

Efek Penambahan Ekstrak Etanol Herba Ciplukan (*Physalis angulata L*) sebagai Suplemen Terapi pada Rheumatoid Arthritis

Suci Nar Vikasari¹, Afifah Bambang Sutjiatmo¹, Elin Yulinah Sukandar², Sri Wahyuningsih¹, Puspa Sari Dewi Solihah¹, Suryani, Salmanda Aisyah¹, Kuatrina¹, Niken Juni Astuti¹, Nindy Dwi Siftiani¹

ABSTRAK : *Rheumatoid arthritis is an autoimmune disease characterized with chronic joint inflammation. Chronic inflammation leads to liver function abnormality. Previous study showed that Physalis angulata L. had antiinflammatory, hepatoprotector, and immunosuppression effect. This research aims was to evaluate the effect of ethanol extract of P.angulata as adjuvant on liver function of RA animals model. Animals was induced with 0.1 mL complete Freund adjuvant (CFA) intraplantar. The dose of P.angulata extract was 50 mg/kg bw po. The extract was given for 10 days as adjuvant of 0.1125 mg/kg bw methotrexate. Evaluation of liver function consisted of measurement of aminotransferase (AST and ALT), alanine phosphatase (ALP), organ index, and histology. The result showed that CFA could increase the level of AST and ALP and decrease the level of ALT and organ index of control group. The extract of P.angulata as adjuvant of methotrexate could decrease the level of AST and ALP and increase the level of ALT and organ index compare to control group, but could not reach its normal value. Histology showed that the extract also could improve liver regeneration. The extract of P.angulata at dose of 50 mg/kg bw used as adjuvant could improve liver function of RA animals model.*

Keywords: *rheumatoid arthritis, Physalis angulata L, liver function, complete Freund adjuvant*

ABSTRAK: Rheumatoid arthritis (RA) merupakan gangguan otoimun yang ditandai peradangan kronis pada sendi. Peradangan kronis dapat menyebabkan gangguan fungsi hati. Herba ciplukan telah diteliti mempunyai efek antiinflamasi, hepatoprotektor, dan immunosupresan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek penambahan ekstrak etanol herba ciplukan sebagai suplemen terapi pada fungsi hati hewan model RA. Pemodelan hewan RA dilakukan dengan induksi 0,1 mL *Complete Freund Adjuvant* (CFA) intraplantar. Dosis ekstrak ciplukan adalah 50 mg/kg bb peroral. Ekstrak ciplukan diberikan selama 10 hari sebagai suplemen terapi metotreksat 0,1125 mg/kg bb. Parameter fungsi hati yang diamati adalah kadar aminotransferase (AST dan ALT), alanin fosfatase (ALP), indeks organ, dan histologi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kelompok kontrol mengalami peningkatan kadar AST dan ALP serta penurunan kadar ALT dan indeks organ hati dibandingkan kelompok normal. Pemberian ekstrak ciplukan sebagai suplemen terapi metotreksat dapat menurunkan kadar AST dan ALP serta dapat meningkatkan kadar ALT dan nilai indeks organ jika dibandingkan dengan kontrol, meskipun belum bisa mencapai nilai normal. Hasil histologi menunjukkan adanya perbaikan organ hati pada hewan yang diberi ekstrak ciplukan sebagai suplemen terapi metotreksat. Disimpulkan bahwa ekstrak etanol ciplukan 50 mg/kg bb yang digunakan sebagai suplemen terapi metotreksat dapat membantu memperbaiki fungsi hati pada hewan model RA.

¹ Fakultas Farmasi, Universitas Jenderal Achmad Yani

² Sekolah Farmasi, Institut Teknologi Bandung.

Korespondensi :

Suci Nar Vikasari
suci.vikasari@lecture.unjani.ac.id

Kata kunci: rheumatoid arthritis, ciplukan, *Physalis angulata L*, fungsi hati, complete Freund adjuvant

PENDAHULUAN

Rheumatoid arthritis (RA) adalah suatu keadaan kronis dan biasanya merupakan kelainan inflamasi progresif dengan etiologi yang belum diketahui yang dikarakterisasi dengan inflamasi pada sinovial, hiperplasia, produksi autoantibodi, destruksi tulang dan kartilago, dan kelainan sistemik, termasuk gangguan kardiovaskular, pernafasan, fisiologi dan rangka. (1) Inflamasi pada RA akan mempengaruhi fungsi otak, hati, paru-paru, kelenjar eksokrin, otot, dan tulang. Gangguan pada fungsi hati dapat berupa peningkatan respon fase akut dan anemia pada penyakit kronik (1). Gangguan fungsi hati dapat terjadi karena sel penyusun hati (sel hepatosit, sel stelat hepatik, sel *Kupffer*, dan sel endotelial sinusoidal) juga dapat mensintesis sitokin, seperti *interleukin* (IL)-8 dan merespon mediator fase akut, seperti IL-6. Jika mekanisme pertahanan tubuh tidak mampu untuk bertahan dan sel tersebut teraktivasi, maka sel akan memulai sintesis kemokin dan sitokin dalam jumlah besar, dimana sitokin dan kemokin tersebut akan berperan pada penarikan sel inflamatori seperti granulosit dan fagosit mononuklear dan juga akan mengaktivasi makrofag (2).

Terapi farmakologi yang dapat digunakan pada kasus RA adalah DMRAD (*Disease Modifying Anti-Rheumatic Drugs*), NSAID (*Non Steroid Anti-Inflammatory Drugs*), anti malaria, kortikosteroid, imunosupresan, sitotoksik, dan terapi lain. Salah satu DMRAD yang dapat digunakan pada pengobatan RA adalah metotreksat. Metotreksat adalah analog folat yang didesain untuk menghambat kerja enzim dihidrofolat reduktase. Metotreksat akan dihidroksilasi di hati sebanyak 3-12%, dan disirkulasikan dalam pembuluh darah dalam bentuk 7-OH-metotreksat (3). Studi pustaka menyebutkan bahwa penggunaan metotreksat dan/atau kombinasi dengan leflunomida pada pasien rheumatoid dan psoriasis arthritis dapat meningkatkan kadar alanin dan atau aspartat aminotransferase (ALT dan/atau AST) (4).

Ciplukan adalah tumbuhan yang tersebar sepanjang daerah tropis dan subtropis dunia. Penggunaan tumbuhan ini populer dalam pengobatan menyembuhkan luka, radang hati, malaria, penyakit kelamin, rematik, sakit telinga (5,6,7). Ciplukan mengandung saponin, flavonoid (luteolin), polifenol, alkaloid, steroid, vitamin C, asam palmitat, dan asam stearat. Tanaman ciplukan bersifat analgetik (penghilang nyeri), detoksikan (penetrasi racun) serta pengaktif fungsi kelenjar-kelenjar tubuh. Saponin dan alkaloid yang terkandung dalam ciplukan memberikan rasa pahit dan berkasiat sebagai anti tumor dan menghambat pertumbuhan kanker, terutama kanker usus besar (5,6,7). Ekstrak air, etanol dan metanol daun ciplukan mempunyai aktivitas antiinflamasi dan antiarthritis secara *in vitro* pada pengujian stabilisasi membran HRBC (8). Ekstrak air *P. peruviana* mempunyai aktivitas antioksidan dan berpotensi sebagai hepatoprotektif pada tikus yang diinduksi asetaminofen (9). Sampai saat ini belum dikaji secara komprehensif efek ekstrak herba ciplukan pada fungsi hati hewan model autoimun. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek penambahan ekstrak etanol herba ciplukan sebagai suplemen terapi pada fungsi hati hewan model RA.

METODOLOGI PENELITIAN

Bahan

Herba Ciplukan dikumpulkan dari propinsi Jawa Barat. Determinasi tanaman *Physalis angulata* (L.), dilakukan di Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati ITB. Bahan lain yang digunakan adalah Complete Freund Adjuvant (Sigma®), metotreksat, pereaksi enzimatis untuk pemeriksaan kadar ALT, AST, dan ALP (St. Reagensia®).

Pembuatan Ekstrak Etanol Herba Ciplukan

Pembuatan ekstrak etanol herba ciplukan dilakukan menggunakan seperangkat alat Soxhlet. Ekstraksi dilakukan +6 jam. Filtrat kemudian diuapkan dan dikentalkan hingga didapatkan ekstrak kental. Ekstrak kental kemudian dikeringkan dengan oven 70°C.

Uji Efek Penambahan Ekstrak Etanol Herba Ciplukan (*P. angulata L*) sebagai Suplemen Terapi pada Fungsi Hati Hewan Model RA

Tikus Wistar betina yang digunakan diperoleh dari Laboratorium Perhewan Pusat Penelitian Biosains dan Biogenetika ITB. Tikus Wistar betina yang digunakan berumur 2 bulan dan sehat yang ditandai dengan bulu yang tidak rontok. Sebelum dilakukan induksi, hewan uji diaklimatisasi selama satu minggu. Hewan uji dibagi menjadi 5 kelompok yang masing-masing terdiri 4 ekor, yaitu normal, kontrol, pembanding Metotreksat 0,1 mg/kg bb po, ekstrak etanol 50 mg/kg bb po, dan kombinasi ekstrak dan pembanding metotreksat (10).

Pada awal pengujian, dilakukan pembentukan kondisi RA pada hewan uji dengan induksi 0,1 mL CFAsecaraintraplantar. Delapan hari setelah induksi CFA, dilakukan pemberian sediaan uji hingga hari ke-17. Pada hari ke-17 (10 hari setelah pemberian sediaan uji) dilakukan pengujian fungsi hati (penentuan kadar ALT, AST, dan ALP). Kemudian hewan uji dikorbankan untuk pengamatan organ hati, dihitung nilai indeks organnya dan dilakukan pengamatan histopatologi. Organ disimpan dalam tatis formalin 10% dan dilakukan histologi dengan pewarnaan *Hematoxylin* dan *eosin* (H&E). Data yang diperoleh dianalisis statistik menggunakan Uji-t menggunakan perangkat lunak SPSS 20.0.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini, digunakan CFA sebagai induktor RA, dimana jika CFA diinjeksikan

melalui telapak kaki akan memberikan reaksi inflamasi lokal sebagai respon imunologik yang akan berkembang selama sembilan hari (11).

Pemeriksaan fungsi hati dapat dilakukan dari sampel berupa urine atau serum. Penentuan fungsi hati yang dilakukan dengan mengukur kadar enzim hati (ALT, AST dan ALP) dari serum (12,13). Penentuan fungsi hati dapat dilakukan dengan mengukur kadar enzim hati (ALT, AST dan ALP) dari serum. *Aminotransferase alanin* (ALT) merupakan enzim utama yang banyak ditemukan pada sel hati serta efektif digunakan untuk mendiagnosa destruktif hati. Sehingga jika ada gangguan hati (nekrosis hati dan hepatitis akut), nilai ALT akan meningkat (12,13). *Aminotransferase aspartat* (AST) merupakan enzim yang sebagian besar ditemukan dalam otot jantung dan hati, sedangkan konsentrasi sedang dapat ditemukan pada otot rangka, ginjal, dan pankreas. Kadar AST dapat meningkat pada gangguan infark miokardial akut, hepatitis, nekrosis hati, penyakit dan trauma muskuloskeletal, pankreatitis akut, kanker hati, angina pektoris, dan dapat dikarenakan pemberian obat (12,13). *Alkaline fosfatase* (ALP) merupakan enzim yang diproduksi terutama di hati dan di tulang, dan di usus, ginjal atau plasenta. Peningkatan jumlah ALP dapat mengindikasikan terjadinya gangguan pada hati atau tulang. Pada kasus gangguan hati, peningkatan kadar ALP berkaitan dengan gangguan pada saluran bilier. Sedangkan pada kasus kelainan tulang, pelepasan ALP berkaitan dengan produksi sel tulang dan

Tabel 1. Hasil pengukuran kadar enzim hati

Kelompok	Kadar enzim hati (U/L)		
	ALT	AST	ALP
Normal	53,12±3,07	197,09±32,60	156,11±22,38
Kontrol	47,43±13,03	247,51±69,75	251,33±53,60
Metotreksat	43,91±11,17	212,61±61,13	208,62±69,79
Eks. Etanol Herba Ciplukan 50 mg/kg bb	56,12±11,86	205,16±48,26	207,94±61,27
Kombinasi metotreksat + Eks. Etanol Herba Ciplukan 50 mg/kg bb	54,16±6,29	203,13±54,06	210,79±43,39

Ket: n=4; *p<0,05, jika dibandingkan terhadap kontrol menggunakan uji-t

deposisi kalsium pada tulang. RA merupakan salah satu penyakit yang dapat meningkatkan kadar ALP meningkat (12,13).

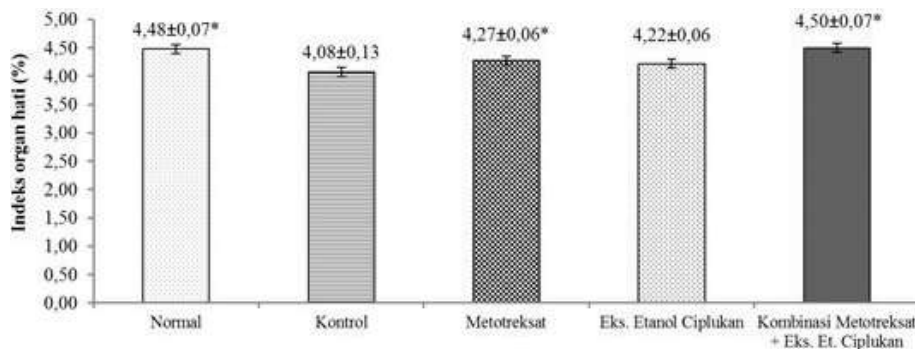
Hasil pengukuran kadar enzim hati dapat dilihat pada Tabel 1.

Pada penelitian ini, kelompok kontrol yang diinduksi CFA mengalami peningkatan kadar AST dan ALP serta penurunan kadar ALT jika dibandingkan kelompok normal. Pemberian ekstrak etanol herba ciplukan tunggal atau kombinasi dengan metotreksat dapat menurunkan kadar AST dan ALP jika dibandingkan dengan kontrol. Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol herba ciplukan tunggal atau kombinasi dengan metotreksat dapat meningkatkan kadar ALT jika dibandingkan dengan kontrol. Pada penelitian ini terjadi penurunan kadar ALT pada hewan yang diinduksi CFA dibandingkan dengan kelompok normal. Hal yang sama juga

terjadi pada kelompok yang diinduksi CFA dan mendapatkan terapi metotreksat. Sedangkan pada kelompok yang diinduksi CFA dan mendapatkan terapi ekstrak etanol herba ciplukan, baik yang diberikan sendiri atau sebagai suplemen pada terapi metotreksat, terjadi peningkatan kadar ALT dan nilainya mendekati nilai normal. Sedangkan pada pengukuran kadar AST dan ALP, kelompok kontrol yang diinduksi CFA menunjukkan adanya peningkatan kadar AST dan ALP jika dibandingkan kelompok normal. Pemberian terapi metotreksat, ekstrak etanol herba ciplukan dan kombinasi keduanya mampu menurunkan kadar AST dan ALP jika dibandingkan dengan kontrol.

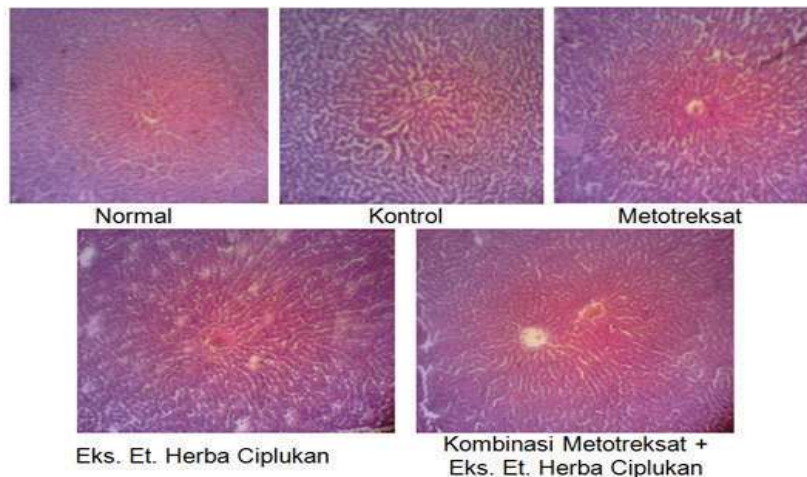
Parameter lain yang diukur pada penelitian ini adalah indeks organ hati, dapat dilihat pada Gambar 1. Hasil histopatologi organ hati dapat dilihat pada Gambar 2.

Hasil pengukuran indeks organ menunjukkan



Gambar 1. Hasil perhitungan indeks organ hati

Ket: n=4; *p<0,05, jika dibandingkan terhadap kontrol menggunakan uji-t



Gambar 2. Histologi organ hati dengan pewarnaan *Hematoxylin-Eosin* pada perbesaran 40x

bahwa terjadi penurunan indeks organ hati kelompok kontrol yang diinduksi CFA jika dibandingkan kelompok normal ($p < 0,05$), hal ini menunjukkan terjadinya atropi organ hati. Pemberian terapi metotreksat, ekstrak etanol herba ciplukan dan kombinasi metotreksat-ekstraketanolherbaciplukan dapat meningkatkan nilai indeks organ jika dibandingkan kelompok kontrol ($p < 0,05$).

Hasil histopatologi menunjukkan adanya perbedaan perubahan pada struktur histologi kelompok kontrol jika dibandingkan kelompok normal. Pemberian metotreksat dan ekstrak etanol herba ciplukan dapat sedikit memperbaiki struktur histologi hati, tetapi perbaikan yang lebih baik terjadi pada kelompok yang mendapatkan kombinasi metotreksat dan ekstrak etanol herba ciplukan.

Berdasarkan studi mengenai gangguan yang berhubungan dengan organ hati pada penderita RA yang dapat terlihat secara makroskopik adalah adanya perubahan warna pada hati menjadi merah keabu-abuan, permukaan menjadi tidak rata dan adanya luka, terdapat benang fibrosa atau ada perubahan retikular. Perubahan mikroskopik yang tampak adalah terjadinya variasi ukuran sel hati, degenerasi lemak, reaksi sel Kupffer, akumulasi haemosiderin, nekrosis, infiltrasi pada lapisan terluar sel perivaskular, peningkatan jumlah sel yang mengalami fibrosa, dan perubahan menjadi hepatitis rematik serta terjadinya sirosis (14). Pada penelitian ini, kelompok kontrol yang diinduksi CFA mengalami atropi jika dibandingkan kelompok normal, dan pemberian metotreksat, ekstrak etanol herba ciplukan serta kombinasi metotreksat dan ekstrak etanol herba ciplukan mampu mengurangi atropi dibandingkan dengan kelompok kontrol. Pengamatan histologi juga menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol herba ciplukan, baik diberikan tunggal atau kombinasi dengan metotreksat, mampu memperbaiki organisasi sel Kupffer di hati, memperbaiki ukuran sel hati dan mengurangi kerusakan pada vaskular sentral.

Efek antiinflamasi ekstrak etanol ciplukan,

salah satunya dikarenakan kemampuannya menghambat enzim siklooksigenase-2 (COX-2), dimana COX-2 dapat membantu sintesis sitokin pro inflamatori (15). Beberapa senyawa aktif dari *P. angulata* diketahui mempengaruhi sistem imun adalah *Physalin B, E, F, G*, dan *H*, serta *Withangulatin A* (16,17,18,19,20). *Physalin B, F, dan G* dapat menghambat aktivasi makrofag dengan cara mereduksi produksi nitrit oksida oleh makrofag (16). Efek antiinflamasi *Physalin E* diketahui dari kemampuannya pada kondisi akut dan kronis dermatitis. *Physalin E* mempengaruhi edema, produksi sitokin pro inflamatori (TNF- α dan IFN- γ), dan aktivitas mieloperoksidase (17). Efek immunosupresif *Physalin F* diketahui dari kemampuannya mereduksi edema dan inflamasi sendi pada mencit yang diinduksi kolagen dengan mekanisme kerja yang berbeda dengan glukokortikoid (18). *Physalin H* dan *Withangulatin A* mempunyai efek immunosupresif dengan menghambat aktivasi dan proliferasi sel T, memodulasi kesetimbangan sitokin *Th1/Th2* dan menginduksi heme oksigenase (HO)-1 pada sel T (19,20).

KESIMPULAN

Penggunaan ekstrak etanol herba ciplukan dosis 50 mg/kg bb sebagai suplemen terapi metotreksat dapat memperbaiki fungsi hati pada hewan model RA yang diinduksi CFA.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih ditujukan kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat Universitas Jenderal Achmad Yani yang telah membiayai penelitian ini melalui Hibah Penelitian Kompetitif.

DAFTAR PUSTAKA

1. McInnes IB and Schett G. Mechanisms of disease: the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *N Engl J Med.* 2011;365, 2205-19.

2. Ramadori G, Moriconi F, Malik I, dan Dudas J. (2008). Physiology and pathophysiology of liver inflammation, damage, and repair. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 2008;59(1):107-117.
3. Leader. Anti-inflammatory mechanisms of methotrexate in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2001;60:729–735.
4. Curtis JR, Beukelman T, et al. Elevated Liver Enzyme Tests Among Rheumatoid Arthritis and Psoriatic Arthritis Patients treated with Methotrexate and/or Leflunomide. *Ann Rheum Dis*, 2010;69(1), 43–47.
5. Porika, Raju., et al. Preliminary Phytochemical Investigation and TLC Analysis of *Physalis angulata* Fruit Extract. *Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 2014;9: 11-14.
6. Sultana, Nahid., et al. *Physalis angulata L.* (Solanaceae) – a New Angiospermic Record For Bangladesh. *Bangladesh J. Bot.* 2008;37(2):195-198.
7. Kusumaningtyas, R. W., et al. Potential of Ciplukan (*Physalis angulata L.*) as Source of Functional Ingredient. *Procedia Chemistry*. 2015;14: 367-372.
8. Shraavan Kumar N, Khisore G, Siva Kumar G, dan Sindhu Priya ES. In vitro anti-inflammatory and anti-arthritis activity of leaves of *Physalis angulata L.* *Int. J. Pharm & Ind. Res.*, 2011;01(03):211-213.
9. Chan JC, Lin CC, Wu SJ, et al. Antioxidative and hepatoprotective effect of *Physalis peruviana* extract against acetaminophen-induced liver injury in rats. *Pharmaceutical biology*. 2011; 46(10-11):724-731.
10. Borashan FA, Ilkhanipoor M, Hashemi M, Farrokhi F. Investigation the Effects of Curcumin on Serum Hepatic Enzymes Activity in a Rheumatoid Arthritis Model. *Electronic Journal of Biology*. 2008;4(4):129-133.
11. Bendele AM. Animal models of rheumatoid arthritis. *J Musculoskel Neuron Interact*. 2011;1(4):377-385.
12. Ditjen Binfar Depkes RI. *Pedoman Interpretasi Data Klinik*. Jakarta. 2011:58-61.
13. Kee JL. *Pedoman pemeriksaan laboratorium dan diagnostik, terjemahan Sari Kurnianingsih*, EGC, Jakarta, 2003;15-16, 25-26, 7-76.
14. Lefkovits AM dan Farrow IJ. The Liver In Rheumatoid Arthritis. *Ann. rheum. Dis.* 1995;14, 162.
15. Sutrisna EM, Indwianastuti, Haryadi. The Ethanol Extract of *Physalis angulata* Linn Inhibits COX-2 activity in MCF-7 Cell In Vitro. *International Conference: Research and Application on Traditional Complementary and Alternative Medicine in Health Care (TCAM)*. June, 22nd-23rd 2012 Surakarta Indonesia.
16. Soares MBP, Bellintasni MC, Ribeiro IM, Tomassini TCB dan dos Santos RR. Inhibition of macrophage activation and lipopolysaccharide-induced death by seco-steroids purified from *Physalis angulata L.* *European Journal of Pharmacology*. 2003;459:107–112.
17. Pinto NB, Morais TC, Carvalho KMB, et al. Topical anti-inflammatory potential of Physalin E from *Physalis angulata* on experimental dermatitis in mice. *Phytomedicine*, 2010;17:740-743.
18. Brusolim D, Vasconcelos JF, Freias LAR, et al. Activity of Physalin F in a Collagen Induced Arthritis Model. *J. Nat. Prod.* 2010;73 (8): 1323–1326.
19. Yu Y, Sun L, Ma L, Liu J, et al. Investigation of the immunosuppressive activity of Physalin H on T lymphocytes. *International Immuno pharmacology*. 2009;10(3):290-297.
20. Sun, L., Liu, J., Liu, P., Yu, Y., Ma, L., and Hu, L. Immunosuppression effect of Withangulatin A from *Physalis angulata* via heme oxygenase 1-dependent pathways. *Process Biochemistry*. 2011; 46, 482–488.