

**PENGARUH SAMBILOTO TERHADAP EKSPRESI NF- κ B
p65 DAN iNOS PADA LIVER TIKUS MODEL SEPSIS
HASIL INDUKSI LIPOPOLISAKARIDA**

*The Effect of Sambiloto on NF- κ B p65 and iNOS Expression in
Lipopolysaccharide-induced Liver Injury in a Rat Model of Sepsis*



Tesis

**Untuk memenuhi sebagian persyaratan
mencapai derajat sarjana S-2**

Magister Ilmu Biomedik

SUMIYATI

22010120410007

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG**

2022

LEMBAR PENGESAHAN

**PENGARUH SAMBILOTO TERHADAP EKSPRESI NF- κ B P65
DAN iNOS PADA LIVER TIKUS MODEL SEPSIS HASIL INDUKSI
LIPOPOLISAKARIDA**

disusun oleh :

Sumiyati

22010120410007

Pembimbing I

Pembimbing II

Dr.dr. Nyoman Suci W, M.Kes., Sp.PK(K)

NIP. 197010231997022001

Dr.dr. Neni Susilaningsih, M.Si.

NIP. 196301281989022001

Mengetahui,

Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik
Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

Dr. dr. Yan Wisnu Prajoko, M. Kes, Sp.B(K)Onk

NIP. 197501242008011006

TESIS

**PENGARUH SAMBILOTO TERHADAP EKSPRESI NF- κ B P65
DAN iNOS PADA LIVER TIKUS MODEL SEPSIS HASIL INDUKSI
LIPOPOLISAKARIDA**

diajukan oleh :

Sumiyati

22010120410007

telah dipertahankan di depan Tim Penguji
pada tanggal 04 Agustus 2022
dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Menyetujui,

Pembimbing I

Pembimbing II

Dr.dr. Nyoman Suci W, M.Kes., Sp.PK(K)
NIP. 197010231997022001

Dr.dr. Neni Susilaningsih, M.Si.
NIP. 196301281989022001

Penguji Ketua

Penguji Anggota

dr. Nani Maharani, M.Si.Med, PhD
NIP. 198111122008122003

dr. Vega Karlowee, Sp.PA, M.Si.Med, PhD
NIP. 198001302008122002

Mengetahui,

Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik
Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

Dr. dr. Yan Wisnu Prajoko, M. Kes, Sp.B(K)Onk
NIP. 197501242008011006

PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan di dalamnya tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi atau lembaga pendidikan lainnya, serta tidak terdapat unsur-unsur yang tergolong *Plagiarism* sebagaimana dimaksud dalam Permendiknas No.17 tahun 2010. Pengetahuan yang diperoleh dari hasil penerbitan maupun yang belum/tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan di dalam tulisan dan daftar pustaka.

Semarang, Juli 2022

Sumiyati

22010120410007

DAFTAR RIWAYAT HIDUP

Identitas

Nama : Sumiyati, S.KM.
NIM : 22010120410007
Tempat / Tgl Lahir : Sukoharjo, 29 Juli 1973
Agama : Islam
Jenis Kelamin : Perempuan
Alamat : Apartemen Kebagusan City 16C20
Jl. Raya Baung, Kebagusan, Pasar Minggu, Jak-Sel

Riwayat Pendidikan

1. SDN Puron III – Sukoharjo tahun 1979 – 1985
2. SMPN Bulu – Sukoharjo tahun 1985 – 1988
3. SMA Tawang Sari – Sukoharjo tahun 1988 – 1991
4. D3 Analisis Universitas Setiabudi Surakarta tahun 1991 – 1994
5. S1 Fikes UHAMKA Jakarta tahun 2002 – 2004

Riwayat Pekerjaan :

1. Rumkital Marinir Cilandak Jakarta tahun 1994 – 2018
2. Satkes Denma Mabes TNI AL tahun 2018 – Sekarang
3. Lab RS Pasar Minggu Jakarta tahun 1995 – 1996
4. Lab Klinik Timbul Jakarta tahun 1996 – 1997
5. Lab Klinik Kebayoran Jakarta tahun 1998 – 2000
6. Lab Klinik Halim Jakarta tahun 2001 – 2003
7. Lab Klinik PJTKI Grogol Jakarta tahun 2003 – 2004
8. Lab RSIA Evasari Awal Bros Jakarta tahun 2004 – 2014

KATA PENGANTAR

Dengan menyebut nama Allah Yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang. Segala puji bagi Allah SWT atas rahmat dan karunia-Nya sehingga tesis yang berjudul “*Pengaruh Sambiloto terhadap Ekspresi NF-K β P65 dan iNOS pada Liver Tikus Model Sepsis Hasil Induksi Lipopolisakarida*” ini dapat terselesaikan. Dalam penyusunan tesis ini peneliti mendapat dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini peneliti mengucapkan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. dr. Dwi Pudjonarko, M.Kes., SpS(K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
2. Dr. dr. Yan Wisnu Prajoko, M. Kes, Sp.B(K)Onk selaku Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik dan telah memberi masukan dan saran dalam penulisan tesis ini.
3. Dr. dr. Nyoman Suci Widyastiti, M.Kes., Sp.PK(K) selaku Pembimbing I yang berkontribusi sangat besar dalam memberi rekomendasi judul, masukan dan saran selama penulisan tesis ini.
4. Dr. dr. Neni Susilaningsih, M.Si. selaku Pembimbing II yang berkontribusi sangat besar dalam memberi bahan penelitian, masukan dan saran selama penulisan tesis ini.
5. dr. Nani Maharani, M.Si.Med, PhD selaku Penguji ketua yang telah memberi masukan dan saran dalam penulisan tesis ini.
6. dr. Vega Karlowee, Sp.PA, M.Si.Med, PhD selaku Penguji anggota yang telah memberi masukan dan saran dalam penulisan tesis ini.
7. dr. Novan Adi Setyawan, SpPA dan staf laboratorium patologi anatomi

Universitas Sebelas Maret Surakarta.

8. Staf administrasi Magister Ilmu Biomedik Universitas Diponegoro yang selalu membantu dalam hal perizinan, persuratan dan lainnya.
9. Kepala Dinas Pendidikan TNI Angkatan Laut (Kadisdikal), Komandan Detasemen Markas (Dandenma) dan Kepala Satuan Kesehatan (Kasatkes) yang telah memberi izin belajar.
10. Keluarga besar saya yang telah memberikan kasih sayang, dukungan, bantuan dan do'a serta motivasi selama masa pendidikan hingga dapat menyelesaikan tesis ini.
11. Rekan kantor, teman-teman mahasiswa Magister Ilmu Biomedik angkatan 2020 yang selalu memberikan dukungan dan motivasi belajar, serta pihak lainnya yang turut membantu dalam melaksanakan penelitian dan penulisan tesis, yang tidak dapat disebutkan satu-persatu.

Peneliti menyadari bahwa dalam penyusunan tesis masih jauh dari kata sempurna. Kritik dan saran dari berbagai pihak diharapkan dapat membantu perbaikan penelitian selanjutnya. Peneliti berharap hasil penelitian ini bermanfaat bagi semua pihak. aamiin

Semarang, Februari 2022

Sumiyati
22010120410007

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
HALAMAN KEASLIAN PENELITIAN.....	iv
DAFTAR RIWAYAT HIDUP.....	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR SINGKATAN	xii
ABSTRAK.....	xiv
ABSTRACT.....	xv
I. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.3.1 Tujuan Umum.....	3
1.3.2 Tujuan Khusus	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
1.5 Keaslian Penelitian	5
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	9
2.1 Sepsis	9
2.1.1 Penyebab Sepsis.....	9
2.1.2 Hubungan Lipopolisakarida dan Sepsis	10
2.1.3 Fungsi Liver dan Penyakit Liver.....	10
2.1.4 Peranan Liver pada Sepsis.....	12
2.1.5 Diagnosis dan Managemen Klinik	16
2.1.6 Pencegahan dan Pengobatan Sepsis	17
2.2 Sambiloto (<i>Andrographis paniculata</i>).....	18
2.2.1 Taksonomi dan Potensi Sambiloto.....	18
2.2.2 Senyawa Aktif dalam Sambiloto	20
2.2.3 Manfaat Sambiloto	22
2.2.4 Toksisitas Sambiloto	24
2.3 <i>Nuclear factor-kappa B</i> (NF-κB) p65.....	24
2.4 <i>Inducible Nitric Oxide Synthase</i> (iNOS).....	25
2.5 Kerangka Teori.....	27
2.6 Kerangka Konsep	27
2.7 Hipotesis.....	28
2.7.1 Hipotesis Mayor.....	28
2.7.2 Hipotesis Minor	28

III. METODE PENELITIAN.....	29
3.1 Ruang Lingkup Penelitian.....	29
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	29
3.3 Jenis dan Rancangan Penelitian	29
3.4 Populasi dan Sampel Penelitian	31
3.4.1 Populasi Target	31
3.4.2 Populasi Terjangkau	31
3.4.3 Sampel.....	31
3.4.4 Cara Sampling.....	32
3.4.5 Besar Sampel	32
3.5 Variabel Penelitian	32
3.5.1 Variabel Bebas.....	32
3.5.2 Variabel Terikat	32
3.6 Definisi Operasional	33
3.7 Cara Pengumpulan Data	34
3.7.1 Bahan dan Alat.....	34
3.7.2 Jenis Data.....	35
3.7.3 Cara Kerja.....	35
3.8 Alur Perlakuan.....	46
3.9 Analisis Data	47
3.10 Kelaikan Etik.....	47
IV. HASIL PENELITIAN	48
4.1 Ekspresi NF- κ B p65	48
4.2 Ekspresi iNOS	51
4.3 Korelasi NF- κ B p65 dan iNOS	55
V. PEMBAHASAN PENELITIAN	56
5.1 Pembahasan.....	56
5.2 Keterbatasan Penelitian.....	62
VI. KESIMPULAN DAN SARAN	63
6.1 Kesimpulan	63
6.2 Saran	63
DAFTAR PUSTAKA.....	64
LAMPIRAN	78

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Keaslian Penelitian	5
Tabel 2. Definisi Operasional	33
Tabel 3. Persiapan dosis Sambilotto	37
Tabel 4. Hasil uji normalitas <i>Shapiro-Wilk</i> ekspresi NF- κ B p65	50
Tabel 5. Hasil uji normalitas <i>Shapiro-Wilk</i> ekspresi iNOS.....	53
Tabel 6. Hasil Uji Korelasi <i>Kendall-Tou</i>	55

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Tahapan perkembangan penyakit liver	11
Gambar 2. Mekanisme LSEC dalam pengawasan imunitas	14
Gambar 3. Terapi bertarget NF- κ B pada penyakit inflamasi	17
Gambar 4. Andrografolit mempengaruhi jalur AMPK	20
Gambar 5. Jalur pensinyalan iNOS diaktifkan oleh lipopolisakarida	26
Gambar 6. Kerangka Teori	27
Gambar 7. Kerangka Konsep	27
Gambar 8. Skema Rancangan Penelitian	30
Gambar 9. Alur Perlakuan	46
Gambar 10. Hasil pewarnaan imunohistokimia ekspresi NF- κ B p65 di liver.	48
Gambar 11. Hasil pewarnaan imunohistokimia ekspresi iNOS di liver	52

DAFTAR SINGKATAN

ALP	: <i>Alkali phosphatase</i>
ALT	: <i>Alanine transaminase</i>
AP-1	: <i>Activating protein-1</i>
AST	: <i>Aspartate transaminase</i>
AMPK	: <i>Adenosine monophosphate-activated protein kinase</i>
BB	: <i>Berat badan</i>
BM-SPC	: <i>Bone marrow-derived stem and progenitor cells</i>
CD	: <i>Cluster of differentiation</i>
CRP	: <i>C-reactive protein</i>
COX-2	: <i>Cyclooxygenase-2</i>
CXCR	: <i>CXC chemokine receptor</i>
CXCL	: <i>CXC chemokine ligand</i>
DAMPs	: <i>Danger-associated molecular patterns</i>
DC	: <i>Dendritic cell</i>
ERK	: <i>Extracellular regulated kinases</i>
ESLD	: <i>End-stage liver disease</i>
FOHAI	: <i>Formularium obat herbal asli Indonesia</i>
GGT	: <i>Gamma-glutamyl transferase</i>
HDL	: <i>High-density lipoprotein</i>
HFHC	: <i>High-fat and high-cholesterol</i>
HGF	: <i>Hepatocyte growth factor</i>
ICAM	: <i>Intercellular Adhesion Molecule</i>
IFN	: <i>Interferon</i>
IKK	: <i>IκB kinase</i>
IL	: <i>Interleukin</i>
INR	: <i>International normalized ratio</i>
iNOS	: <i>Inducible nitric oxide synthase</i>
JAK-STAT	: <i>Janus kinase-signal transducer and activator of transcription</i>
JNK	: <i>Jun N-terminal kinase</i>
LFT	: <i>Liver function test</i>
LPS	: <i>Lipopolisakarida</i>
LRR	: <i>Leucine-rich repeat</i>
LSEC	: <i>Liver sinusoidal endothelial cell</i>
MAPK	: <i>Mitogen-activated protein kinase</i>
MDA	: <i>Malondialdehyde</i>
MHC	: <i>Major histocompatibility complex</i>
MODS	: <i>Multiple Organ Dysfunction Syndrome</i>
NaCl	: <i>Natrium chloride</i>
Na-CMC	: <i>Natrium carboxymethyl cellulose</i>
NAFLD	: <i>Non alcoholic fatty liver disease</i>
NF- κ B	: <i>Nuclear factor-kappa B</i>
NK	: <i>Natural killer</i>
NKT	: <i>Natural killer T</i>

NLRP3	: <i>NOD-, LRR-, and pyrin domain-containing protein 3</i>
NO	: <i>Nitric Oxide</i>
NOD	: <i>Nucleotide-binding oligomerization domain</i>
OECD	: <i>Organisation for Economic Cooperation and Development</i>
p65	: <i>Protein 65</i>
PAMP	: <i>Pathogen associated molecular protein</i>
PBS	: <i>Phosphat buffered saline</i>
PCT	: <i>Procalcitonin</i>
PD-L1	: <i>Programmed death-ligand 1</i>
PPAR	: <i>Peroxisome proliferator activator receptor</i>
PT	: <i>Prothrombin time</i>
ROS	: <i>Reactive oxygen species</i>
SARS	: <i>Severe acute respiratory syndrome</i>
SSP	: <i>Sistem saraf pusat</i>
SOFA	: <i>Sequential Organ Failure Assessment</i>
TNF	: <i>Tumor necrosis factor</i>
TLR	: <i>Toll like receptor</i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>

ABSTRAK

Latar belakang: Sepsis merupakan gangguan ketidakmampuan organ dalam menjalankan fungsinya, disebabkan respon imunitas berlebihan terhadap infeksi. Ekstrak Sambiloto (*Andrographis paniculata*) adalah anti-inflamasi dengan menghambat *nuclear factor-kappa B* (NF- κ B), keluarga faktor transkripsi yang memainkan peran sentral dalam ekspresi *inducible nitric oxide synthase* (iNOS).

Tujuan: Membuktikan pengaruh pemberian Sambiloto terhadap ekspresi NF- κ B p65 dan iNOS pada jaringan liver tikus Wistar model sepsis hasil induksi lipopolisakarida.

Metode: Pemeriksaan ekspresi NF- κ B p65 dan iNOS dengan imunohistokimia dilakukan pada 30 blok parafin organ liver yang berasal dari 5 kelompok tikus Wistar jantan, yaitu K1 (kontrol sehat); K2 (kontrol negatif); P1, P2, dan P3 adalah tikus diberi ekstrak Sambiloto secara peroral dengan dosis masing-masing 200, 400 dan 500 mg/kgBB/hari selama 14 hari.

Hasil: Rerata skor ekspresi NF- κ B p65 dan iNOS pada kelompok K1: 3,83 \pm 0,408 dan 2,83 \pm 0,753; kelompok K2: 4,00 \pm 0,000 dan 3,67 \pm 0,516; kelompok P1: 3,50 \pm 0,837 dan 3,50 \pm 0,837; kelompok P2: 3,83 \pm 0,408 dan 3,83 \pm 0,408; kelompok P3: 3,83 \pm 0,408 dan 3,67 \pm 0,516. Pemberian Sambiloto dosis 200, 400, dan 500 mg/kgBB/hari tidak berpengaruh terhadap ekspresi NF- κ B p65 dan iNOS pada jaringan liver tikus Wistar model sepsis hasil induksi lipopolisakarida. Ekspresi NF- κ B p65 dan iNOS memiliki korelasi yang signifikan ($p \leq 0,05$) dengan nilai koefisien 0,514 (sedang).

Kesimpulan: Tidak terdapat perbedaan ekspresi NF- κ B p65 dan iNOS pada jaringan liver antar kelompok ($p > 0,05$). Sambiloto dosis 200, 400, dan 500 mg/kgBB/hari dapat mencegah terjadinya akumulasi lipid yang mengarah ke nekrosis liver. Ekspresi NF- κ B p65 memiliki korelasi positif sedang dengan ekspresi iNOS.

Kata kunci: NF- κ B p65, iNOS, sepsis, lipopolisakarida, Sambiloto, *Andrographis paniculata*

ABSTRACT

Background: Sepsis was a life-threatening organ dysfunction caused by a dysregulated host response to infection. *Andrographis paniculata* (AGP) was anti-inflammatory by inhibiting nuclear factor-kappa B (NF- κ B), a family of transcription factors that plays a central role in the inducible nitric oxide synthase (iNOS) expression.

Objective: To prove the effect of AGP on NF- κ B p65 and iNOS expression in lipopolysaccharide-induced liver injury in a rat model of sepsis.

Methods: Immunohistochemistry (IHC) was performed on 30 liver paraffin blocks from 5 groups of male Wistar rats: K1: healthy control; K2: negative control; P1, P2, and P3: rats had given AGP doses of 200, 400, and 500 mg/kg BW/day for 14 days.

Results: The mean NF- κ B p65 and iNOS expression scores in the K1: 3.83 ± 0.408 and 2.83 ± 0.753 ; K2: 4.00 ± 0.000 and 3.67 ± 0.516 ; P1: 3.50 ± 0.837 and 3.50 ± 0.837 ; P2: 3.83 ± 0.408 and 3.83 ± 0.408 ; P3: 3.83 ± 0.408 and 3.67 ± 0.516 . AGP doses of 200, 400, and 500 mg/kg BW/day do not affect NF- κ B p65 and iNOS expression in lipopolysaccharide-induced liver injury in a rat model of sepsis. The NF- κ B p65 and iNOS expression had a significant correlation ($p\leq 0.05$) with a coefficient value of 0.514 (moderate).

Conclusion: There was no difference in the expression of NF- κ B p65 and iNOS in liver tissue between groups ($p>0.05$). AGP extract prevented the accumulation of lipids that lead to liver necrosis. NF- κ B p65 expression had a moderate positive correlation with iNOS expression.

Keywords: NF-B p65, iNOS, sepsis, lipopolysaccharide, *Andrographis paniculata*