

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Landasan Teori

##### 1. Rinosinusitis akut

###### a. Definisi Rinosinusitis akut

Rinosinusitis didefinisikan sebagai penyakit inflamasi pada mukosa hidung dan sinus paranasal dimana sitokin berperan penting dalam patofisiologinya (Kathrin dan Martin, 2016). Secara embriologis mukosa sinus merupakan lanjutan dari mukosa hidung. Berdasarkan *Task force* yang dibentuk oleh *American Academy of Otolaryngic Allergy (AAOA)*, dan *American Rhinologic Society (ARS)*, diagnosis ditegakkan bila ditemukan 2 atau lebih gejala mayor atau 1 gejala mayor dan 2 gejala minor gejala mayor diantaranya adalah hidung tersumbat, sekret pada hidung / sekret belakang hidung / *Post Nasal Drip*, sakit kepala, nyeri / rasa tekan pada wajah, kelainan penciuman (*hiposmia / anosmia*). Gejala minor adalah demam, mulut bau (*halitosis*), pada anak biasanya batuk, iritabilitas, sakit gigi, sakit telinga / nyeri tekan pada telinga / rasa penuh pada telinga (Fokkens *et al.*, 2020).

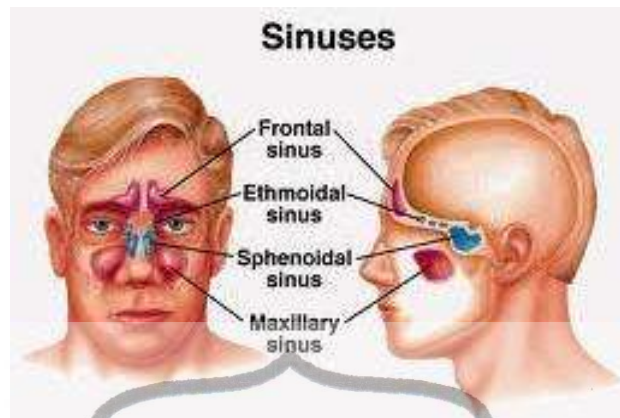
Rinosinusitis berdasarkan *European position paper on rhinosinusitis and nasal polyps (EPOS) 2020*, Rinosinusitis adalah proses inflamasi mukosa hidung dan sinus paranasal yang ditandai dengan dua atau lebih gejala, salah satu yang seharusnya dijumpai adalah hidung tersumbat / pembengkakan / keluarnya cairan dari hidung (cairan hidung yang menetes keluar bisa melalui anterior maupun posterior) dimana kadang-kadang disertai rasa sakit pada wajah / rasa tertekan pada wajah dan berkurang / hilangnya penciuman. Gejala dan tanda apabila lebih dari 12 minggu tanpa resolusi lengkap maka rinosinusitis menjadi kronik. Penderita apabila di anamnesis ada tanda-tanda alergi seperti bersin, ingus yang cair, hidung gatal serta mata gatal dan berair, jika positif dijumpai tanda-tanda

alergi tersebut maka dilakukan tes alergi (Kathrin dan Martin, 2016 ; Robert, 2016 ; Fokkens *et al.*, 2020).

**b. Anatomi sinus paranasal**

Sinus atau lebih dikenal dengan sinus paranasal merupakan rongga di dalam tulang kepala yang terbentuk dari hasil pneumatisasi tulang-tulang kepala. Sinus paranasal terdiri dari empat pasang sinus yaitu sinus maksila, sinus frontal, sinus etmoid, dan sinus sfenoid kanan dan kiri. Sinus paranasal berfungsi sebagai pengatur kondisi udara, penahan suhu, membantu keseimbangan kepala, membantu resonansi suara, peredam perubahan tekanan udara, dan membantu produksi mukus untuk membersihkan rongga hidung. Sinus paranasal berasal dari invaginasi mukosa rongga hidung dan perkembangannya dimulai pada fetus usia 3-4 bulan, kecuali sinus sfenoid dan sinus frontal. Rongga sinus paranasal dilapisi oleh mukosa, merupakan lanjutan dari mukosa hidung, berisi udara dan semua sinus mempunyai muara (ostium) di dalam rongga hidung. Sinus paranasal ada empat, berada didalam tulang tengkorak pada tiap sisinya: frontal, maksila, ethmoid, dan sphenoid, mereka dibagi menjadi dua kelompok: 1. Sinus anterior terbuka ke arah anterior basal lamella dari konka di meatus medius, membentuk kelompok sinus paranasal bagian anterior, terdiri dari sinus maksila, frontal dan sinus ethmoid anterior. 2. Sinus posterior terbuka ke arah posterior dan superior pada basal lamella dari konka media, terdiri dari sinus ethmoid posterior dan sinus sphenoid. Sinus etmoidalis posterior terbuka di meatus superior dan sinus sphenoid terbuka di resesus sphenothmoidal (Bansal, 2013).

Kompleks Osteo Meatal (KOM) merupakan ruang 3-dimensi yang berbatasan dengan lamina papirasea, konka media, resesus frontalis dan ostium sinus maksilaris. Ruang ini meliputi infundibulum ethmoid yang terdapat di belakang prosesus uncinatus, resesus frontalis, bula etmoid dan dan ostium sinus maksila. Peradangan kronis dan edema dari KOM menyebabkan obstruksi anatomis dan fungsional, yang menyebabkan peradangan kronik dari sinus mengalir ke daerah tersebut (Bansal, 2013).



Gambar 2.1. Anatomi Sinus Paranasal.

**c. Histologi sinus paranasal**

Luas permukaan cavum nasi kurang lebih 150 cm<sup>2</sup> dan total volumenya sekitar 15 ml. Mukosa sinus paranasal sebagian besar dilapisi oleh mukosa respiratorius. Gambaran histologis, mukosa hidung terdiri dari palut lendir (*mucous blanket*), epitel kolumnar berlapis semu bersilia, membrana basalis, lamina propria yang terdiri dari lapisan subepitelial, lapisan media dan lapisan kelenjar profunda. Epitel mukosa hidung terdiri dari beberapa jenis, yaitu epitel skuamous kompleks pada vestibulum, epitel transisional terletak tepat di belakang vestibulum dan epitel kolumnar berlapis semu bersilia pada sebagian mukosa respiratorius. Epitel kolumnar sebagian besar memiliki silia. Sel-sel bersilia ini memiliki banyak mitokondria yang sebagian besar berkelompok pada bagian apeks sel. Mitokondria ini merupakan sumber energi utama sel yang diperlukan untuk kerja silia. Sel goblet merupakan kelenjar uniseluler yang menghasilkan mukus, sedangkan sel basal merupakan sel primitif yang merupakan sel bakal dari epitel dan sel goblet. Sel goblet atau kelenjar mukus merupakan sel tunggal, menghasilkan protein polisakarida yang membentuk lendir dalam air. Silia merupakan struktur yang menonjol dari permukaan sel, bentuknya panjang, dibungkus oleh membran sel dan bersifat mobile. Jumlah silia dapat mencapai 200 buah pada tiap sel. Panjangnya antara 2-6  $\mu\text{m}$  dengan diameter 0,3  $\mu\text{m}$ . Struktur

silia terbentuk dari dua mikrotubulus sentral tunggal yang dikelilingi sembilan pasang mikrotubulus luar. Masing-masing mikrotubulus dihubungkan satu sama lain oleh bahan elastis yang disebut neksin dan jari-jari radial. Tiap silia tertanam pada badan basal yang letaknya tepat dibawah permukaan sel. Membrana basalis terdiri atas lapisan tipis membran rangkap dibawah epitel. Di bawah lapisan rangkap ini terdapat lapisan yang lebih tebal yang terdiri atas kolagen dan fibril retikulin. Lamina propria merupakan lapisan dibawah membrana basalis, Lapisan ini dibagi atas empat bagian yaitu lapisan subepitelial yang kaya akan sel, lapisan kelenjar superfisial, lapisan media yang banyak sinusoid kavernosus dan lapisan kelenjar profundus. Lamina propria ini terdiri dari sel jaringan ikat, serabut jaringan ikat, substansi dasar, kelenjar, pembuluh darah dan saraf (Bansal, 2013; Hwang and Getz, 2014)

#### d. Etiologi

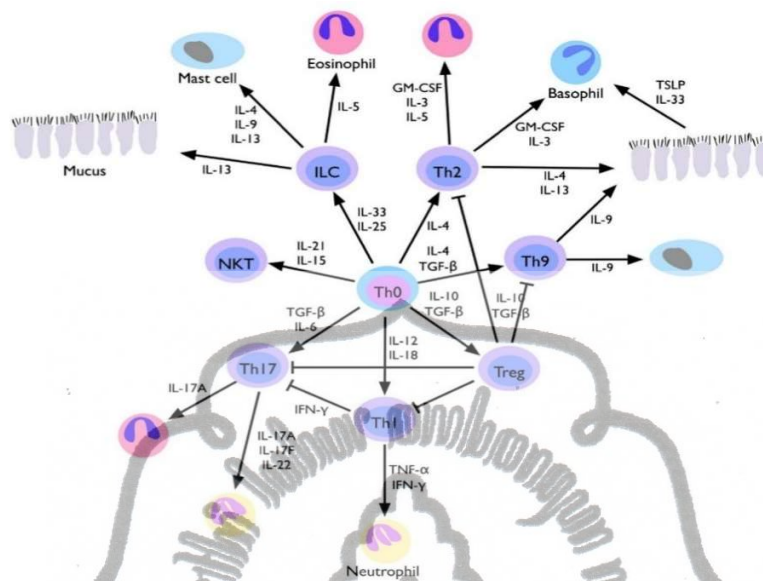
Rinosinusitis akut biasanya dicetuskan oleh infeksi saluran napas yang pada umumnya diakibatkan oleh virus, sebagian besar disebabkan *rhinovirus*, *coronavirus* dan virus influenza, yang lain disebabkan oleh adenovirus, human parainfluenza virus, human *respiratory syncytial virus*, *enterovirus* dan *metapneumo virus*. Tiga bakteri penyebab rinosinusitis akut yang paling umum yaitu *Streptococcus pneumonia*, *Haemophilus influenza*, dan *Moraxella catarrhalis*. Bakteri lain yang dapat menyebabkan rinosinusitis yaitu *Staphylococcus aureus*, bakteri anaerob dan *Eschericia Coli* (Aring dan Chan, 2016). Faktor etiologi dan predisposisi antara lain infeksi saluran pernafasan atas akibat virus, bermacam rinitis terutama rinitis alergi, rinitis hormonal pada wanita hamil, polip hidung, kelainan anatomi seperti deviasi septum, atau hipertrofi konka, sumbatan kompleks osteo meatal (KOM), infeksi tonsil, infeksi gigi, kelainan imunologik, diskinesia silia pada sindrom Kartagener. Pada anak, hipertrofi adenoid merupakan faktor penting penyebab sinusitis, sehingga perlu dilakukan adenoidektomi untuk menghilangkan sumbatan, faktor lain yang juga berpengaruh yaitu lingkungan berpolusi, udara dingin dan kering serta kebiasaan merokok, dimana keadaan ini akan menyebabkan perubahan mukosa dan merusak

silia (Aring dan Chan, 2016). Anamnesis bila ada tanda-tanda alergi seperti bersin, ingus yang cair, hidung gatal dan mata gatal berair, jika tanda alergi positif maka dilakukan tes alergi (Kathrin and Martin, 2016 ; Robert, 2016; Fokkens *et al.*, 2020).

**e. Patogenesis Rinosinusitis Akut**

Rinosinusitis merupakan penyakit dengan penyebab multifaktorial, namun patogenesis penyakit ini belum diketahui dengan baik. Patofisiologi dan sub pengelompokan dalam rinosinusitis akut relatif mudah dibandingkan dengan rinosinusitis kronik. Etiologi rinosinusitis akut dapat berupa virus (sebagian besar *rhinovirus* atau *coronavirus*) atau bakteri (kebanyakan *Streptococcus pneumonia*, *Haemophilus influenza*, *Moraxella catarrhalis*, *Staphylococcus aureus*). Sistem kekebalan, baik sistem kekebalan bawaan dan adaptif diaktifkan dengan cara yang tergantung pada stimulusnya. Sistem imun bawaan diaktifkan oleh *patogen-related molecular patterns* (PAMPs), kemudian diekspresikan oleh patogen spesifik yang dapat mengaktifkan reseptor PAMP pada sel-sel sistem kekebalan tubuh dan jenis sel lainnya. Reseptor PAMP salah satunya adalah pengenalan pola reseptor yang disebut *toll-like receptor* (TLR), sebagai respons terhadap infeksi virus atau bakteri, TLR tertentu akan menangani. Sepuluh TLR yang berbeda telah diidentifikasi pada manusia, masing-masing dapat mengikat ligan tertentu, sambungan dimulai dari kaskade sinyal intraseluler dengan berbagai efek pada proses seperti hemostasis, peradangan, apoptosis, dan juga aktivasi sistem imun adaptif. Sistem imun adaptif aktivasi induksinya karena ada regulasi sitokin, kemokin, dan mediator co-stimulator lainnya, tergantung pada pola jenis sel T *Cluster Defferentiation* (CD)4-positif yang diaktifkan dan mediator yang diregulasi, secara klasik adalah Th1 dan Th2, selanjutnya, selama tahun-tahun terakhir, fenotip sel Th17, Th21, dan Treg dan respons imun yang sesuai telah ditentukan (Gbr 2.2) (Kathrin dan Martin, 2016).





Gambar 2.2. Diferensiasi fenotip sel T yang relevan dalam rinosinusitis dan endotipe yang berbeda (Kathrin dan Martin, 2016).

Sitokin dalam rinosinusitis akut perannya tidak dieksplorasi secara rinci, penelusuran terkait sitokin pada pasien dengan rinosinusitis akut jarang dilakukan oleh karena itu peran sistem kekebalan yang baru-baru ini dideklarasikan dan sitokin sebagian besar masih belum jelas. Infeksi virus akut pada saluran pernafasan bagian atas merangsang berbagai sitokin proinflamasi seperti IFN- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-10, dan TNF- $\alpha$ . Klemens *et al* (2007) mendeteksi IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-7, IL-17, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-8, G-CSF, GM-CSF, dan elastase yang terkandung dalam sekresi hidung pasien dengan rinitis virus. Sitokin dalam penelitian ini meliputi proinflamasi (misalnya, IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8), antiinflamasi (misalnya, IL-10), dan faktor kemo-atraktan (misalnya, IL-6) milik Th1 (TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ ), Th2-like (IL-10), Th17-like (IL-17), dan Treg (IL-10) (Kathrin dan Martin, 2016).

Motif CpG yang tidak termetilasi bakteri membangkitkan respon imun Th1 setelah berikatan dengan reseptor TLR-9, pemberian CpG ke dalam hidung manusia menyebabkan akumulasi sitokin yang berhubungan dengan Th1 IL-1 $\beta$ ,

IL-6, dan IL-8. mRNA hadir dalam epitel hidung didokumentasikan untuk TLR-1 sampai TLR-10. PAMP bakteri Gram-negatif lain atau *S. pneumonia*, mikroba, sering terdeteksi dalam rinosinusitis akut, dimana bakteri tersebut sering diketahui menginduksi sistem kekebalan terkait TLR-2 atau TLR-4. *For-mer* umumnya memulai respons imun Th1, dan orang mungkin berasumsi bahwa mekanisme ini juga hadir dalam kasus rinosinusitis akut, namun demikian, van Rossum tidak dapat menunjukkan IL-12 yang diregulasi (tipikal untuk respons Th1) atau IL-4 yang diregulasi lebih tinggi. Riechelmann et al 2005. mendeteksi peningkatan nilai untuk IL-2, IL-4, IL-10, IL-12, IL-13, TNF- $\alpha$ , dan *Interferon* (IFN) dalam cairan hidung pada pasien rinosinusitis akut dibandingkan dengan pasien rinosinusitis kronik. Peneliti lain menggunakan *Enzym-linked immunosorbent assay* (ELISA) menunjukkan peningkatan IL-8 dan IL-3 dalam spesimen mukosa pasien rinosinusitis akut, hasil ini menunjukkan kekebalan Th1 dan Th2 campuran dalam rinosinusitis akut tetapi juga menunjukkan ketergantungan pada bahan dan metode yang dipakai, hasil dan interpretasi mereka mungkin berbeda. Studi pada kelompok besar pasien yang mengalami infeksi pernapasan akut menunjukkan korelasi yang erat antara IL-8 dan neutrofil dalam sekresi hidung dengan tingkat keparahan gejala hidung, ini menggaris bawahi ada relevansi inflamasi neutrofilik pada rinosinusitis akut dan relevansi IL-8 untuk menambah neutrofil ke dalam jaringan hidung. Model tikus infeksi *rhinovirus*, selalu diingatkan pentingnya *chemokine (motif CC) ligand 7* (CCL7) (identik dengan protein chemotactic-3 monocyte) dan faktor regulasi 7 IFN (IRF-7), karena untuk menginduksi dan mengatur respon inflamasi dan antivirus ditunjukkan oleh antibodi anti-CCL7 dan IRF-7 serta *small RNA* (Kathrin dan Martin, 2016)

#### f. Penatalaksanaan Rinosinusitis Akut

Rinosinusitis virus biasanya mendahului rinosinusitis akut dan rinosinusitis virus adalah penyakit yang sembuh sendiri, penatalaksanaan utama rinosinusitis akut adalah untuk menghilangkan gejala dan menghindari pemberian antibiotika (Rosenfelt *et al.*, 2015; Aring, 2016). AAO-HNS membuat pedoman praktis, pemberian antibiotika direkomendasikan untuk rinosinusitis akut oleh

karena bakteri (Rosenfelt *et al.*, 2015). Antibiotika diberikan bila 7 sampai dengan 10 hari kondisi pasien tidak membaik setelah pemberian terapi simptomatis (Chow *et al.*, 2012 ; Rosenfelt *et al.*, 2015). Studi Cochrane menunjukkan bahwa gejala rinosinusitis bakteri dapat sembuh pada 47% dari semua pasien setelah tujuh hari dengan atau tanpa terapi antibiotik, selain itu, sekitar 70% pasien membaik dalam dua minggu tanpa antibiotik (Lemiengre *et al.*, 2012). Antibiotik untuk pengobatan rinosinusitis bakteri akut, sebagian besar merekomendasikan amoksisilin dengan atau tanpa klavulanat sebagai antibiotik lini pertama untuk orang dewasa karena keamanan, efektivitas, biaya rendah, dan spesifisitas mikrobiologis sedikit (Rosenfelt *et al.*, 2015). Amoksisilin / klavulanat harus digunakan pada pasien yang berisiko tinggi terhadap resistensi bakteri atau yang memiliki kondisi komorbiditas, serta pada mereka dengan infeksi sedang hingga parah. Tidak ada perbedaan yang signifikan pada tingkat kesembuhan rinosinusitis bakteri akut yang dicatat, antara berbagai kelas antibiotik (Chow *et al.*, 2012 ; Rosenfelt *et al.*, 2015). Fluoroquinolon tidak direkomendasikan sebagai antibiotika lini pertama karena tidak memberikan manfaat lebih dibanding antibiotika beta-laktamase dan dikaitkan juga efek samping dari fluoroquinolon. *Food and Drug Administration* Amerika Serikat merekomendasikan pemberian fluoroquinolon untuk pasien yang tidak ada alternatif antibiotika lain. Mikrolide, termasuk azitromisin dan sefalosporin generasi kedua atau ketiga tidak direkomendasikan untuk rinosinusitis akut karena tingginya tingkat resistensi pada *S. Pneumoniae* dan *H. Influenzae*. Antibiotika yang diberikan untuk rinosinusitis bakteri akut tanpa komplikasi adalah lima hingga 10 hari (Chow *et al.*, 2012 ; Rosenfelt *et al.*, 2015 ; Aring, 2016).

Pengobatan simptomatik bisa dipertimbangkan, seperti analgesik, kortikosteroid intranasal dan irigasi sinus dengan larutan salin. Pengobatan simptomatik bisa diberikan selama 10 hari pertama tetapi dapat dilanjutkan bersamaan dengan antibiotika (Chow *et al.*, 2012 ; Rosenfelt *et al.*, 2015 ; Aring, 2016). Dekongestan, antihistamin dan guaifenesin tidak direkomendasikan karena



efektivitasnya tidak terbukti, resiko efek samping dan butuh tambahan biaya (Haywant *et al.*, 2012 ; Meltzer *et al.*, 2015).

Analgesik seperti asetaminofen atau antiinflamasi nonsteroid, seringkali cukup untuk menghilangkan rasa sakit atau demam pada rinosinusitis akut. Kortikosteroid intranasal dapat membantu mengurangi pembengkakan mukosa jaringan yang meradang dan memperbaiki drainase sinus karena efek antiinflamasinya (Rosenfelt *et al.*, 2015).

Irigasi Hidung dengan larutan saline. Irigasi intranasal baik larutan fisiologis atau larutan hipertonik telah terbukti meningkatkan kebersihan mukosiliar dan dapat bermanfaat untuk pengobatan rinosinusitis akut (Aring dan Chan, 2016). Penelitian Rabago, menunjukkan 76 pasien dengan sinusitis setiap hari irigasi hidung memakai larutan salin hipertonik akan mengurangi gejala hidung dan penggunaan obat (Rabago *et al.*, 2002).

## 2. Nuclear Factor-Kappa Beta

*Nuclear Factor-Kappa Beta* (NF- $\kappa$ B) dideskripsikan suatu faktor transkripsi di sel B yang berikatan dengan ekspresi imunoglobulin *light chain*. NF- $\kappa$ B ditemukan pada tahun 1986, NF- $\kappa$ B berperan dalam respon inflamasi, reaksi imun dan tumorigenesis (Marianne , 2015; Ting *et al.*, 2017).

Pada sel mamalia, NF- $\kappa$ B/ famili Rel berisi 5 member: Rel A (P 65), c-RelB, NF- $\kappa$ B1 ( P50; P105), dan NF- $\kappa$ B2 (P52 ; P100), struktur keluarga NF- $\kappa$ B mempunyai *Rel-homology domain* (RHD) yang berisi domain *nuclear* (N), motif dimerisasi, *DNA-binding domain*. Rel A, c-Rel, dan Rel B juga mempunyai *non-homologous transactivation domain* (TD). Rel B juga berisi *leucine-zipper motif* (LZ). Keluarga I $\kappa$ B termasuk P105 dan P100 mengandung *ankyrin repeats*. *Glycine-rich region* (GPR), GPR diperlukan untuk pengolahan P105 dan P100 (Ting *et al.*, 2017).

*Nuclear Factor-Kappa Beta* (NF- $\kappa$ B) mempunyai 300 asam amino yang disebut *REL-region*. Tiga keluarga NF- $\kappa$ B yaitu RelA, c-Rel dan RelB mempunyai domain yang transaktivasi disebut *C-terminus*. Prekursor protein NF- $\kappa$ B1/ P105 dan NF- $\kappa$ B/ P100 tidak aktif seperti protein P50 dan P52, protein yang tidak aktif ini

ditempatkan di sitoplasma. Proses proteolitik domain inhibitor C-terminal harus dihilangkan sehingga memungkinkan protein akan masuk kedalam nukleus (Ting *et al.*, 2017).

Protein 50 dan P52 biasanya bersifat homodimers dan heterodimers yang salah satu dari tiga protein mempunyai domain yang teraktivasi. RelA dan P50 terdapat di berbagai tipe sel, sedangkan ekspresi c-Rel hanya terbatas pada sel hematopoietik dan limfosit. Ekspresi dari RelB terbatas pada tempat tempat spesifik seperti timus, limfonodi dan *Peyer's patches*, meskipun afinitas DNA-binding setiap dimer-NF- $\kappa$ B berbeda tetapi untuk NF- $\kappa$ B mempunyai konsensus urutannya GGGRNYYCC ( R: purine, Y: pyrimidine, N: setiap basis) yang mempunyai fungsi salip tumpang tindih (Robert PS, 2016; Ting *et al.*, 2017).

Ekspresi NF- $\kappa$ B di dalam sitoplasma, dimana aktivitasnya dikontrol oleh protein regulator dari NF- $\kappa$ B (I $\kappa$ B). I $\kappa$ B $\alpha$ , I $\kappa$ B $\beta$ , I $\kappa$ B $\gamma$  dan Bcl-3 adalah golongan dari keluarga I $\kappa$ B, umumnya mempunyai 6 sampai 7 *ankyrin repeats* dimana 33 asam amino akan memediasi ikatan dengan dimer NF- $\kappa$ B . Protein I $\kappa$ B awalnya untuk mempertahankan dimer NF- $\kappa$ B di sitoplasma melalui *nuclear localization sequences* (NLSs) (Robert PS, 2016).

*Nuclear Factor-Kappa Beta* (NF- $\kappa$ B) aktivitasnya diatur oleh sinyal yang diturunkan oleh I $\kappa$ B. NF- $\kappa$ B mempunyai 2 aktivitas yaitu jalur klasik dan jalur alternatif. Jalur klasik, protein I $\kappa$ B akan mengalami fosforilasi dengan mengaktifkan I $\kappa$ B kinase (IKK) pada tempat yang spesifik setara dengan *Ser 32* dan *Ser 36* dari I $\kappa$ B $\alpha$ . Fosforilasi ini akan memicu *polyubiquitination* pada tempat yang setara dengan *Lys 21* dan *Lys 22* dari I $\kappa$ B $\alpha$  dan degradasinya oleh proteasome 26S, sehingga dimer NF- $\kappa$ B akan terlepas. Komposisi IKK terdiri dari subunit katalitik IKK $\alpha$  dan IKK $\beta$  serta subunit regulasi IKK $\gamma$ , dikenal dengan NF- $\kappa$ B *essential modulators* (NEMO), meskipun IKK $\alpha$  dan IKK $\beta$  bekerja sama dalam fosforilasi I $\kappa$ B, tetapi sinyal proteinnya berbeda. IKK $\beta$  ini merupakan komponen yang penting pada jalur klasik (Ting *et al.*, 2017). Jalur alternatif, NF- $\kappa$ B *inducing kinase* (NIK) merangsang aktivasi IKK $\alpha$ , IKK $\beta$  dan IKK $\gamma$  berperan dalam jalur ini. Melalui homodimer IKK $\alpha$  jalur alternative NF- $\kappa$ B2/ P100 tempat

fosforilisasinya di dua C-terminal. C-terminal yang terhambat oleh karena degradasi proteosomal menyebabkan produksi P52 (Robert, 2016 ; Ting *et al.*, 2017).

Dua jalur NK- $\kappa$ B diaktifkan secara bersamaan tetapi kedua jalur ini mempunyai fungsi yang berbeda. Tipikal dari jalur klasik tigernya dipicu oleh *Tumor Necrosis Factor type 1/2 receptors* (TNFR1/2), *T-cell receptors* (TCR), *B-cell receptors* (BCR) atau *Toll-like receptor* (TLR), *Interleukin 1 receptor* (IL-1R). Tujuan jalur klasik adalah meningkatkan target gene kemokin, sitokin dan molekul adesi, respon inflamasi dan mempromosikan kelangsungan hidup sel. Jalur alternatif aktivasinya dipicu oleh aktivasi dari TNF reseptor termasuk *Lymphotoxin  $\beta$  receptor* (LT $\beta$ R), *B-cellactivating factor belonging to the TNF receptor* (BAFF-R), CD40 dan CD30, dimana aktivasi untuk jalur ini meregulasi perkembangan organ limfoid dan sistem imun didapat (Richard, 2014 ; Ting *et al.*, 2017).

Jalur klasik aktivasi NF- $\kappa$ B dipicu oleh TNFR, IL-1R dan TLR. Signal akan dimediasi oleh MAP/ERK kinase 3 (MEKK3) dan IKK $\beta$  akhirnya menyebabkan degradasi dari I $\kappa$ B $\alpha$  dan translokasi dari homodimer RelA/ P50 di nukleus, pada jalur alternative signal NF- $\kappa$ B dipicu oleh CD40, LT $\beta$ R atau BAFF-R yang dimediasi *NF- $\kappa$ B Inducing Kinase* (NIK) dan IKK $\alpha$  yang akan mengeluarkan P100 dan translokasi dari dimer P50 ke dalam nukleus (Richard, 2014).

### 3. Peran CASPASE-1 pada Rinosinusitis Akut

Caspase-1 merupakan enzim yang terlibat dalam pembelahan protein prekursor dari sitokin inflamasi IL-1 $\beta$  dan IL-18, menjadi peptida dewasa aktif dan berperan sebagai mediator inflamasi utama yang mendorong respon host terhadap infeksi, cedera, dan penyakit (Denes *et al.*, 2012). Caspase-1 diproduksi sebagai *zymogen* (pro-enzim), merupakan protein heterodimer sebagai subunit enzim aktif yang terdiri dari protein 20 kDa (P20) dan 10 kDa (p10). Caspase-1 akan berinteraksi dengan protein lain yang mengandung domain CARD sebagai

PYCARD (atau ASC) dan terlibat dalam pembentukan inflammasom serta aktivasi proses inflamasi (Denes *et al.*, 2012 ; Doitsh G *et al.*, 2014 ; Monroe *et al.*, 2014).

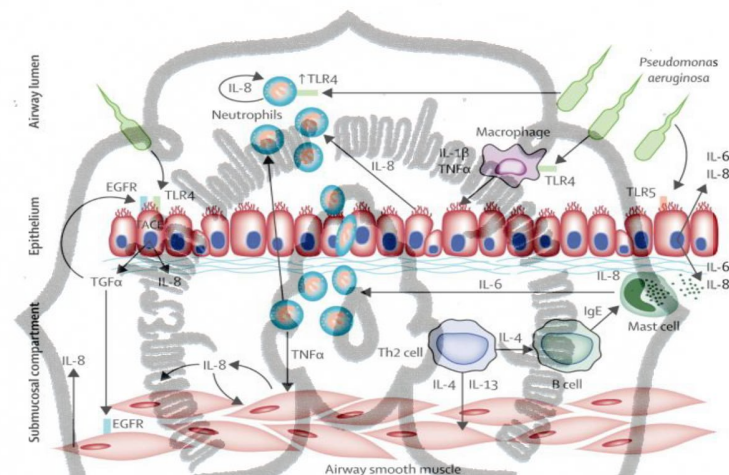
Sitokin dan infiltrasi sel imun ekspresinya menyebabkan inflamasi sinus paranasal. Inflamasi sinus paranasal selalu melibatkan sistem imunitas bawaan, sedangkan imunitas adaptif bisa terlibat atau tidak. Sistem imun bawaan melibatkan beberapa keluarga dari reseptor baik terlarut dan seluler yang mengaktifkan jalur sinyal proinflamasi. Inflammasom berperan dalam pengaturan molekuler kompleks intraseluler, mengaktifkan caspase-1 yang akan mengaktifasi sitokin proinflamasi IL-1 $\beta$  dan IL-18 dari pembelahan proteolitik pendahulunya (proIL-1 $\beta$  dan pro IL-18). Inflammasom seperti IL-1 $\beta$  dan IL-18 terlibat dalam model hewan atau manusia dengan penyakit rinosinusitis. Inflammasome adalah *Pattern-recognition receptors* (PRP) tidak hanya mengenal komponen bakteri tetapi juga kerusakan endogen. Model tikus rinosinusitis akut yang diinduksi dengan *S. Aureus*, peningkatan jumlah peradangan setelah induksi dapat dikorelasikan dengan peningkatan ekspresi protein *Nod-like receptor 3* (NLRP 3) dan peningkatan kadar IL-1 $\beta$ . Pada manusia, IL-8 dan caspase-1 diekspresikan dalam epitel sinus paranasal (Yan *et al.*, 2014 ; Kathrin dan Martin, 2016).

#### 4. Peran IL-8 pada Rinosinusitis Akut.

Interleukin 8 merupakan jenis sitokin yang mengaktifkan neutrofil, dimana urutan, struktur, sifat mengikat reseptor tersebut, dan juga profil aktivitas biologis sudah diketahui. IL-8 dan sitokin yang terkait dilepaskan oleh fagosit dari berbagai sel jaringan yang terkena paparan akibat rangsangan inflamasi. Struktur IL-8 dibentuk dari 99 asam amino dan disekresi sesudah adanya sinyal sekuens dari 20 residu. IL-8 berat molekulnya 8.383D, mengandung empat sistein yang dibentuk dari 2 jembatan sulfida. IL-8 tahan terhadap peptida plasma, panas, pH yang ekstrim dan terapi denaturasi lain, namun cepat dinaktivasi saat ikatan disulfidanya berkurang. Struktur IL-8 merupakan suatu dimer, yang dilihat dari spektroskopi magnetik resonansi nuklir dan rontgen kristalografi. Monomernya pendek, mengandung domain N-terminal yang disangga dua jembatan disulfide

dihubungkan dengan tiga ikatan antiparalel  $\beta$  yang diikuti  $\alpha$  helix terminal (Li *et al.*, 2013).

Interleukin 8 merupakan kemotaktik regulator penting pada fungsi neutrofil. IL-8 diproduksi oleh sel monosit, tipe sel leukosit lain (prekursor mieloid, *Natural Killer* (NK) sel, neutrofil, eosinofil, sel mast, berbagai jaringan (fibroblast, sel endotelial, sel epitelial), termasuk sel tumor (Li *et al.*, 2013).

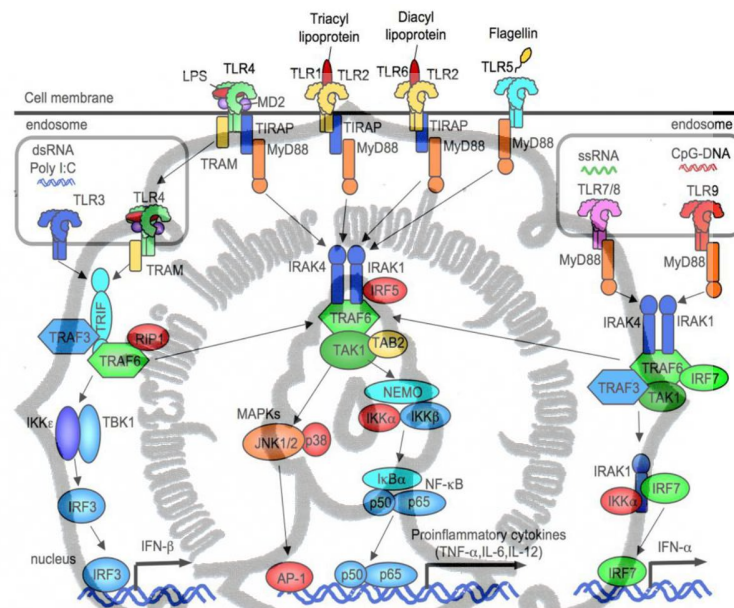


Gambar 2.3. Interleukin 8 pada epitel saluran napas (McChuaig dan Martin, 2013).

Produksi IL-8 diinduksi oleh berbagai stimulus, seperti sitokin IL-1 dan TNF  $\alpha$ ), produk bakteri, virus, jamur, dan keadaan iskemia, trauma, gangguan homeostasis jaringan, dan sel neoplasma. Perbedaan kadar IL-8 pada berbagai infeksi bakteri berhubungan dengan *Pathogen Associated Molecular Pattern* (PAMP), PAMP merupakan molekul spesifik yang berhubungan dengan kelompok patogen, dan merupakan bagian sistem kekebalan tubuh bawaan, akan terikat dengan *Toll like receptor* (TLR) dan reseptor pengenalan mikroba lainnya. Contoh PAMP adalah lipopolisakarida (LPS), suatu endotoksin membran sel bakteri terutama gram negatif. LPS secara khusus terikat TLR4, sementara PAMP lain seperti flagellin akan terikat TLR5, peptidoglikan dan asam lipoteikoat bakteri gram positif, dan *double-stranded RNA* (dsRNA) virus, terikat oleh TLR2 dan TLR3, dan CpG *unmethylated*, diikat oleh TLR9. Perbedaan tersebut akan mengakibatkan reaksi inflamasi yang ditimbulkan oleh bakteri gram positif, gram



negatif, virus, dan jamur akan berbeda-beda, termasuk produksi IL-8 (Min dan Dhong, 2013).



Gambar 2.4. Jalur *Toll like receptor* (Yang dan Seki, 2012).

TLR1, TLR2, TLR4, TLR5, dan TLR6 diekspresikan pada sel membran. TLR3, TLR7, TLR 8, dan TLR9 diekspresikan dalam endosome. Semua TLR kecuali TLR3, dapat mengaktifkan jalur *MyD88-dependent* untuk menginduksi NFκB dan aktivasi p38/JNK (Yang dan Seki, 2012).

Produksi IL-8 diatur pada tingkat gen transkripsi dan mRNA, dimana pada kebanyakan kasus, IL-8 transkripsi gen terjadi melalui kerjasama aktivasi dua jenis faktor transkripsi, NF-κB dan AP-1. NF-κB memainkan peran di Th1 tergantung respon tipe *delayed hypersensitivitas*. NF-κB aktivitasnya meningkatkan ekspresi dari molekul adhesi E-selektin, VCAM-1, dan ICAM-1, sedangkan penghambatan NF-κB mengurangi adhesi dan transmigrasi leukosit. Aktivasi NF-κB terlibat juga dalam apoptosis, aktivasi NF-κB dapat menyebabkan induksi apoptosis dalam

beberapa jenis sel. NF- $\kappa$ B jelas salah satu regulator yang paling penting untuk ekspresi gen proinflamasi. Sintesis sitokin seperti TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, dan IL-8, ekspresi *siklooksigenase 2* (Cox-2) dimediasi oleh NF- $\kappa$ B (Li *et al.*, 2013 ; Mc Chaig dan Martin, 2013).

## 5. Peran E-Selektin pada Rinosinusitis Akut

Rinosinusitis akut selain terjadi kenaikan regulasi sitokin dan kemokin juga terjadi kenaikan regulasi molekul adesi seperti ICAM 1 dan E-selektin yang dapat memfasilitasi infiltrasi sel sel inflamasi ke jaringan seperti neutrofil dan limfosit. Infiltrasi neutrofil sendiri sumber dari sitokin proinflamasi yang dapat meningkatkan ICAM 1 dan E-selektin, dapat lebih memperkuat infiltrasi selular dan respon inflamasi (Michael *et al.*, 2014).

E-selektin, juga dikenal sebagai CD62E, *endothelial-leukocyte adhesion molecule 1* (ELAM-1), atau *leukocyte-endothelial cell adhesion molecule 2* (LECAM2) merupakan molekul adhesi sel yang diekspresikan hanya pada sel endotel yang diaktifkan oleh sitokin, seperti selektin lainnya, E-selektin berperan penting dalam inflamasi. Pada manusia E-selektin dikodekan oleh gen SELE. Struktur e-Selektin terdiri dari ujung terminal N, domain lectin tipe-C, *epidermal-growth-factor* (EGF)-like domain, 6 *Complement control protein* domain (SCR repeat) units, *transmembrane domain* (TM) dan ujung sitoplasmik intraseluler (cyto). *Polimorfonuklear* (PMN) akan bergulir perlahan ke E-selektin pada mikrovaskuler yang mengalami inflamasi, hal ini penting pada fungsi imunitas tubuh yang optimal untuk penangkapan sel dan migrasi ke lokasi cedera. Molekul adhesi sel, seperti sICAM-1, sVCAM-1, dan E-selektin akan memicu homing leukosit, adhesi, dan migrasi ke dalam ruang subendotel, sebagai proses mendasar untuk pembentukan lesi aterosklerosis. Kadar sICAM-1, sVCAM-1 dan sE-selektin yang meningkat ditemukan pada pasien penyakit ginjal kronik yang menjalani hemodialisis. Penelitian lain menunjukkan kadar serum sVCAM-1 dan sE-selektin meningkat secara bermakna pada pasien penyakit ginjal kronik (Marianne *et al.*, 2015 ; Masato *et al.*, 2016 ; Robert 2016).

## 6. Peran Stres Oksidatif Pada Rinosinusitis Akut

Stres oksidatif mencerminkan ketidakseimbangan antara manifestasi sistemik *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan kemampuan sistem biologi untuk detoksifikasi zat reaktif atau untuk memperbaiki kerusakan jaringan, dimana gangguan pada keadaan redoks di sel normal dapat menyebabkan efek toksik melalui produksi peroksida dan radikal bebas yang menyebabkan kerusakan komponen sel, termasuk protein, lipid, dan DNA. Stres oksidatif dari metabolisme oksidatif menyebabkan kerusakan dasar rantai DNA, kerusakan ini sebagian besar tidak langsung dan disebabkan oleh ROS yang dihasilkan, misalnya  $O_2$  (superoksida radikal),  $OH$  (hidroksil radikal) dan  $H_2O_2$  (hidrogen peroksida) (Chandra *et al.*, 2015). ROS dihasilkan oleh aktivitas metabolik seluler dan faktor lingkungan seperti polusi udara atau rokok. ROS adalah molekul yang sangat reaktif karena struktur elektronnya tidak berpasangan dan bereaksi dengan beberapa makromolekul biologis dalam sel, seperti karbohidrat, asam nukleat, lipid, dan protein, yang mengakibatkan perubahan fungsi. ROS yang meningkat menyebabkan kematian sel, mempercepat penuaan dan penyakit yang berhubungan dengan usia (Rahman T *et al.*, 2012)

*Reactive Oxygen Species* dapat menginduksi ekspresi beberapa gen. Rasio yang tinggi dari *oxidized glutathione* (GSSG) dan *glutathione* (GSH) penting untuk proteksi sel dari kerusakan oksidatif, dimana gangguan rasio ini menyebabkan aktivasi faktor transkripsi lebih sensitif seperti NF- $\kappa$ B, AP-1, sel Nuklear faktor dari aktivasi T sel dan hipoksia-*inducible* faktor 1 yang semuanya terlibat dalam proses inflammasi. Stres oksidasi residu sistein DNA mengikat c-*June*, beberapa sub unit AP-1 dan menghambat I $\kappa$ B kinase. NF- $\kappa$ B dapat diaktifkan karena respon terhadap kondisi stres oksidasi, seperti ROS, radikal bebas dan UV – Irradiasi. Fosforilasi I $\kappa$ B membebaskan NF- $\kappa$ B dan memungkinkan NF- $\kappa$ B masuk ke dalam inti untuk mengaktifkan gen transkripsi. Sejumlah kinase telah dilaporkan memfosforilasi I $\kappa$ B di residu resin. Kinase ini adalah terget dari signal oksidasi untuk mengaktifkan NF- $\kappa$ B, Reduktor

meningkatkan NF- $\kappa$ B mengikat DNA sedangkan oksidator menghambat NF- $\kappa$ B mengikat DNA. *Thierodoxins* dapat mengarahkan 2 tindakan yang berlawanan dalam regulasi NF- $\kappa$ B. Nukleus dari NF- $\kappa$ B aktivasinya melalui oksidasi yang berhubungan dengan degradasi I $\kappa$ B untuk menghasilkan beberapa gen antioksidan. NF- $\kappa$ B mengatur ekspresi dari beberapa gen yang berpartisipasi dalam respon imun, seperti IL-1 $\beta$ , IL-6, *tumor necrosis factor- $\alpha$*  (TNF- $\alpha$ ), IL-8, dan beberapa adhesi molekul. NF- $\kappa$ B juga mengatur angiogenesis dan proliferasi serta diferensiasi sel (Michael *et al.*, 2016).

*Superoxida anion*, *hidroxyl radikal* dan *hidrogen peroksida* bertanggung jawab terhadap kerusakan protein, lemak dan DNA di epitel saluran pernafasan. ROS endogen adalah produk dari sel normal dan diperkirakan respirasi mitokondria saja memproduksi  $10^9$  ROS setiap sel setiap hari (Lauren *et al.*, 2015; Michael *et al.*, 2016). Sel-sel inflammasi pada saluran pernafasan mampu memproduksi ROS, dan ROS sendiri berperan pada kerusakan sel, kerusakan oksidatif dan inflammasi kronik seperti penyakit rinosinusitis kronik. Saluran pernafasan rentan rusak mengingat paparan yang luas serta tingginya oksigen dan suplai darah, contohnya eosinofil di Th2 pada rinosinusitis kronik dengan polip nasi kadar eosinofil peroksidase meningkat sehingga menambah kapasitas sel untuk menghasilkan superoksida dan hidrogen peroksidase, jika kerusakan oksidatif menguasai pertahanan antioksidan alamiah maka inflammasi kronik akan timbul (Do-Yeon *et al.*, 2013 ; Ozgul *et al.*, 2014). Sel-sel yang rusak (debris) akan mengaktifkan makrofag, lewat *Toll-Like Reseptor4* (TLR4). Makrofag yang teraktivasi akan mengekspresikan sitokin-sitokin, antara lain TGF- $\beta$ 1, TNF- $\alpha$ 1, IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8. Mediator proinflammasi yang dominan pada rinosinusitis kronik menunjukkan bahwa inflammasi kronik persisten merupakan faktor utama dalam patogenesis rinosinusitis kronik (Atsushi, 2015). Menurut Hamilos, tipe inflammasi yang berperan pada patogenesis rinosinusitis kronik dibedakan menjadi dua jenis, yaitu tipe inflammasi alergi dan tipe inflammasi nonalergi. Pada penderita rinosinusitis yang disertai alergi didapatkan peningkatan kadar interleukin 8 (IL-8) dan neutrofil dalam jumlah sedang dan pada inflammasi

nonalergi sel-sel inflammasi yang dominan adalah neutrofil, serta profil sitokin inflammasi diantaranya IL-8, IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , GM-CSF, dan IFN- $\gamma$  (Atsushi, 2015). Penanda biologis yang menunjukkan stres oksidatif yang berhubungan dengan peroksidasi lipid dalam cairan tubuh atau sel adalah malondialdehid (MDA), karena MDA plasma merupakan produk peroksidasi lipid stabil (Najafi *et al.*, 2017).

Malondialdehid yang dihasilkan *in vivo* melalui peroksidasi dari asam lemak tak jenuh ganda, akan berinteraksi dengan protein dan berpotensi aterogenik. MDA biasanya diukur dari sampel plasma dengan metode yang paling populer dengan alat tes kolorimetri berdasarkan reaksi antara MDA dan *thiobarbituric acid* (TBA), meskipun sensitivitasnya tinggi, uji *TBA reacting substances* (TBARS) tidak memiliki spesifisitas untuk MDA, karena aldehida selain MDA dapat bereaksi dengan TBA untuk menghasilkan senyawa yang menyerap dalam kisaran sama dengan MDA (Prashant, 2015). MDA mempunyai 3 karbon dialdehida dengan gugus karbonil pada posisi C1 dan C3 dan mempunyai rumus  $C_3H_4O_2$  dengan berat molekul 72. MDA ini ikut dalam sirkulasi darah dan mempunyai dua ikatan rangkap seperti asam linoleate, asam arakhidonat dan asam dokosaheksanoit (Ayala *et al.*, 2014). Metode penilaian ekspresi MDA jaringan dengan imunohistokimia dengan mengambil bahan dari plasma, urin, sperma dan supernatant tubuh lainnya dengan menggunakan metode kalorimetrik, ELISA. ELISA untuk mendeteksi MDA juga tersedia secara komersial. Pengujian berbasis antibodi ini biasanya divalidasi terhadap pengukuran MDA dengan *high-performance liquid chromatography* (HPLC) dan menunjukkan kinerja yang baik dengan peningkatan spesifisitas (Kandar & Stramova, 2015)

## 7. Propolis Lebah

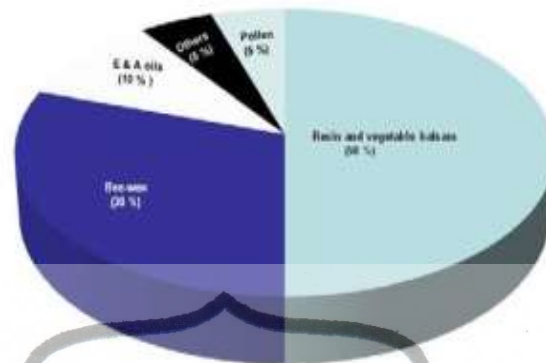
Propolis adalah nama generik dari campuran zat resin yang dikumpulkan dari tanaman oleh lebah, digunakan untuk melapisi bagian dinding sarang lebah, melindungi pintu masuk terhadap penyusup, menghambat pertumbuhan jamur dan bakteri. Propolis diproduksi melalui lebah dengan menambah enzim saliva ke resin



tanaman dan bahan ini kemudian sebagian dicerna, selain itu ada penambahan lilin yang juga diproduksi oleh lebah. Campuran resin, air liur dan lilin dengan tanah akan membentuk geopropolis ( Vijay, 2013 ; Jose , 2016 ; Marcelo, 2017). Propolis mempunyai komposisi kimiawi yang berbeda berdasarkan benua, wilayah dan spesies tanaman yang digunakan, tetapi propolis mempunyai aktivitas serupa seperti antibakteri, anti jamur, anti virus, anti parasit, antiinflamasi, antiproliferatif dan antioksidan ( Silva *et al.*, 2012).

Propolis mentah tidak dapat digunakan untuk analisis dan pengobatan, propolis harus diekstraksi dahulu untuk melarutkan dan melepaskan bahan yang paling aktif. Pelarut yang digunakan sebagai ekstraktan: etanol, methanol, air, heksana, aseton, diklorometana dan kloroform ( Miquel *et al.*, 2010). Flavonoid dan senyawa fenolik merupakan kandungan yang penting sebagai aktivitas antibakteri pada propolis, namun efektivitasnya tergantung pelarut yang digunakan (Wieczynska *et al.*, 2017; Devequi-Nunes *et al.*, 2018; Gorniak *et al.*, 2019 ).

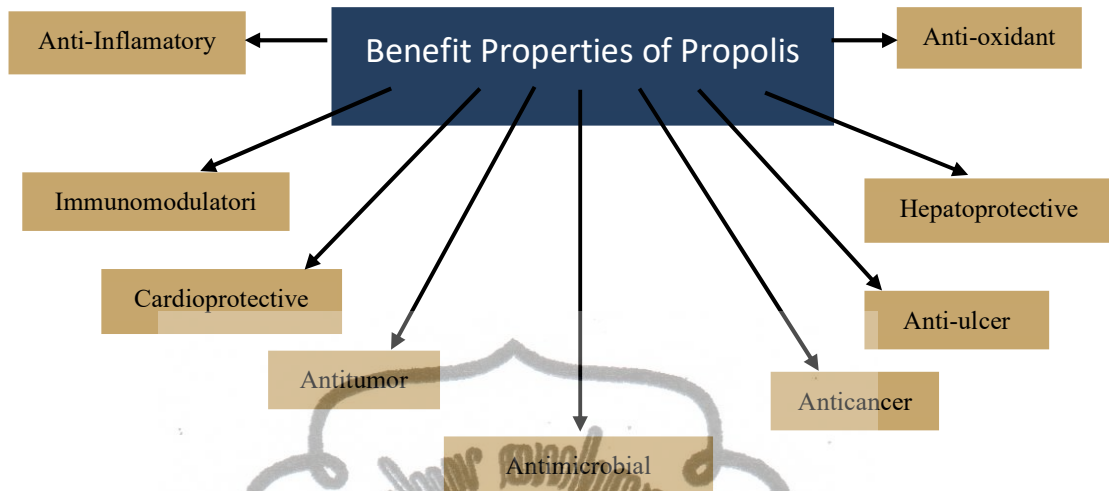
Propolis kandungan komposisi kimianya sangat dipengaruhi oleh jenis vegetasi yang dikunjungi lebah dan musim, seiring dengan kemajuan penelitian lebih dari 300 komponen kimia propolis telah diidentifikasi. Kelompok utama senyawa kimia yang ditemukan dalam propolis selain resin adalah lilin, polifenol (asam fenolik, Flavonoid) dan terpenoid. Propolis umumnya terdiri 50-60% resin dan balsam, 30-40% lilin, 5-10%minyak esensial dan aromatik, 5% serbuk sari, dan 5% senyawa lain (Jose, 2016).



Gambar 2.5 Komposisi propolis ( Farooqui dan Farooqui, 2012 )

Polifenol dan terpenoid dianggap kandungan propolis yang paling aktif (Pimenta *et al.*, 2015). Kelompok flavonoid termasuk chrysin, pinocembrin, apigenin, galangin, kaempferol, kuercetin, tectochrysin, pinostrobin dan lainnya. Kelompok penting lain dari senyawa propolis adalah asam aromatik, di antaranya ferulik, cinnamik, caffeic, benzoik, salicylik, dan p-cumarik acids (Kedzia *et al.*, 2017). Propolis juga mengandung senyawa fenolik lainnya (misal Artepillin C), dan terpen (terpineol, kapur barus, geraniol, nerol, farnesol) yang bertanggung jawab atas aroma khasnya. Unsur mikro dan makro (Mn, Fe, Si, Mg, Zn, Se, Ca, K, Na, Cu) dan vitamin B1, B2, B6, C dan E didalam propolis dapat ditemukan. Komposisi kimia yang terkandung dalam propolis memberikan keuntungan tambahan sebagai agen antibakteri ( Sforcin *et al.*, 2016; Pasupuleti *et al.*, 2017)

Propolis telah digunakan sejak dahulu kala antara lain untuk pengobatan, produk makanan dan kosmetik, faktanya berbagai sifat biologis propolis telah dibuktikan sebagai antibakteri, antijamur, antiprotozoa, antioksidan, antitumo, anti-Inflammasi, anestesi, penyembuhan luka, imunomodulator, antiproliferatif dan antikariogenik ( Toreti *et al.*, 2013 ; Vijay, 2013 ; Jose, 2016).

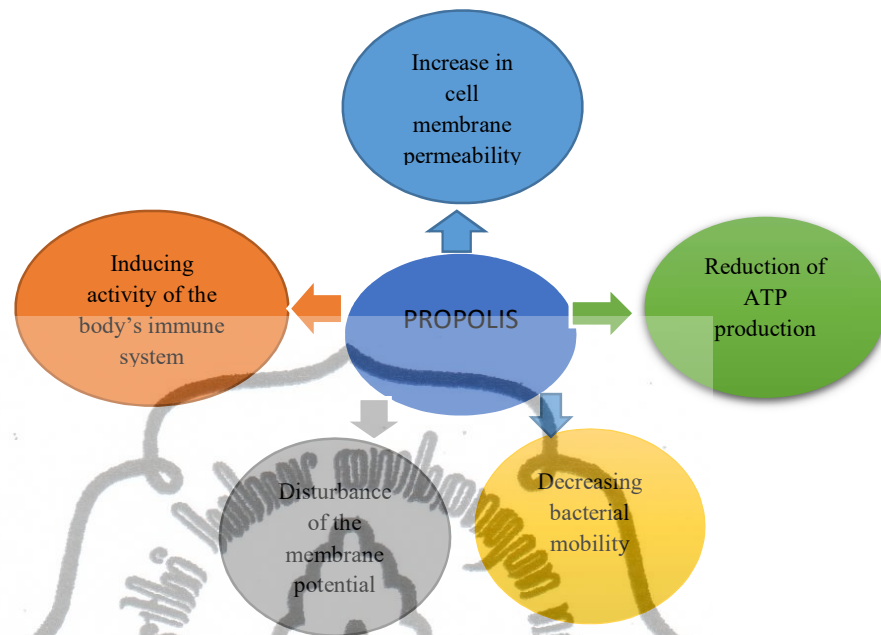


Gambar 2.6. Manfaat propolis ( Farooqui dan Farooqui., 2012 )

Proses inflammasi adalah suatu proses yang disebabkan pelepasan mediator kimia dari jaringan yang rusak dan migrasi sel. Mediator mediator yang diidentifikasi dalam proses inflammasi antara lain amino vasoaktif (histamin dan serotonin), eikosanoid (metabolit asam arakidonat, prostaglandin dan leukotrien), faktor agregasi platelet, sitokin (interleukin dan *tumoral necrosis factor* - TNF), kinin (bradikinin), dan oksigen bebas radikal. Zat ini diproduksi oleh sel-sel inflammasi seperti leukosit polimorfonuklear (neutrofil, eosinofil, basofil), sel endotel, sel mast, makrofag, monosit, dan limfosit (Wang *et al.*, 2013 ; Washio *et al.*, 2015). Studi menunjukkan bahwa propolis berfungsi sebagai antiinflammasi yang ampuh untuk peradangan akut dan kronis (Vincenzo *et al.*, 2017). Beberapa zat terkandung dalam propolis yang dapat menghambat siklooksigenase dan sintesis akibat prostaglandin (Vijay, 2013 ; Washio *et al.*, 2015). Propolis mempunyai efek khusus seperti penghambatan agregasi platelet, penghambatan biosintesis prostaglandin, pencegahan formaldehida akibat oedem kaki dan arthritis serta penghambatan aktivitas *5-lipoxygenase* (5-LOX), selain itu, secara *in vitro* propolis mempunyai fungsi mengaktivasi radikal bebas dan efek hepatoprotektif pada kematian sel akibat induksi TNF- $\alpha$  (Neiva *et al.*, 2014 ; Bufalo *et al.*, 2014). Penelitian secara *in vivo* pada tikus sebelum terjadi aktivasi

makrofag diberi ekstrak propolis hijau, hasil penelitian ini menunjukkan peningkatan produksi nitrit oksida setelah aktivasi *interferon gamma* (INF- $\gamma$ ) akibatnya proliferasi limfosit akan berkurang. Efek penghambatan propolis pada limfoproliferasi mungkin terkait dengan produksi sitokin seperti IL-10 dan TGF- $\beta$ , efek antiinflammasi / anti-angiogenik dari propolis dapat juga dikaitkan dengan modulasi sitokin TGF- $\beta$ 1 ( Vijay, 2013 ; Neiva *et al.*, 2014 ; Bufalo *et al.*, 2014 ; Jose, 2016).

Senyawa fenol, khususnya flavanoid, asam fenol dan ester yang terkandung dalam propolis, merupakan kandungan yang berfungsi sebagai antibakteri. Aktivitas antimikroba propolis merupakan hasil kerja sinergi antara flavanoid dan senyawa lainnya. Ekstrak propolis Isfahan mempunyai sifat antibakteri dari *S. Aereus* dan *P. Aeruginosa* penghasil beta-lactamase yang diisolasi dari infeksi kulit ,dimana efek antibakterinya lebih baik dibanding antibiotik (Zeighampour *et al.*, 2013). Propolis yang di produksi oleh *Melipona fasciculata* mempunyai sifat sebagai antimikroba terhadap Streptococcus Mutans dan Candida albicans dan secara signifikan menghambat biofilm S. Mutans, juga terlihat mempunyai efek antiInflammasi (Liberio *et al.*, 2011). De Marco dkk, meneliti ekstrak propolis sebagai antibakteri melawan Pseudomonas aeruginosa (MIC 125  $\mu$ m/ml). Antibakteri pada propolis aktivitasnya ada dua tingkat, pertama bereaksi langsung pada mikroorganisma, dan kedua menstimulasi sistem imun yang mengakibatkan aktivasi pertahanan alami. Mekanisme propolis sebagai antibakteri melalui permeabilitas membran seluler mikroorganisma, gangguan potensial membran dan produksi adenosine trifosfat (ATP) serta mengurangi mobilitas bakteri (Izabela & Tomas, 2019)



Gambar 2.7. Mekanisme aktivitas antibakteri pada propolis (Izabela & Tomas, 2019)

Propolis selain bersifat antibakteri juga bersifat antibiofilm yang ditunjukkan dengan kemampuan mengurangi produksi biofilm *Pseudomonas aeruginosa* pada *sub-MIC concentrations*, kemampuan ini tergantung dosis propolis (De Marco *et al.*, 2017).

Komponen dari propolis sebagai terapi telah dipelajari. Flavonoid, asam fenolik seperti asam *caffeic acid phenethyl ester* (CAPE), dan ester merupakan senyawa yang paling aktif secara biologi. Senyawa ini mempunyai efek pada bakteri, jamur dan virus dan juga sebagai antiinflammasi, antioksidan, imunomodulator, penyembuhan luka, antiproliferatif dan kegiatan antitumor. Aktivitas antiinflammasi dari propolis tampaknya dikaitkan dengan kehadiran flavonoid, terutama galangin dan kuercetin. Flavonoid ini telah terbukti menghambat aktivitas siklooksigenasi dan lipoksigenasi dan mengurangi tingkat Prostaglandin 2 serta pelepasan ekspresi induksi isoform *siklooksigenase-2* (COX-2). Penelitian memakai model hewan, peradangan akut dan kronik menunjukkan bahwa asam *caffeic* yang terkandung dalam propolis sangat penting untuk aktivitas



antiinflammasi karena menghambat sintesis asam arakidonat dan menekan aktivitas enzim COX-1 dan COX-2, selain itu, asam caffeic menghambat ekspresi gen COX-2 dan aktivitas enzim *myeloperoxidase*, *ornithine dekarboksilase*, *lipoxigenase*, dan *tirosin kinase*. Asam caffeic juga menyebabkan aktivasi immunosupresif, menghambat peristiwa awal dan akhir dari aktivasi sel T dan pelepasan sitokin seperti IL-2. Chrysin dari propolis, tampaknya juga menekan ekspresi COX-2 dengan menghambat faktor nuklir untuk IL-6 (Vijay, 2013 ; Joanna *et al.*, 2018). Asam *caffeic phenethyl ester* (CAPE), merupakan komponen aktif yang terdapat dalam propolis, berfungsi menghambat sitokin, produksi kemokin, proliferasi sel T dan produksi limfokin yang menyebabkan penurunan proses inflammasi, dimana mekanisme antiinflammasi ini melalui jalur sinyal NF- $\kappa$ B. CAPE adalah inhibitor poten aktivasi faktor nuklir  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) dan penghambatan NF- $\kappa$ B mengakibatkan ekspresi dari COX-2 berkurang serta menghambat NO dengan cara menghalangi aktivasi iNOS. Aktivitas antioksidan propolis terutama kandungan flavonoid (*caffeic acid phenethyl ester*/CAPE) (Joanna *et al.*, 2018), flavonoid mempunyai kemampuan mengurangi pembentukan radikal bebas dan peroksidasi lipid. CAPE sepenuhnya menghalangi produksi ROS pada neutrofil manusia dan dalam sistem *xanthine / xanthine oxidase* pada konsentrasi 10 $\mu$ mol/L, bagaimanapun, CAPE menginduksi efek modulasi stres oksidatif dan sistem redoks antioksidan. Efek menguntungkan dari CAPE pada sistem antioksidan adalah mengatur peroksidasi lipid, *nitric oxide* (NO), Catalase (CAT), *glutathione peroxidase* (GSH-Px), dan superoxide dismutase (SOD). Zat aktif utama lainnya dari propolis adalah kuersetin. Kuersetin dapat mengurangi produksi *nitric oxide* (NO) yang diinduksi lipopolisakarida, ekspresi *inducible nitric oxide synthase* (iNOS), dan pelepasan TNF- $\alpha$  serta IL-6. Kuersetin sangat mengurangi aktivasi *mitogen-activated protein kinases* (MAPK) dan NF- $\kappa$ B, suatu kompleks faktor transkripsi yang sangat berperan dalam ekspresi gen-gen proinflammasi (Vijay, 2013 ; Joanna *et al.*, 2018).

Zat aktif biologik utama hasil identifikasi dalam ekstrak etanol isolat propolis gunung Lawu didapatkan CAPE  $30,24 \pm 3,53 \times 10^{-6}$  gram dan kuersetin  $4,42 \pm$

0,50 x 10<sup>-6</sup> gram sebagai dasar dalam penentuan dosis (Sarsono *et al.*, 2012). Total kadar kuercetin pada ekstrak etanol isolat propolis gunung Lawu (63,38 ± 13,14 µg/ml) dan propolis ekstrak propylene glycol (45,69 ± 8,70 µg/ml) (Endraputra & Diding, 2013). Propolis sebagai antiinflamasi ditunjukkan dari hasil penelitian, didapatkan bahwa ekstrak etanol isolat propolis gunung Lawu menurunkan HMGB-1 mencit model infertilitas jantan (Indrayanto *et al.*, 2013), sedangkan sebagai antioksidan ekstrak etanol isolate propolis gunung Lawu didapatkan hasil dosis 200mg/kgBB/hari selama 30 hari, menurunkan kadar MDA, meningkatkan kadar sRAGE, dan memperbaiki luka pada mencit Balb/C model kaki diabetik yang induksi STZ (Diding *et al.*, 2013)

#### 8. Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*)

Tikus Putih hewan percobaan atau hewan laboratorium adalah hewan yang sengaja dipelihara dan ditenakan, untuk dipakai sebagai hewan model guna mempelajari dan mengembangkan berbagai macam bidang ilmu dalam skala penelitian atau pengamatan laboratorik. Hewan uji yang sering digunakan, yaitu tikus, mencit, kelinci dan primata. Hewan uji tersebut harus memenuhi beberapa kriteria sehingga hewan uji dapat dikatakan sesuai untuk fungsi atau penyakit yang di jadikan obyek penelitian kita. Tikus banyak digunakan pada penelitian toksikologi, penyakit infeksi, uji efikasi, dan aging. Mencit berbeda dengan tikus, dimana ukurannya mini, berkembang biak sangat cepat, dan 99% gennya mirip dengan manusia, oleh karena itu mencit sangat representatif jika digunakan sebagai model penyakit genetik manusia (bawaan). Kelinci Albino juga merupakan hewan uji yang sering digunakan selain tikus. Kelinci Albino biasanya digunakan untuk uji iritasi mata karena kelinci memiliki air mata lebih sedikit daripada hewan lain dan sedikitnya pigmen dimata karena warna albinonya menjadikan efek yang dihasilkan mudah untuk diamati, selain itu, kelinci juga banyak digunakan untuk menghasilkan antibodi poliklonal, banyak digunakan pada uji toksikologi, AIDS, hepatitis, neurologi, perilaku dan kognisi, reproduksi, genetik, dan xenotransplasi. Hewan percobaan untuk pengujian secara in vivo

biasanya menunjukkan hasil deviasi yang besar dibandingkan dengan percobaan in vitro, karena adanya variasi biologis, supaya variasi tersebut minimal, hewan-hewan yang mempunyai spesies sama atau strain sama, usia sama, dan jenis kelamin sama, dipelihara pada kondisi yang sama pula. Tikus memiliki karakteristik genetik yang unik, mudah berkembang biak, murah, serta mudah untuk mendapatkannya, oleh karena itu tikus sering digunakan pada berbagai macam penelitian medis. Tikus mempunyai dua sifat utama yang membedakan tikus dengan hewan percobaan lainnya, yaitu tikus tidak dapat muntah karena struktur anatomi yang tidak lazim pada tempat muara esofagus ke dalam lambung sehingga mempermudah proses pencekukan perlakuan menggunakan sonde lambung, dan tidak mempunyai kandung empedu. Tikus merupakan hewan yang melakukan aktivitasnya pada malam hari (*nocturnal*). Tikus yang umum digunakan dalam penelitian ilmiah adalah tikus putih. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) telah diketahui sifat-sifatnya secara sempurna, mudah dipelihara, dan merupakan hewan yang relatif sehat dan cocok untuk berbagai penelitian. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) atau biasa dikenal dengan nama lain *Norway Rat* berasal dari wilayah Cina dan menyebar ke Eropa bagian barat. Tikus pada wilayah Asia Tenggara, berkembang biak di Filipina, Indonesia, Laos, Malaysia, dan Singapura. *Rattus norvegicus* mempunyai ciri ciri antara lain memiliki berat 150-600 gram, hidung tumpul dan badan besar dengan panjang 18-25 cm, kepala besar dan badan lebih pendek dari ekornya, serta telinga relatif kecil dan tidak lebih dari 20-23 mm. Tiga galur atau varietas tikus yang memiliki kekhususan tertentu yang biasa digunakan sebagai hewan percobaan yaitu galur *Sprague Dawley* (SD) berwarna albino putih, berkepala kecil dan ekornya lebih panjang dari badannya, galur Wistar ditandai dengan kepala besar dan ekor yang lebih pendek, dan galur Long evans yang lebih kecil daripada tikus putih dan memiliki warna hitam pada kepala dan tubuh bagian depan. Tikus yang digunakan dalam penelitian ini tikus putih dengan galur *Sprague Dawley* berjenis kelamin jantan, jenis kelamin betina tidak digunakan karena kondisi hormonal yang sangat berfluktuasi pada saat mulai beranjak

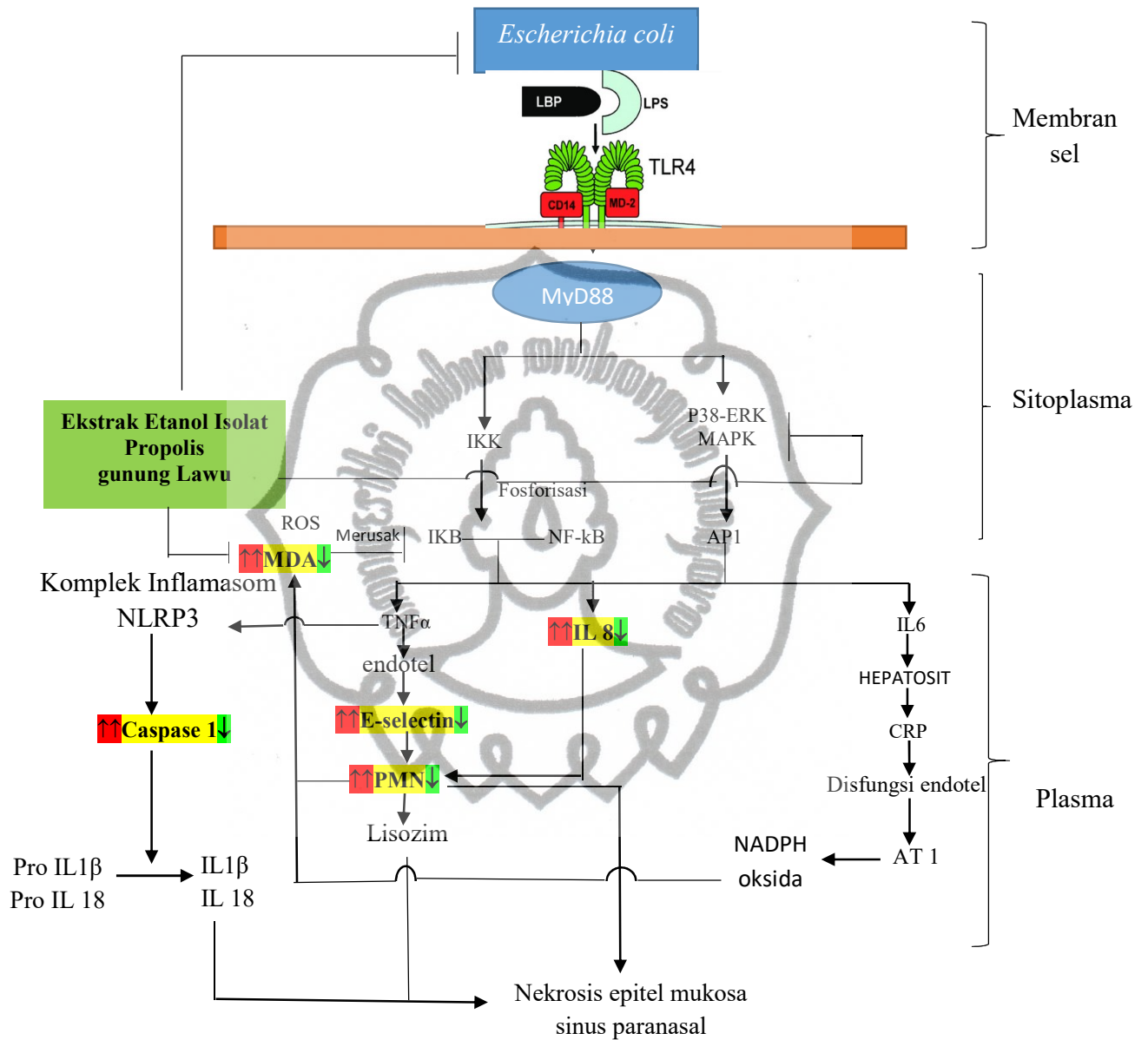
dewasa, sehingga dikhawatirkan akan memberikan respon yang berbeda dan dapat mempengaruhi hasil penelitian. (Adiyati PN, 2011).

Klasifikasi tikus putih (*Rattus norvegicus*) : Kingdom : *Animalia* Filum *Chordata* Kelas: *Mamalia* Ordo: *Rodentia* Subordo: *Sciurognathi* Famili : *Muridae* Sub-Famili : *Murinae* Genus : *Rattus*, Spesies : *Rattus norvegicus*



Gambar 2.8. Tikus Putih (Adiyati, 2011)

## B. Kerangka Teori Penelitian



Gambar 2.9. Kerangka teori

Keterangan :

- : mengaktivasi      ↑↑ : Meningkatkan      □ : Variabel yang diteliti  
 —| : menghambat      ↓ : Menurunkan



Keterangan bagan kerangka teori :

Proses Inflammasi pada sinusparanasal yang dilepas oleh bakteri (LPS) akan menyebabkan obstruksi osteum sinus, obtruksi osteum sinus akan mengakibatkan aerasi dan draenasi terganggu yang pada akhirnya terjadi hipoksia. Hipoksia dan Inflammasi yang berlebihan memicu aktivitas NF- $\kappa$ B/MAPK. NF- $\kappa$ B /MAPK yang meningkat akan mengakibatkan stres oksidatif dan memproduksi sitokin proInflammasi antara lain TNF  $\alpha$ , IL-6, IL-8.

TNF- $\alpha$  akan merangsang endotel sehingga endotel akan mengekspresikan E-selektin, dimana E-selektin akan mengikat PMN . E-selektin yang mengikat PMN juga mengakibatkan aktivasi caspase-1 sehingga terjadi apoptosis sel di sinusparanasal yang akhirnya terjadi kerusakan mukosa sinusparanasal. IL-6 akan terikat dengan reseptornya yang ada dihepatosit menyebabkan aktivitas CRP, CRP akan meningkatkan ROS yang akhirnya terjadi apoptosis yang mengakibatkan kerusakan epitel sinus paranasal, dengan demikian akan menghambat aktivitas NF- $\kappa$ B maka proses inflammasi di sinus mukosa akan terhambat. Propolis terutama kandungan flavonoidnya yaitu CAFE dan kuersetin, memiliki aktivitas anti inflammasi dan anti oksidan sehingga mampu melindungi proses oksidasi dan inflammasi yang berlebihan. Aktivitas antiinflammasi disebabkan propolis mengandung CAFE yang mampu menghambat aktivasi NF- $\kappa$ B, dan kuersetin yang terkandung dalam propolis juga akan mengurangi aktivasi MAPK dan NF- $\kappa$ B, suatu kompleks faktor transkripsi yang sangat berperan dalam ekspresi gen-gen proinflammasi.