

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
SAMPUL DALAM.....	ii
HALAMAN AWAL DISERTASI.....	iii
HALAMAN PRASYARAT GELAR.....	iv
HALAMAN PENGESAHAN.....	v
UCAPAN TERIMA KASIH	viii
RINGKASAN	x
SUMMARY	xiii
ABSTRAK	xiv
ABSTRACT	xv
DAFTAR ISI.....	xvii
DAFTAR TABEL	xx
DAFTAR GAMBAR.....	xxii
DAFTAR LAMPIRAN	xxiv
DAFTAR SINGKATAN.....	xxvii
BAB 1	2
PENDAHULUAN.....	2
1.1 Latar Belakang.....	2
1.2 Rumusan Masalah.....	8
1.3 Tujuan	8
1.3.1 Tujuan umum	8
1.3.2 Tujuan khusus.....	8
1.4 Manfaat Penelitian	9
1.4.1 Manfaat keilmuan.....	9
1.4.2 Manfaat praktis	9
BAB 2	10
TINJAUAN KEPUSTAKAAN	10

2.1 Lupus Eritematosus Sistemik.....	10
2.2 Etiopatogenesis LES	11
2.2.1 Faktor genetik.....	12
2.2.2 Faktor hormonal	13
2.2.3 Faktor lingkungan.....	14
2.3 Imunopatogenesis LES	16
2.3.1 Peran limfosit T pada respon imun.....	16
2.3.2 Sel T pada LES.....	16
2.3.2.1 Sel T regulator (Treg).....	19
2.3.3 Sel B pada LES.....	24
2.3.4 Antibodi-anti-dsDNA pada LES	28
2.4 Sitokin pada LES	36
2.5.1 Interleukin 6 (IL-6).....	36
2.5.2 Interleukin 17 (IL-17).....	43
2.5.2 Interleukin 23 (IL-23).....	49
2.6 Manifestasi klinis pada pasien LES	51
2.6.1 Nefritis lupus	53
2.7 Kriteria diagnosis LES.....	56
2.8 Penatalaksanaan LES	57
2.9 Mencit Model Lupus.....	62
2.9.1 Metode MML dengan Injeksi Peritoneal <i>Pristan</i>	63
2.10 <i>Nigella sativa</i>	66
2.10.1 Kegunaan <i>N. sativa</i> dalam pengobatan medis.....	68
2.10.2 Karakteristik <i>N. sativa</i>	71
2.10.3 Kandungan kimia dan bahan aktif.....	72
2.10.4 <i>Nigella sativa</i> , <i>thymoquinone</i> dan sistem imun.....	76
2.10.5 Toksisitas dan dosis <i>N. sativa</i>	84
BAB 3	86
KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN.....	86
3.1 Kerangka konseptual.....	86
3.2 Penjelasan kerangka konseptual	86
3.3 Hipotesis	88
BAB 4	90
METODE PENELITIAN	90
4.1 Jenis dan desain penelitian.....	90
4.1.1 Jenis penelitian	90
4.1.2 Desain penelitian	90
4.2 Unit eksperimen dan jumlah replikasi	92

4.2.1 Unit eksperimen	92
4.3 Variabel penelitian	94
4.3.1 Variabel bebas	94
4.3.2 Variabel tergantung	95
4.3.3 Variabel antara	95
4.3.4 Variabel kendali	95
4.4 Definisi operasional variabel	96
4.5 Alat dan bahan penelitian	99
4.5.1 Pembuatan mencit model lupus.....	99
4.5.2 Perlakuan pada hewan coba.....	99
4.5.3 Pemeriksaan HPLC	100
4.5.4 Pemberian terapi dan makan	100
4.5.5 Pemeriksaan laboratorium dan histopatologi	100
4.5.5.1 Pemeriksaan antibodi anti-dsDNA.....	100
4.5.5.2 Pemeriksaan histopatologi ginjal	100
4.5.5.3 Pemeriksaan jumlah absolut sel Treg CD4 CD25 FOXP3	100
4.5.5.4 Pemeriksaan ekspresi CD4 ⁺ IL-17 ⁺	101
4.5.5.5 Pemeriksaan ekspresi CD11b ⁺ IL-23 ⁺	101
4.5.5.6 Pemeriksaan ekspresi CD11b ⁺ IL-6 ⁺	101
4.6 Prosedur penelitian	102
4.6.1 Persiapan hewan coba.....	102
4.6.2 Mencit model lupus	102
4.6.3 Ekstraksi <i>N. sativa</i> dan penentuan dosis terapi	103
4.6.4 Pembuatan Na CMC 0,2%	104
4.6.5 Pemberian Na CMC 0,2%, <i>N. Sativa</i> dan steroid.....	104
4.6.6 Terminasi dan pembedahan mencit	104
4.6.7 Pengukuran kadar antibodi anti-dsDNA	105
4.6.8 Pengukuran Interleukin dan Sel Treg	105
4.6.9 Gambaran histopatologi pada organ ginjal.....	107
4.7 Waktu, tempat dan etik penelitian	109
4.7.1 Waktu penelitian.....	109
4.7.2 Tempat penelitian	109
4.7.3 Etik Penelitian	109
4.8 Prosedur pengumpulan dan analisis data	109
4.9 Skema alur penelitian.....	111
BAB 5	112
HASIL ANALISIS	112
5.1 Karakteristik mencit model lupus	112
5.2 Efek Model lupus terhadap biomarker dan kerusakan ginjal	113
5.2.1 IL-6.....	113
5.2.2 IL-23	114
5.2.3 IL-17	115

5.2.4 Treg	117
5.2.5 Antibodi anti-dsDNA	118
5.2.6 Kerusakan ginjal	119
5.3 Efek perlakuan terhadap biomarker dan kerusakan ginjal	121
5.3.1 IL-6	121
5.3.2 IL-23	123
5.3.3 IL-17	125
5.3.4 Treg	127
5.3.5 Antibodi anti-dsDNA	129
5.3.6 Kerusakan ginjal	131
5.4 Mekanisme hambatan kerusakan ginjal pada mencit model lupus	135
BAB 6	138
PEMBAHASAN	138
6.1 Pembuatan mencit model lupus (MML)	138
6.1.1 IL 6 pada MML	140
6.1.2 IL-23 pada MML	141
6.1.3 IL-17 pada MML	142
6.1.4 Sel T regulator pada MML	143
6.1.5 Antibodi anti-dsDNA pada MML	144
6.1.6. Derajat kerusakan ginjal pada MML	146
6.2 Pengaruh ekstrak <i>N. sativa</i>	147
6.2.1 Ekstraksi <i>N. sativa</i> dan pelarut NaCMC	148
6.2.2 Pengaruh pemberian ekstrak <i>N. sativa</i> pada ekspresi IL-6	151
6.2.3 Pengaruh pemberian ekstrak <i>N. sativa</i> pada ekspresi IL-23	153
6.2.4 Pengaruh pemberian ekstrak <i>N. sativa</i> pada ekspresi IL-17	154
6.2.5 Pengaruh pemberian ekstrak <i>N. sativa</i> pada jumlah absolut sel T reg	156
6.2.6 Pengaruh pemberian ekstrak <i>N. sativa</i> pada kadar antibodi anti-dsDNA	158
6.2.7 Pengaruh pemberian steroid dibandingkan dengan <i>N. sativa</i>	161
6.2.8 Pengaruh pemberian ekstrak <i>N. sativa</i> pada kerusakan jaringan ginjal	162
6.2.9 Mekanisme hambatan kerusakan ginjal oleh <i>N. sativa</i>	164
6.2.9 Keterbatasan Penelitian	171
BAB 7	172
PENUTUP	172
7.1 Kesimpulan	172

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Autoantibodi patogen LES	34
Tabel 2.2 Gambaran manifestasi LES di daerah Asia.....	52
Tabel 2.3 Kriteria SLICC	57
Tabel 2.4 Karakteristik klinis dan imunologis hewan model lupus	63
Tabel 2.5 Jenis tumbuhan yang digunakan dalam menunjang terapi lupus.....	67
Tabel 2.6 Mekanisme kerja kandungan <i>N. sativa</i>	70
Tabel 5.1 Karakteristik mencit model lupus pada minggu ke-20	112
Tabel 5.2 Hasil rerata, rentang minimal dan maksimal ekspresi IL-6 pada kelompok kontrol negatif dan positif.....	114
Tabel 5.3 Hasil rerata, rentang minimal dan maksimal ekspresi IL-23 pada kelompok kontrol negatif dan positif	115
Tabel 5.4 Hasil rerata, rentang minimal dan maksimal ekspresi IL-17 pada kelompok kontrol negatif dan positif.	116
Tabel 5.5 Hasil rerata, rentang minimal dan maksimal jumlah sel Treg pada kelompok kontrol negatif dan positif	118
Tabel 5.6 Hasil rerata, rentang minimal dan maksimal kadar antibodi anti-dsDNA pada kelompok kontrol negatif dan positif	119
Tabel 5.7 Nilai median, rentang minimal dan maksimal derajat kerusakan ginjal pada kelompok kontrol negatif dan positif	120
Tabel 5.8 Hasil rerata, rentang minimal dan maksimal ekspresi IL-6 pada kelompok kontrol negatif, kontrol positif, plasebo, steroid, dan <i>N. sativa</i>	123
Tabel 5.9 Hasil rerata, rentang minimal dan maksimal ekspresi IL-23 pada kelompok kontrol negatif, kontrol positif, plasebo, steroid, dan <i>N. sativa</i>	125
Tabel 5.10 Hasil rerata, rentang minimal dan maksimal ekspresi IL-17 pada kelompok kontrol negatif, kontrol positif, plasebo, steroid, dan <i>N. sativa</i>	127
Tabel 5.11 Hasil rerata, rentang minimal dan maksimal jumlah absolut sel Treg pada kelompok kontrol negatif, kontrol positif, plasebo, steroid, dan <i>N. sativa</i>	129

Tabel 5.12 Hasil rerata, rentang minimal dan maksimal kadar serum antibodi anti-dsDNA pada kelompok kontrol negatif, kontrol positif, plasebo, steroid, dan <i>N. sativa</i>	130
Tabel 5.13 Nilai median, rentang minimal dan maksimal derajat kerusakan ginjal pada kelompok kontrol negatif, kontrol positif, plasebo, steroid, dan <i>N. sativa</i>	132
Tabel 5.16 Efek pemberian <i>Nigella sativa</i> terhadap hambatan kerusakan ginjal pada Mencit Model Lupus.....	137

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Mekanisme infeksi virus dalam menginduksi autoimun..... 15

Gambar 2.2 Disregulasi fungsi sel T pada LES 17

Gambar 2.3 Penyimpangan sinyal pada sel T pasien LES memicu kerusakan fungsi regulasi dan diferensiasi menjadi sel TH17 dan TFH..... 18

Gambar 2.4 skematis Treg pada IL-2 pasien LES 20

Gambar 2.5 Sel T terbentuk dari timus sebagai sel regulator (TR) atau sel T naive konvensional 21

Gambar 2.6 Perkembangan Foxp3+CD+ Treg. 22

Gambar 2.7 Pengaruh sitokin dalam diferensiasi sel T CD4+ 23

Gambar 2.8 Sifat Janus sel B 25

Gambar 2.9 Teori tentang anti-dsDNA menimbulkan nefritis lupus 33

Gambar 2.10 Beberapa sitokin, jalur, fungsi pada imun sistem dan agen biologi yang digunakan sebagai terapi pada LES 36

Gambar 2.11 Peran sinyal duplikasi IL-6 39

Gambar 2.12 Mekanisme IL-17 menginduksi dan gambaran patologis LES 46

Gambar 2.13 Akibat diferensiasi Th17 dalam perkembangan respon imun..... 48

Gambar 2.14 Jalur sinyal Th1 dan Th2..... 51

Gambar 2.15 Ketidak seimbangan hemostasis sitokin dan deposit kompleks imun nefritis lupus 54

Gambar 2.16 Klasifikasi histopatologi nefritis lupus berdasar *International Society of Nephrology and the Renal Pathology Society (ISN/RPS)*..... 56

Gambar 2.17 Penatalaksanaan terapi lupus non-renal 58

Gambar 2.18 Aktivitas glukokortikoid pada sel imun perifer..... 60

Gambar 2.19 Imunopatogenesis *pristane* dalam menginduksi lupus pada mencit 65

Gambar 2.20 Bunga dan biji *N. sativa* 71

Gambar 2.21 Struktur kimia beberapa komponen aktif *N. sativa*..... 74

Gambar 3.1 Kerangka Konseptual 86

Gambar 4.1 Desain penelitian 91

Gambar 4.2 Alur Penelitian.....	111
Gambar 5.1 Rerata hasil pengukuran dengan metode flow cytometry CD11b ⁺ IL-6 ⁺ yang diukur pada sel limpa mencit pada kelompok kontrol negatif dan positif .	113
Gambar 5.2 Rerata hasil pengukuran metode flow cytometry CD11b ⁺ IL-23 ⁺ yang diukur pada sel-sel limpa mencit pada kelompok kontrol negatif dan positif	115
Gambar 5.3 Rerata hasil pengukuran dengan metode flow cytometry CD4 ⁺ IL-17 ⁺ yang diukur pada sel-sel limpa mencit pada kelompok kontrol negatif dan positif	116
Gambar 5.4 Rerata hasil pengukuran dengan metode flow cytometry FoxP3 IL10 ⁺ yang diukur pada sel-sel limpa mencit pada kelompok kontrol negatif dan positif.	117
Gambar 5.5 Rerata hasil pengukuran kadar antibodi anti-dsDNA yang diukur pada serum mencit pada kelompok kontrol negatif dan positif.....	119
Gambar 5.6 Median derajat kerusakan jaringan ginjal yang diukur pada preparat histopatologi ginjal mencit pada kelompok kontrol negatif dan positif.....	120
Gambar 5.7 Sediaan histopatologi kontrol negatif dan positif dengan pewarnaan H&E.	121
Gambar 5.8 Sediaan histopatologi kontrol negatif dan positif dengan pewarnaan PAS.	121
Gambar 5.9 Hasil pengukuran dengan metode flow cytometry CD11b ⁺ IL-6 ⁺ yang diukur pada sel-sel limpa mencit pada masing-masing kelompok.....	122
Gambar 5.10 Hasil pengukuran dengan metode flow cytometry CD11b ⁺ IL-23 ⁺ yang diukur pada sel-sel limpa mencit pada masing-masing kelompok.....	124
Gambar 5.11 Hasil pengukuran dengan metode flow cytometry CD4 ⁺ IL-17 ⁺ yang diukur pada sel-sel limpa mencit pada masing-masing kelompok.....	126
Gambar 5.12 Hasil pengukuran dengan metode flow cytometry FoxP3 ⁺ IL-10 ⁺ yang diukur pada sel-sel limpa mencit pada setiap kelompok.....	128
Gambar 5.13 Rerata hasil pengukuran kadar antibodi anti-dsDNA yang diukur pada serum mencit pada kelompok plasebo, steroid, dan N. sativa.	130

Gambar 5.14 Median hasil pengukuran derajat kerusakan ginjal yang diukur pada preparat histopatologi ginjal pada kelompok kontrol positif, kontrol negatif, plasebo, steroid, dan <i>N. sativa</i>	132
Gambar 5. 15 Sediaan histopatologi kelompok perlakuan pewarnaan H&E.....	133
Gambar 5.16 Sediaan histopatologi kelompok perlakuan pewarnaan PAS.....	134
Gambar 5.17 Mekanisme hambatan kerusakan jaringan ginjal pada mencit model lupus setelah pemberian <i>N. sativa</i>	136

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Laporan hasil uji	195
Lampiran 2 Sertifikat laik etik	197
Lampiran 3 Surat keterangan pemeriksaan kesehatan hewan.....	198
Lampiran 4. Perhitungan statistik.....	199

DAFTAR SINGKATAN

AGEs	: <i>advanced glycation end products</i>
AP-1	: <i>activator protein 1</i>
APCs	: <i>antigen presenting cells</i>
AqE	: <i>aqueous extract</i>
BAFF	: <i>B-cell activation factor</i>
BCL-6	: <i>B-Cell Lymphoma 6</i>
BCMA	: <i>B-cell maturation antigen</i>
BCR	: <i>B cell receptor</i>
BDF-1	: <i>Bromodomain Factor 1</i>
Blimp-1	: <i>B lymphocyte-induced maturation protein-1</i>
BLyS	: <i>B Lymphocyte Stimulator</i>
BSF-2	: <i>B cell stimulatory factor 2</i>
C1q	: <i>complement receptor type 1</i>
Cad-11	: <i>cadherin-11</i>
CD34+	: <i>cluster differentiation 34+</i>
ConA	: <i>concanavalin A</i>
CREM α	: <i>cAMP-responsive element modulator α</i>
CTLA-4	: <i>cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4</i>
CXCR5	: <i>C-X-C chemokine receptor type5</i>
DC	: <i>Dendritic cell</i>
DHA	: <i>docosahexaenoic acid</i>
DN	: <i>double negative</i>
DNase	: <i>deoxyribonuclease</i>
DPLN	: <i>diffuse proliferative lupus nephritis</i>
DPPH	: <i>2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl</i>
ds	: <i>double stranded</i>
DT-diaphorase	: <i>NADPH oxidoreductase diaphorase</i>
EAE	: <i>experimental autoimmune encephalomyelitis</i>
EBNA-1	: <i>Epstein-Barr virus nuclear antigen-1</i>
EBV	: <i>Epstein Barr Virus</i>
ENAs	: <i>extractable nuclear antigen antibodies</i>
EPA	: <i>eicosapentaenoic acid</i>
ERK1/2	: <i>extracellular signal-regulated kinase 1/2</i>
fDCs	: <i>follicular dendritic cells</i>
Foxp3	: <i>forkhead box P3</i>
GATA	: <i>globin transcription factor</i>
GBM	: <i>glomerular basement membrane</i>
GC-MS	: <i>Gas Chromatography Mass Spectrometry</i>
GCs	: <i>germinal center</i>
GITR	: <i>glucocorticoid-induced TNF receptor</i>
GSH	: <i>glutathione</i>
GWAS	: <i>Genome-Wide Association Studies</i>
HE	: <i>hematoxylin eosin</i>

HIV	: <i>Human Immunodeficiency Virus</i>
HPGF	: <i>interferon β2, hybridoma/plasmacytoma growth factor</i>
HR	: <i>hazard ratio</i>
HSF	: <i>hepatocyte-stimulating factor</i>
ICAM	: <i>Intercellular Adhesion Molecule</i>
ICOS	: <i>inducible co-stimulator</i>
ICs	: <i>immune complexes</i>
iDCs	: <i>immature dendritic cells</i>
Ig	: <i>imunoglobulin</i>
IKK	: <i>inhibitor of NF-$\kappa$$\beta$ kinase</i>
IL	: <i>interleukin</i>
infDC	: <i>inflammatory DC</i>
iNOS	: <i>inducible nitric oxide synthase</i>
IPEX	: <i>immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropati, X-linked syndrome</i>
IRAK-1	: <i>interleukin-1 receptor associated kinase 1</i>
ISN/RPS	: <i>international Society of Nephrology and the Renal Pathology Society</i>
iTregs	: <i>induced T Regulatory cells</i>
I κ B α	: <i>inhibitor of NF-κB α</i>
JAK/STAT	: <i>janus kinase/signal transducers and activators of transcription</i>
LAG3	: <i>lymphocyte-activation gene 3</i>
LD	: <i>lethal Dose</i>
LES	: <i>lupus eritematosus sistemik</i>
LN	: <i>lupus nefritis</i>
LPS	: <i>lipopolysaccharide</i>
LTA4	: <i>leukotriene A4</i>
LTC4	: <i>leukotriene C4</i>
MAPK	: <i>mitogen-activated protein kinase</i>
MCP-1	: <i>monocyte chemoattractant protein 1</i>
MDA	: <i>malondialdehyde</i>
MHC	: <i>major histocompatibility complex</i>
MHC-II	: <i>major histocompatibility complex II</i>
MML	: <i>mencit model lupus</i>
MMP-13	: <i>matrix metalloproteinase 13</i>
MS	: <i>multiple sclerosis</i>
NA-IC	: <i>nucleic-acid-containing immune complexes</i>
Na CMC	: <i>carboxymethyl cellulose sodium</i>
NADPH	: <i>Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate</i>
NETs	: <i>neutrophil extracellular traps</i>
NF-AT	: <i>nuclear factor of activated T cells</i>
NF- κ β	: <i>nuclear factor kappa β</i>
NMDAR	: <i>N-methyl-d-aspartate receptor</i>
NO	: <i>Nitric Oxide</i>
NOD	: <i>nucleotide oligomerization domain</i>
nTreg	: <i>natural Treg</i>
NZB/NZW	: <i>hybrid new zealand</i>
PAS	: <i>Periodic acid-schiff</i>

PBMC	: <i>peripheral blood mononuclear cells</i>
PDA	: <i>pancreatic ductal adenocarcinoma</i>
pDCs	: <i>plasmacytoid dendritic cell</i>
PGE2	: <i>prostaglandin E2</i>
PHA	: <i>phytohemagglutinin</i>
pMHC	: <i>peptide-MHC</i>
PPAR- γ	: <i>peroxisome proliferator-activated receptor gamma</i>
PTECs	: <i>Proximal tubular epithelial cells</i>
pTreg	: <i>peripheral Treg</i>
PUFAs	: <i>polyunsaturated fatty acids</i>
PWM	: <i>Pokeweed mitogen</i>
RA	: <i>rheumatoid arthritis</i>
RA-FLS	: <i>TNF-α-induced RA synovial fibroblast</i>
RAG	: <i>recombination-activating gene</i>
RNP	: <i>Anti ribonucleoprotein</i>
ROCK	: <i>Rho-associated protein kinase</i>
SLAMF4	: <i>lymphocytic activation molecule family member 4</i>
sIa ₁ DC	: <i>human 6-sulfo LacNAc</i>
SLICC	: <i>Systemic Lupus International Collaborating Clinics</i>
SLO	: <i>secondary lymphoid organs</i>
SOD	: <i>superoxide dismutase</i>
ss	: <i>single-stranded</i>
STAT3	: <i>signal transducer and activator of transcription 3</i>
TAC1	: <i>transmembrane activator and CAML interacter</i>
TBHQ	: <i>tert-Butylhydroquinone</i>
T _{cm}	: <i>T cell central memory</i>
TCM	: <i>Traditional Chinese Medicine</i>
T _{conv}	: <i>T cell conventional</i>
TCR	: <i>T cell antigen receptor</i>
T _{fh}	: <i>follicular helper T cell</i>
TGF- β	: <i>transforming growth factor β</i>
Th	: <i>T helper</i>
THQ	: <i>Thymoquinone</i>
TI	: <i>T independent</i>
TMPD	: <i>2,6,10,14-tetramethylpentadecane</i>
TNF	: <i>tumor necrosis factor</i>
TQ	: <i>Thymoquinone</i>
Tr1	: <i>regulatory type 1 cells</i>
Treg	: <i>regulatory T cell</i>
tTreg	: <i>thymic Treg</i>
U1RNP	: <i>U1 small nuclear ribonucleoprotein</i>
VCAM	: <i>Vascular Adhesion Molecule</i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>
WT	: <i>wild type</i>