

Pengaruh *Andrographolide* Terhadap Ekspresi TNF- α dan Granuloma Tuberkulosis Paru Pada Tikus yang Diinfeksi *Mycobacterium tuberculosis*

Y. Slamet Nugroho¹, Reviono¹, Suradi¹, Diding Heri Prasetyo²

¹Departemen Pulmonologi dan Kedokteran Respirasi Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret/
RSUD Dr. Moewardi, Surakarta

²Departemen Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret/
RSUD Dr. Moewardi, Surakarta

Abstrak

Latar belakang: *Andrographolide* sebagai anti inflamasi menghambat aktivasi NF- κ B, produksi TNF- α , produksi IL-12, menekan pelepasan inducible nitric oxide synthase (iNOS), menghambat pelepasan COX-2 pada sel fibroblast manusia dan juga mencegah produksi radikal oksigen. TNF- α menstimulasi migrasi sel imun menuju ke tempat infeksi, berkontribusi terhadap pembentukan granuloma, serta mempunyai kemampuan mengontrol progresifitas penyakit. Penelitian bertujuan menganalisis pengaruh *andrographolide* terhadap ekspresi TNF- α dan granuloma tuberkulosis pada tikus yang diinfeksi CFA.

Metode: Uji laboratorium di lab Histologi dan Patologi Anatomi FK UNS. Sampel tikus berjumlah 30 ekor, 10 ekor tikus sebagai kontrol, 10 ekor tikus diinjeksi CFA, 10 ekor tikus diinjeksi CFA+*andrographolide*. Dilakukan pemeriksaan granuloma secara histopathologi dan IHC pada jaringan paru di laboratorium Patologi Anatomi FK UNS.

Hasil. Penelitian menggunakan rancangan eksperimental murni atau (*true experiment*, dengan *randomized post test only control group design*). Pemberian *Andrographolide* menurunkan rata-rata ekspresi TNF- α dibandingkan pada kelompok CFA, berdasarkan deskripsi variabel ekspresi TNF- α . Hasil analisis variasi atau beda 3 rata-rata menggunakan uji Kruskal Wallis menunjukkan bahwa terdapat perbedaan 3 rata-rata jumlah granuloma dengan tingkat signifikansi sebesar 0,003 dengan derajat signifikansi $P < 0,01$. Hal itu berarti beda rata-rata jumlah granuloma pada kelompok kontrol, CFA, dan CFA+ *Andrographolide* benar-benar berbeda secara meyakinkan. Dibandingkan dengan rata-rata jumlah granuloma pada kelompok kontrol, kelompok CFA memiliki kecenderungan rata-rata jumlah granuloma lebih tinggi (meningkat), kemudian rata-rata jumlah granuloma pada kelompok CFA+ *Andrographolide* memiliki rata-rata lebih rendah dibandingkan kelompok CFA atau berarti rata-rata jumlah granuloma itu dapat dikurangi dengan pemberian *Andrographolide* ekstrak *sambiloto*.

Kesimpulan. Pemberian *Andrographolide* 14,8 % ekstrak *sambiloto* terbukti menurunkan ekspresi TNF- α paru pada tikus tuberkulosis induksi CFA. Pemberian *Andrographolide* 14,8 % ekstrak *sambiloto* terbukti menurunkan jumlah granuloma paru pada tikus tuberkulosis induksi CFA. Ada korelasi positif yang sangat kuat antara ekspresi TNF- α dengan jumlah granuloma di paru pada tikus tuberkulosis induksi CFA. (*J Respir Indo* 2018; 38(2): 75-82)

Kata kunci: *Andrographolide*, TNF- α , granuloma

Effect of *Andrographolide* on The Expression of TNF- α and Pulmonary Tuberculosis in Rats Granulomas are Infected With *Mycobacterium tuberculosis*

Abstract

Background. *Andrographolide* as an anti-inflammatory inhibit activation of NF- κ B, the production of TNF- α , IL-12, pressing the release inducible nitric oxide synthase (iNOS), inhibiting the release of COX-2 in human fibroblast cells and also prevents the production of oxygen radicals. TNF- α stimulates the migration of immune cells to get to the site of infection, contribute to the formation of granulomas, and can control the disease progresifity.

Methods. The study aims to analyze the effect of *andrographolide* on the expression of TNF- α and tuberculosis granuloma in mice infected with CFA. Laboratory tests in the laboratory of histology and pathology anatomy medical faculty of UNS. Samples are 30 individuals' mice, consist of 10 rats as control, 10 rats injected with CFA, and 10 rats injected with CFA+ *andrographolide*. Histopathology and immunohistochemistry of lung tissue granuloma examined in the laboratory of pathology anatomy medical faculty of UNS.

Results. The study design was purely experimental or (*true experiment*, with *randomized post test only control group design*). *Andrographolide* lowering the average expression of TNF- α compared to the CFA group, based on the description of the variable expression of TNF- α . The results of the analysis of three different variations or the average using Kruskal Wallis test showed that there are differences in the average number 3 granuloma with $P=0.003$. It means different average number of granulomas in the control group, CFA and CFA+ *Andrographolide* completely different convincingly. Compared with the average number of granulomas in the control group, the group CFA has a tendency average number of granuloma higher (increased), then the average number of granuloma in group CFA + *Andrographolide* has an average lower than the group CFA or mean average granuloma amount can be reduced by giving *Andrographolide paniculata* extract.

Conclusion. *Andrographolide* 14.8% *paniculata* extract shown to decrease the expression of TNF- α induction of pulmonary tuberculosis in mice the CFA. *Andrographolide* 14.8% *paniculata* extract shown to reduce the number of lung granuloma in mice induced tuberculosis CFA. There is a positive correlation between the expression of strong TNF- α by the number of granulomas in the lungs in mice induced tuberculosis CFA. (*J Respir Indo* 2018; 38(2): 75-82)

Keywords: *Andrographolide*, TNF- α , granuloma

Korespondensi: Y. Slamet Nugroho

Email: nugrohoparu@gmail.com

PENDAHULUAN

Tuberkulosis masih menjadi ancaman kesehatan dunia. Kasus tuberkulosis (TB) disertai infeksi *human immunodeficiency virus* (HIV) positif diperkirakan berjumlah 1,2 juta atau 12% dari 9,6 juta pasien TB dengan lokasi terbanyak di benua Afrika sejumlah 74% dari seluruh kasus. Tingkat kematian akibat TB turun 47% sejak tahun 1990. Hasil program pengobatan TB dengan metode *direct observed treatment short course* (DOTS) dapat menyelamatkan nyawa 43 juta orang dengan TB pada tahun 2000 sampai 2014.¹

Target *millenium development goals* (MDGs) untuk menghentikan insidens TB menunjukkan hasil yang baik pada 16 dari 22 negara dengan predikat *high burden countries*. Insidens TB telah menurun rata-rata 1,5% per tahun secara global sejak tahun 2000 dan saat ini 18% lebih rendah dibandingkan angka tahun 2000. Negara India, Indonesia, dan China memiliki jumlah kasus TB tertinggi yaitu 23%, 10%, dan 10% secara global. Infeksi *Mycobacterium tuberculosis* dapat menjadi TB aktif dan infeksi TB laten. Penderita TB laten diperkirakan sekitar 2 milyar jiwa seluruh dunia sehingga dapat menjadi reservoir potensial reaktivasi TB atau menyebar ke orang lain.¹

Proses pembentukan granuloma pada manusia dimulai segera setelah terinfeksi *Mycobacterium tuberculosis*. Proses pembentukan granuloma keseimbangan antara *Mycobacterial killing* dan kemampuan *survival* makrofag, apabila penderita memiliki respons imun baik kuman akan mati dan bila respons imun lemah sebagian kecil *Mycobacterium tuberculosis* hidup dalam granuloma serta menetap dalam jangka waktu beberapa tahun berkembang menjadi infeksi tuberkulosis laten.²

Tumbuhan herbal atau bagian tumbuhan digunakan untuk pemberi aroma, rasa, dan komponen obat, sering digunakan untuk meningkatkan kesehatan sebagai suplementasi makanan. *Andrographis Paniculata* di Indonesia dikenal dengan nama Sambiloto biasa digunakan untuk terapi liver, keluhan perut pada anak, nyeri kolik, common cold dan infeksi saluran napas atas, tuberkulosis. *Andrographolide* ekstrak dari Sambiloto

sebagai anti inflamasi menghambat aktivasi NF- κ B, produksi TNF- α , produksi IL-12, menekan pelepasan *inducible nitric oxide synthase* (iNOS), menghambat pelepasan COX-2 pada sel fibroblast manusia dan juga mencegah produksi radikal oksigen.^{3,4}

Makrofag teraktivasi mengaktifkan NF- κ B melepaskan mediator pro inflamasi diantaranya *tumour necrosis factor* (TNF)- α , *interleukin* (IL)-1, IL-6, *interferon* (IFN)- γ , *nitric oxide* (NO), dan molekul adhesi sel untuk meningkatkan inflamasi. Modulasi efektif produk molekul tersebut mengurangi inflamasi.³

Imunopatogenesis tuberkulosis dimulai dari basil *Mycobacterium tuberculosis* yang bertahan hidup akan berkembang biak didalam makrofag alveolar dan sel dendritik, melalui *toll-like receptors 2* (TLR 2) menginduksi produksi mediator imun diantaranya TNF- α , IL-8, IFN- γ . *Tumour necrosis factor- α* berkontribusi mengontrol pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* dan formasi granuloma. *Tumour necrosis factor- α* merupakan sitokin yang muncul sebagai respons inflamasi awal dan diproduksi oleh berbagai macam sel termasuk makrofag, limfosit, neutrofil, sel mast, dan sel endotel. Fungsi TNF- α berhubungan dengan respons inflamasi menginduksi pelepasan ROI dan RNI oleh makrofag dan menstimulasi produksi IL-1 dan IL-6. *Tumour necrosis factor- α* penting dalam melawan *Mycobacterium tuberculosis* terbukti pada percobaan mencit yang diterapi antibodi anti TNF- α akan mengalami kerentanan infeksi BCG.⁵

Tumour necrosis factor- α yang dihambat menghasilkan efek yang dramatis berupa progresifitas tuberkulosis pada model percobaan. *Tumour necrosis factor- α* menstimulasi migrasi sel imun menuju ke tempat infeksi, berkontribusi terhadap pembentukan granuloma, serta mempunyai kemampuan mengontrol progresifitas penyakit.⁶

Penelitian ini akan mengetahui dan menganalisis pengaruh pemberian *Andrographolide* ekstrak dari Sambiloto terhadap ekspresi TNF- α dan proses terbentuknya granuloma.

METODE

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Histologi dan Patologi Anatomi pada bulan Mei -Juli 2016. Metode yang dilakukan rancangan eksperimental murni atau (*true experiment*, dengan rancangan *randomized post test only control group design*). Hewan coba dibagi menjadi 3 kelompok masing-masing kelompok terdiri dari 10 ekor tikus. Alokasi hewan coba ke dalam 3 kelompok yang homogen dilakukan secara random untuk mempertahankan validitas internal, sehingga setiap anggota sampel mempunyai kesempatan sama untuk menempati kelompok perlakuan maupun kelompok kontrol.⁷

Tikus sebagai hewan coba diinfeksi dengan secara injeksi intra vena 1 mg/KgBB *complete Freund's adjuvant* (CFA) pada ekor untuk menjadi sampel penyakit tuberkulosis. Perlakuan pada penelitian ini adalah pemberian obat *Andrographolide* 14,8 % ekstrak Sambiloto. Pengukuran variabel tergantung pada penelitian ini adalah ekspresi TNF- α dengan metode Lukey PT *et al* tahun 2002 dan granuloma dengan klasifikasi histopatologi Varello *et al* tahun 2008.

Kriteria inklusi tikus jantan sehat, umur 3-4 bulan, aktif, berat badan 200-300 gram, tikus belum pernah untuk sampel penelitian. Kriteria eksklusi tikus stres/tidak mau makan/tikus tidak aktif, tikus meninggal sebelum perlakuan. Tikus dibagi tiga kelompok masing masing kelompok terdiri 10 tikus. Kelompok pertama diberi perlakuan injeksi dengan NaCl 0,9 %, kelompok kedua dan kelompok ketiga diberi injeksi subkutan CFA 1mg/KgBB dievaluasi selama 14 hari, kemudian setelah 14 hari dilanjutkan dengan injeksi intravena CFA 1 mg/KgBB pada ekor tikus selanjutnya dievaluasi selama 28 hari. Tikus diberikan sonde *Andrographolide* 14,8% selama 14 hari. Total perlakuan 56 hari (14 minggu) dilanjutkan eksklusi terhadap ketiga kelompok tikus untuk diperiksa histopatologi anatomi dan pemeriksaan imunohistokimia TNF- α .

Uji Normalitas data variabel pada penelitian ini menggunakan uji *Shapiro-Wilk*. Analisis penelitian ini diharapkan dapat mengidentifikasi terjadinya variasi

atau perbedaan tiga rata-rata jumlah granuloma maupun ekspresi TNF- α pada kelompok kontrol, CFA dan CFA+ *Andrographolide* ekstrak sambiloto. Dengan demikian penelitian ini menggunakan analisis statistik beda k rata-rata (dalam hal ini tiga rata-rata) untuk sampel yang independen atau analisis varians atau uji F. Variasi atau beda ketiga rata-rata atau rata-rata masing-masing variabel berdasarkan kelompok sampel itu apabila signifikan (meyakinkan), analisis akan diteruskan dengan mencari perbedaan dua rata-rata antar kelompok sampel untuk masing-masing variabel dengan menggunakan uji lanjutan ANOVA yaitu *Post Hoc Test* dengan *LSD/Bonferroni*. Hasil uji normalitas data masing-masing variabel berdistribusi apabila tidak normal maka uji variasi atau beda beberapa rata-rata dapat menggunakan uji statistik non parametrik *Kruskal Wallis*. Penelusuran lebih lanjut untuk menguji beda rata-rata antar masing-masing kelompok sampel dapat menggunakan analisis statistik non parametrik *Mann-Whitney*.

HASIL

Variabel penelitian yang diduga dipengaruhi oleh terapi *Andrographolide* ekstrak sambiloto terdiri dari dua variabel yaitu jumlah granuloma dan ekspresi TNF- α yang masing-masing bersifat kuantitatif dengan skala data rasio. Deskripsi variabel jumlah granuloma dan ekspresi TNF- α yang bersifat kuantitatif dibatasi pada pengungkapan nilai statistik rata-rata dan standar deviasi. Pengujian normalitas data atas variabel penelitian mendapatkan bahwa data-data variabel jumlah granuloma maupun ekspresi TNF- α untuk kelompok kontrol, CFA, dan CFA+ *Andrographolide* ekstrak sambiloto ketiganya berdistribusi tidak normal.

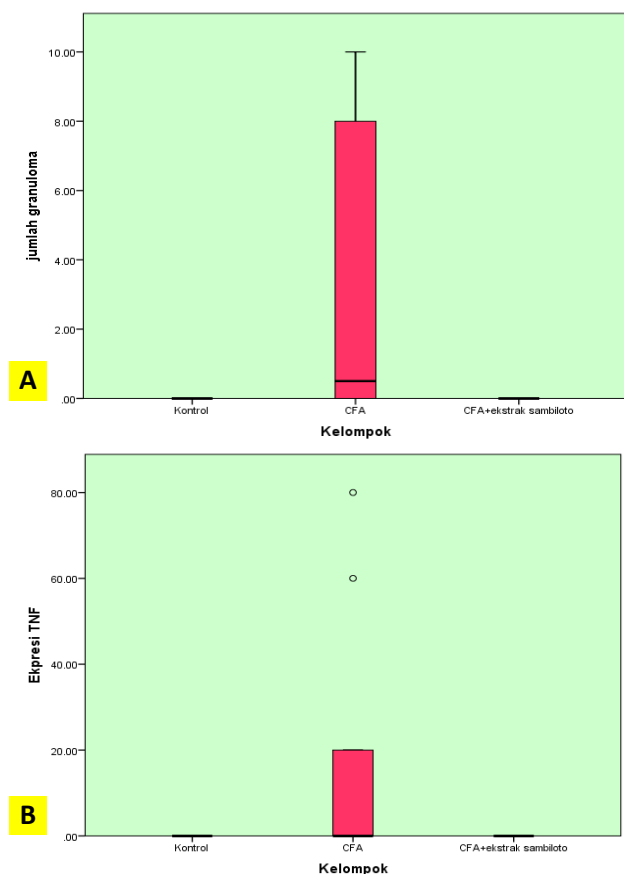
Deskripsi obyek penelitian berdasarkan nilai median (min-maks) variabel jumlah granuloma dan ekspresi TNF- α seperti terlihat pada Tabel 1. Berdasarkan deskripsi variabel jumlah granuloma di atas, nampak bahwa tikus yang diberikan perlakuan CFA memiliki rata-rata jumlah granuloma lebih tinggi dibandingkan pada kelompok kontrol. Pemberian *Andrographolide* ekstrak sambiloto mampu

menurunkan jumlah granuloma. Pemberian *Andrographolide* ekstrak sambiloto menurunkan rata-rata ekspresi TNF- α dibandingkan pada kelompok CFA, berdasarkan deskripsi variabel ekspresi TNF- α . Perbedaan rata-rata jumlah granuloma dan ekspresi TNF- α antar kelompok sampel itu seperti terlihat pada Gambar 1.

Tabel 1. Deskripsi dan uji normalitas jumlah granuloma per lapangan paru

Kelompok	Median (min–maks)	P
Jumlah Granuloma		
Kontrol	0,0	0,002**
CFA	0,5 (0,0–10)	
CFA+ <i>Andrographolide</i> ekstrak sambiloto	0,0	
Ekspresi TNF- α		
Kontrol	0,0	0,0001**
CFA	0,0 (0,0–80)	
CFA+ <i>Andrographolide</i> ekstrak sambiloto	0,0	

Keterangan: ** Signifikan pada derajat signifikansi 1%.



Gambar 1. Perbandingan nilai rata-rata A) jumlah granuloma dan B) ekspresi TNF- α per lapangan paru antar kelompok sampel.

Hasil analisis variasi atau beda 3 rata-rata menggunakan uji Kruskal Wallis menunjukkan bahwa terdapat perbedaan 3 rata-rata jumlah granuloma dengan tingkat signifikansi sebesar 0,003 dengan derajat signifikansi $P < 0,01$. Hal itu berarti beda rata-rata jumlah granuloma pada kelompok kontrol, CFA, dan CFA+ *Andrographolide* ekstrak sambiloto benar-benar berbeda secara meyakinkan.

Jika dibandingkan dengan rata-rata jumlah granuloma pada kelompok kontrol, kelompok CFA memiliki kecenderungan rata-rata jumlah granuloma lebih tinggi (meningkat), kemudian rata-rata jumlah granuloma pada kelompok CFA+ *Andrographolide* ekstrak sambiloto memiliki rata-rata lebih rendah dibandingkan kelompok CFA atau berarti rata-rata jumlah granuloma itu dapat diturunkan dengan pemberian *Andrographolide* ekstrak sambiloto.

Hasil penelusuran beda dua rata-rata variabel jumlah granuloma antar kelompok sampel dapat dijelaskan dengan Tabel 2.

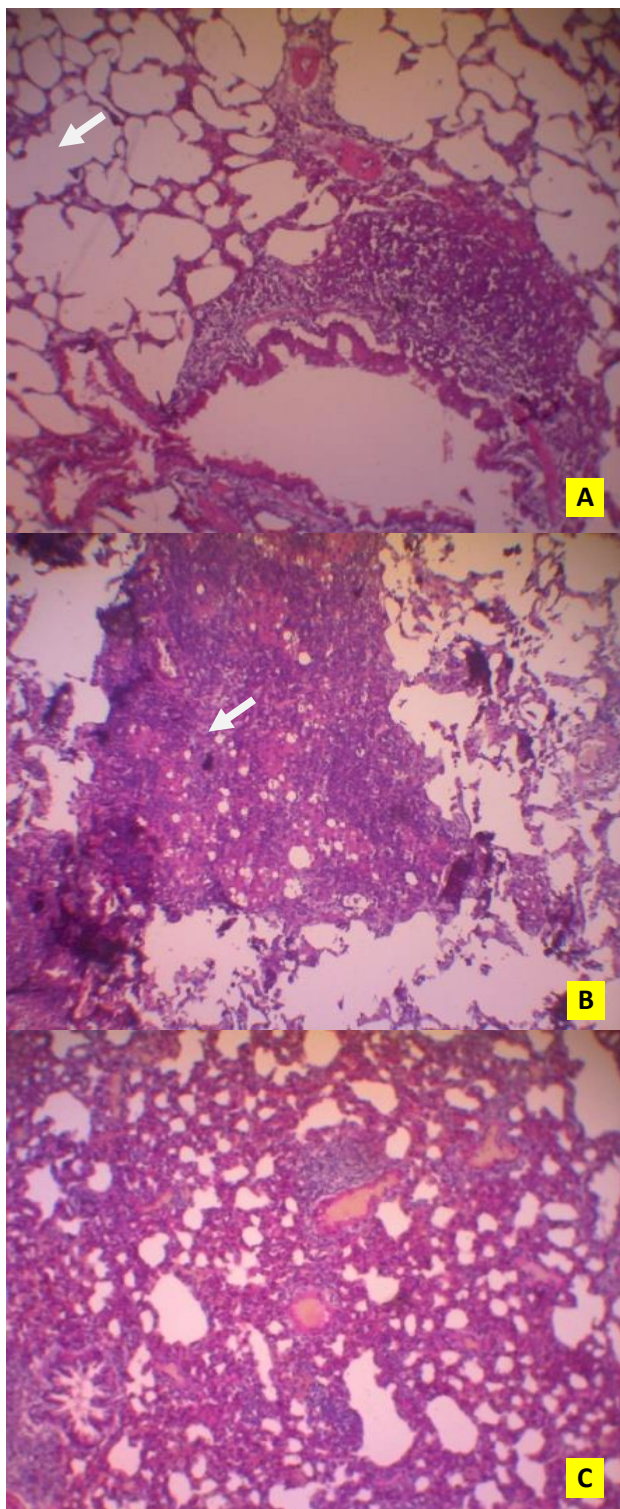
Tabel 2. Perbedaan rata-rata jumlah granuloma per lapangan paru antar Kelompok Sampel

Kelompok	Beda Rata-rata	P
Kontrol vs CFA	-2,485	0,013*
CFA vs CFA+ <i>Andrographolide</i> ekstrak sambiloto	2,485	0,013*

Keterangan: * Signifikan pada derajat signifikansi 5 persen.

Hasil analisis beda 2 rata-rata sampel independen menggunakan penelusuran uji Mann-Whitney diatas menunjukkan bahwa uji terhadap variabel jumlah granuloma antara kelompok Kontrol dan CFA signifikan pada derajat signifikansi sebesar 0,013. Hal itu dapat dikatakan bahwa pada tikus kelompok CFA mempunyai rata-rata jumlah granuloma lebih tinggi (meningkat) secara meyakinkan dibandingkan kelompok kontrol.

Kelompok yang setelah diberikan terapi *Andrographolide* ekstrak sambiloto rata-rata jumlah granuloma lebih rendah (mengalami penurunan) dibandingkan pada kelompok CFA dengan tingkat signifikansi sebesar 0,013. Pemberian *Andrographolide* ekstrak sambiloto mampu menurunkan jumlah granuloma paru.



Keterangan: A. Kelompok kontrol (tanda anak panah menunjukkan alveoli paru tikus tanpa didapatkan granuloma).
 B. Kelompok CFA (tanda anak panah menunjukkan granuloma pada paru tikus).
 C. Kelompok CFA+Sambiloto (tanda anak panah menunjukkan alveoli paru tikus tampak kesan banyak sel radang dan menebal). (Pewarnaan HE; pembesaran 400x-Olympus BX 50 Model BX-50F-3. Pentax Optio 230 Digital Camera 2.0 Megapixel).

Gambar 3. Granuloma jaringan paru masing-masing kelompok.

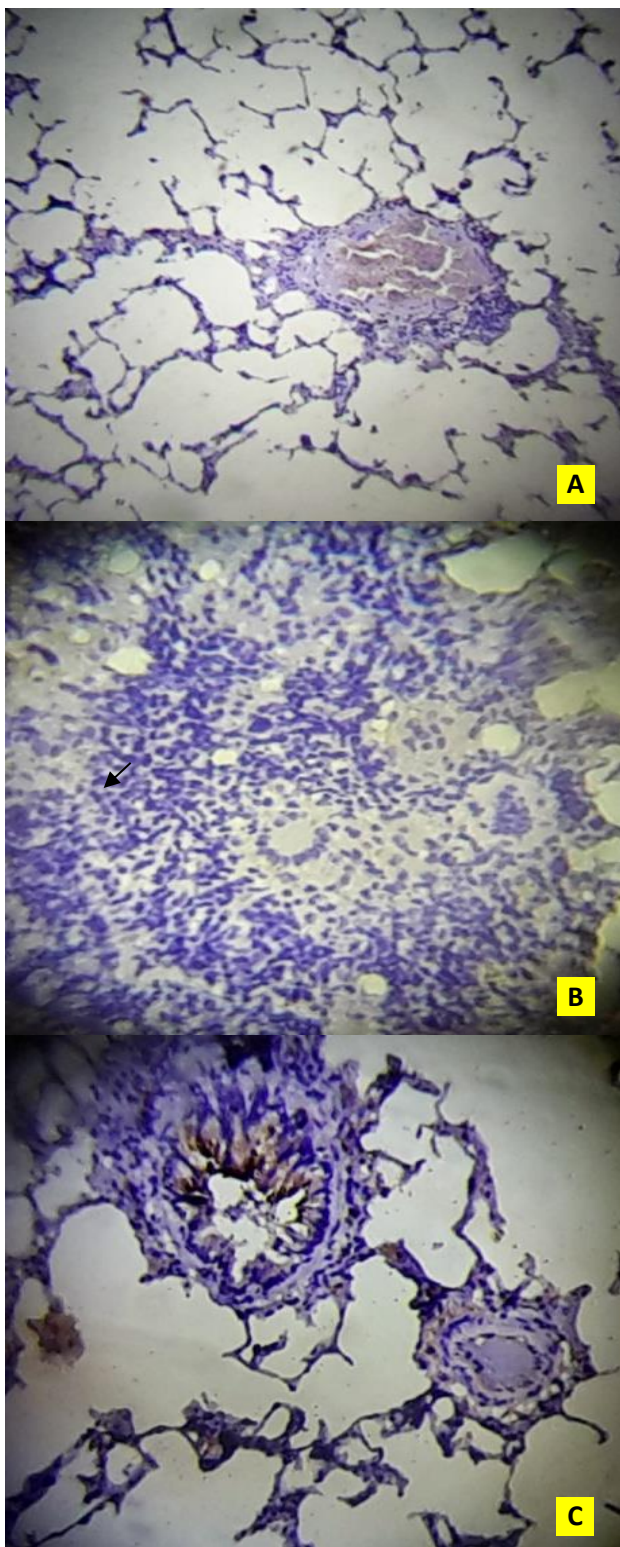
Hasil analisis variasi atau beda 3 rata-rata menggunakan uji Kruskal-Wallis menunjukkan terdapat perbedaan yang bermakna dengan tingkat signifikansi sebesar 0,012. Hal itu berarti beda rata-rata variabel ekspresi TNF- α pada kelompok kontrol, CFA, dan CFA+ *Andrographolide* ekstrak sambiloto benar-benar berbeda secara meyakinkan. Dibandingkan dengan rata-rata ekspresi TNF- α pada kelompok kontrol, kelompok CFA memiliki kecenderungan rata-rata ekspresi TNF- α lebih tinggi (meningkat), kemudian rata-rata ekspresi TNF- α pada kelompok CFA+ *Andrographolide* ekstrak sambiloto memiliki rata-rata lebih rendah (menurun) dibandingkan kelompok CFA atau berarti ekspresi TNF- α itu dapat diturunkan dengan pemberian *Andrographolide* ekstrak sambiloto. Hasil penelusuran beda dua rata-rata variabel ekspresi TNF- α antar kelompok sampel dapat dijelaskan dengan Tabel 3.

Tabel 3. Perbedaan rata-rata ekspresi TNF- α antar kelompok sampel.

Kelompok	Beda Rata-rata	P
Kontrol vs CFA	-2,163	0,031*
CFA vs CFA+ekstrak sambiloto	2,163	0,031*

Keterangan: * Signifikan pada derajat signifikansi 5 persen.

Hasil analisis beda 2 rata-rata sampel independen menggunakan penelusuran Mann-Whitney diatas menunjukkan bahwa uji terhadap variabel ekspresi TNF- α antara kelompok Kontrol dan CFA signifikan pada derajat signifikansi sebesar 0,031. Bermakna bahwa pada tikus kelompok CFA rata-rata ekspresi TNF- α lebih tinggi (meningkat) secara meyakinkan dibandingkan kelompok kontrol. Kelompok yang setelah diberikan terapi *Andrographolide* ekstrak sambiloto rata-rata ekspresi TNF- α lebih rendah (mengalami penurunan) dibandingkan pada kelompok CFA dengan tingkat signifikansi sebesar 0,031. Pemberian *Andrographolide* ekstrak sambiloto mampu menurunkan ekspresi TNF- α .



Keterangan: A. Kelompok kontrol.
 B. Kelompok CFA (tanda anak panah menunjukkan sel Datia Langhans pada paru tikus).
 C. Kelompok CFA+Sambiloto (alveoli paru tikus tampak kesan banyak sel radang dan menebal). (Pewarnaan Imunohistokimia; pembesaran 400x-Olympus BX 50 Model BX-50F-3. Pentax Optio 230 Digital Camera 2.0 Megapixel).

Gambar 4. Perbandingan gambaran ekspresi TNF- α pada paru tikus

Uji korelasi antara variabel ekspresi TNF- α (numerik) dengan jumlah granuloma (numerik) menggunakan uji korelasi Pearson, karena distribusi data tidak normal maka menggunakan uji korelasi Spearman. Hasil uji korelasi Spearman menunjukkan adanya korelasi antara rata-rata ekspresi TNF- α dan jumlah granuloma dengan derajat signifikansi sebesar 0,001. Nilai korelasi Spearman sebesar 0,867 menunjukkan bahwa arah korelasi positif dengan kekuatan korelasi yang sangat kuat (Tabel 4). Bermakna bahwa pada tikus kelompok CFA rata-rata ekspresi TNF- α semakin tinggi, maka akan semakin banyak granuloma terbentuk.

Tabel 4. Korelasi ekspresi TNF- α dengan jumlah granuloma

Variabel	Jumlah Granuloma		
	r	P	N
Ekspresi TNF- α	0,867**	0,001	30

Keterangan: ** Signifikan pada derajat signifikansi 1%.

PEMBAHASAN

Hasil penelitian ini memperlihatkan induksi CFA 1 mg/KgBB dengan cara injeksi subkutan dilanjutkan injeksi intavena di ekor tikus, dapat meningkatkan ekspresi TNF- α dan jumlah granuloma di paru secara bermakna. TNF- α berperan penting dalam pengendalian *M. tuberculosis*, sebagian dengan menambah respons sel T melalui peningkatan fusi fagolisosom di makrofag (sehingga mengoptimalkan imunitas sel T CD4+ dengan meningkatkan presentasi antigen) dan apoptosis (melalui aktivasi sel T CD8+). Hasil penelitian ini terlihat adanya korelasi positif antara ekspresi TNF- α di paru dengan terbentuknya granuloma di paru. Semakin tinggi ekspresi TNF- α di paru, maka akan semakin meningkat jumlah granuloma yang terbentuk. *M. tuberculosis* dapat menghindari imunitas antituberkulosis (anti-TB) dengan menghambat produksi TNF melalui ekspresi komponen *Mycobacterium* tertentu.¹⁰

M. tuberculosis yang bertahan hidup akan berkembang biak didalam makrofag alveolar dan sel dendritik, melalui TLR-2 menginduksi produksi mediator imun diantaranya TNF- α , IL-8 dan IFN- γ . TNF- α berkontribusi mengontrol pertumbuhan *M.*

tuberculosis dan pembentukan granuloma.⁵ TNF- α menstimulasi migrasi sel imun menuju ke tempat infeksi, berkontribusi terhadap pembentukan granuloma, serta mempunyai kemampuan mengontrol progresitas penyakit.⁶ Berbagai penelitian menggunakan model inaktivasi TNF dan pengobatan dengan molekul yang dapat menetralkan TNF, terbukti keterlibatan TNF sebagai faktor kunci dalam respons imun protektif host terhadap infeksi *M. tuberculosis*.¹¹

Pemberian *Andrographolide* ekstrak sambiloto pada penelitian ini menunjukkan secara bermakna mampu menurunkan jumlah granuloma dan ekspresi TNF- α pada paru tikus yang diinduksi dengan CFA. Dimungkinkan karena dalam kondisi tidak aktif, NF- κ B terikat oleh I κ B. Apabila terjadi suatu rangsangan oleh sebab apapun (termasuk CFA) akan mengaktifkan I κ B-kinase yang berakibat terlepasnya ikatan NF- κ B dan I κ B sehingga mengaktifkan NF- κ B, yang pada akhirnya akan terjadi inflamasi. *Andrographolide* yang terkandung dalam ekstrak Sambiloto memiliki aktivitas biologis menghambat aktivasi NF- κ B melalui penghambatan fosforilasi I κ B,¹² sehingga akan menekan produksi TNF- α , IL-12, IL-1 β , produksi NO, pelepasan iNOS dan menghambat pelepasan COX-2 pada sel fibroblast manusia, serta produksi radikal oksigen. Keadaan ini akan berujung pada penurunan inflamasi.^{3,4,12}

Hasil ini didukung dari hasil penelitian pada tahun 2016 oleh Chavez-Galan *et al.*, penggunaan model inaktivasi TNF dan pengobatan dengan molekul yang dapat menetralkan TNF pada tikus model tuberkulosis menunjukkan adanya gangguan kontrol mekanisme bakterisida, kerusakan pembentukan granuloma dan perubahan respons imun Th-1 pada tikus yang memiliki aktivitas TNF yang berkurang.

Dengan pembuktian kemaknaan *Andrographolide* ekstrak sambiloto mampu menekan ekspresi TNF- α dan jumlah granuloma paru tikus tuberkulosis yang diinduksi CFA. Dikembangkan ekstrak sambiloto sebagai adjuvan terapi dapat dijadikan protokol terapi standar dalam penatalaksanaan tuberkulosis paru. Diharapkan

penambahan terapi *Andrographolide* ekstrak sambiloto pada pasien tuberkulosis dapat bermanfaat bagi pengetahuan, pengobatan/pelayanan kesehatan, dan pasien TB.

Nilai-nilai kebaruan dari penelitian ini adalah solusi baru, dimana hasil penelitian ini merupakan solusi baru dengan mengkombinasikan penggunaan *Andrographolide* ekstrak sambiloto pada TB paru, sehingga akan menurunkan progresivitas infeksi TB paru bahkan menghentikan insiden TB, melalui penurunan ekspresi TNF- α dan jumlah granuloma. Selain itu, adanya strategi baru, dimana hasil penelitian ini akan memberikan suatu informasi, bahwa dalam penatalaksanaan TB paru seharusnya dikombinasikan *Andrographolide* ekstrak sambiloto dengan dosis yang tepat sehingga memberikan efek protektif maksimal untuk mencegah atau mengurangi terjadinya morbiditas dan mortalitas akibat infeksi TB. Serta perspektif baru dimana hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai dasar/acuan dalam pengembangan penggunaan obat-obatan TB baru yang berdasarkan patogenesis biomolekuler.

Keterbatasan penelitian dalam penelitian ini yaitu pemberian *Andrographolide* ekstrak sambiloto 14,8% pada penelitian ini, dosis yang digunakan secara peroral dengan dosis 10 mg/kgBB per hari selama 14 hari, sehingga diperlukan pemberian variasi dosis untuk mendapatkan efek optimal serta penggunaan pemberian *Andrographolide* ekstrak sambiloto melalui jalur lain (intravena). Selain itu, penelitian ini memberikan herbal anti inflamasi dan antioksidan (*Andrographolide* ekstrak sambiloto) memang bermanfaat, tetapi akan lebih baik bila dibandingkan dengan herbal yang memiliki anti inflamasi dan antioksidan lainnya.

KESIMPULAN

Pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian *Andrographolide* 14,8% ekstrak sambiloto terbukti menurunkan ekspresi TNF- α paru pada tikus tuberkulosis induksi CFA. Pemberian *Andrographolide* 14,8% ekstrak sambiloto terbukti menurunkan jumlah granuloma paru pada tikus tuberkulosis induksi CFA. Terdapat korelasi positif

yang sangat kuat antara ekspresi TNF- α dengan jumlah granuloma di paru pada tikus tuberkulosis induksi CFA. Berdasarkan hasil penelitian tersebut maka ada beberapa saran, yaitu pemberian *Andrographolide* 14,8% ekstrak sambiloto pada penelitian ini, dosis yang digunakan secara peroral dengan dosis 10 mg/kgBB per hari selama 14 hari, sehingga diperlukan pemberian variasi dosis untuk mendapatkan efek optimal serta penggunaan pemberian *Andrographolide* ekstrak sambiloto melalui jalur lain (intravena). Penelitian ini memberikan herbal anti inflamasi dan antioksidan (*Andrographolide* ekstrak sambiloto) memang bermanfaat, tetapi akan lebih baik bila dibandingkan dengan herbal yang memiliki anti inflamasi dan antioksidan lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

1. World Health Organization. Guidelines on the management latent of tuberculosis infection. Geneva: WHO press; 2015. P. 13.
2. Flynn JL, Chan J. Tuberculosis: latency dan reactivation. *Infect Immun*. 2001;69:4195-201.
3. Chao WW, Lin BF. Isolation and identification of bioactive compounds in *Andrographis paniculata* (Chuanxinlian). *Chines Medicine*. 2010;5:2-17.
4. Levita J, Nawawi A, Mutalib A, Ibrahim S. *Andrographolide*: a review of its anti-inflammatory activity via inhibition of NF-kappabeta activation from computational chemistry aspects. *International Journal of Pharmacology*. 2010;6:569-76.
5. Zuniga J, Tores-Garcia D, Santos-Mendoza T, Rodrigues-Reyna T, Granados J, Yunia EJ. Cellular and humoral mechanisms involved in the control of tuberculosis. *Hindawi Publishing Cooperation Clinical and Developmental Immunology*. 2012;13:121-6.
6. Cavalcanti YVN, Brelaz MCA, Neves JKAL, Ferraz JC, Pereira VRA. Role of TNF-Alpha, IFN-Gamma, and IL-10 in development of pulmonary tuberculosis. *Hindawi Publishing Cooperation Pulmonary Medicine*. 2012; 12:123-32.
7. Kuntoro. Pengantar teknik sampling. Semiloka metodologi penelitian dan statistik. Surabaya: Lembaga Penelitian Universitas Airlangga; 1994.
8. Fenhalls G, Stevens L, Bezuidebhout J, Aphlete GE, Duncan K, Lukey PT. Distribution of IFN- γ , IL-4, and TNF- α protein and CD-8 T-cells producing IL-12 p40 mRNA in human lung tuberculous granulomas. *Immunology*. 2002;105:325-35.
9. Varello K, Pezzolata M, Mascarino D, Ingravalle F, Caramelli M, Bozzeta E. Comparison for the diagnosis of bovine tuberculosis in framework of eradication programs. *J Vest Diagn Invest*. 2008;20:164-9.
10. Olsen A, Chen Y, Ji Q, Zhu G, De Silva AD, Vilchèze C, et al. Targeting mycobacterium tuberculosis Tumor necrosis factor alpha-downregulating genes for the development of antituberculous vaccines. *MBio*. 2016 May 31;7:1023-15.
11. Chavez-Galan L, Vesin D, Segueni N, Prasad P, Buser-Llinares R, Blaser G, et al. tumor necrosis factor and its receptors are crucial to control mycobacterium bovis bacillus calmette-guerin pleural infection in a murine model. *Am J Pathol*. 2016;186:2364-77.
12. Zhang J, Zhu D, Wang Y, Ju Y. *Andrographolide* Attenuates I β s-induced cardiac malfunctions through inhibition of I κ B phosphorylation and apoptosis in mice. *Cell Physiol Biochem*. 2015;37:1619-28.