

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Dasar Teori

2.1.1 Bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr)

2.1.1.1 Karakteristik Bawang Dayak

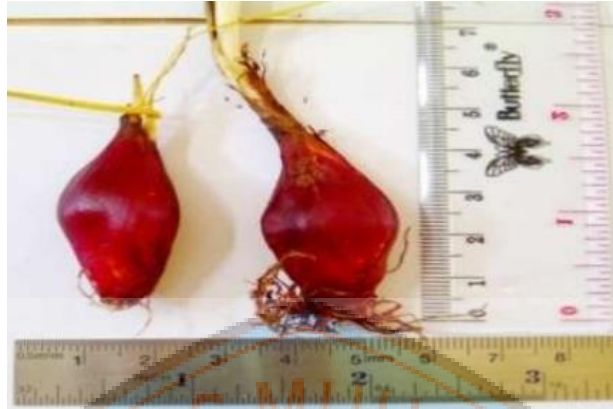
Taksonomi dari tumbuhan (*Eleutherine palmifolia* (L), Merr)¹⁹⁻²¹

<i>Phylum</i>	: <i>Tracheophyta sinnott</i>
<i>Subphylum</i>	: <i>Spermatophytiva</i>
<i>Kelas</i>	: <i>Liliopsida – monocotyledons.</i>
<i>Subkelas</i>	: <i>Lilidae</i>
<i>Ordo</i>	: <i>Liliales</i>
<i>Famili</i>	: <i>Iridaceae</i>
<i>Genus</i>	: <i>Eleutherine</i>
<i>Spesies</i>	: <i>E. americana</i> , Merr

Nama lain *Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb. adalah *Eleutherine americana* (Aubl) Merr.²² Di Indonesia, tanaman ini dikenal dengan nama *bawang kapal*, *babawangan beureum*, *bawang sabrang*, *bawang siyem*, *brambang sabrang*, *luluwan sapi*, *teki sabrang*.²² Bawang dayak (*Eleutherine palmifolia*(L), Merr) merupakan tanaman perdu. Tumbuhan ini dapat ditanam dengan mudah, dalam waktu 6 (enam) bulan. Berikut penjelasan bagian dari tanaman bawang dayak.

a. Umbi

Umbi pada tumbuhan bawang dayak umumnya berbentuk lonjong, bulat telur, merah seperti bawang merah, tidak berbau sama sekali. Umbinya hampir selalu berduri. Umbi dapat dikonsumsi setelah usia 6 (enam) bulan, dengan panjang 5-10 cm, lebar 3 cm.²²⁻²⁴ (lihat gambar 2.1)



Gambar 2.1 Umbi bawang dayak (Dimodifikasi dari Ririn Puspawati dkk, 2013)²⁴

b. Daun

Daun bawang dayak berbentuk pita dengan panjang 15–20 cm, lebar 3–5 cm (menyerupai daun palem). Berwarna hijau muda berurat daun sejajar.

c. Bunga

Bunga tunggal, warna putih, bunga berkelopak 6, warna putih. (lihat gambar 2.2) Bunga mekar pada sore hari dan hanya beberapa jam, biasanya mekar jam 17:00 wib dan menguncup jam 21:00 wib. Hingga saat ini belum banyak publikasi mengenai kajian kimia dan farmakologi dari tumbuhan bawang dayak. Banyak aspek yang dapat diteliti untuk aplikasinya di bidang pengobatan, misalnya aspek kandungan senyawa kimianya, aspek toksisitasnya, dan aspek aktivitas farmakologinya. Penelitian masih terus dilakukan untuk mengetahui lebih lanjut dari khasiat tumbuhan bawang dayak ini.²²



Gambar 2.2 Daun dan bunga bawang dayak
(Dimodifikasi dari Ririn Puspawati dkk, 2013)²⁴

2.1.1.2 Khasiat dan Kandungan Kimia Bawang Dayak

Bawang dayak merupakan tanaman khas Kalimantan Tengah yang secara empiris sudah dipergunakan masyarakat lokal dalam pengobatan berbagai jenis penyakit seperti kanker payudara, penurunan tekanan darah tinggi, menurunkan kolesterol, penyakit kencing manis, obat bisul, immunostimulan, antiinflamasi, serta anti *bleeding agent*.²⁰

Hasil penelitian menunjukkan bahwa umbi bawang dayak mengandung senyawa *naphthoquinolon* dan turunannya seperti *elecanasin*, *eleutherin*, *eleutherol*, *eleuthernon*.²⁵ *Naphthoquinolon* dikenal sebagai antimikroba, antifungal, antiviral dan antiparasitik. Selain itu, *naphthoquinolon* memiliki bioaktivitas sebagai antikanker dan antioksidan yang biasanya terdapat di dalam vakuola dalam bentuk glikosida.²⁶

Umbi bawang dayak mengandung senyawa turunan *anthrakinon* yang mempunyai daya pencakar yaitu senyawa-senyawa *eleutherin*, *isoeleutherin* dan senyawa-senyawa sejenisnya, senyawa-senyawa *lakton* yang disebut *eleutherol* dan senyawa turunan *pyron* yang disebut *eleutherinol*.²⁷

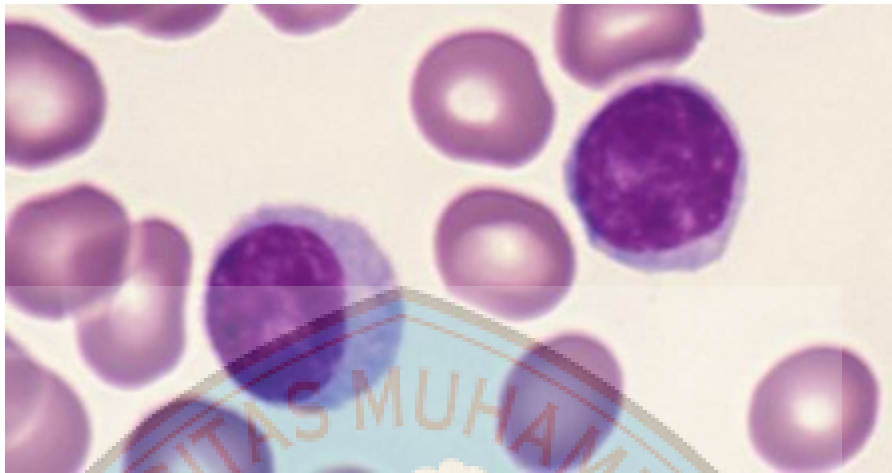
Adapun senyawa bioaktif yang terdapat dalam umbi bawang dayak terdiri dari senyawa *alkohol, flavonoid, steroid, glikosida, fenolik, saponin, triterpenoid, tanin* dan *kuinon*.²⁸ Flavonoid merupakan golongan senyawa bahan alam dari senyawa *fenolik* yang merupakan pigmen tumbuhan. Manfaat *flavonoid* antara lain adalah untuk melindungi struktur sel, antiinflamasi, dan dapat berperan secara langsung sebagai antibiotik dengan mengganggu fungsi dari mikroorganisme seperti bakteri atau virus.

2.1.2 Limfosit

2.1.2.1 Karakteristik Limfosit

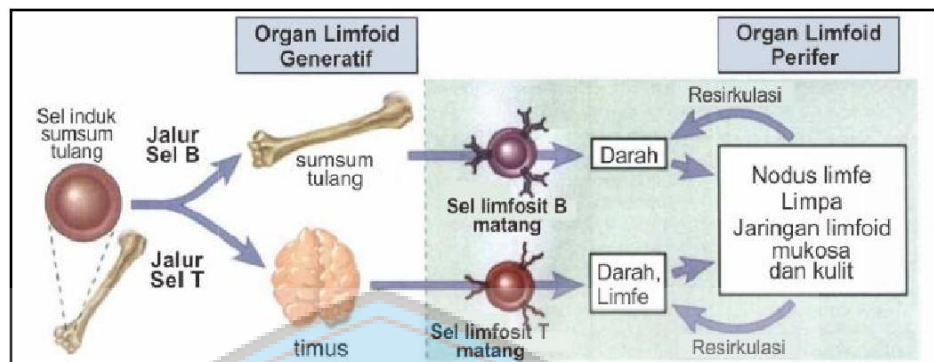
Sel limfosit mempunyai ukuran yang kecil, kira-kira hampir sama dengan eritrosit. Limfosit adalah sel leukosit kedua terbanyak di dalam darah sesudah netrofil. Antara 25% dan 35% dari jumlah seluruh leukosit darah adalah limfosit, mempunyai ciri – ciri sebagai berikut : diameter antara 8-10 mikron, nukleus bundar atau lonjong, dengan kromatin kasar, sitoplasma sedikit, inti hampir memenuhi sel berbentuk bulat dan padat, inti sel berwarna biru tua atau ungu, limfosit tidak memiliki granula.²⁹ (lihat gambar 2.5).

Limfosit berperan terhadap infeksi atau peradangan. Peningkatan pada jumlah limfosit berhubungan dengan infeksi virus, infeksi bakteri, kanker. Penurunan pada jumlah limfosit berhubungan dengan steroid, imunodefisiensi, gagal ginjal, lupus, kanker.³⁰



Gambar 2.3 Karakteristik Limfosit (Dimodifikasi dari Bratawidjaya KG, 2004)¹

Limfosit adalah sel yang secara spesifik mengenali dan merespon antigen asing dan juga merupakan suatu mediator pada imunitas humoral dan selular. Limfosit dihasilkan dari sumsum tulang dan diproduksi dari sel induk pluripoten. Sel induk pluripoten dapat berdiferensiasi menjadi sel induk limfopoietik yang merupakan asal muasal sel limfosit B dan limfosit T. Sel B berkembang dan mengalami pematangan di sumsum tulang, sedangkan sel T di timus.²⁹ Limfosit B berfungsi sebagai mediator imunitas humoral dan mampu memproduksi antibodi dan mengenali antigen permukaan. Limfosit T terdiri dari T *helper* (Th) dan sel T sitolitik (CTLs atau Tc). Limfosit T mengenali peptida antigen yang diperlihatkan ke permukaan sel oleh molekul MHC. Sel – sel limfosit dan sel – sel plasma diproduksi dalam bermacam – macam organ limfoid termasuk limfe, limpa, tonsil, dan bermacam – macam sel – sel limfoid yang lain di dalam sumsum tulang, usus dan sebagainya.³¹ (lihat gambar 2.6)



Gambar 2.4 Perkembangan sel limfosit B dan T (Dimodifikasi dari Abbas, 2007)²⁹

2.1.2.2 Respon Imun Sel Limfosit

Aktivasi sel limfosit terjadi secara bertahap dan dimediasi oleh interaksi reseptor-ligan yang ada di permukaan sel dengan menggunakan molekul seperti sitokin. Ketika antigen masuk, komponen sistem imun non-spesifik akan mengeliminasi di daerah infeksi kemudian mengaktifkan sistem imun adaptif (sel T dan B) untuk berproliferasi dan berdiferensiasi menjadi efektor limfosit. Setelah proliferasi dan diferensiasi terjadi, sel T akan kembali ke daerah yang terinfeksi untuk mengeliminasi antigen. Interaksi antara *T cell receptor* (T CR) dan *MHC-peptide complex* dibutuhkan dalam aktivasi antigen spesifik limfosit T. Semua TCR yang ada dipermukaan sel dari limfosit T identik dan hanya mengikat satu tipe dari peptida. Oleh karena itu, limfosit T hanya akan teraktivasi oleh antigen spesifiknya. Sel Th mengekspresikan molekul CD4 di permukaan selnya sedangkan sel Tc mengekspresikan molekul CD8 di permukaan sel.^{32,33}

Sebagai respon stimulasi anti gen, sel Th mensekresi suatu sel Th1 dan sel Th2 yang berfungsi untuk menstimulasi proliferasi dan diferensiasi sel T dan mengaktifkan sel lain, termasuk sel B, makrofag dan leukosit yang lain. Sel Th mengenali antigen yang diperlihatkan ke permukaan APC oleh MHC kelas II. Sel Tc membunuh sel yang memproduksi antigen asing,

seperti sel yang terinfeksi virus atau mikroba intraseluler lain. Sel Tc mengenali antigen dari virus atau mikroba yang diperlihatkan ke permukaan sel oleh MHC kelas I.³⁵ Sel B merupakan sel yang bertanggung jawab atas pembentukan imunoglobulin (Ig). Ketika terjadi rangsangan antigen, limfosit B akan mengalami proses diferensiasi melalui dua jalur yaitu menjadi sel plasma yang membentuk imunoglobulin dan membelah lalu kembali dalam keadaan istirahat sebagai limfosit B *memory*. Sel B *memory* adalah sel yang mengekskresikan Ig yang proliferasinya bergantung pada sel T.³⁴

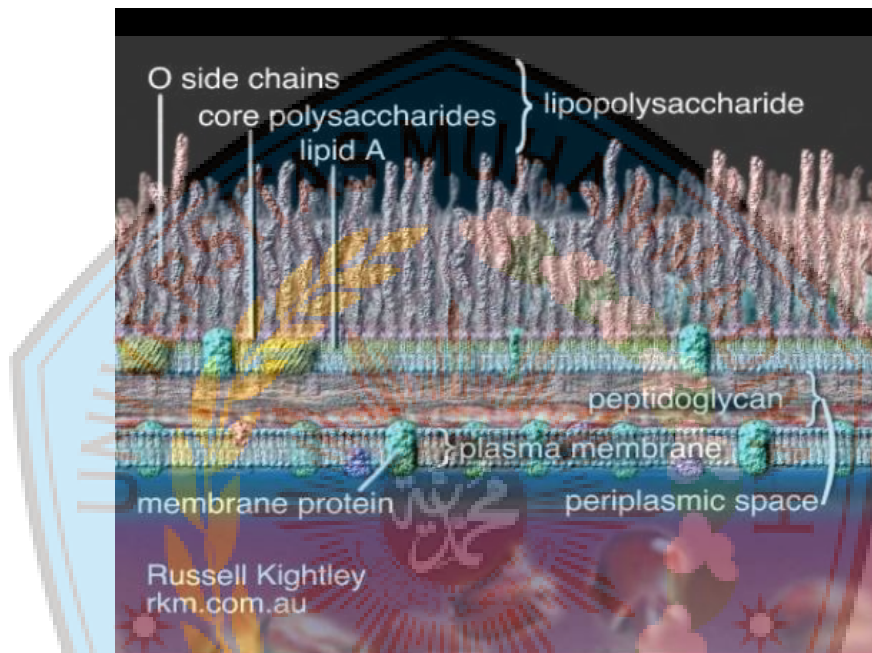
2.1.3 Salmonella sp.

2.1.3.1 Karakteristik *Salmonella* sp.

Salmonella merupakan bakteri gram negatif berbentuk batang yang termasuk dalam familia *Enterobacteriaceae*, genus *Salmonellae*. *Salmonella* bersifat motil dan patogenik dengan karakteristik pertumbuhan menghasilkan fermentasi glukosa, mereduksi nitrat menjadi nitrit, negatif oksidase, positif katalase, tidak membentuk spora, dan fakultatif aerobik. Biasanya bakteri dikultur pada medium selektif seperti *Salmonella-Shigella* Agar untuk memisahkannya dari bakteri enterik lain.³⁶

Salmonella dibagi menjadi 3 serovar berdasarkan antigen utama yang dimiliki, yaitu O (*somatic*), Vi (*capsular/surface*) dan H (*flagellar*).³⁷ Membran sel tersusun atas kompleks molekul glikolipid yang dikenal dengan nama lipopolisakarida (LPS) atau endotoksin.³⁸ Endotoksin terdiri dari 3 lapisan, yaitu O-*specific polysaccharide* di bagian luar, *core-polysaccharide* di bagian tengah dan lipid di bagian dalam. Dengan struktur LPS yang demikian lengkap menjadikannya lebih resisten terhadap enzim yang memproses antigen, yaitu dengan cara memperlambat pemrosesan dan menghambat aktivasi epitop tertentu. Hal ini juga dapat

merintang aktivasi sel T, khususnya *Cluster of differentiation 4* (CD4) karena pada umumnya mereka lebih mengenali epitop peptida daripada polisakarida^{38,39} yang memiliki LPS lengkap juga resisten terhadap lisis komplemen jalur *membrane attack complex* (MAC).³⁶ (lihat gambar 2.3)



Gambar 2.5 Bagian dari LPS *Salmonella* (Dimodifikasi dari Ima Arum L, 2008)⁶

Salmonella typhimurium dapat menyebabkan penyakit sistemik pada binatang yang menyerupai *typhoid* pada manusia sehingga lazim dipakai untuk meneliti patogenesis penyakit tersebut.^{38,39} Meskipun demikian, *Salmonella typhi* dan *paratyphi* sebagai agen penyebab *typhoid* mempunyai antigen Vi yang tidak dipunyai oleh *Salmonella typhimurium*.⁴⁰ Antigen Vi ini mampu mereduksi pengeluaran IL-8 yang berperan untuk menginduksi PMN (neutrofil). Oleh karena itu, pada awal infeksi *Salmonella typhimurium*, sel radang yang mendominasi adalah serbuk sel PMN,

sedangkan pada infeksi *Salmonella typhi* dan *paratyphi* didominasi oleh serbuk sel mononuklear.⁴¹⁻⁴³

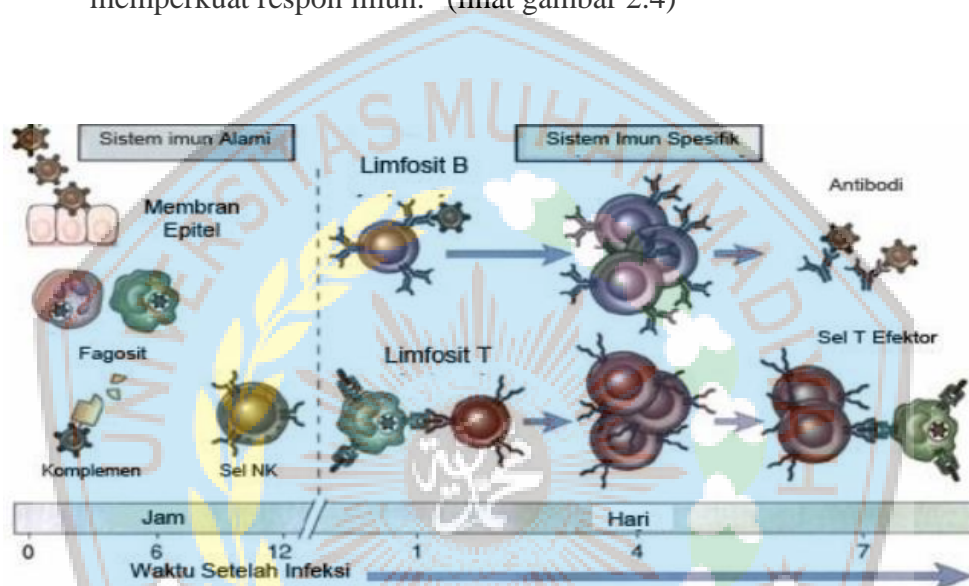
Salmonella dapat bertahan hidup dalam makrofag yang memfagositnya dan mampu melakukan multiplikasi di dalam fagosom yang tidak berfusi.^{44,45} Hambatan fusi fago-lisosom berhubungan dengan peningkatan survival intrasel dan virulensi bakteri, di mana *Salmonella* merespon lingkungan intrasel dengan meregulasi ekspresi protein tertentu.⁴⁴⁻⁴⁸ *Salmonella* juga bersifat toksik terhadap makrofag. Sitotoksitasnya ditandai dengan makropinositosis pada makrofag yang terinfeksi diikuti dengan kematian sel. Gambaran apoptosis berupa kondensasi dan fragmentasi kromatin, pembengkakan membran dan munculnya nukleosom sitoplastik. *Salmonella* juga mempunyai kemampuan bermultiplikasi dalam parenkhim sel non fagosit, seperti hepatosit dan epitel intestinal.⁴⁹ Di dalam sel, mikroba ini tinggal dalam vakuola yang berikatan dengan membran. Hal ini memungkinkannya terlindungi dari makrofag dan respon humoral. Tetapi, antigen bakteri yang mencapai sitoplasma akan didegradasi dan menghasilkan fragmen peptida yang berikatan dengan MHC I untuk dipresentasikan ke CD8.^{36, 50}

2.1.3.2 Patogenesis Penyakit dan Respon Imun Terhadap *Salmonella sp.*

Salmonella Typhimurium merupakan bakteri intraseluler dapat hidup dan berkembang bia dalam sel fagosit. Antibodi dalam plasma tidak bisa berperan untuk mengeliminasi bakteri tersebut sehingga yang berperan adalah imunitas seluler.⁵¹ Imunitas seluler terhadap infeksi *Salmonella Typhimurium* sering dipakai sebagai model untuk menunjukkan respon imun terhadap bakteri intraseluler.

Respon imun terhadap salmonella meliputi sistem imun natural (*innate*) dan sistem imun adaptif (*acquired*).^{50,54} Sistem imun natural berfungsi untuk mengidentifikasi dan melawan mikroba serta penanda

imun adaptif untuk hadir.⁴⁵ Respon imun natural dimulai dengan pengenalan komponen bakteri seperti LPS dan DNA, diikuti pengambilan dan penghancuran bakteri oleh sel fagosit yang memfasilitasi proteksi host terhadap infeksi. Peran ini dilakukan oleh makrofag, sel NK, dan neutrofil.^{43,44,55} Adapun pengeluaran mediator inflamasi berfungsi untuk memperkuat respon imun.³⁶(lihat gambar 2.4)



Gambar 2
(Dimodifikasi)

Makrofag mensekresi *Interleukin* (IL)-1, -6, -8, -12, -15, -18 dan $TNF\alpha$.^{38,44,54} Interleukin -1, -6, dan $TNF\alpha$ bekerja sinergis untuk meningkatkan aktivasi sel T dan respon radang akut. IL-8 membantu menarik neutrofil ke tempat infeksi. IL-12 mengaktivasi sel NK dan memicu diferensiasi CD4 menjadi *T-helper 1* (Th1). IL-12 juga meningkatkan kemampuan bakterisidal fagosit, meningkatkan $IFN\gamma$, dan meningkatkan sintesis NO.

Sel NK berperan sebagai sel sitotoksik atau sitolitik yang dapat menghancurkan sel yang terinfeksi. Sel NK juga memproduksi $IFN\gamma$, $TNF\alpha$, dan *granulocyte macrophage colony stimulating factor* (GM-CSF). $IFN\gamma$ meningkatkan sejumlah reseptor $TNF\alpha$ dan transkripsi mRNA. Sebaliknya $TNF\alpha$ dibutuhkan untuk produksi $IFN\gamma$. $IFN\gamma$ meningkatkan respon

Cell Mediated Immunity (CMI) dengan mengaktivasi makrofag dan menginduksi diferensiasi sel Th menjadi Th1. Sel NK berperan sebagai jembatan antara imunitas alami dan imunitas adaptif, memodulasi hematopoiesis, dan meningkatkan sel granulosit dan sel makrofag.^{39,45,54}

Sementara itu pada imun adaptif sel yang berperan adalah APC, sel T dan sel B.^{45,50,54,57} Sel dendritik merupakan APC yang penting dalam inisiasi respon imun yang diperantarai sel T dan bersama dengan makrofag mempresentasikan antigen yang diproses dari bakteri intrasel gram negatif seperti *Salmonella*.^{45,50,54} Pada infeksi bakteri intraseluler dan virus pada sediaan apus darah tepi dapat terlihat limfosit atipik / teraktivasi dengan limfosit yang lebih besar dan reaktif, sitoplasma lebih lebar, warna lebih biru atau abu-abu, inti oval, dan kromatin lebih kasar.⁵⁵ Faktor yang berperan dalam perubahan sel Th adalah limfokin yang mengaktifkannya. Jika berupa IL-2 dan IFN γ , yang berkembang adalah Th1 dan akan menekan Th2. Sebaliknya jika IL-4 yang dikeluarkan, maka Th2 yang akan berkembang. Diferensiasi sel Th juga dipengaruhi jenis APC. Jika APC-nya makrofag (sumber IL-12), yang akan berkembang adalah Th1, tetapi jika APC-nya sel B, yang berkembang Th2.^{39,45,53,54}

Sel T diperlukan untuk ekspresi penuh imunitas terhadap *Salmonella*.^{44,50,56} Sel T dengan CD4 berfungsi dalam membantu aktivasi dan diferensiasi sel B. Selain membantu sel B membentuk antibodi,^{38,54} juga membantu pembentukan CD8 spesifik *salmonella* dan pengaturan pembentukan granuloma untuk membatasi penyebaran bakteri. CD8 ini dapat melisis sel yang terinfeksi dan memproduksi sitokin yang dibutuhkan untuk penerahan dan aktivasi fagosit.⁵⁶ Ketika distimulasi, CD4 akan memproduksi IL-2 yang dibutuhkan sel T untuk berkembang menjadi Th. Defisiensi CD4 menyebabkan terjadinya infeksi kronis, sedangkan pada defisiensi sel B masih mampu mengontrol dan mengeliminasi infeksi

Salmonella. Jadi dapat disimpulkan bahwa CD4 juga berperan untuk mengaktivasi fagosit dan bukan Sekedar memberi bantuan sel B.^{36,54}

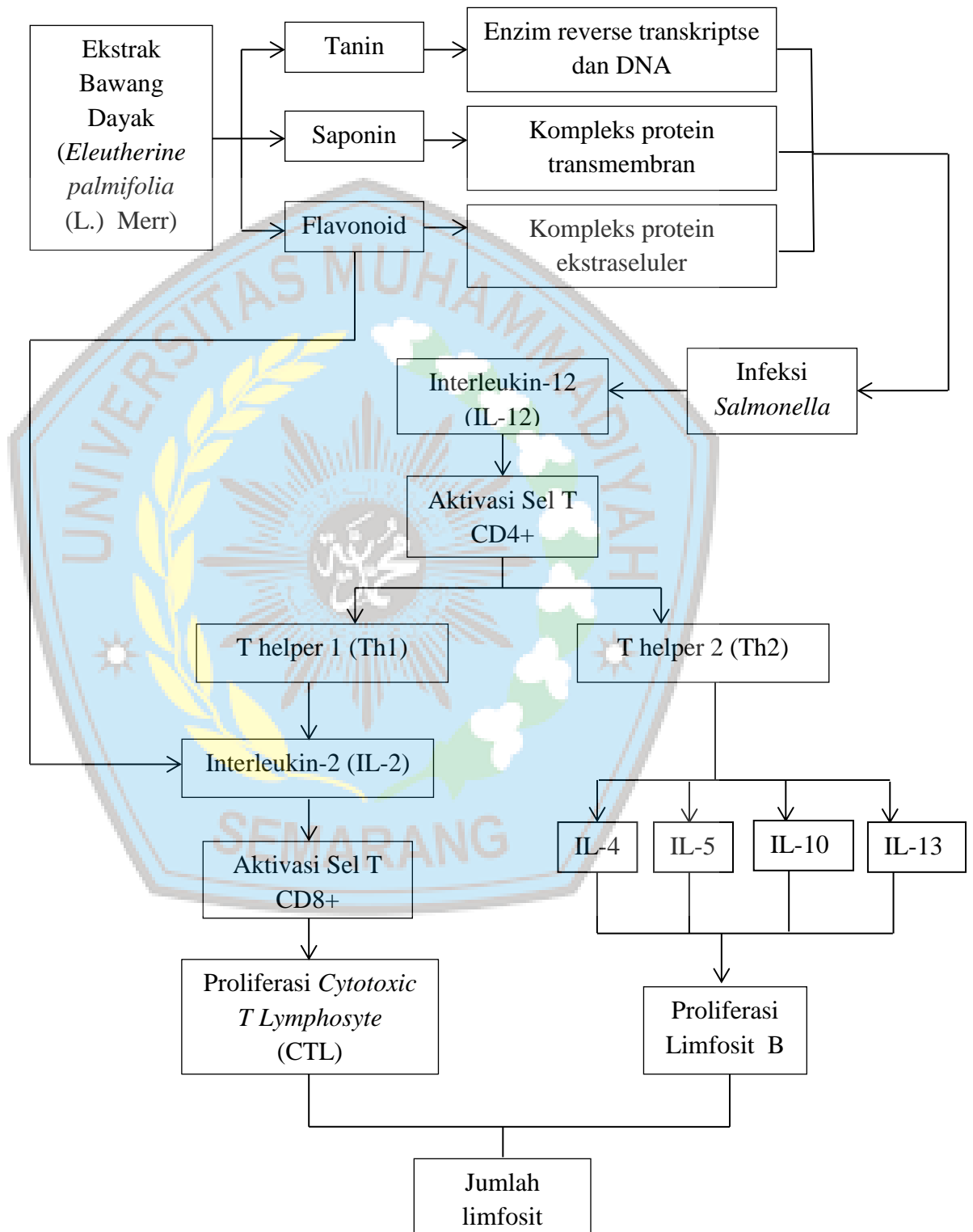
Secara singkat perjalanan infeksi sistemik Salmonella dapat digambarkan dalam beberapa fase. Fase I terjadi sekitar 1 jam setelah diinfeksi secara intravena atau intraperitoneal. Lebih dari 90 % kuman yang diinokulasi ditangkap dan dirusak oleh fagosit residen. Fase II dimulai sejak hari I infeksi yang disebut tahap pertumbuhan eksponensial. Kuman masuk ke dalam sirkulasi melalui pembuluh limfe melakukan invasi ke hepar dan limpa untuk selanjutnya melakukan multiplikasi. Neutrofil sangat penting pada fase ini sebagai pertahanan host dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Fase III terjadi setelah 3-7 hari, pertumbuhan bakteri pesat di hati dan limpa serta menjadi pertumbuhan yang menetap. Makrofag yang teraktivasi memproduksi sitokin proinflamasi. Makrofag teraktivasi bukan untuk membunuh akan tetapi untuk meningkatkan daya bunuh sel NK dengan produksi sitokinnya. Fase pembersihan terjadi setelah minggu ketiga infeksi yang melibatkan imun adaptif khususnya sel T.^{35,36,53}

2.1.4 Immunomodulator pada bawang dayak

Imunomodulasi merupakan suatu cara untuk mengembalikan dan memperbaiki sistem imun yang fungsinya terganggu atau untuk menekan fungsi yang berlebihan. Immunomodulator adalah suatu senyawa biologis maupun sintetis yang mampu menstimulasi, menekan atau memodulasi komponen – komponen sistem imun baik sistem imun spesifik maupun non spesifik. Immunomodulator dibagi menjadi 3 kelompok: i) imunostimulator, berfungsi untuk meningkatkan fungsi dan aktivitas sistem imun, ii) imunoregulator, artinya dapat meregulasi sistem imun, dan iii) immunosupresor yang dapat menghambat atau menekan aktivitas sistem imun.⁵¹

Imunostimulator dapat mereaktivasi sistem imun dengan berbagai cara seperti meningkatkan jumlah dan aktivitas sel T, sel NK dan makrofag serta melepaskan IFN- γ dan interleukin. Bawang dayak mengandung *flavonoid* yang berpotensi sebagai imunostimulan karena mampu mensekresikan sekresi IL-2 yang terlibat dalam aktivasi sel T CD8+ dan memicu proliferasi *Cytotoxic T Lymphocyte* (CTL). *Cytotoxic T Lymphocyte* (CTL) dapat merusak membran sel yang terinfeksi bakteri intraseluler sehingga bakteri tersebut dapat berikatan dengan antibodi dalam plasma. Kompleks antigen-antibodi tersebut mengaktifkan komplemen sehingga dapat membunuh bakteri tersebut. Selain itu, flavonoid dapat menginduksi Th1 untuk menghasilkan IFN- γ . IFN- γ juga merupakan mediator poten dalam regulator perkembangan sel Th. Interferon gama (IFN- γ) termasuk keluarga limfokin karena IFN ini dihasilkan oleh limfosit T. IFN γ mengaktifkan makrofag sehingga makrofag yang aktif tersebut dapat membunuh bakteri intraseluler. Hubungan ini dapat dilihat dengan koefisien korelasi yang cukup kuat antara IFN - γ dengan NK sel dan CD8+. ⁵² Sel NK yang diaktifkan juga merupakan sumber berbagai sitokin yang mengatur sel sistem imun lainnya. Sel NK memberikan pertahanan pertama sampai sistem imun spesifik bekerja seperti sel T CD8+ dan antibodi dapat bekerja. Sel NK dapat memproduksi IFN- γ dan TNF-alfa yang merupakan sitokin imunoregulator poten. Meningkatnya produksi IFN - γ dapat meningkatkan komponen immune surveillance yaitu aktivitas sel NK yang berfungsi sebagai pertahanan lini terdepan, juga peningkatan fungsi sel T sitotoksis (CD 8+).⁵³

2.2 Kerangka Teori



2.3 Kerangka Konsep



2.4 Hipotesis

Pemberian Ekstrak etanol bawang dayak dapat meningkatkan jumlah limfosit pada mencit BALB/c yang diinfeksi *Salmonella typhimurium*.

