

**PENGARUH PEMBERIAN INJEKSI INTRAMUSKULAR SEL PUNCA
MESENKIMAL TALI PUSAT MANUSIA TERHADAP GAMBARAN
HISTOPATOLOGI HATI TIKUS PUTIH (*RATTUS NORVEGICUS*)
YANG DIINDUKSI ASPIRIN**

(Skripsi)

**Oleh
ASYRAF VIVALDI WARDOYO**



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2019**

**PENGARUH PEMBERIAN INJEKSI INTRAMUSKULAR SEL PUNCA
MESENKIMAL TALI PUSAT MANUSIA TERHADAP GAMBARAN
HISTOPATOLOGI HATI TIKUS PUTIH (*RATTUS NORVEGICUS*)
YANG DIINDUKSI ASPIRIN**

Oleh
ASYRAF VIVALDI WARDOYO

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar
SARJANA KEDOKTERAN**

Pada

**Fakultas Kedokteran
Universitas Lampung**



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2019**

ABSTRACT

THE EFFECT OF INTRAMUSCULAR INTRAMUSCULAR INJECTION OF HUMAN UMBILICAL CORD MESENCHYMAL STEM CELL ON HISTOPATHOLOGICAL DESCRIPTION OF WHITE RATS (*Rattus Norvegicus*) LIVER WITH ASPIRIN INDUCTION

By

ASYRAF VIVALDI WARDOYO

Background: Excessive and uncontrolled use of aspirin can cause several complications and various damage to organs, including damage to the liver. Human umbilical mesenchymal stem cells are an important source for regeneration and repair of damaged tissue.

Purpose: To prove the effect of intramuscular injection of human umbilical cord mesenchymal stem cells on the histopathological picture of white rat (*Rattus Norvegicus*) *Sprague Dawley* strain induced by aspirin.

Method: This study was an experimental study with a post-test only control group design with 27 white rats *Sprague Dawley* strains (*Rattus norvegicus*) which were divided into three treatment groups. The control group (K) was given standard food and drinks for 42 days, P1 was given aspirin 200 mg / kgBB by oral administration for 14 days, P2 was given aspirin 200 mg / kgBB orally for 14 days and was given mesenchymal stem cell injection of human umbilical cord intramuscularly 0.75 mL on days 14 and 28.

Result: Data were observed by Kruskal-Wallis Non-Parametric Test, obtained $p=0,000$ ($p<0,05$). The expected results obtained H_0 were expected. The statistical results with Mann-Whitney test obtained are also find significant differences in each groups, but P1 with P2 ($p=0,199$) not gained significant differences.

Conclusions: There is an effect of intramuscular injection of human umbilical cord mesenchymal stem cells on the histopathological picture of white rat liver (*Rattus Norvegicus*) *Sprague Dawley* strain induced by aspirin.

Keywords: Aspirin, Liver histopatology, Mesenchymal stem cells

ABSTRAK

PENGARUH PEMBERIAN INJEKSI INTRAMUSKULAR SEL PUNCA MESENKIMAL TALI PUSAT MANUSIA TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI HATI TIKUS PUTIH (*RATTUS NORVEGICUS*) YANG DIINDUKSI ASPIRIN

Oleh

ASYRAF VIVALDI WARDOYO

Latar Belakang: Penggunaan aspirin secara berlebihan dan tidak terkontrol dapat menyebabkan beberapa komplikasi dan berbagai kerusakan pada organ, termasuk kerusakan pada organ hati. Sel punca mesenkimal tali pusat manusia merupakan salah satu sumber untuk regenerasi dan perbaikan jaringan yang rusak.

Tujuan: Untuk membuktikan pengaruh pemberian injeksi intramuskular sel punca mesenkimal tali pusat manusia terhadap gambaran histopatologi hati tikus putih (*Rattus Norvegicus*) galur *Sprague Dawley* yang diinduksi aspirin.

Metode: Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan desain *post-test only control group design* dengan 27 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* yang dibagi menjadi tiga kelompok perlakuan. Kelompok kontrol (K) diberi makanan dan minuman standar selama 42 hari, P1 diberi aspirin 200 mg / kgBB dengan pemberian secara oral selama 14 hari, P2 diberi aspirin 200 mg / kgBB secara oral selama 14 hari dan diberikan injeksi sel punca mesenkimal tali pusat manusia secara intramuskular 0,75 mL pada hari ke-14 dan ke-28.

Hasil: Data diamati dengan Uji Non-Parametrik Kruskal-Wallis, diperoleh $p = 0,000$ ($p < 0,05$). Hasil yang diharapkan diperoleh H_0 yang diharapkan. Hasil statistik dengan uji Mann-Whitney yang diperoleh juga ditemukan adanya perbedaan yang signifikan pada setiap kelompok, tetapi P1 dengan P2 ($p = 0,199$) tidak memperoleh perbedaan yang signifikan.

Kesimpulan: Terdapat pengaruh pemberian injeksi intramuskular sel punca mesenkimal tali pusat manusia terhadap gambaran histopatologi hati tikus putih (*Rattus Norvegicus*) galur *Sprague Dawley* yang diinduksi aspirin.

Kata Kunci: Aspirin, Histopatologi hati, Sel punca mesenkimal

Judul Skripsi

**PENGARUH PEMBERIAN INJEKSI
INTRAMUSKULAR SEL PUNCA
MESENKIMAL TALI PUSAT MANUSIA
TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI
HATI TIKUS PUTIH (*RATTUS NORVEGICUS*)
YANG DIINDUKSI ASPIRIN**

Nama Mahasiswa

: Asyraf Vivaldi Wardoyo

Nomor Pokok Mahasiswa

: 1658011002

Program Studi

: Pendidikan Dokter

Fakultas

: Kedokteran



MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

A handwritten signature in black ink, belonging to Dr. dr. Evi Kurniawaty.

Dr. dr. Evi Kurniawaty, S.Ked., M.Sc.

NIP 19760120 200312 2 001

A handwritten signature in black ink, belonging to Dr. dr. Susianti.

Dr. dr. Susianti, S.Ked., M.Sc.

NIP 19780805 200501 2 003

2. Dekan Fakultas Kedokteran

A handwritten signature in black ink, belonging to Dr. Dyah Wulan Sunjekar RW.

Dr. Dyah Wulan Sunjekar RW, S.K.M., M.Kes.

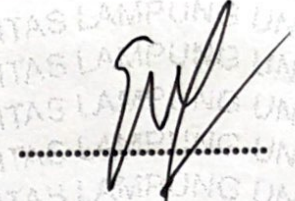
NIP 19720628 199702 2 001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

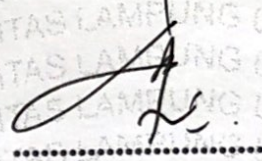
Ketua

Dr. dr. Evi Kurniawaty, S.Ked., M.Sc.



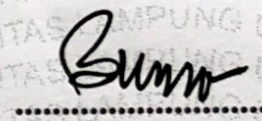
Sekretaris

Dr. dr. Susianti, S.Ked., M.Sc.



Penguji

Bukan Pembimbing : **Dr. Hendri Busman, M.Biomed.**



2. Dekan Fakultas Kedokteran

Dr. Dyah Wulan Sumekar RW, S.K.M., M.Kes.

NIP-19720628 199702 2 001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : **3 Januari 2020**

LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa:

1. Skripsi dengan judul Pengaruh Pemberian Injeksi Intramuskular Sel Punca Mesenkimal Tali Pusat Manusia Terhadap Gambaran Histopatologi Hati Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Galur *Sprague Dawley* yang Diinduksi Aspirin. adalah hasil karya saya sendiri dan tidak melakukan penjiplakan atas karya penulis lain dengan cara tidak sesuai tata etika ilmiah yang berlaku dalam akademik atau yang dimaksud dengan plagiarisme.
2. Hak intelektual atas karya ilmiah ini diserahkan sepenuhnya kepada Universitas Lampung.

Atas pernyataan ini, apabila dikemudian hari ditemukan adanya ketidakbenaran, saya bersedia menanggung akibat dan sanksi yang diberikan kepada saya.

Bandar Lampung, 6 Januari 2020

Pembuat pernyataan,



Asyraf Vivaldi Wardoyo

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Bandar Lampung pada tanggal 5 Mei 1998, sebagai anak pertama dari tiga bersaudara dari Bapak Heri Wardoyo, S.H, MH. dan Ibu Dr. Zaidirina, S.E., M.Si. Penulis memiliki satu orang adik perempuan yang bernama Athaya Calista Sastyaviana dan satu orang adik laki-laki yang bernama Admiral El-Ghaaziy Wardoyo.

Pendidikan Taman Kanak-kanak (TK) diselesaikan di TK Tunas Mekar Indonesia Bandar Lampung pada tahun 2004, kemudian dilanjutkan dengan bersekolah di SD Kartika II-5 Bandar Lampung pada Tahun 2010, Sekolah Menengah Pertama (SMP) diselesaikan di SMPN 2 Bandar Lampung pada tahun 2013, dan Sekolah Menengah Atas (SMA) diselesaikan di SMAN 2 Bandar Lampung pada tahun 2016.

Tahun 2016, penulis terdaftar sebagai mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Lampung melalui jalur Ujian Masuk Perguruan Tinggi Negeri 2016 (UMPTN). Selama menjadi mahasiswa, penulis pernah menjadi Asisten Dosen Patologi Klinik tahun 2018-2019 dan aktif pada organisasi PMPATD PAKIS RESCUE TEAM sebagai anggota periode 2016-2017 dan 2017- 2018, kemudian menjabat menjadi Ketua Divisi Pengabdian Masyarakat periode 2018-2019.

Bismillahirrahmanirrahim
Kupersembahkan karya sederhana ini kepada kedua
orangtuaku, adik- adikku dan seluruh keluarga
sebagai tanda terimakasih atas segala doa, dukungan
dan sebagai sumber semangat hingga saat ini...

“ Bekerjalah kamu, maka Allah dan rasul Nya serta
orang-orang mukmin akan melihat pekerjaan mu itu
dan kamu akan dikembalikan kepada Allah lalu
diberitakan kepada Nya apa yang telah kamu
kerjakan”

(Q.S. At-Taubah : 105)

SANWACANA

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT yang telah memberikan segala rahmat, nikmat dan karunia-Nya selama penyusunan skripsi ini sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang dengan judul “Pengaruh Pemberian Injeksi Intramuskular Sel Punca Mesenkimal Tali Pusat Manusia Terhadap Gambaran Histopatologi Hati Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) yang Diinduksi Aspirin”.

Selama proses penulisan skripsi ini, penulis mendapatkan banyak bantuan, bimbingan, saran, dan kritik dari berbagai pihak. Maka dalam kesempatan ini penulis ingin menyampaikan rasa terimakasih yang mendalam kepada:

1. Prof. Dr. Karomani, M. Si., selaku Rektor Universitas Lampung.
2. Dr. Dyah Wulan Sumekar RW, S.K.M., M. Kes, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.
3. Dr. dr. Evi Kurniawaty, S.Ked., M.Sc., selaku Pembimbing I yang senantiasa membimbing, memberikan masukan, dan motivasi yang merupakan sesuatu yang sangat berharga bagi penulis, terima kasih atas pelajaran berharga yang telah diberikan

4. Dr. dr. Susianti, S.Ked., M.Sc., selaku Pembimbing II yang senantiasa memberikan bimbingan, saran, serta motivasi kepada penulis.
5. Dr. Hendri Busman, M.Biomed., selaku penguji utama yang telah memberikan ilmu, saran, serta bimbingan kepada penulis.
6. dr. Hanna Mutiara, S.ked., M.kes., selaku Pembimbing Akademik yang senantiasa memberikan bimbingan, motivasi dan masukan selama proses perkuliahan.
7. Seluruh dosen, staff, dan karyawan Fakultas kedokteran Universitas Lampung atas waktu, bantuan, serta ilmu yang telah diberikan selama proses perkuliahan sampai penyusunan skripsi.
8. Ibu Nuriyah dan Mba Yani yang sudah banyak memberikan bantuan serta pengetahuan kepada penulis dalam proses pembuatan ekstrak sel punca mesenkimal tali pusat manusia.
9. dr. Rizki Hanriko, S.Ked., Sp.PA dan Mas Bayu yang telah membantu penulis dalam proses pembuatan dan pembacaan prepat.
10. Papa, Mama, Aya, dan Admiral yang senantiasa mendukung, mendoakan serta selalu menjadi alasan untuk penulis agar tetap berjuang.
11. Sahabat dekat yang senantiasa menemani serta mendukung penulis dalam keadaan sulit dan bahagia selama ini di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung, Abi, Agung, Akhlis, Efrans, Reza, dan Roni.
12. Sahabat–sahabat belajarku, Ulfa,Ellyta,Agung,Efrans,Abi,Reqza,Bustami, Reza, Rony, Akhlish, Adilla, Rezita, Carla, Pingkan, Melia, Qanit, yang selalu memberikan bantuan, dukungan, serta motivasi kepada penulis.

13. Teman – teman penelitianku, Ihsan Anas, Cahaya Carla dan Kak Anggun.
Terima kasih atas segala bantuan, kerjasama, dan semangat yang telah diberikan.
14. Terima kasih kepada Ibu R selaku pendonor tali pusat dan Bidan Puskesmas Karang Anyar yang telah mengizinkan dan membantu untuk mendapatkan donor tali pusat.
15. Teman-teman angkatan 2016 (TR16EMINUS) yang tidak dapat disebutkan satu persatu, terimakasih atas bantuan dan dukungan selama proses perkuliahan.

Akhir kata, semoga Allah SWT senantiasa memberikan rahmat, karunia, serta balasan atas segala bantuan dan kebaikan yang telah diberikan kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini. Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, namun sedikit harapan semoga skripsi yang sederhana ini dapat bermanfaat bagi masyarakat. Aamiin Yaa Robbal ‘Aalamiin.

Bandar Lampung, Desember 2019

Penulis

Asyraf Vivaldi Wardoyo

DAFTAR ISI

Halaman

DAFTAR ISI	i
DAFTAR TABEL	iii
DAFTAR GAMBAR	iv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1. Latar belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	4
1.3. Tujuan Penelitian	5
1.4. Manfaat Penelitian	5
1.4.1. Manfaat bagi Penulis	5
1.4.2. Manfaat bagi Peneliti Lain.....	5
1.4.3. Manfaat bagi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung	6
1.4.4. Manfaat bagi Masyarakat.....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1. Aspirin	7
2.1.1. Definisi	7
2.1.2. Mekanisme Kerja.....	7
2.1.3. Efek Samping.....	8
2.2. Organ Hati	8
2.2.1. Anatomi Hati	8
2.2.2. Histologi dan Fisiologi Hati.....	14
2.2.3. Patologi Hati	20
2.2.4. Hati yang diinduksi Aspirin dalam dosis tinggi	24
2.3. Sel Punca	26
2.4. Tikus (<i>Rattus Norvegicus</i>)	33
2.5. Kerangka Teori	36
2.6. Kerangka Konsep.....	37
2.7. Hipotesis	37
BAB III METODE PENELITIAN	38
3.1. Rancangan Penelitian.....	38
3.2. Lokasi dan Waktu Penelitian	38
3.3. Populasi dan sampel penelitian.....	39

3.3.1. Populasi Penelitian.....	39
3.3.2. Sampel Penelitian	39
3.4. Kriteria Inklusi dan Eksklusi	40
3.5. Variabel Penelitian.....	41
3.6. Kelompok Perlakuan	43
3.7. Cara Kerja	44
3.7.1. Alat dan Bahan Penelitian.....	44
3.7.2. Prosedur Penelitian	44
3.8. Diagram Alur Penelitian	55
3.9. Pengolahan dan Analisis Data	56
3.10. Etika Penelitian	57
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	59
4.1. Gambaran Umum Penelitian.....	59
4.1.1. Gambaran Histopatologi Hati	59
4.1.2. Analisis Histopatologi Hati.....	63
4.2. Pembahasan	68
4.3. Keterbatasan Penelitian.....	74
BAB V SIMPULAN DAN SARAN	75
5.1. Simpulan	75
5.2. Saran	75
DAFTAR PUSTAKA.....	77
LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
Tabel 1. Definisi Operasional	42
Tabel 2. Skoring kerusakan hati	63
Tabel 3. Hasil uji normalitas Shapiro-Wilk	66
Tabel 4. Hasil analisis uji Mann Whitney kerusakan hati pada tiap kelompok.....	67

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 1. Drainase vena portal dan supply darah menuju ke hati manusia	10
Gambar 2. Gambaran Ligament Falciform hati manusia	11
Gambar 3. Pembagian segmen hati manusia	12
Gambar 4. Gambaran sistem persarafan pada hati manusia	13
Gambar 5. Gambaran histologis hati manusia	15
Gambar 6. Gambaran struktur dasar lobulus hati manusia	17
Gambar 7. Gambaran mikroskopik hati manusia pada perbesaran 30 x	20
Gambar 8. Mekanisme DILI (Drugs Induced Liver Injury) idiosyncratic	21
Gambar 9. Histopatologi hati dari biopsi hati pasien dengan steatohepatitis	23
Gambar 10. Gambaran nekrosis hepatosit hati tikus putih jantan	23
Gambar 11. Gambaran kongesti pada vena sentralis hati tikus putih jantan	23
Gambar 12. Gambaran infiltrat sel radang pada hati tikus putih jantan	24
Gambar 13. Gambaran Histopatologi sel hati tikus wistar	24
Gambar 14. Karakteristik Sel Punca : Replikasi dan Diferensiasi	27
Gambar 15. Kerangka Teori	36
Gambar 16. Kerangka Konsep	37
Gambar 17. Diagram Alur Penelitian	55
Gambar 18. Gambaran histopatologi hati tikus kelompok kontrol (K)	60

Gambar 19. Gambaran histopatologi hati tikus kelompok perlakuan 1 (P1).....	61
Gambar 20. Gambaran histopatologi hati tikus kelompok perlakuan 2 (P2).....	62
Gambar 21. Grafik perbandingan rerata skor kerusakan hati tikus	65

DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1. Lembar Permohonan Menjadi Responden / Pendonor (*Informed Consent*)
- Lampiran 2. Lembar Pernyataan Persetujuan Partisipasi
- Lampiran 3. Hasil pengukuran berat badan sebelum dan sesudah dilakukan aklimatisasi
- Lampiran 4. Hasil randomisasi hewan uji coba
- Lampiran 5. Surat Disposisi Peminjaman Animal House dan Surat Peminjaman Laboratorium
- Lampiran 6. Persetujuan Etik
- Lampiran 7. Surat Keterangan Hewan Uji Coba
- Lampiran 8. Dokumentasi selama penelitian
- Lampiran 9. Hasil Uji Statistik

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar belakang

Penyakit hati merupakan masalah kesehatan yang serius di seluruh dunia. Gangguan pada fungsi hati masih menjadi masalah kesehatan besar, baik di negara maju maupun di negara berkembang. Indonesia merupakan negara dalam peringkat endemik tinggi mengenai penyakit hati. Angka kejadian kerusakan hati sangat tinggi, dimulai dari kerusakan yang tidak tetap namun dapat berlangsung lama, rusaknya fungsi hati biasanya ditandai dengan menguningnya warna kulit, membran mukosa dan naiknya konsentrasi bilirubin, enzim AST dan ALT dalam darah (Hikmah, 2014).

Hati adalah organ metabolisme vital yang melakukan berbagai fungsi, yang sangat penting bagi kelangsungan hidup hewan dan tubuh manusia. Hati mengatur pasokan energi tubuh, beberapa senyawa penting dan membersihkan zat dengan beberapa metode termasuk daur ulang, inaktivasi dan ekskresi (El-fiky *et al.*, 2015).

Hati memiliki kapasitas yang luar biasa untuk melakukan regenerasi dan pulih dari berbagai kerusakan. Namun, dalam banyak kasus, cedera hati dapat melebihi kapasitas regeneratifnya dengan fibrosis dan tahap akhirnya, sirosis, menjadi akhir yang tak terhindarkan. Saat ini, pengobatan terbatas hanya untuk menghilangkan rangsangan cedera yang mendasarinya, seperti memberantas virus menggunakan interferon, ribavirin dan lamivudine untuk memberantas virus hepatitis, menghentikan penggunaan obat-obatan yang menyebabkan hepatotoksik dan sebagai upaya terakhir, transplantasi hati. Namun ada banyak batasan untuk transplantasi hati terhadap penerapannya dan ketersediaannya untuk semua pasien di seluruh dunia, seperti biaya tinggi, kelangkaan donor, risiko yang terkait dengan transplantasi seluruh organ, serta penekan kekebalan farmakologis (El-fiky *et al.*, 2015).

Selain konsumsi alkohol yang berlebihan, obesitas, diabetes, merokok, penyakit infeksi dll, salah satu penyebab dari kerusakan hati adalah obat-obatan. Kerusakan sel hati selain disebabkan oleh virus, juga dapat disebabkan oleh obat-obatan yaitu penggunaan obat dalam jangka waktu yang lama atau juga disebabkan oleh konsumsi alkohol. Obat yang dikatakan hepatotoksik adalah obat yang dapat menginduksi kerusakan hati atau biasanya disebut dengan *drug induced liver injury*. Hepatotoksisitas merupakan komplikasi potensi obat yang paling sering dijumpai, hal ini mungkin dikarenakan salah satu peran hati adalah memetabolisme obat (Hikmah, 2014).

Obat antiinflamasi nonsteroid (NSAID) merupakan obat yang paling banyak digunakan di beberapa negara, NSAID biasanya dikonsumsi untuk pengobatan gejala nyeri dan peradangan, seperti osteoarthritis (OA) dan rheumatoid arthritis (RA). Telah dilaporkan bahwa 12,1% dari populasi AS menggunakan NSAID setidaknya tiga kali per minggu selama lebih dari 3 bulan (Sriuttha *et al.*, 2018).

NSAID memiliki efek samping yang bervariasi, yaitu efek samping pada gastro-duodenal, usus, kulit, ginjal dan hati. NSAID menyebabkan sekitar 10% kasus cedera hati yang diinduksi oleh obat. 99% dari kasus yang dilaporkan hepatotoksitas disebabkan oleh NSAID. Perkiraan insidensi hepatotoksitas yang diinduksi NSAID bervariasi, mulai dari 0,29 hingga 9 per 100.000 pasien per tahun (Meunier *and* Larrey, 2018).

Aspirin, salisilat asetat (asam asetilsalisilat-ASA), diklasifikasikan sebagai obat-obatan antiinflamasi non-steroid (NSAID). Aspirin adalah salah satu jenis obat antiinflamasi non-steroidal yang terkenal, murah, mudah tersedia dan banyak digunakan. Aspirin digunakan dalam tujuan anti-inflamasi (pada penyakit sendi), anti-platelet (pada penyakit kardiovaskular), analgesik dan antipiretik. Aspirin adalah obat yang aman pada dosis rendah tetapi juga memiliki efek samping yang mengancam jiwa ketika diberikan dalam dosis tinggi. Penggunaan terapi aspirin jangka panjang telah dikaitkan dengan nefrotoksitas, hepatotoksitas, ulserasi gastrointestinal, dan kanker sel ginjal dan efek samping pada beberapa sistem organ. Administrasi selama periode

waktu telah didokumentasikan untuk menyebabkan perubahan histopatologis yang signifikan di hati yang dikonfirmasi ke tingkat sel (Charles *et al.*, 2018).

Sel punca adalah jenis sel yang memiliki kemampuan untuk memperbaiki diri dan berdiferensiasi. Kemampuan sel punca untuk berdiferensiasi menjadi satu atau lebih tipe sel dikenal sebagai *Developmental Plasticity*. Di tubuh manusia, terdapat tiga sumber utama sel induk: embrionik, dewasa dan sel-sel tali pusat (Azzopardi *and* Blundell, 2018).

Seiring perkembangan zaman, bidang terapi sel punca telah membangkitkan harapan besar untuk pengobatan pada penyakit hati, karena memiliki potensi untuk melakukan perbaikan dan regenerasi dari organ hati dengan komplikasi yang lebih sedikit. Sel punca mampu memperbaiki diri dan dapat berdiferensiasi menjadi tipe sel khusus. Sel punca dapat diklasifikasikan sebagai sel induk embrionik, janin, umbilikus atau dewasa. Beberapa penelitian telah dilakukan untuk menunjukkan dan mengoptimalkan kemampuan dari populasi sel punca yang berbeda untuk menghasilkan hepatosit yang matang dan berfungsi (El-fiky *et al.*, 2015).

1.2. Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah:

Apakah ada pengaruh pemberian injeksi intramuskular sel punca mesenkimal tali pusat manusia terhadap gambaran histopatologi hati tikus

putih (*Rattus Norvegicus*) galur *Sprague Dawley* yang diinduksi aspirin.

1.3. Tujuan Penelitian

Untuk membuktikan pengaruh pemberian injeksi intramuskular sel punca mesenkimal tali pusat manusia terhadap gambaran histopatologi hati tikus putih (*Rattus Norvegicus*) galur *Sprague Dawley* yang diinduksi aspirin.

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat bagi Penulis

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah terhadap perkembangan ilmu pengetahuan, khususnya informasi ilmiah tentang pengaruh injeksi intramuskular sel punca mesenkimal tali pusat manusia terhadap histopatologis hati tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi aspirin.

1.4.2. Manfaat bagi Peneliti Lain

Penelitian ini diharapkan menjadi dasar penelitian lebih lanjut mengenai penggunaan injeksi intramuskular sel punca mesenkimal tali pusat manusia pada pengobatan penurunan fungsi hati akibat induksi aspirin.

1.4.3. Manfaat bagi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung

Sel Punca atau *Stem Cell* merupakan suatu hal yang perlu dikembangkan dalam bidang kesehatan, khususnya di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Hasil dari penelitian ini diharapkan untuk dapat memberikan informasi ilmiah serta masukan pengembangan terapi untuk penyembuhan penyakit penurunan fungsi hati akibat induksi aspirin.

1.4.4. Manfaat bagi Masyarakat

Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai acuan masyarakat luas mengenai pengobatan penurunan fungsi hati induksi aspirin menggunakan injeksi intramuskular sel punca mesenkimal tali pusat manusia.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Aspirin

2.1.1. Definisi

Aspirin merupakan salah satu jenis obat *non steroid anti-inflammatory drugs* atau (NSAIDs) yang banyak digunakan pada pengobatan nyeri dari ringan sampai sedang. Efek farmakologi dari aspirin antara lain analgesik, antipiretik, anti inflamasi dan anti koagulan. Jika aspirin diberikan secara oral maka akan diabsorpsi dengan baik di usus halus, dihidrolisa dalam darah dan di jaringan menjadi asetat dan asam salisilat, yang merupakan komponen aktif. Waktu yang diperlukan aspirin untuk dihidrolisa di hati sehingga menjadi bentuk salisilat dalam plasma kira-kira 30 menit (Sibarani *et al.*, 2013).

2.1.2. Mekanisme Kerja

Efektivitas dari penggunaan aspirin diukur berdasarkan kemampuannya menghambat enzim siklooksigenase (*cyclooxygenase/COX*), yang mengkatalisis perubahan asam arakidonat menjadi prostaglandin H₂, prostaglandin E₂, dan tromboksan A₂. Aspirin hanya bekerja pada enzim

siklooksigenase, tidak pada enzim lipooksigenase, sehingga tidak menghambat pembentukan leukotrien. Tidak seperti NSAID lainnya yang menghambat enzim secara kompetitif sehingga bersifat reversibel, aspirin menghambat enzim COX secara ireversibel. Hal ini disebabkan karena aspirin menyebabkan asetilasi residu serin pada gugus karbon terminal dari enzim COX, sehingga untuk memproduksi prostanoïd baru memerlukan sintesis enzim COX baru. Hal ini penting karena terkait dengan efek aspirin, dimana durasi efek sangat bergantung pada kecepatan *turn over* dari enzim siklooksigenase (Miladiyah, 2012).

2.1.3. Efek Samping

Selain memiliki efek terapi, aspirin juga memiliki beberapa efek samping diantaranya yaitu nyeri abdominal, hipokalemi, hipoglikemia, pireksia, hiperventilasi, distrimia, hipotensi, halusinasi, gagal ginjal, koma, dan berakhir pada kematian, jika overdosis. Selain itu juga aspirin mempunyai efek toksisitas yang tinggi (Sibarani *et al.*, 2013).

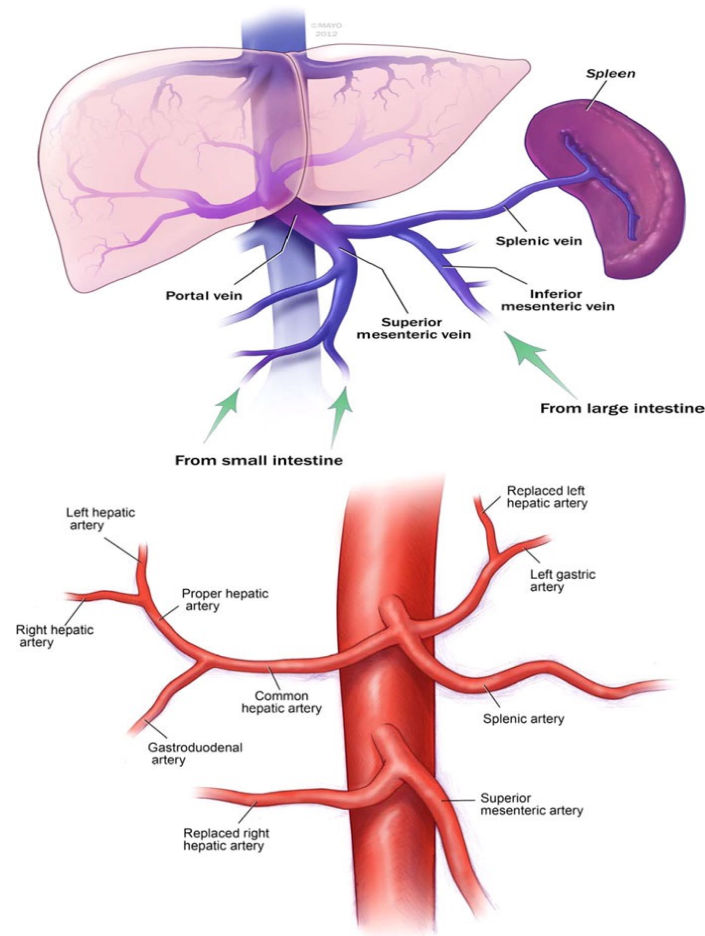
2.2. Organ Hati

2.2.1. Anatomi Hati

Hati adalah organ terbesar pada manusia, terhitung sekitar 2% hingga 3% dari berat badan rata-rata manusia. Hati memiliki 2 lobus biasanya

digambarkan dalam dua cara, oleh anatomi morfologi dan oleh anatomi fungsional . Terletak di kuadran kanan atas rongga perut di bawah hemidiafragma kanan, hati dilindungi oleh tulang rusuk dan mempertahankan posisinya melalui refleksi peritoneum, yang disebut sebagai *ligamentous attachment* . Meskipun bukan *true* ligamen, ikatan ini adalah ikatan *avascular* dan berada dalam kesinambungan dengan kapsul *Glisson* atau setara dengan peritoneum viseral dari hati (Misih *et al.*, 2010).

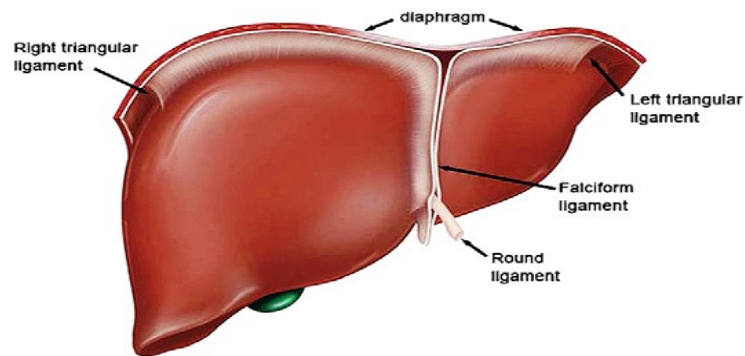
Hati menerima suplai darahnya dari dua sumber yaitu 80% dikirimkan oleh vena porta, yang men-*drainase* limpa dan usus, 20% sisanya, darah beroksigen, dialirkan oleh pembuluh darah hati. Vena portal dibentuk oleh persatuan dari vena mesenterika limpa dan superior dengan vena mesenterik inferior yang mengalir ke vena limpa. Di sebagian besar kasus, arteri hepatica adalah cabang dari arteri celiac bersama dengan arteri limpa dan arteri pada lambung kiri (Gambar 1) (Sibulesky, 2013).



Gambar 1. Drainase vena portal dan *supply* darah menuju ke hati manusia (Sibulesky, 2013).

Biasanya, arteri pada hati memiliki aksesori atau pembuluh yang tergantikan untuk memasok hati. Aksesori atau arteri hepatica dekstra yang tergantikan adalah cabang dari arteri mesenterika superior proksimal, sedangkan aksesori atau arteri hepatica sinistra yang tergantikan adalah cabang dari arteri gastrica sinistra (Sibulesky, 2013).

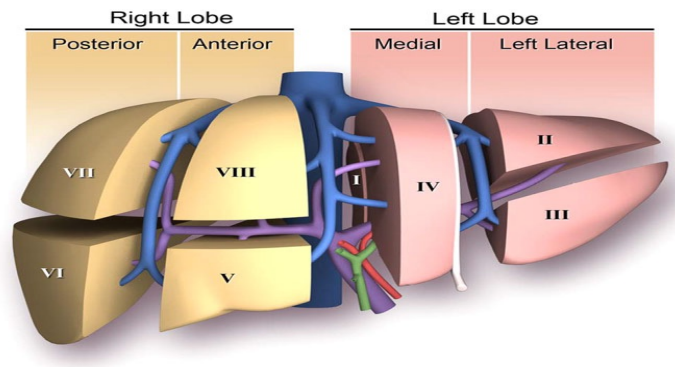
Secara eksternal, hati dibagi oleh ligamentum falciform sehingga lobus kanan yang lebih besar dan lobus kiri yang lebih kecil (Gambar 2).



Gambar 2. Gambaran *Ligament Falciform* hati manusia (Misih *et al.*, 2010).

Ligamen falciform menempel pada hati ke dinding abdomen anterior. Basisnya mengandung ligamentum teres, yang memiliki sisa vena umbilikalis vestigial (Misih *et al.*, 2010).

Berdasarkan klasifikasi Couinaud, hati dibagi menjadi delapan segmen fungsional independen. Setiap segmen memiliki pedikel portal sendiri yang terdiri dari cabang arterial hepatica, cabang portal, dan saluran empedu dengan cabang vena hepatica terpisah yang menyediakan *outflow* (Gambar 3).



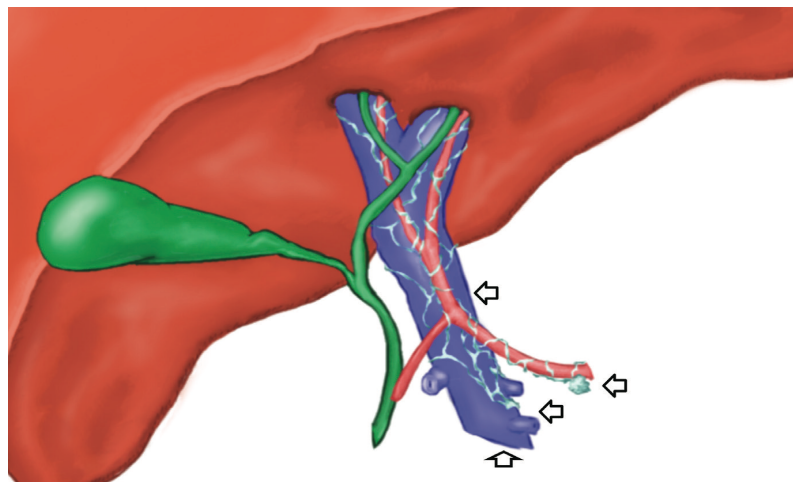
Gambar 3. Pembagian segmen hati manusia (Sibulesky, 2013).

Penomoran segmen dilakukan searah jarum jam. Segmen II dan III, yang dikenal sebagai segmen anterior dan posterior dari lobus kiri, masing-masing, juga dikenal secara kolektif sebagai segmen lateral kiri hati dan lobus kiri pada topografi. Segmen IV adalah segmen medial dari lobus kiri. Segmen II, III, dan IV secara kolektif membentuk lobus kiri yang fungsional. Lobus kanan yang fungsional terdiri dari segmen V dan VIII, segmen anterior, dan segmen VI dan VII, segmen posterior. Segmen I, lobus kaudatus, terletak di posterior (Sibulesky, 2013).

Hati memiliki jaringan pembuluh limfatik *superficial* (dangkal) dan *profunda* (dalam). Jaringan pembuluh limfatik dalam bertanggung jawab untuk drainase limfatik yang lebih besar menuju nodus *phrenic* lateral melalui vena hepatika dan menuju hilus melalui cabang-cabang vena porta. Jaringan pembuluh limfatik superfisial terletak di dalam kapsul *Glisson* dengan permukaan anterior dan posterior. Permukaan anterior terutama mengalir ke nodus *lymphaticus phrenic* untuk bergabung dengan mediastinum dan jaringan limfatik *mammae internal*. Jaringan permukaan

posterior mengalir ke kelenjar getah bening hilus, termasuk duktus sistikus, saluran empedu, arteri hepatica, dan *peripancreatic* serta nodus limfatik perikardial dan *celiac* (Misih *et al.*, 2010).

Hati dipersarafi oleh saraf aferen dan eferen otonom, yang berhubungan dengan vena portal, arteri hepatica, saluran empedu dan hilus hati (Gambar 4).



Gambar 4. Gambaran sistem persarafan pada hati manusia (Jensen *et al.*, 2013).

Persarafan simpatis adalah postganglionik dan berasal dari *celiac* dan ganglion mesenterika superior yang menerima serat preganglionik. Dari kolom intermediolateral dari medula spinalis (T7- T12). Saraf parasimpatetik bercabang dari saraf vagus, dan diduga menginnervasi hati baik secara langsung sebagai serat preganglionik yang berasal dari *nucleus* motor dorsal pada batang otak, atau sinaps pada ganglia yang terletak di

hilus hepatis dan di dalam ruang hilus. Pleksus anterior membentuk jaringan saraf yang mengelilingi arteri hati yang berasal dari bagian kiri pleksus *celiac* dan cabang *abdominal* kanan vagus. Pleksus posterior berasal dari bagian kanan pleksus *celiac* dan terletak di sekitar vena porta dengan innervasi yang menyertai vena hepatis (Jensen *et al.*, 2013).

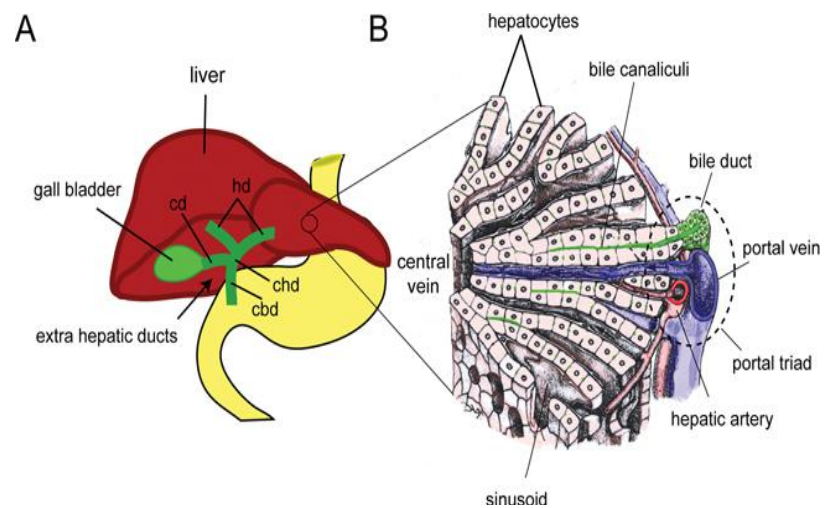
2.2.2. Histologi dan Fisiologi Hati

Unit fungsional dasar hati adalah lobulus hati. Lobulus tunggal berukuran sebesar biji wijen dan kira-kira berbentuk heksagonal. Struktur utama yang ditemukan di lobulus hati meliputi:

- Lempong hepatosit yang membentuk sebagian besar lobulus
- Triad Portal di setiap sudut segi enam
- Vena sentral
- Sinusoid hati yang berjalan dari vena sentral ke triad portal
- Makrofag hati (sel *Kupfer*)
- Kanalikuli biliaris (kanal *little*) - terbentuk antara dinding hepatosit yang berdekatan
- *Space of Disse* - ruang kecil antara sinusoid dan hepatosit

Pada bagian histologi hati terdapat triad portal, triad portal terdiri dari tiga pembuluh darah: *arteriole* portal hepatis, *venule* portal hepatis, dan saluran empedu. Darah dari *arteriol* dan *venule* mengalir ke arah yang sama

melalui sinusoid menuju vena sentral, yang akhirnya mengarah ke vena hepatic dan vena *cava inferior*. Empedu yang disekresi mengalir ke arah yang berlawanan melalui *canaliculi* empedu menjauhi vena sentral, menuju trias portal, dan keluar melalui saluran empedu. Ketika darah mengalir melalui sinusoid menuju vena sentral, nutrisi diproses dan disimpan oleh hepatosit, dan sel darah yang telah digunakan serta bakteri ditelan oleh sel *Kupffer* (Gambar 5).

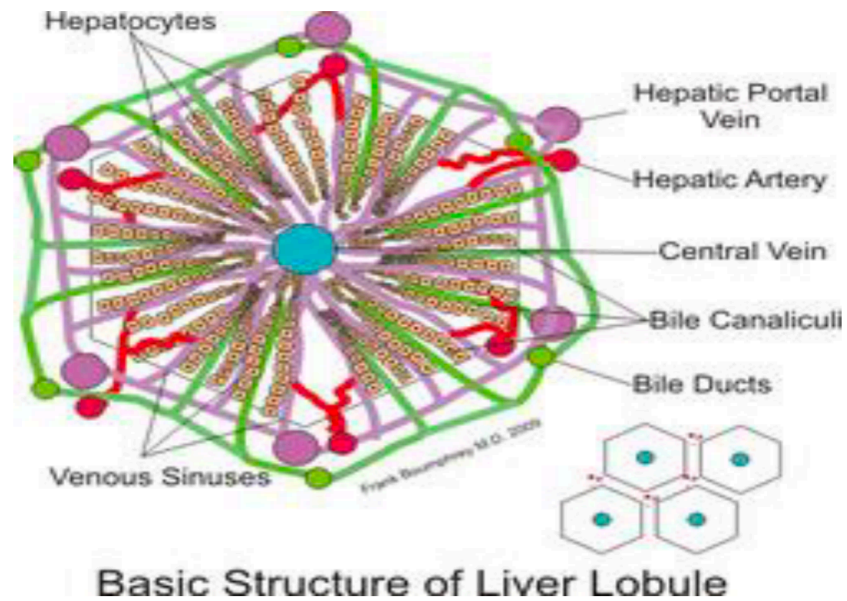


Gambar 5. Gambaran histologis hati manusia (Ozougwu, 2017).

Aliran darah pada hati dibagi dalam bentuk unit struktural yang disebut dengan asinus hepatic. Asinus hepatic terletak di traktus portal. Letak asinus ini yaitu di antara 2 atau lebih venula *hepatic* terminal, dimana darah mengalir dari traktus portalis ke sinusoid, lalu ke venula tersebut. Asinus hepatic terbagi menjadi 3 zona, zona 1 terletak paling dekat dengan traktus portal sehingga paling banyak menerima darah yang kaya oksigen, zona 2

atau zona intermediet berada diantara zona 1 dan 3 , sedangkan zona 3 merupakan zona yang terletak paling jauh dan hanya menerima sedikit oksigen, zona 3 merupakan zona yang paling mudah terkena jejas iskemik. Zona-zona tersebut sama dengan area periportal, midzona, dan centrilobular (*Junqueira et al.*, 2007).

Hati adalah situs pertama yang dilalui jalur darah vena yang datang dari usus melalui vena porta. Daerah di sekitar pembuluh darah *influx* disebut periportal. Daerah sekitar pembuluh darah *eflux* adalah *perivenous*. Daerah periportal sangat kompleks dan terdiri dari matriks padat yang mengandung kolagen di mana pembuluh darah aferen ditemukan, bersama dengan saluran empedu, saraf dan getah bening. Ruang dalam matriks mengandung populasi sel seperti fibroblas, sel hematopoietik dan sel-sel inflamasi. Juga ditemukan di sini adalah sel epitel saluran empedu, sel-sel endotel pembuluh darah, dan otot-otot halus arteri dan vena. Lobulus hati terutama terdiri dari lempeng hepatosit dan sinusoid, dengan matriks kolagen untuk membentuk jaringan di antara keduanya. Sel Kupffer, serta sel-sel stellata yang mengandung lemak ditemukan di sini (Gambar 6).



Gambar 6. Gambaran struktur dasar lobulus hati manusia (Ozougwu, 2017).

Jenis-jenis sel ini terutama berada di ruang jaringan antara hepatosit dan sinusoid. Terminal duktus empedu terhubung ke kanalikuli empedu antara lempeng hepatokistik. Dinding-dinding sinusoid hepatic dipagari oleh tiga tipe sel yang berbeda: sel-sel endotel sinusoidal, sel-sel kupffer dan sel-sel stellata. Selain itu, sel-sel pit, sel-sel T *Natural Killer* (NK) hati sering hadir dalam lumen sinusoidal. Massa parenkim utama biasanya adalah hepatosit. Pada tikus, hepatosit mencapai sekitar 60% dari jumlah sel hati dan 40% sisanya, sel non-parenkim hanya membentuk sekitar 6 -7% volume hati sedangkan volume sisanya sekitar 23% terbentuk oleh ruang ekstraseluler. Hati terdiri dari banyak sel yang berbeda (Ozougwu, 2017).

Hati memiliki banyak fungsi yang antara lain :

1. Sekresi empedu

Fungsi hati termasuk sekresi empedu, membantu pencernaan usus dengan mensekresi 700 hingga 1.200 ml empedu per hari. Garam empedu, yang merupakan asam empedu terkonjugasi, diperlukan untuk emulsifikasi usus dan penyerapan lemak.

2. Metabolisme bilirubin

Hati memetabolisme bilirubin yang merupakan produk sampingan dari penghancuran sel darah merah tua dan memberikan empedu warna hitam kehijauan dan menghasilkan warna kuning pada *jaundice* (Penyakit kuning) juga fungsi vaskular dan hematologi, karena jaringan pembuluh darahnya yang luas, hati dapat menyimpan volume darah yang besar. Jumlah yang disimpan pada satu durasi tergantung pada hubungan tekanan di arteri dan vena.

3. Fungsi hemostatik

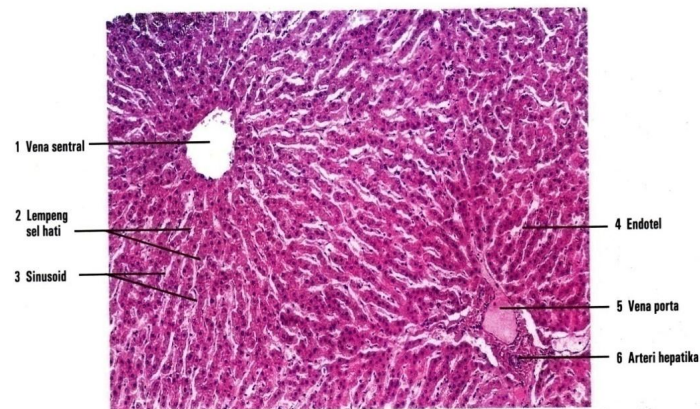
Hati mensintesis prothrombin, fibrinogen, dan faktor pembekuan darah. Vitamin K, vitamin yang larut dalam lemak, sangat penting untuk sintesis faktor pembekuan lainnya. Karena garam empedu diperlukan untuk reabsorpsi lemak, penyerapan vitamin K tergantung pada produksi empedu yang adekuat di hati.

4. Metabolisme nutrisi

Hati memiliki peran penting dalam metabolisme lemak, protein dan karbohidrat.

5. Detoksifikasi metabolik

hati mengubah bahan kimia eksogen dan endogen (misalnya obat), molekul asing, dan hormon untuk membuatnya kurang beracun atau kurang aktif secara biologis. Proses ini, yang disebut detoksifikasi metabolik, mengurangi reabsorpsi tubulus ginjal atau usus dari zat yang berpotensi beracun dan memfasilitasi ekskresinya pada usus dan ginjal. Dengan cara ini alkohol, barbiturat, amfetamin, steroid dan hormon (termasuk estrogen, aldosteron, hormon antidiuretik, dan testosteron) dimetabolisme atau didetoksifikasi, mencegah akumulasi berlebihan dan efek samping. Juga, Penyimpanan mineral dan vitamin, hati menyimpan vitamin dan mineral tertentu, termasuk zat besi dan tembaga, dalam periode asupan berlebihan dan melepaskannya dalam periode kebutuhan. Hati dapat menyimpan vitamin B12 dan D selama beberapa bulan dan vitamin A selama beberapa tahun. Hati juga menyimpan vitamin E dan K. Besi disimpan di hati sebagai feritin, kompleks besi-protein dan dilepaskan sesuai kebutuhan untuk produksi sel darah merah. Akhirnya, hati memiliki fungsi imunologis karena hati mengandung sel-sel yang terlibat dalam kekebalan adaptif dan bawaan (Ozougwu, 2017).

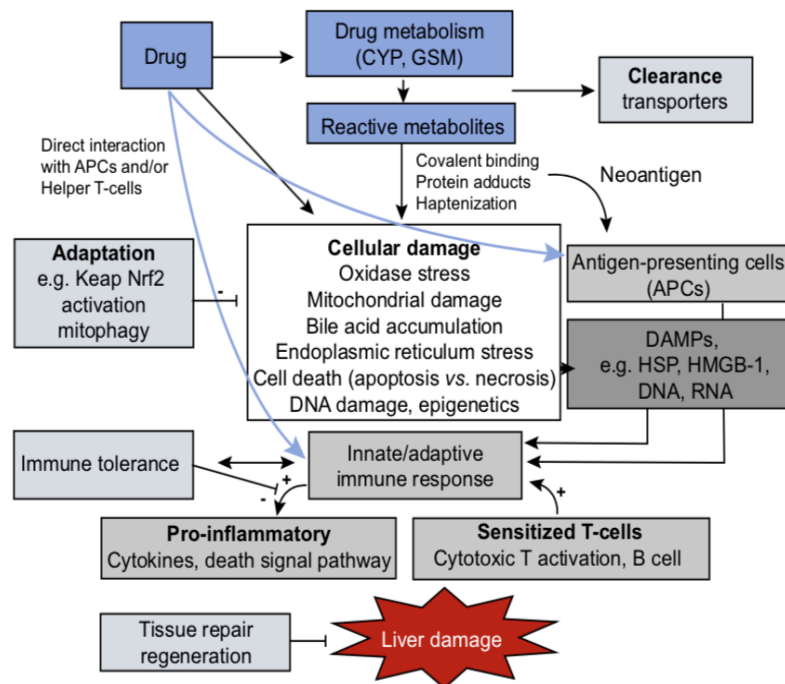


Gambar 7. Gambaran mikroskopik hati manusia pada perbesaran 30 x dengan pewarnaan hematoxilin eosin (Eroschenko, 2017)

2.2.3. Patologi Hati

DILI (*Drugs Induced Liver Injury*) diklasifikasikan ke dalam cedera hati intrinsik dan *idiosyncratic*, mencerminkan peran dominan toksisitas obat (tergantung dosis) dan faktor *Host* (tidak ada ketergantungan dosis) pada cedera hati. Sebagian besar DILI yang dialami manusia merupakan *idiosyncratic* (dengan ketergantungan dosis) (Chen *et al.*, 2015).

Pemahaman mekanisme DILI saat ini digambarkan dalam (Gambar 8).

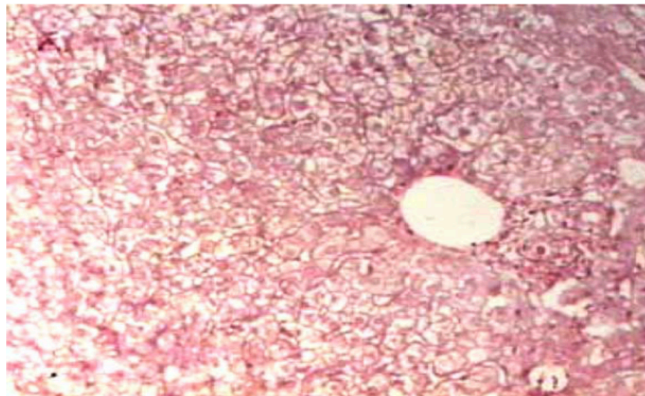


Gambar 8. Mekanisme DILI (*Drugs Induced Liver Injury*) idiosyncratic (Chen *et al.*, 2015).

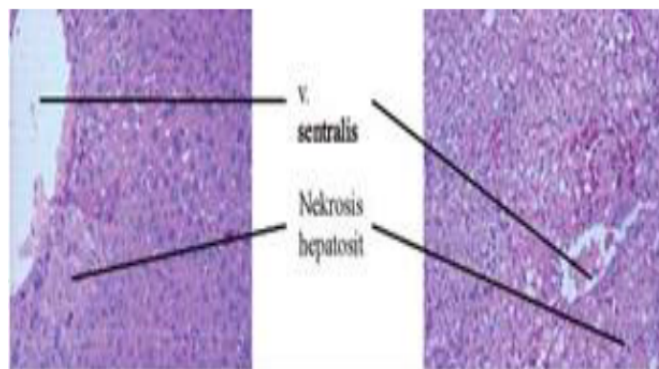
Mekanisme dalam DILI dibagi menjadi 2 yaitu: 1) pajanan obat / metabolit ke tingkat ambang batas, ditentukan oleh dosis dan pemberian obat pada hati, dan 2) respons imun adaptif "*Alarm Signaling*" oleh *Damage Associated Molecular Pattern Molecules* (DAMPs). Kerusakan sel terjadi akibat terganggunya keseimbangan antara paparan obat toksik dan mekanisme pertahanan (*Defence Mechanism*). Setelah sel-sel rusak, respon imun bawaan dan respons imun adaptif teraktivasi dan memainkan peran penting dalam peradangan dan cedera jaringan. Keseimbangan antara tingkat peradangan dan cedera jaringan dengan perbaikan jaringan,

memengaruhi kerusakan jaringan yang terjadi dan menentukan hasil klinis (*clinical outcome*). Paparan obat dan sifat obat yang diberikan memiliki pengaruh yang utama pada tahap awal kerusakan seluler, sementara faktor inang (*host factors*) mendorong 'respons inang' yaitu menginduksi program perbaikan seluler (Chen *et al.*, 2015).

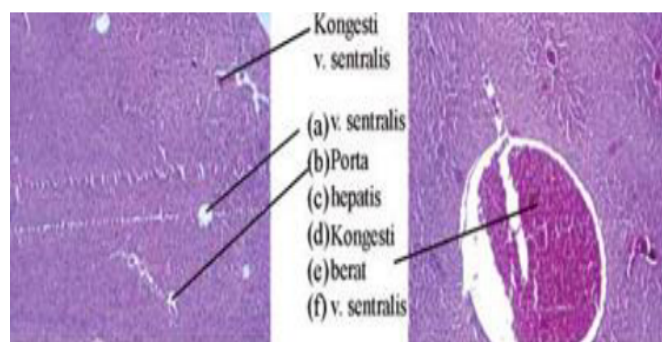
Aspirin menginduksi hepatotoksisitas yang berbeda dari NSAID lain. Aspirin dihidrolisis menjadi asam salisilat, yang diubah secara aktif oleh mitokondria menjadi turunan salisil-koenzim A. Senyawa ini secara tidak langsung menghambat oksidasi beta asam lemak rantai panjang dan meningkatkan ketersediaan NADH (*Nikotinamida Adenosin Dinukleotida Hidrogen*), sehingga menghasilkan peningkatan kapasitas mitokondria untuk mendekarboksilasi asam amino rantai cabang. Efek negatif pada oksidasi beta mitokondria mungkin diperparah oleh infeksi virus yang bersamaan sehingga mempengaruhi fungsi mitokondria. Kombinasi ini dapat menyebabkan steatosis mikrovesikuler yang dikenal sebagai sindrom Reye (Grattagliano *et al.*, 2009).



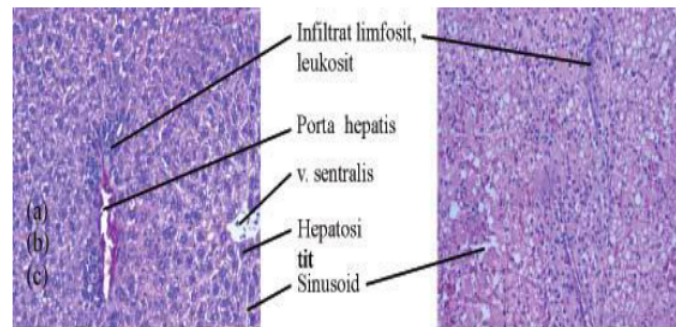
Gambar 9. Histopatologi hati dari biopsi hati *pasien* dengan steatohepatitis, pewarnaan PAS (*Periodic Acid Schiff*), perbesaran 400x (Lemberg et al., 2009).



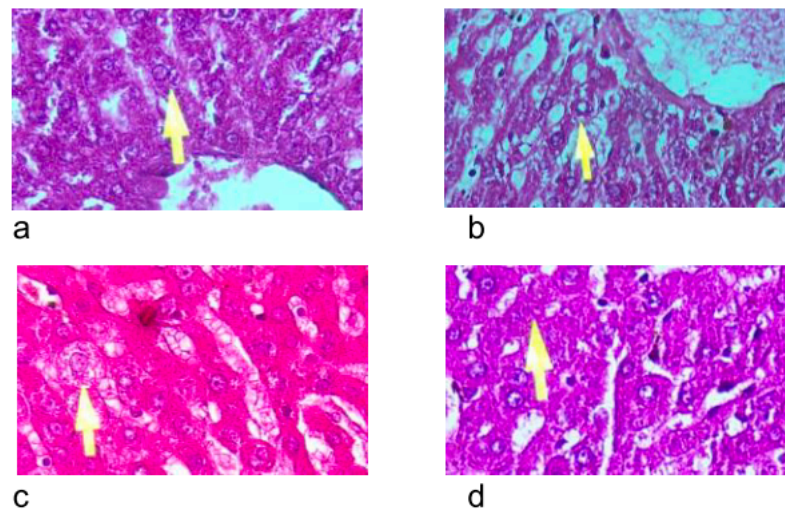
Gambar 10. Gambaran nekrosis hepatosit hati tikus putih jantan pada perbesaran 400x dengan pewarnaan hematoksilin eosin (Makiyah and Khumaisah, 2018).



Gambar 11. Gambaran kongesti pada vena sentralis hati tikus putih jantan pada perbesaran 400x dengan pewarnaan hematoksilin eosin (Makiyah and Khumaisah, 2018).



Gambar 12. Gambaran infiltrat sel radang pada hati tikus putih jantan pada perbesaran 400x dengan pewarnaan hematoxilin eosin (Makiyah *and* Khumaisah, 2018).



Gambar 13. Gambaran Histopatologi sel hati tikus wistar, gambaran normal (a), gambaran degenerasi parenkimatososa (b), gambaran degenerasi hidropik (c) dan gambaran nekrosis (d) dengan perbesaran 400x, pewarnaan hematoxilin eosin (Arifuddin *et al.*, 2016)

2.2.4. Hati yang diinduksi Aspirin dalam dosis tinggi

Disfungsi mitokondria memiliki peran penting dalam patogenesis DILI oleh perubahan jalur metabolisme dan kerusakan komponen mitokondria. Obat-

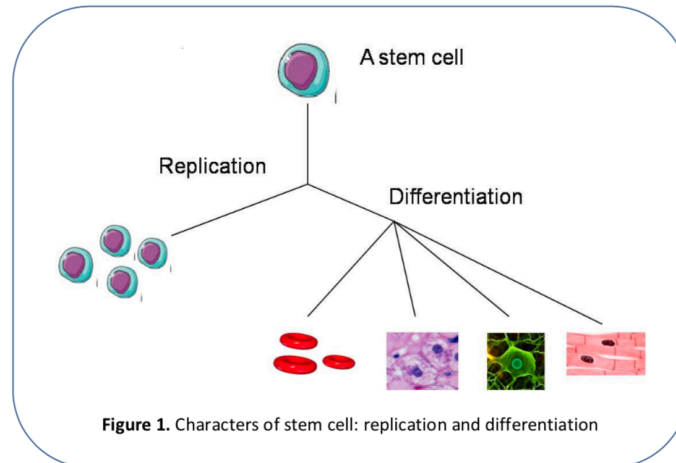
obatan seperti stavudine dan amiodarone dapat menyebabkan steatosis / steatohepatitis dengan mengubah fungsi mitokondria. Kerusakan mitokondria dapat memicu nekrosis hati dan / atau apoptosis, yang mengarah pada aktivasi jalur pensinyalan kematian sel seperti JNK (*c-Jun N-terminal kinase*) ketika ambang kematian mitokondria dilampaui. Hal ini bertentangan dengan paradigma tradisional, menunjukkan bahwa kematian sel merupakan proses aktif yang melibatkan mitokondria sehingga menentukan nasib sel dengan cedera biokimia yang berlebihan. Secara khusus, obat-obatan dapat merusak respirasi mitokondria (asam valproik) dan / atau oksidasi-b (aspirin, tamoxifen), pemicu gangguan membran mitokondria (diklofenak) dan kerusakan mtDNA (*tacrine*) (Chen *et al.*, 2015).

Asam asetilsalisilat atau aspirin secara ireversibel mengikat dan menginaktivasi enzim *cyclooxygenase* (COX), sehingga menyebabkan penurunan kadar prostaglandin dan tromboksan yang bertanggung jawab sebagai antiinflamasi. Asam asetilsalisilat juga diketahui memicu apoptosis sel hepatosit bahkan sampai kadar subtoksik (1-5 mmol/L), secara langsung menghambat proinflamatorik dan antiapoptotik *nuclear factor kappa-light chain-enhancer* dari aktivasi sel B (NF- κ B). Kemudian asam asetilsalisilat juga dapat memicu kematian sel hepatosit melalui *mitochondrial permeability transition* (MPT) yang dikaitkan dengan jalur apoptosis (Sari and Irawati, 2018).

Inseri dari *mitochondrial permeability transition pores* (MPTP) kedalam membran dalam mitokondria menyebabkan depolarisasi dan pembengkakan pada intermembrane space, sehingga mengakibatkan kegagalan fosforilasi oksidatif. Kegagalan fosforilasi oksidatif memproduksi peningkatan kadar asetil Co-A dan menyebabkan penurunan *Co-enzyme A* bebas, sehingga menghasilkan hiperamonemia dan hipoglikemia. Aktivasi dari MPT pada hepatosit, dapat menyebabkan kematian sel (Sari *and* Irawati, 2018).

2.3. Sel Punca

Sel punca adalah sel generik yang tidak terspesialisasi, yang dapat berdiferensiasi menjadi sel-sel tertentu serta memproduksi sel-sel khusus untuk berbagai jaringan-jaringan pada tubuh. Sel punca adalah sel yang ditemukan di sebagian besar organisme multi-seluler . Mereka dikarakteristikkan oleh pembaruan diri dan potensi, yaitu kemampuan untuk memperbarui diri melalui pembelahan sel mitosis dan berdiferensiasi menjadi beragam jenis sel-sel khusus (Gambar. 10).



Gambar 14. Karakteristik Sel Punca : Replikasi dan Diferensiasi (Kalra *and* Tomar, 2014).

Sel punca sangat penting untuk pengembangan, pertumbuhan, pemeliharaan, dan perbaikan otak, tulang, otot, saraf, darah, kulit, serta organ lainnya (Kalra *and* Tomar, 2014).

Sel punca dapat diklasifikasikan berdasarkan sejauh mana mereka dapat berdiferensiasi menjadi jenis sel yang berbeda. Keempat klasifikasi utama ini adalah totipotent, pluripotent, multipotent, atau unipotent (Rajpoot *and* Tewari, 2018).

Sel induk dikatakan totipoten ketika sel induk itu dapat berdiferensiasi menjadi semua jenis sel. Sel zigot dan morula terbentuk setelah pembelahan mitosis dalam sel zigot adalah contoh sel punca totipoten. Sel punca pluripotent merupakan sel punca dengan kemampuan untuk berdiferensiasi menjadi hampir semua tipe sel tetapi tidak semua dikatakan bersifat Pluripotent. Sel

punca embrionik dan sel yang berasal dari lapisan endoderm, mesoderm dan ektoderm yang ditemukan pada awal perkembangan embrionik. Sel punca multipotent merupakan sel punca dengan kemampuan untuk berdiferensiasi menjadi keluarga sel yang terkait erat. Misalnya sel punca dewasa hematopoietik dapat berdiferensiasi menjadi sel darah merah, sel darah putih atau trombosit. Sel punca oligopotent merupakan sel punca dengan kemampuan untuk berdiferensiasi menjadi hanya beberapa sel disebut sebagai oligopoten. Misalnya sel punca dewasa limfoid atau myeloid. Sel punca unipotent merupakan sel punca yang memiliki kemampuan untuk hanya memproduksi sel-sel jenis mereka sendiri tetapi memiliki sifat replikasi diri yang diperlukan untuk disebut sel induk atau sel punca. Misalnya sel punca otot dewasa (Rajpoot *and* Tewari, 2018).

Sel punca juga dapat diklasifikasikan menjadi dua jenis yaitu: embrionik dan dewasa. Sel punca awal, sering disebut sel punca embrionik, ditemukan dalam massa sel dalam blastokista setelah kira-kira lima hari perkembangan. Sel induk dewasa ditemukan dalam jaringan tubuh dewasa spesifik serta tali pusat dan plasenta setelah lahir (Kalra *and* Tomar, 2014).

Sel-sel punca embrionik adalah sel-sel pluripoten yang bereplikasi sendiri yang berpotensi abadi. Mereka berasal dari embrio pada tahap perkembangan sebelum waktu implantasi yang biasanya akan terjadi di rahim. Embrio tempat sel-sel induk embrionik manusia berasal biasanya berumur empat atau lima hari dan merupakan sel mikroskopis berbentuk bola dan berongga yang disebut *blastocyst* (Kalra *and* Tomar, 2014).

Sel punca dewasa adalah sel totipoten atau multipoten yang tidak berdiferensiasi, yang ditemukan di seluruh tubuh setelah perkembangan embrionik, yang berkembang biak dengan pembelahan sel untuk mengisi sel yang sekarat (*dying cells*) dan meregenerasi jaringan yang rusak. Peran utama sel punca dewasa dalam organisme hidup adalah untuk memelihara dan memperbaiki jaringan yang mereka temukan. Tidak seperti sel punca embrionik, yang ditentukan oleh asalnya (massa sel bagian dalam blastokista), asal sel punca dewasa dalam beberapa jaringan dewasa masih dalam penelitian (Kalra *and* Tomar, 2014).

Sel punca *mesenchymal* (MSC) yang merupakan bagian dari klasifikasi sel punca dewasa adalah sel punca multipoten dengan potensi utama untuk berdiferensiasi menjadi adiposit, osteoblas, kondrosit dan kemungkinan diferensiasi potensial menjadi hepatosit, kardiomyosit, miofibril kerangka, dan neuron. Baru-baru ini, MSC telah semakin digunakan dalam dunia kedokteran karena kemampuan MSC untuk mengobati cedera jaringan, dan sifat imunomodulator yang dimiliki MSC, oleh karena itu, mereka telah menjadi bagian dari praktik klinis selama lebih dari 10 tahun dan berhasil diisolasi dari sejumlah jaringan termasuk: sumsum tulang, jaringan adiposa, plasenta, cairan ketuban, dan darah tali pusat (Hassan *et al.*, 2017).

Tali pusat terdiri dari dua arteri umbilikal yang memiliki fungsi untuk mengalirkan darah kotor (berisi zat metabolit) dari janin menuju ke plasenta, dan sebuah vena umbilikal yang mengalirkan darah segar (darah yang kaya akan oksigen dan nutrient) dari plasenta ke janin. Dua arteri umbilikal dan satu

vena umbilical ini berada di dalam jaringan mukoid (*Wharton Jelly*) dan dibungkus oleh selaput amnion. Diameter dari arteri umbilical sekitar 0,4 cm dan diameter vena umbilical sekitar 1 cm, tetapi vena umbilical mempunyai lapisan muscular yang lebih tebal dari arteri umbilical (Kurniawaty, 2017).

Letak tali pusat berada bebas di dalam kantung amnion dan bentuknya bergulung. Sehingga panjang tali pusat tidak dapat diukur melalui pemeriksaan USG. Diameter tali pusat normalnya sekitar 1-2 cm. Tali pusat yang besar atau lebih dari 3 cm tidak selalu berarti tidak normal, karena dapat terjadi pada keadaan normal bila *Wharton Jelly* jumlahnya cukup banyak. Beberapa keadaan yang dapat menyebabkan tali pusat membesar, seperti diabetes mellitus, hematoma, hernia umbilikal, tumor tali pusat, edema tali pusat, dan defek dinding abdomen. Fungsi *Wharton jelly* adalah sebagai pelindung pembuluh darah umbilical. *Wharton Jelly* yang sedikit dapat menyebabkan striktur pembuluh darah dan mempermudah terjadinya simpul tali pusat (Sel Punca) (Kurniawaty, *et al.*, 2018).

Sel punca yang berada di dalam dan di ujung jaringan tali pusat disebut sebagai sel punca darah tali pusat (*Cord Blood Stem Cells*). Jaringan tali pusat dianggap sebagai limbah biologis dan dibuang setelah kelahiran anak, sebaliknya jaringan tali pusat dapat digunakan untuk pengumpulan dan digunakan bersama dengan sel punca mesenkimal untuk efek menguntungkan, misalnya pada gangguan neurologis seperti alzheimers. Pada UCB (*Umbilical Cord Blood*) dapat ditemukan dua jenis sel punca, yaitu hematopoietik (UC-HS) dan mesenkimal (UC-MS). Sel punca mesenkimal tali pusat dinilai lebih

efisien daripada sel punca mesenkimal sumsum tulang (Sudulaguntla *et al.*, 2016).

Gagasan menggunakan hepatosit untuk mengobati gagal hati atau kerusakan hati bergantung pada hipotesis sederhana bahwa fungsi hati dapat ditingkatkan dengan menambah hepatosit eksogen. Meskipun gagal hati dapat diobati melalui transplantasi hepatosit, transplantasi hepatosit juga menghadapi banyak masalah yang terdiri dari kekurangan sumber hepatosit berkualitas tinggi, penolakan transplantasi alogenik, kesulitan untuk berkembang, dan kehilangan karakteristik hati secara *in vitro* (Wang *et al.*, 2018).

Pada penelitian-penelitian sebelumnya telah membuktikan bahwa MSC (*Mesenchymal Stem Cells*) tikus dan manusia dapat berdiferensiasi menjadi HLCs (*Hepatocyte Like Cells*) *in vitro* dan *in vivo*, yang merupakan salah satu mekanisme MSC dalam pengobatan gagal hati. Oleh karena itu, MSC dapat membantu menyelesaikan masalah yang membatasi penerapan transplantasi hepatosit (Wang *et al.*, 2018).

Kelompok yang berbeda telah menetapkan beberapa protokol untuk menginduksi diferensiasi MSC menjadi HLCs *in vitro*. MSC, seperti sumsum tulang (BM-*MSC*), jaringan adiposa (AT-*MSCs*), tali pusat (UC-*MSCs*), dan cairan amniotik (AF-*MSCs*), telah terbukti berdiferensiasi menjadi HLC. BM-*MSC* manusia diinduksi ke dalam HLC melalui media pemeliharaan bebas serum hepatosit manusia ditambah dengan faktor pertumbuhan hepatosit (HGF) dan faktor pertumbuhan epidermal (EGF), yang telah terbukti mempertahankan kualitas hepatosit setelah integrasi regional mereka pada hati

tikus (Wang *et al.*, 2018).

Diferensiasi BM-MSCs dan UC-MSCs diinduksi oleh media diferensiasi yang dilengkapi dengan HGF, faktor pertumbuhan fibroblast dasar (bFGF), dan nikotinamid, diikuti oleh pengobatan dengan medium maturasi yang mengandung deksametason, oncostatin M (OSM), dan insulin-transferrin-selenium (ITS). AT-MSCs dapat berdiferensiasi menjadi HLC fungsional *in vitro* melalui kultur dalam media kultur hati yang mengandung EGF, HGF, FGF1, FGF4, ITS, OSM, dan deksametason. Sementara itu, hepatosit yang diturunkan dari AT-MSC dapat dimasukkan ke dalam hati host dan meningkatkan fungsi hati. Diferensiasi diinduksi dengan memperlakukan AF-MSC dengan media diferensiasi yang mengandung HGF, bFGF, dan dimethyl sulfoxide (DMSO) selama 7 hari, diikuti oleh media pematangan yang terdiri dari OSM, deksametason, dan ITS selama 2 minggu. Reagen demetilasi seperti 5-azacytidine telah terbukti bermanfaat dalam menginduksi MSC untuk berdiferensiasi menjadi HLCs. Meskipun 5-azacytidine telah diterapkan dalam pengobatan klinis penyakit hematologis, efek sampingnya, termasuk trombositopenia, myelosupresi, dan pneumonia sudah jelas terbukti, oleh karena itu, perlu diperhatikan mengenai efek sampingnya ketika menggunakan agen demetilasi untuk menginduksi diferensiasi (Wang *et al.*, 2018).

HLC dapat diidentifikasi perbedaannya dari tipe MSC yang berbeda melalui berbagai metode, termasuk pengamatan morfologi spesifik hepatosit, ekspresi gen marker spesifik hepatosit, dan fungsi hepatosit yang terdiri dari penyimpanan glikogen, produksi albumin, pengambilan lipoprotein densitas

rendah, *indocyanine green uptake assay*, sekresi urea, dan aktivitas sitokrom P450 (Wang *et al.*, 2018).

Sebagian besar penelitian sebelumnya telah menunjukkan bahwa efek terapeutik MSC didasari pada peran menginduksi imunomodulator. Meskipun mekanisme imunomodulator MSC masih harus dijelaskan, MSC cenderung untuk mengatur sel imun dengan mengeluarkan faktor terlarut dan kontak antar sel. MSC dapat mengatur respon imun adaptif dan bawaan dengan menghambat sel T dan sel dendritik, mengurangi aktivasi dan proliferasi sel B, mempromosikan produksi sel T (Treg) *regulatory*, dan menghambat proliferasi dan sitotoksitas dari sel *Natural Killer* (Sel NK). Ketika MSC memainkan peran imunoregulator, mentransformasikan *Growth Factor* Beta (TGF- β) dan interleukin 10 (IL-10) adalah faktor kunci yang mengatur banyak sel inflamasi. Kadar TGF- β dan IL-10 dalam serum meningkat secara signifikan setelah menyuntikkan UC-MSc tetapi tingkat IL-6, tumor necrosis factor-alpha (TNF- α), dan sel T CD8 + dalam darah perifer menurun secara signifikan , yang menghasilkan perbaikan cedera hati (Wang *et al.*, 2018).

2.4. Tikus (*Rattus Norvegicus*)

Tikus termasuk hewan percobaan yang paling banyak digunakan dalam penelitian, setiap tahun tidak kurang dari 30 juta ekor tikus dipakai dalam penelitian.

Sistematika hewan percobaan

Kingdom	: <i>Animalia</i>
Filum	: <i>Chordata</i>
Klas	: <i>Mamalia</i>
Ordo	: <i>Rodensia</i>
Famili	: <i>Muridae</i>
Subfamili	: <i>Murinae</i>
Genus	: <i>Rattus</i>
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i>

Tikus juga termasuk mamalia yang dianggap memiliki struktur anatomi pencernaan mirip manusia, mudah ditangani dan mudah diperoleh dengan harga relatif murah dibandingkan hewan uji yang lain (Surya D, 2009).

Tikus memiliki beberapa galur atau jenis varietas yang memiliki kekhususan tertentu antara lain galur *Sprague Dawley*, Wistar dan galur *Long Evans*. Tikus galur *Sprague Dawley* memiliki ciri-ciri, kepala kecil, albino putih, dengan ekor yang lebih panjang daripada badannya. Tikus putih (*Rattus Norvegicus*) galur *sprague dawley* merupakan tikus yang paling sering digunakan untuk percobaan. Tikus ini memiliki temperamen yang tenang sehingga mudah dalam penanganan. Rata-rata ukuran berat badan tikus Sprague Dawley adalah 10,5 gram. Berat badan dewasa betina adalah 250-300 gram dan jantan 450-520 gram (Susanti, 2015).

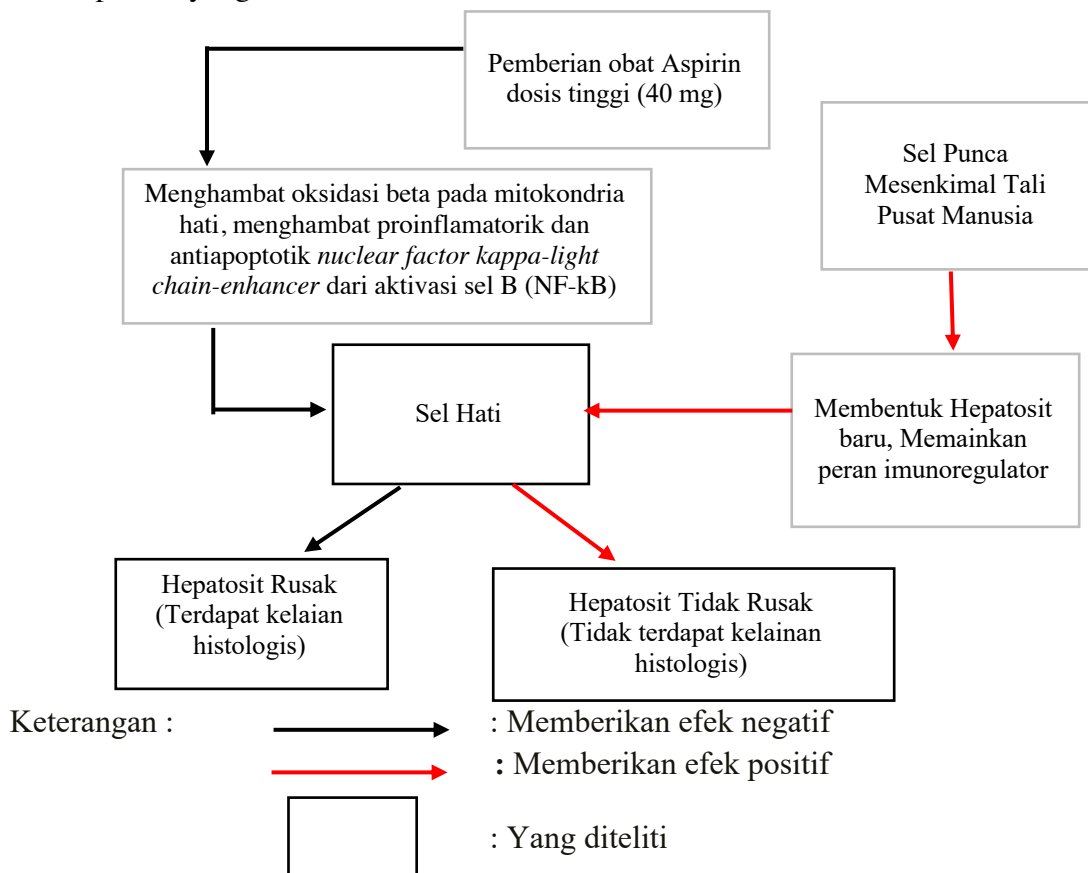
Tikus yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus galur sprague dawley jantan. Dan berumur 2 bulan (Sibarani *et al.*, 2013).

Sel punca mesenkimal tali pusat manusia apabila disuntikan secara intramuskular maka efek terapi dari sel punca pada tikus percobaan akan lebih luas, serta tidak menunjukkan adanya inflamasi lokal, ulserasi, atau efusi pada sisi yang diinjeksi (Braid *et al.*, 2018). Injeksi intramuskular sel punca mesenkimal tali pusat manusia yang dilakukan pada tikus normal tidak menginduksi perubahan fungsi jantung, hati, dan ginjal (Mao *et al.*, 2017).

Hal ini mengindikasikan bahwa prosedur pemberian injeksi sel punca mesenkimal tali pusat manusia melalui jalur pemberian secara intramuskular merupakan prosedur administrasi sel punca yang aman dikarenakan tidak menyebabkan kelainan pada sisi yang diinjeksi serta tidak menginduksi perubahan pada fungsi organ. Oleh karena itu, peneliti memilih perlakuan injeksi sel punca mesenkimal tali pusat manusia yang diberikan kepada tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Sprague dawley merupakan pemberian injeksi secara intramuskular untuk mengetahui apakah terdapat pengaruh terhadap gambaran histopatologi hati tikus yang diinduksi oleh aspirin.

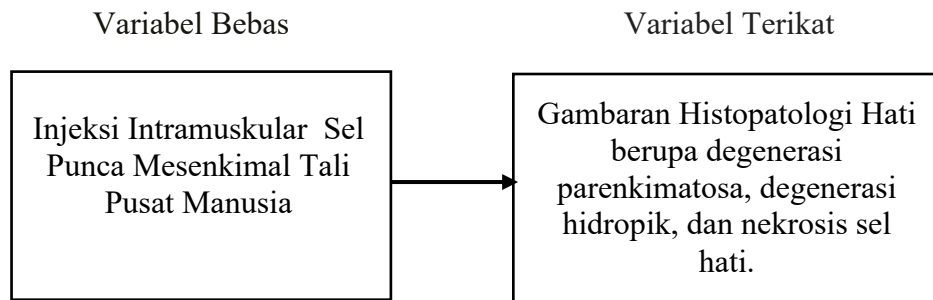
2.5. Kerangka Teori

Pemberian aspirin dengan dosis tinggi (dosis tinggi yang digunakan adalah 40 mg) dapat menghambat oksidasi beta pada mitokondria sel hati, menghambat proinflamatorik dan antiapoptotik *nuclear factor kappa-light chain-enhancer* dari aktivasi sel B (NF-kB) sehingga menyebabkan apoptosis pada sel hati. Hal tersebut dapat menyebabkan kelainan pada gambaran histologi dari organ hati seperti terjadi nekrosis, inflamasi, steatosis, kongesti, dan degenerasi pada sel hati. Sel punca mesenkimal tali pusat manusia dapat mencegah serta memperbaiki kerusakan sel-sel organ hati dengan perannya sebagai immunoregulator dan kemampuannya untuk berdiferensiasi menjadi sel hepatosit yang baru.



Gambar 15. Kerangka Teori

2.6. Kerangka Konsep



Gambar 16. Kerangka Konsep

2.7. Hipotesis

Terdapat pengaruh pemberian injeksi intramuskular sel punca mesenkimal tali pusat manusia terhadap perbaikan dari histopatologi hati tikus putih (*Rattus Norvegicus*) galur *Sprague Dawley* yang berupa degenerasi parenkimatososa, degenerasi hidropik, dan nekrosis sel hati tikus putih jantan yang diinduksi aspirin.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Rancangan Penelitian

Jenis dan desain penelitian yang digunakan pada penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan desain penelitian menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dan pendekatan *Post Test Control Group Design*, menggunakan tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague Dawley* yang dipilih secara acak dan dibagi menjadi 3 kelompok yaitu kelompok kontrol (K), kelompok perlakuan I (P1), dan kelompok perlakuan II (P2).

3.2. Lokasi dan Waktu Penelitian

Perlakuan dan pengujian pada hewan coba dilakukan di *Animal House* Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Pembuatan bahan injeksi sel punca mesenkimal tali pusat manusia dilakukan di Laboratorium Biokimia dan Biologi Molekuler Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Pembuatan preparat serta pengamatan akan dilakukan di Laboratorium Histologi dan Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung . Waktu

penelitian dilakukan selama 3 bulan yaitu periode Oktober-Desember tahun 2019.

3.3. Populasi dan sampel penelitian

3.3.1. Populasi Penelitian

Populasi yang digunakan adalah tikus jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague Dawley*, karena tikus memiliki tingkat kemiripan metabolisme dengan manusia dan tikus jantan memiliki metabolisme yang lebih stabil dibanding dengan tikus betina yang mengalami siklus estrus.

3.3.2. Sampel Penelitian

Penentuan besaran sampel ditentukan dengan menggunakan rumus

Frederer: $(n-1)(t-1) \geq 15$

Penelitian ini menggunakan 3 kelompok perlakuan sehingga perhitungan sampel menjadi:

$$(n-1)(3-1) \geq 15$$

$$(n-1)2 \geq 15$$

$$(n-1) \geq 15/2$$

$$(n-1) \geq 7,5$$

$$n \geq 7,5+1$$

$$n = 8,5 \text{ (dibulatkan menjadi 9)}$$

Keterangan :

n : Jumlah sampel tiap kelompok

t : Jumlah kelompok

Jadi , sampel yang digunakan untuk tiap kelompok percobaan sebanyak 9 ekor dan jumlah kelompok yang digunakan adalah 3 kelompok sehingga penelitian ini menggunakan 27 ekor tikus putih dari populasi yang ada. Ditambah dengan populasi drop out sebanyak 10%, setiap kelompok perlakuan diberikan 1 tikus cadangan.

3.4. Kriteria Inklusi dan Eksklusi

Kriteria inklusi pada penelitian ini yaitu:

1. Sehat (rambut tidak tampak kusam, tidak rontok, dan bergerak aktif)
2. Usia 8-10 minggu
3. Jantan
4. Berat badan 150-200 gram
5. Tikus putih jantan galur Sprague dawley

Kriteria eksklusi pada penelitian ini yaitu:

1. Mati selama perlakuan dilakukan.

2. Kehilangan berat badan sebanyak $>10\%$ setelah masa adaptasi di laboratorium.
3. Sakit (penampakan rambut rontok, kusam, dan tidak aktif, keluarnya eksudat yang tidak normal dari mulut, anus, genital atau mata).

3.5. Variabel Penelitian

1. Variabel bebas berupa injeksi intramuskular sel punca mesenkimal tali pusat manusia pada hati yang diinduksi aspirin.
2. Variabel terikat berupa gambaran histopatologi hati degenerasi parenkimatososa, degenerasi hidropik, dan nekrosis sel hati.

Variabel perantara dimana dibagi menjadi 2 yaitu:

- a. Dapat dikendalikan, yang termasuk dari variabel perantara yang dapat dikendalikan adalah berat badan, usia, makanan, minuman, lingkungan tempat tinggal, kelembapan, jumlah waktu paparan, dosis aspirin.
- b. Tidak dapat dikendalikan, yang termasuk dari variabel perantara yang tidak dapat dikendalikan adalah respon tikus terhadap paparan, proses metabolisme tikus, dan absorpsi aspirin.

Tabel 1. Definisi Operasional

No.	Variabel	Definisi	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala
1,	Variabel Bebas Injeksi intramuskular sel punca mesenkimal tali pusat manusia	Injeksi intramuskular dengan dosis 75 μ L disuntikan pada kelompok P2 sesudah dilakukan induksi aspirin selama 14 hari.	Dilaksanakannya injeksi intramuskular sel punca tali pusat manusia dengan menggunakan spuit 1 cc	Spuit 1 cc	Iya disuntik Tidak disuntik	Nominal (kategorik)
2.	Variabel Terikat Gambaran Histopatologi Hati	Gambaran kerusakan parenkim hati tikus dilihat dengan melakukan pengamatan pada sediaan histopatologi hati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400x pada 5 lapang pandang dimana setiap lapang diamati berupa nekrosis, degenerasi parenkim, degenerasi hidropik.	Pengamatan histopatologi untuk menilai kriteria derajat kerusakan parenkim hati menggunakan mikroskop	Mikroskop	Hasil ukur didapatkan dengan menggunakan skorng <i>Manja Roenigk</i> adalah dengan membaca preparat jaringan hati dalam lima lapangan pandang yaitu pada keempat sudut dan bagian tengah preparat dengan pembesaran 400x. Dengan skor masing-masing sel sebagai berikut : Normal:1 Degenerasi Parenkimatosia : 2 Degenerasi Hidropik: 3 Nekrosis: 4 (Muhartono <i>et al.</i> , 2019)	Rasio (Numerik)

Skor *Manja Roenigk* merupakan skor derajat histopatologi hati yang digunakan pada penelitian ini, yaitu :

- a) Tidak terdapat perubahan struktur histologi sel hati atau masih dalam keadaan normal memiliki skor 1
- b) Perubahan struktur histologi sel hati berupa degenerasi parenkimatosa memiliki skor 2.
- c) Perubahan struktur histologi sel hati berupa degenerasi hidropik memiliki skor 3.
- d) Perubahan struktur histologi sel hati berupa nekrosis memiliki skor 4

(Muhartono *et al.*, 2019).

3.6. Kelompok Perlakuan

1. Kelompok Kontrol (K) : Kelompok tikus yang diberi makan dan minuman standar.
2. Kelompok Perlakuan 1 (P1) : Kelompok tikus yang diinduksi aspirin dan tidak diinjeksikan sel punca mesenkimal tali pusat manusia.
3. Kelompok Perlakuan 2 (P2) : Kelompok tikus yang diinjeksikan sel punca mesenkimal tali pusat manusia.

3.7. Cara Kerja

3.7.1. Alat dan Bahan Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam melaksanakan penelitian ini antara lain kandang hewan coba, Sonde lambung, Pinset, Gelas beker, *Surgical blade*, Inkubator, Mikropipet beserta tipnya, Timbangan analitik, *Quick-DNA Universal Kit (Zymo-Spin IIC-XL Column)*, *Biological safety cabinet* Kassa steril, S spuit 1 cc dan jarum, Tabung mikrosentrifugasi, Sarung tangan *Vinyl non Powder*, Masker. Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain akuades atau NaCl fisiologis, pakan dan minum tikus, Tali pusat manusia *Quick-DNA Universal Kit (BioFluid & Cell Buffer)*, Larutan *buffer* garam fosfat, *Genomic Binding Buffer*, *DNA-Pre Wash Buffer*, *g-DNA Wash Buffer*, *Ketamine 80mg/kgbb*, *Xylazine 10mg/kgbb* Alkohol 70%, *Proteinase K* dan *DNA Elution Buffer*), dan Aspirin 40 mg.

3.7.2. Prosedur Penelitian

3.7.2.1. Adaptasi Hewan Coba

Subjek/hewan percobaan yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague Dawley* yang berusia 8-10 minggu dengan berat badan rata-rata 150-200 gram. Tikus putih jantan akan dibagi secara acak

menjadi 3 kelompok yang masing masing ditempatkan dalam 1 kandang , Setiap kelompok percobaan berisi 10 ekor tikus. Tikus diadaptasikan selama satu minggu sebelum diberi perlakuan dan selama masa adaptasi tikus diperlakukan dengan baik, diberi air minum aquadest, diberi makan berupa pelet. Sebelum diberi perlakuan dilakukan pengukuran berat badan tikus.

3.7.2.2. Pembuatan Ekstrak Sel Punca Mesenkimal Tali Pusat

Setelah mendapatkan persetujuan *ethical clearance* dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung, penelitian akan dilakukan. Tali pusat manusia didapat dari donor sukarela.

Dilakukan pengambilan darah dari tali pusat manusia, kemudian sampel dengan jumlah 200 μ L dimasukkan ke dalam tabung mikrosentrifugasi, lalu kemudian di tambah dengan 200 μ L *Biofluid & Cell Buffer* dan 200 μ L *Proteinase K*, kemudian diputar selama 10-15 detik menggunakan vortex. Setelahnya tabung tersebut diinkubasi selama 10 menit pada suhu 55°C.

Genomic Binding Buffer ditambahkan pada sampel sebanyak 1 kali dari volume (*Genomic Binding Buffer* ditambahkan sebanyak 420 μL untuk 420 μL sampel), vortex selama 10-15 detik. Setelah itu, campuran tersebut dipindahkan ke tabung *Zymo-Spin* IIC-XL dalam tabung pengumpul lalu dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 12.200 rpm selama 1 menit, supernatan hasil sentrifugasi kemudian dibuang.

Setelah supernatan hasil sentrifugasi dibuang, tambahkan 400 μL *DNA Pre-Wash Buffer* pada tabung pengumpul yang baru, kemudian sentrifugasi kembali dengan kecepatan 12.200 rpm, lalu kosongkan tabung pengumpul. Tambahkan 700 μL *g-DNA Wash Buffer* lalu sentrifugasi kembali dengan kecepatan 12.200 rpm selama 1 menit, lalu kembali kosongkan tabung pengumpul. Setelah itu, tambahkan kembali 200 μL *g-DNA Wash Buffer* yang kemudian disentrifugasi dengan kecepatan dan waktu yang sama dengan proses sebelumnya, lalu tabung pengumpul dikosongkan. Terakhir, tabung *Zymo-Spin* yang telah ditambahkan 75 μL *DNA Elution* dipindahkan ke dalam tabung pengumpul baru, lalu inkubasi selama 5 menit pada suhu ruang, dan kemudian di sentrifugasi dengan kecepatan 12.200 rpm selama 1 menit. Lalu, terbentuklah ekstrak sel punca mesenkimal tali pusat

manusia sebanyak 75 μ L. Ekstrak sel punca mesenkimal tali pusat manusia kemudian disimpan pada suhu -20°C sampai ekstrak tersebut digunakan.

3.7.2.3. Prosedur Pemberian Intervensi

Intervensi dilakukan berdasarkan kelompok perlakuan. Kelompok kontrol (K) tidak diberi induksi aspirin dan tidak diinjeksi sel punca mesenkimal tali pusat manusia secara intramuskular. Kelompok perlakuan I (P1) akan diberi induksi aspirin tetapi tidak diinjeksi sel punca mesenkimal tali pusat manusia secara intramuskular. Kelompok perlakuan II (P2) merupakan kelompok yang akan diberi induksi aspirin dan diberi injeksi sel punca mesenkimal tali pusat manusia secara intramuskular.

Tikus kelompok perlakuan I dan II akan diberikan induksi aspirin. Proses induksi dilakukan setiap hari selama 14 hari. Jumlah dosis aspirin yang digunakan adalah 200 mg/kgBB secara per oral dosis tunggal, dikarenakan dosis toksik dari aspirin adalah 200 mg/kgBB (Fatima *et al.*, 2016). Berat tikus yang digunakan pada penelitian ini yaitu 150 sampai 200 gram. Sehingga perhitungan dosis aspirin yang digunakan bila

berat tikus 200 gram (0,2 kg) adalah

$$200 \text{ mg/kgBB} \times 0,2 \text{ g} = 40 \text{ mg (Laurence, 2008).}$$

Maka pada tiap kali induksi dosis aspirin yang diberikan yaitu 40 mg (Sibarani *et al.*, 2013). Sediaan aspirin yang digunakan adalah aspirin tablet 500 mg. Aspirin dihaluskan menjadi serbuk dengan cara digerus, kemudian dilarutkan dengan aquadest sebanyak 5,55 ml dan diberikan per oral menggunakan sonde lambung, jadi dalam 1 ml larutan terdapat 40 mg aspirin. Induksi aspirin diberikan setiap hari selama 14 hari.

Injeksi sel punca mesenkimal tali pusat manusia diberikan secara intramuskular dilakukan kepada tikus sesudah induksi aspirin. Sel punca mesenkimal tali pusat manusia dengan dosis tunggal 75 μL diinjeksikan secara intramuskular pada otot anggota gerak bagian belakang sebelah kiri (Braid *et al.*, 2018). Setelah diinjeksi kondisi umum tikus diamati sampai 24 jam untuk menilai apakah terdapat efek samping. Kemudian setelah 3 minggu dari pengobatan tikus diterminasi (Mao *et al.*, 2017). Untuk dosis letal injeksi sel punca mesenkimal terhadap tikus adalah $\geq 252 \times 10^6$ sel/kgBB atau setara dengan 1.875 μL (Rengasamy *et al.*, 2016).

3.7.2.4. Prosedur Pengelolaan Hewan Coba Pasca Penelitian

Pada tikus dilakukan terminasi terlebih dahulu sebelum dilakukan proses pengambilan organ hati pada tikus yang sudah dilakukan intervensi. Proses terminasi dilakukan dengan cara memberikan injeksi *ketamine* 80 mg/kgBB dan *xylazine* 10 mg/kgBB secara intramuskular. Nekropsi dilakukan setelah tikus mati untuk dilakukan pengambilan organ hati, kemudian tikus yang mati tersebut dimasukan ke dalam larutan *Buffered Neutral Formalin* (BNF) 10% agar organ yang ingin diteliti tidak membusuk dan dapat terfiksasi dengan baik sesuai dengan kondisi saat itu (Pusparini, 2017).

3.7.2.5. Prosedur Pengambilan Organ Hati

Dilakukan pembedahan pada bagian abdomen, hati tikus diambil untuk dilakukan pembuatan sediaan mikroskopis dengan menggunakan metode parrafin dan kemudian dilakukan pewarnaan Hematoksiklin Eosin (HE).

3.7.2.6. Prosedur Operasional Pembuatan *Slide*

Pembuatan preparat histopatologi organ hati dilakukan di Laboratorium Histologi dan Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung :

a. Fiksasi

Spesimen yang digunakan berupa potongan organ hati yang telah dilakukan pemotongan secara representatif dan kemudian dilakukan fiksasi selama 3 jam dengan formalin 10%. Lalu, dicuci dengan air mengalir sebanyak 3–5 kali.

b. *Trimming*

Spesimen yang berupa organ hati dikecilkan hingga ukuran ± 3 mm. Spesimen potongan organ hati tersebut kemudian dimasukkan ke dalam *tissue cassette*.

c. Dehidrasi

keringkan air dengan cara meletakkan *tissue cassette* pada kertas tisu. Kemudian dilakukan dehidrasi dengan menggunakan : Alkohol 70% selama 0,5 jam, Alkohol 96% selama 0,5 jam, Alkohol 96% selama 0,5 jam, Alkohol 96% selama 0,5 jam, Alkohol absolut selama 1 jam, kemudian Alkohol *xylol* 1:1 selama 0,5 jam.

d. *Clearing*

Bersihkan sisa alcohol dengan melakukan clearing menggunakan larutan *xylol* I dan II, masing-masing selama 1 jam.

e. Impregnasi

Impregnasi dilakukan dengan menggunakan paraffin selama 1 jam dalam oven suhu 65°C .

f. *Embedding*

Paraffin yang tersisa pada pan dibersihkan dengan cara dipanaskan beberapa saat di atas api dan diusap menggunakan kapas. Penyiapan paraffin cair dilakukan dengan cara memasukkan paraffin ke dalam cangkir logam kemudian dimasukkan ke dalam oven dengan suhu diatas 58°C . Paraffin cair tersebut kemudian dituangkan ke dalam pan, lalu dipindahkan satu persatu dari *tissue cassette* ke dasar pan dengan mengatur jarak yang satu dengan yang lainnya. Pan lalu dimasukkan ke dalam air. Paraffin yang berisi potongan hati dilepaskan dari pan dengan dimasukkan ke dalam suhu $4-6^{\circ}\text{C}$ untuk beberapa saat. Pemotongan paraffin dilakukan sesuai dengan letak jaringan yang ada dengan menggunakan skalpel atau dapat juga menggunakan

pisau hangat. Lalu paraffin yang telah terpotong diletakkan pada balok kayu, pinggirnya diratakan, dan dibuat ujungnya sedikit meruncing. Memblok paraffin, siap dipotong dengan mikrotom.

g. *Cutting*

Pemotongan atau *cutting* dilakukan pada ruangan dingin. Blok didinginkan terlebih dahulu di lemari es sebelum memotong. Pemotongan kasar dilakukan, lalu pemotongan dilanjutkan dengan pemotongan halus dengan ketebalan 4–5 mikron. Pemotongan dilakukan menggunakan *rotary microtome* dengan *disposable knife*. Lembaran potongan dipilih yang paling baik, diapungkan pada air, kemudian dihilangkan kerutannya dengan cara menekan salah satu sisi lembaran jaringan tersebut dengan ujung jarum dan sisi yang lain ditarik menggunakan kuas runcing. Lembaran jaringan dipindahkan ke dalam water bath dengan suhu 60°C selama beberapa detik sampai lembaran jaringan mengembang sempurna. Dengan gerakan menyendok, lembaran jaringan tersebut diambil dengan *slide* bersih dan ditempatkan di tengah atau pada sepertiga bawah atau atas. *Slide* yang berisi jaringan kemudian ditempatkan pada inkubator selama 24 jam dengan suhu 37°C sampai jaringan tersebut melekat sempurna.

h. *Staining*

Staining atau pewarnaan menggunakan pewarnaan Harris Hematoksilin–Eosin, setelah jaringan melekat sempurna pada *slide*, dipilih *slide* yang terbaik, selanjutnya secara berurutan dimasukkan ke dalam zat kimia di bawah ini. *Slide* dimasukkan kedalam larutan *xylol* I selama 5 menit untuk dilakukan deparafinisasi. Kemudian dimasukkan ke dalam larutan *xylol* II selama 5 menit, lalu ethanol absolut selama 1 jam. Kemudian dilakukan hidrasi dalam Alkohol 96% selama 2 menit, Alkohol 70% selama 2 menit, lalu Air selama 10 menit. Selanjutnya membuat pulasan inti dengan menggunakan Harris Hematoksilin selama 15 menit, lalu dibilas dengan air mengalir. Dilakukan pewarnaan dengan eosin selama maksimal 1 menit. Selanjutnya, dilakukan dehidrasi dengan menggunakan Alkohol 70% selama 2 menit. Alkohol 96% selama 2 menit. Alkohol absolut selama 2 menit. Setelah itu dilakukan penjernihan menggunakan *Xylol* I selama 2 menit, lalu *Xylol* II selama 2 menit.

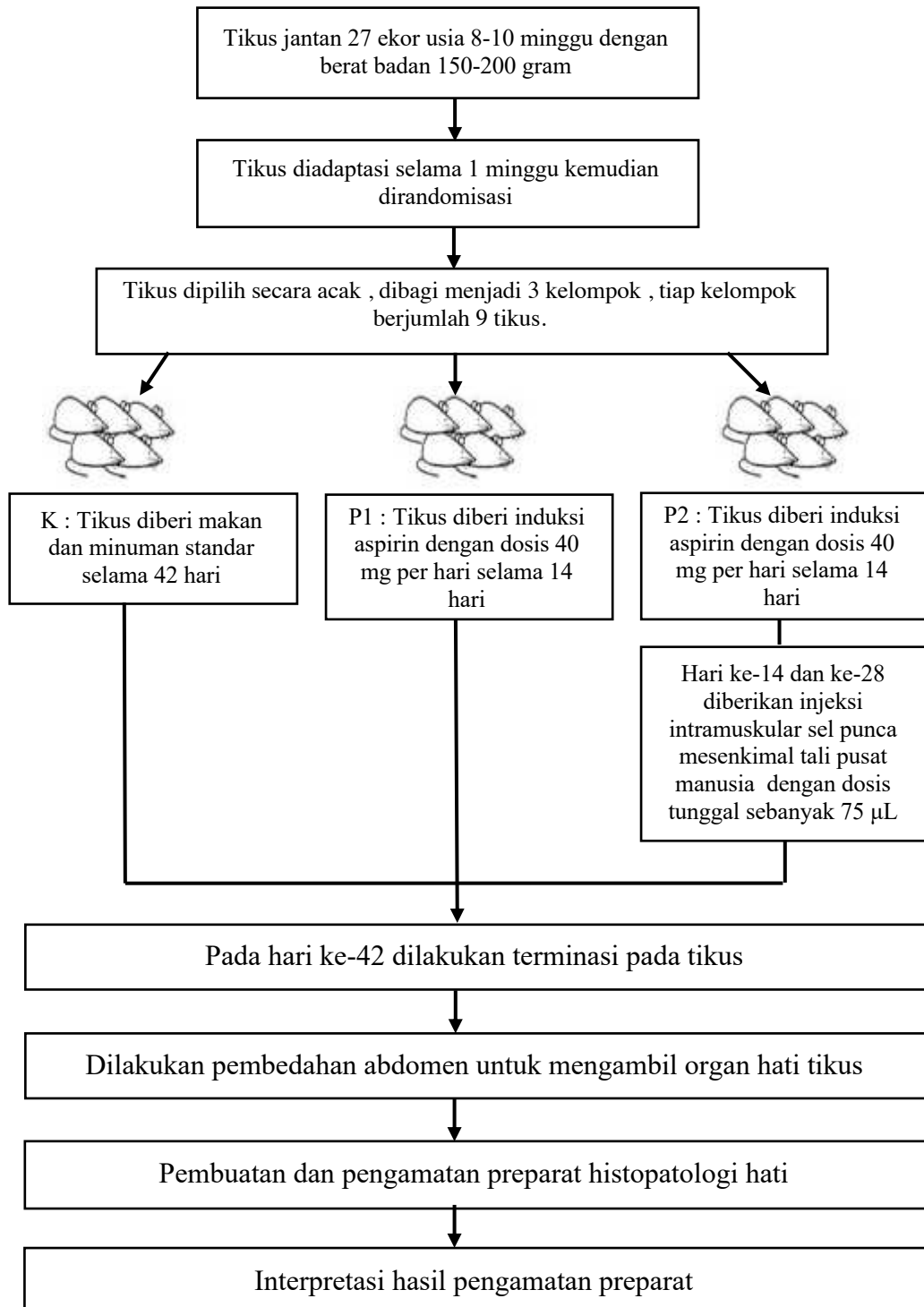
i. *Mounting* menggunakan entelan dan tutup dengan *deck glass*

Setelah *staining* atau pewarnaan selesai, *slide* ditempatkan di atas kertas tisu pada yang tempat datar untuk ditetesi dengan bahan mounting, yaitu entelan, dan kemudian ditutup dengan *deck glass*, cegah terbentuknya gelembung udara.

j. Pembacaan *slide* dengan mikroskop

Periksa *slide* di bawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 100x dan 400x. Preparat histopatologi dikirim kemudian dikirim ke laboratorium Patologi Anatomi untuk dikonsultasikan dengan ahli patologi anatomi untuk dilakukan pengamatan mikroskopis oleh spesialis patologi

3.8. Diagram Alur Penelitian



Gambar 17. Diagram Alur Penelitian

3.9. Pengolahan dan Analisis Data

Hasil pengamatan histopatologi di bawah mikroskop berupa data yang diperoleh diuji menggunakan software analisis statistik. Hipotesis komparatif dapat digunakan untuk uji hipotesis yang digunakan untuk mengetahui hubungan antarvariabel numerik dengan kategorik. Uji komparatif numerik tidak berpasangan merupakan jenis uji komparatif yang dilakukan pada penelitian ini karena subjek merupakan tiga kelompok yang berbeda. Prioritas dari uji hipotesis untuk komparatif numerik adalah uji parametrik. Pada lebih dari dua kelompok tidak berpasangan dengan varian sama, uji hipotesis yang digunakan adalah *One Way Anova* (Dahlan, 2017).

Distribusi data normal dan melihat varian data adalah syarat uji parametrik. Uji normalitas *Shapiro-Wilk* digunakan untuk melihat data terdistribusi normal ($p > 0,05$) atau tidak, *Shapiro-Wilk* dipilih karena jumlah sampel ≤ 50 . Apabila setelah dilakukan uji *Shapiro-Wilk* didapatkan $p < 0,05$ pada ketiga kelompok sampel, maka berarti distribusi data tidak normal. Langkah selanjutnya adalah mengusahakan agar distribusi data menjadi normal dengan melakukan transformasi data menggunakan fungsi log 10. Apabila transformasi data tidak berhasil menormalkan data, maka dilakukan uji alternatif dari uji parametrik *One Way Anova*, yaitu uji nonparametrik *Kruskal-Wallis* dikarenakan uji parametrik *One Way Anova* tidak dapat dilakukan (Dahlan, 2017).

Batas penerimaan H_0 (nilai alpha) digunakan untuk mengetahui hasil kemaknaan perhitungan statistik. Nilai alpha yang populer adalah 0,05. Didapatkan hasil $p < 0,05$, maka hasil bermakna yang berarti terdapat pengaruh

injeksi intramuskular sel punca mesenkimal tali pusat manusia terhadap histopatologi hati tikus putih yang diinduksi aspirin atau yang disebut Ho ditolak. Kemudian dilakukan analisis *post hoc Mann-Whitney* (Dahlan, 2017).

3.10. Etika Penelitian

Penelitian ini telah mendapat persetujuan dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dengan surat No.3815/UN26.18/PP.05.02.00/2019, protokol penelitian ini menerapkan prinsip 3R antara lain :

1. *Replacement*

Replacement adalah keperluan memanfaatkan hewan percobaan yang sudah diperhitungkan secara tepat dan seksama, baik dari pengalaman terdahulu maupun literatur untuk menjawab pertanyaan penelitian dan tidak dapat digantikan oleh makhluk hidup lain seperti sel atau biakan jaringan.

2. *Reduction*

Reduction merupakan pemanfaatan hewan dalam penelitian dengan jumlah seminimal mungkin, dengan tetap mendapatkan hasil penelitian yang optimal. Jumlah minimal biasa dihitung menggunakan rumus Frederer yaitu $(n-1)(t-1) > 15$. dengan nilai t adalah jumlah kelompok perlakuan dan nilai n adalah jumlah hewan yang diperlukan.

3. *Refinement*

Refinement adalah memperlakukan hewan percobaan secara manusiawi, yaitu dengan cara memeliharanya dengan baik, tidak menyakiti, meminimalisasi perlakuan yang menyakitkan , serta menjaga kesejahteraan hewan coba selama penelitian (Ridwan, 2013).

BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

5.1. Simpulan

Berdasarkan penelitian yang sudah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh pemberian injeksi intramuskular sel punca mesenkimal tali pusat manusia terhadap perbaikan dari histopatologi hati tikus putih (*Rattus Norvegicus*) galur *Sprague Dawley* yang berupa degenerasi parenkimatos, degenerasi hidropik, dan nekrosis sel hati tikus putih jantan yang diinduksi aspirin.

5.2. Saran

1. Perlu dilakukan peningkatan pengetahuan tentang cara untuk peneliti dapat mengendalikan faktor – faktor eksternal (Higienitas makanan, keadaan yang menyebabkan stress pada tikus) yang tidak terduga yang dapat mempengaruhi ataupun mengganggu proses penelitian.
2. Pengambilan darah tali pusat selanjutnya diharapkan dilakukan oleh yang benar – benar ahli dalam bidangnya (misal : Dokter Spesialis Kandungan

dan Kebidanan) agar higienitas, serta kualitas darah tali pusat dapat terjaga dengan baik.

3. Bagi Universitas Lampung, diharapkan agar dapat mengembangkan sarana dan prasarana untuk penelitian sel punca, sehingga terapi sel punca sebagai terapi regeneratif dapat berkembang dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Agata A, Widiastuti EL, Susanto GN. 2016. Respon histopatologis hepar mencit (*mus musculus*) yang diinduksi benzo (α) piren terhadap pemberian taurin dan ekstrak daun sirsak (*annona muricata*). *Jurnal Natur Indonesia*.16(2):54–63.
- Arifuddin, Asri A, Elmatris. 2016. Efek pemberian vitamin c terhadap gambaran histopatologi hati tikus wistar yang terpapar timbal asetat. *Jurnal Kesehatan Andalas*.5(1):215–20.
- Azzopardi JI, Blundell R. 2018. Review : umbilical cord stem cells. *University of Malta*.8(1):1–11.
- Braid LR, Wood CA, Wiese DM, Ford BN. 2018. Intramuscular administration potentiates extended dwell time of mesenchymal stromal cells compared to other routes. *Elsevier Inc*.20(2):232–44.
- Charles II, Kayode BJ, Kingsley AE, Dic IJ, Okparaku R, Ehimara. 2018. Histopathological effect of varying dose of acetylsalicylic acid (aspirin) on liver of adult wistar rats. *Journal of Biotechnology and Biomedicine*.1(1): 28–33.
- Chen M, Suzuki A, Borlak JA, Raúl J, Lucena M. 2015. Review drug-induced liver injury : interactions between drug properties and host factors. *Journal of Hepatology*.63(2):503–14.
- Dahlan MS. 2017. *Statistik untuk kedokteran dan kesehatan*. 6th edn. Jakarta: Salemba.
- El-fiky BA, Elkhatib, Gamal ZE, Tarek S. 2015. Hepatoprotective effects of umbilical cords blood stem. *Al-Azhar Assiut Medical Journal*.13(3):152–9.
- Eroschenko VP. 2017. *Atlas of histology with functional correlations* .13th edition. Philadelphia: Wolters Kluwer.
- Esrefoglu M. 2013. Role of stem cells in repair of liver injury : experimental and clinical benefit of transferred stem cells on liver failure. *World Journal of*

Gastroenterology.19(40):6757–73.

- Fahmi M, Fahrimal Y, Aliza D, Budiman H, Aisyah S, Hambal M. 2015. Gambaran histopatologi hati tikus (*rattus novergicus*) yang diinfeksi trypanosoma evansi setelah pemberian ekstrak kulit batang jaloh. *Jurnal Medika Veterinaria*.9(2):141–5.
- Fatima S, Heena STQ, Abdul S, Azharuddin, Md. 2016. Evaluation of anti-ulcer activity of 70 % hydro-ethanolic leaf extract of argemone mexicana linn in experimental rats. *IOSR Journal Of Pharmacy*. 6(4):41–50.
- Fitmawati, Titrawani, Welly S. 2018. Struktur histologi hati tikus putih (*Rattus norvegicus*) dengan pemberian ramuan tradisional masyarakat melayu lingga , kepulauan riau, *Ekotonia : Jurnal Penelitian Botani, Zoologi dan Mikrobiologi*.4(1):11–19.
- Grattagliano I, Bonfrate L, Diogo CV, Wang HH, David QH, Portincasa P. 2009. Biochemical mechanisms in drug-induced liver injury : certainties and doubts. *World Journal of Gastroenterology*.15(39):4865–76.
- Hassan G, Kasem I, Soukkarieh C, Aljamali M. 2017. A simple method to isolate and expand human umbilical cord derived mesenchymal stem cells : using explant method and umbilical cord blood serum. *International Journal Of Stem Cells*.10(2):184–192.
- Hikmah EN. 2014. Penggunaan obat-obatan penginduksi penyakit hati terhadap pasien gangguan fungsi hati di rumah sakit x surakarta tahun 2013 [Naskah Publikasi]. Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Jensen KJ, Alpini G, Glaser S. 2013. Hepatic nervous system and neurobiology of the liver. *Comprehensive Physiology*.3(2):655–66.
- Junqueira LC, J.Carneiro, RO, Kelley. 2007. Histologi dasar. Edisi ke-5. Terjemahan dari Basic Histology. Jakarta: EGC.
- Kalra K, Tomar PC. 2014. Stem cell : basics , classification and applications. *American Journal of Phytomedicine and Clinical Therapeutics*.2(7):919-930.
- Kurniawaty, E. 2017. Terapi Gen: Miracle of placenta. Bandarlampung: AURA Publishing.
- Kurniawaty E, Andriani S, Audah K, Rahmanisa S. 2018. Manfaat tali pusat sebagai terapi. Bandarlampung: CV. Anugrah Utama Raharja .
- Laurence LB. 2008. Goodman & gilman's: manual pharmacology and therapeutics. 7th edn. New York: McGraw Hill.

- Lemberg A, Fernández MA, Coll C, Rosello DO, Romay S, Perazzo JCL, et al. 2009. Reyes ' s syndrome , encephalopathy , hyperammonemia and acetyl salicylic acid ingestion in a city hospital of buenos aires , argentina. *Bentham Science Publishers Ltd.*4(1):17–21.
- Liu Y, Chen JK, Zhang Y, Wang X, Qu S, Jiang CL. 2014. Chronic stress induces steatohepatitis while decreases visceral fat mass in mice.8(1)1–8.
- Makiyah A, Khumaisah LL. 2018. Studi gambaran histopatologi hepar tikus putih strain wistar yang diinduksi aspirin pasca pemberian ekstrak etanol umbi iles-iles (*Amorphophallus variabilis* Bl.). *Majalah Kedokteran Bandung.* 50(2):93-101.
- Mao C, Hou X, Wang B, Chi J, Jiang Y, Zhang C. 2017. Intramuscular injection of human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells improves cardiac function in dilated cardiomyopathy rats. *Stem Cell Research & Therapy.* 8(18):1–10.
- Meunier L, Larrey D. 2018. Recent advances in hepatotoxicity of non steroidal anti-inflammatory drugs. *Journal of the Mexican Association of Hepatology.* 17(2):187–191.
- Miladiyah I. 2012. Therapeutic drug monitoring (TDM) pada penggunaan aspirin sebagai antireumatik. *Departemen Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia.*4(2):210–226.
- Misih A, Bloomston, M. 2010. *Liver anatomy, surgical clinics of north america.* Elsevier Ltd. 90(4):643–53.
- Muhartono, Oktarlina RZ, Purohita NS. 2019. Pengaruh pemberian minuman ringan berkarbonasi terhadap gambaran histopatologi hepar tikus putih (*rattus norvegicus*) jantan galur sprague dawley. *Majority.*8(1):71–77.
- Ozougwu, Jevas C. 2017. *Physiology of the liver.* The American Journal of Medicine. 16(2):256–271.
- Pusparini O. 2017. Analisis histopatologis organ hati dan ginjal mencit (*mus musculus*) yang diberi pretreatment untuk penyiapan penelitian biomedis [Skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Rajpoot DS, Tewari G. 2018. Review Article Review on Stem Cells: Basics Classification and Applications. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research.*49(12): 48–52.
- Rengasamy M, Gupta PK, Kolkundkar U, Singh G, Balasubramanian S, SundarRaj S, et al. 2016. Preclinical safety & toxicity evaluation of pooled , allogeneic human bone marrow-derived mesenchymal stromal cells. *Stempeutics Research Pvt. Ltd.*144(6):852–64.

- Ridwan E. 2013. Etika pemanfaatan hewan percobaan dalam penelitian kesehatan. *J Indon Med Assoc.* 63(3):112-16.
- Sari RAP, Irawati NAV. 2018. Asosiasi penggunaan aspirin pada viral infection dengan sindrom reye association aspirin administration in viral infection with reye ' s syndrome. *Majority.*7(3):3-7.
- Sibarani NMH, Berata IK, Arjana AAG. 2013. Studi histopatologi hepar tikus putih yang diinduksi aspirin pasca pemberian madu per oral (histopathological study of rat liver that was induced aspirin post honey giving orally). *Indonesia Medicus Veterinus.*2(5):488-95.
- Sibulesky L. 2013. Normal liver anatomy. *Clinical Liver Disease.*2(1):1-3.
- Sriuttha P, Sirichanchuen B, Permsuwan U. 2018. Hepatotoxicity of nonsteroidal anti-inflammatory drugs : a systematic review of randomized controlled trials. *International Journal Of Hepatology.*20(18):1-13.
- Sudulaguntla A, Gurung S, Nanjwade BK, Tamang JK. 2016. A review: stem cells and classification of stem cells. *World Journal Of Pharmacy And Pharmaceutical Science.*5(11):534-56.
- Surya DH. 2009. Efek ekstrak buah mengkudu morinda citrifolia l terhadap kadar enzim SGOT dan SPGT pada mencit dengan induksi karbon tetraklorida [Skripsi]. Surakarta : Universitas Sebelas Maret
- Susanti E. 2015. Gambaran histopatologi hati tikus putih (*rattus norvegicus*) yang diberi insektisida golongan piretroid (sipermetrin) [Skripsi]. Makassar: Universitas Hasanuddin.
- Wang Y, Wu DB, Chen B, Chen EQ, Tang H. 2018. Progress in mesenchymal stem cell – based therapy for acute liver failure. *Stem Cell Research & Therapy.*9(227):1-9.
- Wijaya SM, Lisdiana, Setiati N. 2014. Pemberian ekstrak benalu mangga terhadap perubahan histologis hepar tikus yang diinduksi kodein administration. *Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education.*6(2):104-10.