

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Sepsis

2.1.1 Pengertian dan Insidensi Sepsis

Sepsis merupakan suatu sindroma klinik yang disebabkan oleh respon tubuh yang berlebihan terhadap rangsangan produk mikroorganisme (Guntur, 2008). Sepsis adalah suatu respon sistemik *host* terhadap infeksi yang disebabkan oleh agen patogen atau toksin berada didalam sistem sirkulasi, sehingga terjadi aktivasi proses inflamasi (Chen *and* Pohan, 2006). Sepsis merupakan suatu sindroma klinik yang terjadi sebagai manifestasi proses peradangan karena respon tubuh yang berlebihan terhadap rangsangan produk mikroorganisme (Daniel *and* Remick, 2007). Sepsis merupakan sindrom yang ditandai dengan hiperinflamasi, kerusakan oksidatif, hiperkoagulasi, hipoperfusi jaringan, hipoksia, immunosupresi, dan disfungsi multiorgan (Biswal *and* Remick, 2007). Baik respon imun maupun karakteristik infeksi yang disebabkan oleh mikroorganisme, berpengaruh terhadap tingkat morbiditas sepsis. Sepsis disertai dengan kegagalan fungsi organ terjadi ketika sistem pertahanan tubuh tidak cukup kuat untuk melawan infeksi. Menurut Russell (2006), permasalahan sepsis yang paling besar terletak pada karakteristik dari mikroorganisme, seperti tingkat keparahan infeksi yang diakibatkan oleh mikroorganisme tersebut, serta superantigen dan agen toksik lain yang resisten terhadap fagositosis dan antibodi. Produksi sitokin proinflamasi yang berlebihan akan menyebabkan aktivasi respon sistemik terutama pada paru-paru, hati, ginjal, dan organ lain. Hal tersebut akan menyebabkan terjadi apoptosis, nekrosis

jaringan, *Multi Organ Dysfunction* (MOD), syok septik, dan kematian (Nur, 2010).

Menurut Remick (2007), hingga saat ini sepsis menjadi penyebab kematian dan kegagalan fungsi organ. Sepsis dan syok septik dinilai sebagai masalah kesehatan serius di dunia. Hal ini disebabkan oleh angka morbiditas dan mortalitas sepsis dan syok septik yang tinggi (Radin, 2015). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Isola *et al.*, (2013) tentang mortalitas akibat sepsis pada 19 ekor anjing, diketahui bahwa persentase mortalitas anjing pada kelompok sepsis parah (15 ekor) mencapai 33.33 %. Sementara itu, persentase mortalitas pada anjing kelompok syok septik (4 ekor) mencapai 100% dengan kematian semua anjing dalam kurun waktu 24 jam.

2.1.2 Etiologi Sepsis

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Guntur (2008), sepsis paling banyak disebabkan akibat bakteri gram negatif dengan presentase kasus sekitar 60-70%. Sepsis maupun syok septik secara klasik telah diketahui disebabkan oleh bakteri gram negatif seperti *Escherichia coli*. Tetapi tidak menutup kemungkinan bahwa sepsis juga dapat disebabkan oleh infeksi mikroorganisme lain seperti bakteri gram positif, jamur, virus bahkan parasit. Ketika tubuh terinfeksi oleh mikroorganisme seperti bakteri, virus, dan jamur, tubuh akan melawan infeksi tersebut dengan jalan mengaktivasi sistem imun (Hildreth *et al.*, 2009) Mikroorganisme tersebut memiliki komponen antigen seperti Lipopolisakarida (LPS) yang dimiliki oleh bakteri gram negatif dan peptidoglikan yang dimiliki

oleh bakteri gram positif (Toussaint *and* Gerlach, 2009). Beberapa hal yang menjadi penyebab sepsis antara lain perforasi usus kedalam *cavum abdomen*, pneumonia, luka operasi, infeksi saluran kemih, meningitis, dan osteomyelitis (Hildreth *et. al.*, 2009).

2.1.3 Patofisiologi Sepsis

Sepsis sebagian besar disebabkan oleh infeksi bakteri. Pada bakteri gram negatif, LPS juga dikenal sebagai endotoksin memiliki peranan penting. Lipopolisakarida (LPS) tertanam pada membran luar, dan bagian molekul yang disebut sebagai lipid A terkait pada dinding sel bakteri. Bakteri gram positif tidak memiliki endotoksin, namun bakteri golongan tersebut memiliki kemampuan untuk memproduksi eksotosin poten. Eksotosin gram positif menunjukkan sifat sebagai superantigen, yang dapat berikatan secara aktif terhadap kompleks hisokompatibilitas mayor kelas 2 dan juga domain-domain Vb reseptor limfosit T. Sifat-sifat tersebut membuat bakteri gram positif dapat mengaktifasi sel T secara masif dan melepaskan limfokin-limfokin pro-inflamasi. Peptidoglikan dan asam lipoteikoat dari dinding sel bakteri gram positif dapat berikatan dengan permukaan sel dan bersifat pro-inflamatorik (Sumantri, 2012).

Setelah agen infeksi memasuki tubuh, terjadi aktivasi respon imun alami yang mengkoordinasikan respon pertahanan, baik komponen humoral maupun seluler. Sel-sel mononuklear akan melepaskan sitokin-sitokin proinflamasi klasik seperti (IL-1), (IL-6), dan (TNF α), namun juga melepaskan sitokin-sitokin pro-inflamasi lain seperti (IL-12), (IL-15), dan (IL-18). Sitokin proinflamasi seperti

TNF α dan IL-1 merupakan sitokin inflamasi yang memerantarai banyak fitur imunopatologis dari renjatan karena LPS. Sitokin proinflamasi TNF α dan IL-1 dilepaskan pada 30-90 menit setelah paparan terhadap LPS, mengaktifkan kaskade inflamasi derajat dua termasuk sitokin, mediator lipid, dan spesies oksigen reaktif, serta juga meningkatkan produksi molekul-molekul adhesi sel, yang kemudian menginisiasi migrasi sel inflamatorik kedalam jaringan (Sumantri, 2012).

Dalam kondisi sepsis, neutrofil mempunyai peran ganda. Di satu sisi, sel ini berperan penting dalam mengontrol pertumbuhan bakteri. Pada sisi lain, neutrofil berperan dalam aktivasi endotel dan menimbulkan kegagalan organ. Kegagalan organ multipel merupakan penyebab kematian pada pasien yang mengalami sepsis. Mekanisme kegagalan organ ini melibatkan deposisi fibrin yang luas yang menyebabkan oklusi mikrovaskular, eksudat jaringan yang terbentuk, kemudian mengganggu oksigenasi adekuat dan gangguan hemostasis mikrovaskular yang muncul dari elaborasi zat-zat vasoaktif, seperti (PAF), histamin, dan prostanoid. Infiltrat seluler terutama neutrofil, merusak jaringan secara langsung dengan melepaskan enzim lisozomal dan radikal-radikal bebas turunan superoksida. Sitokin proinflamasi seperti, TNF α dan sitokin-sitokin lain meningkatkan ekspresi sintase oksida nitrat terinduksi dan peningkatan produksi nitrat lebih lanjut, akan menyebabkan instabilitas vaskular dan juga berkontribusi terhadap depresi miokardial yang timbul pada sepsis (Sumantri, 2012).

2.1.4 Gejala Klinis Sepsis

Pada kondisi sepsis, dapat muncul beberapa gejala klinis yang bersifat tidak spesifik seperti demam dan menggigil. Berdasarkan studi yang dilakukan oleh Nabeer *et. al.* (2000) pada tikus model sepsis dengan induksi *E. coli*, menyebutkan bahwa gejala klinis seperti demam, takikardi, dan takipnea dapat muncul 45 menit-24 jam post induksi. Dembovska *et. al.* (2008) menyatakan pemeriksaan temperatur, pulsus, dan respirasi dapat dilakukan 1,5 – 5 jam setelah induksi dengan *E. coli*. Sepsis akan menimbulkan beberapa gejala klinis, seperti demam, takikardi, takipnea, dan leukositosis pada awal infeksi dan berlanjut menjadi sepsis tahap awal (fase hiperdinamik) hingga menjadi sepsis tahap akhir (fase hipodinamik). Wesche *et. al.*, (2005) menyebutkan bahwa fase hiperdinamik ditandai dengan peningkatan curah jantung dan peningkatan perfusi ke jaringan. Sedangkan fase, hipodinamik ditandai dengan penurunan aliran darah vaskuler dan perifer. Penurunan aliran darah vaskuler dan perifer ini akan mengganggu proses presentasi antigen oleh sistem imun dan terjadi immunosupresi. Sel-sel imun akan kehilangan fungsi dalam sistem pertahanan tubuh.

2.1.5 Diagnosa Sepsis

Sepsis dapat didiagnosa berdasarkan gejala klinis yang muncul didukung dengan uji konfirmasi mikrobiologi. Uji konfirmasi mikrobiologi digunakan untuk menentukan etiologi dari infeksi. Pengujian tersebut dapat berupa kultur darah dan spesimen lain seperti cairan serebrospinal, urin, serta cairan lain, seperti abses dan lesi pada kulit. Prosentase kultur positif mikroorganisme pada sampel darah

sekitar 20-40% pada kasus sepsis dan 40-70% pada kasus syok sepsis. Dalam sebuah studi yang dilakukan oleh Hyde *et al.*, (1989) kultur positif mikroorganisme dari sampel darah pada media *MacConkey Agar* (MCA) sebesar 1.55×10^{10} CFU/ml. Pemeriksaan hitung sel darah, profil ginjal dan hati juga dapat dilakukan untuk menunjang diagnosa sepsis (Garna, 2012). Pemeriksaan lain yang dapat dilakukan untuk menegakkan diagnosa sepsis adalah pemeriksaan level *Procalcitonin* (PCT) serum. *Procalcitonin* (PCT) merupakan prohormon *calcitonin* dan kadar PCT akan mengalami peningkatan secara signifikan pada kondisi sepsis berat (Buchori dan Prihatini, 2006).

2.1.6 Terapi

Tindakan terapi pada pasien sepsis selama ini dengan memberikan antibiotik, terapi cairan untuk mencegah kegagalan organ, dan penggunaan obat-obatan antiinflamasi golongan steroid untuk menekan respon inflamasi sistemik (Guntur, 2008). Penggunaan antibiotik menyebabkan bakteri akan lisis dan melepaskan endotoksin yang akan memperparah kondisi sepsis. Pemberian steroid mendepresi sistem imun (imunodepresan) dan perdarahan saluran cerna. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Aziz (2006), pemberian steroid pada pasien sepsis, meningkatkan mortalitas yang sebagai akibat dari perdarahan saluran cerna.

2.2 Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan atom atau molekul (kumpulan atom) yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada lapisan terluar (Clarkson *and* Thompson, 2000). Radikal bebas memiliki sifat reaktivitas yang tinggi karena

memiliki kecenderungan untuk menarik elektron dan mengubah suatu molekul menjadi molekul radikal (Suryohudoyo, 2010). Radikal bebas juga dapat bereaksi dengan cepat dengan atom lain untuk mengisi orbital yang tidak berpasangan (Simanjuntak, 2007).

Radikal bebas didalam tubuh merupakan bahan yang sangat berbahaya. Telah diketahui bahwa radikal bebas merupakan suatu molekul atau senyawa yang memiliki elektron tidak berpasangan. Hal tersebut menyebabkan radikal bebas selalu mencari pasangan dengan molekul lain. Radikal bebas secara umum berikatan dengan molekul-molekul besar seperti, lipid, protein, dan *Deoxyribonucleic Acid* (DNA). Apabila hal itu terjadi, akan menyebabkan kerusakan sel atau pertumbuhan sel yang tidak dapat dikendalikan karena mutasi DNA (Kesuma dan Rina, 2015).

Radikal bebas dapat terbentuk secara in-vivo dan in-vitro dengan cara; (1) pemecahan satu molekul normal secara hemolitik menjadi dua, hal ini memerlukan tenaga yang tinggi dari sinar ultraviolet, panas, dan radiasi ion; (2) kehilangan satu elektron dari molekul normal, dan; (3) penambahan elektron pada molekul normal (Kesuma dan Rina, 2015).

Radikal bebas dapat dihasilkan secara endogen dan eksogen. Secara endogen berasal dari reaksi reduksi dan oksidasi selama proses fisiologi normal didalam tubuh. Radikal endogen terbentuk sebagai sisa dari proses metabolisme protein, karbohidrat, dan lemak pada mitokondria, proses inflamasi, fagosit, xantin oksidase, peroksisom, dan pada kondisi iskemia (Kesuma dan Rina, 2015) .

Dan secara eksogen berasal dari luar tubuh seperti, radiasi ionisasi dan polutan lain (Istri, 2016).

Radikal bebas dapat dikelompokkan menjadi SOR dan Spesies Nitrogen Reaktif (SNR). Spesies Oksigen Reaktif dihasilkan melalui proses oksidasi maupun reduksi molekul oksigen (O_2). Contoh dari SOR, yaitu radikal superoksida (O_2^-), hidrogen peroksida (H_2O_2), dan radikal hidroksil (OH). Contoh dari RNS adalah nitrit oksida (NO) (Istri, 2016).

Radikal bebas bersifat destruktif, sangat reaktif, dan mampu bereaksi dengan makromolekul sel seperti, lipid, protein, dan DNA (Rico, 2013). Beberapa dampak radikal bebas terhadap tubuh, antara lain:

a. Kerusakan DNA pada inti sel

Radikal bebas merupakan salah satu faktor penyebab kerusakan DNA. Apabila sel melakukan pembelahan dan tidak terjadi proses perbaikan DNA akan mengakibatkan perubahan genetik secara permanen. Hal ini dikenal sebagai mutasi DNA. Ini menjadi awal dari proses karsinogenesis. Proses oksidasi DNA oleh radikal bebas berpotensi menyebabkan kanker.

b. Kerusakan protein

Perubahan *Low Density Lipoprotein* (LDL) menjadi bentuk LDL teroksidasi yang disebabkan oleh radikal bebas dapat menyebabkan kerusakan dinding dan bagian lain dari pembuluh darah. Peningkatan kadar LDL oleh radikal bebas menyebabkan aterosklerosis.

c. Kerusakan lipid peroksida

Radikal bebas menyebabkan kerusakan oksidatif pada ikatan lemak tak jenuh. Lemak tak jenuh merupakan komponen penyusun membran sel. Peroksidase lipid pada membran merusak struktur membran dan menyebabkan kehilangan fungsi dari organel sel.

Secara fisiologis, radikal bebas memiliki peranan yang sangat penting. Radikal bebas juga memiliki efek positif dalam proses fisiologis tubuh (Kesuma dan Rina, 2015). Beberapa efek positif radikal bebas, antara lain:

- a. Spesies oksigen reaktif (SOR) berperan dalam proses bakterisidal dan bakteristatik. Spesies oksigen reaktif (SOR) disintesis oleh sel fagosit sebagai mekanisme untuk membunuh bakteri. Spesies oksigen reaktif (SOR) yang berperan sebagai bakterisidal yaitu radikal O_2^- dan H_2O_2 .
- b. Radikal superoksida (O_2^-) mempunyai sifat sebagai vasokonstriktor pada otot polos atau dalam fibroblas

Radikal bebas yang dihasilkan dalam jumlah normal, sangat penting untuk proses biologis, seperti mekanisme fagosit menghasilkan SOR untuk membunuh bakteri. Akan tetapi, radikal bebas tidak menyerang target secara spesifik. Radikal bebas juga menyerang molekul-molekul penting dalam tubuh, seperti protein, DNA, dan asam lemak tak jenuh yang terdapat di membran sel, hal ini menyebabkan kerusakan struktur dan fungsi sel (Rico, 2013).

2.3 Antioksidan

Antioksidan merupakan suatu senyawa atau komponen kimia yang dalam kadar tertentu mampu menghambat kerusakan akibat proses oksidasi. Secara kimia senyawa antioksidan adalah senyawa pemberi elektron (elektron donor). Secara biologis, antioksidan merupakan senyawa yang dapat menangkal dampak negatif dari oksidan atau radikal bebas. Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektron kepada senyawa yang bersifat oksidan dengan demikian aktifitas oksidan tersebut dapat dihambat. Tubuh membutuhkan antioksidan sebagai perlindungan terhadap radikal bebas. Menurut Chapple *et. al.*, (2007), keseimbangan antara antioksidan dan radikal bebas menjadi kunci utama pencegahan stress oksidatif.

Antioksidan dapat diklasifikasikan, menjadi antioksidan primer, antioksidan sekunder, dan antioksidan tersier (Perez *and* Aguilar, 2013).

a. Antioksidan Primer

Antioksidan primer bekerja dengan cara mencegah terbentuk radikal bebas baru. Antioksidan primer mengubah radikal bebas menjadi molekul yang lebih stabil sebelum radikal bebas tersebut bereaksi. Yang termasuk antioksidan primer antara lain:

- 1) Enzim SOD yang mengubah molekul radikal superoksida (O_2^-) menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2).

- 2) Enzim *glutathione peroksidase* (GPx) yang mengubah H₂O₂ dan lipid peroksida menjadi molekul yang lebih stabil.
- 3) *Catalase* (CAT) yang mengubah H₂O₂ menjadi molekul H₂O dan O₂

b. Antioksidan Sekunder

Antioksidan sekunder bekerja dengan cara menangkap molekul radikal bebas, mencegah terjadi reaksi berantai. Yang termasuk kedalam antioksidan sekunder antara lain, vitamin E, Vitamin C, beta karoten, dan albumin.

c. Antioksidan Tersier

Antioksidan tersier memperbaiki biomolekul mengalami kerusakan oleh radikal bebas. Contoh dari antioksidan tersier antara lain, *DNA repair enzymes* dan *methionin sulfoxide reductase*.

Antioksidan dapat diklasifikasikan berdasarkan sumber dan fungsi. Berdasarkan sumber, antioksidan dibagi menjadi antioksidan endogen dan antioksidan eksogen (Simanjuntak, 2007). Antioksidan endogen dihasilkan oleh tubuh dan terbagi atas enzimatik dan non-enzimatik. Yang termasuk kedalam antioksidan enzimatik adalah SOD, GPx, dan CAT. Contoh antioksidan non-enzimatik adalah transferin. Antioksidan eksogen merupakan antioksidan yang berasal dari luar tubuh seperti senyawa-senyawa flavonoid, vitamin C, vitamin E, dan karotenoid (Simanjuntak, 2007).

Chapple *et al.*, (2007) menyatakan, antioksidan dapat diklasifikasikan berdasarkan fungsi. Berdasarkan fungsi, antioksidan terbagi menjadi antioksidan

preventif dan antioksidan *scavenging* (pemutus rantai). Yang termasuk antioksidan preventif adalah kelompok enzim SOD, GPx, CAT, dan DNA *repair enzymes*. Antioksidan preventif bekerja dengan cara mencegah pembentukan radikal OH. Antioksidan *scavenging* (pemutus rantai) terdiri dari asam askorbat, karotenoid, asam urat, polifenol, bilirubin, albumin, dan thiols. Antioksidan *scavenging* bekerja dengan cara menyumbangkan elektron ke molekul radikal sehingga, molekul radikal menjadi stabil dan reaksi berantai dapat terhenti.

2.4 Superoksida Dismutase (SOD)

Superoksida dismutase (SOD) merupakan enzim yang berperan mengkatalis dismutase radikal anion superoksida (O_2^-) menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2) dan oksigen (O_2). *Superoksida dismutase* merupakan metaloenzim, aktivitas antioksidan tersebut dipengaruhi oleh keberadaan logam Cu, Zn, dan Mn (Kesuma dan Rina, 2015).



Gambar 2.1: Reaksi Dismutasi (Kesuma dan Rina, 2015).

Superoksida dismutase (SOD) berfungsi melindungi sel-sel tubuh dan mencegah terjadi inflamasi yang disebabkan oleh radikal bebas. Enzim SOD dihasilkan oleh tubuh, akan tetapi enzim tersebut memerlukan mineral seperti, Mangan (Mn), seng (Zn), dan tembaga (Cu) untuk menunjang aktivitas. Dengan demikian, mineral-mineral tersebut harus tersedia dalam jumlah yang cukup agar enzim SOD dapat bekerja secara optimal. Aktivitas enzim SOD memiliki peran

penting dalam sistem pertahanan tubuh, terutama terhadap aktivitas senyawa-senyawa reaktif yang dapat menyebabkan terjadi stres oksidatif (Kesuma dan Rina, 2015). Pada kondisi sepsis, aktivitas enzim SOD plasma akan mengalami penurunan diakibatkan oleh stres oksidatif (Bossman *and* Ward, 2013).

2.5 Histologi Aorta

Berdasarkan ukuran dan struktur, pembuluh darah dibagi menjadi tiga (Rahmawati, 2015), yaitu:

- a Arteri besar atau elastik, seperti aorta dan cabang dari aorta (karotis komunis, subklavia, iliaka), serta arteri pulmonalis.
- b Arteri ukuran sedang atau muskular, seperti arteri koronaria dan arteri renalis.
- c Arteri kecil (garis tengah kurang dari 2 mm) dan arteriol (ukuran diameter 20-100 μm).

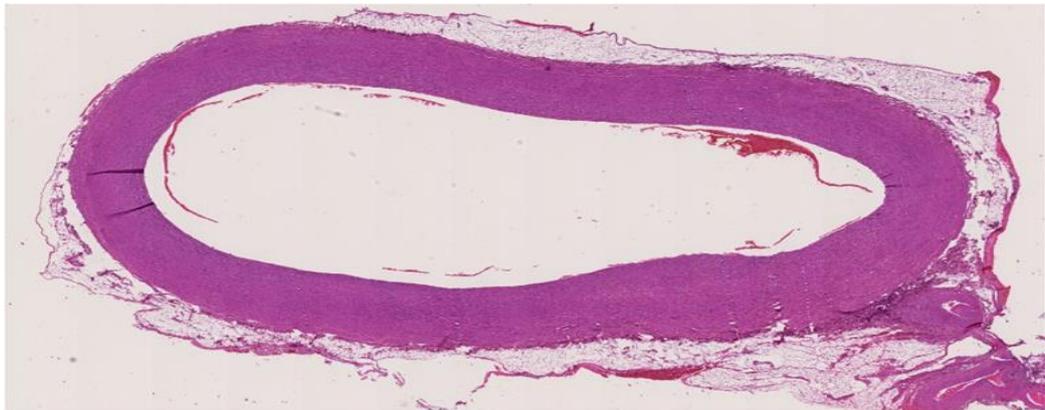
Secara anatomis, dinding pembuluh darah terdiri atas tiga lapisan konsentris atau tunika. Tiga lapisan tersebut akan sangat jelas pada pembuluh darah besar, seperti aorta. Komponen dasar dari dinding pembuluh darah adalah sel (sel otot polos dan sel endotel), dan matriks ekstrasel (termasuk elastin, kolagen, dan glukosaminoglikan). Berikut merupakan gambaran struktur mikroskopis dinding aorta dari arah dalam keluar (Rahmawati, 2015):

- a Tunika Intima

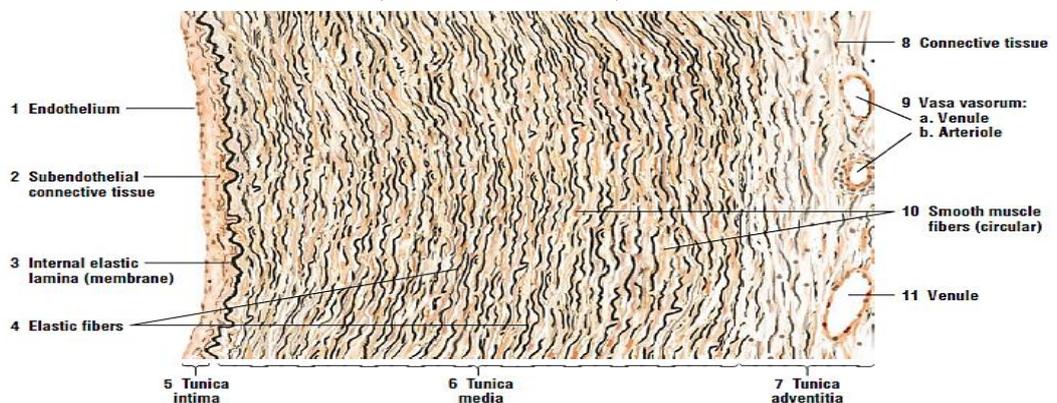
Lapisan paling dalam dari dinding aorta adalah tunika intima yang terdiri atas selapis sel-sel endotelial. Sel endotel berbentuk pipih, poligonal berukuran 10

x 50 μm dan memiliki ketebalan 1-3 μm . Sel endotel berfungsi untuk mengatur aliran darah yang dipompa oleh jantung menuju ke seluruh tubuh (Sandoo *et. al.*, 2010). Ketika endotel mengalami kerusakan, *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) akan meregenerasi endotel tersebut. Secara umum sel endotel memiliki 3 fungsi dasar, pertama, endotel berfungsi sebagai garis pertahanan utama terhadap elemen asing yang akan menginvasi suatu organ; kedua, endotel berfungsi sebagai tempat metabolisme dan katabolisme senyawa-senyawa tertentu; dan ketiga, endotel berfungsi melakukan sintesis berbagai senyawa vasoaktif yang diperlukan untuk mempertahankan tonus pembuluh darah, yaitu dengan mensintesis berbagai mediator inflamasi, mediator proliferasi sel-sel subendotel dan berbagai faktor hemostasis. Megasari (2009) menyatakan bahwa berbagai sitokin yang beredar di dalam sistem sirkulasi seperti $\text{TNF}\alpha$, $\text{IL-1}\beta$, dan IL-6 dapat menyebabkan stres pada endotel pembuluh darah. Respon sel yang mengalami stres berlangsung dalam beberapa fase yaitu, fase *alarm*, *adaptation*, dan *exhaustion*. Apabila fase *adaptation* tidak terlalui, maka sel endotel tidak mengalami kerusakan. Namun jika sel endotel tidak mampu beradaptasi, maka akan berlanjut ke proses *exhaustion* yang pada akhirnya akan menyebabkan kematian sel endotel. Dibawah lapisan endotel terdapat jaringan ikat yang sangat tipis yang disebut dengan lamina subendotelial. Pada batas antara tunika intima dengan tunika media terdapat lamina elastika interna (Rahmawati, 2015).

- b Lapisan tengah adalah tunika media yang tersusun atas sel-sel otot polos yang mempunyai arah sirkuler dengan susunan serabut-serabut yang rapat dan diantara serabut otot tersebut, terdapat metriks ekstrasel yang terdiri atas serabut elastin. Lapisan tunika media lebih tebal apabila dibandingkan dengan tunika intima (Rahmawati, 2015).
- c Lapisan paling luar adalah tunika adventisia yang tersusun atas serabut penghubung elastin dan kolagen sebagai komponen utama (terutama kolagen tipe 1). Pada tunika adventisia juga terdapat venule dan arterioli. Sebagai batas antara tunika media dengan tunika adventisia adalah lamina elastika eksterna (Rahmawati, 2015).



Gambar 2.2 Histologi Aorta dengan Potongan Melintang (pewarnaan HE) (Eroschenko, 2008)



Gambar 2.3: Struktur Dinding Aorta (Pewarnaan *Elastic Stain*) (Eroschenko, 2008)

Pada kondisi sepsis, terjadi ketidaksetimbangan antara sitokin pro-inflamasi dengan sitokin anti inflamasi (Radin, 2015). Menurut Megasari (2009), sitokin-sitokin pro-inflamasi seperti TNF- α , IL-1 β , dan IL-6 dapat menyebabkan kematian sel-sel endotel.

Mekanisme kematian sel-sel endotel pada kondisi sepsis, diawali dari peningkatan produksi sitokin proinflamasi seperti, TNF- α , IL-1 β , dan IL-6 oleh makrofag. Sitokin-sitokin tersebut akan menyebabkan penarikan neutrofil dan monosit ke lokasi infeksi dengan cara menginduksi sel-sel endotel untuk mensekresikan *Intracellular Adhesion Molecul-1* (ICAM-1). Produksi ICAM-1 menyebabkan neutrofil melakukan adhesi dan mengeluarkan enzim lisozim yang menyebabkan dinding sel endotel lisis, sehingga terjadi nekrosis sel endotel (Guntur, 2008). Makrofag dan neutrofil juga menghasilkan molekul radikal superoksida. Molekul radikal berikatan dengan lipid yang terdapat pada membran sel menyebabkan gangguan permeabilitas sel (Guntur, 2008).

Ketika membran sel mengalami kerusakan yang diakibatkan oleh lisozim dan molekul radikal, endotel tidak dapat mempertahankan struktur sel. Pada kondisi tersebut, lisosom mengeluarkan enzim lisozim kedalam sitoplasma menyebabkan kerusakan organel sel. Isi sel keluar ketika sel lisis dikarenakan kerusakan membran sel (Guntur, 2008). Gambaran histopatologi endotel yang mengalami nekrosis, nukleus mengalami piknotik (terlihat lebih bundar, ukuran lebih kecil, dan gelap) dan lapisan tunika intima tampak tidak teratur (Matsuda *et*

al., 2009). Dengan demikian, proses nekrosis sel endotel pada kondisi sepsis diakibatkan oleh infeksi.

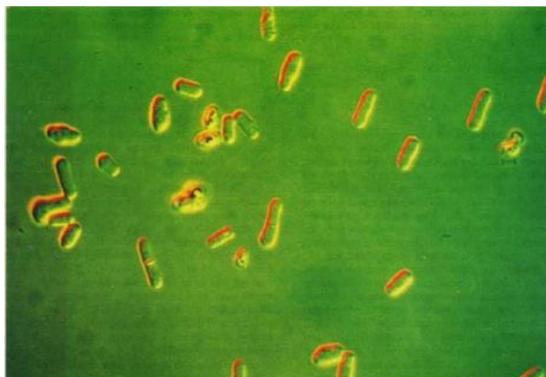


Gambar 2.4 Endotel pada Kondisi Sepsis (Matsuda *et al.*, 2009)

2.6 Ragi (*Saccharomyces cerevisiae*)

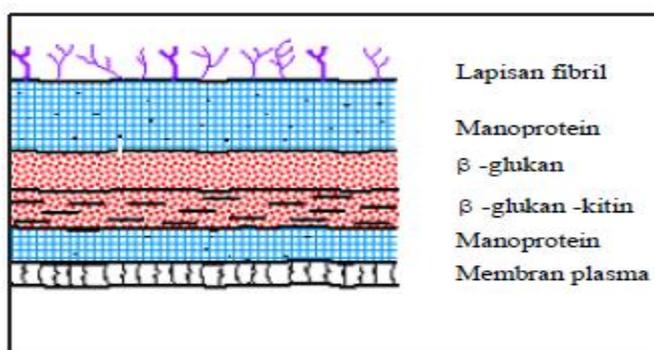
Menurut studi yang dilakukan oleh Sanger (2004), taksonomi ragi adalah sebagai berikut:

Super Kingdom	: Eukaryota
Phylum	: Fungi
Subphylum	: Ascomycota
Class	: Saccharomycetes
Order	: Saccharomycetales
Family	: Saccharomycetaceae
Genus	: <i>Saccharomyces</i>
Species	: <i>Saccharomyces cerevisiae</i>



Gambar 2.5 *Saccharomyces cerevisiae* Pada Perbesaran 10 x 40
(Sanger, 2004)

Morfologi dari *Saccharomyces cerevisiae* antara lain berbentuk datar, halus, lembab, dan memiliki warna krim. *Saccharomyces cerevisiae* memiliki dinding sel yang dapat mensintesis beta-glukan. Dinding sel *Saccharomyces cerevisiae* mengandung banyak beta-1,3-glukan dan beta-1,6-glukan (Kusmiati dkk., 2007). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Kusmiati dkk., (2007), struktur dinding sel *Saccharomyces cerevisiae* (**Gambar 2.4**) mengandung protein yang terikat dengan gula sebagai glikoprotein dan manoprotein, serta mengandung manan, kitin, dan polisakarida jenis beta-1,3-glukan dan beta-1,6-glukan yang memiliki fungsi memperkuat struktur sel dan sebagai cadangan makanan.



Gambar 2.6 Struktur Dinding Sel *Saccharomyces cerevisiae*
(Kusmiati dkk., 2007)

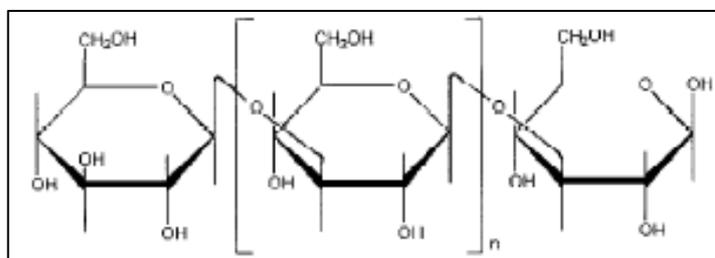
2.7 Betaglukan

Saat ini, bidang bioteknologi mengalami kemajuan yang pesat. Kemajuan di bidang bioteknologi membuka terobosan baru dalam memperoleh obat alternatif dan betaglukan menjadi salah satu penemuan penting dalam bidang suplemen nutrisi. Betaglukan merupakan suatu polisakarida kompleks yang disintesis oleh jamur, alga, khamir, dan bakteri. Berbagai penelitian telah melaporkan manfaat dari betaglukan, yaitu sebagai, antiseptik, antioksidan, aktivator sistem kekebalan tubuh, antiinflamasi, dan antidiabetes. Betaglukan dapat dihasilkan dari *Saccharomyces cerevisiae* asal ragi roti dan ragi tape, khamir merupakan komponen utama yang terkandung didalam ragi roti dan ragi tape tersebut (Andriani, 2007).

Senyawa betaglukan dibedakan berdasarkan struktur rantai samping yang spesifik pada tiap spesies jamur. Dinding sel *Saccharomyces cerevisiae* mengandung banyak beta-1,3-glukan dan beta-1,6-glukan. Dengan demikian, ada bermacam-macam betaglukan dengan aktivitas yang berbeda, namun yang paling aktif adalah beta-1,3-glukan yang terdapat di dinding sel *Saccharomyces cerevisiae* (Kusmiati dkk., 2007).

Betaglukan memiliki aktivitas antioksidan karena memiliki gugus hidroksil. Atom hidrogen dari gugus hidroksil tersebut berfungsi sebagai elektron donor dan membuat molekul radikal bebas menjadi lebih stabil dan tidak reaktif. Betaglukan juga akan meningkatkan aktivitas enzim-enzim antioksidan seperti SOD, GPx, dan CAT (Andriani, 2007). Aktivitas antiinflamasi yang dimiliki oleh

betaglukan memiliki potensi untuk menekan derajat inflamasi yang tidak terkontrol pada kondisi sepsis. Betaglukan yang terdapat pada ragi dapat berikatan dengan reseptor spesifik *dectin-1* pada makrofag. Ikatan antara betaglukan dan reseptor *dectin-1* akan memodulasi makrofag untuk meningkatkan sekresi sitokin antiinflamasi, sehingga terjadi penurunan sitokin proinflamasi seperti TNF- α , IL-1, IL-6, dan IL-12 (Du *et. al.*, 2014).



Gambar 2.7 Struktur beta-1,3-glukan (Kusmiati dkk., 2007)

2.8 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Penelitian ini menggunakan hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*). Tikus putih termasuk hewan laboratorium yang sering digunakan di berbagai macam penelitian. Hal itu dikarenakan memiliki sifat yang mudah berkembang biak, mudah dipelihara, mudah *dihandling* dan *direstraint*, memiliki gen yang homolog dengan manusia, serta karakter anatomi dan fisiologi yang telah diketahui dengan cukup baik (Juriah, 2010) Taksonomi tikus putih (*Rattus norvegicus*) menurut Russel dkk., (2008) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Animalia
 Filum : Chordata
 Kelas : Mamalia

Ordo : Rodentia
 Sub ordo : Myomorpha
 Famili : Muridae
 Genus : Rattus
 Spesies : *Rattus norvegicus*

Tabel 2.1: Data Biologis Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

No	Nilai Fisiologis	Kadar
1	Berat tikus dewasa	Jantan 450-520 g Betina 250-300 g
2	Kebutuhan makan	5-10 g/100g BB
3	Kebutuhan minum	10 ml/100g BB
4	Jangka hidup	3-4 tahun
5	Temperatur rektal	36-37,5 C
6	Detak jantung	250-450 kali/menit
7	Frekuensi respirasi	70-115 kali/menit
8	Total leukosit (sel/ul)	4.000-12.000
9	Eritrosit (sel/ul)	500.0000-1000.000
10	Kebutuhan lemak/kg pakan	5%
11	Kebutuhan protein/kg pakan	5%
12	Kebutuhan mineral/kg pakan <ul style="list-style-type: none"> • Kalsium • Magnesium • Fosfor 	0.5% 0.05% 0.3%
13	Kebutuhan vitamin/kg pakan	0.025%

(Wolfenshon *and* Lloyd, 2013)

Baik tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan dan betina mengalami kematangan seksual pada umur 2-3 bulan. Ukuran maksimal kepadatan pemeliharaan tikus sebesar 3 ekor tikur per 2 meter persegi. Suhu lingkungan yang dibutuhkan, 20-28 °C dan kelembaban 50%. Hewan ini adalah jenis omnivor dan sering digunakan dalam penelitian pengaruh pakan. Keseimbangan nutrisi dijaga dengan mekanisme coprofagia 10-50% dari fesesnya sendiri (Koolhaas, 2010). Kebutuhan minum sebanyak 10-12 mL/100 g BB/hari dan pakan sebanyak

10 g/100 g BB/hari. Berat jantan 450-550 g dan betina 250- 300 g (University Animal Care Committee, 2009). Jumlah darah yang dapat diambil sebesar 6 ml/kg (Institutional Animal Care and Use Committee, 2014).



Gambar 2.8 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) (Institutional Animal Care and Use Committee, 2014).

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang paling proporsional untuk dijadikan hewan model sepsis adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) dengan jenis kelamin jantan. Hal ini disebabkan oleh keberadaan hormon androgen yang dihasilkan oleh tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan dalam kondisi tersupresi pada saat sepsis. Berbeda dengan tikus putih (*Rattus norvegicus*) berjenis kelamin betina yang menghasilkan hormon reproduksi yang memberikan efek protektif pada kondisi sepsis (Angele *et al*, 2014).