

BAB I

PENDAHULUAN

1.1.Latar Belakang

Hati (hepar) merupakan kelenjar terbesar dalam tubuh yang berperan dalam hampir setiap fungsi metabolisme tubuh dan mendetoksifikasi berbagai senyawa serta racun.¹ Pada kerusakan sel hepar, terjadi perubahan jaringan dalam hubungannya dengan reaksi melawan racun. Pada cedera sel hepar ini, terjadi kerusakan membran sel dan organel yang akan menyebabkan enzim-enzim hepar intrasel masuk ke dalam pembuluh darah sehingga kadar enzim-enzim tersebut akan meningkat dalam darah.² Salah satu organ yang penting untuk detoksifikasi bahan bersifat toksik yang masuk dalam tubuh akibat pencemaran lingkungan adalah hepar. Hal ini menyebabkan hepar menjadi sering terpapar dengan zat-zat toksik yang mengakibatkan kerusakan sel hepar. Kerusakan sel hepar dapat berakibat proliferasi sel yang berlebihan, sehingga terjadi tumor atau kanker hepar.³

Kanker hepar merupakan kanker dengan insidensi kematian ketiga terbesar di dunia.⁴ Jumlah kematian di dunia yang disebabkan oleh kanker hepar menunjukkan lebih dari satu juta kematian per tahun. Sedangkan di Amerika Serikat terdapat lebih dari 18.910 kematian disebabkan oleh kanker hepar. Kematian akibat kanker hepar diproyeksikan akan terus meningkat hingga tahun 2025.⁵ Penyebab kanker hepar secara umum adalah

akibat infeksi virus hepatitis B dan C, sirosis hati, infeksi parasit, alkohol serta paparan karsinogen seperti aflatoxin.⁶ Paparan bahan yang bersifat sitotoksik dapat mengakibatkan kerusakan sel. Untuk mencegah akibat yang tidak diinginkan, sel mempunyai metode untuk mendeteksi kerusakan DNA dan tindakan bunuh diri.

Apoptosis adalah suatu kematian sel yang terprogram atau programmed cell death. Sekali terjadi aktivasi akan menyebabkan reaksi enzimatik intraseluler. Enzim, protein, dan DNA akan terurai, dan tidak ada komponen intraseluler yang terdispersi ke ekstraseluler. Sel yang mengalami apoptosis akan mengeluarkan signal ke ekstraseluler berupa phospholipid pada membran selnya yang dapat dikenali oleh sel-sel imun, terutama makrofag.⁷ Proses apoptosis ini diatur melalui jalur yaitu jalur ekstrinsik (sitoplasma) melalui aktifitas Fas *death receptor* dengan mengaktivasi interaksi Fas-Fas ligand (FasL) dan jalur intrinsik (mitokondria) yang memacu pelepasan sitokrom C yang tergantung pada pengaturan protein Bcl-2 (*B cell lymphoma*) sebagai protein anti-apoptosis dan Bax sebagai protein pro-apoptosis. Bcl-2 merupakan pengatur yang paling penting pada jalur intrinsik apoptosis dan pengaruh Bcl-2 lebih berperan daripada protein apoptosis lainnya.⁸

Radikal bebas berperan dalam terjadinya berbagai penyakit degeneratif, karena radikal bebas memiliki elektron yang tidak berpasangan pada orbit terluarnya sehingga bersifat reaktif untuk bereaksi dengan molekul lain. Radikal bebas dapat merusak makromolekul seperti merusak lipid membran

sel, DNA, protein yang menyebabkan stres oksidatif sel.⁹ Carbon tetrachlorida merupakan bahan kimia yang bersifat toksik. Zat ini bisa ditemukan pada makanan maupun minuman yang dalam dosis tertentu dapat menyebabkan kerusakan pada organ. Salah satu organ yang bisa mengalami kerusakan karena induksi CCl₄ adalah hati. Senyawa CCl₄ dapat menimbulkan kerusakan pada hati, berupa degenerasi maupun nekrosis.¹⁰ Derajat kerusakan sel-sel hati tergantung dari perubahan degenerasi yang terjadi pada organ tersebut. Tipe awal degenerasi pada sel hati berupa degenerasi hidrofik, kemudian berlanjut menjadi degenerasi meleak, sebelum akhirnya sel tersebut mengalami kematian atau nekrosis. Penelitian yang dilakukan oleh Soni melaporkan bahwa tikus percobaan yang diberikan CCl₄ dengan dosis 0,05 ml/kg bobot badan mampu merusak sel-sel hati sehingga mengalami degenerasi dan nekrosis.¹¹ Menurut Jeon et al. jumlah PUFAs dalam fosfolipid membran endoplasmik retikulum akan berkurang sebanding dengan jumlah CCl₄ yang diinduksikan. Pemberian CCl₄ dalam dosis tinggi dapat merusak endoplasmik retikulum, mengakumulasi lipid, mengurangi sintesis protein, mengacaukan proses oksidasi, menurunkan bobot badan, menyebabkan pembengkakan hati sehingga bobot hati menjadi bertambah, dan pemberian jangka panjang dapat menyebabkan nekrosis sentrilobular serta degenerasi lemak di hati.¹²

Kematian sel terjadi menyusul kematian somatis. Perubahan morfologi sel mati dapat dipergunakan sebagai alternatif untuk memperkirakan lama waktu kematian. Tikus dianggap sebagai prototipe ideal untuk penelitian maupun histopatologi oleh karena proses metabolisme maupun

anatominya tidak jauh berbeda dengan manusia.^{13,14} Penelitian ini akan dipergunakan tikus Wistar karena morfologinya lebih besar sehingga diharapkan secara teknis lebih mudah.¹⁵

Berbagai macam tanaman telah banyak dimanfaatkan untuk penyakit hati salah satu diantaranya adalah Ciplukan atau *Physalis angulata L.* Hasil berbagai penelitian menunjukkan bahwa kanker masih merupakan penyebab utama kematian di Indonesia maupun di dunia. Penelitian untuk menemukan obat kanker baru perlu terus dikembangkan. Salah satu tanaman yang berpotensi untuk dikembangkan sebagai alternatif pengobatan kanker adalah tanaman Ciplukan (*Physallis angulata L.*).¹⁶

Ciplukan (*Physalis angulata L.*) merupakan salah satu tanaman yang diduga secara kuat mampu menghambat proliferasi sel kanker. Hal ini terbukti pada penelitian Hsieh et al., yang telah mengevaluasi herbal ciplukan sebagai agen kemopreventif yang mampu meregulasi proliferasi, menginduksi G2/M arrest, serta apoptosis pada sel kanker. Selain itu, *Physalis angulata L.* dapat menghambat sel kanker tersebut pada fase G2/M melalui penghambatan sintesis atau stabilitas mRNA, penurunan level cyclin A atau cyclin B, serta meningkatkan level p21 (waf1/cip1), p27 (kip1) dan Chk2 pada fase G2/M.¹⁷ Penelitian lain yang dilakukan oleh Ilham Agusta fauzi, dkk (2011) menjelaskan bahwa ekstrak *Physalis angulata L* dosis 1500 mg/kgBB memiliki kemampuan dalam menghambat proliferasi sel hepar sebesar 20% daripada dosis 750 mg/kgBB hanya menghambat proliferasi sel hepar sebesar 11%.¹⁸

Penelitian ini bertujuan untuk melihat ekstrak ciplukan (*Physalis angulata l*) dapat menginduksi apoptosis. Apoptosis dinilai dengan menggunakan pengecatan imunohistokimia tunnel untuk menilai ekspresi Bcl-2 . Perbaikan sel-sel diamati dengan adanya perubahan histopatologi berupa area nekrosis sel hati pada organ hati tikus Wistar akibat pemberian CCl₄ dosis toksik.

Hingga saat ini penelitian tentang pengaruh ekstrak ciplukan terhadap kerusakan hati terhadap ekspresi Bcl-2, apoptosis dan area nekrosis akibat pemberian ekstrak ceplukan (*Physalis angulata L*) pada tikus wistar belum pernah dilakukan, oleh karena itu perlu dilakukan penelitian ini sehingga dapat menjadi panduan dalam penggunaan ekstrak ciplukan (*Physalis angulata l*) untuk mencegah terjadinya kerusakan sel hepar.

1.2. Perumusan masalah

Apakah ekspresi Bcl-2, apoptosis dan area nekrosis yang diinduksi CCl₄ dapat dipengaruhi oleh pemberian ekstrak *Physalis angulata L* pada sel hepar?

1.3. Tujuan penelitian :

1.3.1. Tujuan umum :

Penelitian ini bertujuan membuktikan ekspresi Bcl-2, apoptosis dan area nekrosis pada sel hepar tikus *Wistar* yang diinduksi karbon tetraklorida (CCl₄) dapat dipengaruhi oleh pemberian ekstrak ciplukan (*Physalis angulata l*)

1.3.2. Tujuan khusus :

- 1.3.2.a. Membuktikan adanya perbedaan ekspresi Bcl-2 pada sel hepar tikus wistar yang diinduksi karbon tetraklorida (CCl_4) dengan pemberian ekstrak ciplukan (*Physalis angulata* L) 750 ; 1500 mg/kgBB
- 1.3.2.b. Membuktikan adanya perbedaan apoptosis pada sel hepar tikus wistar yang diinduksi karbon tetraklorida (CCl_4) dengan pemberian ekstrak ciplukan (*Physalis angulata* L) 750 ; 1500 mg/kgBB
- 1.3.2.c. Membuktikan adanya perbedaan area nekrosis pada sel hepar tikus wistar yang diinduksi karbon tetraklorida (CCl_4) dengan pemberian ekstrak ciplukan (*Physalis angulata* L) 750 ; 1500 mg/kgBB

1.4. Manfaat penelitian :

1.4.1. Bagi ilmu pengetahuan :

Memberikan informasi pengembangan IPTEK bidang kedokteran tentang manfaat *Physalis Angulata L* terhadap sel hepar

1.4.2. Bagi masyarakat :

Memberikan informasi tentang efek *Physalis Angulata L* berdasarkan hasil penelitian ilmiah.

1.4.3. Bagi peneliti lain: Memberikan tambahan kajian ilmiah sebagai dasar penelitian lebih lanjut terhadap kanker hepar

1.5. Orisinalitas :

Menurut penelusuran kepustakaan yang telah dilakukan, baik melalui buku ajar, internet maupun jurnal, penelitian terdahulu terhadap *Physalis angulata L* yang terkait dengan Ekspresi Bcl2, apoptosis dan area nekrosis pada sel hepar belum pernah dilakukan.

Peneliti	Metode	Dosis	Parameter	Hasil
Ilham Fauzi, Amalia, Sabila, Hermawan, Muthi Ikawati dan Edy Meiyanto <i>Aktivitas Antiproliferasi Ekstrak Etanolik Herba Ciplukan (Physalis angulata L.) Terhadap Sel Hepar Tikus Betina Galur Sprague Dawley Terinduksi 7,12-Dimetilbenz[a]ant rasena</i> Artikel penelitian Majalah Kesehatan PharmaMedika, 2011 Vol,3, No,1 ¹⁸	Eksperimen murni dengan post test only	Kelompok kontrol DMBA, kelompok DMBA + ekstrak 750 mg/kgBB, kelompok DMBA + ekstrak 1500 mg/kgBB, diinduksi DMBA dosis 20 mg/kgBB dalam minyak jagung peroral 10 kali dalam 5 minggu.	Histopatologi organ hepar dari hasil pengecatan Hematoksilin & Eosin (HE) secara deskriptif kualitatif untuk mengetahui informasi tentang tingkat keparahan tumor hepar dan aktivitas proliferasi	Ekstra etanolik Physalis (<i>EEP</i>) <i>angulata L</i> dosis 1500 mg/kgBB memiliki persentase penghambatan proliferasi sebesar 20%, lebih besar control dng <i>EEP</i> dosis 750 mg/kgBB sebesar 11%. Berdasarkan hasil penelitian ini, <i>EEP</i> dosis 1500 mg/kgBB memiliki kemampuan dalam menghambat proliferasi sel hepar tikus terinduksi DMBA lebih baik control dng <i>EEP</i> dosis 750 mg/kgBB
Orisa sativa, <i>pengaruh pemberian ekstrak meniran (phyllanthus sp.) terhadap gambaran Mikroskopik hepar tikus wistar yang diinduksi karbon tetraklorida,</i> 2006. ¹⁹	Penelitian eksperimental dengan post test only with control group design	Kelompok I sebagai kontrol, kelompok II diinduksi CCl ₄ 1% dalam minyak wijen sebanyak 1ml/hari peroral. Kelompok III diinduksi CCl ₄ 1% dalam minyak wijen sebanyak 1ml/hari peroral dan ekstrak meniran 1%	Gambaran mikroskopi hepar Wistar yang diinduksi karbon tetraklorida	Terdapat perbedaan yang bermakna jumlah hepatosit normal antara kelompok K-P1(p<0,001),K-P2 (p<0,001),P1-P2(p<0,001), degenerasi lemak antara kelompok K-P1(p<0,001), K-P2(p<0,001), nekrosis antara kelompok K-P1(p<0,001),K-P2(p=0,046),P1-

			sebanyak 2ml/hari peroral Selama 21 hari		P2(p<0,001). Tetapi juga terdapat perbedaan yang tidak Bermakna jumlah degenerasi lemak sel hepatosit antara kelompok P1-P2(p=0,199)
Ratnasari, dwi cahyanti, <i>Bcl-2 dan Indeks Apoptosis pada endometrium non-atipik simpleks dan kompleks</i> , 2008. ²⁰	Penelitian observasiona l dengan rancangan studi potong lintang (<i>cross sectional study</i>)	Blok paraffin jaringan hiperplasia endometrium non atipik sebanyak 28 kasus hiperplasia simpleks dan kompleks	Ekspresi Bcl-2 dan indeks apoptosis		Ekspresi Bcl-2 pada hiperplasia endometrium kompleks lebih tinggi dibandingkan yang simpleks (p=0,013). Indeks apoptosis pada hiperplasia endometrium simpleks lebih tinggi dibandingkan yang kompleks (p=0,014). Pada hiperplasia simpleks terdapat korelasi negatif derajat kuat antara ekspresi Bcl-2 dan indeks apoptosisnya (r=-0,756; p=0,000), sedangkan pada kompleks tidak ada korelasi negatif (r=-0,257; p=0,94).
Maya Tejasari, Nurhalim Shahib, Djanuarsih Iwan, Herri S Sastramihardja, <i>Peran Kedelai (Glycine Max) dalam Pencegahan Apoptosis pada Cedera Jaringan Hati</i> , Fakultas Kedokteran Universitas Islam Bandung,	Penelitian eksperiment al dengan post test only with control group design	Kelompok 1 merupakan positif yang hanya diberi makanan standar selama 3 minggu kemudian diberi 0,2 ml larutan CCl4 per oral selama 4 hari. Kelompok 2 merupakan kontrol negatif yang hanya diberi makanan pelet	jumlah apoptosis sel untuk menilai pengaruh pemberian kedelai terhadap pencegahan apoptosis pada jaringan hati		hasil pemeriksaan imunohistokimia TUNEL tampak jumlah sel yang mengalami apoptosis pada kelompok yang diberi kedelai lebih sedikit dibandingkan dengan kelompok yang tidak diberi kedelai, diperkuat dengan analisis uji ANOVA antara kelompok

Indonesia, Acta Pharmaciae Indonesia 1(1) 26-31. ²¹	standar dan tidak diberi CCl ₄ , sedangkan kelompok 3-6 merupakan kelompok uji yang selain diberi makanan pelet standar juga diberi kedelai dengan kadar berturut-turut 145,6 mg/hari, 218,4 mg/hari, 291,2 mg/hari dan 364 mg/hari selama 3 minggu kemudian diberi 0,2 ml larutan CCl ₄ peroral selama 4 hari	tersebut menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan nilai p<0,05
----------------------------------------------------------------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--------------------------------------------------------------------

Penelitian ini berbeda dengan penelitian yang telah ada sebelumnya baik dari segi organ yang diperiksa, dosis, cara pemberian CCl₄, cara pemberian ekstrak ciplukan maupun pemeriksaan immunohistokimia ekspresi Bcl-2, Apoptosis dan area nekrosis. Penelitian ini digunakan tikus wistar jantan, pemberian ekstrak ciplukan (*Physalis Angulata l*) diberikan per oral setelah diberikan CCl₄ secara ad libitum sebelumnya.

Sedangkan persamaan penelitian ini dengan penelitian yang sebelumnya adalah metodologinya yang sama – sama menggunakan Penelitian eksperimental dengan post test only with control group design.