

## BAB I

### PENDAHULUAN

#### A. Latar Belakang Masalah

Perkembangan dunia ilmu kedokteran telah maju pesat, tetapi masalah penyakit infeksi dengan komplikasi sepsis masih menjadi masalah kesehatan baik di negara maju maupun di negara berkembang. Sepsis hingga sekarang masih menjadi salah satu penyebab kematian penderita yang dirawat di rumah sakit, walaupun perawatan di unit perawatan intensif yang modern dan dokter yang sudah terlatih. Oleh karena itu, pengenalan secara dini sindrom klinis sepsis dan dorongan terapi medis secara empiris dapat memperbaiki pengobatan pada pasien (Cruz dan Dellinger, 2003). Angka kesakitan dan angka kematian pasien sepsis dan syok septik cukup tinggi dan menjadi beban biaya perawatan yang besar. Sepsis menempati sepertiga sampai setengah dari kematian pasien yang dirawat di rumah sakit (Konrad *et al.*, 2012). Kejadian sepsis di Amerika Serikat lebih dari 750.000/tahun dan memiliki tingkat mortalitas 28-50% (Burke *et al.*, 2012; Song *et al.*, 2017). Kejadian sepsis dan syok septik di Asia termasuk Indonesia, di ruang perawatan intensif sebesar 10,9%, dengan angka kematian 44,5%. Penelitian di Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo pada 2012, kejadian pasien sepsis dan syok septik di bangsal perawatan intensif adalah 23 kasus sepsis dari 84 kasus yang dirawat dengan angka kematian 47,8%. Penelitian di RSUD Dr. Moewardi Surakarta pada 1997, 130 (97%) dari pasien sepsis meninggal dunia (Guntur, 2009).

Sepsis adalah sindroma klinis ditandai oleh adanya disregulasi respons inang akibat terjadinya infeksi yang menyebabkan disfungsi organ yang mengancam jiwa (*Surviving Sepsis Campaign*, 2016). Patogenesis dari sepsis meliputi proses yang dinamis dan kompleks dari aktivasi seluler (netrofil, monosit dan sel endotel mikrovaskuler) juga mekanisme pacuan sistem neuro-endokrin, aktivasi komplemen, aktivasi koagulasi dan sistem fibrinolitik. Sebagai mekanisme sentral yang dapat menerangkan patogenesis sepsis adalah suatu inflamasi akut yang terjadi saat masuknya mikroba patogen kedalam inang (Namas *et al.*, 2012).

Secara umum pertahanan inang dalam menghadapi mikroba patogen dimulai dari pengenalan patogen melalui serangkaian reseptor pengenalan dari *Pathogen Associated Molecular Pattern* (PAMP). Pada saat ini juga dikenal suatu ligan endogen sebagai molekul yang dihasilkan dari cedera jaringan dan kerusakan sel, yaitu dikenal dengan *Damage Associated Molecular Pattern* (DAMP), yang juga berperan dalam aktivasi

mediator-mediator inflamasi pada infeksi dan sepsis. Berbeda dengan PAMP, DAMP terletak dalam inang sebagai suatu molekul yang berasal dari kerusakan jaringan setelah mengalami operasi besar atau luka bakar. Diantara DAMP tersebut adalah hasil dari degradasi glikokaliks endotel. Glikokaliks endotel pembuluh darah adalah suatu lapisan tipis yang terletak di sisi luminal mikrovaskuler yang berfungsi mempertahankan keutuhan dari sel-sel endotel pembuluh darah tersebut. Apabila glikokaliks endotel pembuluh darah tadi mengalami kerusakan maka akan menghasilkan suatu molekul-molekul yang berperan sebagai DAMP, diantaranya adalah heparan sulfat, *syndecan-1*, heparanase, *endocan*, dan *angiopoetin*. Heparanase adalah suatu enzim yang memotong dan melarutkan fragmen heparan sulfat dari proteoglikan dari lapisan glikokaliks sel endotel. Heparanase merupakan penanda degradasi glikokaliks dan merupakan alat diagnostik adanya disfungsi endotel pembuluh darah. Pada saat terjadi stres pada endotel akibat dari infeksi dan sepsis maka glikokaliks akan mengalami kerusakan yang diperantarai oleh enzim heparanase, sehingga kadar heparanase dalam serum akan meningkat pada sepsis. Pada saat aktivasi *Nuclear Factor kappa B* (NF- $\kappa$ B), sel *Polymorphonuclear Neutrophils* (PMN) akan mengalami kerusakan akibat dari aktivasi *Interleukin-8* (IL-8) dan *e-Selectin*, dan gangguan fungsi dari sel PMN tadi akan meningkatkan lisosom dan akan menyebabkan kerusakan endotel, sehingga glikokaliks akan mengalami kerusakan yang paling awal dengan ditandai adanya peningkatan heparanase dalam sepsis. *Nuclear factor kappa B* adalah suatu protein yang berada di sitoplasma sel makrofag dalam keadaan stabil akan berikatan dengan *Inhibitor kappa-B* (I $\kappa$ B). Pada saat terjadinya sepsis maka I $\kappa$ B oleh enzim *Inhibitor I $\kappa$ B Kinase* (I $\kappa$ K) akan melepaskan diri dengan NF- $\kappa$ B, sehingga NF- $\kappa$ B akan bebas dan aktif. *Nuclear factor kappa B* yang aktif tadi akan mengalami translokasi ke inti sel makrofag dan mengalami transkripsi dari *Deoxyribo Nucleic Acid* (DNA) ke *Ribo Nucleic Acid* (RNA) dan menjadi protein-protein antara lain *Tumor Necrosis Factor-Alpha* (TNF- $\alpha$ ), *Interleukin-1* (IL-1), *Interleukin-6* (IL-6), IL-8, *growth factor* (Siner, 2009).

*E-Selectin* adalah suatu molekul adhesi sel yang di ekspresikan pada sel endotel akibat dari aktivasi sitokin lain berperan dalam peradangan. Dalam inflamasi ekspresi *e-Selectin* berperan penting merekrut leukosit ke lokasi *injury*. Pelepasan lokal sitokin IL-1 dan TNF- $\alpha$ , oleh makrofag di jaringan yang mengalami inflamasi akan menginduksi ekspresi *e-Selectin* yang berlebihan pada sel-sel endotel pembuluh darah terdekat. *C-Reactive Protein* (CRP) merupakan protein reaktan fase akut pertama

ditemukan, kadarnya meningkat drastis selama proses inflamasi atau infeksi. *High-Sensitivity C-Reactive Protein* (hs-CRP) adalah teknik yang digunakan untuk mendeteksi kadar CRP yang lebih rendah dibandingkan pemeriksaan CRP standard. *C-Reactive Protein* hanya bisa mendeteksi kadar lebih dari 3mg/dl sedang hs-CRP bisa mencapai 0,3mg/dl. Apabila ada aktivasi NF- $\kappa$ B dan mengaktifkan IL-6 maka hepatosit akan mengeluarkan hs-CRP yang kadarnya dalam darah akan meningkat pada sepsis. *Malonyl Dialdehyde* (MDA) adalah senyawa organik dengan rumus  $\text{CH}_2(\text{CHO})_2$ . Spesies reaktif ini terjadi secara alami dan merupakan penanda untuk stres oksidatif. Pada keadaan sepsis ekspresi NF- $\kappa$ B akan meningkatkan aktivasi TNF- $\alpha$  yang akan menyebabkan peningkatan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan sebagai produk akhir dari ROS adalah MDA. Disfungsi multiorgan dengan ditemukan gangguan fungsi 2 organ atau lebih yaitu pada sel endotel aorta dan sel tubulus proksimalis ginjal. Dimulai dengan kenaikan aktivasi enzim heparanase dan histopatologi aorta dan ginjal.

Glikokaliks endotel mikrovaskuler menjadi pokok bahasan dalam menjelaskan patogenesis sepsis dan syok septik berupa stres endotel mikrovaskuler yang akan memperberat perjalanan klinis penderita sepsis. Kerusakan dari glikokaliks endotel akan menyebabkan gangguan mikrovaskuler yang pada akhirnya sepsis akan menjadi syok septik. Sebagai marker atau pertanda adanya kerusakan glikokaliks endotel telah ditemukan beberapa protein antara lain heparanase, *syndecan-1*, heparan sulfat, *endocan* dan *angiopoietin*. Telah banyak penelitian yang dikembangkan dalam terapi sepsis selain pemberian anti-mikroba yang adekuat juga pemberian beberapa obat yang bersifat anti-inflamasi. Guntur *et al* (2011) meneliti tentang pemberian steroid dosis kecil pada mencit model sepsis dan terbukti secara signifikan menekan ekspresi NF- $\kappa$ B dan caspase-3.

Tatalaksana pasien sepsis telah maju pesat baik dalam diagnosis dini maupun terapi, baik pengobatan dengan anti-mikroba, resusitasi cairan, dan bundel manajemen yang lain (vasopresor, terapi suportif yang lain), namun angka dan morbiditas dan mortalitasnya tetap tinggi. Berdasarkan patofisiologi dan patogenesis sepsis perlu dikembangkan suatu penelitian untuk mengendalikan atau menghambat progresivitas inflamasi maupun produksi berlebihan dari oksigen radikal bebas (ROS) pada sepsis. Berbagai penelitian telah dikembangkan mengenai pemberian fraksi daun kelor sebagai terapi anti-inflamasi dan anti-oksidan pada beberapa penyakit, seperti diabetes melitus,

penyakit asma, penyakit artritis, dan sebagai anti bakteri. Belum banyak ditemukan terapi fraksi *Moringa oleifera*-Ethyl Acetate (MO-EA) untuk mengurangi inflamasi dan ROS pada sepsis.

Tatalaksana pasien sepsis dengan pemberian obat standar untuk pasien sepsis dan syok septik dipandang perlu untuk pemberian terapi preventif untuk menurunkan respons inflamasi akibat sepsis. *M. oleifera* sebagai tanaman yang banyak terdapat di Indonesia, telah menjadi terapi tradisional di pelosok pedesaan seluruh Indonesia, baik sebagai obat atau sebagai nutrisi tambahan yang kaya protein dan vitamin. Perlu dilakukan suatu penelitian atau studi tentang efek daun kelor sebagai terapi preventif pada penderita sepsis. Berdasarkan hal tersebut, maka peneliti tertarik untuk mengkaji efek fraksi MO-EA yaitu efek anti-inflamasi dan penurunan ROS pada tikus model sepsis.

## B. Keaslian Penelitian

Penelitian mengenai fraksi MO-EA telah banyak dilakukan oleh para peneliti pendahulu, baik di dalam negeri maupun di luar negeri. Oleh karena manfaat fraksi MO-EA ini secara tradisional yang langsung ditempelkan pada luka, maupun secara uji klinis dan uji hewan coba dengan cara mengfraksinasi baik daun, buah, kulit kayu, maupun akar, telah memberikan hasil yang cukup bervariasi. Penelitian tentang efek pemberian fraksi MO-EA baik dalam bentuk fraksi atau fraksi belum banyak dilakukan.

**Tabel 1.1** Keaslian Penelitian

Judul Penelitian	Peneliti sebelumnya (Tahun Publikasi)	Kesimpulan	Peneliti (Disertasi ini)
<i>Evaluation of the polyphenol content and antioxidant properties of methanol extracts of the leaves, stem, and root barks of M. oleifera Lam.</i>	Atawodi <i>et al</i> (2010)	Penggunaan polifenol dari ekstrak <i>M. oleifera</i> sebagai kemopreventif dan / atau terapi pada kanker dan penyakit lain yang berkaitan dengan kerusakan oksidatif.	Peneliti menggunakan daun kelor yang difraksinasi dengan etil asetat. Variabel yang diteliti adalah MDA.
<i>Stable, water extractable isothiocyanates from M. oleifera leaves attenuate inflammation invitro</i>	Waterman <i>et al</i> (2014)	Penggunaan isotiosianat menurunkan ekspresi gen dan produksi marker inflamasi pada makrofag RAW.	Peneliti menggunakan daun kelor yang difraksinasi dengan etil asetat, dampaknya terhadap perubahan



Judul Penelitian	Peneliti sebelumnya (Tahun Publikasi)	Kesimpulan	Peneliti (Disertasi ini)
Uji aktivitas anti- oksidan infusa daun kelor ( <i>M. oleifera</i> , Lamk) dengan metode 1,1- diphenyl-2- picrylhydrazyl (DPPH).	Yuliani dan Dienina (2015)	Penggunaan infus Daun kelor ( <i>M. oleifera</i> ) sebagai efek anti-oksidan. Untuk meneliti kandungan flavonoid secara kromatografi dari daun kelor.	ekspresi NF- $\kappa$ B pada tikus model sepsis. Peneliti menggunakan daun kelor yang difraksinasi dengan etil asetat, tidak menguji kandungan kualitatif dari daun kelor.
Efek anti bakteri ekstrak daun kelor ( <i>M. oleifera</i> ) terhadap pertumbuhan bakteri <i>Sallmonela</i> <i>Thypi</i> .	Putri <i>et al</i> (2016)	Pertumbuhan bakteri <i>Sallmonela Thypi</i> sebagai efek anti bakteri ekstrak daun kelor ( <i>M. oleifera</i> ).	Peneliti tidak melakukan uji anti bakteri yang berkaitan dengan efek daun kelor terhadap stres endotel akibat sepsis.
<i>Anti-inflammatory potential of ethyl acetate fraction of M. oleifera in downregulating the NF-<math>\kappa</math>B Signaling pathway in lipopolysaccharide- stimulated macrophages.</i>	Arulselvan <i>et al</i> (2016)	Ekstrak <i>M. oleifera</i> untuk mengevaluasi potensi anti inflamasi dan mekanisme seluler aksi dalam sel makrofag RAW 264.7 yang diinduksi LPS.	Peneliti menggunakan hewan coba secara in-vivo efek dari fraksi MO-EA terhadap ekspresi NF- $\kappa$ B pada tikus model sepsis.
Ekstrak methanol daun kelor menurunkan kadar TNF $\alpha$ dan IL-6, serta MDA kolon tikus yang diinduksi DMBA.	Tinny & Dian (2016)	Pemberian ekstrak methanol dalam menurunkan kadar TNF $\alpha$ , IL-6 dan MDA dengan dosis 20 mg/KgBB.	Peneliti menilai kadar MDA pada tikus model sepsis yang berkaitan dengan efek pemberian fraksi MO-EA.
Pengaruh pemberian fraksi etil asetat daun kelor ( <i>M. oleifera</i> Lamp) terhadap gambaran histopatologi dan kadar SGPT dan SGOT pada tikus jantan galur Wistar.	Wulan <i>et al</i> (2017)	Penggunaan fraksi etil asetat daun kelor dalam menurunkan kadar SPGT dan SGOT tikus yang diinduksi monosodium blutamat adalah 20,17 mg/KgBB.	Peneliti juga memakai etil asetat dari <i>M. oleifera</i> untuk menurunkan stres endotel pada tikus model sepsis.

Judul Penelitian	Peneliti sebelumnya (Tahun Publikasi)	Kesimpulan	Peneliti (Disertasi ini)
yang induksi monosodium glutamat.			
Pengaruh pemberian ekstrak daun kelor ( <i>M. oleifera</i> ) dosis bertingkat pada gambaran microscopis hepar tikus Wistar yang diinduksi formalin	Putri <i>et al</i> (2018)	Pemberian ekstrak daun kelor ( <i>M. oleifera</i> ) dalam terjadinya perubahan gambaran microscopis hepar tikus Wistar yang diinduksi formalin.	Peneliti menilai efek dari fraksi MO-EA (bukan ekstrak) dari daun kelor dilihat dari histopatologi aorta dan ginjal pada tikus model sepsis.

### C. Rumusan Masalah

Rumusan masalah ini adalah bagaimana membuktikan dan menganalisis apakah ada efek fraksi MO-EA dalam mengurangi reaksi oksidatif dan inflamasi pada tikus putih jantan model sepsis. Khususnya efek pemberian fraksi MO-EA atas kejadian stres endotel pada tikus model sepsis.

1. Adakah efek fraksi MO-EA terhadap ekspresi NF- $\kappa$ B sel endotel aorta dan sel tubulus proksimalis ginjal pada tikus model sepsis?
2. Adakah efek fraksi MO-EA terhadap ekspresi *e-Selectin* sel endotel aorta dan sel tubulus proksimalis ginjal pada tikus model sepsis?
3. Adakah efek fraksi MO-EA terhadap kadar hs-CRP pada stres endotel tikus model sepsis?
4. Adakah efek fraksi MO-EA terhadap kadar MDA pada stres endotel tikus model sepsis?
5. Adakah efek fraksi MO-EA terhadap kadar heparanase pada stres endotel tikus model sepsis?
6. Adakah efek fraksi MO-EA terhadap histopatologi aorta dan ginjal pada tikus model sepsis?

### D. Tujuan Penelitian

1. Tujuan Umum:

Menjelaskan mekanisme fraksi MO-EA dalam efek stres endotel pada tikus model sepsis ditingkat molekuler, seluler dan jaringan.

## 2. Tujuan Khusus:

- a. Membuktikan dan menganalisis efek fraksi MO-EA terhadap ekspresi NF- $\kappa$ B sel endotel aorta dan sel tubulus proksimalis ginjal pada tikus model sepsis.
- b. Membuktikan dan menganalisis efek fraksi MO-EA terhadap ekspresi *e-Selectin* sel endotel aorta dan sel tubulus proksimalis ginjal pada tikus model sepsis.
- c. Membuktikan dan menganalisis efek fraksi MO-EA terhadap kadar hs-CRP pada stres endotel tikus model sepsis.
- d. Membuktikan dan menganalisis efek fraksi MO-EA terhadap kadar MDA pada stres endotel tikus model sepsis.
- e. Membuktikan dan menganalisis efek fraksi MO-EA terhadap kadar heparanase pada stres endotel tikus model sepsis.
- f. Membuktikan dan menganalisis efek fraksi MO-EA terhadap histopatologi aorta dan ginjal pada tikus model sepsis.

## E. Manfaat Penelitian

### 1. Manfaat Teoritis

Memberikan bukti ilmiah pengaruh pemberian efek fraksi MO-EA terhadap ekspresi NF- $\kappa$ B sel endotel aorta dan sel tubulus proksimalis ginjal, *e-Selectin* sel endotel aorta dan sel tubulus proksimalis ginjal, kadar hs-CRP, MDA, heparanase, dan histopatologi aorta dan ginjal pada tikus model sepsis.

### 2. Manfaat Praktis

Memiliki manfaat praktis yang dapat digunakan sebagai dasar pengembangan dan pemanfaatan efek fraksi MO-EA sebagai terapi preventif dan terapi pencegahan dalam penatalaksanaan sepsis.