya, hingga 10% pasien dapat mengalami komplikasi, mulai dari melena, perforasi, susu dan peningkatan ketidaknyamanan abdomen.

3) Keadaan karier

Keadaan karier tifoid terjadi pada 1- 5% pasien, tergantung umur pasien. Karier tifoid bersifat kronis dalam hal sekresi *Salmonella typhi* di feses.

Perjalanan penyakit oleh bakteri *S. Typhi* melalui beberapa proses, diawali dengan masuknya kuman melalui makanan dan minuman yang tercemar melalui jalur oral-fekal. Yang kemudian tubuh akan melakukan mekanisme pertahanan melalui beberapa proses respon imun baik lokal maupun sistemik, spesifik dan non-spesifik serta humoral dan seluler (93).

S. Typhi yang masuk ke saluran cerna tidak selalu akan menyebabkan infeksi, karena untuk menimbulkan infeksi *S. Typhi* harus dapat mencapai usus halus. Keasaman lambung ($\text{pH} \leq 3,5$) menjadi salah satu faktor penting yang menghalangi *S. Typhi* mencapai usus halus. Namun sebagian besar kuman *S. Typhi* dapat bertahan karena memiliki gen ATR (*acid tolerance response*). *Achlorhydria* akibat penuaan, gastrektomi, pompa proton inhibitor, pengobatan histamin antagonis reseptor H₂, atau pemberian antacid dapat menurunkan dosis infeksi yang mempermudah kuman untuk lolos menuju usus halus (94).

Setelah masuk ke saluran cerna dan mencapai usus halus, *S. typhi* akan menemui dua mekanisme non spesifik yaitu motilitas dan flora normal usus berupa bakteri-bakteri anaerob. Motilitas usus bersifat fisik berupa kekuatan peristaltik usus untuk menghanyutkan kuman keluar. Di usus halus kuman akan menembus mukosa usus diperantarai *microbial binding* terhadap epitel menghancurkan *Microfold cells (M cells)* sehingga sel-sel epitel mengalami deskuamasi, menembus

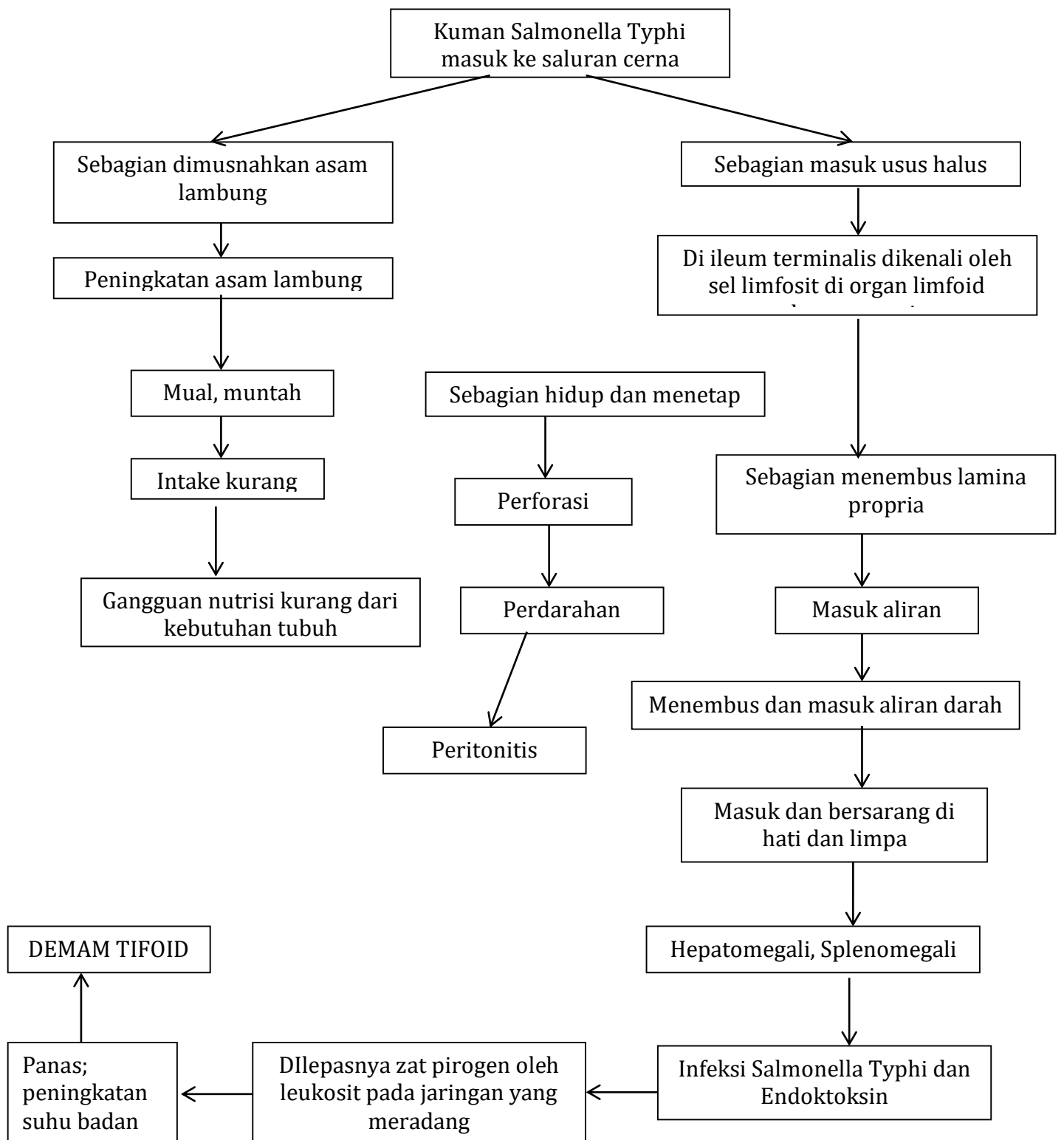
epitel mukosa usus, masuk dalam lamina propria, menetap dan berkembang biak. Kuman akan berkembang biak dalam sel mononuklear sebelum menyebar ke dalam aliran darah (99).

Di dalam sel fagosit mononuklear, kuman masuk menginfeksi *Peyer's patches*, yaitu jaringan limfoid yang terdapat di ileum terminal dan bermultiplikasi, kemudian kuman menembus kelenjar limfoid intestinal dan duktus torasikus masuk ke dalam aliran darah sistemik. Setelah 24-72 jam terjadi bakteriemia primer namun jumlah kuman belum terlalu banyak maka gejala klinis belum tampak. Bakteriemia primer berakhir setelah kuman masuk ke dalam organ *retikuloendotelial system (RES)* di hati limpa, kelenjar getah bening mesenterium dan kelenjar limfoid intestinal untuk berkembang biak. Di organ ini kuman menjalani masa inkubasi selama 10-14 hari, dalam organ RES kuman berkembang pesat dan kembali masuk ke peredaran darah dan menimbulkan bakteriemia sekunder. Pada saat terjadi bakteriemia sekunder, dapat ditemukan gejala-gejala klinis dari demam tifoid (92,94).

Pada dinding sel *S. typhi* terdapat pirogen LPS (endotoksin) dan sedikit peptidoglikan. Endotoksin merupakan pirogen eksogen yang sangat poten untuk merangsang respons imun makrofag dan sel lain untuk menginduksi sekresi sitokin. Sebagai reseptor, Komponen CD14 akan berikatan dengan LPS. Ikatan tersebut kemudian berikatan pula dengan kelompok molekul *Toll-like receptors (TLR)*. Aktivasi yang terjadi akan menstimulasi produksi sitokin dan aktivasi reseptor sitokin : reseptor sitokin tipe I (untuk IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-7, IL-9, IL-11, IL-12, IL-13, IL-15) ; reseptor sitokin tipe II (untuk IFN- α , IFN- β , IL-10); reseptor TNF (untuk TNF, CD40L, Fas); reseptor superfamili immunoglobulin (IL-1, M-CSF). Laju infeksi demam tifoid sangat ditentukan oleh aktivitas aktivasi reseptor tersebut. Berbagai sitokin tersebut mengikuti sirkulasi sistemik, menginduksi produksi prostaglandin, memengaruhi stabilitas pusat termoregulasi berefek terhadap pengaturan suhu tubuh dan menyebabkan demam (94).

Sitokin tersebut pula yang menimbulkan dampak pada pusat nafsu makan menyebabkan nafsu makan menurun, memengaruhi ambang nyeri, sehingga timbul nyeri pada kepala, sendi, otot-otot, dan nyeri pada daerah saluran cerna. Sitokin memengaruhi perubahan pada *plaque peyeri*, inflamasi pada mukosa saluran cerna, menyebabkan motilitas saluran cerna terganggu, sehingga muncul keluhan mual, muntah, diare, nyeri abdomen, perdarahan, perforasi, sedangkan

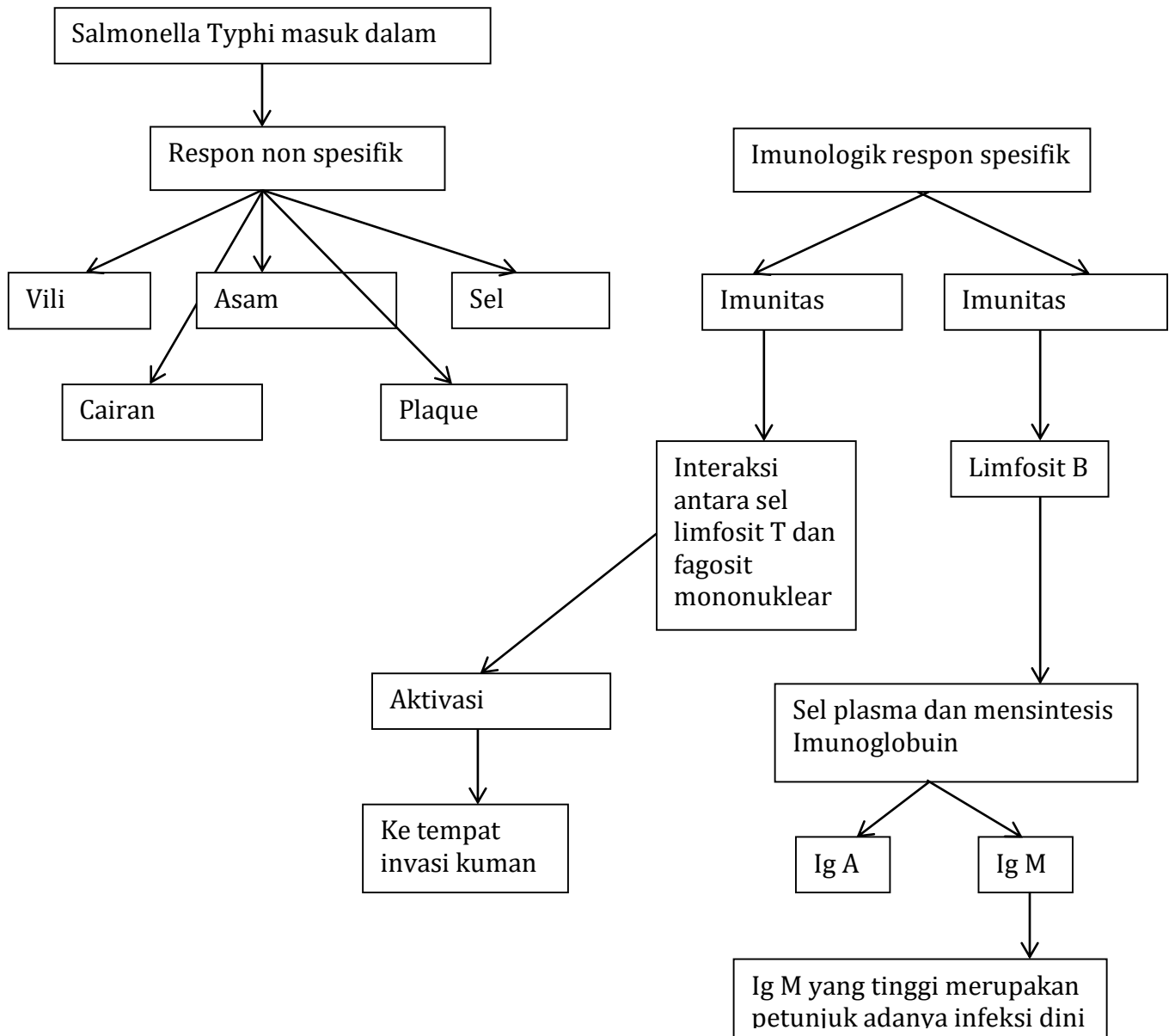
konstipasi terjadi pada tahap lanjut. Kondisi patologis akibat infeksi merangsang hiperaktivitas RES dan menimbulkan pembengkakan hati dan limpa (100).



Gambar 15.Skema Patofisiologi Infeksi Demam Tifoid

Mekanisme pertahanan imunologik spesifik biasanya menyangkut antibody, limfosit B dan T dan komplemen yang terbagi atas imunitas seluler dan imunitas humoral. Respon imunitas seluler sangat penting dalam penyembuhan penyakit demam tifoid, yang merupakan interaksi antara sel limfosit T dan fagosit mononuclear, untuk membunuh mikroorganisme yang tidak dapat diatasi oleh mekanisme mikrobisidal humoral dan fagosit polimorfonuklear. Adanya antigen kuman akan merangsang limfosit T untuk membentuk factor aktivasi makrofag, sehingga akan berkumpul pada tempat terjadinya invasi kuman.

Limfosit B sangat berperan dalam respon imunitas humoral. Akibat stimulasi antigen kuman, sel ini akan berubah menjadi sel plasma dan mensintesis immunoglobulin. Immunoglobulin G dan M adalah immunoglobulin yang dibentuk paling banyak. Peningkatan titer mulai terjadi mulai minggu pertama kemudian meningkat pada minggu-minggu berikutnya, sedangkan immunoglobulin A meningkat pada minggu kedua. Immunoglobulin M adalah immunoglobulin pertama yang dibentuk dalam respon imun. Karena itu kadar IgM yang tinggi merupakan petunjuk adanya infeksi dini. Adanya antibody humoral ini biasayna dipakai sebagai dasar berbagai pemeriksaan laboratorium, misalnya tes Widal dan pemeriksaan lainnya.



Gambar 16. Skema Patogenesis Infeksi Demam Tifoid

Pentingnya imunitas dalam penegakan diagnosis ditunjukkan dari kenaikan titer antibodi terhadap antigen *S. typhi*. Peran imunitas seluler yaitu dalam penyembuhan penyakit. Pada infeksi primer, respon humoral melalui sel limfosit B akan berdiferensiasi menjadi sel plasma yang akan merangsang terbentuknya immunoglobulin (Ig). Pada infeksi akut, yang pertama terbentuk antibodi O (IgM) yang muncul pada hari ke 3-4 demam, kemudian disusul antibodi pada infeksi kronik yaitu antibodi flagela H (IgG)(101).

5. Terapi Demam Tifoid

1. Istirahat dan perawatan untuk mencegah komplikasi
2. Diet lunak dan terapi suportif (antipiretik, anti emetik, cairan yang adekuat)
3. Antibiotik dengan pilihan antara lain :
 - a. Kloramfenikol 4 x 500 mg.hari per oral/IV hingga 7 hari bebas demam
 - b. Tiamfenikol 4 x 500 mg
 - c. Cotrimoxazole 2 x 960 mg selama 2 minggu
 - d. Ampisilin dan amoksisilin 50-150 mg/KgBB selama 2 minggu
 - e. Seftriakson 3-4 gram dalam dekstrosa 100 cc selama ½ jam perinfus sekali sehari. Selama 3-5 hari
 - f. Golongan flourokuinolon:
 - Norfloxasin 2 x 400 mg/hari selama 14 hari
 - Siprpfloksasin 2 x 500 mg/hari selama 6 hari
 - Ofloksasin 2 x 400 mg/hari selama 7 hari
4. Kombinasi antibiotik diberikan pada tifoid toksik, peritonitis atau perforasi, syok septik
5. Pada kehamilan : ampisilin, amoksisilin, seftriakson (102)

Sejak diperkenalkan, kloramfenikol telah menjadi standar emas antimikroba untuk pengobatan. Tidak ada obat yang telah begitu baik menunjang reaksi klinis yang diharapkan, yang biasanya menjadi nyata dalam waktu 24-48 jam setelah dimulainya pengobatan dalam dosis yang sesuai (3 sampai 4 g/hari pada orang dewasa atau 50 sampai 75 mg/KgBB per hari pada anak yang lebih muda). Obat diberikan per os selama 2 minggu, dan dosis dapat dikurangi sampai 2 g/hari atau 30 mg/Kg per hari jika pasien tidak demam, yang biasanya terjadi setelah hari kelima pengobatan. Walaupun demikian, karena spektrum anemia aplastic yang terkait kloramfenikol, obat ini tidak banyak digunakan. Regimen oral efektif lainnya adalah amoksisilin (4 sampai 6 g/hari dalam empat dosis terbagi pada orang dewasa atau 100 mg/Kg per hari pada anak), trimetropim-sulfametoksazol (640 dan 3200 mg, berurutan, dalam dua dosis harian terbagi pada orang dewasa atau 185 mg/m² luas permukaan tubuh perhari dari komponen trimethoprim pada anak-anak), atau 4-flourokuinolon seperti siprofloksasin atau ofloksasin pada individu yang berusia lebih dari 17 tahun (103).

Berbagai obat intravena juga efektif, dan baik kloramfenikol ataupun trimethoprim-sulfametoksazol dapat diberikan secara intravena pada individu yang tidak mampu menelan obat per os. Antimikroba parenteral efektif lainnya adalah ampicilin dosis tinggi, sefotaksim, aztreonam dan 4-flourokuinolon. Walaupun demikian, tidak ada satupun yang aksinya begitu cepat atau begitu efektifnya dibandingkan dengan seftriakson, yang dapat menandingi atau lebih baik daripada kloramfenikol dalam kecepatan penurunan panas. Sejak itu, rekomendasi awal pemberian 7 hari tidak diturunkan menjadi 3 hari, 3-4 g sekali sehari pada orang dewasa atau 80 mg/Kg sekali sehari, selama 5 hari pada anak, tanpa kehilangan daya guna (efikasi) (103).

Prevalensi *S. Typhi* yang resisten terhadap obat oral garis pertahanan pertama telah meningkat pada negara sedang berkembang, karena kemahiran plasmid menyadkan β -laktamase yang tidak aktif dan enzim kloramfenikol asetil transferase. Di daerah dengan resistensi banyak obat ini merupakan masalah, seftriakson atau 4-flourokuinolon sebaiknya digunakan pada permulaan untuk orang dewasa yang berusia lebih dari 17 tahun dengan seftriakson sebagai pilihan terbaik untuk anak-anak, sekurang-kurangnya sampai kuinolon baru dibuktikan aman untuk anak-anak yang lebih muda. Biaya seftriakson yang lebih mahal sedikit menutupi kerugian karena kemanjuran jangka pendek dan pemberian dosis satu kali sehari secara ekonomis (103).

Penggunaan awal antimikroba yang efektif berhubungan dengan angka kekambuhan yang relative tinggi; angka kekambuhan 20 persen dapat diharapkan, dibandingkan dengan 5 sampai 10 persen pada pasien yang tidak diterapi. Hal ini agaknya karena terapi yang cepat menghambat perkembangan respon imun yang memadai. Kekambuhan biasanya lebih ringan daripada serangan awal dan akan beraksi terhadap antimikroba yang sama yang digunakan secara dini (103).

F. TINJAUAN TENTANG IMUNITAS

Imunitas didefinisikan sebagai pertahanan terhadap penyakit, terutama penyakit infeksi. Kumpulan sel-sel, jaringan dan molekul-molekul yang berperan dalam pertahanan infeksi disebut sistem imun, sedangkan reaksi terkoordinasi sel-sel dan molekul tersebut dalam pertahanann terhadap infeksi, disebut sebagai respon imun. Imunologi adalah ilmu yang mempelajari sistem imun, termasuk respon terhadap mikroba pathogen, dan kerusakan jaringan serta peranannya pada penyakit (104).

1. Tinjauan Tentang Imunitas Alami

Imunitas alami atau imunitas *innate* adalah garis pertahanan pertama yang dipersiapkan untuk melindungi manusia dari serangan patogen dan membersihkan jaringan tubuh dari sel-sel mati dan produknya. Imunitas ini merupakan tahap awal yang penting dalam pertahanan inang terhadap infeksi. Imunitas alami menghambat invasi mikroba melalui pertahanan epitel, menghancurkan berbagai mikroba yang masuk ke dalam tubuh serta mengontrol bahkan eradikasi infeksi (104).

Fungsi imunitas *innate* :

- 1) Respon awal terhadap mikroba untuk mencegah, mengontrol dan menghilangkan infeksi pada manusia. Keberhasilan atau kegagalan imunitas *innate* sangat dipengaruhi oleh tingkat virulensi pathogen. Kegagalan terutama disebabkan oleh adanya kemampuan pathogen untuk menghindari dari respon imun, makanya diperlukan respon imun yang lebih kuat untuk mengatasi keadaan ini yaitu imunitas adaptif.
- 2) Memicu timbulnya imunitas adaptif terhadap pathogen dan mempengaruhi penampilan imunitas adaptif agar lebih optimal mengeliminasi pathogen sesuai tipe pathogen (intraseluler atau ekstraseluler). Tidak ada imunitas adaptif tanpa imunitas *innate*. Perangkat imunitas *innate* tetap dipakai selama imunitas adaptif berlangsung, tergantung pada kebutuhan sesuai tipe pathogen yang dilawan.
- 3) Imunitas *innate* bukan hanya merespon pathogen tetapi juga mengeliminasi sel-sel mati dan produknya, berperan sebagai cleaning service sehingga proses penyembuhan (repair) jaringan dapat berlangsung. Berbagai keadaan yang mengakibatkan kematian sel (mis. Hipoksia, trauma) tanpa kehadiran mikroba dapat memicu munculnya respon imunitas *innate* yang menyebabkan inflamasi steril (104).

Imunitas *innate* tampil dalam dua bentuk respon :

- 1) Respon inflamasi

Respon ini berupa pengerahan leukosit dan protein plasma yang beredar dalam darah ke jaringan yang terinfeksi untuk mengeliminasi pathogen atau jaringan yang mengalami kerusakan (tissue damages) untuk membersihkan jaringan bersangkutan. Inflamasi pada pelajaran patologi melibatkan vasodilatasi pembuluh darah dan permeabilitas kapiler yang meninggi sehingga banyak sel-sel imun yang dapat dikerahkan ke jaringan yang memerlukan.

2) Efek anti virus

Efek ini dicapai melalui dua cara yaitu pertama menghentikan aktivitas sel yang dimasuki virus agar tidak memfasilitasi replikasi virus dan kedua mengerahkan sel NK untuk membunuh sel terinfeksi virus agar virus tidak memiliki tempat hidup (*reservoir*) dalam tubuh manusia.

Pada pathogen telah ada penanda dalam bentuk molekul yang akan dikenal oleh pertahanan tubuh manusia sehingga kedatangan ini dapat diantisipasi oleh manusia. Karakteristik molekul penanda pada patogen yaitu :

1. Penanda itu hanya milik patogen, tidak ada pada sel manusia

Penanda ini hanya pada mikroba yang membahayakan (patogen) untuk manusia sehingga disebut *Pathogen-Associated Molecular Patterns* (PAMPs). PAMPs ini berbeda-beda tergantung jenis patogen (virus, bakteri gram negative, bakteri gram positif, jamur), tetapi satu jenis PAMPs dapat ditemukan pada jenis patogen yang berbeda.

2. Penanda itu sangat vital untuk kehidupan patogen

Penanda-penanda itu adalah molekul yang sangat vital untuk kehidupan patogen bersangkutan sehingga sepanjang zaman tidak bias berubah (mutasi) misalnya double-stranded RNA pada virus, LPS (lipopolisakarida) pada bakteri gram negatif, lipoteichoic acid pada bakteri gram positif, dan lain-lain.

Tabel 5. PAMPs dan DAMPs pada Imunitas Innate

PAMPs		Jenis Mikroba	DAMPs	
Asam nukleik	ssRNA	Virus	Stress-induced	HSPs
	dsRNA	Virus	proteins	
	CpG			
Protein	Pilin	Bakteri	Kristal	Monosodium urat
	Flagellin	Bakteri		
Cell wall lipids	LPS	Bakteri gram negatif	Protein nuklear	HMGB1
	Lipoteichoic acid	Bakteri gram positif		
Karbohidrat	Manna	Jamur, Bakteri		
	Dectin glucans	Jamur		

Imunitas innate dapat mengenal molekul endogenous yang diproduksi atau dilepas oleh sel yang rusak atau mati disebut *Damaged-Associated Molecular Patterns* (DAMPs). Kematian atau kerusakan sel dapat terjadi akibat infeksi atau sebab lain seperti racun kimia, trauma, terbakar, atau iskemik/hipoksia (*steril injury*) (104).

Reseptor pada sistem imun innate disandi oleh gen identic pada semua sel yang diturunkan. Pola pengenalan reseptor sistem imun alami didistribusikan secara non-klonal; yaitu reseptor yang sama diekspresikan pada semua sel dari tipe tertentu, seperti makrofag. Oleh karena itu banyak sel imun alami dapat mengenali dan memberi respon terhadap mikroba yang sama. Diperkirakan terdapat 100 tipe reseptor imun alami yang dapat mengenali sekitar 1000 PAMPs dan DAMPs (105).

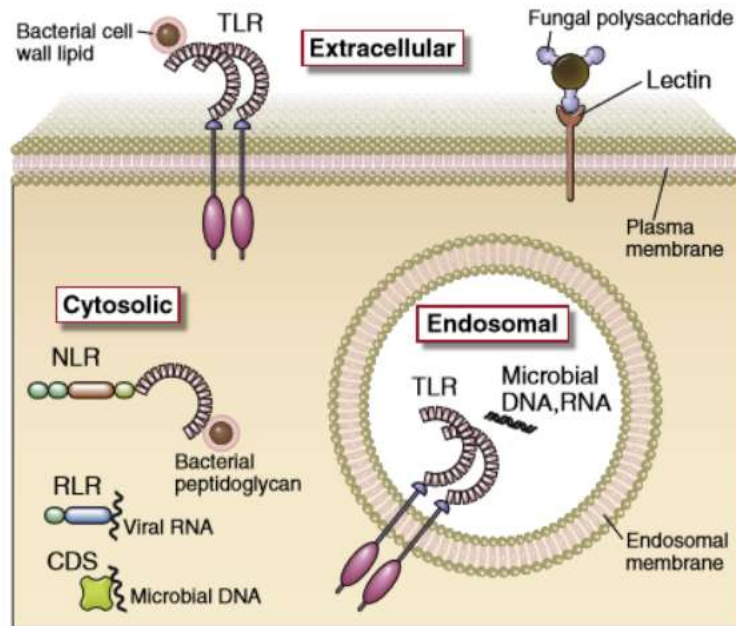
Ada dua perangkat pada imunitas *innate* untuk mengenal PAMPs atau DAMPs yaitu :

1) Pattern Recognition Receptors (PPRs)

Berbagai macam tipe reseptor seluler yang dapat mengikat PAMPs atau DAMPs disebut *Pattern Recognition Receptors* (PPRs) yang berada pada berbagai sel yang terlibat dalam imunitas innate seperti fagosit (makrofag, neutrophil dan sel dendritic) dan sel epitel yang membatasi tubuh dengan dunia luar. PPRs ini bisa berada pada membrane plasma, membrane endosomal dan dalam sitoplasma yang berarti imunitas innate bisa meresponi kehadiran mikroba di luar atau di dalam makrofag, netrofil dan sel dendritic (sebelum dan sesudah difagositosis). Patogen yang berbeda dapat memiliki PAMPs yang sama sehingga spesifisitas imunitas innate tidak spesifik terhadap antigen patogen tertentu seperti imunitas adaptif.

2) Soluble Recognition Molecules (SRMs)

Berbagai protein dalam darah dan cairan ekstraseluler yang dapat mengenal PAMPs disebut *Soluble Recognition Molecules* (SRMs). Protein-protein ini berperan memfasilitasi pembersihan mikroba dari darah atau cairan ekstraseluler dengan cara meningkatkan penangkapan mikroba oleh sel-sel imunitas innate dan mengaktifkan pembunuhan kuman ekstraseluler.

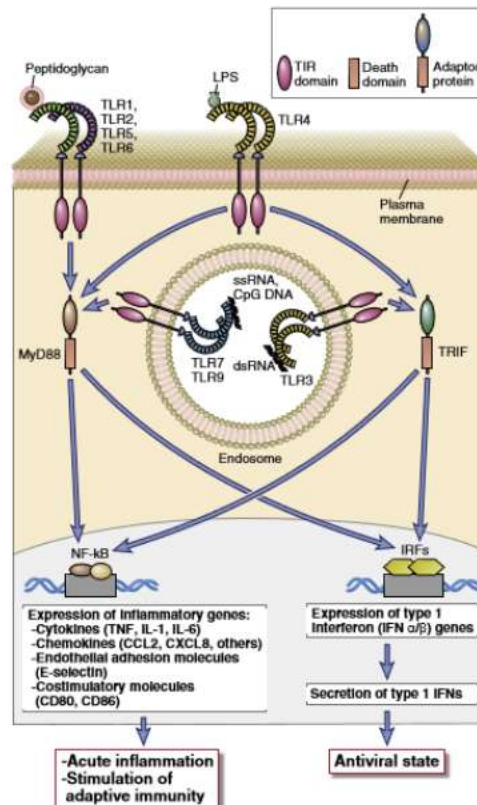


Gambar 17. Lokasi seluler dari reseptor sistem imun alami (105)

2. Toll-like Receptors

Toll-like receptors (TLRs) adalah homolog dengan suatu protein *Drosophila* yang disebut Toll. TLR yang berbeda spesifik untuk komponen mikroba yang berbeda. TLR-2 mengenali beberapa glikolipid dan peptidoglikan bakteri dan parasit, TLR-3, TLR-7, dan TLR-8 spesifik untuk asam nukleat virus (ssRNA dan dsRNA), TLR-4 spesifik untuk LPS bakteri (endotoksin), TLR-5 spesifik untuk protein flagellar bakteri yang disebut flagellin dan TLR-9 untuk mengenali unmethylated CpG DNA, yang lebih banyak pada genom bakteri daripada DNA mamalia. TLR spesifik untuk protein, lipid dan polisakarida mikroba terletak pada permukaan sel, dimana mereka mengenali produk ekstraseluler dari mikroba. TLR yang mengenali asam nukleat ada dalam endosome, di mana mikroba ditelan dan dicerna dan asam nukleat mereka dikeluarkan (105).

Sinyal yang dibangkitkan oleh penempelan TLRs mengaktifkan factor transkripsi yang merangsang ekspresi gen yang menyandi sitokin, enzim, dan protein lain yang terlibat dalam fungsi antimicrobial dari fagosit yang teraktivasi dan sel lainnya. Di antara factor transkripsi paling penting yang diaktivasi oleh sinyal TLR adalah NF- κ B (nuclear factor κ B), yang mempromosikan ekspresi berbagai sitokin dan molekul adhesi endotelial dan IRFs (interferon regulatory factors), yang merangsang produksi sitokin antivirus, interferon tipe I (105).



Gambar 18. Fungsi sinyal Toll-Like Receptor (105)

3. Stimulasi Respon Imun *Innate* melawan Mikroba

- 1) Jika mikroba hinggap di kulit maka ia akan terlempar oleh aliran udara dan keringat di permukaan kulit, atau dibunuh oleh peptide antimikroba (misalnya β -defensin) yang ada pada kulit.
- 2) Jika mikroba ingin masuk melalui saluran napas maka mikroba akan dihalangi oleh bulu hidung. Kalau berhasil masuk lebih dalam, akan bertemu musin yang akan membungkusnya, kemudian dikirim melalui eskalator silia epitel daluran napas, atau bertemu dengan antibakteri β -defensin dan cathelicidine yang akan membunuhnya, Kalau berhasil masuk lebih dalam lagi sampai alveolus, sudah menunggu makrofag alveolar yang akan menelannya.
- 3) Jika mikroba mencoba masuk melalui saluran cerna maka mikroba akan bertemu dengan saliva yang mengandung antibakteri lisozim, fosfolipase A dan histatin yang akan membunuhnya. Kalau berhasil masuk sampai lambung, mikroba akan mati oleh asam lambung. Turun lagi ke duodenum, akan bertemu berbagai antibakteri seperti enzim pencernaan, garam empedu, fatty acids, lysolipids dan cathelicidine. Jika masih berhasil turun lebih ke

bawah lagi (usus halus), akan ketemu cryptidins (α -defensin) yang mempunyai efek antibakteri dan antijamur.

- 4) Jika mikroba masuk melalui saluran urogenitalia, maka mikroba akan disambut oleh musin dan antibakteri β -defensin.
- 5) Jika mikroba masuk ke mata, akan bertemu air mata yang mengandung antibakteri (lisozim dan fosfolipase A) (104).

Kerusakan fisik epitel (misalnya luka) akan mempermudah mikroba masuk melewatinya, sesampainya di jaringan di bawah epitel (subepitelial) telah ditunggu oleh sel dendritic dermal, makrofag dan sel mast yang berjaga. Mikroba dikenal kedatangannya karena memiliki penanda PAMPs yang segera akan berikatan dengan reseptor (misalnya TLR) dari ketiga jenis penjaga subepitelial. Pada saat reseptor-reseptor itu menangkap ligannya (PAMPs) maka muncullah sinyal aktivasi yang akan mengaktifkan ketiga sel imunitas innate ini. Ketiga jenis sel tersebut kemudian melepas sejumlah sitokin proinflamasi seperti IL-1 (oleh sel dendritic dan makrofag), TNF α (oleh sel dendritic dan makrofag) dan histamine (oleh sel mast), untuk memicu respon inflamasi di jaringan subepitelial yang didatangi mikroba itu (104).

Sitokin TNF α dan IL-1 yang dilepas oleh makrofag bersama dengan histamine dan TNF α dari sel mast menuju ke endotel pembuluh darah untuk memicu peran endotel menghentikan neutrophil yang lewat. Endotel berespon dengan mengeluarkan molekul adhesi ke permukaannya (selektin dan ligan integrin) untuk menahan neutrophil. Selanjutnya neutrophil difasilitasi oleh endotel melalui peningkatan permeabilitas kapiler untuk keluar dari aliran darah menuju ke jaringan yang ada mikroba (104).

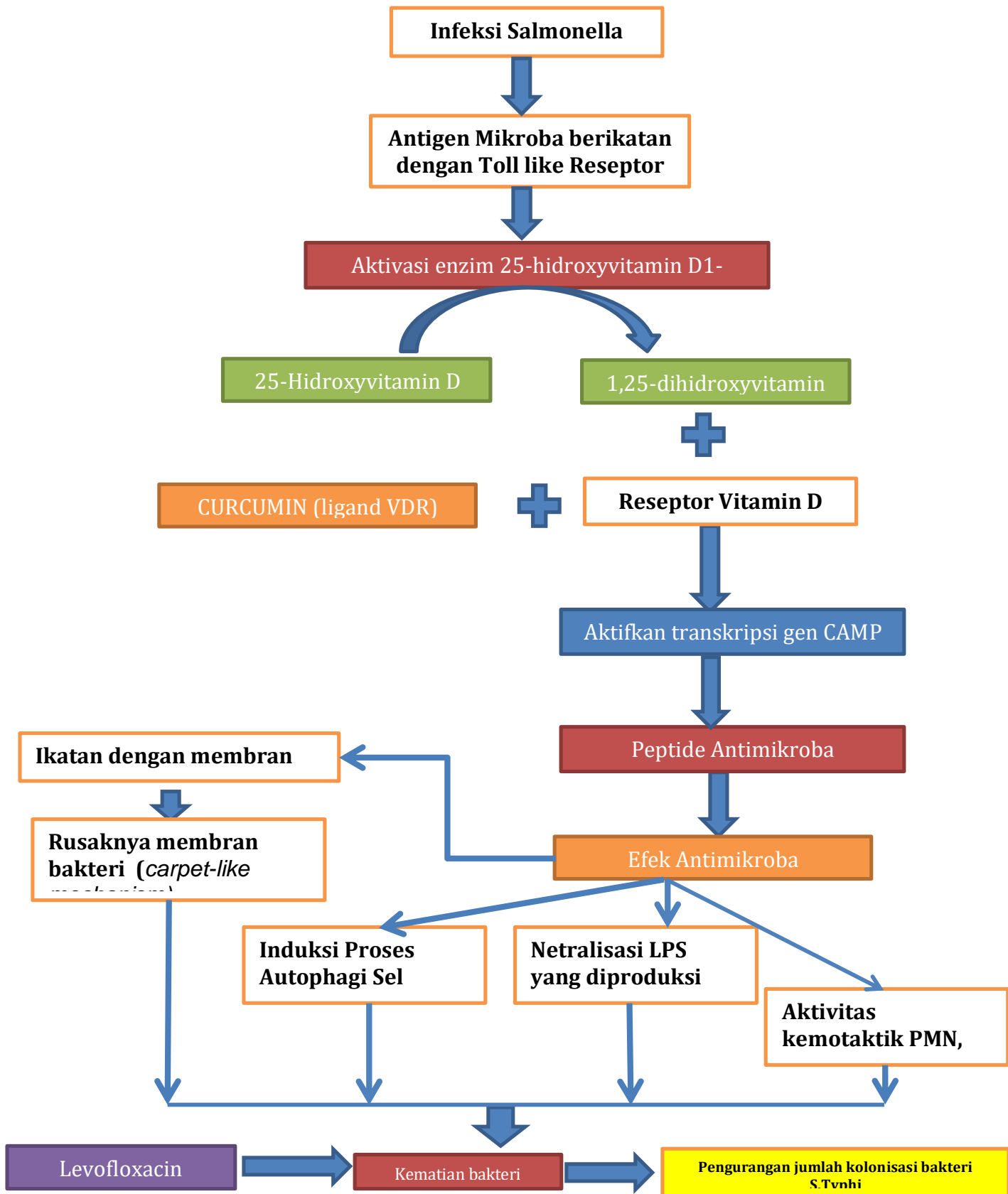
Mikroba yang lolos masuk ke jaringan dan ditangkap oleh fagosit (makrofag, neutrophil, dan sel dendritic) akan difagositosis sehingga mikroba berada dalam vakuol yang disebut fagosom (endosom). Fagosom ini segera menyatu dengan lisosom yang didalamnya ada enzim lisozim membentuk fagolisosom, maka bertemulah mikroba dengan enzim pencernaan protein ini sehingga mikroba dicerna dan hancur. Memang ada mikroba yang tidak mempan oleh lisozim, karena dinding selnya terdiri atas lemak (misal mikobakterium), tetapi fagosit masih punya senjata penghancur lain berupa radikal bebas yaitu *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan *Nitrite Oxyde* (NO).

Sel dendritic yang menangkap mikroba dan menghancurkannya dalam fagolisosom, terutama bertugas memperkenalkan sejumlah antigen yang ada pada

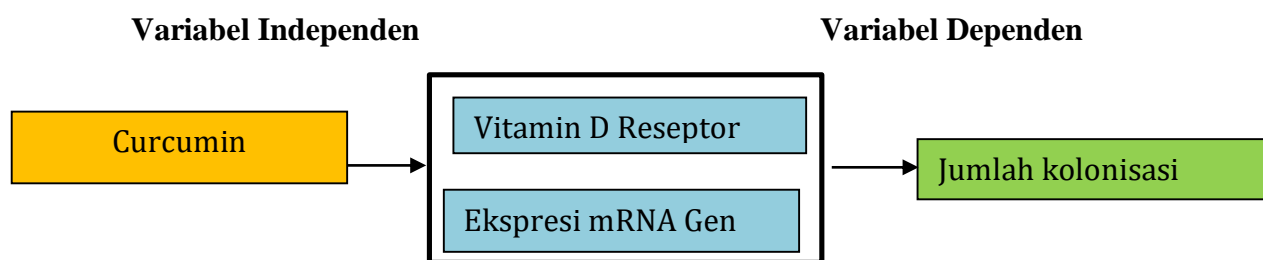
mikroba yang sudah dihancurkan itu, ke sel T naif yang menunggu (menjaga) dilimfonodus. Untuk itu sel dendritic memajang antigen-antigen itu di permukaannya, menggunakan molekul *major histocompatibility complex* (MHC) dan dibawa ke limfonodus terdekat lewat aliran limfe untuk dipresentasikan kepada sel T naif (peran sebagai *Antigen Presenting Cell*, APC). Proses ini akan memulai respon imunitas adaptif (*Cell Mediated Immunity*, CMI).

Sebagian dari kuman atau bahan kuman sudah hancur akan hanyut terbawa aliran limfe menuju limfonodus. Disana sudah menunggu sel B naif dan sel dendritic folikular yang akan menangkapnya. Jika sel B naif sudah mengenal kehadiran antigen maka mulailah respon imunitas adaptif (imunitas humoral) (104).

G.KERANGKA TEORI



H. KERANGKA KONSEP



Adapun variable pada penelitian ini antara lain :

- Variabel bebas (Variabel independen) : Curcumin
- Variable antara : Ekspresi mRNA gen CAMP, Vitamin D Reseptor
- Variabel tergantung (Variabel dependen) : Jumlah kolonisasi *S.Typhi*

Variabel kendali : berat badan tikus, umur tikus dan jenis kelamin tikus

I. DEFENISI OPERASIONAL DAN KRITERIA OBJEKTIF

1) Curcumin

Curcumin dalam penelitian ini diambil dari Merck (Curcumin untuk sintesis, dengan formula kimia $[4-(OH)-3-(CH_3O)C_6H_3CH=CHCO]_2CH_2$. Ini juga dikenal sebagai 1,7-Bis (4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1,6-heptadiene-3,5-dione, berwarna kuning kunyit, diferuloylmethane Dosis curcumin per hari yang diberikan adalah 200 mg/kg BB dan 400 mg/kg BB, diberikan 3 hari setelah mencit diinduksi oleh *S. Typhi*. Curcumin dilarutkan dalam aquades dan diberikan melalui sonde nasogastrik, sekali sehari selama 5 hari

2) Ekspresi mRNA Gen CAMP

Profil ekspresi mRNA gen CAMP (Cathelicidin Antimicrobial Peptide) yang diukur dengan realtime PCR

Kriteria objektif :

Meningkat : Apabila nilai \geq mean (9,634 Ct), menggunakan Kit PCR Applied Biosystem Taqman One-Step RT-PCR Master Mix Reagents.

Menurun : Apabila nilai $<$ mean 9,634 Ct), menggunakan Kit PCR Applied Biosystem Taqman One-Step RT-PCR Master Mix Reagents.

3) Kadar Vitamin D Reseptor (VDR)

Merupakan kadar serum VDR yang diperiksa dengan teknik Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Range normal 0.625 – 40 ng/ml, menggunakan VDR ELISA Kit (Sandwich ELISA).

Kriteria objektif :

Kadar VDR meningkat : > 40 ng / ml

Kadar VDR normal : 0.625 – 40 ng/ml

Kadar VDR menurun : < 0.625 ng/ml

4) Jumlah kolonisasi *Salmonella Typhi*

Merupakan spesimen bakteri yang diperoleh dari kultur jaringan ileum distal, limpa dan hepar setelah 7 hari intervensi. Jumlah koloni yang tumbuh dihitung dengan cara proporsional yaitu jumlah koloni (%) yang tumbuh pada medium perlakuan (jaringan tikus yang diintervensi ekstrak) dibagi dengan jumlah koloni pada kontrol dikalikan 100%.

J. HIPOTESIS

- 1) Curcumin dengan dosis 200 mg/kg BB, curcumin 400 mg/BB dan vitamin D yang diberikan selama 5 hari dapat meningkatkan ekspresi gen mRNA CAMP (Cathelicidin Antimicrobial Peptide) pada kelompok mencit balb/c yang telah diinduksi *Salmonella Typhi*.
- 2) Curcumin dengan dosis 200 mg/kg BB, curcumin 400 mg/BB dan vitamin D yang diberikan selama 5 hari dapat meningkatkan kadar Vitamin D Reseptor (VDR) pada kelompok mencit yang telah diinduksi *Salmonella Typhi*.
- 3) Curcumin dengan dosis 200 mg/kg BB, curcumin 400 mg/BB dan vitamin D yang diberikan selama 5 hari dapat menekan jumlah kolonisasi bakteri pada kelompok mencit balb/c yang telah diinduksi *Salmonella Typhi*.
- 4) Curcumin dengan dosis 200 mg/kg BB, curcumin 400 mg/BB dan vitamin D yang diberikan dapat menekan jumlah kolonisasi bakteri pada kelompok mencit balb/c yang telah diinduksi *Salmonella Typhi* hingga hari ke 30 setelah terinfeksi.