

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Sepsis

2.1.1 Pengertian Sepsis

Sepsis merupakan suatu sindroma klinis sebagai manifestasi proses inflamasi karena respon tubuh akibat infeksi mikroorganisme maupun produknya, sedangkan sepsis berat adalah sepsis yang ditandai dengan hipotensi, disfungsi atau hipoperfusi organ. Sepsis ditandai dengan perubahan temperatur tubuh, perubahan jumlah leukosit, *tachycardia* dan *tachypnea* (Faridah, 2009).

2.1.2 Etiologi dan Patomekanisme Sepsis

Sepsis disebabkan oleh mikroorganisme patogenik atau berpotensi patogenik yang secara normal terjadi invasi jaringan, cairan atau rongga-rongga tubuh. Mikroorganisme tersebut adalah bakteri gram negatif, bakteri gram positif, jamur, virus dan parasit (Faridah, 2009). Bakteri gram negatif dengan endotoksinnya yaitu lipopolisakarida (LPS) merupakan penyebab sepsis terbesar dengan prosentase kasus 60 - 70%, sedangkan bakteri gram positif menyebabkan 20-40% kasus (Guntur, 2008).

Sepsis pada manusia maupun hewan coba, keduanya terdapat ketidakseimbangan antara sitokin pro-inflamasi dan anti-inflamasi (Chen *et al.*, 2000). Produksi sitokin inflamasi secara berlebihan menyebabkan injuri pada jaringan secara luas dan aktivasi sistemik. Hal ini akan berakibat pada permeabilitas vaskuler, syok dan menginduksi perubahan metabolik yang

dapat meningkatkan nekrosis jaringan. Pada akhirnya terjadi MOF (*Multiple Organ Failure*) dan kematian. MOF ditunjukkan sebagai kongesti berat, perdarahan, hiperemia, deposit fibrin, edema, trombosis, akumulasi leukosit pada paru-paru dan saluran cerna, nekrosis hepatosit, iskemia segmental dari kolon dengan daerah nekrosis atau perdarahan (Rey *et al.*, 2006).

Patomekanisme terjadinya sepsis diawali dengan interaksi antara proses infeksi patogen, inflamasi dan jalur koagulasi (Jessen *et al.*, 2007). Adanya patogen pertama kali dikenali oleh sel-sel sistem imun, misalnya makrofag dan sel dendritik yang berada di jaringan. Makrofag merupakan bagian utama dari *innate immunity*, berperan dalam inisiasi respon inflamasi dengan membunuh patogen melalui proses fagositosis. Mediator-mediator proinflamasi bekerja pada sel endotel pembuluh darah dan menyebabkan vasodilatasi, peningkatan permeabilitas pembuluh darah dan perekrutan neutrofil ke jaringan. Proses ini akan menghasilkan oksigen sitotoksik, kemokin dan sitokin yang menarik dan mengaktifkan sel imun lain (Rey *et al.*, 2006). Dengan sirkulasi granulosit dan monosit yang cepat menuju daerah infeksi, sehingga sitokin akan meningkat dalam hitungan menit sampai jam, untuk mengeradikasi patogen invasif (Calandra and Roger 2003). Anamnesa, *signalment* dan pemeriksaan fisik pada hewan sangat mempengaruhi peneguhan diagnosa terhadap sepsis. Sepsis pada hewan dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya adalah infeksi nosokomial yang didapatkan dari rumah sakit maupun klinik hewan dan akibat dari pelaksanaan operasi yang tidak aseptis (Boyle, 2012).

2.2 Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees)

Sambiloto berasal dari India dan merupakan tumbuhan liar yang kemudian menyebar ke daerah tropis hingga sampai ke Indonesia. Pada pertengahan abad ke-20 berbagai studi telah dilakukan untuk mengetahui komposisi, keamanan, khasiat, dan mekanisme kerja sambiloto. Saat ini sambiloto telah ditetapkan sebagai tanaman obat yang dikembangkan sebagai fitofarmaka. Berikut merupakan klasifikasi lengkap dari tanaman sambiloto (Widyawati, 2007).

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Sub-kelas	: Gamopetalae
Ordo	: Personales
Famili	: Acanthaceae
Sub-famili	: Acanthoidae
Genus	: <i>Andrographis</i>
Spesies	: <i>Andrographis paniculata</i> Nees

Tanaman sambiloto dikenal sebagai “*King of Bitters*” atau raja dari rasa pahit. Hal ini dikarenakan semua bagian tanaman sambiloto seperti batang, bunga dan akar sangat pahit jika dikonsumsi. Rasa pahit tersebut berasal dari zat andrographolid yang berada didalam kandungannya. Semua bagian tanaman ini dapat dimanfaatkan sebagai obat, namun bagian yang paling sering digunakan sebagai bahan obat tradisional adalah daun dan

batangnya. Secara alami, sambiloto mampu tumbuh mulai dari dataran pantai hingga dataran tinggi dengan kondisi jenis tanah dan iklim beragam. Di Indonesia sambiloto dipasarkan baik dalam sediaan tunggal atau gabungan dengan bahan alami dalam bentuk tablet yang masih tergolong sediaan jamu (Sukandar, 2004).

Sambiloto memiliki batang berkayu berbentuk bulat dan segi empat serta memiliki banyak cabang (monopodial). Daun tunggal saling berhadapan, berbentuk pedang (lanset) dengan tepi rata (integer) dan permukaannya halus, berwarna hijau seperti pada **Gambar 2.1**. Bunganya berwarna putih keunguan, berbentuk jorong (bulan panjang) dengan pangkal dan ujungnya yang lancip (Widyawati, 2007).



Gambar 2.1 Tanaman sambiloto (Ratnani, 2012).

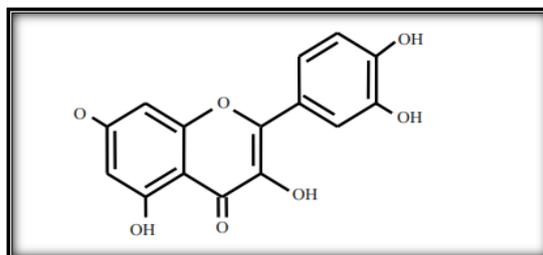
Senyawa fitokimia yang terkandung dalam sambiloto meliputi lakton dan flavonoid. Pada lakton, komponen utamanya adalah andrographolid yang merupakan zat aktif utama dari tanaman ini. Andrographolid menghasilkan rasa pahit dan berfungsi sebagai imunostimulan, antiinflamasi, dan antibakteri. Sedangkan flavonoid bekerja menghambat fase penting dalam

biosintesis prostaglandin, yaitu pada lintasan siklooksigenase dan menghambat fosfodiesterase, aldoreduktase, monoamine oksidase, protein kinase, polimerase DNA dan lipooksigenase (Fitriyani, 2011)

Hasil dari fitokimia simpilisia dari ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) menunjukkan adanya golongan senyawa flavonoid dan aktivitas antioksidan yang tinggi. Flavonoid merupakan senyawa fenol dengan struktur kimia C6-C3-C6 seperti yang tertera pada **Gambar 2.2** yang dimiliki oleh sebagian besar tumbuhan hijau dan biasanya terkonsentrasi pada biji, buah, kulit buah, kulit kayu, daun dan bunga (Jayakumar, 2012).

Flavonoid memiliki efek biologis seperti antioksidan, antiinflamasi, antialergi, antikarsinogenik, antiobesitas, antidiabetes, dan imunostimulan. Mekanisme kerja dari flavonoid adalah menghambat enzim yang terlibat dalam pembentukan ROS. Berdasarkan hasil-hasil penelitian yang telah dilakukan, dinyatakan bahwa flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa fenolik yang memiliki sifat antioksidatif serta berperan dalam pencegahan kerusakan sel dan komponen selulernya yang diakibatkan oleh radikal bebas. Flavonoid berperan sebagai antioksidan dengan dua cara yaitu langsung dan tidak langsung. Secara langsung dengan cara menangkap radikal bebas dan membebaskan atom hidrogen dari gugus hidroksilnya. Secara tidak langsung dengan peningkatan ekspresi gen antioksidan melalui aktivasi nuclear factor erythroid 2 relates factor 2 (Nrf2) sehingga terjadi

peningkatan gen yang berperan dalam sintesis enzim antioksidan endogen (Retnaningsih, 2013).



Gambar 2.2 Kerangka flavonoid $C_6C_3C_6$

Dalam suatu penelitian pada hewan percobaan menunjukkan bahwa 48 jam setelah pemberian andrographolide, komponen ini dijumpai tersebar luas ke seluruh organ tubuh. Konsentrasi yang dijumpai di otak sebesar 20,9%, limfa 14,9%, jantung 11,1%, paru-paru 10,9%, rektum 8,6%, ginjal 7,9%, hati 5,6%, uterus 5,1%, ovarium 5,1%, dan usus halus sebesar 3,2%. Pemberian sambiloto menunjukkan efek protektif terhadap aktivitas enzim superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase dan glutathione yang menurun dengan pemberian hexachloro cyclohexane (BHC) dan hasilnya menunjukkan adanya khasiat antioksidan dan hepatoprotektif dari sambiloto (Castell, 2006).

2.2 Hewan Coba Tikus (*Rattus norvegicus*)

Hewan percobaan yang digunakan dalam penelitian ilmiah ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) berjenis kelamin jantan strain Wistar. Ciri-ciri morfologi *Rattus norvegicus* antara lain memiliki berat 150-600 gram, hidung tumpul dan badan besar dengan panjang 18-25 cm, kepala dan badan lebih pendek dari ekornya, serta telinga relatif kecil dan tidak lebih dari 20-23 mm.

Rattus norvegicus memiliki rambut tubuh berwarna putih dan mata yang merah, panjang tubuh 440 mm, panjang ekor 205 mm bobot jantan dewasa berkisar 450-520 g dan betina 250-300 g (**Gambar 2.3**). *Rattus norvegicus* memiliki waktu hidup 2,5 tahun hingga 3,5 tahun, denyut jantung 330-480 kali permenit, frekuensi respirasi 85 kali permenit dan memasuki masa dewasa pada usia 40-60 hari (Armitage, 2004). Berikut ini merupakan taksonomi dari tikus (Besselsen, 2004):

Kingdom : Animalia

Filum : Chordata

Kelas : Mamalia

Ordo : Rodensia

Famili : Muridae

Genus : *Rattus*

Spesies : *Rattus norvegicus*



Gambar 2.3 *Rattus norvegicus* (Johnson, 2012).

Tikus merupakan hewan mamalia yang paling umum digunakan sebagai hewan percobaan pada laboratorium, Hal ini dikarenakan banyak keunggulan yang dimiliki oleh tikus sebagai hewan percobaan, yaitu memiliki

kesamaan fisiologis dengan manusia, siklus hidup yang relatif pendek, jumlah anak per kelahiran banyak, dan mudah dalam penanganan (Johnson, 2012).

2.4 Lipopolisakarida (LPS)

Lipopolisakarida atau endotoksin glikoprotein kompleks merupakan komponen utama membran terluar dari bakteri gram negatif (Guntur, 2008; Garrido *et al.*, 2004). Kadar LPS ditemukan lebih dari 75% pada pasien sepsis. Sisanya, kadar endotoksin di serum sering tidak terdeteksi pada sepsis yang perkembangannya lambat dan tidak ada komplikasi (Garrido *et al.*, 2004).

Lipopolisakarida bersifat stabil, senyawa yang relatif murni yang dapat disimpan dalam bentuk *lyophilized*. Dosis yang akurat dapat diukur dan diatur seperti bolus atau infus (Garrido *et al.*, 2004). Lipopolisakarida tidak mempunyai sifat toksis, tetapi merangsang mediator inflamasi dari bermacam tipe sel dan bertanggungjawab pada inisiasi proses sepsis (Sumarmi dan Guntur, 2008; Garrido *et al.*, 2004). Mediator inflamasi tersebut antara lain sitokin, nitrat oxide, superoxide, anion dan mediator lipid (Sumarmi dan Guntur, 2008).

Lipopolisakarida tersusun atas rantai O-polysaccharide, cincin gula dan lipid A (asam lemak *lipophilic*) (Giacometti *et al.*, 2002). Struktur lipid A bertanggung jawab terhadap reaksi dalam tubuh penderita (Guntur, 2008). LPS merangsang respon imun dengan menstimulasi sitokin proinflamasi, seperti TNF, IL-1, IL-6, IL-8, *platelet activating factor*, metabolit asam

arakidonat, eritropoietin dan endotelin (Giacometti *et al.*, 2002; Daniel dan Remick 2007; Sumarmi dan Guntur, 2008).

2.5 Enzim SOD (Superoxide Dismutase)

Superoxide Dismutase adalah enzim yang mengkatalisis dismutasi ion superoksida radikal (O_2^-) menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2) dan molekul oksigen (O_2). Berdasarkan kofaktor logam dan distribusinya di dalam tubuh, SOD terbagi menjadi 4 macam yaitu cooper, zinc superoxide dismutase (Cu, Zn-SOD) yang umumnya terdapat dalam sitoplasma eukariot, manganase superoxide dismutase (Mn-SOD) yang terdapat pada mitokondria organisme aerobik, iron superoxide dismutase (Fe-SOD) yang terdapat pada prokariot dan extra selluler superoxide dismutase (ec-SOD) yang ditemukan pada cairan ekstraselular mamalia (West, 2004).

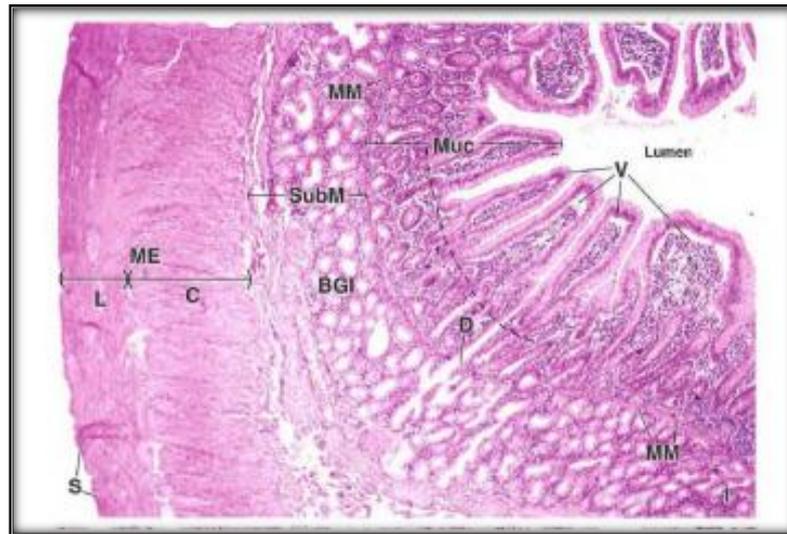
SOD tergolong enzim yang sangat stabil karena tiap subunit bergabung oleh ikatan non-kovalen dan terangkai oleh rantai disulfida. Enzim ini memainkan peran penting pada garis depan sistem pertahanan antioksidan endogen (Mates *et al.*, 1999). Aktivitas SOD bervariasi pada beberapa organ tikus. Jumlah tertinggi terdapat didalam hati, kemudian berturut-turut dalam kelenjar adrenal, ginjal, limfa, pankreas, otak, paru-paru, lambung, usus, ovarium, timus dan lemak (Nurmawati, 2002). Aktivitas SOD akan meningkat seiring dengan pemberian antioksidan eksogen (flavonoid) secara bertahap. Proses tersebut terjadi karena antioksidan flavonoid menstimulasi aktivitas enzim SOD dan enzim SOD didalam tubuh akan menangkal anion

superoksida sehingga tidak terbentuk hidrogen peroksida dan radikal hidroksil (Retnaningsih, 2013).

Sepsis menyebabkan peningkatan penanda dari stress oksidatif pada hewan coba. Efek ini berkorelasi dengan ketidakseimbangan pada jumlah antioksidan. Bukti dari stress oksidatif pada sepsis dan hubungannya dengan ekspresi gen inflamasi telah memberikan dasar dalam intervensi yang dapat dilakukan baik dalam menurunkan stress oksidatif maupun dengan cara menghambat aktivasi proses transkripsi (Nurmawati, 2002).

2.6 Histopatologi Organ Duodenum

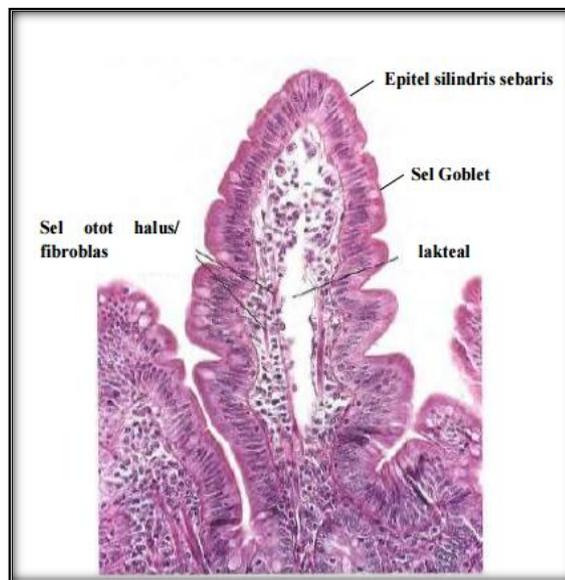
Duodenum merupakan bagian dari usus halus yang terpendek dan berperan dalam sistem pencernaan. Sistem pencernaan memiliki fungsi utama yaitu mencerna dan memecah makanan di dalam lumen menjadi molekul yang lebih kecil dan sederhana. Molekul tersebut akan diserap dan diedarkan ke seluruh tubuh. (Denbow, 2000) menjelaskan bahwa proses pencernaan pertama kali berlangsung di duodenum, asam empedu dari hati dan enzim pankreas di kirim ke duodenum dan ditambah dengan enzim dari usus sehingga bersama-sama mencerna makanan. Secara makroskopis dan mikroskopis, lapisan-lapisan penyusun dinding duodenum mulai dari dalam ke luar lumen usus terdiri atas tunika mukosa, tunika submukosa, tunika muskularis, dan tunika serosa (Frappier, 2006). Struktur histologi duodenum disajikan pada (**Gambar 2.4**)



Gambar 2.4 Struktur histologi duodenum. Keterangan: (S) serosa, (ME) muskulus eksternal, (L) longitudinal, (C) sirkular, (SubM) submukosa, (BGI) kelenjar Brunner, (D) duktus kelenjar Brunner, (MM) muskularis mukosa, (Muc) mukosa, dan (V) vili. Pewarnaan HE dengan perbesaran mikroskop 200x (Ross et al, 2002).

Lapisan terluar dari dinding duodenum yaitu lapisan serosa. Lapisan serosa tersusun atas selapis pipih sel-sel mesothelial diatas jaringan ikat longgar dan pembuluh darah (Eroschenko, 2003). Lapisan muskuler disebut juga tunika muskularis yang terdiri atas serabut otot longitudinal dan sirkuler (Price and Wilson, 2005; Guyton and Hall, 2007). Bagian tunika submukosa terdiri dari jaringan ikat dan kelenjar Brunner atau kelenjar submukosa yang hanya terdapat pada bagian pangkal duodenum. Tunika mukosa adalah lapisan dinding terdalam yang terdiri atas epitel, kelenjar intestinal dan lamina propia (Frappier, 2006). Epitel usus halus berbentuk epitel kolumnar selapis yang terdiri atas sel absorptif, sel goblet, sel endokrin, dan sel peaneth. Pencernaan di usus halus ditunjang oleh bentuk khusus tunika mukosa, yakni vili. Vili merupakan penjurulan mukosa yang berbentuk jari dan ciri khas dari

usus halus. Vili tersusun atas kumpulan sel epitel silindris sebaris yang berjejer dan jaringan ikat longgar lamina propia (**Gambar 2.5**) Tinggi vili bervariasi tergantung pada daerah dan jenis hewan, sehingga luas permukaan ditingkatkan oleh mikrovili. Mikrovili merupakan penjurulan sitoplasma ada permukaan bebas epitel vili. Vili dan mikro vili berfungsi memperluas permukaan usus sehingga penyerapan lebih efisien.

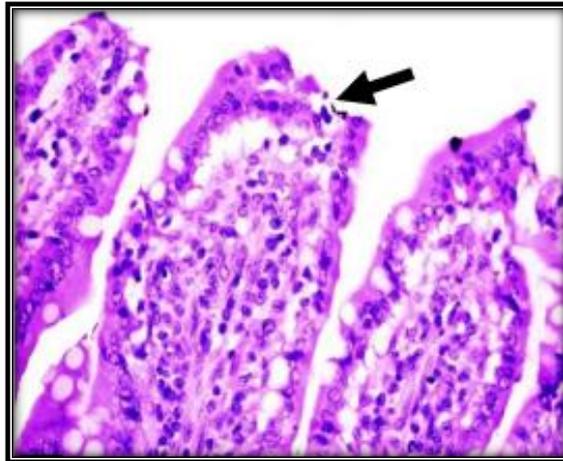


Gambar 2.5 Gambaran mikroskopis vili duodenum. Pewarnaan HE dengan perbesaran mikroskop 200x (Ross et al, 2002)

Vili memiliki struktur jaringan lunak bagian dalam yaitu lamina propia. Lamina propia dilengkapi dengan jaringan limfatikus yang berfungsi sebagai pertahanan imunologis terintegrasi yang mampu mencegah patogen maupun substansi antigen lainnya berpotensi masuk ke dalam mukosa dari lumen saluran cerna. Jaringan limfatikus terdiri dari jaringan yang menyebar (limfosit dan sel plasma) didalam lamina propia, transiet limfosit yang

terdapat pada ruang antar epitel, nodul limfatik, eosinofil, makrofag, dan neutrofil (Ross *et al.*, 2002).

Lipopolisakarida (LPS) di dalam darah akan berikatan dengan protein darah membentuk LBP (Jessen *et al.*, 2007; Shahin *et al.*, 2006). LBP dapat langsung mengaktifkan sistem imun seluler dan humoral, yang dapat menimbulkan perkembangan gejala septikemia (Shahin *et al.*, 2006; Guntur, 2008). Overproduksi sitokin inflamasi menyebabkan hiperinflamasi seperti aktivasi respon sistemik berupa SIRS pada berbagai organ, salah satunya pada duodenum (Chinnaiyan, 2001). Hal ini menyebabkan hipoperfusi intestinal berupa gangguan mikrosirkulasi mukosa usus, disfungsi *barrier* intestinal dengan peningkatan permeabilitas usus, invasi bakteri patogen dan toksinnya kedalam sirkulasi sistemik (Jurgen *et al.*, 2006) serta pelepasan sitokin inflamasi yang merupakan tanda reaksi inflamasi (Jones, 2007; Jürgen *et al.*, 2006). Inflamasi terjadi akibat gangguan sintesa asam empedu sehingga memicu terjadinya peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid bersifat sangat destruktif karena menghasilkan radikal bebas (Catala, 2006). Inflamasi yang terjadi pada duodenum ditandai dengan adanya infiltrasi sel-sel radang seperti limfosit dan neutrofil, selain itu juga terlihat kerusakan pada bagian vili duodenum (**Gambar 2.6**) pada tunika submukosa mengalami edema, destruksi sel epitel silindris, serta proliferasi dan hipertofi sel goblet (Horii, 2002)



Gambar 2.6 Struktur histopatologi duodenum yang mengalami proses inflamasi pada bagian tunika mukosa. Kerusakan vili akibat pelepasan sel epitel silindris ditunjukkan oleh tanda panah. Pewarnaan HE dengan perbesaran mikroskop 400x (Ningsih, 2012)

Hipertrofi sel goblet merupakan salah satu bentuk respon inflamasi yang terjadi pada usus halus. Sel goblet secara normal berfungsi sebagai penghasil cairan mukus yang digunakan untuk sterilisasi makanan (Frappier, 2006). Sel-sel radang seperti neutrofil dan limfosit banyak ditemukan pada kondisi inflamasi akut yang berperan untuk menghancurkan sel-sel yang rusak. Neutrofil yang muncul pada suatu inflamasi dapat menghasilkan enzim protease yang berperan dalam kerusakan jaringan (Dunlop dan Malbert, 2004).