

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Obat

Tanaman obat dapat dimanfaatkan untuk pengobatan karena secara alam memiliki senyawa sekunder yang mampu mengatasi berbagai penyakit. Pemanfaatan senyawa kimia yang terkandung didalam tanaman obat dapat berinteraksi secara bersamaan, sehingga penggunaanya dapat melengkapi, merusak atau menetralsir efek negatifnya²⁹. Oleh karena itu diperlukan upaya dalam pencegahan infeksi dan membantu pengurangan penggunaan obat kimia. Masyarakat Indonesia sudah sejak lama menggunakan tumbuhan sebagai pengobatan maupun pemeliharaan kesehatan yang diwariskan secara turun-temurun atau menjadi kebiasaan masyarakat setempat³⁰⁻³¹. Tanaman berkhasiat obat telah digunakan masyarakat umum sejak berabad-abad yang lalu. Pemanfaatan obat-obatan tradisional bagi kesehatan saat ini memang digencarkan karena lebih mudah didapatkan dan ditemui oleh masyarakat. Beberapa penelitian menyebutkan tumbuhan tradisional hampir tidak mempunyai efek samping dan mampu dicerna didalam tubuh³².

World Health Organization (WHO) menyebutkan di beberapa negara seperti Negara Afrika, Asia dan Amerika Latin memanfaatkan obat herbal dari tumbuhan dalam pemeliharaan kesehatan masyarakat, pencegahan dan pengobatan penyakit, terutama untuk penyakit infeksi. WHO juga mendukung upaya-upaya dalam peningkatan keamanan dan khasiat dari obat tradisional.

Penggunaan obat tradisional secara umum dinilai lebih aman dari pada penggunaan obat modern karena memiliki efek samping yang relatif rendah dari pada obat modern³². Masyarakat Indonesia sudah lama memanfaatkan tumbuhan atau tanaman sebagai pengobatan maupun pemeliharaan kesehatan yang diwariskan secara turun-temurun. Menurut hasil penelitian terhadap senyawa aktif yang terkandung dalam sumber tanaman atau tumbuhan berkhasiat obat tersebut, menunjukkan adanya aktivitas imunomodulator yang dapat dikembangkan lebih lanjut sebagai senyawa obat kelompok fitofarmaka³⁰.

2.2 *Eurycoma longifolia* Jack

2.2.1 Deskripsi *Eurycoma longifolia* Jack

Tumbuhan *Eurycoma longifolia* Jack merupakan salah satu tumbuhan yang tumbuh liar di hutan Indonesia. Tumbuhan ini belum banyak dibudidayakan, pemanfaatan tumbuhan *Eurycoma longifolia* Jack diambil secara langsung dari hutan. Selain di Indonesia *Eurycoma longifolia* Jack juga ditemukan di hutan Asia seperti Malaysia, Thailand, Philipina dan Birma. Bagian tumbuhan *Eurycoma longifolia* Jack yang dimanfaatkan, seperti akar biasanya diambil dari pohon yang cukup umur. Akar *Eurycoma longifolia* Jack banyak ditemukan ditoko jamu herbal tionghoa dan jawa dengan bentuk potongan akar atau kulit akar yang telah dikeringkan. Selain untuk obat herbal masyarakat Kalimantan memanfaatkan tumbuhan *Eurycoma longifolia* Jack sebagai kerajinan tangan yang dibuat cendera mata dengan aneka bentuk. Rasa pahit pada

akar *Eurycoma longifolia* Jack dipercaya mampu menumbuhkan nafsu makan untuk anak. Sedangkan pada orang dewasa, akar *Eurycoma longifolia* Jack memiliki khasiat untuk mengatasi pencernaan, merangsang gairah seksual, dan penyegar tubuh⁵. Morfologi tumbuhan *Eurycoma longifolia* Jack seperti daun yang tersusun majemuk, berbentuk lanset atau bundar dan ujung sedikit meruncing. Bunganya berwarna merah serta berbulu halus, buahnya hijau kuning kemerahan ketika masak. Akarnya tunggang dan tumbuh tegak lurus menusuk kedalam tanah³³.

2.2.2 Penyebaran Tumbuhan *Eurycoma longifolia* Jack

Tumbuhan *Eurycoma longifolia* Jack berasal dari Asia Tenggara seperti Indonesia, Malaysia, Thailand, Philipina, Brunei, Kamboja, Laos, dan Vietnam. Wilayah penyebaran *Eurycoma longifolia* Jack yang sangat luas menyebabkan *Eurycoma longifolia* Jack dikenal dengan berbagai nama daerah. Masyarakat Sumatera dan Kalimantan menyebut tumbuhan ini dengan nama pasak bumi, kayu petimah, bidara pait, gagaten harimau. Tongkat ali (Bangka), pedaro putih (Jambi). Tidak hanya masyarakat lokal Indonesia, tetapi pada masyarakat di Asia Tenggara lainnya juga mempunyai sebutan untuk tumbuhan ini, seperti *Hae phan chan* (Thailand), tongkat ali (Malaysia), *cay ba bonh* (Vietnam), *tho nan* (Laos), dan *Langsia siam* (Brunei)³⁴.

2.2.3 Klasifikasi Tumbuhan *Eurycoma longifolia* Jack

Berdasarkan ilmu taksonomi atau klasifikasi tumbuhan *Eurycoma longifolia* Jack dikelompokkan sebagai berikut³⁴ :

<i>Kingdom</i>	: <i>Plantae</i>
<i>Division</i>	: <i>Magnoliophyta</i>
<i>Class</i>	: <i>Magnoliopsida</i>
<i>Sub-Class</i>	: <i>Rosidae</i>
<i>Ordo</i>	: <i>Sapindales</i>
<i>Family</i>	: <i>Simaroubaceae</i>
<i>Genus</i>	: <i>Eurycoma</i>
<i>Spesies</i>	: <i>Eurycoma longifolia</i> , Jack

2.2.4 Morfologi Tumbuhan *Eurycoma longifolia* Jack

Di Indonesia, *Eurycoma longifolia* Jack tumbuh subur di pedalaman Kalimantan pada tanah dengan kondisi masam, berpasir dan beraerasi baik pada ketinggian dibawah 1200 meter diatas permukaan laut³⁵. Tumbuhan renek ini tingginya mencapai sepuluh meter dan tumbuh dihutan tanah rendah³⁴. Berikut ini merupakan bagian tumbuhan *Eurycoma longifolia* Jack :

a. Akar

Tumbuhan *Eurycoma longifolia* Jack memiliki akar tunggang berwarna putih kekuningan. Ukuran akar standar, diameternya beragam dari 3 cm sampai 10 cm, halus apabila telah jadi serbuk, rasanya pahit.

b. Batang

Tumbuhan *Eurycoma longifolia* Jack memiliki batang, umumnya tidak bercabang, berkayu yang keras dan kuat, bentuk batang *Eurycoma longifolia* Jack bulat, rasanya pahit, dan warna batang keabu-abuan.

c. Daun

Daun *Eurycoma longifolia* Jack berbentuk majemuk menyirip ganjil. Daun mengumpul di ujung batang, dan panjangnya 20-49,6 cm. Tangkai daun berwarna coklat kehitaman.

d. Bunga

Tumbuhan *Eurycoma longifolia* Jack memiliki bunga yang tersusun padat pada tangkai yang bercabang. Setiap tangkai terdapat beberapa ratus kuntum bunga berwarna ungu. Bunga *Eurycoma longifolia* Jack berwarna jingga, dalam satu tangkai umumnya ada 46 bunga tunggal. Pada setiap kelopak ditutupi oleh rambut berwarna kuning kemerahan. Berdasarkan ukuran benang sari bunga betina dengan benang sari yang besar dibandingkan bunga jantan benang sari lebih kecil dan tipis.

e. Buah

Buah dari berbentuk oblong dengan panjang 1,25 cm, buah *Eurycoma longifolia* Jack yang sudah matang berwarna kuning dan merah.

2.2.5 Khasiat Tumbuhan *Eurycoma longifolia* Jack

Tumbuhan *Eurycoma longifolia* Jack tumbuh subur di pedalaman Kalimantan. Tumbuhan ini digunakan oleh masyarakat suku Dayak sebagai tanaman yang memiliki beragam khasiat. *Eurycoma longifolia* Jack mengandung senyawa metabolit sekunder dapat berkhasiat melancarkan peredaran darah. Ekstrak *Eurycoma longifolia* Jack mengandung *ethanolic* yang berperan meningkatkan hormon *testosteron* pada pria. Kandungan *strichin* dan *bursin* pada tumbuhan ini juga dapat menambah vitalitas pria karena bersifat *afrodisiak*³⁶. Bhat (2010) menyebutkan secara farmakologi kulit akar, batang, dan daun tumbuhan *Eurycoma longifolia* Jack berpotensi untuk antiplasmodial³⁷. Pada akar tumbuhan *Eurycoma longifolia* Jack juga terbukti sebagai antioksidan penangkal radikal bebas, anti kanker, antibakteri³⁸⁻³⁹, untuk pengobatan osteoporosis pada laki-laki⁴⁰, afrodisiak⁴¹, anti leukemia, dan pengobatan disentri⁴². Namun tidak hanya itu *Eurycoma longifolia* Jack juga dimanfaatkan secara tradisional untuk mengatasi demam, malaria, serta tonikum pasca melahirkan. Bagian tumbuhan *Eurycoma longifolia* Jack yang sering digunakan adalah akar, daun, dan kulit batang. Akarnya dapat dijadikan obat tradisional dengan cara direbus dan air rebusanya diminumkan dalam keadaan hangat. Bunga dan buah dapat diseduh dengan air hangat, kemudian diminum untuk mengobati penyakit disentri. Serta kulit batang tumbuhan *Eurycoma longifolia* Jack dapat berkhasiat obat sebagai antinyeri pada tulang⁴³. Tumbuhan yang dikenal

dengan rasa pahit ini, ternyata banyak memiliki khasiat, secara umum semua pada bagian tumbuhan *Eurycoma longifolia* Jack bias dijadikan bahan baku obat. Masyarakat Suku Dayak menggunakan akar tumbuhan *Eurycoma longifolia* Jack sebagai anti malaria dengan cara direbus kemudian diminum airnya⁴⁴. Daun pada tumbuhan *Eurycoma longifolia* Jack di Sumatera Utara oleh masyarakat batak lebih sering dimanfaatkan sebagai obat sakit perut⁴⁵. Tidak hanya itu, kulit dan batangnya juga dimanfaatkan untuk meredakan demam juga sariawan⁴⁶.

2.2.6 Kandungan Kimia Tumbuhan *Eurycoma longifolia* Jack

Pada umumnya tumbuhan *Eurycoma longifolia* Jack memiliki senyawa yang berkhasiat obat yaitu *alkaloid, tannin, triterpenoid, flavonoid, karatenoid, dan kumarin*. Selain itu juga terdapat senyawa *strichnin* dan *bursin* yang memiliki sifat afrodisiak untuk meningkatkan vitalitas pria. Zat afrodisiak pada tumbuhan terdapat pada senyawa sekunder yaitu alkaloid, saponin, tanin. Kandungan senyawa *eurikumanon* dalam tumbuhan ini dipercaya mampu mengobati penyakit malaria karena didalam senyawa *eurikumanon* terdapat *kuasinoid* yang mampu melumpuhkan *plasmodium falciparum*. Kadungan senyawa aktif pada akar *Eurycoma longifolia* Jack seperti kuasinoid, flavonoid, dan alkaloid mampu menekan perkembangan kanker serta kemopreventif sebagai imunomodulator⁸. Selain itu, kandungan utama dari senyawa *alkaloid* dan *kuasinoidnya* yang ada didalam akarnya adalah

eurikumanon yang bersifat sitotoksik⁴⁷ dan mampu menghambat terjadinya pertumbuhan sel kanker³⁶. Secara farmakodinamik dan biokimia zat bioaktif yang ada didalam akar *Eurycoma longifolia* Jack dapat meningkat respon imun, sebagai antioksi, menghambat pertumbuhan sel kanker⁸. Senyawa kuasinoid mampu memacu kerja apoptosis atau menghambatan perkembangan sel kanker dan respon imun seluler dengan enzim-enzim antioksidan⁴⁸.

a. *Alkaloid*

Hampir semua jenis tumbuhan mengandung senyawa *alkaloid*. Senyawa sekunder *alkaloid* memiliki cincin heterosiklik yang bersifat basa⁴⁹. Mekanisme *alkaloid* sebagai respon kekebalan tubuh dan imunomodulator yaitu dengan meningkatkan aktivitas IL-2 dan proliferasi limfosit. Sel Th1 yang teraktivasi akan mempengaruhi *Specific Macrophag Arming Factor* (SMAF), yaitu molekul-molekul termasuk IFN γ yang dapat mengaktifkan makrofag. Jika terdapat antigen yang masuk ke tubuh, misalnya bakteri, maka limfosit T dan makrofag saling bekerja sama untuk membunuh bakteri tersebut. Makrofag akan memfagosit bakteri dan limfosit T berdiferensiasi menjadi CD4+ dan CD8+ yang kemudian menghasilkan sitokin IFN γ dan TNF α serta memacu sel Natural Killer. Sitokin tersebut akan mengaktifkan makrofag untuk menghasilkan senyawa salah satunya nitrit oksida yang berguna membunuh bakteri⁵⁰.

b. *Saponin*

Saponin memiliki struktur kimia yang dikelompokkan menjadi tiga kelas utama yaitu *steroid*, *steroid alkaloid*, dan *triterpenoid*. Senyawa *saponin* ditandai dengan timbulnya busa jika dikocok dan berasa pahit. Senyawa *triterpenoid* juga senyawa yang dimanfaatkan untuk menghambat pertumbuhan bakteri karena senyawa ini bereaksi dengan porin atau *protein transmembrane* yaitu membran luar dinding sel bakteri, kemudian membentuk ikatan polimer yang kuat dan menyebabkan porin menjadi rusak.

Komponen fitokimia senyawa saponin memiliki aktifitas antitumor dengan mekanisme sitotoksik. Saponin memicu alur apoptosis dan autofagi, menahan siklus sel, serta dapat menghambat angiogenesis dan metastatis⁵¹.

Saponin menghasilkan protein kecil seperti interleukin dan interferon yang mampu menekan respon imun⁵². Saponin jika dalam jumlah yang normal berperan sebagai imunostimulator, sedangkan dalam jumlah yang melebihi batas normal berperan sebagai immunosupresor⁵³.

c. *Flavanoid*

Senyawa fenol terbesar ini banyak ditemui pada tanaman, *flavonoid* dikenal dengan zat berwarna merah, ungu, biru, dan sebagian berwarna kuning. Fungsi *flavonoid* bagi tumbuhan yaitu dijadikan zat yang mengatur proses pertumbuhan fotosintesis,

membunuh serangga, menghambat pertumbuhan mikroba⁴⁹. *Flavonoid* membentuk protein ekstraseluler terlarut yang merusak membrane sel bakteri, sehingga metabolisme bakteri terhambat kemudian bakteri kekurangan oksigen⁵⁴.

Penelitian secara *invitro* dan *invivo* menunjukkan *flavonoid* memiliki aktivitas biologi, yaitu bersifat sitotoksik, menghambat pertumbuhan sel tumor yang mengaktifasi protein-kinase, menyebabkan berkurangnya sekresi matriks *meralloproteinase*, mampu menghambat pelepasan histamin, sebagai anti jamur dan anti bakteri⁵⁵⁻⁵⁶.

d. *Tannin*

Tannin merupakan salah satu jenis senyawa golongan polifenol yang banyak ditemukan terutama didaun dan buah. Senyawa golongan polifenol ini memiliki berat molekul cukup tinggi (lebih dari 1000) dan dapat membentuk senyawa kompleks yang berikatan kuat dengan protein. Kegunaan *tannin* bagi tanaman dapat melindungi pada metabolisme pertumbuhan tanaman, mencegah hama, serangga dan jamur pada tanaman⁴⁹. *Tannin* berperan sebagai imunostimulator yaitu membantu mengoptimalkan fungsi sistem imun dalam mekanisme pertahanan tubuh terhadap mikroba atau penyakit. *Tannin* juga mampu meningkatkan aktivitas fagositosis dari makrofag dalam menghancurkan mikroba^{57,58}.

2.3 Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses pemisahan senyawa dari simplisia dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Pelarut yang digunakan tergantung sifat kelarutan senyawa yang akan di pilih. Jenis pelarut paling umum yaitu heksana, eter, kloroform, alkohol, metanol, etanol dan air⁵⁹. Penelitian ini menggunakan pelarut bersifat polar⁶⁰ yaitu etanol. Etil-alkohol atau alkohol adalah pelarut yang paling sering digunakan dalam kehidupan sehari-hari yaitu pada industri makanan dan minuman serta dalam ilmu. Etanol juga memiliki sifat kimia yaitu mudah menguap, terbakar, tidak berasap dan nyala api kebiru-biruan⁶¹.

Berdasarkan sediaananya, proses pemisahan senyawa dari simplisia dibagi menjadi 2 yaitu :

2.3.1 Ekstraksi padat-cair

Proses pemisahan senyawa dari simplisia menggunakan pelarut yang diadsorpsi pada permukaan sampel kemudian pelarut akan berdifusi (interaksi analit dengan pelarut)⁶². Metode ekstraksi yang dipilih pada penelitian ini adalah maserasi. Metode maserasi dilakukan dengan cara merendam simplisia dalam pelarut pada suhu 40-60⁰C disebut digesti bertujuan untuk menyerap senyawa sekunder lebih optimal, dan meminimalisir kerusakan atau degradasi metabolit. Metode maserasi, terjadi proses keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar dan di dalam sel sehingga diperlukan penggantian pelarut secara berulang. Kemudian dilakukan pengadukan atau kinetik pada proses maserasi⁵⁹.

2.3.2 Ekstraksi cair-cair

Prinsip pemisahan senyawa dengan dua pelarut yang berbeda. Proses pemisahan senyawa ini dilakukan untuk mendapatkan senyawa dengan hasil ekstrak cair dengan pelarut yang sesuai⁶².

2.4 Ekstrak

Ekstrak adalah hasil akhir dari proses pemisahan senyawa atau penyarian simplisia dengan metode tertentu. Ekstrak akhir dapat berupa sediaan kental, cair, dan serbuk. Ekstrak kering bila susut pengeringan berjumlah tidak lebih dari 5%, ekstrak kental bila susut pengeringan berjumlah 5%-30% dan ekstrak cair⁶³. Ekstrak kental didapat dengan cara menguapkan pelarut penyari, dan ekstrak kering atau serbuk diperoleh dengan cara pengeringan dengan suhu konstan sehingga tidak merusak senyawa sekunder yang ada pada ekstrak⁶⁴.

2.5 Penguapan

Penguapan adalah proses pemekatan ekstrak agar kadar senyawa lebih besar dan memudahkan penyimpanan. Penguapan sering digunakan sebelum ekstrak diproses lebih lanjut, seperti pemisahan atau fraksinasi. Penguapan dilakukan menggunakan penguap putar (*rotary evaporator*), pada suhu rendah sekitar 40-50°C dan dibantu dengan alat vakum sehingga titik didih pelarut lebih rendah. Suhu yang digunakan tidak terlalu tinggi agar tidak menguraikan senyawa yang terkandung dalam ekstrak⁶⁴.

2.6 Tinjauan Tentang Nanopartikel

2.6.1 Nanopartikel

Penelitian ini menggunakan nanopartikel, nanopartikel adalah partikel koloid yang diformulasi menggunakan polimer. Polimer yang digunakan dalam penelitian ini adalah kitosan karena senyawa yang ideal dan tidak beracun sehingga cocok digunakan sebagai agen penyalut sebagai nanokitosan. Proses penyerapan obat didalam tubuh, obat akan melewati proses *loading dose*. Nanopartikel disarankan sebagai penghantar obat karena mempunyai kapasitas stabilitas yang tinggi dan dapat menggabungkan substansi hidrofolik dan hidrofobik, serta sebagai rute administrasi lewat oral dan inhalasi⁶⁵. Nanopartikel juga sebagai *carrier* (pembawa) yaitu mudah larut dan menempelkan obat pada matriks.

Secara umum sistem pengantar obat (SPO) untuk menggambarkan suatu obat dapat mencapai ketempat target. Sistem pengantar Obat (SPO) diketahui sebagai formulasi zat terapeutik yang mudah diterima oleh tubuh sehingga meningkatkan kemampuan serta keaman obat. Pemberian terapeutik, yaitu dengan pelepasan bahan aktif yang kemudian melintasi membran⁶⁶. Nanopartikel dapat mengontrol entitas obat dalam sirkulasi sistemik, sehingga obat dapat dikontrol secara berkelanjutan. Efek terapeutik pada nanopartikel dapat meminimalkan efek samping⁶⁷⁻⁶⁸. Nanopartikel memiliki ukuran partikel

10-1000 nm. Ukuran partikel yang kecil maka semakin luas permukaannya, sedangkan jika partikel besar obat dapat dienkapsulasi dan berdifusi keluar. Nanopartikel dibagi menjadi dua yaitu nanokristal yang tersusun dari gabungan molekul dan *nanocarrier* adalah senyawa obat yang di enkapsulasi dengan sistem penghantaran obat berukuran nanopartikel dan memiliki berbagai macam jenis seperti misel, nanotube, liposom, nanopartikel lipid padat, dendrimer, dan nanopartikel polimerik^{69,70}.

Karakteristik nanopartikel yang pertama yaitu organoleptis untuk melihat bentuk, warna, dan bau dengan mikroskop optik pembesaran tertentu. Karakteristik kedua adalah distribusi ukuran nanopartikel dengan alat *Particles Size Analyzer* (PSA) prinsip kerjanya seperti *Photon Correlation Spectroscopy* dan *Electroghoretic Correlation Scattering* dengan rentang ukuran $0,6\mu\text{m} - 7\mu\text{m}$ ^{71,72}..

2.6.2 Metode pembuatan

Nanopartikel dihasilkan secara alami dan sintesis oleh manusia. Jika ukuran < 100 nm menandakan bahwa nanopartikel tersebut terbentuk. Banyaknya pemanfaat nanoteknologi tidak terlepas dari kemungkinan untuk menyintesis produk nanomaterial. Sintesis nanopartikel dapat berupa padat, cair, dan gas. Secara umum, proses pembentukan sintesis nanopartikel dapat berlangsung secara fisika maupun kimia. Metode fisika (*top down*) memiliki prinsip kerja dengan

memecah material yang berukuran besar menjadi ukuran nanometer dan tidak ada reaksi kimia. Sedangkan pada metode kimia (*bottom up*) dilakukan dengan pemecahan material awal kemudian dihasilkan material berukuran nano⁷³.

a) Metode *Top-Down*

Proses *top-down* yaitu proses pengecilan ukuran partikel besar menjadi lebih kecil dengan teknik penggilingan. Teknik penggilingan meliputi media, mikrofluidasi dan pencampuran tekanan tinggi, serta memerlukan energi yang tinggi sehingga dianggap kurang efisien. Suhu tinggi pada metode ini menyebabkan pengolahan material yang termolabil menjadi sulit⁷⁴.

b) Metode *bottom-up*

Bottom-up yaitu pembentukan nanostruktur atom atau molekul. Proses metode *bottom-up* yaitu dengan melarutkan obat dengan pelarut organik, lalu nano diendapkan dengan mengadd antisolvent dalam stabilizer⁷⁴.

Proses pengolahan nanopartikel polimer ada 2 metode yang paling umum yaitu⁷⁵ :

1) Polimerasi Monomer Sintetis

Nanopartikel terbentuk dengan merangsang reaksi polimerasi dari monomer sebagai pembawa polimer⁷⁵. Proses mendispersikan monomer yang tidak larut air, lalu diinduksi

sehingga terjadi reaksi inisiator kimia, variasi pH, dan stabilizer⁷⁶.

2) Dispersi Polimer

Prinsip kerjanya menggunakan polimer yang membentuk emulsi pada air, jika sudah terbentuk partikel organik dihilangkan.

Metode disperse polimer yaitu metode penguapan pelarut, emulsifikasi spontan, *gelas ionic*, dan *spray drying*⁷⁶.

2.7 Nanopartikel Kitosan

Nanopartikel terdiri dari bahan makromolekul digunakan sebagai terapi pembantu (*adjuvant*) atau pembawa obat. Adapun prinsip nanopartikel sebagai penghantar obat yaitu dengan melarutkan, memerangkap, mengenkapsulasi menyerap atau menempelkan bahan aktif secara kimia. Polimer untuk kombinasi nanopartikel dapat berupa polimer sintetik dan alami. Kitosan memiliki sifat yang ideal sehingga dapat dijadikan salah satu polimer yang larut air untuk tujuan pengobatan adalah kitosan⁷⁷.

Nanoteknologi sering dimanfaatkan karena memiliki material lebih kecil berukuran nano, sehingga lebih efektif, efisien, dan pemanfaatannya lebih luas. Kitosan adalah material nanoteknologi polisakarida penyulingan kitin yang memiliki sifat mudah terbiodegradasi. Strukturnya mirip selulosa dan membentuk gel dalam suasana asam, kitosan mempunyai sifat matriks menyerap obat serta tidak berbahaya⁷⁸. Kitosan ditemukan oleh ilmuwan Perancis dikenal dengan nama Ojier pada tahun 1823, dari hasil ekstrak kulit binatang keras

seperti kulit udang, kepiting, dan serangga⁷⁸⁻⁷⁹. Kitosan dapat dikombinasi dengan nanoteknologi⁸⁰, karena karakteristik nanopartikel kitosan sangat ditentukan dari bentuk, ukuran, kemurniaan permukaan, maupun topologi material⁷⁸. Kitosan merupakan biopolimer alami yang menarik karena adanya gugus amino reaktif dan group fungsional hidroksi⁸¹. Sifat khas dari kitosan yaitu *biodegradable*, biokompatibel, dan tidak toksik, oleh sebab itu kitosan banyak dimanfaatkan dalam bidang biomedis mulai dari sistem penghantaran obat dalam bentuk sediaan nanopartikel. Penggunaan nanopartikel berbasis kitin dan kitosan terbukti membantu dalam penargetan sel-sel kanker dan sistem penghantaran obat secara berkelanjutan⁸². Selain itu kitosan juga telah banyak digunakan dalam produk kosmetik dan berbagai sediaan farmakologi seperti gel, *film*, *beads*, mikrosfer, tablet, dan *coating* untuk liposom⁸³. Metode sintesis nanopartikel kitosan salah satunya adalah metode gelasi ionik⁸⁴. Gelasi ionik merupakan metode yang paling sederhana dalam prosesnya, serta dapat dikontrol dengan mudah. Prinsip pembentukan nanopartikel pada metode ini adalah terjadinya interaksi elektrostatik antara gugus amina pada kitosan yang bermuatan positif dengan NaTPP atau tripolifosfat yang bermuatan negatif⁸⁵⁻⁸⁶.

2.8 Tripolifosfat (NaTPP)

Natrium tripolifosfat yaitu senyawa yang mempunyai rumus kimia $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$, diproduksi dengan campuran stoikiometrik dinatrium fosfat (Na_2HPO_4) dan mononatrium fosfat (NaH_2PO_4) dalam kondisi terkontrol. Natrium tripolifosfat berbentuk bubuk atau granul berwarna putih dan tidak

berbau. Natrium tripolifosfat larut dengan baik didalam air dan banyak dimanfaatkan sebagai komponen dari berbagai produk industri seperti detergen dan makanan⁸⁷⁻⁸⁸.

Natrium tripolifosfat adalah agen pengikat silang (*cross-linking agent*) yang palng umum digunakan dalam pembuatan suspensi nanopartikel kitosan karena sifatnya yang tidak toksik dan multivalensi menjadikannya sebagai polianion saat proses gelas ionic dengan kitosan⁸⁹⁻⁹⁰. Tripolifosfat adalah polianion dan dapat berinteraksi dengan kitosan yang berupa kation karena terdapat perbedaan muatan elektrostatik. Interaksi yang terjadi berupa ikatan silang atau *cross-linking* antara kitosan dan natrium tripolifosfat dan merupakan dasar utama metode gelasi ionik. Kompleks polielektrolit kitosan-tripolifosfat dapat dibuat dengan meneteskan larutan kitosan ke dalam larutan tripolifosfat secara sedikit demi sedikit yang dapat dilakukan dengan metode gelas ionik. Gelas ionik ini paling sering dipakai untuk mendapatkan nanopartikel kitosan-tripolifosfat karena metodenya sederhana dan tidak memerlukan pelarut tambahan⁹¹⁻⁹². Tripolifosfat diketahui adalah zat pengikat silang atau *cross-linking agent* yang baik dalam pembentuka kompleks polielektrolit, karena tripolifosfat memiliki muatan negatif yang tinggi sebagai akibat dari sifat multivalensinya sehingga interaksi dengan polikation kitosan akan lebih besar⁹³.

2.9 Mekanisme Respon Imun

Tubuh manusia telah dilengkapi dengan sistem pertahanan sangat kompleks yang dikenal dengan imun. Imunitas merupakan gabungan antara sel,

jaringan, dan molekul sebagai pertahanan tubuh terhadap suatu infeksi. Adapun respon imun dapat menyebabkan reaksi sel dan molekul terhadap mikroba patogen penyebab infeksi¹². Ada beberapa golongan respon imun berdasarkan hal yang berbeda, yaitu⁹⁴ :

- 1) Proses dalam respon imun, terdiri dari respon alami (*innate immunity*) dan respon imun perolehan (*acquired immunity*). Sistem imun alami merupakan respon imun yang terjadi pada masa awal terpapar oleh senyawa asing dan terjadi sifat respon imun alami adalah non-spesifik, karena tidak dapat membedakan senyawa asing yang terpapar didalam tubuh. Respon imun alami merupakan garis pertahanan pertama terhadap serangan senyawa asing seperti serangan bakteri, respon akan terjadi secara cepat dan tidak mempunyai memori terhadap infeksi sebelumnya. Respon imun alami atau nonspesifik memiliki peranan penting sebagai pertahanan utama pertamanya yaitu merupakan pertahanan fisik dan kimiawi meliputi enzim lisozim dalam air mata dan berbagai sekresinya, bakteri komensal, kulit, asam lemak, flora normal dalam vagina, mucus, silia, perubahan pH dalam saluran pencernaan, dan traktus urinaria. Selain pertahanan utama, respon imun alami atau nonspeifik juga membutuhkan peranan kedua, yaitu diperankan oleh berbagai jenis protein darah, mediator inflamasi, sitokin, sel-sel polimorfonuklear (PMN), *nature killer* (NK) *cell*, *dendrit cell* (DC), makrofag dan nutrofil. Adapun bebrapa fungsi dari peranan kedua dari respon imun alami atau nonspesifik⁹⁵, yaitu :

- a) Neutrofil

Neutrofil merupakan sel fagositik yang mempunyai peran utama dalam pertahanan melawan infeksi.

b) Natural *killer cell* (NK)

Sel ini disebut sebagai *nature killer* karena stimulasi awalnya tidak membutuhkan aktivasi untuk membunuh sel-sel yang tidak dikenal sebagai *self* oleh *marker Major Histocompatibility Cell* (MHC). Sel ini merupakan 0,1% dari sel T yang terdapat di dalam darah perifer. Sel NK dapat mengenali sel terinfeksi dan sel yang terganggu dari sel sehat dan fungsinya diatur oleh keseimbangan antara sinyal yang mengaktifkan dan inhibitorynya⁹⁵. Sel NK pada tubuh normal mampu membedakan antara sel yang berpotensi berbahaya dan sel normal, karena adanya reseptor inhibitori dan reseptor aktivasi⁹⁶⁻⁹⁷. Sel NK diaktifkan interferon dan IL-2, membentuk interferon gama yang mengaktifkan makrofag untuk membunuh sel asing. Sel NK juga melepaskan sitokin yang mengatur sistem imun lainnya. Proses untuk membunuh mikroorganisme patogen sel NK tidak memerlukan bantuan molekul MHC-I. Sel NK memiliki reseptor aktivasi merupakan pembunuh poten sel terinfeksi virus, jamur dan tumor dengan langsung, tanpa bantuan komplemen. Fenomena ini disebut *Antibody Dependent Cell Cytotoxicity* (ADCC)⁹⁶⁻⁹⁷.

c) Sel dendrit (DC)

Sel ini banyak ditemukan di beberapa organ seperti kulit, paru, lambung, dan usus halus. Fungsi utama sel dendrit (DC) adalah untuk memproses antigen dan mempresentasikannya ke MHC berperan sebagai *Antigen Presenting Cells* (APC). Dendrit sel juga berperan sebagai *messenger* dari *innate* dan *adaptive immunity*, memberikan sinyal terhadap respon imun dan mengkoordinasi semua sel dalam sistem imun untuk melakukan aktivasi dan deaktivasi⁹⁵.

d) Makrofag

Makrofag merupakan sel fagositik yang berperan dalam mempertahankan tubuh dalam melawan infeksi. Sel ini dapat ditemukan di setiap organ tubuh, dimana yang menetap di jaringan dikenal dengan makrofag yang *mature*⁹⁸⁻⁹⁹. Makrofag diaktifkan oleh berbagai rangsangan, dapat menangkap, memakan dan mencerna antigen eksogen, seluruh mikroorganisme, partikel tidak terlarut dan bahan endogen. Makrofag berperan penting dalam mencerna dan mempresentasikan antigen mikroba ke limfosit untuk proses selanjutnya secara spesifik. Makrofag dapat bertahan lama karena mempunyai granula untuk melepas berbagai bahan yang berkontribusi dalam pertahanan nonspesifik dan spesifik¹⁰⁰.

e) Fagositosis

Fagositosis merupakan proses *engulfment* sejumlah besar partikel asing yang berdiameter $> 0,5 \text{ } \mu\text{m}$ secara nonspesifik oleh sel PMN

(leukosit, neutrophil, dan monosit). Agar proses fagositosis dapat berlangsung, maka sel fagosit harus dekat dengan partikel asing (antigen) atau bahkan antigen tersebut harus melekat di permukaan sel fagosit¹⁰¹.

f) Reaksi Inflamasi

Respon terhadap terjadinya inflamasi adalah disekresikannya berbagai reaksi kimia. Sel inflamatori (Sel PMN) dalam reaksi inflamasi berperan untuk melindungi tubuh dari infeksi. Sel inflamatori yaitu eosinophil, mastosit (*mast cell*), basophil, dan sitokin⁹⁵.

g) Interferon γ

Interferon merupakan golongan sinyal protein yang dilepas sel penjamu dari beberapa patogen seperti virus, bakteri, parasite dan juga sel tumor. IFN- γ menghasilkan sel imun, yaitu sitokin atau *Makrofag Activating Cytokin* (MAC) dan berfungsi dalam mengaktifkan imunitas non spesifik. Interferon γ adalah sitokin yang mengaktifkan makrofag untuk membunuh mikroorganisme patogen lainnya⁹⁸⁻⁹⁷.

Apabila sistem kekebalan tubuh bawaan tidak mampu mempertahankan tubuh dari mikroorganisme, maka akan digantikan oleh respon imun spesifik. Respon imun spesifik terjadi lambat dan mempunyai memori terhadap infeksi sebelumnya apabila terjadi infeksi ulangan (*reinfection*), sehingga akan terjadi respon yang lebih cepat. Secara umum, tubuh akan menghasilkan antibodi yang spesifik terhadap mikroorganisme tertentu. Respon imun perolehan bersifat

spesifik karena antibodi terbentuk oleh tubuh yang hanya bias menyerang mikroorganisme yang bersangkutan penyebab dibentuknya antibodi. Selain itu, antibodi yang dihasilkan oleh respon imun perolehan juga akan menghasilkan senyawa yang disebut sitokin³⁰.

2) Komponen dalam respon imun, yaitu imunitas humoral (*humoral immunity*) dan imunitas seluler (*cellular immunity*). Imunitas humoral dan imunitas seluler merupakan bagian dari imun perolehan (*acquire/adaptive immunity*). Adapun perbedaanya yaitu pada mikroba yang ditangani dan sel yang terlibat didalam masing-masing sistem imun. Imunitas humoral diperantarai oleh protein dari limfosit B. Antibodi yang terbentuk masuk kedalam sirkulasi dan cairan mukosa, kemudian menetralkan dan menghilangkan mikroorganisme beserta toksinnya yang terdapat diluar sel inang (mikroba ekstraseluler), didalam darah cairan ekstraseluler yang berasal dari plasma, dan pada lumen mukosa seperti saluran pernapasan dan gastrointestinal. Antibodi tidak dapat menangani mikroba yang terdapat didalam sel (mikroba intraseluler). Oleh sebab itu, peran ini dijalankan oleh imunitas seluler. Sistem imun seluler mengaktifkan sel fagosit yang dapat menghancurkan mikroba didalam makrofag dan sel yang terinfeksi³⁰. Sistem imun melibatkan berbagai sel dan jaringan yang saling berikatan satu sama lain dan memiliki peranan yang berbeda terhadap pertahanan tubuh. Berikut adalah sel yang dapat membantu dalam pertahanan sistem imun¹⁰² :

a) Limfosit

Limfosit berperan memproduksi reseptor spesifik terhadap setiap antigen dan merupakan mediator pada sistem kekebalan adaptif. Limfosit B mengekspresikan bentuk membran dari antibodi yang berperan sebagai reseptor yang mengenali antigen dan kemudian menginisiasi proses aktivasi sel. Antibodi ini memiliki spesifitas terhadap antigen yang berikatan pada reseptor. Sedangkan sel limfosit T berperan didalam imunitas seluler. Reseptor antigen pada sel limfosit T hanya mengenali fragmen peptide yang berikatan dengan molekul MHC¹⁰². Sel limfosit berasal dari *stem cells* disumsum tulang belakang. Sel limfosit B akan mengalami maturasi disumsum tulang belakang, sedangkan limfosit T mengalami maturasi didalam organ timus.

b) *Antigen Presenting Cell (APC)*

Antigen Presenting Cell (APC) adalah sel yang mampu mempresentasikan antigen dan merupakan penghubung antara imunitas nonspesifik dan spesifik. Molekul pada APC berperan mengaktivasi sel T disebut dengan kostimulator, karena molekul tersebut berperan dengan antigen untuk menstimulasi sel T. APC mensekresi sitokin yang berperan pada diferensiasi sel T menjadi sel efektor. Ketika terpapar mikroba dendrit sel dan makrofag mensekresi *Toll-like* reseptor dan sensor media lainnya yang memberikan respon terhadap mikroba dengan cara meningkatkan molekul MHC dan kostimulator, meningkatkan efisiensi presentasi antigen, dan mengaktivasi APC untuk memproduksi sitokin yang bertujuan untuk menstimulasi respon

sel T¹⁰². Sel dendrit merupakan APC yang paling poten dalam sistem imun, diperlukan untuk meningkatkan respon imun toleransi imunologik¹⁰³. Makrofag adalah APC aktif yang memfagositosis partikel besar sehingga makrofag berperan penting yaitu sebagai produksi sitokin⁹⁹, serta mempresentasikan antigen yang berasal dari organisme penyebab infeksi, seperti bakteri dan parasit.

c) Sel efektor

Sel efektor adalah sel yang secara aktif memberikan respon kepada stimulus dan menghasilkan efek tertentu. Sel efektor didalamnya ada beberapa sel yang berperan penting yaitu limfosit T (sel T) CD8+, makrofag dan granulosit. Adapun fungsi sel limfosit T (sel T) CD8+ untuk merekrut dan mengaktifasi fagosit (makrofag dan neutrofil) dan leukosit lainnya yang menghancurkan mikroba intraseluler dan ekstraseluler, serta untuk membantu sel B memproduksi antibodi. Sel T CD8+ bertanggung jawab untuk eradikasi mikroba yang menginfeksi, dan mampu bereplikasi di dalam sel inang. Makrofag akan memfagositosis mikroba dan memproduksi sitokin dan mengaktifkan sel inflamasi dalam imunitas alami. Sedangkan, granulosit merupakan leukosit yang memiliki granula sitoplasma yaitu neutrofil, eosinofil, dan basofil.

- 3) Tempat terjadinya respon imun, yaitu terdiri dari imunitas serosal (*serosal immunity*) dan imunitas mukosal (*mucosal immunity*).

Sistem imun serosal terletak di rongga dada dan perut yang mengandung tipe khusus jaringan limfoid. Sedangkan, sistem imun mukosa terletak di jaringan mukosa traktus respiratorius atas, traktus gastrointestinal, traktus urogenital dan kelenjar mammae berupa jaringan limfoid tanpa kapsul¹⁰⁴. Fungsi utama dari sistem imun mukosa yaitu melindungi membrane mukosa dari invasi dan kolonisasi mikroba berbahaya yang masuk, melindungi (*uptake*) antigen terdegradasi berupa protein asing dari makanan yang tercerna, material udara yang terhirup dan bakteri komensal, dan melindungi berkembangnya respon imun yang berpotensi merugikan⁹⁹⁻¹⁰⁴.

2.10 Respon Imun terhadap *Salmonella typhi*

Salmonella typhi merupakan bakteri patogen intraseluler. Jika tubuh diserang oleh bakteri intraseluler maka sistem imun selular akan aktif. Bakteri yang dapat menembus pertahanan tubuh, akan berhadapan dengan berbagai komponen sistem kekebalan tubuh. Bakteri gram negatif ini memiliki membran yang mengandung protein dan lipopolisakarida. Adapun ciri utama dari bakteri intraseluler ini adalah mampu berkembang biak dalam fagosit dan bersembunyi sehingga tidak dapat ditemukan antibodi dalam sirkulasi sehingga diperlukan mekanisme imun selular. Reaksi kekebalan tubuh nonspesifik terhadap infeksi bakteri intraseluler *Salmonella typhi* maka fagosit pada tubuh akan menelan dan menghancurkan mikroba tersebut. Kemudian bakteri intraseluler ini dapat mengaktifkan sel NK melalui aktivasi makrofag dan menghasilkan IL-12 yang dapat meningkatkan efektivitas untuk membunuh bakteri. Pada sistem kekebalan

tubuh spesifik bakteri intraseluler seperti *Salmonella* akan dimakan oleh makrofag dan hidup didalam fagosom, dimana CD4⁺ memberikan respon terhadap antigen MHC-II dari bakteri intraseluler. CD4⁺ kemudian menghasilkan IFN-gama yang mengaktifkan makrofag untuk menghancurkan mikroba dalam fagosom¹⁰⁵.

2.11 Imunomodulator

Secara umum imunomodulator merupakan suatu substansi yang dapat membantu mengatur atau proses dalam menormalkan sistem imun tubuh sehingga dapat membantu mengoptimalkan respon imun. Imunomodulator adalah obat bahan alam yang berperan penting dalam mencapai derajat kesehatan, menjaga kesehatan tubuh, dan *recovery* setelah sakit. Secara alami imunomodulator memiliki manfaat untuk menambah hormon sitokin sebagai mediasi dan mengatur sistem imun. Masyarakat banyak menggunakan imunomodulator ketika sistem imun sedang rendah. Penggunaan dosis imunomodulator dianjurkan dalam dosis yang rendah, hal ini sangat signifikan dalam meningkatkan respon imun tubuh³⁰. Umumnya penyakit selalu dihubungkan dengan respon imunitas. Pengembangan imunomodulator adalah upaya dalam menekan kejadian penyakit infeksi¹⁰⁶. Pemberian imunomodulator bersifat menstimulasi (meningkatkan) dan mensurpersi (menekan) dipercaya untuk mengatasi penurunan imunitas⁹⁸. Disamping berperan sebagai melawan mikroorganisme penyebab penyakit infeksi, imunomodulator merupakan pilihan yang tepat untuk pencegahan (imunoprevensi) serta pengobatan (imunokurasi).

Senyawa antioksidan yang terdapat pada tumbuhan seperti flavonoid, terpenoid, triterpenoid, alkaloid, saponin, tanin, dan komponen fenolik yang merupakan imunomodulator alami^{10,107}. Selain bahan alami, terdapat *biological response modifiers* (BRM) yang dapat menstimulasi sistem imun¹⁰⁸. Aktivitas imunomodulator dapat dilihat dari aktivitas fagositik, pengujian ini dilakukan untuk melihat uji bersihan karbon pada mencit, dengan menghitung jumlah leukosit dan makrofag, serta jumlah sel limfa¹⁰⁹. Berdasarkan cara kerjanya imunomodulator dibagi menjadi 3 kelompok yaitu³⁰.

1) Imunorestorasi

Imunorestorasi merupakan cara untuk mengembalikan fungsi kekebalan tubuh yang pernah terganggu. Salah satu contohnya adalah infusa plasma segar diberikan untuk memperbaiki sistem kekebalan tubuh.

2) Immunostimulasi

Imunostimulasi atau imunopotensiasi merupakan langkah untuk mengaktifasi fungsi sistem imun dengan merangsang sistem tersebut. Bahan-bahan tersebut yaitu bahan biologi adalah hormon timus yang berasal dari bakteri *Bacillus Calmette Guerin*, bahan biologi seperti jamur yaitu lentinan, krestin serta *schizophyllan*. Sedangkan bahan sintetik adalah levamisol, isoprinosin, dan bahan yang digunakan dalam eksperimen di klinik.

3) Imunosupresi

Imunosupresi merupakan suatu cara untuk menekan respon imun. Fungsi tindakan ini adalah untuk merangsang penolakan pada penyakit yang

menyebabkan inflamasi yang mampu memicu kerusakan atau gejala sistemik.

Senyawa-senyawa imunomodulator digunakan untuk menunjang atau membentuk suatu kondisi klinis yang diinginkan. Imunosupresan digunakan sebagai terapi untuk penyakit autoimun, sedangkan imunostimulator untuk meningkatkan kekebalan atau daya tahan tubuh dalam rangka proses penyembuhan, misalnya dalam kasus-kasus infeksi. Imunostimulator juga digunakan untuk meningkatkan sistem imun pada penyakit kronis yang terapinya sering menimbulkan efek samping imunosupresi, misalnya pada terapi kanker (ko-kemoterapi).

2.12 Makrofag dan Mekanisme Fagositosis

1) Makrofag

Makrofag akan aktif jika agen infeksi masuk ke dalam tubuh. Makrofag berarti leukosit besar yang bergerak keluar dari pembuluh darah melewati dinding pembuluh darah. Pada jaringan makrofag akan berdeferensiasi menjadi monosit. Ikatan molekul bakteri dengan reseptor pada permukaan sel, memacu menelan dan menghancurkan bakteri yang memacu terjadinya *respiratory burst*, yang melepas *reactive oxygen specialis*^{30,110,16,111}.

2) Mekanisme Fagositosis

Fagositosis adalah proses yang memerlukan pengenalan antigen, menelan, mencera, dan degradasi. Kerusakan dapat terjadi dalam salah satu

fungsi dan menghambat eliminasi mikroba. Selama fagositosis mikroorganisme dapat dibunuh melalui produk *respiratory burst* oleh metabolit oksigen mikrobisidal yang keluar¹¹²⁻¹¹³.