

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Penyakit pada organ hati merupakan salah satu masalah kesehatan global yang signifikan dengan tingkat prevalensi dan kematian yang tinggi. Tingginya beban penyakit ini menggarisbawahi urgensi untuk menemukan solusi terapi yang lebih efektif. Penyakit hati menyumbang dua juta kematian setiap tahun dan bertanggung jawab atas 4% dari total seluruh kematian atau 1 dari setiap 25 kematian di seluruh dunia (Devarbhavi, 2023). Data Kementerian Kesehatan RI (2020) menunjukkan bahwa kerusakan organ hati merupakan salah satu dari sepuluh penyebab kematian tertinggi di Indonesia dengan tren peningkatan dengan estimasi mencapai 10% dari total populasi penduduk. Tingkat kelangsungan hidup penderita kerusakan pada organ hati bervariasi tergantung pada stadium penyakit. Pada kasus *Hepatocellular Carcinoma* (HCC), tingkat kelangsungan hidup lima tahun sangat rendah, sering kali di bawah 20% (Jasirwan, 2020). Hal ini menunjukkan perlunya deteksi dini dan pengobatan yang lebih efektif. Namun, banyak pasien tidak terdiagnosis sampai penyakit berada pada tahap lanjut (Jasirwan, 2020) yang menunjukkan bahwa metode pengobatan yang ada saat ini belum memadai dan mendesak untuk dikembangkan..

Beberapa penyakit pada organ hati ditandai dengan adanya kerusakan pada sel hepatosit. Penyakit yang terkait dengan kerusakan sel hepatosit meliputi hepatitis viral, sirosis, dan kanker hati. Hepatitis B dan C adalah penyebab utama kerusakan hepatosit yang dapat berujung pada sirosis dan kanker hati (Jasirwan, 2020). Selain itu, *Non-Alcoholic Fatty Liver Disease* (NAFLD) juga menjadi penyebab utama kerusakan hati di seluruh dunia (Setiawan & Kurniawan, 2021). Kerusakan sel hepatosit dapat menyebabkan peradangan, fibrosis, dan akhirnya kematian sel, yang berkontribusi pada perkembangan penyakit hati yang lebih serius (Noviyanti, 2023).

Proses kerusakan hati yang dimediasi molekuler melibatkan interaksi kompleks antara mediator inflamasi, jalur apoptosis, dan perubahan pada *Extracellular Matrix* (ECM). Pemahaman terkini dalam patofisiologi hati telah

mengidentifikasi *Collagen Type I Alpha 1* (COL1A1) dan *Matrix Metalloproteinase-1* (MMP-1) merupakan penanda penting untuk dianalisis karena peran sentral mereka dalam perkembangan fibrosis hati dan proses remodeling ECM (Fu dkk., 2023). COL1A1 terlibat dalam deposisi kolagen yang berlebihan selama proses fibrosis. Ekspresi COL1A1 yang tinggi sering kali menunjukkan adanya fibrosis hati yang merupakan tahap awal menuju sirosis dan HCC (Qi dkk., 2017). Di sisi lain, MMP-1 berfungsi dalam degradasi kolagen dan komponen ECM lainnya (Shan, 2023). Meskipun berperan penting dalam remodelasi matriks, ekspresi MMP-1 yang tidak terkontrol dalam kondisi inflamasi kronis justru dapat menjadi penanda kerusakan jaringan dan disregulasi homeostasis, bukan sekadar respons perbaikan (Scheau dkk., 2017). Rasio antara MMP-1 dan COL1A1 dapat digunakan untuk memprediksi perkembangan penyakit hati, di mana ketidakseimbangan antara degradasi dan sintesis ECM dapat mempercepat progresi ke kondisi hati yang lebih parah seperti sirosis dan kanker hati (Fu dkk., 2023)

Efek samping dari pengobatan konvensional seperti kemoterapi dan radioterapi untuk HCC memiliki keterbatasan karena sering kali gagal dalam mengatasi metastasis, yang merupakan penyebab utama kematian terkait kanker. Keterbatasan ini disebabkan oleh efek samping yang signifikan, seperti kerusakan jaringan sehat, penurunan kualitas hidup pasien, dan risiko rekurensi kanker setelah terapi (Hilbertina dan Pawitan, 2021). Selain itu, pengobatan dengan obat-obatan antifibrotik yang baru muncul juga dapat memiliki efek samping yang tidak diinginkan seperti gangguan gastrointestinal dan reaksi alergi (Cao dkk., 2020) yang semakin memperkuat urgensi untuk mencari pendekatan terapi baru yang lebih aman.

Keterbatasan ini mendorong pergeseran paradigma terapi ke arah pengobatan regeneratif. Kondisi terkini penelitian saat ini berfokus pada pemanfaatan sel punca mesenkimal dan produk turunannya. Salah satu pendekatan yang paling menjanjikan adalah terapi bebas sel menggunakan sekretom, yaitu kumpulan faktor bioaktif yang disekresikan oleh sel. Pendekatan ini sejalan dengan konsep *green theory* dalam pengobatan yang mengutamakan penggunaan produk biologis untuk memodulasi mekanisme perbaikan alami tubuh, bukan

menggunakan senyawa kimia sintetik yang seringkali bersifat toksik. Penelitian mengenai sekretom yang dihasilkan dari sel punca menunjukkan perkembangan yang signifikan dalam beberapa tahun terakhir, terutama dalam konteks aplikasi terapeutik dan potensi regeneratif. Misalnya penelitian menunjukkan bahwa media yang dikondisikan dari sel punca adiposa dapat meningkatkan regenerasi hati melalui jalur *Janus protein tyrosine kinase* (JAK) untuk mengaktifkan *signal transducer and activator of transcription* (STAT) yang melibatkan mediator seperti *Interleukin-6* (IL-6) dan *Hepatocyte Growth Factor* (HGF) (Lee dkk., 2016). Diantara berbagai jenis sumber sel punca, *human Wharton's Jelly Mesenchymal Stem Cells* (hWJ-MSCs) memiliki kandungan senyawa bioaktif yang paling banyak (Drobiova dkk., 2023) sehingga berpotensi digunakan sebagai sumber sekretom yang baik. Dalam jangka panjang, pemanfaatan sekretom hWJ-MSCs dapat menjadi pendekatan terapi yang efektif untuk mengatasi kerusakan hati kronis maupun akut. Dengan sifatnya yang minim efek samping dan efisien (Ali dkk., 2015; Driscoll & Patel, 2019), terapi berbasis sekretom ini diharapkan mampu melengkapi atau bahkan menggantikan terapi konvensional yang memiliki keterbatasan dalam efektivitasnya

Uji sitotoksitas pada sekretom penting untuk dilakukan dalam penelitian, mengingat berbagai faktor pertumbuhan, sitokin, dan molekul bioaktif yang dapat mempengaruhi proliferasi dan viabilitas sel hepatosit (Zhao dkk., 2015). Kandungan sekretom perlu dievaluasi secara kuantitatif untuk memastikan tidak terdapat efek sitotoksik yang bisa merugikan sel target. Melalui uji sitotoksitas, dapat ditentukan konsentrasi optimal dari sekretom yang dapat digunakan untuk terapi tanpa menyebabkan kerusakan pada sel (Komariah dkk., 2019). Hasil dari uji sitotoksitas membantu dalam pengembangan terapi yang lebih aman dan efektif (Fadholly dkk., 2023).

Berdasarkan hasil dari penelitian-penelitian yang telah disebutkan, sekretom yang dikoleksi dari hWJ-MSCs memiliki potensi sebagai hepatoprotektor. Namun belum ada penelitian lebih lanjut mengenai efek antifibrosis dan regeneratif pada sekretom terhadap kerusakan sel hepatosit. Penelitian ini mengisi celah pengetahuan dengan menganalisis secara langsung

aktivitas hepatoprotektor dari sekretom hWJ-MSCs pada HepG2 yang diinduksi lipopolisakarida (LPS) sebagai model kerusakan sel hepatosit. LPS merupakan suatu komponen bakteri Gram-negatif yang dapat digunakan untuk menginduksi peradangan hati secara *in vitro* dengan mengaktifkan makrofag hati dan sel imun lainnya, yang menyebabkan pelepasan sitokin inflamasi (Ceccarelli dkk., 2015). Respon hepatoprotektor yang diteliti meliputi uji toksisitas sekretom hWJ-MSCs dan analisis ekspresi gen MMP-1 dan COL1A1 dimana kedua sitokin tersebut ditemukan pada kasus penyakit hati pada model sel hepatosit yakni HepG2 yang telah dikondisikan. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat dijadikan sebagai salah satu alternatif terapi pengobatan penyakit hati dengan meminimalisir efek samping yang biasanya muncul pada pengobatan umum lainnya.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang, maka rumusan masalah pada penelitian ini adalah “Bagaimana pengaruh sekretom hWJ-MSCs sebagai hepatoprotektor pada sel HepG2 yang diinduksi LPS terhadap sitotoksitas serta ekspresi gen MMP-1 dan COL1A1?”.

## **1.3 Pertanyaan Penelitian**

Berdasarkan rumusan masalah diatas, muncul beberapa pertanyaan penelitian yang diajukan sebagai berikut:

- 1) Apakah sekretom hWJ-MSCs bersifat aman pada sel HepG2 yang diinduksi LPS?
- 2) Bagaimana ekspresi gen COL1A1 pada sel HepG2 yang diinduksi LPS dengan pemberian sekretom hWJ-MSCs?
- 3) Bagaimana ekspresi gen MMP-1 pada sel HepG2 yang diinduksi LPS dengan pemberian sekretom hWJ-MSCs?

## **1.4 Tujuan Penelitian**

Terdapat tujuan umum dan tujuan khusus yang ingin dicapai dalam penelitian. Tujuan penelitian ini secara umum yakni untuk memperoleh data tentang pengaruh sekretom hWJ-MSCs sebagai hepatoprotektor pada sel HepG2 yang diinduksi LPS. Tujuan khusus dilakukannya penelitian ini berdasarkan pertanyaan penelitian yaitu:

- 1) Untuk memperoleh data tentang sekretom hWJ-MSCs tidak bersifat sitotoksik pada lini sel HepG2
- 2) Untuk memperoleh informasi tentang ekspresi gen COL1A1 pada HepG2 model inflamasi yang diinduksi LPS dengan pemberian sekretom hWJ-MSCs
- 3) Untuk memperoleh informasi tentang ekspresi gen MMP-1 pada HepG2 model inflamasi yang diinduksi LPS dengan pemberian sekretom hWJ-MSCs

### 1.5 Batasan Penelitian

- 1) hWJ-MSCs diisolasi dari tali pusat manusia (*umbilical cord*) segar dari wanita berusia 25 tahun yang telah melakukan persalinan secara normal dengan masa kehamilan yang penuh.
- 2) hWJ-MSCs telah diuji kemampuan diferensiasi osteogenik (osteoblas, kondrosit, dan adiposit) oleh peneliti sebelumnya.
- 3) hWJ-MSCs telah diuji kemampuan multipotensinya melalui karakterisasi *positive lineage* (CD44 PE, CD73 APC, CD90 FITC, CD105 PerCP-Cy5) dan *negative lineage* (CD11b PE, CD19 PE, CD34 PE, CD45 PE, dan HLA-DR PE) oleh peneliti sebelumnya.
- 4) Sekretom yang digunakan dikoleksi dari hWJ-MSCs *passage* 4.
- 5) Sel yang digunakan adalah lini sel HepG2 (ATCC® HB-8065™).
- 6) Aktivitas hepatoprotektif sekretom hWJ-MSCs diamati dengan parameter uji sitotoksik dan analisis ekspresi gen.
- 7) Uji sitotoksitas menggunakan uji WST-8 untuk melihat viabilitas dan inhibisi sel.
- 8) Analisis ekspresi gen yang diamati adalah MMP-1 dan COL1A1 menggunakan qRT-PCR.

### 1.6 Asumsi Penelitian

Berikut merupakan asumsi yang dijadikan landasan penelitian ini.

- 1) Sekretom *Mesenchymal Stem Cells* (MSCs) yang dikoleksi dari jaringan adiposa manusia mengandung berbagai faktor bioaktif yang menunjukkan aktivitas hepatoprotektif pada sel HepG2 (Huang dkk., 2023)

- 2) Sekretom MSCs yang dikoleksi dari jaringan adiposa manusia tidak bersifat sitotoksik pada sel HepG2 pada konsentrasi tertentu (Huang dkk., 2023)
- 3) Sekretom hWJ-MSCs meningkatkan ekspresi *Tissue Inhibitors of Metalloproteinases* (TIMPs) yang merupakan inhibitor alami MMP-1, sehingga membantu dalam mempertahankan integritas jaringan (Hussein dkk., 2022)
- 4) Sitokin antiinflamasi dalam sekretom mengurangi pelepasan sitokin proinflamasi yang merangsang ekspresi MMP-1 (Correa-Araujo, 2023).
- 5) Sekretom menghambat aktivasi sel stellata hati (*hepatic stellate cells*, HSC) yang merupakan produsen utama kolagen tipe I selama fibrosis yang dikodekan oleh gen COL1A1 (Najimi dkk. 2017).

### 1.7 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan asumsi yang ada, maka hipotesis penelitian ini adalah sebagai berikut:

- 1) Sekretom hWJ-MSCs tidak bersifat sitotoksik terhadap sel HepG2 yang diinduksi LPS.
- 2) Sekretom hWJ-MSCs menurunkan ekspresi gen MMP-1 pada sel HepG2 yang diinduksi LPS.
- 3) Sekretom hWJ-MSCs menurunkan ekspresi gen COL1A1 pada sel HepG2 yang diinduksi LPS.

### 1.8 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini yakni sebagai berikut :

#### 1. Manfaat Teoritis

Penelitian ini memberikan kontribusi pada pengembangan ilmu pengetahuan di bidang biomedis, khususnya terkait terapi regeneratif untuk kerusakan hati. Hasil penelitian ini dapat memperluas wawasan tentang mekanisme molekuler sekretom hWJ-MSCs dalam menghambat kerusakan sel hepatosit. Selain itu, penelitian ini berfungsi sebagai validasi ilmiah terhadap potensi sekretom sebagai terapi non-invasif yang efektif dalam hepatoproteksi.

## 2. Manfaat Praktis

Penelitian ini berpotensi memberikan solusi untuk mengatasi kerusakan hati akibat inflamasi melalui pengembangan terapi berbasis sekretom hWJ-MSCs. Data yang dihasilkan dapat mendukung pengembangan produk farmasi inovatif sebagai alternatif terapi yang lebih aman dan hemat biaya dibandingkan transplantasi hati. Selain itu, hasil penelitian ini dapat menjadi acuan bagi praktisi medis dan industri farmasi dalam merancang pendekatan baru untuk pengobatan penyakit hati kronis.

## 3. Manfaat Bagi Diri Sendiri

Penelitian dalam skripsi ini menjadi salah satu syarat kelulusan penulis sehingga bermanfaat dalam penyelesaian studi strata-1 (S1) penulis. Melalui penelitian ini, penulis mendapatkan wawasan dan keterampilan dalam bidang biologi, serta pengembangan diri sebagai pribadi.

### 1.9 Struktur Organisasi Skripsi

Penulisan skripsi ini terbagi menjadi lima bab utama berdasarkan peraturan karya tulis ilmiah dalam pedoman penulisan karya ilmiah Universitas Pendidikan Indonesia yang dijelaskan dalam struktur organisasi penulisan skripsi berikut:

#### 1) Bab I Pendahuluan

Bab I ini merupakan pendahuluan yang menjelaskan latar belakang penelitian mengenai penyakit hati sebagai masalah kesehatan global dan perlunya terapi inovatif, serta potensi sekretom dari hWJ-MSCs sebagai agen hepatoprotektif. Selain itu, dibahas pula pentingnya analisis gen COL1A1 dan MMP-1 sebagai penanda fibrosis hati. Bab ini juga mencakup rumusan masalah, pertanyaan penelitian, tujuan, batasan, asumsi, hipotesis, dan manfaat penelitian.

#### 2) Bab II Tinjauan Pustaka

Bab II mencakup tinjauan pustaka yang menjelaskan rangkuman teori terkait topik penelitian. Bagian ini membahas secara mendalam tentang penyakit pada organ hati, termasuk kerusakan sel hati, epidemiologi, dan patofisiologinya. Dijelaskan pula mengenai sekretom hWJ-MSCs, meliputi

pengertian, komposisi, mekanisme kerja, dan aplikasi terapeutiknya. Selain itu, bab ini juga menguraikan gen COL1A1 dan MMP-1, lini sel HepG2, LPS sebagai *inducer* inflamasi, uji sitotoksitas, dan analisis ekspresi gen dengan qRT-PCR.

### 3) Bab III Metode Penelitian

Pada Bab III dijelaskan metode penelitian yang dilakukan. Metode ini mencakup jenis dan desain penelitian yaitu uji sitotoksik dengan WST-8 dan uji analisis ekspresi gen dengan qRT-PCR, waktu dan lokasi penelitian, populasi dan sampel yaitu lini sel HepG2 sebagai model sel hati manusia, alur penelitian, serta alat dan bahan yang digunakan. Bagian ini juga merinci prosedur penelitian, mulai dari persiapan alat dan bahan, kultur sel hWJ- MSCs dan HepG2, koleksi sekretom, penghitungan jumlah sel, plating dan treatment, uji sitotoksik, analisis ekspresi gen MMP-1 dan COL1A1 menggunakan RT-PCR, hingga analisis statistik.

### 4) Bab IV Temuan dan Pembahasan

Bab IV menyajikan temuan utama dan analisis hasil penelitian. Bagian ini membahas efek sitotoksik sekretom hWJ-MSCs terhadap sel HepG2 yang diinduksi LPS serta pengaruh sekretom hWJ-MSCs terhadap ekspresi gen COL1A1 dan MMP-1 pada sel HepG2.

### 5) Bab V Simpulan, Implikasi, dan Rekomendasi

Bab V ini menyajikan simpulan dari seluruh penelitian, implikasi hasil temuan, dan rekomendasi untuk penelitian selanjutnya. Bagian ini merangkum temuan utama penelitian dan signifikansinya.