

repository.ub.ac.id

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN SAMBILOTO  
(*Andrographis paniculata* N.) SEBAGAI PREVENTIF  
PADA TIKUS (*Rattus norvegicus*) MODEL SEPSIS  
HASIL INDUKSI LIPOPOLISAKARIDA  
BERDASARKAN KADAR IL-1 $\beta$  DAN  
HISTOPATOLOGI HEPAR**

SKRIPSI

Oleh:  
**RULLY ARGARANI**  
135130100111010



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN  
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2018**



**LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI**

**Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness) sebagai Preventif pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Model Sepsis Hasil Induksi Lipopolisakarida berdasarkan Kadar IL-1 $\beta$  dan Histopatologi Hepar**

Oleh:  
**RULLY ARGARANI**  
**135130100111010**

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji  
pada tanggal .....  
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh  
gelar Sarjana Kedokteran Hewan

Pembimbing I

Pembimbing II

**Prof. Dr. Pratiwi Trisunuwati, drh., MS.**  
NIP. 19480615 197702 2 001

**drh. Dian Vidiastuti, M.Si**  
NIP. 19820207 200912 2 003

Mengetahui,  
Dekan Fakultas Kedokteran Hewan  
Universitas Brawijaya

**Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES**  
NIP. 19600903 198802 2 001



**LEMBAR PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Rully Argarani  
NIM : 135130100111010  
Program Studi : Pendidikan Kedokteran Hewan  
Penulis Skripsi berjudul :  
Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*  
Ness) sebagai Preventif pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Model Sepsis Hasil  
Induksi Lipopolisakarida berdasarkan Kadar IL-1 $\beta$  dan Histopatologi Hepar

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Isi dari skripsi yang saya buat adalah benar-benar karya saya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang termaktub di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini.
  2. Apabila dikemudian hari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya akan bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima.
- Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, Januari 2018  
Yang menyatakan,

(Rully Argarani)  
NIM. 135130100111010

Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness) sebagai Preventif pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Model Sepsis Hasil Induksi Lipopolisakarida berdasarkan Kadar IL-1 $\beta$  dan Histopatologi Hepar

ABSTRAK

Sepsis adalah sindrom klinis yang disebabkan respon inflamasi terhadap infeksi. Sepsis induksi lipopolisakarida (LPS) menginisiasi inflamasi dan menyebabkan peningkatan produksi IL-1 $\beta$  sebagai indikator respon hospes terhadap patogen, serta penyebab kerusakan jaringan hepar. Tindakan pencegahan sepsis dapat dilakukan dengan pemberian daun sambiloto yang mengandung *andrographolide* sebagai antiinflamasi dan hepatoprotektor. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui efek preventif ekstrak daun sambiloto berdasarkan kadar IL-1 $\beta$  dengan metode ELISA dan gambaran histopatologi hepar dengan pewarnaan *haematoxylin-eosin* (HE). Penelitian ini bersifat eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 20 hewan coba tikus putih jantan umur 8-12 minggu dan berat badan 150-200 gram, dibagi menjadi lima kelompok yaitu kontrol negatif, kontrol positif, P1 (250 mg/ kg BB), P2 (500 mg/ kg BB), dan P3 (1000 mg/ kg BB). Data kadar IL-1 $\beta$  dianalisis secara statistik menggunakan metode *One-Way* ANOVA dan uji BNJ ( $\alpha=0,05$ ). Hasil penelitian menunjukkan rata – rata kadar IL-1 $\beta$  serum berbeda nyata ( $p<0.05$ ) antar kelompok. Kadar IL-1 $\beta$  P3 ( $512.33 \pm 199.44$ ) menunjukkan hasil yang terbaik dan gambaran histopatologi hepar yang tetap normal. Kesimpulan penelitian ini ekstrak daun sambiloto dosis 1000 mg/kg BB dapat dijadikan preventif untuk sepsis.

Kata Kunci: Sepsis, LPS, Sambiloto, IL-1 $\beta$ , Hepar

Preventive Effect of Sambiloto Leaf (*Andrographis paniculata* Ness) Extract on Rats (*Rattus norvegicus*) as Lipopolysaccharide Septic Model Induction Based on IL-1 $\beta$  Level and Liver Histopathology

ABSTRACT

Septic is a clinical syndrome caused by an inflammatory response to infection. Septic lipopolysaccharide (LPS) induction initiates inflammation and leads to increased IL-1 $\beta$  production as an indicator of host response to pathogens, also caused of hepatic tissue damage. Septic could prevented by sambiloto leaf administration that containing *andrographolide* as anti-inflammatory and hepatoprotector. The purpose of this research is to know the preventive effect of sambiloto leaf extract based on IL-1 $\beta$  level with ELISA method and liver histopathology with *Haematoxylin-Eosin* (HE) stain. This study is an experimental using Completely Randomized Design (CRD) with 20 male rats, 8-12 weeks old and 150-200 gram body weight, divided into five groups: negative control, positive control, P1 (250 mg / kg BW), P2 (500 mg / kg BW) and P3 (1000 mg / kg BW). Data of IL-1 $\beta$  levels were statistically analyzed using *One-Way* ANOVA method and BNJ test ( $\alpha = 0.05$ ). The results showed that mean IL-1 $\beta$  levels were significantly different ( $p < 0.05$ ) between the groups. Level of IL-1 $\beta$  P3 ( $512.33 \pm 199.44$ ) showed the best results and normal liver histopathology. The conclusion of this research is sambiloto leaf extract 1000 mg / kg BW dose can be used as preventive for septic.

Key words: Septic, LPS, Sambiloto, IL-1 $\beta$ , Liver

## KATA PENGANTAR

Ucapan alhamdulillah penulis haturkan kehadiran Allah SWT karena atas limpahan rahmat, hidayah dan pertolongan-Nya lah sehingga penulis mampu menyelesaikan penulisan skripsi yang berjudul **“Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness) sebagai Preventif pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Model Sepsis Hasil Induksi Lipopolisakarida berdasarkan Kadar IL-1 $\beta$  dan Histopatologi Hepar”**. Penelitian ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Hewan di Program Studi Pendidikan Dokter Hewan, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Brawijaya.

Dengan penuh rasa hormat dan ketulusan hati, penulis mengucapkan terima kasih kepada segenap pihak secara langsung maupun tidak langsung yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini. Dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih terutama kepada:

1. Prof. Dr. Pratiwi Trisunuwati, drh, MS dan drh. Dian Vidiastuti, M.Si selaku dosen pembimbing atas bimbingan, saran, kesabaran, fasilitas serta waktu yang telah diberikan selama ini.
2. drh. Indah Amalia Amri, M.Si dan drh. Beta Purnama Sari, M.Si selaku dosen penguji yang telah memberikan saran dan kritik yang sangat membangun.
3. Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya.
4. Seluruh Jajaran Dekanat, Dosen dan Staff Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya atas dorongan semangat dan fasilitas yang diberikan.
5. Papa Agoes Soekaryono, Mama Umi Khasanah serta kakak dan adik saya yang tercinta Arisandy Agus Prasetyo dan Silvi Galuh Safitri untuk doa, kasih sayang, dukungan serta pengorbanan baik moril maupun materi selama ini.
6. Penghuni gg. Mt haryono 1 no 16 (oz, di, ma, pit, lin, put) atas dukungan, inspirasi, semangat, makanan, penginapan dan waktunya dikala susah.
7. Sepsis partner Nuril Insani Aisyah, Amira, Cholid, Kucink dan INFINITE oppadeul (sunggyu, dongwoo, woohyun, sungyeol, L dan sungjong) atas spiritnya selama ini.

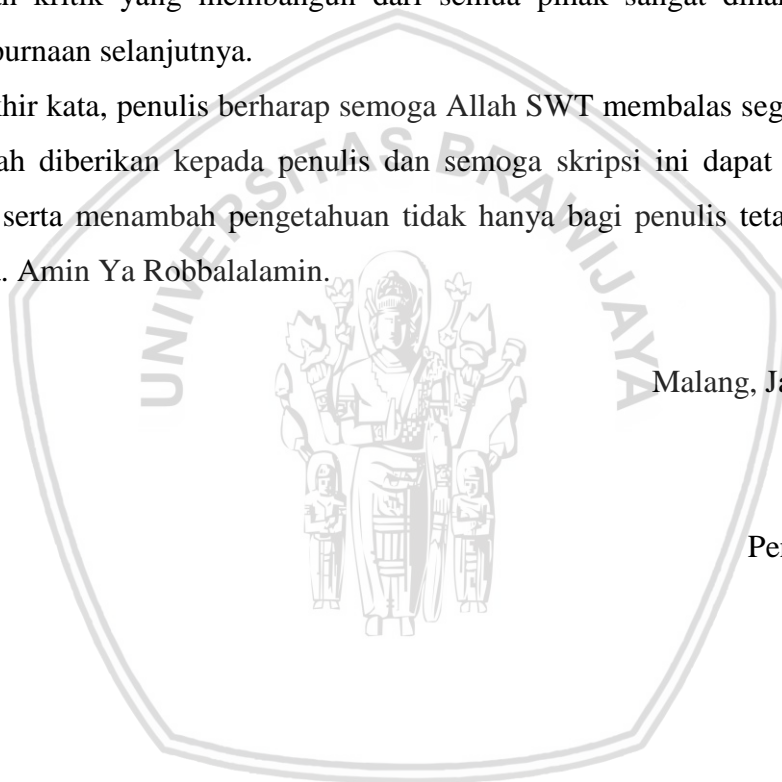
8. Teman-teman seperjuangan keluarga besar angkatan 2013 FKH UB khususnya kelas A atas cinta, persahabatan, konflik, semangat, inspirasi, keceriaan dan mimpi-mimpi yang luar biasa.
9. Serta kepada semua pihak yang telah membantu dalam pelaksanaan dan penyusunan laporan ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa laporan ini masih jauh dari kata sempurna, maka saran dan kritik yang membangun dari semua pihak sangat diharapkan demi penyempurnaan selanjutnya.

Akhir kata, penulis berharap semoga Allah SWT membalas segala kebaikan yang telah diberikan kepada penulis dan semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat serta menambah pengetahuan tidak hanya bagi penulis tetapi juga bagi pembaca. Amin Ya Robbalamin.

Malang, Januari 2018

Penulis



## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	i
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	ii
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	iii
<b>ABSTRAK</b> .....	iv
<b>ABSTRACT</b> .....	v
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	vi
<b>DAFTAR ISI</b> .....	viii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	x
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xi
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xii
<b>DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG</b> .....	xiii
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1. Latar Belakang Penelitian .....	1
1.2. Rumusan Masalah .....	4
1.3. Batasan Masalah .....	4
1.4. Tujuan Penelitian .....	5
1.5. Manfaat Penelitian .....	5
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	6
2.1. Daun Sambiloto (Andrographis Paniculata Ness).....	6
2.2. Sepsis .....	8
2.3. Lipopolisakarida .....	11
2.4. Sitokin IL-1 $\beta$ .....	12
2.5. Organ Hepar .....	13
2.6. Hewan Coba Tikus Putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ) .....	15
<b>BAB 3. KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN</b> .....	18
3.1. Kerangka Konseptual .....	18
3.2. Hipotesis Penelitian .....	21
<b>BAB 4. METODE PENELITIAN</b> .....	22
4.1. Tempat dan Waktu Penelitian .....	22
4.2. Alat dan Bahan .....	22
4.3. Tahapan Penelitian .....	22
4.4. Prosedur Kerja .....	24





<b>BAB 5. HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	31
5.1. Pengaruh Preventif Pemberian Ekstrak Daun Sambiloto ( <i>Andrographis Paniculata</i> Ness) terhadap Kadar IL-1 $\beta$ pada Tikus ( <i>Rattus norvegicus</i> ) Model Sepsis Hasil Induksi LPS <i>E.Coli</i> .....	31
5.2. Pengaruh Preventif Pemberian Ekstrak Daun Sambiloto ( <i>Andrographis Paniculata</i> Ness) terhadap Perubahan Gambaran Histopatologi Hepar pada Tikus ( <i>Rattus</i> <i>norvegicus</i> ) Model Sepsis Hasil Induksi LPS <i>E.Coli</i>	34
<b>BAB 6. KESIMPULAN DAN SARAN</b> .....	44
6.1. Kesimpulan .....	44
6.2. Saran .....	44
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	45
<b>LAMPIRAN</b> .....	51



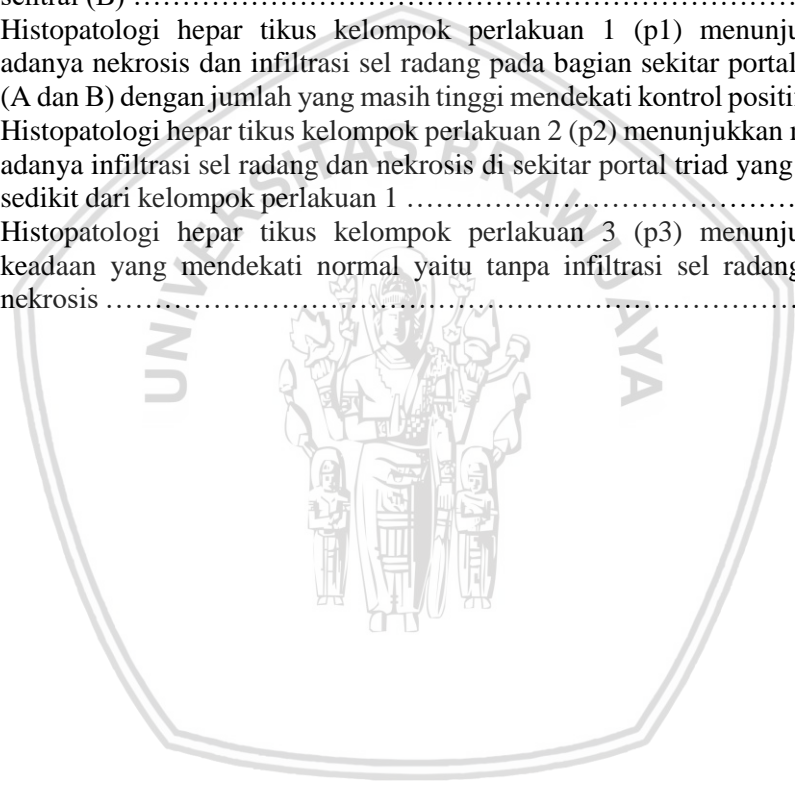
## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1. Definisi Sepsis .....	9
4.1. Rancangan Kelompok Perlakuan Penelitian .....	26
5.1. Rata-rata kadar IL-1 $\beta$ serum .....	31



## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1. Daun Sambiloto ( <i>Andrographis paniculata</i> Nees) .....	6
2.2. Struktur histologis hepar tikus normal dengan pewarnaan H&E .....	14
2.3. Tikus Putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ) .....	17
5.1. Histopatologi hepar tikus kelompok kontrol negatif menunjukkan keadaan normal .....	34
5.2. Histopatologi hepar tikus kelompok kontrol positif menunjukkan adanya nekrosis dan infiltrasi sel radang pada sekitar portal triad (A) dan vena sentral (B) .....	36
5.3. Histopatologi hepar tikus kelompok perlakuan 1 (p1) menunjukkan adanya nekrosis dan infiltrasi sel radang pada bagian sekitar portal triad (A dan B) dengan jumlah yang masih tinggi mendekati kontrol positif .....	38
5.4. Histopatologi hepar tikus kelompok perlakuan 2 (p2) menunjukkan masih adanya infiltrasi sel radang dan nekrosis di sekitar portal triad yang lebih sedikit dari kelompok perlakuan 1 .....	39
5.5. Histopatologi hepar tikus kelompok perlakuan 3 (p3) menunjukkan keadaan yang mendekati normal yaitu tanpa infiltrasi sel radang dan nekrosis .....	39



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Perhitungan Dosis Ekstrak Daun Sambiloto ( <i>Andrographis paniculata</i> Ness) .....	55
2. Prosedur Pembuatan Preparat Histopatologi Hepar .....	57
3. Pembuatan Ekstrak Daun Sambiloto .....	60
4. Pengukuran kadar IL-1 $\beta$ dengan metode ELISA .....	61
5. Sertifikat Laik Etik .....	63
6. Kerangka Operasional Rancangan Penelitian .....	64
7. Surat Keterangan Ekstrak Daun Sambiloto .....	65
8. Determinasi Daun Sambiloto .....	66
9. Surat Keterangan Skrining Fitokimia .....	67
10. Perhitungan Dosis Pemberian LPS .....	68
11. Hasil Perhitungan Kadar IL-1 $\beta$ dalam Serum Darah Menggunakan Metode ELISA .....	69
12. Perhitungan Statistika untuk Kadar IL-1 $\beta$ dalam Serum Darah Menggunakan Software SPSS .....	70
13. Dokumentasi Penelitian .....	75
14. Kondisi Fisiologis Hewan Coba Sebelum dan Sesudah Induksi Sepsis .....	77

## DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG

<u>Simbol/Singkatan</u>	<u>Keterangan</u>
$\mu\text{L}$	Mikroliter
ASC	<i>Apoptosis-Associated Speck-Like Protein</i>
BB	Berat badan
CD14	<i>Cluster of Differentiation 14</i>
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
ELISA	<i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>
fL	Femtoliter
g/dL	Gram per desiliter
Hb	Hemoglobin
IL-1 $\beta$	Interleukin - 1 $\beta$
LBP	<i>LPS Binding Protein</i>
LPS	Lipopolisakarida
MCH	<i>Mean Cell Hemoglobin</i> (jumlah hemoglobin dalam tiap sel darah merah)
MCHC	<i>Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration</i> (konsentrasi rata-rata hemoglobin yang terdapat dalam eritrosit)
MCV	<i>Mean Corpuscular Volume</i> (volume sel darah merah)
mg/kg	Milligram per kilogram
mmHg	Milimeter Merkuri ( <i>Hydrargyrum</i> )
MODS	<i>Multiple Organ Dysfunction Syndrome</i>
MOF	<i>Multiple Organ Failure</i>
NF-K $\beta$	<i>Nuclear Factor Kappa Beta</i>
NK	<i>Natural Killer</i>
NO	<i>Nitric Oxide</i>
pg	Pikogram
PVC	<i>Packed Cell Volume</i>
RBC	<i>Red Blood Cell</i>
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
SGOT	<i>Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase</i>
SGPT	<i>Serum Glutamic Pyruvate Transaminase</i>
SIRS	<i>Systemic Inflammatory Response Syndrome</i>
TLR	<i>Toll-Like Receptor</i>
WBC	<i>White Blood Cell</i>

## BAB 1 PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang Penelitian

Sepsis merupakan salah satu penyebab kematian utama dalam dunia kedokteran hewan. Sebuah penelitian yang dilakukan oleh Isola, *et al.*, (2013) mengenai kejadian sepsis berat dan sepsis *syok* pada anjing, didapatkan hasil bahwa 78.9% dari seluruh pasien anjing yang dirawat di unit gawat darurat berjumlah 15 pasien, didiagnosa sebagai pasien sepsis berat. Angka mortalitas pasien sepsis ini adalah 33,33 % (5 ekor), 4 ekor mati dalam 24 jam pertama, sisanya mati pada 24 jam berikutnya. Empat anjing (21,1%) didiagnosa sebagai pasien sepsis *syok*, memiliki angka mortalitas sebanyak 100%, 2 ekor mati pada 24 jam pertama, sisanya mati pada 24 jam berikutnya.

Sepsis adalah sindrom klinis yang disebabkan respon inflamasi terhadap infeksi (Napitupulu, 2010). Infeksi yang progresif akan teregulasi dan menyebabkan *Systemic Inflammatory Response Syndrome* (SIRS), merusak sistem kekebalan tubuh, serta beberapa jenis sel. Infeksi bakteri gram negatif, seperti *E. coli* menjadi penyebab sepsis terbanyak (Starr dan Hiroshi, 2014).

Studi mengenai sepsis dapat dilakukan pada rodensia seperti tikus dengan membuat hewan model endotoksemia menggunakan injeksi lipopolisakarida (LPS). Pembuatan hewan model sepsis menggunakan injeksi LPS memiliki beberapa keuntungan, diantaranya pengaplikasiannya yang mudah dan dapat mengatur dosisnya secara pasti. LPS yang merupakan endotoksin dari bakteri gram negatif diinjeksikan secara intraperitoneal akan memunculkan SIRS steril akut (Starr dan Hiroshi, 2014).

LPS akan menginisiasi dan menimbulkan inflamasi yang menyebabkan peningkatan produksi sitokin pro-inflamasi, seperti IL-1 $\beta$  (Ermawati, 2015). Sitokin interleukin - 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) adalah mediator utama respon inflamasi (pro-inflamasi) yang disekresikan disekitar cairan instertisial dan sirkulasi darah selama peradangan. Sitokin ini merupakan indikator adanya respon dan resistensi hospes terhadap patogen, serta penyebab kerusakan jaringan pada gangguan penyakit kronis dan akut (Gloria dan David, 2011 dan Rana dan Thomas, 2007). IL-1 $\beta$  merupakan sitokin pertama yang ditemukan dan telah terbukti berperan pokok dalam sistem sitokin, mengendalikan fungsi penting dalam sistem kekebalan tubuh selama perkembangan infeksi, inflamasi, deferensiasi sel, remodeling jaringan dan kematian sel (Rana dan Thomas, 2007).

Tubuh akan melepaskan mediator proinflamasi dan anti-inflamasi secara bersamaan, ketika jaringan terinfeksi. Keseimbangan kedua macam mediator ini membantu perbaikan jaringan dan kesembuhan, namun perlukaan pada jaringan setempat dapat terjadi jika keseimbangan ini hilang dan mediator menggunakan efek sistemiknya. Konsekuensi reaksi proinflamasi sistemik meliputi kerusakan endotel, disfungsi mikrovaskuler, gangguan oksigenasi jaringan dan trauma pada organ (Oematan, dkk., 2009).

Kerusakan jaringan terjadi selama inflamasi dapat menyebabkan disfungsi dan kegagalan organ, salah satunya hepar (Herwanto dan Amin, 2009). Hepar mempengaruhi mekanisme metabolik dan pertahanan selama sepsis. Organ ini secara aktif mengatur proses-proses inflamatorik dengan menyaring, menginaktivasi dan membersihkan produk-produk bakteri (endotoksin), zat-zat

vasoaktif dan mediator-mediator inflamasi. Sel Kupffer melepaskan berbagai macam mediator-mediator inflamatorik, toksik dan vasoaktif yang semuanya dapat menyebabkan kerusakan jaringan baik secara langsung maupun tidak langsung setelah terstimulasi (Sumantri, 2012).

Kondisi sepsis yang menyebabkan kegagalan organ sistemik ini memerlukan suatu tindakan pencegahan sebelum menimbulkan kerusakan lebih parah bahkan kematian. Pencegahan terhadap keparahan sepsis ini dapat dilakukan dengan pemberian tanaman herbal, salah satunya daun sambiloto. Sambiloto adalah salah satu jenis tanaman yang mengandung senyawa aktif dan memiliki potensial untuk dikembangkan sebagai bahan baku obat (Wardatun, 2011). Sambiloto memiliki zat aktif utama yaitu *Andrographolide* yang banyak terkandung pada daun. *Andrographolide* berkhasiat sebagai antiinflamasi dan hepatoprotektor (Widyawati, 2007).

Berdasarkan latar belakang diatas, penelitian ini dilakukan untuk mempelajari pengaruh pemberian ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness) sebagai preventif terhadap kadar IL-1 $\beta$  dan perubahan gambaran histopatologi hepar pada tikus model sepsis hasil induksi LPS sehingga dapat membantu menurunkan angka mortalitas sepsis yang masih tinggi.



## 1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan penjabaran latar belakang di atas, dapat diperoleh rumusan masalah sebagai berikut:

- a. Bagaimana pengaruh ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness) dalam mencegah sepsis pada tikus (*Rattus norvegicus*) hasil induksi LPS berdasarkan kadar sitokin IL-1 $\beta$  dalam serum?
- b. Bagaimana pengaruh ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness) dalam mencegah sepsis pada tikus (*Rattus norvegicus*) hasil induksi LPS berdasarkan perubahan gambaran histopatologi hepar?

## 1.3. Batasan Masalah

Berdasarkan rumusan masalah yang telah disebutkan, maka penelitian ini dibatasi pada:

- a. Hewan model yang digunakan adalah tikus (*Rattus norvegicus*) strain Wistar berjenis kelamin jantan dengan umur 8-12 minggu dan berat badan 200 gram yang diperoleh dari Peternakan Tikus Sumbersekar, Dau, Malang.
- b. Pembuatan hewan model sepsis dengan cara injeksi secara intraperitoneal LPS *E.coli* Sigma Aldrich 0111: B4 dengan dosis 2 mg/kg BB (Qun, *et al.*, 2014), diberikan sebanyak 1 kali pada hari ke-18 penelitian.
- c. Daun sambiloto yang digunakan dideterminasi oleh UPT Materia Medika Batu. Dosis preventif ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness) yang diberikan pada tikus model sepsis yaitu sebesar 250 mg/gram BB,

500 mg/gram BB dan 1000 mg/gram BB selama 8 hari dimulai pada hari ke-11 (Ulumiyah, 2012).

- d. Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah kadar sitokin IL-1 $\beta$  dalam serum yang diukur dengan menggunakan metode ELISA dan gambaran histopatologi organ hepar secara kualitatif menggunakan mikroskop.

#### 1.4. Tujuan Penelitian

Berdasarkan penjabaran rumusan masalah di atas, tujuan dari penelitian ini adalah:

- a. Mengetahui pengaruh ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness) dalam mencegah sepsis pada tikus (*Rattus novergicus*) hasil induksi LPS berdasarkan kadar sitokin IL-1 $\beta$  dalam serum.
- b. Mengetahui pengaruh ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness) dalam mencegah sepsis pada tikus (*Rattus novergicus*) hasil induksi LPS berdasarkan perubahan gambaran histopatologi hepar.

#### 1.5. Manfaat Penelitian

Penelitian ini bermanfaat sebagai kajian ilmiah terhadap pemanfaatan andrographolide dari ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness) dalam mencegah sepsis yang telah di uji berdasarkan kadar sitokin IL-1 $\beta$  dalam serum dan perubahan gambaran histopatologi hepar.

## BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1. Daun Sambiloto (*Andrographis Paniculata* N.)

Sambiloto yang juga dikenal sebagai “*King of Bitters*” merupakan tumbuhan yang berasal dari India, namun sudah ada di Indonesia sejak 1893. Sambiloto memiliki daun tunggal saling berhadapan, berbentuk pedang (lanset) dengan tepi rata (integer) dan permukaannya halus, berwarna hijau (**Gambar 2.1**). Tumbuhan sambiloto secara taksonomi dapat diklasifikasikan sebagai berikut (Widyawati, 2007):

Divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Subkelas	: Gamopetalae
Ordo	: Personales
Famili	: Acanthaceae
Subfamili	: Acanthoidae
Genus	: <i>Andrographis</i>
Spesies	: <i>Andrographis paniculata</i> N.



Gambar 2.1. Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) (Ratnani, dkk., 2012).

Senyawa aktif utama dari sambiloto adalah andrografolid. Andrografolid adalah senyawa utama yang diekstrak dari daun sambiloto. Senyawa ini termasuk senyawa diterpen lakton dan larut dalam pelarut organik. Andrografolid terkandung paling banyak di daun (kurang lebih 2.39%) dan paling sedikit pada biji (Srijanto, dkk., 2012). Secara klinis andrografolid terbukti aktivitasnya dapat berpengaruh pada hepatoprotektif, kardiovaskular, hipoglikemik, *psycho-pharmacological*, anti-fertilitas, antibakteri, immunostimulan, antipiretik, antidiare, anti-inflamasi, antimalaria, antivenom, antihepatotoksik (Royani, dkk., 2014).

Andrografolid mempunyai efek pada dua tipe sel yang berperan dalam proses inflamasi, yaitu leukosit (neutrofil, makrofag, dan sel T) dan sel endotel, sehingga dapat menurunkan ekspresi dan produksi mediator pro-inflamasi (Hidalgo, *et al.*, 2013). Zhu, *et al.* (2013) dalam penelitiannya menjelaskan, andrografolid dapat menurunkan produksi mediator pro-inflamasi yaitu TNF- $\alpha$ , IL-6, dan IL-1 $\beta$  serta menghambat aktivasi NF- $\kappa$ B p65 dan aktifitas pengikatan DNA. NF- $\kappa$ B adalah faktor transkripsi utama untuk ekspresi gen inflamasi. Jalur aktivasi NF- $\kappa$ B melibatkan fosforilasi dari p50 dan p65. Zhu, *et al.* (2013) menambahkan andrografolid efektif menghambat induksi LPS terhadap endotel dan kerusakan pada endotel serta infiltrasi sel-sel inflamasi, dengan demikian dapat mengendalikan proses inflamasi dan mediator inflamasi yang berlebihan.

Andrografolid dalam aktifitasnya sebagai hepatoprotektor telah dibuktikan oleh Dewi (2012), yaitu adanya penurunan kadar bilirubin. Goenarwo, dkk., 2010 dalam penelitiannya juga menyebutkan bahwa air rebusan daun sambiloto mempunyai efek menurunkan kadar enzim SGOT tikus putih jantan yang diinduksi

parasetamol selama perlakuan 16 hari. Pada penelitian yang lain, Wulandari, dkk. (2007) menyebutkan bahwa pemberian ekstrak daun sambiloto dapat memperbaiki kerusakan struktur mikroanatomi hepar mencit berupa: degenerasi hidropik, degenerasi lemak, inti piknotik, karyoreksis, karyolisis, dilatasi sinusoid dan konstiksi vena sentralis serta dapat menurunkan kadar Glutamat Piruvat Transaminase (GPT) serum mencit yang terpapar diazinon. Wulandari, dkk. (2007) dalam pembahasannya menambahkan, berdasarkan Trivedi dan Rawal (2000), sambiloto bekerja memperbaiki kerusakan organ hepar akibat toksisitas senyawa xenobiotik, dengan cara meningkatkan status enzim antioksidan, yaitu glutation. Kemampuan memperbaiki struktur mikroanatomi hepar dan menurunkan kadar GPT serum oleh ekstrak daun sambiloto diduga karena komponen aktif yang terdapat dalam daun sambiloto yaitu andrografolid. Glutation berperan penting dalam detoksifikasi senyawa xenobiotik yang masuk ke dalam tubuh. Glutation mendetoksifikasi senyawa xenobiotik melalui 2 cara, yaitu sebagai antioksidan yang melindungi sel dari serangan radikal bebas dan sebagai senyawa yang mengkonjugasi senyawa xenobiotik agar lebih larut dalam air sehingga mudah diekresikan melalui urin atau empedu (Wulandari, dkk., 2007; Kongshavn, 1995).

## 2.2. Sepsis

Sepsis adalah suatu sindroma klinik yang terjadi oleh karena adanya respon tubuh yang berlebihan terhadap rangsangan produk mikroorganisme (**Tabel 2.1**). Sepsis sindroma klinik yang ditandai dengan: 1) *Hyperthermia/hypothermia*, 2)

*Tachypneu*, 3) *Tachycardia*, 4) *Leukocytosis*, 5) *Leukopenia*, 6) 10% *>cell imature*, 7) *Suspected infection* (Guntur, 2008).

**Tabel 2.1.** Definisi Stadium Sepsis

I. Dua atau lebih tanda SIRS, sebagai berikut :
1) suhu $> 38$ oC atau $< 36$ oC,
2) denyut jantung $> 90$ kali/ menit,
3) respirasi $> 20$ kali/menit,
4) jumlah sel darah putih $> 12.0 \times 10^9/L$ , $< 4.0 \times 10^9$ , atau $> 0,1$ bentuk immatur (band)
II. Sepsis
SIRS dan dokumentasi kultur infeksi (kultur positif untuk organisme)
III. Sepsis berat
Sepsis dan gangguan fungsi organ, hipotensi atau hipoperfusi (keabnormalan hipoperfusi, termasuk, tetapi tidak terbatas hanya pada laktik asidosis, oliguria, atau perubahan status mental akut).
IV. Septik Syok
Hipotensi (walaupun dengan resusitasi cairan), dan keabnormalan hipoperfusi.

Sumber: Buchori dan Prihatini, 2006

Infeksi bakteri lokal dapat menimbulkan sepsis, melalui aliran darah (bakteremia dan kultur darah positif), di dalam peredaran darah bakteri berkembang biak dan mengeluarkan toksin. Toksin dikeluarkan dari struktur komponen bakteri (endotoksin antigen *teichoic acid*, dan lain-lain) atau mungkin eksotoksin. Beberapa mediator pejamu (*Host*) secara tidak langsung menyebabkan sepsis, endotoksin bakteri negatif gram mengikat larutan *LPS-binding protein* atau membran luar sel mononuklear, CD14. Pengaruh interaksi antara monosit, makrofag dan netrofil melepas mediator inflamasi seperti interleukin (IL), interferon (IF), *platelet activating factor* (PAF), dan *tumor necrosis factor* (Buchori dan Prihatini, 2006).

Patofisiologi sepsis berawal dari tubuh yang menghadapi ancaman akan mengenali bahaya tersebut melalui *pattern recognition receptors* (PRR) yang selanjutnya mengaktifkan sistem pertahanan awal yang dikenal sebagai *innate immunity*. Patogen yang terdapat di alam, seperti bakteri gram negatif, gram positif, virus, parasit dan jamur, mempunyai molekul unik yang tidak dimiliki vertebrata yang dikenal sebagai *pathogen associated molecular patterns* (PAMP). Molekul ini mengaktifkan *innate immunity* melalui PRR. *Innate immunity* yang teraktifasi akan mengeliminasi patogen melalui kerjasama berbagai sel dan molekul imun yang teraktifasi oleh mediator inflamasi. Setelah mengeliminasi patogen, terjadi mekanisme umpan balik yang dengan sendirinya menghentikan proses ini sekaligus mengembangkan sistem imun adaptif. Sistem imun adaptif bertujuan agar tubuh dapat bereaksi lebih efektif terhadap invasi patogen yang sama di kemudian hari (Pudjiadi, 2013).

Sel imun yang teraktivasi melepaskan mediator inflamasi yang akan memicu pelepasan *phospholipase A2*, *platelet-activating factor*, *cyclooxygenase*, komplemen dan sitokin yang penting untuk mengeliminasi patogen. *Tumor necrosis factor- $\alpha$*  (TNF- $\alpha$ ) dan interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) berperan memicu pelepasan sitokin proinflamasi yang menyebabkan proses eliminasi lebih efektif, sekaligus memicu pelepasan sitokin anti-inflamasi yang akan berperan untuk menghentikan proses inflamasi (mekanisme umpan balik). Sitokin pro-inflamasi berperan penting pada pelepasan nitrogen monoksida (*nitric oxide*, NO), yang selanjutnya bereaksi dengan radikal bebas menjadi peroksinitrat yang penting untuk membunuh mikroorganisme patogen. Efek NO lainnya adalah vasodilatasi vaskuler. Ketika

sistem imun tidak efektif dalam membunuh dan eliminasi antigen, proses inflamasi menjadi tidak terkendali dan terjadilah kegagalan sirkulasi, trombosis multipel dan disfungsi organ multipel. Hal ini menyebabkan bervariasinya gambaran klinis sepsis dari ringan sampai berat dengan disertai syok dan disfungsi organ multipel (Pudjiadi, 2013).

### 2.3. Lipopolisakarida

Lipopolisakarida (LPS) merupakan salah satu komponen membran bakteri gram negatif yang menjadi penyebab patogenik sepsis. Lipopolisakarida merupakan endotoksin yang dihasilkan oleh bakteri gram negatif, misalnya *Eschericia coli* (Marianingsih, 2012; Widyawati, *et al.*, 2013). Komponen LPS terdiri atas lipid A, polisakarida inti, dan rantai polisakarida spesifik-O. Lipid A berperan dalam sekresi sitokin dalam respon inflamasi. Lipid A bersama dengan protein LBP akan berikatan dengan CD14 dari makrofag. Ikatan antara LBP dan CD14 ini mengakibatkan LPS dikenali oleh TLR4. TLR4 bersifat esensial bagi makrofag sebagai respon terhadap lipopolisakarida. *Toll-Like Receptors 4* membangkitkan sinyal untuk mengaktifkan faktor transkripsi berupa NF- $\kappa$ B yang berfungsi untuk merangsang produksi sitokin, enzim, dan protein lainnya (Widjaja, 2011; Widyawati, *et al.*, 2013).

Lipopolisakarida merupakan komponen dinding sel bakteri yang menstimulasi respons inflamasi dengan mengaktifasi sitokin pro-inflamasi. Pada proses inflamasi sistem imun akan melepaskan sitokin pro-inflamasi yaitu IL-1 $\beta$ , IL-6, dan TNF- $\alpha$  (Manu dan Kuttan, 2008; Zikriah, 2014).



#### 2.4. Sitokin IL-1 $\beta$

Sitokin adalah golongan protein atau glikoprotein atau polipeptida yang larut dan diproduksi oleh sel limfosit dan sel-sel lain seperti makrofag, eosinophil, sel mast, dan sel endotel. Sitokin berfungsi sebagai sinyal interseluler yang mengatur hampir semua proses biologis penting seperti halnya aktivasi, pertumbuhan, proliferasi, diferensiasi, proses inflamasi sel, imunitas, serta pertahanan jaringan ataupun morfogenesis. Sitokin biasanya diproduksi oleh sel sebagai respons terhadap rangsangan. Sitokin yang dibentuk segera dilepas dan tidak disimpan di dalam sel. Sitokin yang sama dapat diproduksi oleh berbagai sel. Satu sitokin dapat bekerja terhadap beberapa jenis sel dan dapat menimbulkan efek melalui berbagai mekanisme. Berbagai sitokin dapat memiliki banyak fungsi yang sama, dapat atau sering mempengaruhi sintesis atau efek sitokin lain, efeknya akan tampak saat berikatan dengan reseptor yang spesifik pada permukaan sel sasaran atau sel target. Sitokin yang berperan dalam imunitas bawaan diantaranya adalah interferon tipe I, TNF- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ ), IL-1 (interleukin-1), IL-6 (interleukin-6), chemokin (Soeroso, 2007).

Interleukin-1 (IL-1) terdiri dari tiga macam: IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , dan reseptor antagonis IL-1 (IL-1ra). IL-1 $\alpha$  dapat ditemukan di dalam sitosol atau berikatan dengan membran sel dan tidak disekresikan serta secara normal tidak terdeteksi dalam peredaran darah atau cairan inflamasi, sedangkan IL-1 $\beta$  disekresikan di sekitar cairan interstisial dan peredaran darah selama proses inflamasi dan memediasi kerja pro-inflamasi secara luas, dan untuk IL-1ra merupakan antagonis

spesifik IL-1 yang kerjanya akan mengikat IL-1R1 untuk mencegah pengikatan bentuk aktif IL-1 (IL-1 $\alpha$  dan IL-1 $\beta$ ) (Al-Sadi dan Ma, 2007).

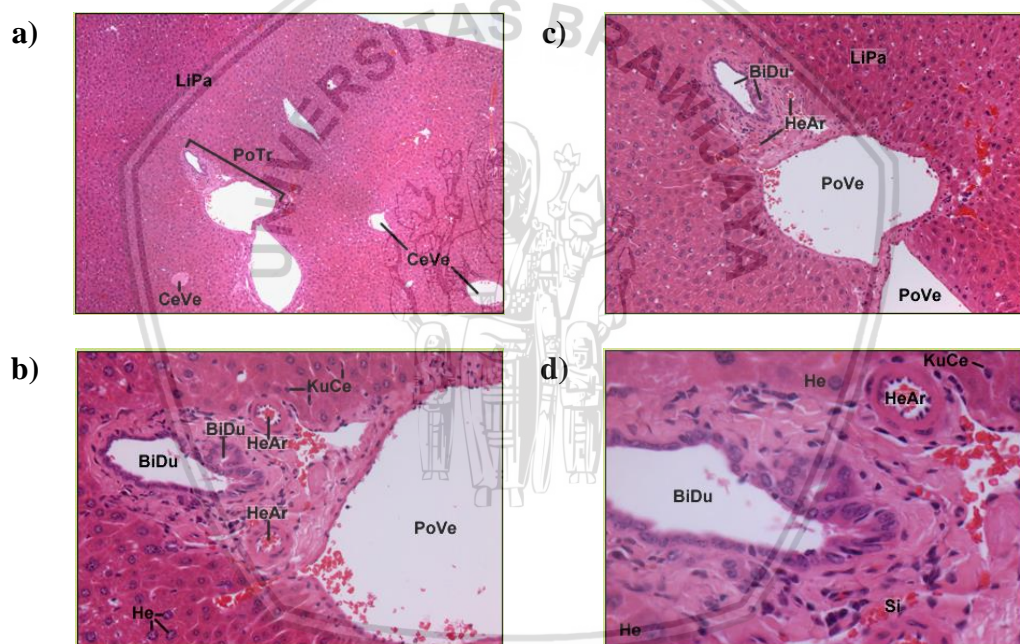
Interleukin-1 $\beta$  merupakan sitokin pro-inflamasi yang paling berpengaruh dalam respon hospes terhadap adanya infeksi atau cedera. IL-1 $\beta$  diproduksi dan disekresikan oleh berbagai sel, terutama sel sistem imun *innate*, seperti monosit dan makrofag. IL-1 $\beta$  diproduksi dalam bentuk prekursor tidak aktif, yang disebut pro-IL-1 $\beta$ , yang akan aktif jika terdapat rangsangan molekuler dari patogen (*pathogen associated molecular patterns* atau PAMP dan atau *danger associated molecular pattern* atau DAMP yaitu molekul endogen yang dilepaskan oleh sel mati) (Lopez-Castejon dan Brough, 2011). Produksi sitokin pro-inflamasi IL-1 $\beta$  oleh makrofag dapat memberikan efek, yaitu aktivasi neutrofil, limfosit, dan endotel vascular; meningkatkan regulasi molekul adesi selular; menginduksi prostaglandin, sintesis *nitric oxide* dan protein fase akut; menginduksi demam (Cohen, 2006).

## 2.5. Hepar

Hepar merupakan kelenjar paling besar dari tubuh. Hepar mempunyai tiga fungsi utama yaitu 1) produksi dan sekresi empedu ke dalam saluran cerna, 2) berperan dalam metabolisme lemak, karbohidrat, dan protein, dan 3) sebagai filter dari darah terhadap kuman maupun zat-zat toksik (Widjaja, 2009).

Organ hepar berbentuk lobus, setiap lobus dari hepar dibagi dalam struktur-struktur yang disebut lobulus. Lobulus merupakan unit fungsional dari hepar yang bersegi enam atau heksagonal. Struktur mikroskopik normal hepar terdiri dari lobulus yang di dalamnya terdapat sel-sel hepar (hepatosit) dan cabang-cabang vena

porta, arteri hepatica, dan kanalikuli empedu pada setiap segi dari lobulus (**Gambar 2.2**). Hepatosit tersusun seperti lapisan-lapisan plat dan berbentuk sinar yang mengelilingi hepatikum; terdapat sinusoid di antara deretan sel-sel hepar yang membawa darah dari cabang-cabang vena porta dan arteria hepatica ke vena hepatica. Dinding sinusoid terdiri dari sel-sel fagosit yang disebut sel kupffer. Sel-sel kupffer berperan menelan eritrosit dan leukosit yang mati, mikroorganisme, dan benda asing yang masuk ke dalam hepar (Baradero, dkk., 2008).



**Gambar 2.2.** Struktur histologis hepar tikus normal dengan pewarnaan H&E; a) perbesaran 40x, b) perbesaran 100x, c) perbesaran 200x, d) perbesaran 400x; CeVe = Central vein, LiPa = Liver parenchyma, PoTr = Portal triad, BiDu = Bile duct, HeAr = Hepatic artery, PoVe = Portal vein, KuCe = Kupffer cell, He = Hepatocyte, Si = Sinusoid (Conti, *et al.*, 2004).

Hepar memiliki peran penting selama sepsis. Hepar terlibat dalam mekanisme respon hospes dengan melakukan pembersihan terhadap agen atau produk infeksi seperti endotoksin dan bakteri, detoksifikasi, serta sintesis protein untuk

metabolisme, kekebalan tubuh, dan fungsi koagulasi. Beberapa sel yang terlibat dalam proses ini diantaranya hepatosit, sel kupffer, dan sel endotel sinusoid. Hepatosit akan mengalami perubahan metabolisme ketika tubuh mengalami sepsis, contohnya sepsis yang disebabkan oleh endotoksin (LPS). Sel kupffer akan memproduksi beberapa sitokin, termasuk diantaranya sitokin IL-1 $\beta$ , sebagai respon karena adanya endotoksin. Produksi sitokin yang berlebihan akan memicu produksi sitokin yang lain, serta protein fase akut, *reactive oxygen species* (ROS), NO, yang kemudian akan menyebabkan disfungsi hepatoseluler (Nessler, *et al.*, 2012).

Kerusakan pada hepar selama sepsis dapat dikonfirmasi dengan adanya perubahan histologis hepar. Sebuah studi otopsi, hepatitis dan steatosis hati ditemukan pada sebagian besar pasien yang meninggal karena sepsis. Lesi hepatic yang dapat ditemukan diantaranya radang portal, nekrosis sentrilobular, peradangan lobular, dan apoptosis hepatoseluler. Perubahan histologis lainnya yang mungkin dapat ditemukan adalah *spotty necrosis*, inflamasi kapsular, dan inflamasi portal (Yan, *et al.*, 2014).

## **2.6. Hewan Coba Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)**

Salah satu hewan coba yang banyak digunakan dalam penelitian adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*). Tikus putih banyak digunakan pada penelitian-penelitian toksikologi, metabolisme lemak, obat-obatan maupun mekanisme penyakit infeksius. Tikus putih baik digunakan dalam penelitian karena mudah dipelihara, mudah berkembang biak sehingga cepat mendapatkan hewan coba yang seragam dan mudah dikelola di laboratorium. Penelitian tentang obat-obatan dan keracunan

banyak menggunakan hewan coba tikus, karena mudah diperiksa melalui organ-organ utama yang berperan yaitu hepar (Berata, dkk., 2010).

Tikus putih memiliki ciri-ciri morfologis seperti albino, kepala kecil, dan ekor yang lebih panjang dibandingkan badannya, pertumbuhannya cepat, temperamennya baik, kemampuan laktasi tinggi, dan tahan terhadap arsenik tiroksid (**Gambar 2.3**).

Klasifikasi tikus putih adalah sebagai berikut:

Kingdom : Animalia  
 Filum : Chordata  
 Kelas : Mammalia  
 Ordo : Rodentia  
 Subordo : Odontoceti  
 Familia : Muridae  
 Genus : Rattus  
 Spesies : *Rattus norvegicus*  
 (Akbar, 2010).



**Gambar 2.3.** Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) (Akbar, 2010).

Fisiologis normal tikus putih (*Rattus norvegicus*) menurut Wolfenshon dan Lloyd (2013), sebagai berikut:

Temperatur rektal : 36<sup>0</sup>-37.5<sup>0</sup>C  
 Detak jantung : 250-450 kali/menit  
 Tekanan darah  
     Sistol : 84-134 mmHg  
     Diastol : 60 mmHg  
 Laju pernafasan : 70-115 kali/menit

Hematologi normal tikus menurut Thrall, *et al.* (2012) dalam bukunya, sebagai berikut:

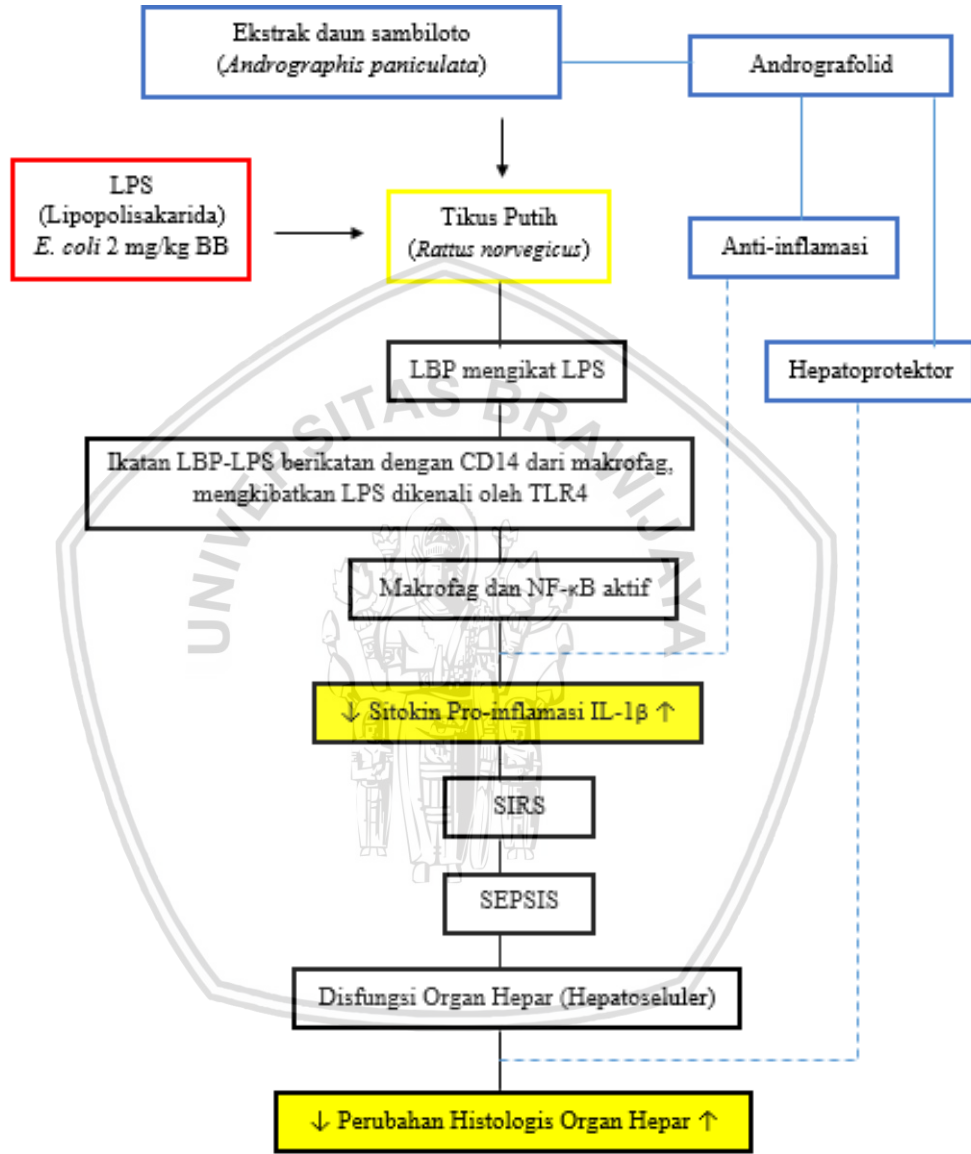
PVC	:	41.1-51.1 %
RBC	:	6.6-9.0 x 10 <sup>6</sup> /μL
Hb	:	13.2-16.4 g/dL
MCV	:	52.6-65.4 fL
MCHC	:	30.2-34.6 %
MCH	:	16.5-21.3 pg
Retikulosit	:	0-4.6 %

WBC	:	7.30-12.66 x 10 <sup>3</sup> /μL
<i>Bands</i>	:	0-0.02
<i>Neutrophils</i>	:	1.25-3.71
<i>Lymphocytes</i>	:	5.07-9.07
<i>Monocytes</i>	:	0.05-0.44
<i>Eosinophils</i>	:	0.04-0.30
<i>Basophils</i>	:	0-0.03
Platelet	:	0.84-1.24 x 10 <sup>3</sup> /μL



**BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN**

**3.1. Kerangka Konseptual**



Keterangan :

- |  |                  |  |   |
|--|------------------|--|---|
| <span style="border: 1px solid blue; display: inline-block; width: 20px; height: 10px;"></span> :                            | Variabel bebas   | <span style="border: 1px solid red; display: inline-block; width: 20px; height: 10px;"></span> : | Perlakuan menjadikan hewan model sepsis                       |
| <span style="background-color: yellow; border: 1px solid black; display: inline-block; width: 20px; height: 10px;"></span> : | Variabel terikat | ↑↓ :   | Pengaruh pemberian ekstrak daun sambiloto (menurun-meningkat) |
| <span style="border: 1px solid yellow; display: inline-block; width: 20px; height: 10px;"></span> :                          | Hewan coba       | — :  | Patofisiologi   |
| <span style="border: 1px solid black; display: inline-block; width: 20px; height: 10px;"></span> :                           | Patofisiologi    | — (blue) :   | Kandungan ekstrak daun sambiloto                              |
|  |                  | - - - (blue) :   | Mempengaruhi  |

Pada penelitian ini akan diamati mengenai pengaruh pemberian ekstrak daun sambiloto yang memiliki efek kerja anti-inflamasi dan hepatoprotektor sebagai tindakan pencegahan sepsis. Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus jantan. Hewan coba diberikan preventif terlebih dahulu berupa ekstrak daun sambiloto. Ekstrak daun sambiloto mengandung zat kimia yaitu *andrographolide* yang memiliki efek farmakologi sebagai hepatoprotektor dan anti-inflamasi. Khasiat dari *andrographolide* diharapkan dapat menurunkan produksi mediator pro-inflamasi IL-1 $\beta$  dan mengurangi kerusakan jaringan atau sel pada organ hepar. Kejadian sepsis dibuat dengan menginduksikan LPS pada hewan coba secara intraperitoneal (2 mg/kg BB).

LPS yang masuk ke dalam tubuh merupakan endotoksin yang akan berikatan dengan LBP (*LPS Binding Protein*). Ikatan LBP-LPS akan berikatan dengan CD14 dari makrofag. Ikatan antara LBP dan CD14 ini mengakibatkan LPS dikenali oleh TLR4. TLR4 bersifat esensial bagi makrofag sebagai respon terhadap lipopolisakarida. *Toll-Like Receptors* 4 membangkitkan sinyal untuk mengaktifkan faktor transkripsi berupa NF- $\kappa$ B yang berfungsi untuk merangsang produksi sitokin pro-inflamasi yaitu IL-1 $\beta$ . Produksi sitokin pro-inflamasi IL-1 $\beta$  oleh makrofag dapat memberikan efek, yaitu aktivasi neutrofil, limfosit, dan endotel vascular; meningkatkan regulasi molekul adesi selular; menginduksi prostaglandin, sintesis *nitric oxide* dan protein fase akut; menginduksi demam; yang akan menginisiasi munculnya tanda-tanda SIRS dan sepsis.

Hepar memiliki peran penting selama sepsis. Hepar terlibat dalam mekanisme respon hospes dengan melakukan pembersihan terhadap agen atau produk infeksi



seperti endotoksin dan bakteri, detoksifikasi, serta sintesis protein untuk metabolisme, kekebalan tubuh, dan fungsi koagulasi. Hepatosit akan mengalami perubahan metabolisme ketika tubuh mengalami sepsis. Sel kupffer akan memproduksi beberapa sitokin, termasuk diantaranya sitokin IL-1 $\beta$ , sebagai respon karena adanya endotoksin. Produksi sitokin yang berlebihan akan memicu produksi sitokin yang lain, serta protein fase akut, *reactive oxygen species* (ROS), NO, yang kemudian akan menyebabkan disfungsi hepatoseluler. Perubahan histologis yang mungkin dapat ditemukan adalah *spotty necrosis*, inflamasi kapsular, dan inflamasi portal.

*Andrographolide* yang diberikan sebelum paparan LPS akan menghambat aktivasi NF- $\kappa$ B, sehingga produksi sitokin tidak berlebihan dalam darah. Kadar sitokin yang tidak berlebihan akan menurunkan respon inflamasi lokal maupun sistemik. Fungsi *andrographolide* sebagai hepatoprotektor bekerja melindungi hepar dari kerusakan yang terjadi akibat sepsis dari paparan LPS dengan cara meningkatkan status enzim antioksidan, yaitu glutation.

### 3.2. Hipotesis Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah, maka hipotesis penelitian ini adalah: Ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness) dengan kandungan *andrographolide* sebagai anti-inflamasi dan hepatoprotektor dapat dijadikan sebagai preventif sepsis pada tikus (*Rattus norvegicus*) hasil induksi LPS *E.coli* berdasarkan kadar IL-1 $\beta$  dan histopatologi organ hepar.

## BAB 4 METODE PENELITIAN

### 4.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan April – Mei 2017 di beberapa laboratorium antara lain:

- a. Perawatan, perlakuan dan euthanasia hewan coba dilakukan di Laboratorium Fisiologi Hewan Fakultas Saintek Universitas Negeri Malang dan Laboratorium Epidemiologi Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya Malang.
- b. Proses pembuatan ekstrak daun sambiloto dideterminasi dan dilakukan di UPT. Materia Medika Batu.
- c. Pengukuran kadar IL-1 $\beta$  dalam darah dilakukan di Laboratorium FAAL Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.
- d. Pembuatan preparat histopatologi hepar dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Kessima Medika Malang.
- e. Pengamatan preparat histopatologi dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

### 4.2. Alat dan Bahan

#### 4.2.1. Alat dan Bahan Pemeliharaan dan Perlakuan Hewan coba

Peralatan yang digunakan untuk pemeliharaan dan perlakuan hewan coba pada penelitian ini adalah kandang pemeliharaan hewan coba sebanyak 5 buah beserta alas kandang yaitu sisa serutan kayu, wadah pakan dan minum berjumlah 2 untuk setiap kandang, spuit 1 cc sebanyak 4 buah dan jarum 27G sebanyak 16 buah untuk injeksi LPS secara intraperitoneal pada hewan coba, dan sonde lambung

untuk tikus sebanyak 3 buah. Bahan yang digunakan untuk pemeliharaan dan perlakuan hewan coba pada penelitian ini adalah hewan coba yaitu tikus wistar jantan berumur 8-12 minggu dengan berat 150-200 gram, pakan dan minum untuk tikus secara *ad libitum*, ekstrak daun sambiloto, dan LPS *E.coli* (Sigma Aldrich® 0111:B4).

#### **4.2.2. Alat dan Bahan Pembuatan Ekstrak Daun Sambiloto**

Peralatan yang digunakan untuk pembuatan ekstrak daun sambiloto pada penelitian ini adalah toples tertutup, corong gelas, timbangan analitik, gelas ukur, botol, *waterbath*, *elenmeyer*, *rotary evaporator*, *beaker glass*, *alcoholmeter*, dan *shaker digital*. Bahan yang digunakan untuk pembuatan ekstrak daun sambiloto pada penelitian ini adalah serbuk daun sambiloto, etanol 70% dan kertas saring.

#### **4.2.3. Alat dan Bahan Pengukuran Kadar IL-1 $\beta$ dalam Serum Darah**

Peralatan yang digunakan untuk pengukuran kadar IL-1 $\beta$  dalam serum darah pada penelitian ini adalah perlengkapan untuk pengambilan sampel darah (mikrohematokrit), tabung sampel darah (BD *Vacutainer*® *Blood Collection Tubes* non-K2EDTA), tabung *microcentrifuge*, mesin *sentrifuge*, tabung *Eppendorf* dan *ELISA reader*. Bahan yang digunakan untuk pengukuran kadar IL-1 $\beta$  dalam darah pada penelitian ini adalah sampel darah (serum), ELISA KIT untuk pemeriksaan IL-1 $\beta$ , mikropipet *single channel* ukuran 100-1000  $\mu$ l dan 20-200  $\mu$ l serta *micropipette multichannel*, *tip micropipette*, *vortex*, gelas ukur, dan aluminium foil.

#### 4.2.4. Alat dan Bahan Pembuatan Preparat dan Pengamatan Histopatologi

Peralatan yang digunakan untuk pembuatan preparat dan pengamatan histopatologi pada penelitian ini adalah talenan, pisau *scalpel*, pinset, saringan, *tissue casset*, mesin *processor* otomatis, mesin *vaccum*, mesin bloking, *freezer* (-20 °C), mesin *microtome*, pisau *microtome*, *water bath* 46 °C, kaca obyek, kaca penutup, rak khusus untuk pewarnaan, dan oven 60°C. Bahan yang digunakan adalah potongan jaringan hewan yang telah difiksasi dengan *Buffer Neutral Formalin* (BNF) 10%, dan beberapa larutan yang diperlukan yaitu *ethanol absolute*, *xylol*, parafin, *glyserin* 99.5 %, ewit (albumin), larutan hematoksin, *lithium carbonat*, larutan eosin, dan *Distyrene Plasticizer Xylene* (DPX).

#### 4.3. Tahapan Penelitian

Tahapan penelitian yang dilakukan yaitu:

- a. Rancangan penelitian dan persiapan hewan coba.
- b. Pembuatan sediaan, penentuan dosis dan pemberian preventif ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness).
- c. Pemberian LPS *E.coli* pada hewan coba.
- d. Pengukuran kadar IL-1 $\beta$  dalam serum darah.
- e. Isolasi organ hepar.
- f. Pembuatan dan pengamatan preparat histopatologi hepar.

#### 4.4. Prosedur Kerja

##### 4.4.1. Rancangan Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental laboratorik dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Rancangan Acak Lengkap digunakan apabila ragam satuan percobaan yang digunakan homogen atau seragam. Hewan coba yang digunakan akan dibagi menjadi 5 kelompok. Penentuan jumlah tikus tiap kelompok, dihitung berdasarkan rumus *Federer*.

Rumus *Federer*:  $t(n - 1) \geq 15$

$$5(n - 1) \geq 15$$

$$5n - 5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

Keterangan :

n = jumlah ulangan yang diperlukan

t = jumlah kelompok perlakuan

Berdasarkan perhitungan tersebut, maka jumlah sampel tikus yang digunakan pada penelitian ini adalah 4 ekor per kelompok. Jumlah kelompok perlakuan adalah 5 (**Tabel 4.1**), maka jumlah tikus seluruhnya adalah 20 ekor. Batasan variabel dalam penelitian ini adalah:

- Variabel bebas: dosis ekstrak daun sambiloto berdasarkan penelitian Ulumiyah (2012) yaitu 250 mg/ kg BB, 500 mg/ kg BB, 1000 mg/ kg BB dan LPS *E.coli* 2 mg/kg BB berdasarkan penelitian Qun, *et al.* (2014).
- Variabel tergantung: kadar IL-1 $\beta$  dan gambaran histopatologi organ hepar.
- Variabel kontrol: tikus (*Rattus norvegicus*), jenis kelamin umur, berat badan, lingkungan, suhu, pakan.

**Tabel 4.1.** Rancangan Kelompok Perlakuan Penelitian

Kelompok	Keterangan
Kontrol (+)	Kelompok hewan dengan perlakuan injeksi i.p LPS <i>E.coli</i> dosis 2 mg/kg BB pada hari ke-18 penelitian.
Kontrol (-)	Kelompok hewan tanpa perlakuan.
Perlakuan 1	Kelompok hewan dengan perlakuan pemberian per-oral ekstrak daun sambiloto dosis 250 mg/ kg BB pada hari ke 11 – 18 dan injeksi intraperitoneal LPS <i>E.coli</i> dosis 2 mg/kg BB pada hari ke-18 penelitian.
Perlakuan 2	Kelompok hewan dengan perlakuan pemberian per-oral ekstrak daun sambiloto dosis 500 mg/ kg BB pada hari ke 11 – 18 dan injeksi intraperitoneal LPS <i>E.coli</i> dosis 2 mg/kg BB pada hari ke-18 penelitian.
Perlakuan 3	Kelompok hewan dengan perlakuan pemberian per-oral ekstrak daun sambiloto dosis 1000 mg/ kg BB pada hari ke 11 – 18 dan injeksi intraperitoneal LPS <i>E.coli</i> dosis 2 mg/kg BB pada hari ke-18 penelitian.

#### 4.4.2. Persiapan Hewan Coba

Hewan coba yaitu tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar berjenis kelamin jantan dengan umur 8-12 minggu dan berat badan 150-200 gram sejumlah 20 ekor

yang diperoleh dari Peternakan Tikus Sumbersekar, Dau, Malang diaklimatisasi di Laboratorium Fisiologi Hewan Fakultas Saintek Universitas Islam Negeri Malang selama 7 hari dan 3 hari di Laboratorium Epidemiologi Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya Malang. Kegiatan selama tahap aklimatisasi, diantaranya menyiapkan kandang yang terbuat dari bak plastik beralaskan sekam yang tertutup dengan anyaman kawat; memberikan pakan dan air minum 1 kali sehari pada pukul 08.00 secara *ad libitum*; membersihkan kandang dengan cara penggantian sekam setiap 2 hari; mengganti air minum setiap hari bersamaan dengan pemberian pakan; dan melakukan penimbangan serta pengecekan fisik (Widiartini, dkk., 2014).

#### **4.4.3. Pembuatan Ekstrak Daun Sambiloto (*Andrographis Paniculata* Ness).**

Pembuatan ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness) dilakukan di UPT Materia Medika Batu. Proses ekstrak daun sambiloto dilakukan sesuai dengan surat keterangan ekstrak tanaman sambiloto.

#### **4.4.4. Penentuan Dosis dan Ekstrak Daun Sambiloto (*Andrographis Paniculata* Ness).**

Dosis ekstrak daun sambiloto (*Andrographis Paniculata* Ness) yang digunakan pada penelitian ini mengacu pada penelitian sebelumnya dari Dewi (2012) dan Ulumiyah (2012) mengenai pengaruh pemberian ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata*) sebagai hepatoprotektor. Dosis yang digunakan pada

penelitian ini, yaitu 250 mg/kg BB, 500 mg/kg BB dan 1000 mg/kg BB selama 8 hari per-oral sekali sehari.

#### **4.4.5. Dosis dan Pemberian LPS *E.coli* Pada Hewan Coba**

LPS *E.coli* yang digunakan pada penelitian ini dibeli dari Sigma Aldrich® dengan *serotype* 0111: B4. Dosis dan pemberian LPS *E.coli* pada penelitian ini mengacu pada penelitian sebelumnya dari Qun, *et al.* (2014) yaitu sebanyak 2 mg/kg BB yang diinjeksikan satu kali secara intraperitoneal pada hari ke-18 penelitian.

#### **4.4.6. Pengukuran Kadar IL-1 $\beta$ dalam Serum Darah**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian preventif yang dilihat dari penurunan atau peningkatan kadar IL-1 $\beta$  dalam darah menggunakan metode ELISA. Qun, *et al.* (2014) dalam penelitiannya menyebutkan bahwa kadar IL-1 $\beta$  dalam serum akan meningkat secara signifikan pada 6 jam post injeksi LPS, oleh karena itu pengambilan darah dari hewan coba akan dilakukan pada rentang jam tersebut untuk mendapatkan hasil yang maksimal. Pengambilan sampel darah dilakukan melalui sinus orbitalis (Fahri, dkk., 2005). Sampel darah dimasukkan ke dalam tabung *vacutainer* tanpa antikoagulan untuk mendapatkan serum. Tabung *vacutainer* yang berisi darah tanpa antikoagulan didiamkan selama 60 menit pada suhu kamar, kemudian disentrifuge dengan kecepatan 1500 rpm selama 15 menit. Cairan kuning jernih di atas sel darah yang menggumpal selanjutnya diambil dengan pipet mikro dan dimasukkan ke dalam tabung *ependorf*



(Hidayat, dkk., 2013), selanjutnya dilakukan pengukuran kadar IL- $\beta$  dengan menggunakan *reagen* kit ELISA dan ELISA *reader* (Qun, *et al.*, 2014).

#### **4.4.7. Isolasi Organ Hepar, Pembuatan dan Pengamatan Preparat Histopatologi Hepar**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian preventif ekstrak daun sambiloto yang dilihat dari perubahan histologis organ hati (hepatosit). Organ hepar diambil dengan cara mengeuthanasi tikus terlebih dahulu, kemudian dibedah di bagian ventral untuk mengambil organ hepar (Wulandari, dkk., 2007). Hewan coba dieuthanasia dengan cara dislokasi leher (*dislocation os cervical*) (Al Kahfi, dkk., 2013). Organ hepar yang telah diambil kemudian dicuci dengan NaCl fisiologis 0.9 % dan direndam larutan Paraformaldehid (PFA) 4%. Jaringan hepar tikus dibuat preparat histopatologi dengan metode pewarnaan Hemaktosilin-Eosin (HE). Pengamatan dilakukan dengan menggunakan mikroskop (Olympus BX51®). Perubahan yang diamati adalah abnormalitas hepatosit (Arauna, dkk., 2012).

#### **4.4.8. Pengolahan Data**

Analisa data kadar IL-1 $\beta$  menggunakan uji *OneWay ANOVA* ( $\alpha = 5\%$ ) dan jika hasil berpengaruh nyata maka dilakukan uji lanjutan BNP (Beda Nyata Jujur) dengan tingkat kepercayaan  $\alpha = 5\%$ . Uji *OneWay ANOVA* digunakan untuk mengetahui pemberian preventif ekstrak daun sambiloto berpengaruh atau tidak berpengaruh berdasarkan kadar IL-1 $\beta$  serum, sedangkan uji BNP digunakan untuk mengetahui kelompok perlakuan yang paling berpengaruh berdasarkan kadar IL-1 $\beta$

serum. Gambaran mikroskopis hepar diamati secara kualitatif dengan mengamati abnormalitas sel hepatosit. Hasil pengamatan dijelaskan secara deskriptif.



## BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN

### 5.1 Pengaruh Preventif Pemberian Ekstrak Daun Sambiloto (*Andrographis Paniculata* Ness) terhadap Kadar IL-1 $\beta$ pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Model Sepsis Hasil Induksi LPS *E.Coli*

Penelitian ini menggunakan produk mikroorganisme yaitu lipopolisakarida (LPS) sebagai penginduksi sepsis pada hewan coba tikus, dapat meningkatkan kadar IL-1 $\beta$  sebagai respon tubuh terhadap adanya infeksi (Manu dan Kuttan, 2008). Hasil pengukuran kadar IL-1 $\beta$  dengan metode ELISA dianalisa secara statistika menggunakan uji *OneWay ANOVA* menunjukkan hasil berbeda nyata ( $p < 0.05$ ) antar kelompok (**Tabel 5.1**).

**Tabel 5.1** Rata-rata kadar IL-1 $\beta$  serum

Kelompok	Rata-rata kadar IL-1 $\beta$ (pg/ml) $\pm$ SD
Kontrol negatif	435.67 $\pm$ 234.27 <sup>a</sup>
Kontrol positif	2714.83 $\pm$ 72.49 <sup>d</sup>
Perlakuan 1	2019.00 $\pm$ 188.97 <sup>c</sup>
Perlakuan 2	1069.00 $\pm$ 241.64 <sup>b</sup>
Perlakuan 3	512.33 $\pm$ 199.44 <sup>a</sup>

Keterangan: perbedaan notasi (a,b,c,d) pada rata-rata kadar IL-1 $\beta$  menunjukkan perlakuan berpengaruh nyata terhadap IL-1 $\beta$ .

Kadar IL-1 $\beta$  kelompok kontrol negatif memiliki kadar paling rendah dibandingkan kelompok yang lain, karena kadar IL-1 $\beta$  termasuk dalam kelompok LLOD (*Lower Limit of Detection*), yaitu kadarnya sangat rendah (3.2 pg/ml) atau bahkan tidak ada pada tubuh yang sehat (Kleiner, *et al.*, 2013). Sananta, dkk (2017) dalam penelitiannya juga menuliskan, pada individu normal, sitokin ini nyaris tidak dapat terdeteksi, akan tetapi pada individu dengan vaskulitis yang disebabkan

seperti rheumatoid arthritis, osteomalasia, sepsis dan infark miokard terbukti meningkat signifikan dibandingkan dengan kontrol.

IL-1 $\beta$  diproduksi dalam bentuk prekursor tidak aktif, yang disebut pro-IL-1 $\beta$ , yang akan aktif jika terdapat rangsangan molekuler dari patogen (*pathogen associated molecular patterns* atau PAMP dan atau *danger associated molecular pattern* atau DAMP yaitu molekul endogen yang dilepaskan oleh sel mati) (Lopez-Castejon dan Brough, 2011). Kelompok kontrol negatif merupakan kelompok tanpa perlakuan, tanpa induksi dan tanpa preventif, sehingga tidak ada rangsangan patogen yang menyebabkan terproduksinya IL-1 $\beta$ .

Rataan kadar IL-1 $\beta$  pada kelompok kontrol positif menunjukkan angka paling tinggi dari kelompok yang lain. Kelompok kontrol positif merupakan kelompok perlakuan sepsis tanpa preventif, hanya diberikan LPS. LPS yang disuntikkan dalam tubuh menyebabkan kadar IL-1 $\beta$  meningkat sebagai respon tubuh terhadap adanya infeksi. Respon tubuh ini akan menginisiasi inflamasi sistemik yang disebut sepsis (Cohen, 2006). Kurt, *et al.* (2007) dalam penelitiannya menjelaskan bahwa kadar IL-1 $\beta$  dalam serum akan meningkat secara signifikan pada kondisi sepsis karena IL-1 $\beta$  dalam serum merupakan mediator inflamasi.

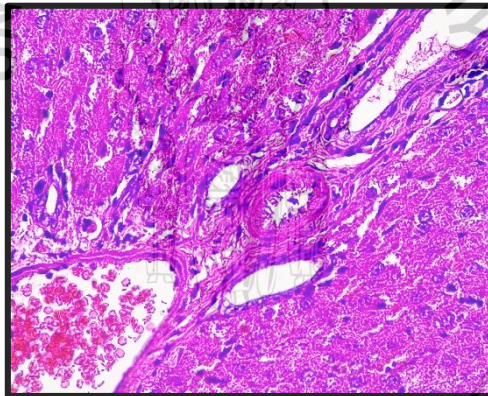
Rataan kadar IL-1 $\beta$  pada kelompok perlakuan (1-3) menunjukkan angka yang semakin rendah jika dibandingkan dengan kelompok kontrol positif. Kelompok perlakuan merupakan kelompok hewan coba dengan pemberian preventif ekstrak daun sambiloto dan induksi sepsis (injeksi LPS 2 mg/kg BB). Penurunan kadar sitokin IL-1 $\beta$  pada kelompok perlakuan dapat dihubungkan dengan kerja dari *andrographolide* dalam daun sambiloto sebagai antiinflamasi. Aktifitas

*andrographolide* sebagai antiinflamasi dikaitkan dengan kerjanya dalam menghambat fungsi dari *Nuclear Factor-κB*. *Andrographolide* akan menghambat translokasi inti subunit p65 NF-κB dan mencegah pengikatan NF-κB pada DNA. NF-κB merupakan golongan faktor transkripsi yang meregulasi ekspresi sejumlah gen pro-inflamasi termasuk IL-1β (Hidalgo, *et al.*, 2013). Indusibel NF-κB merupakan heterodimer yang terdiri dari p50 dan p65. NF-κB dalam keadaan inaktif karena tersimpan dalam sitoplasma dan berikatan dengan protein *inhibitor* IκB. LPS dapat mempercepat fosforilasi dan mendeegradasi IκB yang menyebabkan ikatan NF-κB – protein *inhibitor* IκB terlepas, dan NF-κB bebas menuju inti sel. NF-κB bertranslokasi ke dalam inti, mengikat DNA dan terjadi aktivasi transkripsi sitokin proinflamasi (IL-1β) (Wang dan Baldwin, 1998). Penghambatan translokasi inti subunit p65 yang merupakan protein dari NF-κB akan menyebabkan ikatan dengan DNA inti sel juga terhambat, sehingga tidak terjadi aktivasi transkripsi.

Penurunan kadar IL-1β pada setiap kelompok perlakuan menunjukkan hasil yang beragam sesuai dengan dosis yang diberikan. Semakin tinggi dosis preventif yang diberikan, menunjukkan kadar IL-1β yang semakin rendah. Penurunan kadar IL-1β serum paling rendah hampir mendekati kontrol negatif terdapat pada kelompok perlakuan 3 (p3) dengan dosis 1000 mg/ kg BB, sehingga dapat dikatakan bahwa pemberian ekstrak daun sambiloto dosis 1000 mg/ kg BB efektif sebagai dosis preventif sepsis hasil induksi LPS (2mg/kg BB) berdasarkan penurunan kadar IL-1β, sehingga berpotensi sebagai alternatif pencegah sepsis.

## 5.2 Pengaruh Preventif Pemberian Ekstrak Daun Sambiloto (*Andrographis Paniculata* Ness) terhadap Perubahan Gambaran Histopatologi Hepar pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Model Sepsis Hasil Induksi LPS *E.Coli*

Lipopolisakarida (LPS) sebagai penginduksi sepsis pada hewan coba tikus bersifat toksik, masuk ke dalam peredaran darah, kemudian mengalami detoksifikasi dalam hepar. Berdasarkan hal tersebut, apabila hepar terpapar LPS, maka akan menyebabkan kerusakan sel hepar (Nessler, *et al.*, 2012). Preparat histopatologi hepar menggunakan pewarnaan Hematoksin-Eosin. Pengamatan histopatologi dilakukan untuk melihat perubahan beberapa komponen hepar secara mikroskopik, diantaranya infiltrasi sel radang, dan nekrosis sel hepar.

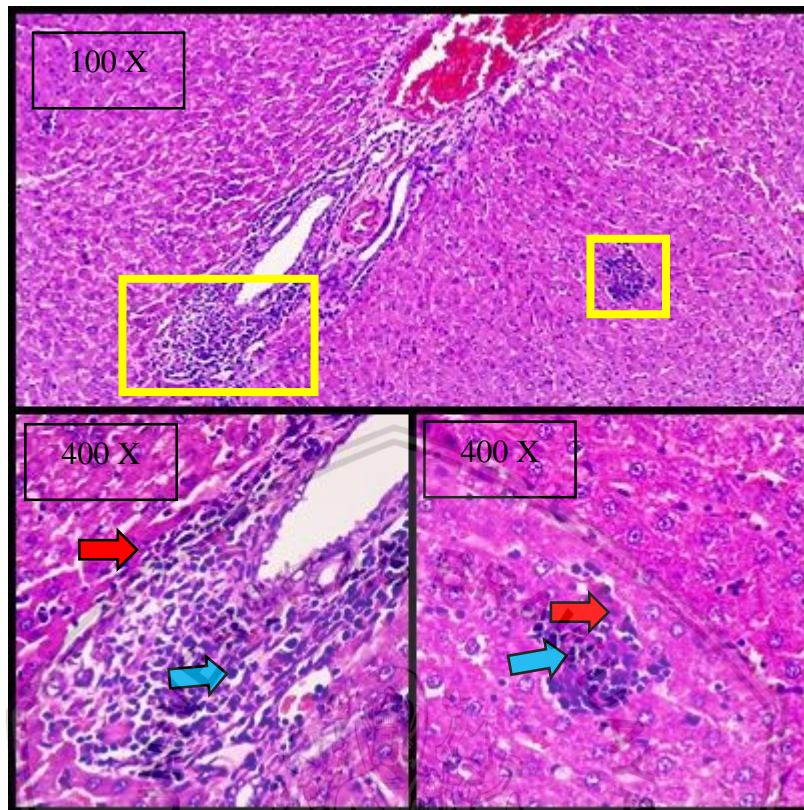


**Gambar 5.1.** Histopatologi hepar tikus kelompok kontrol negatif menunjukkan keadaan normal tanpa adanya infiltrasi sel radang dan sel nekrosis pada *portal triad* (perbesaran 400X).



Struktur mikroskopik hepar pada kelompok kontrol negatif dapat teramati dengan baik, yaitu vena portal, *bile duct*, arteri hepatic, hepatosit, sinusoid, sel kupffer, dan vena sentral (**Gambar 5.1**). Hasil pengamatan histopatologi hepar pada kelompok kontrol negatif menunjukkan kondisi histologi hepar yang normal, hal ini karena tidak ada endotoksin yang masuk ke dalam tubuh, zat toksik serta

radikal bebas mempunyai peranan penting pada kerusakan hepar, yaitu menyebabkan rusaknya sel atau jaringan. Radikal bebas tidak akan menimbulkan kerusakan hepar dalam keadaan normal, karena hepar memiliki sistem pertahanan yang lebih baik dari organ-organ lain dalam tubuh. Hepar merupakan komponen sentral sistem imun, sel kuppfer yang meliputi 15% dari massa hepar serta 80% dari total populasi fagosit tubuh, merupakan sel yang sangat penting dalam menanggulangi antigen yang berasal dari luar tubuh dan mempresentasikan antigen tersebut kepada limfosit (Baradero, dkk., 2008; Amirudin, 2009 dalam Susanto, 2014).

Struktur mikroskopik normal hepar terdiri dari lobulus yang di dalamnya terdapat sel-sel hepar (hepatosit) dan cabang-cabang vena porta, arteri hepatica, dan kanalikuli empedu pada setiap segi dari lobulus. Hepatosit tersusun seperti lapisan-lapisan plat dan berbentuk sinar yang mengelilingi hepatikum; terdapat sinusoid di antara deretan sel-sel hepar yang membawa darah dari cabang-cabang vena porta dan arteria hepatica ke vena hepatica. Dinding sinusoid terdiri dari sel-sel fagosit yang disebut sel Kupffer. Sel-sel kupffer berperan menelan eritrosit dan leukosit yang mati, mikroorganisme, dan benda asing yang masuk ke dalam hepar (Baradero, dkk., 2008).



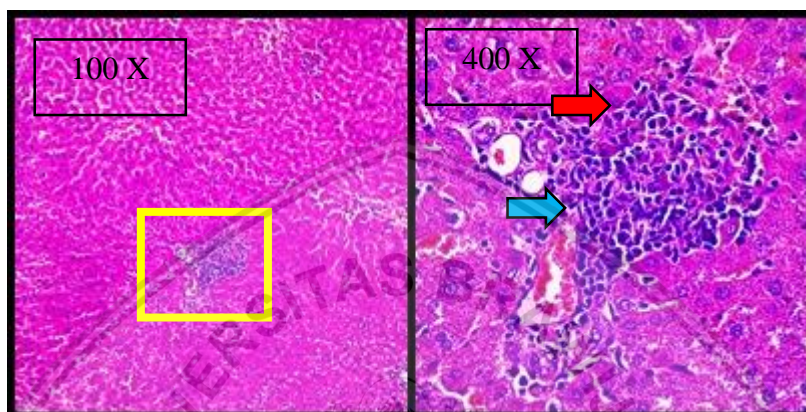
**Gambar 5.2.** Histopatologi hepar tikus kelompok kontrol positif menunjukkan adanya nekrosis dan infiltrasi sel radang pada sekitar *portal triad*. Keterangan:

- () infiltrasi sel radang yang banyak memadati *portal triad* dan vena sentral,
- () sel nekrosis pada inti sel hepar tampak semakin mengkerut, menghitam, dan menghilang serta parenkim rusak pada spot tertentu bergabung menjadi satu tanpa sel inti dan dipadati sel radang.



Gambaran histopatologi hepar pada kontrol positif yaitu kelompok dengan perlakuan induksi sepsis (injeksi LPS 2mg/kg BB) tanpa preventif ekstrak daun sambiloto menunjukkan adanya reaksi inflamasi yang ditandai dengan adanya infiltrasi sel radang, dan nekrosis sel hepar (**Gambar 5.2**). Sel-sel radang terlihat memenuhi sekitar *bile duct* dan bagian *portal triad* lainnya, serta pada bagian vena sentral, yang menyebabkan hancurnya *plate* hepatosit bercampur dengan sel-sel

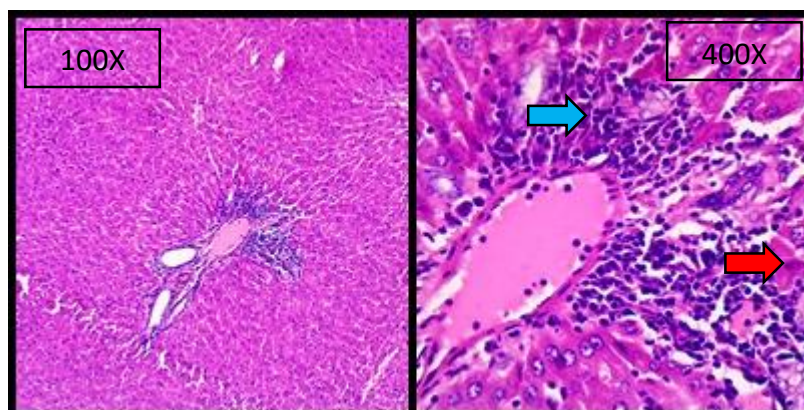


hepar yang mengalami nekrosis. Gambaran histopatologi hepar pada kelompok kontrol positif tersebut menunjukkan bahwa induksi sepsis (injeksi LPS 2mg/kg BB) berhasil menginfeksi organ hepar.





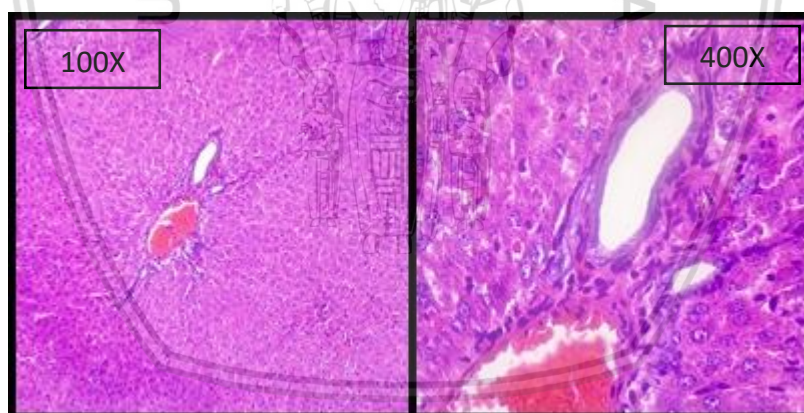
**Gambar 5.3.** Histopatologi hepar tikus kelompok perlakuan 1 (p1) menunjukkan adanya nekrosis dan infiltrasi sel radang pada bagian sekitar *portal triad* yang masih tinggi mendekati kontrol positif. Keterangan:

- () infiltrasi sel radang ditemukan di sekitar *portal triad* yang lebih berkurang dibandingkan kontrol positif,
- () sel nekrosis ditemukan pada beberapa bagian hepar, yaitu inti sel hepar yang menyusut, menghilang, dan beberapa sudah menghilang, sehingga hanya menyisakan parenkim hati tanpa inti sel yang tidak berbatas jelas antar sel dan dipadati oleh sel radang.



**Gambar 5.4.** Histopatologi hepar tikus kelompok perlakuan 2 (p2) menunjukkan masih adanya infiltrasi sel radang dan nekrosis di sekitar *portal triad* yang lebih sedikit dari kelompok perlakuan 1. Keterangan:

- () infiltrasi sel radang ditemukan di sekitar *portal triad* namun jauh lebih berkurang dari kelompok kontrol positif dan perlakuan 1.
- () sel nekrosis masih ditemukan, yaitu inti sel hepar yang menyusut dan menghitam.



**Gambar 5.5.** Histopatologi hepar tikus kelompok perlakuan 3 (p3) menunjukkan keadaan yang mendekati normal yaitu tanpa infiltrasi sel radang dan nekrosis di sekitar *portal triad*. Bentuk nukleus hepatosit normal tanpa penyusutan, penghitaman ataupun menghilang, bentuk hepatosit yang berbatas jelas.

Gambaran histopatologi hepar tikus yang mendapat preventif ekstrak daun sambiloto dengan dosis 250 mg/kg BB (kelompok perlakuan 1) menunjukkan bahwa masih terdapat infiltrasi sel radang dan nekrosis sel hepar namun lebih baik

jika dibandingkan dengan kontrol positif (sepsis). Parenkim hepar disekitar *bile duct* dan bagian lain terlihat tak beraturan, hepatosit tidak jelas, dan menghitam bercampur dengan sel radang, berpusat pada lokasi tertentu membentuk nekrosis. Sel radang sebagai tanda inflamasi masih banyak terdapat di beberapa bagian parenkim hepar dan disekitar arteri hepatic serta *bile duct* (**Gambar 5.3**). Gambaran histopatologi hepar tikus yang mendapat preventif ekstrak daun sambiloto dengan dosis 500 mg/kg BB (kelompok perlakuan 2) terlihat pada struktur parenkim hati dan hepatosit lebih bisa mempertahankan bentuk normalnya dibandingkan kelompok perlakuan 1. Sel radang dan nekrosis lebih berkurang jika dibandingkan dengan kelompok perlakuan 1 (**Gambar 5.4**). Hasil pengamatan histopatologi pada tikus yang diberikan terapi ekstrak daun sambiloto dosis 1000 mg/kg BB (kelompok perlakuan 3) terlihat bahwa struktur mikroskopik hepar dapat mempertahankan bentuk normalnya, struktur hepatosit dan parenkim hepar serta *portal triad* tetap beraturan serta tidak ditemukannya adanya nekrosis (**Gambar 5.5**). Hepatosit terlihat jelas tersusun rapi dikelilingi sinusoid yang normal serta bentuk nukleus yang normal, tanpa penyusutan ukuran maupun penghitaman. Susunan komponen *portal triad* juga terlihat rapi (*bile duct*, vena portal, dan arteri hepatic) dikelilingi sel kupffer dalam jumlah normal. Sel radang terlihat jarang ditemukan, hanya beberapa sel kupffer yang memang secara normal berada dalam hepar.

Infiltrasi sel radang pada hepar merupakan respon inflamasi terhadap adanya infeksi. LPS yang disuntikkan ke tubuh tikus, melalui peritoneum lalu peredaran darah menuju hepar, akan dideteksi oleh makrofag dan sel kupffer yang merupakan sistem kekebalan pertama, sebagai *pathogen*. Aktivasi sel kupffer menyebabkan

terproduksi sitokin proinflamasi yang menginisiasi respon inflamasi akut. Sitokin proinflamasi yang dikeluarkan oleh sel kupffer dapat mengaktifkan sel endotel sinusoid hepar untuk meningkatkan molekul adhesi, selanjutnya terjadi perekrutan neutrophil dan monosit menuju hepar. *Neutrophil* adalah fagosit pertama yang tiba di lokasi invasi mikroba. *Neutrophil* yang aktif akan melepaskan molekul anti mikroba yang kuat dan sitotoksik seperti *reactive oxygen species* (ROS), serta kemokin untuk menarik *neutrophil* dan monosit lebih banyak lagi. Monosit kemudian akan mengalami diferensiasi menjadi makrofag jaringan yang melepaskan sitokin lainnya. Sitokin tersebut akan menyebabkan *neutrophil* tetap berada pada lokasi peradangan hingga peradangan mereda (Liaskou, *et al.*, 2012).

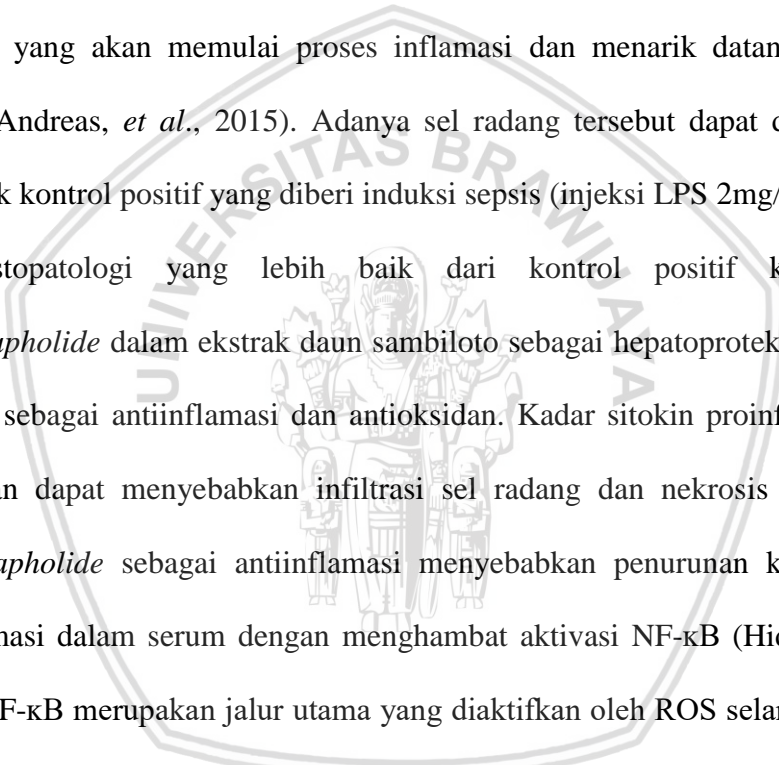
Adanya paparan senyawa toksik seperti LPS dapat memicu peningkatan produksi radikal bebas yang berlebih dan pada akhirnya menyebabkan stres oksidatif. Stres oksidatif merupakan keadaan ketidakseimbangan antara jumlah oksidan (radikal bebas) dengan antioksidan yang ada di dalam tubuh. Radikal bebas bersifat sangat reaktif, dapat menimbulkan perubahan biokimiawi dan merusak berbagai komponen sel hidup seperti protein, lipid, karbohidrat dan nukleat membran sel yang terdiri dari komponen-komponen lipid. Serangan radikal bebas terhadap komponen lipid akan menimbulkan reaksi peroksidasi lipid (Darwadi, 2013). Peroksidasi lipid menyebabkan kerusakan membran sel dan mengakibatkan struktur sel menjadi tidak normal dan merusak fungsi sel. Peroksidasi lipid dan penurunan kadar antioksidan endogen adalah indikator stress oksidatif yang merupakan salah satu jejas pada sel. Apabila sel mengalami jejas yang disebabkan oleh berbagai faktor, maka akan terjadi serangkaian perubahan morfologi sel yang

repository.ub.ac.id

dapat bersifat subletal yaitu degeneratif atau letal berupa nekrotik. Salah satu perubahan yang diinduksi oleh radikal bebas yaitu perubahan sifat membran sel dan membran sitoplasmik unsur sel seperti mitokondria dan lisosom yang disebabkan peroksidasi lemak. Setelah merusak membran sel, efek toksik juga dapat mencapai inti dan merusaknya, yang mengakibatkan struktur sel menjadi tidak normal dan akhirnya menjadi nekrosis. Sel yang mengalami nekrosis akan melepaskan berbagai mediator yang akan memulai proses inflamasi dan menarik datangnya sel-sel radang (Andreas, *et al.*, 2015). Adanya sel radang tersebut dapat diamati pada kelompok kontrol positif yang diberi induksi sepsis (injeksi LPS 2mg/kg BB).

Histopatologi yang lebih baik dari kontrol positif karena efek *andrographolide* dalam ekstrak daun sambiloto sebagai hepatoprotektor memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi dan antioksidan. Kadar sitokin proinflamasi yang berlebihan dapat menyebabkan infiltrasi sel radang dan nekrosis pada hepar. *Andrographolide* sebagai antiinflamasi menyebabkan penurunan kadar sitokin proinflamasi dalam serum dengan menghambat aktivasi NF- $\kappa$ B (Hidalgo, *et al.*, 2013). NF- $\kappa$ B merupakan jalur utama yang diaktifkan oleh ROS selanjutnya akan menyebabkan terjadinya fosforilasi I $\kappa$ B sehingga ikatan NF- $\kappa$ B terlepas dan heterodimer NF- $\kappa$ B (p50 dan p65) bebas dan menyebabkan NF- $\kappa$ B bertranslokasi ke dalam inti sel secara otomatis. Aktivasi NF- $\kappa$ B menginduksi transkripsi gen-gen inflamasi seperti sitokin, radikal bebas dan bentuk lipid peroksidase dan akan menyebabkan stress oksidatif yang dapat terjadi pada sel endotel. Sitokin proinflamasi yang dikeluarkan dapat mengaktifkan sel endotel sinusoid hepar untuk meningkatkan molekul adhesi, yang kemudian terjadi perekrutan neutrophil dan

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



monosit menuju hepar. Peroksidasi lipid menyebabkan kerusakan membran sel dan mengakibatkan struktur sel menjadi tidak normal dan merusak fungsi sel yang berujung pada terjadinya nekrosis. *Andrographolide* akan menghambat translokasi inti subunit p65 NF- $\kappa$ B dan mencegah pengikatan NF- $\kappa$ B pada DNA, sehingga gengen inflamasi tidak terbentuk, tidak ada infiltrasi sel radang dan nekrosis (Wang dan Baldwin, 1998).

Tubuh memiliki sistem enzimatik dan nonenzimatik untuk menonaktifkan radikal bebas sebagai respons terhadap radikal bebas, meliputi superoksida dismutase (SOD), glutathion (GSH), katalase, dan antioksidan endogen lainnya (Andreas, 2015). Wahyuni (2005) menjelaskan bahwa zat toksik serta radikal bebas menyebabkan rusaknya sel atau jaringan, sedangkan *andrographolide* merupakan antioksidan yang dapat meredam radikal bebas untuk kemudian menjadi produk non toksik atau tidak berbahaya, sehingga radikal bebas tidak sampai merusak organel sel hepar.

Endotoksin (LPS) mengakibatkan peroksidasi lipid dan mengaktifkan senyawa oksigen reaktif (ROS), walaupun radikal bebas dan ROS berguna ketika diproduksi pada jumlah, tempat dan waktu yang tepat, namun apabila jumlahnya lebih dapat merusak organel sel yaitu lisosom dan mitokondria sehingga menyebabkan nekrosis sel (Wahyuni, 2005). Masuknya suatu substansi toksik dalam waktu yang lama akan menyebabkan nekrosis pada lobulusnya, diawali dengan perubahan morfologi inti sel yaitu piknosis. Tahap berikutnya inti pecah (karioheksis) dan inti menghilang (kariolisis). Piknosis terjadi karena kerusakan membran yang diikuti oleh kerusakan mitokondria dan aparatus golgi sehingga sel

tidak mampu mengeliminasi air dan trigliserida sehingga tertimbun dalam sitoplasma sel (Adikara, dkk., 2013)

Antioksidan akan memindahkan senyawa oksigen reaktif (ROS) yang ada dalam tubuh menjadi produk non toksik atau non radikal. LPS yang masuk ke dalam tubuh akan sampai pada membran plasma dan meningkatkan jumlah ion-ion dalam tubuh yaitu  $\text{N}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Fe}_2^+$ ,  $\text{Cu}_2^+$ . Ion-ion berlebihan akan mengakibatkan nekrosis pada sel-sel hati, yang terlihat pada gambaran kontrol positif dan perlakuan, yaitu batas antar hepatosit menjadi tidak jelas, inti sel menyusut dan menghitam, parenkim hati rusak bercampur dengan infiltrasi sel radang yang memadati bagian vena sentral dan *portal triad*. Pemberian antioksidan selama masa preventif akan bekerja dengan menekan proses pembentukan radikal bebas. Antioksidan yang berasal dari dalam dan luar tubuh menurunkan hidropersida dan hidrogen persida, sehingga tidak terjadi pembentukan radikal bebas dan beberapa protein dengan ion logam (Lobo, 2010). *Andrographolide* menangkap ion-ion berlebihan yang dapat mempengaruhi terbentuknya senyawa oksigen reaktif baru, jika tidak berlebihan maka tidak akan sampai pada kematian sel (nekrosis) (Wahyuni, 2005). Wulandari, dkk. (2007) dalam pembahasannya menambahkan, berdasarkan Trivedi dan Rawal (2000), sambiloto bekerja memperbaiki kerusakan organ hepar akibat toksisitas senyawa xenobiotik, dengan cara meningkatkan status enzim antioksidan, yaitu glutathion.

## BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN

### 6.1. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian dan analisa yang telah dilakukan, maka dapat ditarik kesimpulan, bahwa pemberian ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness) dosis 1000 mg/kg BB dapat dijadikan sebagai preventif sepsis pada tikus (*Rattus novergicus*) hasil induksi LPS berdasarkan penurunan kadar sitokin IL-1 $\beta$  serum dan gambaran histopatologi sel hepatosit yang tetap normal pada hepar.

### 6.1. Saran

Penelitian mengenai pengaruh pemberian ekstrak daun sambiloto pada tikus model sepsis hasil induksi LPS perlu dikaji lebih lanjut guna mengembangkan potensi ekstrak daun sambiloto lainnya sehingga dapat dijadikan salah satu pilihan alternatif preventif maupun terapi untuk sepsis.



## DAFTAR PUSTAKA

- Adikara, I. P. A., I.B.O. Winaya, dan W. Sudira. 2013. Studi Histopatologi Hati Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang diberi Ekstrak Etanol Daun Kedondong (*Spondias dulcis* G.Forst) secara Oral. *Buletin Veteriner Udayana*, 5(2): 107-113.
- Akbar, B. 2010. *Tumbuhan dengan Kandungan Senyawa Aktif yang Berpotensi sebagai Bahan Antifertilitas*. Adabia Press., Jakarta. 4-5.
- Al Kahfi, L.S.A.H., S. Murwani., P. Trisunuwati. 2013. Pengaruh Ekstrak Air *Moringa oleifera* Lam. terhadap Kadar Interleukin-1 Beta (IL-1B) dan Gambaran Histopatologi Pulau Langerhans Pankreas *Rattus norvegicus* dengan Perlakuan Diet Aterogenik. *Student Journal Vet School Universitas Brawijaya*, 2(2): 1-12.
- Al-Sadi, R. M., and T. Y. Ma. 2007. IL-1 $\beta$  Causes an Increase in Intestinal Epithelial Tight Junction Permeability. *J Immunol*, 178(7): 4641-4649.
- Andreas, H., H. F. Trianto, dan M. In'am Ilmiawan. 2015. Gambaran Histologi Regenerasi Hati Pasca Penghentian Pajanan Monosodium Glutamat pada Tikus Wistar. *Journal UI*, 3(1): 29-36.
- Arauna, Y., Aulanni'am, dan D.A. Oktavianie. 2012. Studi Kadar Trigliserida dan Gambaran Histopatologi Hepar Hewan Model Tikus (*Rattus norvegicus*) Hiperkolesterolemia yang Diterapi dengan Ekstrak Etanol Air Benalu Mangga (*Dendrophthoe petandra*). *Student Journal, Vet School Universitas Brawijaya*, 3(2): 1-8.
- Baptista, P. M. 2012. *Liver Regeneration*. InTech, Croatia.
- Baradero, M., M. W. Dayrit, dan Y. Siswadi. 2008. *Klien Gangguan Hati: Seri Asuhan Keperawatan*. EGC. Jakarta.
- Berata, I.K., A.A.G. Arjana., I.W. Sudira., I.M. Merdana., I.K. Budiasa dan I.B.M. Oka. 2010. Studi Patologi Kejadian Cysticercosis pada Tikus Putih. *Jurnal Veteriner*, 11(4): 232-237.
- Buchori dan Prihatini. 2006. Diagnosis Sepsis Menggunakan Procalcitonin. *Indonesian Journal of Clinical Pathology and Medical Laboratory*, 12(3): 131-137.
- Cohen, J. 2006. The Immunopathogenesis of Sepsis. *Nature Insight Review Articles*, 420: 885-891.



- Conti, C.J., I.B. Gimenez-Conti, F. Benavides, A.F.W. Frijhoff, and M.A. Conti. 2004. Atlas of Laboratory Mouse Histology. [//http.ctrngenpath.net/static/atlas/mousehistology/Windows/introduction.html](http://http.ctrngenpath.net/static/atlas/mousehistology/Windows/introduction.html). [12 Mei 2017]
- Darwadi, R. P., Aulanni'am, dan C. Mahdi. 2013. Pengaruh Terapi Kurkumin Terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) Hasil Isolasi Parotis dan Profil Protein Tikus Putih yang Terpapar Lipopolisakarida (LPS). *Kimia.Studentjournal*, 1(1): 133-139.
- Dewi, V. R. 2012. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*) sebagai Hepatoprotektor terhadap Bilirubin Tikus yang Diinduksi Parasetamol. *E-Journal Pustaka Kesehatan, Universitas Jember*.
- Doi, K., A. Leelahavanichkul, P. S.T. Yuen, and R. A. Star. 2009. Animal Models of Sepsis and Sepsis-Induced Kidney Injury. *J. Clin. Invest*, 119: 2868–2878.
- Ermawati, T. 2015. Potensi Gel Ekstrak etanol Biji Kopi Robusta (*Coffea robusta*) terhadap Ekspresi TNF- $\alpha$  pada Tikus Periodontitis yang di Induksi *Porphyromonas gingivalis*. *E-Journal Pustaka Kesehatan, Universitas Jember*.
- Fahri, C., Sutarno, dan S. Listyawati. 2005. Kadar Glukosa dan Kolesterol Total Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L.) Hiperqlikemik setelah Pemberian Ekstrak etanol Metanol Akar Meniran (*Phyllanthus niruri* L.). *Biofarmasi*, 3(1): 1-6.
- Gloria, L.C and D. Brough. 2011. Understanding the Mechanism of IL-1b Secretion. *SciVerse Science Direct*, 22: 189-195.
- Goenarwo, E., Chodidjah, dan R. Kusuma. 2010. Perbedaan Kadar SGOT antara Pemberian Air Rebusan Daun Sendok (*Plantago major*) dan Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness): Studi Eksperimen pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar yang Diinduksi Parasetamol. *Sains Medika*, 2(1): 41-45.
- Guntur, A. H. 2008. The Role of Norepinephrine in Septic Shock Patients. *Dexa Media*, 21 (1): 3-7.
- Harini, M dan O.P. Astirin. 2009. Kadar Kolesterol Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Hiperkolesterolemik setelah Perlakuan VCO. *Bioteknologi*, 6(2): 55-62.
- Herwanto, V dan Z. Amin. 2009. Sindrom Disfungsi Organ Multipel: Patofisiologi dan Diagnosis. *Maj Kedokt Indon*, 59(11): 547-554.

- Hidalgo, M. A., J. L. Hancke, J. C. Bertoglio, and R. A. Burgos. 2013. Andrographolide a New Potential Drug for the Long Term Treatment of Rheumatoid Arthritis Disease. *InTechOpen, Chapter 11*, 55642: 247-270.
- Hidayat, A., W. Christijanti, dan A. Marianti. 2013. Pengaruh Vitamin E terhadap Kadar SGPT dan SGOT serum darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan Galur Wistar yang Dipapar Timbal Per-Oral. *Unnes Journal of Life Science*, 2(1).
- Isola, J.G.M.P., A.E. Santana, G.B. Pereira-Neto, and R.C. Rabelo. 2013. Severe Sepsis and Septic Shock Survival in A Clinical Canine Model. *Crit Care*, 17(4): P110.
- Kleiner, G., A. Marcuzzi, V. Zanin, L. Monasta, and G. Zauli. 2013. Cytokine Levels in the Serum of Healthy Subjects. *Hindawi Publishing Corporation, Research Article*, 434010: 1-6.
- Koçak, H. 2008. Liver Regeneration: Potential Roles of Mesenchymal Stem Cells and Toll Like Receptors [THESIS]. The Department of Molecular Biology and Genetics and The Institute of Engineering and Science of Bilkent University.
- Kongshavn, P.A.L. 1995. The Science of Glutathione. [www.nutriadvisor.com/Glutathion\\_info.htm](http://www.nutriadvisor.com/Glutathion_info.htm).
- Kurt, A. N. C., A. D. Aygun, A. Godekmer, A. Kurt, Y. Dogan, and E. Yilmaz. 2007. Serum IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, and TNF- $\alpha$  Levels in Early Diagnosis and Management of Neonatal Sepsis. *Hindawi Publishing Corporation, Research Article*, 31397: 1-5.
- Liaskou, E., D. V. Wilson, and Y. H. Oo. 2012. Innate Immune Cells in Liver Inflammation. *Hindawi Publishing Corporation, Mediators of Inflammation*, 949157: 1-21.
- Lobo, A., A. Patil, A. Phatak, and N. Chandra. 2010. Free Radicals, Antioxidants and Functional Foods: Impact on Human Health. *Pharmacogn Rev*, 4(8): 118-126.
- Lopez-Castejon, G., and D. Brough. 2011. Understanding the Mechanism of IL-1 $\beta$  Secretion. *Cytokine & Growth Factor Reviews*, 22: 189–195.
- Manu, K. A., and G. Kuttan. 2008. Immunomodulatory Activities of Punarnavine, An Alkaloid from *Boerhaavia diffusa*. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 31(3): 377-387.

- Marianingsih, P. 2012. Induksi Respon Pertahanan Tanaman Tembakau (*Nicotiana tabacum*) oleh Lipopolisakarida Bakteri *Pseudomonas syringae* pv. *Tabaci* dan *Pseudomonas syringae* pv. *Glycinea* [Thesis]. Program Pascasarjana Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Indonesia.
- Napitupulu, H.H. 2010. Sepsis. *Anesthesia & Critical Care*, 28(3): 50-58.
- Nessler, Nicolas., Y. Launey, C. Aninat, F. Morel, Y. Mallédant, and P. Seguin. 2012. Clinical review: The liver in sepsis. *Critical Care*, 16(5): 235-242.
- Oematan, Y., J.I.Ch. Manoppo, dan A.L. Runtunuwu. 2009. Peran Inflamasi dalam Patofisiologi Sepsis dan Syok Septik pada Anak. *Jurnal Biomedik*, 3(1): 166-173.
- Pudjiadi, Antonius. 2013. *Tata Laksana Berbagai Keadaan Gawat Darurat pada Anak: Syok Septik Pediatrik*. Buku Pendidikan Kedokteran Berkelanjutan. Departemen Ilmu Kesehatan Anak FKUI-RSCM. 11-12.
- Qun, F.H., T. Yang, W. Xiao, L. Fan, Y. Wu, N. Terrando, and T.L. Wang. 2014. Prolonged Neuroinflammation After Lipopolysaccharide Exposure In Aged Rats. *Plos One*, 9(8): 1-9.
- Rana, M. Al-Sadi and T.Y. Ma. 2007. IL-1 $\beta$  Causes an Increase in Intestinal Epithelial Tight Junction Permeability. *Immunol*, 178(7): 4641-4649.
- Ratnani, R. D., I. Hartati, dan L. Kurniasari. 2012. Potensi Produksi Andrographolide dari Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) melalui Proses Ekstrak Etanolsi Hidrotropi. *Momentum*, 8(1): 6-10.
- Royani, J. I., D. Hardianto, dan S. Wahyuni. 2014. Analisa Kandungan Andrographolide Pada Tanaman Sambiloto (*Andrographis Paniculata*) dari 12 Lokasi di Pulau Jawa. *J. Biotek. Bios. Indon*, 1(1): 23-29.
- Sananta, P., P. Sidabutar, Inggra, dan T. Risantoso. 2017. Kadar Interleukin-1 $\beta$  pada Fase Inflamasi Osteomyelitis Fraktur Tulang Femur Tikus (*Rattus norvegicus*) dengan Intramedula Pinning dan Gips Sirkular. *Majalah Kesehatan FKUB*, 4(3): 114-120.
- Soeroso, A. 2007. Sitokin. *Jurnal Oftalmologi Indonesia*, 5(3): 171-180.
- Srijanto, Bambang., O. P. Bunga, L. Khojayanti, E. Rismana, dan Sriningsih. 2012. Pemurnian Ekstrak Etanol Sambiloto (*Andrographis Paniculata* Ness.) dengan Teknik Ekstraksi Cair-Cair. *Prosiding InSINas*, 96: 26-29.

- Starr, M.E and H. Saito. 2014. Sepsis in Old Age: Review of Human and Animal Studies. *Aging and Disease*, 5(2): 126-136.
- Sudarmi. 2015. Pengaruh Tingkat Naungan Terhadap Hasil dan Kandungan Andrographolide Sambiloto (*Andrographis Paniculata* Ness). *Magistra*, 92: 78-85 ISSN 0215-9511.
- Sumantri, S. 2012. Tinjauan Imunopatogenesis Sepsis. [http://http.internist.weebly.com/uploads/1/6/7/2/16728952/tinjauan\\_imunopatogenesis\\_sepsis.pdf](http://http.internist.weebly.com/uploads/1/6/7/2/16728952/tinjauan_imunopatogenesis_sepsis.pdf). [15 Mei 2017].
- Susanto, M. 2014. Efek Kulit Manggis (*Garcinia Mangostana* L.) yang Diekstraksi Etanol 40% terhadap Aktivitas AST dan ALT pada Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Jantan Galur Sprague Dawley yang Diinduksi Isoniazid [SKRIPSI]. Universitas Lampung, Fakultas Kedokteran.
- Thrall, M.A., G. Weiser, R. Allison and T.W. Campbell. 2012. *Veterinary Hematology and Clinical Chemistry*. John Wiley & Sons, West Sussex.
- Trivedi, N and U. M. Rawal. 2000. Hepatoprotective and Toxicological Evaluation of *Andrographis paniculata* on Severe Liver Damage. *Indian J Pharmacol*, 32: 288-293.
- Ulumiyah, D. 2012. Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Sambiloto (*Andrographis Paniculata*) sebagai Hepatoprotektor terhadap Kadar SGOT/SGPT Tikus yang Diinduksi Parasetamol. *E-Journal Pustaka Kesehatan, Universitas Jember*.
- Wahyuni, S. 2005. Pengaruh Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*, Ness) terhadap Kadar SGPT dan SGOT Tikus Putih. *Gamma*, 1(1): 45-53.
- Wang, D and A. S. Baldwin. 1998. Activation of Nuclear Factor-kB-dependent Transcription by Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  Is Mediated through Phosphorylation of RelA/p65 on Serine 529. *The Journal of Biological Chemistry*, 273(45): 29411–29416.
- Wardatun, S. 2011. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Akar, Kulit Batang dan Daun Tanaman Sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness.) dengan Metode Linoleat – Tiosianat. *Fitofarmaka*, 2(1): 9-13.
- Widiartini, W., E. Siswati, A. Setiyawati, I.M. Rohmah, dan E. Prastyo. 2014. Pengembangan Usaha Produksi Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Tersertifikas dalam Upaya Memenuhi Kebutuhan Hewan Laboratorium. *Dikti*: 1-8.
- Widjaja, H. 2009. *Anatomi Abdomen*. EGC. Jakarta.

- Widjaja, H. 2011. Pengaruh Pemberian Vitamin C terhadap Aktivitas Fagositosis Makrofag dan Kadar Vitamin C dalam Cairan Intraperitoneal Mencit Bal/c dengan Sepsis [Tesis]. Program Pasca Sarjana Magister Ilmu Biomedik dan Program Pendidikan Dokter Spesialis Ilmu Bedah. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Widyawati, T. 2007. Aspek Farmakologi Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees). *Majalah Kedokteran Nusantara*, 40(3): 216-222.
- Widyawati, T., Aulanni'am, dan D. A. Oktavianie A.P. 2013. Pengaruh Induksi Lipopolisakarida (LPS) terhadap Profil Protein dan Aktivitas Enzim Protease pada Otak Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). *Student Journal Vet School Universitas Brawijaya*, 4(2): 1-9.
- Wolfensohn, S and M. Lloyd. 2013. *Handbook of Laboratory Animal Management and Welfare*. Wiley-Blackwell, West Sussex.
- Wulandari, T., M. Harini, dan S. Listyawati. 2007. Pengaruh Ekstrak Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*) terhadap Struktur Mikroanatomi Hepar dan Kadar Glutamat Piruvat Transaminase Serum Mencit (*Mus musculus*) yang Terpapar Diazinon. *Bioteknologi*, 4(2): 53-58.
- Yan, J., S. Li, and S. Li. 2014. The Role of the Liver in Sepsis. *Int Rev Immunol*, 33(6): 498-510.
- Zhu, T. Dao-xin Wang, W. Zhang, Xiu-qing Liao, X. Guan, H. Bo, Jia-yang Sun, N. Huang, J. He, Yun-kun Zhang, J. Tong, Chang-yi Li. 2013. Andrographolide Protects against LPS-Induced Acute Lung Injury by Inactivation of NF- $\kappa$ B. *Plos One*, 8(2): 1-12.
- Zikriah. 2014. Uji Imunomodulator Ekstrak Etanol Jinten Hitam (*Nigella sativa* L.) terhadap Jumlah Total Leukosit, Persentase Limfosit, Persentase Monosit dan Kadar Interleukin-1 $\beta$  pada Mencit BALB/c [Skripsi]. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. Program Studi Farmasi. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. Jakarta.