

BAB I PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Hati merupakan organ utama yang berperan dalam proses metabolisme dan detoksifikasi tubuh (Kilany et al., 2020). Sebagian besar penyakit dan tingginya angka kematian berkaitan dengan kerusakan hati akibat paparan senyawa toksik lingkungan, penggunaan obat-obatan, dan mikroba (Singh et al., 2016). Beberapa obat seperti metotreksat, statin, dan asetaminofen sering digunakan untuk terapi klinis dan berpotensi menyebabkan hepatotoksik (Kilany et al., 2020).

Asetaminofen (APAP) merupakan obat antipiretik dan analgesik yang telah digunakan secara luas (Bunchorntavakul & Reddy, 2018). Ketersediaannya yang mudah, menjadikan obat ini berpotensi dikonsumsi secara berlebihan dan memicu terjadinya stres oksidatif, mengganggu sistem pertahanan antioksidan tubuh, dan menyebabkan kerusakan makromolekul seluler (Weidinger & Kozlov, 2015). APAP dimetabolisme oleh enzim sitokrom P450 menjadi N-asetil-p-benzo-kuinon imina (NAPQI), yaitu metabolit toksik yang dapat menurunkan glutathion (GSH). Dalam kondisi normal, NAPQI dapat dinetralkan oleh GSH, tetapi pada penggunaan APAP yang berlebih, terjadi ketidakseimbangan GSH dan NAPQI, sehingga metabolit toksik ini terakumulasi dan menyebabkan disfungsi mitokondria serta peningkatan produksi radikal bebas (Lv et al., 2024; Bryan et al., 2024). Kerusakan mitokondria memicu pelepasan sitokrom c ke sitoplasma yang kemudian mengaktifkan jalur apoptosis intrinsik (Shakeri et al., 2017). Lebih lanjut, Jaeschke et al. (2019), menyebutkan bahwa kerusakan mitokondria yang tidak dapat diperbaiki akan menyebabkan hilangnya integritas membran sel dan berujung pada nekrosis.

Paparan APAP tidak hanya memicu kematian sel, tetapi juga menyebabkan perubahan kepadatan sel. Untuk mengamati dampak tersebut secara spesifik di tingkat seluler, dibutuhkan model *in vitro* yang sesuai. Sel HepG2 merupakan salah satu model yang efektif dan representatif dalam studi toksisitas hati (Snopov et al., 2017). Sel ini memiliki kemiripan dengan jaringan primer dan kemudahan penggunaannya dalam kultur (Kaur & Dufour, 2012). Secara normal, HepG2

memiliki bentuk poligonal dan tumbuh dalam lapisan tunggal berbentuk “rosettes” (Espinosa et al., 2020). Overdosis APAP dapat mengubah kepadatan sel yang menunjukkan adanya kerusakan struktural dan fungsional sel.

Upaya pencegahan dan perlindungan terhadap toksisitas hati akibat overdosis APAP menjadi sangat penting. Salah satu pendekatan yang menjanjikan adalah pemanfaatan senyawa alami seperti ekstrak tanaman yang berpotensi sebagai agen hepatoprotektif melalui mekanisme penekanan stres oksidatif, inflamasi, apoptosis, dan perbaikan kerusakan seluler (Li et al., 2023). Tanaman kelor (*Moringa oleifera* Lam.) dikenal sebagai tumbuhan yang mengandung berbagai senyawa bioaktif seperti karotenoid, fenolik, alkaloid, folat, tanin, saponin, dan asam lemak (Kashyap et al., 2022). Kandungan kimia tanaman kelor memiliki aktivitas antioksidan, antikanker, anti-inflamasi, antidiabetes, dan antimikroba (Gopalakrishnan et al., 2016). Studi penelitian oleh Amin et al. (2024), melaporkan bahwa antioksidan pada kelor dapat mengurangi stres oksidatif, kerusakan jaringan, dan menetralkan radikal bebas.

Berdasarkan penelitian González-Burgos et al. (2021), pemberian ekstrak daun kelor (EDK) pada konsentrasi 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ terbukti mampu melindungi sel neuroblastoma dari kerusakan akibat paparan hidrogen peroksida (H_2O_2) dengan cara mencegah peroksidasi lipid dan disfungsi mitokondria, menurunkan kadar spesies oksigen reaktif (ROS), serta meningkatkan kadar GSH dan aktivitas enzim antioksidan. Sementara itu, studi *in vivo* oleh Azim et al. (2017), menunjukkan bahwa ekstrak daun *Moringa peregrina* efektif mengurangi kerusakan hati tikus yang diinduksi APAP melalui mekanisme penurunan stres oksidatif dan peningkatan aktivitas antioksidan. Meskipun menggunakan spesies yang berbeda, temuan tersebut memperkuat potensi genus *Moringa* sebagai agen hepatoprotektif, termasuk *Moringa oleifera* yang digunakan dalam penelitian ini.

Sebagian besar penelitian sebelumnya masih berfokus pada model hewan (*in vivo*), uji enzimatik, atau analisis hispatologis jaringan tanpa mengamati secara spesifik respons kematian sel melalui mekanisme apoptosis dan nekrosis secara kuantitatif pada tingkat seluler. Beberapa studi *in vitro* memang telah menunjukkan potensi EDK, seperti yang dilaporkan oleh Abou-Zeid et al. (2016), bahwa EDK memiliki efek hepatoprotektif terhadap hepatosit primer tikus yang diinduksi

APAP. Perlakuan dengan EDK secara signifikan mampu mengurangi kebocoran enzim hati dan mempertahankan viabilitas sel yang menunjukkan adanya perlindungan terhadap kerusakan membran sel akibat toksisitas APAP. Meskipun demikian, masih terbatas penelitian yang secara khusus mengevaluasi mekanisme kematian sel melalui apoptosis dan nekrosis dengan pendekatan flow cytometry yang dapat memberikan analisis kuantitatif terhadap respons seluler tersebut.

Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk melengkapi keterbatasan studi sebelumnya dengan menganalisis efektivitas EDK pada tiga konsentrasi (5, 25, dan 125 $\mu\text{g}/\text{mL}$) terhadap kematian sel HepG2 yang diinduksi APAP melalui mekanisme apoptosis dan nekrosis. Analisis dilakukan secara kuantitatif menggunakan flow cytometry dengan pewarnaan Annexin V-FITC dan Propidium Iodide (PI). Selain itu, dilakukan pula pengamatan secara kualitatif dan deskriptif terhadap perubahan kepadatan sel sebagai indikator kerusakan seluler secara visual untuk memperkuat bukti potensi EDK sebagai hepatoprotektif.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dipaparkan, rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Bagaimanakah kepadatan sel HepG2 yang diinduksi asetaminofen setelah pemberian ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) dengan konsentrasi 5, 25, dan 125 $\mu\text{g}/\text{mL}$?
2. Bagaimanakah pengaruh ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) dengan konsentrasi 5, 25, dan 125 $\mu\text{g}/\text{mL}$ terhadap apoptosis dan nekrosis pada sel HepG2 yang diinduksi asetaminofen?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Menganalisis kepadatan sel HepG2 yang diinduksi asetaminofen setelah pemberian ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) dengan konsentrasi 5, 25, dan 125 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

2. Menganalisis pengaruh ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) dengan konsentrasi 5, 25, dan 125 $\mu\text{g}/\text{mL}$ terhadap tingkat apoptosis dan nekrosis pada sel HepG2 yang diinduksi asetaminofen.

D. Manfaat Penelitian

Pada tingkat mikroskopis dan laboratorium, hasil penelitian ini dapat memberikan penjelasan mengenai potensi ekstrak daun kelor sebagai agen hepatoprotektif alami yang mampu menghentikan kematian sel akibat stres oksidatif melalui analisis apoptosis dan nekrosis yang nantinya dapat dijadikan dasar untuk pengembangan terapi alternatif atau komplementer berbasis bahan alami dalam mencegah dan menangani kerusakan hati yang disebabkan oleh penggunaan obat yang berlebihan khususnya asetaminofen.

