

BAB II

KAJIAN PUSTAKA DAN KERANGKA PEMIKIRAN

2.1 Kajian Pustaka

2.1.1 Alang-alang

Alang-alang (*Imperata Cylindrica L.*) merupakan rumput liar yang tersebar di lingkungan terbuka seperti di sawah dan di hutan. Alang-alang cenderung membutuhkan intensitas cahaya yang cukup untuk tumbuh sehingga dapat mudah ditemukan di lahan terbuka yang langsung tersinari oleh matahari. Morfologi dari rumput ini yaitu berbentuk herba, tera, merayap, tumbuh tegak setinggi 30 – 180 cm, berdaun tunggal dengan ujung runcing dan tajam, panjang daun sekitar 180 cm dan lebar daun sekitar 3 cm. Perkembang biakkan tanaman ini dengan rhizoma dan biji. Biji alang-alang dapat terbang ke tempat lain karena ringan melalui angin, hewan, air, dan manusia. Pada musim kemarau terjadi proses pembungaannya dan biasanya terjadi akibat stress oleh adanya pembabatan hutan, kebakaran, atau kekeringan.¹¹

2.1.2 Taksonomi alang-alang

Taksonomi alang-alang adalah sebagai berikut ^{13,14}

- Kingdom : *Plantae*
Divisio : *Spermatophyta*
Sub Divisio : *Angiospermae*
Kelas : *Monocotyledonea*

Famili : *Gramineae*
Ordo : *Graminales*
Genus : *Imperata*
Spesies : *Imperata Cylindrica*

2.1.3 Morfologi alang-alang

Secara bagian terpisah, alang-alang (*Imperata Cylindrica*) memiliki morfologi perbagiannya sebagai berikut:

1. Akar

Tunas akar alang-alang merayap di dalam tanah, bersisik, dan panjang. Akarnya bersifat serabut, rambut akarnya banyak, dan lebat dengan ujung yang meruncing. Terdapat kaliptra pada setiap ujungnya yang berfungsi untuk melakukan banyak percabangan dan menembus tanah.

2. Batang

Batang alang-alang ini memiliki tinggi 1.2 – 1.5 m. Permukaan batangnya beruas-ruas, berfungsi sebagai tempat duduknya daun. Arah tumbuh batang alang-alang ini menuju ke atas. Batangnya menjulang dan berbunga naik keatas tanah.

3. Daun

Daun alang-alang berbentuk garis lanset dengan pangkal berbentuk talang dan menjepit. Panjang daunnya sekitar 15 – 80 cm. Tepi daun sangat kasar, tulang daun tengahnya lebar dan pucat serta pangkalnya berambut panjang. Alang-alang juga memiliki malai yang panjangnya sekitar 10 – 20 cm.

4. Bunga

Bunga pada alang-alang memiliki dua buah kepala sari berwarna ungu atau putih. Tangkai putik dan kepala putik berwarna ungu berbentuk panjang dan muncul dari anak bulir sepanjang 4 mm, berwarna keunguan atau putih.

2.1.4 Komposisi alang-alang

Alang-alang merupakan salah satu tumbuhan yang banyak digunakan oleh masyarakat sebagai bahan dalam membuat kertas, bahan dalam membuat anyaman, bahkan oleh masyarakat Papua, alang-alang ini dijadikan sebagai atap bagi rumah mereka. Selain itu, alang-alang juga banyak digunakan dalam sektor kesehatan, seperti dalam pembuatan obat herbal.¹³

Penelitian pada alang-alang (*Imperata Cylindrica*) pertama kali pada tahun 1995 dan didapatkan hasil bahwa terdapat komponen fenolik pada akarnya.^{10,15,16} Penelitian selanjutnya menunjukkan adanya aktivitas antioksidan yang signifikan pada ekstrak *ethanol* akar alang-alang. Kandungan total fenolik pada ekstrak *ethanol* akar alang-alang (*Imperata Cylindrica*) adalah $7,09 \pm 0,14$ mg ekuivalen asam galat per gram ekstrak.^{10,15}

Dilakukan skrining fitokimia pada penelitian selanjutnya dan terbukti pada akar alang-alang positif mengandung flavonoid sebesar 4,8%.¹⁷ Penelitian terbaru mengenai akar alang-alang menemukan adanya kandungan isoeugenin yang juga merupakan *phenylpropene*, dengan estimasi kandungan yaitu 0,268 mg/g berat kering ekstrak *ethanol* akar alang-alang (*Imperata Cylindrica*).¹⁵



Gambar 2.1 Tanaman Alang-alang dan akarnya

Dikutip dari: *Google.com*

2.1.5 Manfaat Ekstrak *Ethanol* Akar Alang-alang

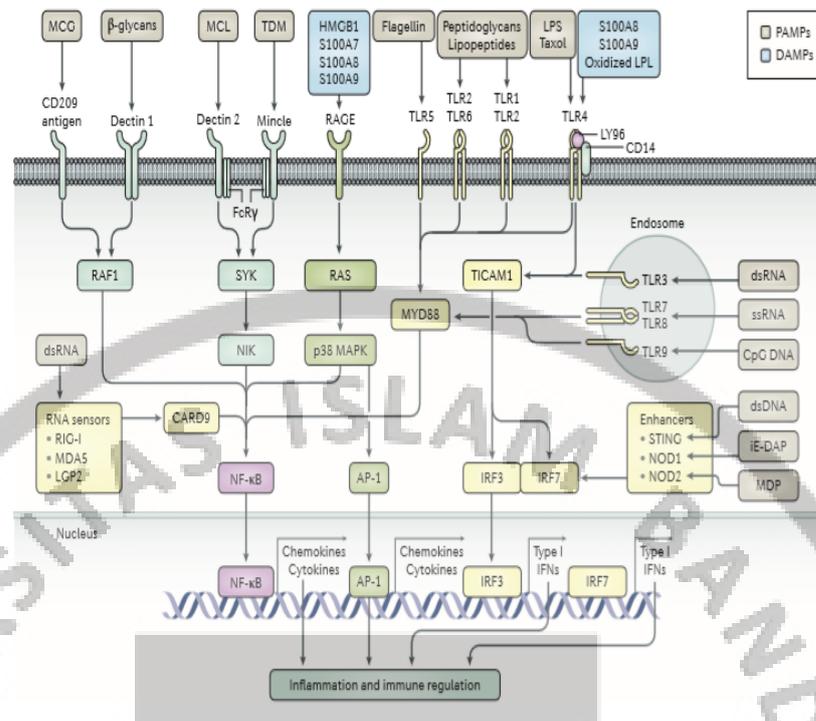
Terdapat beberapa penelitian yang membuktikan bahwa ekstrak *ethanol* akar alang-alang (*Imperata Cylindrica*) memiliki efek sebagai antioksidan dan antiinflamasi. Ekstrak *ethanol* akar alang-alang (*Imperata Cylindrica*) mengandung flavonoid dan senyawa bioaktif isoeugenin yang akan meningkatkan aktivitas dari GPx dan SOD sehingga dapat menekan aktivitas iNOS dan sitokin proinflamasi.^{8,10,12}

2.1.6 Sepsis

Sepsis adalah suatu sindroma kompleks yang ditandai dengan ketidakseimbangan antara respon pro-inflamasi dan anti-inflamasi terhadap patogen.¹⁸ Kriteria klinis dari sepsis adalah dengan adanya dugaan infeksi dan

peningkatan secara akut dua atau lebih nilai *Sequential Organ Failure Assessment (SOFA)* sebagai tanda adanya disfungsi organ.^{19,20}

Sepsis diawali dengan adanya bakteri yang masuk ke dalam tubuh dan meyebar melalui darah. Bakteri ini, khususnya bakteri gram negatif, memiliki lapisan LPS di membran luar kapsulnya yang merupakan endotoksin dari bakteri tersebut. Lipopolisakarida kemudian akan berikatan dengan LBP untuk masuk ke dalam darah dan dapat menyebabkan sepsis.⁵ Ketika jumlah bakteri yang menginvasi terbatas, respon lokal akan membasmi patogen. Makrofag akan memfagositosis bakteri dan menghasilkan sejumlah sitokin proinflamasi yang akan menginisiasi sistem imun alami sebagai respon terhadap patogen.²¹ Lipopolisakarida kemudian akan dikenali oleh *Pattern-Recognition Receptors*, yaitu *Pathogen-Associated Molecular Patterns (PAMPs)* dan *Damage-Associated Molecular Patterns (DAMPs)* yang akan mengaktivasi sistem komplemen (C3a dan C5a). C5a ini dianggap sebagai sistem komplemen yang paling aktif menarik makrofag, monosit, dan neutrofil saat terjadi sepsis. C5a akan memicu sekresi dari ROS dan enzim granular yang dapat menstimulasi pengeluaran dari gen inflamasi, seperti *Tumor Necrosis Factor (TNF)* dan Interleukin 1 (IL-1). TNF yang telah teraktivasi akan mengaktivasi iNOS dan akan menghasilkan NO.⁵



Gambar 2. 2 Surface cell yang bertanggung jawab dalam mengenali produk microbial

Dikutip dari: Hotchkiss RS⁵ 2016

Dalam keadaan sepsis, terjadi suatu keadaan *stress* oksidatif yang merupakan ketidakseimbangan antara antioksidan dan oksidan yang tinggi yaitu ROS dan *Reactive Nitrogen Species* (RNS). *Reactive Oxygen Species* merupakan suatu radikal bebas yang memiliki serangkaian molekul bebas oksida aktif yaitu superoksida (O_2^-), Peroxynitrite ($ONOO^-$) dan Hydrogen Peroxide (H_2O_2) yang dapat menyebabkan cedera jaringan.^{5,22} *Reactive Nitrogen Species* adalah jenis radikal bebas yang berperan penting dalam sepsis mencakup NO.²³ Nitrite Oxide yang diproduksi oleh L-Arginin dan ROS yang dikeluarkan oleh *NADPH Oxidase Complex* sehingga bisa menyebabkan cedera jaringan dan mekanisme selular.^{7,8}

Sepsis memiliki tanda klinis yang cukup kompleks. Kriteria diagnosis nya pun masih terus diperbaharui. Berikut adalah kriteria diagnosis terbaru dari sepsis:²⁴

a. Gejala Umum

1. Hipotermia (suhu pusat tubuh $< 36^{\circ}\text{C}$)
2. Demam ($>38,3^{\circ}\text{C}$)
3. *Takipneu*
4. *Heart rate* > 90 /menit atau lebih dari dua standar deviasi diatas nilai normal usia
5. Keseimbangan cairan positif atau edema signifikan atau (> 20 mL/Kg lebih dari 24 jam)
6. Hiperglikemia (glukosa plasma $7,7$ mmol/L atau > 140 mg/dL) dan tidak diabetes
7. Perubahan status mental

b. Inflamasi

1. Leukopeni (jumlah sel darah putih < 4000 μL^{-1})
2. Leukositosis (jumlah sel darah putih > 12.000 μL^{-1})
3. *C-Reactive Protein* plasma diatas nilai normal lebih dari dua standar deviasi
4. Prokalsitonin plasma diatas nilai normal lebih dari dua standar deviasi
5. Jumlah sel darah putih normal dengan lebih dari 10% ditemukan bentuk belum matur

c. Hemodinamik

Hipotensi arteri (pada dewasa tekanan darah sistolik <90 mmHg, MAP <70 mmHg, atau tekanan darah sistolik turun >40 mmHg atau dua standar deviasi lebih rendah dibawah nilai normal umur)

d. Disfungsi organ

1. Hipoksemia arterial ($\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 300$)

2. Peningkatan kreatinin 44,2 $\mu\text{mol/L}$ atau $> 0,5 \text{ mg/dL}$
3. Jumlah urin $< 0,5 \text{ mL/Kg/jam}$ selama minimal 2 jam meskipun resusitasi cairan adekuat (oliguria akut)
4. Tidak terdengar suara usus (ileus)
5. Trombositopenia (hitung trombosit $< 100.000 \mu\text{L}^{-1}$)
6. Hiperbilirubinemia (bilirubin plasma total $70 \mu\text{mol/L}$ atau $> 4 \text{ mg/dL}$)
7. Koagulasi abnormal (aPTT $> 60 \text{ s}$ atau INR $> 1,5$)

e. Perfusi jaringan

1. Penurunan *capillary refill*
2. Hiperlaktatemia ($> 1 \text{ mmol/L}$)

Sepsis dapat menyebar ke organ lain sehingga menyebabkan *Multiple Organ Dysfunction Syndrome* (MODS) yang membahayakan bagi pasien, bahkan dapat menyebabkan kematian.¹⁸ Sepsis dapat menyebabkan komplikasi berupa gagal ginjal akut, sindrom distress pernapasan akut, gagal hepar, *Disseminated Intravascular Coagulation* (DIC), dan komplikasi kardiovaskular. Komplikasi dari sepsis ini paling banyak terjadi pada neonatorum.²⁵

2.1.7 Penatalaksanaan Sepsis

Karena sepsis disebabkan oleh adanya invasi dari bakteri ke dalam darah, maka yang menjadi fokus dalam pengobatan sepsis adalah eradikasi bakteri dengan pemberian antibiotik. Resusitasi awal, dukungan hemodinamik, pemberian antibiotik awal, vasopressor/inotropik, diagnosis (kultur dan pemeriksaan radiologi), tata laksana suportif, kontrol sumber infeksi, dan pencegahan infeksi juga merupakan komponen dasar dari penanganan sepsis.^{9,20}

2.1.8 Hepar Dalam Keadaan Sepsis

Dalam keadaan sepsis, hepar akan mengalami cedera dan bisa menjadi gagal hepar. Cedera pada hepar diperantai oleh patogen yang akan memicu pengeluaran mediator inflamasi sehingga menyebabkan terjadinya kerusakan jaringan dan perubahan metabolisme selular. Cedera hepar kemudian berkembang menjadi disfungsi hepatoselular yang aktif dan merupakan respon awal dari sepsis, ditandai dengan adanya perubahan transkripsome pada proses metabolisme di hepar termasuk metabolisme glukosa.²⁶

2.1.9 *Glucose-6-Phosphatase (G6Pase)*

Glukosa-6-fosfatase (G6Pase) adalah protein membran integral multi-subunit dari retikulum endoplasma yang terdiri dari subunit katalitik dan transporter untuk G6P, fosfat anorganik, dan glukosa. Gen ini (G6PC) adalah salah satu dari tiga gen pengkodean-subunit katalitik glukosa-6-fosfatase pada manusia: G6PC, G6PC2 dan G6PC3. Glukosa-6-fosfatase mengkatalisis hidrolisis D-glukosa 6-fosfat menjadi D-glukosa dan ortofosfat dan merupakan enzim utama dalam homeostasis glukosa, berfungsi dalam glukoneogenesis dan glikogenolisis.^{27,28}

Pada keadaan sepsis, G6Pase akan mengalami penurunan baik pada *mild* sepsis maupun *fulminant* sepsis. Penurunan G6Pase ini terindikasi mulai dari awal terjadinya sepsis. Sehingga dapat disimpulkan bahwa penurunan G6Pase menjadi tanda awal dalam perubahan fungsi hepar.^{4,6}

Pada *mild* sepsis, transkripsi G6Pase dan aktivitasnya menurun dan akan menyesuaikan dalam waktu 72 jam. Kadar glukosa darah terlihat tetap stabil. Sedangkan pada *fulminant* sepsis, transkripsi G6Pase dan aktivitasnya menurun dan

tidak ada penyesuaian. Awalnya kadar glukosa dalam darah stabil, namun lama-kelamaan akan menurun dan terjadi hipoglikemia.^{4,6} Penurunan transkripsi dan aktivitas G6Pase, ditambah dengan hilangnya mekanisme kompensasi, bisa menjelaskan penurunan glukoneogenesis pada akhir sepsis.⁶

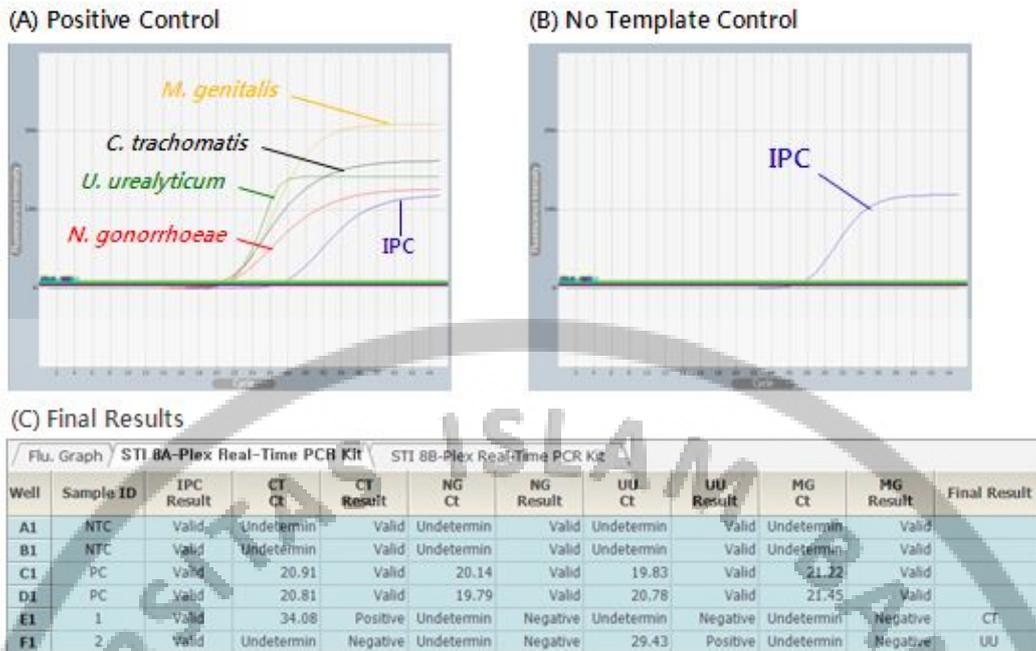
2.1.10 *Real Time-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)*

Polymerase Chain Reaction (PCR) merupakan sebuah teknik biologi molekuler yang dapat mengamplifikasi sekuen *Deoxynucleic Acid (DNA)* spesifik sampai jutaan sekuen DNA baru. Prinsip dari PCR ini adalah sekuen DNA spesifik diamplifikasi menjadi dua kopi, empat kopi, dan seterusnya. Polimerase merupakan enzim spesifik yang dibutuhkan pada proses pelipat gandaan ini. Polimerase mampu menggabungkan DNA *single helix* dan membentuk untaian molekul DNA yang panjang. Enzim ini membutuhkan DNA cetakan seperti nukleotida yang terdiri dari empat basa yaitu *Adenine (A)*, *Thymine (T)*, *Cytosine (C)* dan *Guanine (G)* serta primer (Gibbs 1990).^{29,30}

Amplifikasi ini dimulai dengan mendenaturasi DNA cetakan *double helix* menjadi *single helix* pada suhu 94 – 95°C, kemudian suhu diturunkan menjadi 36 – 72°C sehingga primer akan menempel (*annealing*) pada DNA cetakan yang berantai tunggal. Setelah proses *annealing* selama 30 – 45 detik, suhu dinaikkan kembali sampai 72°C sehingga enzim polimerase melakukan proses *extension* rantai DNA yang baru. Rantai DNA yang baru tersebut selanjutnya menjadi cetakan bagi proses reaksi polimerase berikutnya (Yuwono 2006).²⁹

Selama beberapa tahun terakhir, pengujian PCR *real time* yang berdasarkan fluoresensi menjadi salah satu metode uji yang sering digunakan untuk mendeteksi

DNA juga RNA. Teknik ini memungkinkan amplifikasi terjadi secara bersama-sama, sangat sensitive, dan dapat mengetahui kuantitas sekuens asam nukleat. Selain memiliki sensitivitas yang tinggi, kelebihan lain dari pengujian menggunakan PCR *real time* dibandingkan dengan PCR konvensional adalah risiko kontaminasi silang lebih sedikit, dinamis, dan kemampuan aplikasi penggunaannya untuk pengujian lebih banyak (Black et al. 2002). Teknik uji ini tepat digunakan untuk berbagai aplikasi seperti penentuan jumlah virus, analisis ekspresi gen, diskriminasi alel, deteksi organisme yang mengalami mutasi genetik, dan genotipe *single nucleotide polymorphisms* (SNP). Penggunaan *probe* yang spesifik membantu peningkatan spesifisitas pada pengujian PCR *real time* jika dibandingkan dengan pengujian PCR konvensional (Chantratita et al. 2008). Namun demikian, PCR *real time* juga mempunyai kelemahan yaitu pemahaman teknik yang benar untuk hasil yang akurat serta memerlukan reagen dan peralatan yang mahal.²⁹



Gambar 2.3 Contoh hasil perhitungan RT-PCR

Dikutip dari: *Google.com*

2.2 Kerangka Pemikiran

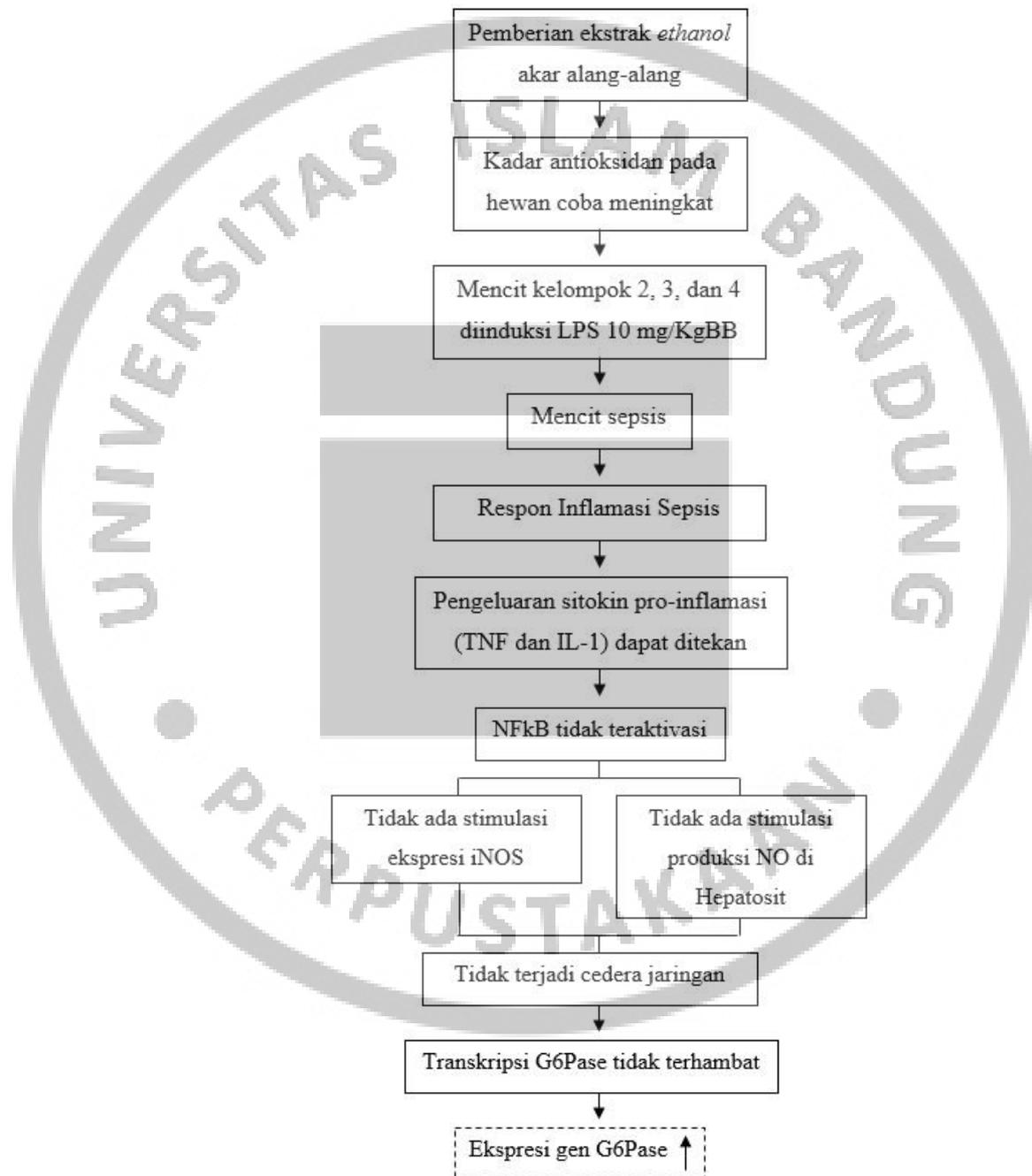
Sepsis merupakan suatu respon tubuh terhadap patogen yang masuk. Angka mortalitas sepsis di dunia cukup tinggi setiap tahunnya termasuk di Indonesia.

Pada sepsis terjadi pengeluaran sitokin pro inflamasi dan stress oksidatif yang dipicu karena ketidakseimbangan antara ROS dan *Reactive Nitrogen Species* (RNS). Sitokin proinflamasi pada sepsis dapat mengganggu transkripsi dari gen G6Pase sehingga ekspresinya dapat terganggu yang memicu kegagalan glukoneogenesis dengan pemecahan glukosa tahap akhir sebagai alternatif untuk memenuhi kebutuhan glukosa tubuh. Kegagalan glukoneogenesis memicu terjadinya hipoglikemia pada sepsis sehingga angka *multiorgan disfunction syndrome* (MODS) meningkat.

Ekstrak *ethanol* akar alang-alang (*Imperata Cylindrica*) diketahui memiliki efek antioksidan melalui senyawa flavonoid dan isoeugenin yang menghambat

iNOS untuk menghasilkan NO sehingga NO dan sitokin proinflamasi dapat ditekan.

Berdasarkan data-data diatas,maka kerangka pemikiran dapat dijelaskan pada gambar 2.4.



Gambar 2.4 Kerangka Pemikiran