

**EKSPRESI Bcl-2, APOPTOSIS DAN AREA NEKROSIS
AKIBAT PEMBERIAN EKSTRAK CIPLUKAN**

(*Physalis angulata l*)

**Studi pemeriksaan pada sel hepar tikus wistar yang diinduksi Carbon
Tetrachlorida (CCl₄)**

**THE EXPRESSION OF Bcl-2, APOPTOSIS AND NECROSIS
AREA DUE TO CIPLUKAN EXTRACT (*Physalis angulata l*)**

**Study examination on the liver cell Wistar rat induced Tetrachlorida
Carbon (CCl₄)**



Tesis

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

Magister Ilmu Biomedik

**Yulisetyaningrum
22010111400058**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2014**

TESIS

**EKSPRESI Bcl-2, APOPTOSIS DAN AREA NEKROSIS
AKIBAT PEMBERIAN EKSTRAK CIPLUKAN (
Physalis angulata L)**

**Studi pemeriksaan pada sel hepar tikus wistar yang diinduksi Carbon
Tetrachlorida (CCl₄)**

Disusun oleh :

Yulisetyaningrum
NIM 22010111400058

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji
pada tanggal 25 Juni 2014
dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Menyetujui,
Pembimbing

Pembimbing I

Pembimbing II

Prof.dr. Edi Dharmana, PhD,Sp.ParK
NIP. 19470312 197603 1 001

Dr.dr. Andrew Johan, M.Si
NIP. 19580409 198703 1 002

Mengetahui,
Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik
Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

Prof.Dr.dr. Tri Nur Kristina, DMM, M.Kes
NIP. 19590527 198603 2 001

PERNYATAAN

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

Semarang, Mei 2014

Yulisetyaningrum
NIM 22010111400058

RIWAYAT HIDUP

A. IDENTITAS

Nama : Yulisetyaningrum
NIM : 22010111400058
Tempat / tanggal lahir : Kudus / 18 April 1981
Agama : Islam
Jenis Kelamin : Perempuan
Alamat : Loram Kulon RT 2 RW 4 Kec. Jati Kudus

B. RIWAYAT PENDIDIKAN

1. SDN 1 Loram Kulon Kudus : Lulus tahun 1993
2. SMPN 3 Kudus : Lulus tahun 1996
3. SMUN 1 Bae Kudus : Lulus tahun 1999
4. AKPER Muhammadiyah Kudus : Lulus tahun 2002
5. PSIK UMY : Lulus tahun 2004
6. Profesi Ners UMY : Lulus tahun 2006
7. Magister Ilmu Biomedik Program Pasca Sarjana UNDIP Semarang

C. RIWAYAT PEKERJAAN

Staff Pengajar STIKES Muhammadiyah Kudus tahun 2006 – sampai sekarang

D. RIWAYAT KELUARGA

1. Nama Orang Tua
Ayah : H. Mustaqim
Ibu : Hj. Suri'ah Yuliati, S.Pd
2. Nama Suami : AIPDA Agus Ariyono
3. Nama Anak : Nabilla Nur Annisa
Shaqila Almira Ramadani

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT atas limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini dengan judul **”EKSPRESI Bcl-2, APOPTOSIS DAN AREA NEKROSIS AKIBAT PEMBERIAN EKSTRAK CIPLUKAN (*Physalis angulata L*) Studi pemeriksaan pada sel hepar tikus wistar yang diinduksi Carbon Tetrachlorida (CCl₄)”** sebagai syarat untuk memperoleh derajat sarjana S-2 di bidang Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang.

Pada kesempatan yang baik ini, penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih dan penghargaan sebesar-besarnya kepada :

1. Prof. Sudharto P. Hadi, MES, Ph, D selaku Rektor Universitas Diponegoro Semarang.
2. Dr Endang Ambarwati, Sp.KFR selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang.
3. Prof.Dr.dr. Tri Nur Kristina, DMM, M.Kes, selaku Ketua Program Pasca Sarjana Ilmu Biomedik Universitas Diponegoro Semarang.
4. Prof.Dr.dr. Sarjadi, Sp.PA (K) alm selaku pembimbing I yang telah meluangkan waktu dengan penuh kesabaran untuk memberi masukan dan saran selama proses bimbingan.
5. Prof.dr. Edi Dharmana, PhD,Sp.ParK selaku pembimbing I yang telah meluangkan waktu dengan penuh kesabaran untuk memberi masukan dan saran selama proses bimbingan.

6. Dr.dr. Andrew Johan, M.Si selaku pembimbing II yang telah memberi perhatian, masukan dan saran selama proses bimbingan.
7. Dr.dr.RA. Kisdjamiatun RMD, M.Sc dan Dr. dr. Indranila Kustarini, Sp. PK. (K) selaku penguji yang telah berkenan memberikan kesempatan untuk tetap bisa melanjutkan tesis ini serta memberikan masukan – masukan berharga demi kesempurnaan tesis ini.
8. Dr. Ika Pawitra Miranti, M.Kes., Sp.PA selaku konsultan patologi anatomi pembacaan prepat yang telah meluangkan waktunya untuk membimbing penulis agar pembuatan tesis ini cepat selesai.
9. Seluruh staff pengajar Program Studi Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro yang telah sabar dan bijaksana mendidik kami selama studi sehingga kami bisa menyelesaikan program pendidikan ini.
10. Ketua STIKES Muhammadiyah Kudus yang telah memberikan ijin dan kesempatan kepada penulis untuk studi lanjut
11. Ayah dan Ibu tercinta atas kasih sayangnnya sepanjang masa dan doa yang tiada henti demi kesuksesan penulis.
12. Suami dan anakku tercinta yang selalu memberikan semangat dan motivasi serta do'a agar penulis tidak putus asa dalam menyelesaikan tesis ini.
13. Rekan – rekan magister ilmu biomedik angkatan 2011, **Bu Dewi, Bu Ambar, Bu Rus**, dan teman – teman yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu, kebersamaan kita selalu memberikan semangat yang luar biasa.
14. Rekan – rekan pengajar khususnya keperawatan STIKES Muhammadiyah Kudus yang selalu memberikan semangat sehingga penulis dapat

menyelesaikan tesis ini

15. Mbak Nata, Mbak Fika, dan Mas Dul yang telah membantu dan melayani kami dengan sepenuh hati.
16. Staff laboratorium PAU UGM, Laboratorium Patologi FK UNDIP, Laboratorium Waspada Semarang yang telah membantu selama proses penelitian dan tesis.
17. Semua Pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah memberikan dukungan dalam penyusunan tesis ini.

Penulis menyadari banyak kekurangan yang terdapat dalam penelitian tesis ini. Oleh karena itu, penulis mengharapkan masukan dari berbagai pihak agar tercapainya sebuah tulisan ilmiah yang bermanfaat. Harapan penulis semoga tesis ini bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan, khususnya ilmu biomedik.

Semarang, Mei 2014

Yulisetyaningrum

DAFTAR ISI

	Halaman
Halaman Judul	i
Lembar Pengesahan	ii
Pernyataan	iii
Riwayat Hidup	iv
Kata Pengantar	v
Daftar Isi	viii
Daftar Tabel	xi
Daftar Gambar	xii
Daftar Singkatan	xiii
Daftar Lampiran	xiv
Abstrak	xv
Abstract	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1.Latar Belakang	1
1.2.Perumusan masalah.....	5
1.3.Tujuan Penelitian	5
1.4.Manfaat Penelitian	6
1.5.Orisinalitas	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	10

2.1. Hepar	10
2.2. Kerusakan Hepar Akibat Obat	13
2.3. Kematian sel	14
2.4. Apoptosis	18
2.5. Peranan Bcl-2 Dalam Proses Apoptosis	21
2.6. Apoptosis Tunel (Terminal Deoxynucleotidyl Transferase-Mediated Dutp-Biotin Nick End Labeling) Assay	24
2.7. CCL ₄ (Carbon tetrachlorida)	25
2.8. Ciplukan	27
BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS	30
3.1. Kerangka Teori	33
3.2. Kerangka konsep	34
3.3. Hipotesis	34
BAB IV METODA PENELITIAN	35
4.1. Desain Penelitian	35
4.2. Populasi dan sampel penelitian	37
4.3. Variabel Penelitian	38
4.4. Definisi Operasional	39
4.5. Pengolahan dan analisis data	40
4.6. Alat dan Bahan	41
4.7. Prosedur Perlakuan	41
4.8. Cara Pengumpulan Data	48
4.9. Alur Penelitian	49

4.10. Tempat dan Waktu Penelitian.....	50
4.11. Etika Penelitian	50
BAB V. HASIL PENELITIAN	
5.1. Ekspresi Bcl-2 pada sel hepar akibat pemberian ekstrak <i>Physalis angulata l</i> pada tikus Wistar yang diinduksi CCl ₄	51
5.2. Apoptosis pada sel hepar akibat pemberian ekstrak <i>Physalis angulata l</i> pada tikus Wistar yang diinduksi dengan CCl ₄	53
5.3. Area nekrosis pada sel hepar akibat pemberian ekstrak <i>Physalis angulata l</i> pada tikus Wistar yang diinduksi dengan CCl ₄	54
BAB VI. PEMBAHASAN	
6.1. Ekspresi Bcl-2 pada sel hepar akibat pemberian ekstrak <i>Physalis angulata l</i> pada tikus Wistar yang diinduksi CCl ₄	57
6.2. Apoptosis pada sel hepar akibat pemberian ekstrak <i>Physalis ngulata l</i> pada tikus Wistar yang diinduksi dengan CCl ₄	59
6.3. Area nekrosis pada sel hepar akibat pemberian ekstrak <i>Physalis angulata l</i> pada tikus Wistar yang diinduksi dengan CCl ₄	61
BAB VII. SIMPULAN DAN SARAN	
7.1.Simpulan	64
7.2.Saran	65
DAFTAR PUSTAKA.....	66
LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1.1 Orisinalitas Penelitian	7
Tabel 4.1 Definisi Operasional Penelitian	38
Tabel 5.1. Data analisis ekspresi Bcl-2	51
Tabel. 5.3. Data analisis apoptosis	53
Tabel. 5.4. Data analisis area nekrosis	55

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1. Gambaran nekrosis dan apoptosis	18
Gambar 2.1 Ciplukan (<i>Physalis angulata l</i>)	27
Gambar 3.1. Bagan kerangka teori penelitian	32
Gambar 3.2. Bagan kerangka konsep penelitian	33
Gambar 4.1. Desain penelitian <i>posttest only control group design</i>	35
Gambar 4.2. Bagan Alur penelitian	48
Gambar 5.1. Grafik box plot Bcl-2	52
Gambar 5.2. Grafik box plot Apoptosis	54
Gambar 5.3. Grafik box plot Area nekrosis	55

DAFTAR SINGKATAN

DNA	= <i>Deoxyribonucleic acid</i>
EGFR	= <i>Epidermal growth factor receptor</i>
MMPs	= <i>matrix metalloproteinases</i>
MDR1	= <i>multidrug resistant gene 1</i>
CCl ₄	= <i>Carbon tetrachlorida</i>
p53	= <i>protein p53</i>
TNF	= <i>tumor necrosis factor</i>
TNFR	= <i>tumor necrosis factor receptor</i>
TRAIL	= <i>TNF-related apoptosis inducing ligand</i>
TRADD	= <i>TNF- receptor associated death domain protein</i>
TRAF2	= <i>TNF receptor-associated factor 2</i>
RIP1	= <i>receptor interacting kinase 1</i>
NFκB	= <i>nuclear factor-κB</i>
JNK	= <i>nuclear factor-κB</i>
DISC	= <i>death- induced signaling complex</i>
Bcl-2	= <i>B-cell lymphoma 2</i>
ATM	= <i>ataxia teleangiectasia mutated</i>
MDM2	= <i>mouse double minute 2</i>
PUMA	= <i>p53 up regulated modulator of apoptosis</i>
PCNA	= <i>Proliferation Cell Nuclear Antigen</i>
MIB-1	= <i>Monoclonal Antibody 1</i>

DAFTAR LAMPIRAN

1. Ethical Clearance
2. Surat keterangan pemakaian fasilitas laboratorium
3. Master tabel hasil penelitian
4. Hasil uji statistik Bcl-2
5. Hasil uji statistik apoptosis
6. Hasil uji statistik area nekrosis
7. Foto penelitian

ABSTRAK

Latar belakang : Senyawa Carbon Tetrachlorida (CCl_4) menimbulkan kerusakan pada hati, berupa degenerasi maupun nekrosis yang disebabkan oleh pembentukan radikal bebas, peroksidasi lemak. Kandungan senyawa flavonoid dan polifenol dari ciplukan dapat digunakan sebagai antioksidan. Tujuan penelitian ini membuktikan ekspresi Bcl-2, apoptosis dan area nekrosis yang diinduksi CCl_4 dapat dipengaruhi oleh pemberian ekstrak *Physalis angulata l* pada sel hepar tikus wistar.

Metode : Penelitian ini menggunakan desain *posttest only control group design*. Hewan coba sebanyak 24 ekor tikus wistar, di bagi menjadi 4 kelompok. Kelompok Kontrol negatif (K1), Kelompok Kontrol positif (K2) diinduksi CCl_4 1% tanpa ekstrak ciplukan Kelompok Perlakuan (P1) diinduksi CCl_4 1% ekstrak ciplukan 750 mg/KgBB, Kelompok Perlakuan (P2) diinduksi CCl_4 1% dan ekstrak ciplukan 1500 mg/KgBB. Perlakuan ini selama 14 hari. Setelah itu dianalisis ekspresi Bcl-2, apoptosis dan area nekrosis pada sel hepar.

Hasil : Ada perbedaan bermakna ekspresi Bcl-2 pada tiap kelompok dengan uji *kruskal-Wallis* pada sel hepar $p=0,045$ ($p<0,05$), dan apoptosis pada tiap kelompok tidak berbeda bermakna karena nilai $p=1,000$ ($p>0,05$) sedangkan area nekrosis dengan uji *oneway Anova* pada tiap kelompok berbeda bermakna $p=0.000$

Simpulan : ada perbedaan bermakna ekspresi Bcl-2 pada sel hepar, dan tidak ada perbedaan bermakna apoptosis sedangkan area nekrosis ada perbedaan bermakna baik kelompok kontrol maupun perlakuan.

Kata kunci : apoptosis, area nekrosis, Bcl-2, CCl_4 , *Physalis angulata l*

ABSTRACT

Background: Carbon Tetrachlorida (CCl₄) compound cause liver damage, such as degeneration and necrosis caused by free radical formation, lipid peroxidation. The flavonoids and polyphenols matter content in herbal ceplukan can be used as an antioxidant. The purpose of this study demonstrate the expression of Bcl-2, apoptosis and necrosis induced by CCl₄ area can be affected by *Physalis angulata* L extract on wistar rat liver cell

Methods: This study used a posttest only control group design design. Experimental animals were 24 Wistar rats, divided into 4 groups. The negative control group (K1), positive control group (K2) induced CCl₄ 1% without ciplukan extract, treatment group (P1) induced CCl₄ 1% with ciplukan extract 750 mg / KgBB, treatment group (P2) induced CCl₄ 1% with ciplukan extract 1.500 mg / KgBB. This treatment for 14 days. After it analyzed the expression of Bcl-2, apoptosis and necrosis of liver cells area.

Results: There were significant differences in the expression of Bcl-2 in each group with the Kruskal-Wallis test of liver cells $p = 0.045$ ($p < 0.05$), and apoptosis in each group did not differ significantly because the value of $p = 1.000$ ($p > 0.05$) while areas of necrosis with oneway ANOVA test on each group differ significantly $p = 0.000$

Conclusions: There were significant differences of expression of Bcl-2 in liver cells, and no significant difference of apoptosis whereas areas of necrosis were no significant differences either control or treatment group.

Keywords: apoptosis, Bcl-2, CCl₄, necrosis area, *Physalis angulata* l