

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Sepsis adalah gangguan ketidakmampuan organ dalam menjalankan fungsinya yang disebabkan oleh kelainan regulasi respon inang terhadap infeksi.<sup>1,2</sup> *World Health Organization* (WHO) mencatat sekitar 49 juta kasus sepsis dan 11 juta kematian terkait sepsis tahun 2017.<sup>2,3</sup> Masalah sepsis menjadi beban di hampir setiap negara berkaitan dengan tingginya angka kejadian, kematian dan biaya pengobatan pasien sepsis. Langkah penting untuk mengatasi masalah sepsis adalah dengan diagnosa dini atau mencegah munculnya sepsis.

Induksi lipopolisakarida (LPS) dosis 5 mg/kgBB secara intraperitoneal merupakan salah satu model tikus yang digunakan untuk meniru patofisiologi sepsis.<sup>4,5,6</sup> Lipopolisakarida dari permukaan membran sel bakteri Gram-negatif memicu aktivasi sistem imunitas,<sup>7,8,9</sup> dan transkripsi gen *inducible nitric oxide synthase* (iNOS) yang dimediasi *nuclear factor-kappa B* (NF- $\kappa$ B),<sup>10</sup> serta merangsang sekresi *tumor necrosis factor* (TNF)- $\alpha$ , *interleukin* (IL)-1 $\beta$ , IL-6, *reactive oxygen species* (ROS), dan *nitric oxide* (NO).<sup>11</sup> NF- $\kappa$ B mempengaruhi gen target untuk sitokin proinflamasi, kemokin, imunoreseptor, protein fase akut dan iNOS. Respon imunitas berlebihan dapat mengakibatkan sepsis dan disfungsi organ tubuh.<sup>12,13</sup>

NF- $\kappa$ B mempunyai peranan dalam imunitas, inflamasi, proliferasi sel, diferensiasi, dan kelangsungan hidup.<sup>14,15</sup> NF- $\kappa$ B mengatur respon imunitas inang

bawaan dan adaptif terhadap infeksi patogen.<sup>16</sup> Banyak proses seluler diatur melalui transkripsi yang bergantung pada NF- $\kappa$ B, dan disregulasi jalur NF- $\kappa$ B mengakibatkan penyakit parah.<sup>14</sup> iNOS merupakan mediator inflamasi yang berperan pada sepsis. Aktivasi faktor transkripsi pada sepsis menyebabkan nekrosis jaringan dan apoptosis.<sup>17</sup>

Liver adalah kelenjar terbesar dalam tubuh manusia dan memainkan peran sentral dalam metabolik, homeostasis, dan imunologis.<sup>18</sup> Liver berperan dalam detoksifikasi zat beracun, yang dapat meningkatkan risiko cedera liver.<sup>19</sup> Disfungsi liver sering terjadi pada sepsis dini, dan tidak selalu disertai dengan perubahan histologis yang signifikan pada liver pasien karena inflamasi dan hipoperfusi,<sup>20</sup> tetapi aktivasi jalur pensinyalan NF- $\kappa$ B berkaitan dengan inflamasi dan kanker liver.<sup>21,22</sup> *Cyclin-dependent kinase* (cdk) memainkan peran penting dalam regulasi siklus sel dan pensinyalan NF- $\kappa$ B memicu proliferasi sel melalui aktivasi gen cyclin D1.<sup>23</sup> Pengikatan lipopolisakarida ke *toll like receptor* (TLR)-4 menyebabkan degradasi I $\kappa$ B melepaskan NF- $\kappa$ B dan bertranslokasi ke dalam nukleus sel hepatosit, yang memicu transkripsi gen target.<sup>24</sup> Pengukuran aktivasi NF- $\kappa$ B dalam nukleus sel diekspresikan secara stabil dari deteksi langsung RelA (p65) dengan imunohistokimia.<sup>25</sup> Aktivasi jalur NF- $\kappa$ B sering diamati pada berbagai penyakit liver, menargetkan jalur NF- $\kappa$ B merupakan strategi terapi yang menjanjikan untuk mengurangi inflamasi liver.<sup>26</sup> Penurunan ekspresi iNOS menghasilkan penurunan produksi NO, sehingga inflamasi dapat dihambat atau dicegah.<sup>27</sup>

Berbagai upaya dilakukan untuk mencegah infeksi yang mengarah ke sepsis. Sambiloto (*Andrographis paniculata*) berpotensi dikembangkan menjadi

terapi alternatif dalam meningkatkan sistem imunitas tubuh,<sup>29</sup> berpotensi mengurangi efek samping obat, mencegah kerusakan liver, mengatur keseimbangan respon imunitas proinflamasi dan anti-inflamasi, dan mempersingkat durasi pengobatan. Penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa Sambiloto dapat digunakan sebagai antimikroba,<sup>30,31,32</sup> dan anti-inflamasi.<sup>9,33</sup> Pemberian Sambiloto pada hewan coba selama 14 hari<sup>34</sup> memiliki efek mencegah kerusakan liver (dosis 200 mg/kgBB),<sup>35</sup> untuk membantu terapi gagal organ akut (dosis 400 mg/kgBB)<sup>36</sup> dan memiliki efek hepatoprotektif (dosis 500 mg/kgBB).<sup>37</sup> Senyawa yang terkandung dalam Sambiloto menunjukkan efek anti-inflamasi yang kuat pada beberapa model penyakit melalui aktivasi NF- $\kappa$ B.<sup>8</sup> Sambiloto mengurangi sitokin proinflamasi dengan menghambat NF- $\kappa$ B pada makrofag<sup>38</sup> dan pada sel RAW264.7<sup>9</sup> yang distimulasi lipopolisakarida secara in vitro.

Berdasarkan latar belakang tersebut, penulis ingin mengetahui lebih lanjut tentang pengaruh pemberian Sambiloto terhadap ekspresi NF- $\kappa$ B p65 dan iNOS pada liver dengan menggunakan tikus model sepsis hasil induksi lipopolisakarida.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Apakah pemberian Sambiloto berpengaruh terhadap ekspresi NF- $\kappa$ B p65 dan iNOS pada jaringan liver tikus Wistar model sepsis hasil induksi lipopolisakarida?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

### **1.3.1 Tujuan Umum**

Membuktikan pengaruh pemberian Sambiloto terhadap ekspresi NF- $\kappa$ B p65 dan iNOS pada jaringan liver tikus Wistar model sepsis hasil induksi

lipopolisakarida.

### **1.3.2 Tujuan Khusus**

1. Membuktikan perbedaan ekspresi NF- $\kappa$ B p65 pada jaringan liver antara kelompok tikus Wistar model sepsis hasil induksi lipopolisakarida yang diberikan Sambiloto dosis 200, 400, dan 500 mg/kgBB selama 14 hari dibanding kelompok kontrol.
2. Membuktikan perbedaan ekspresi iNOS pada jaringan liver antara kelompok tikus Wistar model sepsis hasil induksi lipopolisakarida yang diberikan Sambiloto dosis 200, 400, dan 500 mg/kgBB selama 14 hari dibanding kelompok kontrol.
3. Mengetahui korelasi antara ekspresi NF- $\kappa$ B p65 dan iNOS pada jaringan liver tikus Wistar model sepsis hasil induksi lipopolisakarida yang diberikan Sambiloto dosis 200, 400, dan 500 mg/kgBB selama 14 hari dibanding kelompok kontrol.

### **1.4 Manfaat Penelitian**

1. Dapat mengetahui terapi alternatif pencegahan sepsis.
2. Dapat mencegah inflamasi berlebihan setelah terinfeksi patogen.
3. Dapat membantu tenaga kesehatan dan masyarakat dalam pemanfaatan Sambiloto sebagai terapi pencegahan sepsis.
4. Dapat menjadi sumber informasi untuk penelitian lanjutan tentang efek Sambiloto terhadap respon imunitas tubuh.

## 1.5 Keaslian Penelitian

Tabel 1. Penelitian Sebelumnya

No.	Penelitian	Variabel	Desain	Hasil	Perbedaan
1.	Zou W, <i>et al.</i> 2016. <i>The anti-inflammatory effect of Andrographis paniculata (Burm. f.) Nees on pelvic inflammatory disease in rats through down-regulation of the NF-κB pathway</i> <sup>33</sup>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sambiloto</li> <li>• NF-κB p65</li> <li>• IL-1β</li> <li>• IL-6</li> </ul>	<i>Experimental</i>	Sambiloto secara signifikan dapat menekan ekspresi NF-κB p65, IL-1β, dan IL-6 pada jaringan uterus tikus radang panggul.	Penelitian ini menunjukkan bahwa Sambiloto menekan ekspresi NF-κB p65, IL-1β, dan IL-6 pada jaringan uterus tikus radang panggul, sedangkan penelitian yang akan dilakukan membandingkan ekspresi NF-κB p65 dan iNOS pada jaringan liver tikus sepsis
2.	Li Y, <i>et al.</i> 2017. <i>Andrographolide Inhibits Inflammatory Cytokines Secretion in LPS-Stimulated RAW264.7 Cells through Suppression of NF-κB/MAPK Signaling Pathway</i> <sup>9</sup>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Andrografolit</li> <li>• NF-κB p65</li> <li>• TNF-α</li> <li>• IL-1β</li> <li>• IL-6</li> </ul>	<i>Experimental in vitro</i>	Senyawa andrografolit dalam Sambiloto memiliki efek anti-inflamasi dengan menghambat ekspresi NF-κB p65, TNF-α, IL-6, dan IL-1β dalam sel RAW264.7 yang distimulasi lipopolisakarida	Penelitian ini menunjukkan bahwa Andrografolit memiliki efek anti-inflamasi dengan menghambat ekspresi TNF-α, IL-6, dan IL-1β dalam sel RAW264.7 secara in vitro, sedangkan penelitian yang akan dilakukan secara in vivo pada tikus sepsis
3.	Gezmis A, <i>et al.</i> 2019. <i>Protective Effect of Pyrrolidine Dithiocarbamate to Liver Injury in a Sepsis Model with Cecum Ligation and Perforation-An Animal Study</i> <sup>17</sup>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pyrrolidine dithiocarbamate</li> <li>• NF-κB p65</li> <li>• iNOS</li> </ul>	<i>Eksperimental</i>	Terdapat perbedaan signifikan antara ekspresi NF-κB p65 dan iNOS pada liver tikus sepsis yang diberikan Pyrrolidine dithiocarbamate 100 mg/kg/hari dibanding tanpa Pyrrolidine dithiocarbamate	Penelitian ini menunjukkan bahwa Pyrrolidine dithiocarbamate menekan ekspresi NF-κB p65 dan iNOS pada liver tikus sepsis hasil ligasi sekum dan perforasi, sedangkan penelitian yang akan dilakukan menggunakan ekstrak Sambiloto pada tikus sepsis hasil induksi lipopolisakarida

4.	Kim N, <i>et al.</i> 2019. <i>Andrographolide inhibits inflammatory responses in LPS-stimulated macrophages and murine acute colitis through activating AMPK</i> <sup>38</sup>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Andrografolit</li> <li>• NF-κB p65</li> <li>• AMPKα2</li> </ul>	<i>Experimental in vitro</i>	Senyawa andrografolit dalam Sambiloto secara signifikan mengurangi sitokin proinflamasi dengan menghambat NF-κB tetapi tidak dapat menghambat NF-κB dan NO setelah knockdown AMPKα2 pada makrofag yang diinduksi lipopolisakarida	Penelitian ini dilakukan secara in vitro pada makrofag yang diinduksi lipopolisakarida, sedangkan penelitian yang akan dilakukan membandingkan ekspresi NF-κB dan iNOS pada liver tikus model sepsis hasil induksi lipopolisakarida secara in vivo
5.	Lu X, <i>et al.</i> 2020. <i>Rolipram Protects Mice from Gramnegative Bacterium Escherichia coli-induced Infammation and Septic Shock</i> <sup>39</sup>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Rolipram</li> <li>• NF-κB p65</li> <li>• TNF-α</li> <li>• IL-1β</li> <li>• IL-6</li> </ul>	<i>Experimental</i>	Rolipram mempunyai efek anti-inflamasi dan secara signifikan menghambat ekspresi NF-κB p65 pada jaringan paru dan menurunkan kadar TNF-α, IL-6, dan IL-1β dalam darah mencit syok septik hasil induksi lipopolisakarida	Penelitian ini menunjukkan bahwa Rolipram menghambat ekspresi NF-κB p65 pada jaringan paru dan menurunkan kadar TNF-α, IL-6, dan IL-1β dalam darah mencit syok septik, sedangkan penelitian yang akan dilakukan membandingkan ekspresi NF-κB p65 dan iNOS dengan pemberian Sambiloto
6.	Ni J, <i>et al.</i> 2020. <i>Toddalolactone Protects Lipopolysaccharide-Induced Sepsis and Attenuates Lipopolysaccharide-Induced Inflammatory Response by Modulating HMGB1-NF-κB Translocation</i> <sup>4</sup>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Toddalolactone (TA-8)</li> <li>• NF-κB p65</li> <li>• TNF-α</li> <li>• IL-1β</li> <li>• IL-6</li> </ul>	<i>Experimental in vitro</i>	Senyawa TA-8 dalam <i>Toddalia asiatica</i> (akar kucing) mempunyai efek anti-inflamasi dan secara signifikan menghambat ekspresi NF-κB p65, TNF-α, IL-6, dan IL-1β dalam sel RAW264.7 yang distimulasi lipopolisakarida	Penelitian ini menunjukkan bahwa TA-8 memiliki efek anti-inflamasi dan secara signifikan menghambat ekspresi NF-κB p65, TNF-α, IL-6, dan IL-1β dalam sel RAW264.7, sedangkan penelitian yang akan dilakukan membandingkan ekspresi NF-κB p65 dan iNOS dengan pemberian Sambiloto secara in vitro pada tikus sepsis

Perbedaan penelitian yang pertama oleh Zou W, *et al.* dengan judul *The anti-inflammatory effect of Andrographis paniculata (Burm. f.) Nees on pelvic inflammatory disease in rats through down-regulation of the NF- $\kappa$ B pathway* pada tahun 2016 menunjukkan pengaruh Sambiloto terhadap ekspresi NF- $\kappa$ B p65, IL-1 $\beta$ , dan IL-6 pada jaringan uterus tikus radang panggul, sedangkan rencana penelitian yang akan dilakukan ingin membandingkan ekspresi NF- $\kappa$ B p65 dan iNOS pada jaringan liver tikus sepsis.

Perbedaan penelitian yang kedua oleh Li Y, *et al.* dengan judul *Andrographolide Inhibits Inflammatory Cytokines Secretion in LPS-Stimulated RAW264.7 Cells through Suppression of NF- $\kappa$ B/MAPK Signaling Pathway* pada tahun 2017 menunjukkan pengaruh Andrografolit terhadap ekspresi NF- $\kappa$ B p65, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , dan IL-6 secara *in vitro* pada sel RAW264.7, sedangkan rencana penelitian yang akan dilakukan ingin membandingkan ekspresi NF- $\kappa$ B p65 dan iNOS secara *in vivo* pada tikus sepsis.

Perbedaan penelitian yang ketiga oleh Gezmis A, *et al.* yang berjudul *Protective Effect of Pyrrolidine Dithiocarbamate to Liver Injury in a Sepsis Model with Cecum Ligation and Perforation-An Animal Study* pada tahun 2019 dilakukan dengan menggunakan *Pyrrolidine Dithiocarbamate*, sedangkan rencana penelitian yang akan dilakukan menggunakan ekstrak Sambiloto.

Perbedaan penelitian yang keempat oleh Kim N, *et al.* yang berjudul *Andrographolide inhibits inflammatory responses in LPS-stimulated macrophages and murine acute colitis through activating AMPK* pada tahun 2019 dilakukan

secara in vitro pada makrofag, sedangkan rencana penelitian yang akan dilakukan merupakan secara in vivo pada tikus sepsis.

Perbedaan penelitian yang kelima oleh Lu X, *et al.* yang berjudul *Rolipram Protects Mice from Gramnegative Bacterium Escherichia coli-induced Inflammation and Rolipram* pada tahun 2020 dilakukan dengan menggunakan Rolipram, sedangkan rencana penelitian yang akan dilakukan menggunakan ekstrak Sambiloto.

Perbedaan penelitian yang keenam oleh Ni J, *et al.* yang berjudul *Toddalolactone Protects Lipopolysaccharide-Induced Sepsis and Attenuates Lipopolysaccharide-Induced Inflammatory Response by Modulating HMGB1-NF- $\kappa$ B Translocation* pada tahun 2020 dilakukan secara in vitro pada sel RAW264.7 yang distimulasi lipopolisakarida, sedangkan rencana penelitian yang akan dilakukan merupakan secara in vivo pada tikus sepsis.