

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Pustaka

1. Daun Sirih (*Piper betle Linn*)

Tanaman sirih atau *Piper betle Linn* berasal dari ordo *Piperales*, famili *Piperaceae*, dan genus *Piper*. Tanaman ini merupakan tanaman yang banyak tersebar di daerah tropis dan subtropis di berbagai belahan dunia, (Chakraborty, 2011), seperti Sri Lanka, India, Indonesia, Malaysia, Kepulauan Filipina dan Afrika Timur (Arambewela, *et al*, 2004). Menurut Guha (2006), meskipun diduga berasal dari Malaysia, tanaman ini paling banyak ditemukan di India. Di India, kecuali di daerah bagian barat laut yang kering, dapat ditemukan 40 dari 100 varietas sirih yang ada di dunia.

Tanaman sirih memiliki daun yang berwarna hijau dan berbentuk seperti hati dengan akar yang merambat (Guha, 2006). Lamina pada daun sirih bertekstur lembut, termasuk pada bagian permukaan. Ketebalannya sekitar 160-170 μm dengan serat trikoma berbentuk silinder menjari. Panjang serat trikomanya kurang lebih 30 μm dengan tebal sekitar 5 μm . Stomata daun sirih memiliki tipe *cyclocytic*. Daunnya memiliki rasa dan bau yang berbeda pada masing-masing daerah di mana ia tumbuh (Mubeen, *et al.*, 2014).



Gambar 2.1 Tanaman sirih (Mubeen, *et al.*, 2014)

Sejak zaman dahulu, tanaman sirih telah dipakai untuk bermacam-macam cara pemanfaatan. Hampir semua bagian tanaman sirih dapat dimanfaatkan, seperti akar, batang, tangkai, daun, dan buahnya. (Chakraborty, 2011). Rebusannya dapat digunakan sebagai obat untuk impetigo, luka dan luka bakar eksim, limfangitis, furunkulosis, dan dapat pula untuk mengatasi sakit perut. Daunnya dapat digunakan sebagai obat pada kasus urtikaria, faringitis, dan pembengkakan. Akar dan buahnya dapat mengobati malaria dan asma (Dwivedi, 2014).

Daun sirih mengandung berbagai elemen seperti Si, Cl, Zn, Mg, Ca, dan K, yang menyebabkan daun sirih dapat digunakan untuk menetralkan ketidakseimbangan metabolisme asam basa dalam tubuh manusia (Periyanayagam,*et al.*, 2014). Daun sirih juga kaya akan metabolit seperti minyak volatil (safrol, *eugenol*, *eugenol* metil ester, *isoeugenol*), komponen fenol (*chavicol*, *hydroxyl chavicol*), asam lemak hidroksil (stearat, palmitat, miristat), dan asam lemak (stearat dan

palmitat) yang memiliki efek antibakterial dan dapat digunakan pada infeksi mikroba (Bangash,*et al.*, 2012). Efek antimikroba kuat pada daun sirih juga disebabkan oleh adanya kandungan ester, flavonoid, alkaloid, dan asam benzoat (Foo,*et al.*, 2015).

Flavonoid mampu mempersingkat waktu inflamasi sehingga memungkinkan proses proliferasi (Indraswari, 2011). Flavonoid juga memiliki peran dalam menurunkan rekrutmen neutrofil. Senyawa ini juga mampu menghambat oksidasi lipid dengan berinteraksi dengan membran sel bakteri sehingga mampu untuk melindunginya dari radikal bebas (Saija, 1995). Flavonoid juga memiliki aktivitas anti bakteri dengan membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler bakteri sehingga mengganggu kinerja membran sel bakteri. (Cowan, 1999).

Ekstrak daun sirih *Piper betle Linn* juga mengandung senyawa tannin. Tannin merupakan astringen, polifenol pada tanaman yang terasa pahit dan dapat mengikat dan mengendapkan protein (Subroto, 2006). Tannin dapat mengganggu permeabilitas sel dengan cara mengerutkan dinding selnya. Hal ini dapat menyebabkan sel bakteri mengalami gangguan pertumbuhan atau bahkan mati (Ajizah, 2004).

Alkaloid merupakan senyawa basa yang mengandung satu atau lebih atom N (Sesty, 2007). Alkaloid mampu merusak komponen penyusun peptidoglikan bakteri. Hal ini akan mengakibatkan degradasi

pertumbuhan membran sel bakteri sehingga menyebabkan kematian sel (Robinson, 1991).

Daun *Piper betle Linn* juga mengandung minyak atsiri. Minyak atsiri (fenol) diketahui terdiri dari gugus hidroksil (-OH) dan karbonil. Minyak atsiri ini akan berinteraksi dengan sel bakteri dengan cara adsorpsi yang melibatkan ikatan hidrogen. Pada kadar rendah, terbentuk kompleks protein fenol dengan ikatan lemah dan segera mengalami penguraian. Hal ini akan diikuti masuknya fenol ke dalam sel dan menyebabkan denaturasi dan presipitasi protein. Pada kadar tinggi, fenol dapat menyebabkan koagulasi protein sehingga sel membran mengalami lisis (Parwata, 2008). Selain itu, daun sirih *Piper betle Linn* diketahui juga memiliki senyawa lain turunan fenol yaitu kavikol. Kavikol memiliki sifat antiseptik lima kali lebih efektif dibandingkan fenol biasa (Atni, 2010).

Molekul bioaktif pada tanaman sirih lain yang juga berperan penting dalam efek antibakterial adalah sterol. Molekul sterol mampu berinteraksi dengan dinding sel dan membran sel bakteri yang menyebabkan perubahan struktur primer dinding sel. Hal ini menyebabkan degradasi komponen bakteri. Sterol juga mampu merusak barier permeabilitas pada struktur membran mikroba (Chakraborty, *et al.*, 2011).

Ekstrak *Piper betle Linn* memiliki zona hambat yang cukup luas dengan konsentrasi hambat minimal pada *Staphylococcus aureus*,

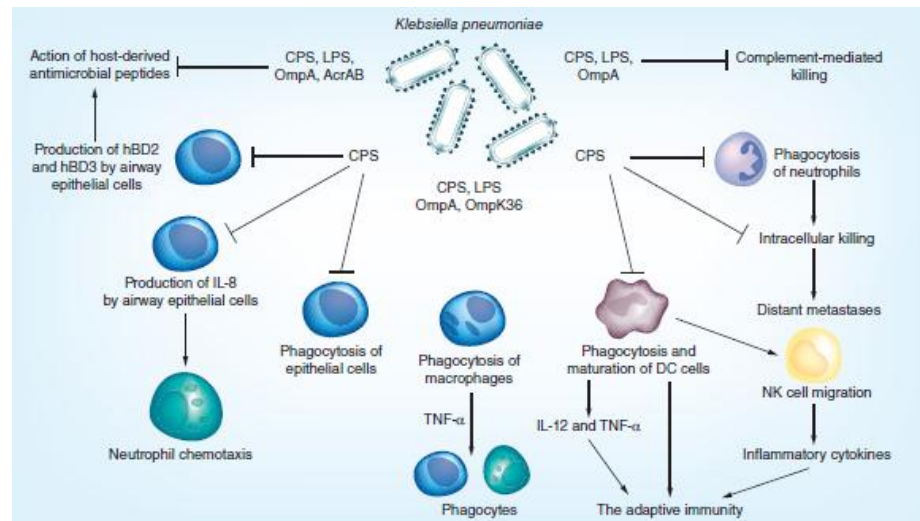
Streptococcus pyogenes, *Candida albicans* dan *Trichophyton mentagrophyte* (Caburian & Osi, 2010). Ekstrak *Piper betle* Linn juga bekerja efektif pada bakteri *Streptococcus mutans* dengan menghancurkan nukleoid dan membran sel plasma sehingga sitoplasma tereksitasi, meskipun selnya masih utuh (Nalina & Rahim, 2007). Pada kaitannya dengan bakteri *Klebsiella pneumonia*, penelitian Wiladatika (2013) telah membuktikan bahwa ekstrak daun sirih telah mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* secara *in vitro*.

2. Bakteri *Klebsiella pneumoniae*

Bakteri *Klebsiella pneumoniae* merupakan salah satu anggota famili Enterobacteriaceae. Bakteri ini termasuk bakteri gram negatif yang sangat sering ditemukan di berbagai belahan dunia. Bakteri ini mampu berkembang biak baik dalam kondisi aerob maupun anaerob, memiliki toleransi terhadap garam empedu, memfermentasi glukosa dan memproduksi enzim katalase (Irving *et al.*, 2006). Bakteri *Klebsiella pneumoniae* merupakan patogen oportunistik yang sering menyebabkan infeksi nosokomial, sebagian besar terjadi pada pasien imunokompromais. Infeksi paru akibat *Klebsiella pneumoniae* sering dikategorikan berdasar kondisi klinis yang progresif yang berkomplikasi dengan keterlibatan multilobular dan abses paru yang membutuhkan pengobatan antibiotik yang efektif (Cortes, *et al.*, 2002). Bakteri ini juga merupakan bakteri yang sangat invasif dan dapat

mempengaruhi orang yang sehat, menyebabkan abses hati piogenik, endoftalmitis, meningitis, dan pneumonia yang parah (Russo, *et al.*, 2012).

Bakteri *Klebsiella pneumoniae* memiliki berbagai sistem pertahanan yang poten. Bakteri *Klebsiella pneumoniae* memiliki berbagai macam struktur permukaan, seperti lipopolisakarida, kapsul polisakarida, AcrAB, OmpA, dan OmpK36 untuk menghindari pertahanan sistem imun, sehingga mampu menghindari sistem komplemen, seperti fagositosis oleh sel epitel, neutrofil, makrofag dan sel dendrit. Hal ini memungkinkan bakteri ini mengganggu produksi sitokin proinflamasi IL-8 dan peptide antimikroba hBD2 dan hBD3 serta menghambat maturasi sel dendritik (Wu,*et al.*, 2008). Selain itu, bakteri ini menghasilkan biofilm yang melindunginya dari respon imun inang dan antibiotik (Jagnow, *et al.*, 2003). Bakteri *Klebsiella pneumoniae* sering menunjukkan fenotip resistensi terhadap *multi-drug* yang sering menyebabkan munculnya resistensi terhadap β -lactamases dan carbapenem spektrum luas sehingga sulit memilih antibiotik yang sesuai sebagai pengobatan (Munoz-Price, *et al.*, 2013).



Gambar 2.3 *Klebsiellapneumoniae* evasion (Li *et al.*, 2014)

Bakteri *Klebsiella pneumoniae* memiliki setidaknya 78 serotip kapsul (Hsu,*et al.*, 2013, Pan,*et al.*, 2013). Beberapa serotip (termasuk K1 dan K2) memiliki fenotip hipermukovisus (hipervirulen) yang berhubungan dengan peningkatan produksi kapsul polisakarida. Kapsul polisakarida diketahui sebagai faktor virulen paling penting dari *Klebsiella pneumoniae* dan dibedakan berdasar bentuk koloni hipermukovisus yang tumbuh pada agar (Shon,*et al.*, 2013).

Kapsul polisakarida *Klebsiella pneumoniae* bersifat asam dan merupakan sebuah unit yang terdiri dari enam jenis glukosa (gula) (Whitfield,*et al.*, 2006). Inisiasi sintesis kapsul polisakarida diikuti dengan perakitan komponen gula, yang dikatalisis oleh glikotransferase berbeda (Rahn,*et al.*, 1999). Pengendalian polimerisasi dan pengeluaran kapsul polisakarida yang telah matang menuju permukaan sel bakteri terjadi di bawah kerja tirosin autokinase membran dalam bakteri (Wza),

protein-tirosin fosfatase (Wzb), dan lipoprotein integral membrane luar bakteri (Wzc) (Whitfield,*et al.*, 2006).

Adanya kapsul yang tebal pada permukaan sel mampu melindungi *Klebsiella pneumoniae* dari opsonisasi dan fagositosis oleh makrofag (Cortes,*et al.*, 2002), neutrofil (Pan,*et al.*, 2011), sel epitel (Sahly *et al.*, 2000), dan sel dendrit (Evrard,*et al.*, 2010). K1, yang merupakan salah satu serotip kapsul *Klebsiella pneumoniae* yang hipervirulen, mudah menghindari reaksi neutrofil intraseluler dan memindahkan K1 menuju organ lain, seperti hati, yang pada akhirnya akan menyebabkan abses. Dibandingkan dengan strain yang non-hipervirulen, K1 pada *Klebsiella pneumoniae* yang hipervirulen menunjukkan level interaksi lebih rendah terhadap makrofag (Chang, *et al.*, 2008). Hal ini disebabkan oleh adanya substansi piruvat luas pada asam glukoronik dan asetilasi C₂-OH atau C₃-OH pada *fucose* dalam kapsul polisakarida K1 (Yang, *et al.*, 2011).

Mekanisme pertahanan *Klebsiella pneumoniae* lainnya terhadap inang berhubungan dengan resistensinya terhadap peptida antimikroba inang. Permukaan sel kapsul polisakarida pada *Klebsiella pneumoniae* memiliki aksi protektif terhadap efek peptida antimikroba inang. Kapsul polisakarida yang bebas dapat menangkap polipeptida antimikroba sehingga dapat mengurangi jumlah polipeptida antimikroba yang menjangkau permukaan bakteri (Campos, *et al.*, 2004). Selain itu, konsentrasi subletal pada peptida antimikroba dapat menginduksi

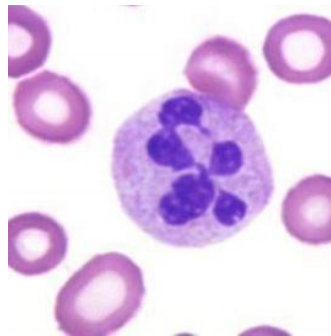
ekspresi gen, sehingga dapat melindungi bakteri dari aksi polipeptida (Llobet, *et al.*, 2008).

Aksi protektif lain yang dimiliki oleh *Klebsiella pneumoniae* berkaitan dengan aktivitasnya terhadap sel dendritik inang. Kapsul polisakarida pada *Klebsiella pneumoniae* dapat mengganggu proses maturasi sel dendrit. Hal ini menyebabkan penurunan produksi sitokin pro-Th1 oleh sel dendritik (seperti IL-12 dan TNF- α , yang kemudian akan merusak fungsi sel dendritik selama *Klebsiella pneumoniae* mengeluarkan antigen, sehingga mengganggu aktivasi sel T) dan akhirnya mengurangi migrasi sel NK (Evrard, *et al.*, 2010). Bersamaan, penghambatan maturasi sel dendritik oleh kapsul polisakarida *Klebsiella pneumoniae* menyebabkan bakteri mudah menghindari pertahanan inang sehingga dapat dengan mudah berkembang secara *in vivo*.

Ketika bakteri masuk ke dalam sistem saluran pernapasan, dinding sel bakteri yang mengandung lipopolisakarida akan dikenali oleh *Toll-like receptors* atau TLRs (Jeyaseelan, *et al.*, 2005). TLRs merupakan reseptor yang mampu mengenali patogen. Beberapa TLRs dapat mengenali komponen bakteri yang berbeda-beda (Uematsu, *et al.*, 2006). TLR4 berperan dalam sistem imunitas paru-paru dalam melawan bakteri *Klebsiella pneumoniae* (Branger, *et al.*, 2004). TLR9 juga diketahui memiliki peran melawan bakteri *Klebsiella pneumoniae* (Bhan, *et al.*, 2007).

3. Neutrofil (Leukosit Polimorfonuklear)

Neutrofil atau sel leukosit polimorfonuklear (PMN) merupakan granulosit, yaitu sel yang memiliki granula dalam sitoplasmanya. Inti selnya memiliki lobus yang tidak teratur (polimorf) sehingga neutrofil disebut juga sel leukosit polimorfonuklear (PMN) (Baldy, 2006). Sel ini berukuran sekitar 8 μm dalam keadaan segar dan dapat mencapai ukuran 12 μm dalam sediaan apus darah kering. Neutrofil matur yang normal nukleusnya terdiri dari tiga hingga lima lobus berbentuk bulat telur yang tidak teratur, yang berhubungan satu dengan yang lain dengan untaian kromatin tipis (*chromatin strands*) (Bevelander, 1979). Kromatinnya bergeser dan berkumpul sedangkan granula neutrofiliknya halus dan menyebar di sitoplasma (Price and Wilson, 2006).



**Gambar 2.4 Neutrofil Matur Normal
(Riswanto, 2009)**

Granula sitoplasmanya terpusas berwarna merah lembayung. Granula ini sebenarnya adalah badan lisosom yang memiliki enzim peroksidase dan fosfatase. Enzim ini dapat mengakibatkan hidrolisis mikroba (Bajpai, 1989). Neutrofil muda berbentuk batang, memiliki inti

tanpa segmen dengan bentuk tapal kuda (Junquiera & Carneiro, 2003). Neutrofil memiliki nukleus polilobus yang menjadi struktur yang memudahkan deformasi mekanis sehingga neutrofil mampu menembus celah kecil saat migrasi menuju lokasi infeksi (Silva, *et al.*, 2012). Sesudah pembelahan, proses pendewasaan atau pematangan neutrofil akan melalui berbagai tahap. Setelah memasuki tahap myeloblas, selanjutnya neutrofil akan memasuki tahap promyelosit, metamyelosit, sel batang dan kemudian akan menjadi neutrofil matur. Sesudah periode yang pendek dalam sirkulasi (12 jam), neutrofil akan masuk ke dalam jaringan (Oetomo, 2002).

Neutrofil diproduksi di sumsum tulang. Proses regenerasi neutrofil cukup singkat. Pada manusia, setiap harinya produksi neutrofil mencapai 10^9 sel/kgBB (Price, 1996). Waktu transitnya sekitar 7 hari. Pada mencit, waktu transitnya lebih pendek. Puncak mobilisasi sel menuju darah perifer terjadi sekitar 95 jam setelah meninggalkan pusat mitosis (Katz, 2002).

Selain dapat melakukan fagositosis terhadap patogen yang masuk ke dalam tubuh, neutrofil memiliki fungsi yang sangat kompleks dalam sistem imun tubuh. Neutrofil merangsang sekresi sitokin dan kemokin (Silva, 2010). Neutrofil juga berhubungan dengan reseptor immunoglobulin dan sistem komplemen (Dale, *et al.*, 2008). Neutrofil juga memiliki peran dalam mekanisme aktivasi resiprokal pada monosit atau makrofag. Komponen neutrofil dapat mengaktifkan monosit atau

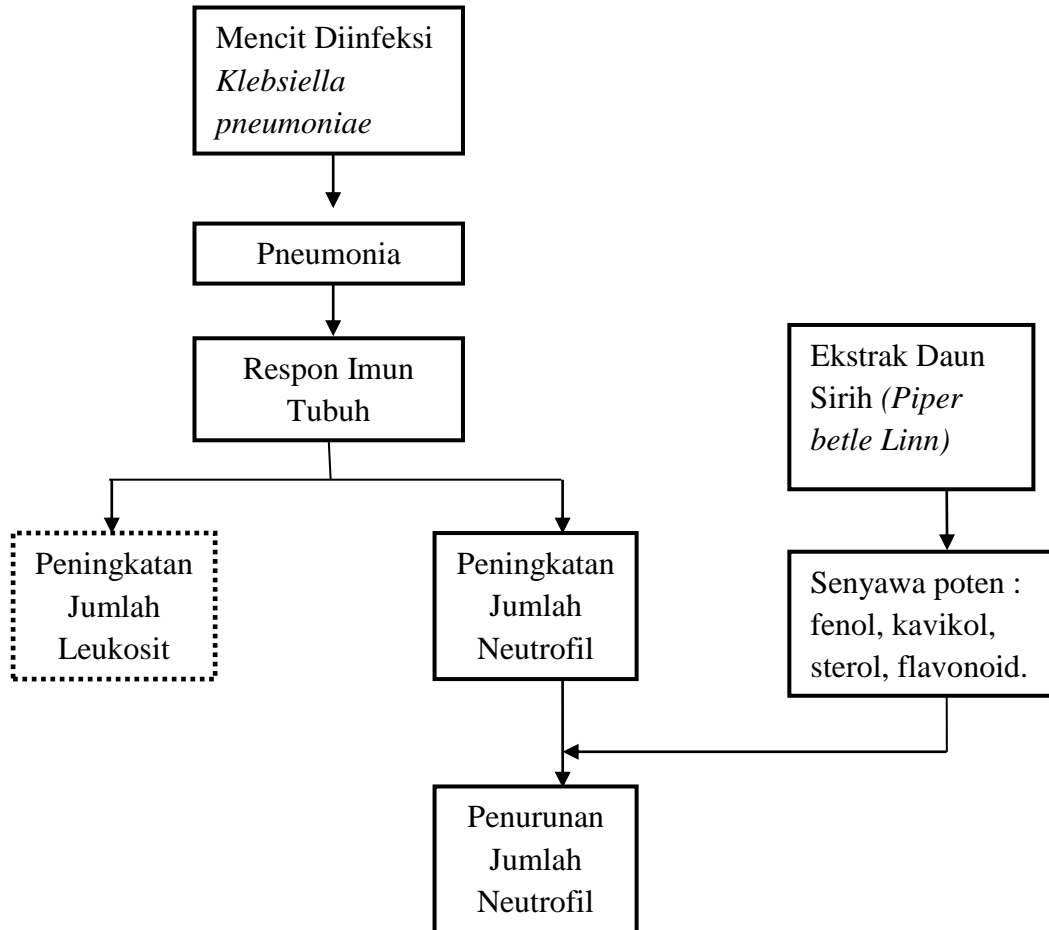
makrofag secara langsung dengan mengeluarkan molekul granula yang akan meningkatkan kapasitas fagosit dan antimikrobanya (Soehnlein, *et al.*, 2008).

B. Kerangka Teori

Mencit Balb/c diinfeksi dengan *Klebsiella pneumoniae* secara intranasal. Bakteri *Klebsiella pneumoniae* kemudian akan masuk melalui saluran pernafasan atas mencit Balb/c dan akan terus menginvasi hingga menuju paru-paru mencit. Bakteri yang memiliki berbagai faktor pathogen akan berusaha untuk menginfeksi tubuh inang. Respon tubuh inang (mencit *Balb/c*) akan teraktivasi dan akan melakukan berbagai macam perlawanan, baik bersifat mekanik maupun kimiawi. Perlawanan mekanik meliputi pembersihan bakteri dengan mukosiliar. Tubuh juga merespon melalui peningkatan jumlah leukosit terutama neutrofil dan migrasi neutrofil menuju lokasi infeksi. Neutrofil akan memfagosit dan memerangkap bakteri agar tidak menyebar.

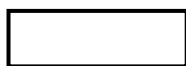
Daun sirih *Piper betle Linn* mengandung senyawa aktif seperti fenol, flavonoid, tannin, alkaloid dan sterol yang memiliki aktivitas antibakteri. Aktivitas antibakteri ini mampu melawan bakteri dengan menghancurkan dinding sel bakteri. Hal ini akan menyebabkan kematian bakteri dan pencegahan bakteri untuk berkembang sehingga angka bakteri menurun. Hal ini akan menurunkan respon imun tubuh dalam meningkatkan neutrofil sehingga jumlah neutrofil dalam darah diharapkan dapat menurun.

C. Kerangka Konsep



Gambar 2.5 Kerangka Konsep

Keterangan :



: diteliti



: tidak diteliti

D. Hipotesis

1. H₀ :Ekstrak daun sirih (*Piper betle Linn*) tidak mampu menurunkan jumlah neutrofil darah pada mencit yang diinfeksi *Klebsiella pneumoniae*.
2. H₁ :Ekstrak daun sirih (*Piper betle Linn*) mampu menurunkan jumlah neutrofil darah pada mencit yang diinfeksi *Klebsiella pneumoniae*.