

**PENGARUH PEMBERIAN INJEKSI INTRAMUSKULAR SEL PUNCA
MESENKIMAL TALI PUSAT MANUSIA TERHADAP GAMBARAN
HISTOPATOLOGI GINJAL PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)
GALUR *Sprague dawley* YANG DIINDUKSI ASPIRIN**

(Skripsi)

**Oleh
CAHAYA CARLA BANGSAWAN**



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

**PENGARUH PEMBERIAN INJEKSI INTRAMUSKULAR SEL PUNCA
MESENKIMAL TALI PUSAT MANUSIA TERHADAP GAMBARAN
HISTOPATOLOGI GINJAL PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)
GALUR *Sprague dawley* YANG DIINDUKSI ASPIRIN**

**Oleh
CAHAYA CARLA BANGSAWAN
1618011055**

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**

ABSTRAK

PENGARUH PEMBERIAN INJEKSI INTRAMUSKULAR SEL PUNCA MESENKIMAL TALI PUSAT MANUSIA TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI GINJAL PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) GALUR *Sprague dawley* YANG DIINDUKSI ASPIRIN

Oleh

CAHAYA CARLA BANGSAWAN

Latar Belakang: Penggunaan aspirin yang tidak terkontrol dapat menyebabkan beberapa komplikasi dan berbagai kerusakan pada organ, termasuk cedera ginjal. Sel punca mesenkimal sebagai alternatif merupakan sumber penting untuk perbaikan dan regenerasi jaringan yang rusak.

Tujuan: Untuk mengetahui efek injeksi intramuskular tali pusat manusia terhadap kerusakan jaringan ginjal tikus (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi aspirin.

Metode: Penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratorium dengan desain *post-test only control group design* dengan 27 tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* yang dibagi menjadi tiga kelompok. Kelompok kontrol (KK) diberi minuman dan makanan seperti biasa, P1 diberi aspirin 200 mg / kgBB secara oral selama 14 hari, P2 diberi aspirin 200 mg / kgBB secara oral selama 14 hari dan diobati dengan injeksi intramuskular 0,75 mL tali pusat mesenkimal tali pusat manusia.

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 ($p = 0,497$) tidak memperoleh perbedaan yang signifikan.

Kesimpulan: Ada efek injeksi intramuskuler sel punca mesenkimal tali pusat manusia pada kerusakan jaringan ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Sprague dawley.

Kata Kunci: Aspirin, Histopatologi ginjal, Sel punca mesenkimal

ABSTRACT

THE EFFECT OF INTRAMUSCULAR INJECTION HUMAN UMBILICAL CORD MESENCHYMAL STEM CELL TO KIDNEY OF RATS (*Rattus norvegicus*) *Sprague dawley* STRAIN WITH ASPIRIN INDUCTION

By

CAHAYA CARLA BANGSAWAN

Background: Uncontrolled use of aspirin can cause several complications and various damage to organs, including kidney injury. Mesenchymal stem cells as an alternative is an important source for repair and regeneration of damaged tissue.

Purpose: To determine the effect of intramuscular injection of human umbilical chord on kidney tissue impairment of rats (*Rattus norvegicus*) with aspirin induction.

Method: This study was a laboratory experimental study with a post test only control group design with 27 white rats (*Rattus norvegicus*) *Sprague dawley* strain which divided into three groups. The control group (KK) was given regular drink and food, P1 was given 200 mg/kgBW aspirin orally for 14 days, P2 was given 200 mg/kgBW aspirin orally for 14 days and treated with intramuscular injection of 0.75 mL extracted human cord mesenchymal stem cells.

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 ($p=0,497$) not gained significant differences.

Conclusions: There is an effect of intramuscular injection of human umbilical cord mesenchymal stem cells on kidney tissue impairment of white rats (*Rattus norvegicus*) *Sprague dawley* strain.

Keywords: Aspirin, Kidney histopathology, Mesenchymal stem cells

Judul Skripsi

**PENGARUH PEMBERIAN INJEKSI
INTRAMUSKULAR SEL PUNCA
MESENKIMAL TALI PUSAT MANUSIA
TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI
GINJAL PADA TIKUS PUTIH (*Rattus
norvegicus*) GALUR Sprague dawley YANG
DIINDUKSI ASPIRIN**

Nama Mahasiswa

Cahaya Carla Bangsawan

No. Pokok Mahasiswa

: 1618011055

Program Studi

: Pendidikan Dokter

Fakultas

: Kedokteran

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

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

NIP. 197601202003122001

dr. Utari Gita Mutiara, S.Ked

NIK 231612910713201

2. Dekan Fakultas Kedokteran

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

NIP. 197206281997022001

MENGESAHKAN

1. Tim Pengaji

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

Sekretaris

: dr. Utari Gita Mutiara, S.Ked

Pengaji

Bukan Pembimbing : Dr.dr.Betta Kurniawan, S.Ked., M.Kes

2. Dekan Fakultas Kedokteran

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

NIP. 197206281997022001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 20 Desember 2019

LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenarnya, bahwa:

1. Skripsi dengan judul **“PENGARUH PEMBERIAN INJEKSI INTRAMUSKULAR SEL PUNCA MESENKIMAL TALI PUSAT MANUSIA TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI GINJAL PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) GALUR Sprague dawley YANG DIINDUKSI ASPIRIN”** adalah hasil karya saya sendiri dan tidak melakukan penjiplakan atau pengutipan atas karya penulis lain dengan cara tidak sesuai tata etika ilmiah yang berlaku dalam masyarakat akademik atau yang disebut plagiarisme.
2. Hal intelektual atas karya ilmiah ini diserahkan sepenuhnya kepada Universitas Lampung.

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



Bandarlampung, 30 Desember 2019
Pembuat Pernyataan,

Cahaya Carla Bangsawan

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Bandar Lampung pada tanggal 7 Juni 1998, sebagai anak pertama dari empat bersaudara dari Bapak Ir. Irzaidir dan Ibu Teti Nurhayati, S.Kep. Penulis memiliki dua orang adik perempuan yang bernama Cahaya Mutiara Bangsawan dan Cahaya Zahra Bangsawan serta satu orang adik laki – laki yang bernama Muhammad Raja Bangsawan.

Pendidikan Taman Kanak-kanak (TK) diselesaikan di TK Kartika II-5 Bandar Lampung pada tahun 2004, pernah 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 mahasiswi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri Tahun 2016 (SNMPTN). Selama menjadi mahasiswa, penulis pernah menjadi Asisten Dosen Patologi Klinik tahun 2018-2019 dan aktif pada organisasi Forum Studi Islam (FSI) Ibnu Sina sebagai anggota periode 2016-2017 dan 2017-2018 sebagai anggota. Penulis terdaftar menjadi penerima beasiswa PPA periode 2017-2018 dan 2019-2020.

Bismillahirrahmanirrahim
Ku persembahkan karya sederhana ku
ini kepada kedua orangtuaku, adik-
adikku dan seluruh keluarga yang
senantiasa mendoakanku dan menjadi
sumber semangat sampai saat ini...

**“My Suffering became easier
Because my Allah SWT
promised me ease
Not once But twice”**

(Al Insyirah : 5-6)

SANWACANA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT yang Maha Pengasih, Maha Penyayang, Maha Kuasa, pemilik seluruh alam beserta isinya, yang memberikan segala nikmat dan karunia-Nya selama penyusunan skripsi ini sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Pemberian Injeksi Intramuskular Sel Punca Mesenkimal Tali Pusat Manusia Terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur *Sprague dawley* Yang Diinduksi Aspirin”.

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

1. Prof. Dr. Karomani, M. Si., selaku Rektor Universitas Lampung.
2. Dr. Dyah Wulan Sumezar 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 memberikan masukan serta bimbingan, dan motivasi yang sangat berharga bagi penulis, terima kasih atas waktu dan pelajaran yang sudah diberikan.

4. dr. Utari Gita Mutiara, S.Ked., selaku Pembimbing II yang selalu memberikan saran dan bimbingan kepada penulis, serta senantiasa memberikan motivasi serta perhatian kepada penulis.
5. Dr. dr. Betta Kurniawan, S.Ked., M.Kes selaku penguji utama yang telah memberikan saran, ilmu, serta bimbingan kepada penulis.
6. dr. Rasmi Zakiah Oktarlina, S.Ked., M.Farm., selaku Pembimbing Akademik yang senantiasa memberikan bimbingan, motivasi dan masukkan selama proses perkuliahan.
7. Seluruh dosen, staff, dan karyawan Fakultas kedokteran Universitas Lampung atas ilmu, waktu, bantuan yang telah diberikan selama proses perkuliahan sampai penyusunan skripsi.
8. Mba Yani dan Ibu Nuriyah yang sudah banyak membantu penulis serta memberikan banyak pengetahuan dalam proses pembuatan ekstrak sel punca mesenkimal tali pusat manusia.
9. Prof. Dr. dr. Muhartono, S.Ked.,Sp.PA dan Mas Bayu yang telah membantu penulis dalam proses pembuatan dan pembacaan preparat.
10. Untuk kedua orangtua penulis, Papi (Ir. Irzaidir) dan Mami (Teti Nurhayati, S.Kep) yang sudah membesarkan penulis dan selalu berusaha untuk memenuhi segala kebutuhan penulis serta selalu mendoakan yang terbaik untuk penulis.
11. Ketiga adik penulis, Cahaya Mutiara Bangsawan, Muhammad Raja Bangsawan dan Cahaya Zahra Bangsawan yang senantiasa mendoakan dan memberikan dukungan untuk penulis

12. Sahabat seperjuangan yang senantiasa menemani penulis di hari – hari sulit dan bahagia selama ini di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung, Adilla Dwi Nur Yadika, Ismalia Qanit, Regina Pingkan, Rezita Rahma Reza dan Melia Megawati.
13. Sahabat – sahabat penulis yang tidak lekang oleh waktu dan jarak, Wiranty Prayoga Ningmandira dan Aliffira Sekarningrum.
14. Sahabat – sahabat belajarku “Ambiz”, Ulfa, Ellyta, Vira, Tiara, Agung, Efrans, Abi, Reqza, Bustami, Reza, Rony, Akhlish, dan Asyraf yang selalu memberikan motivasi dan bantuan kepada penulis.
15. Teman – teman penelitianku, Ihsan Anas, Asyraf dan Kak Anggun. Terima kasih atas segala bantuan, semangat, dan kerjasamanya.
16. Teman – teman KKN Desa Atar Bawang Periode I tahun 2019, Masnia, Nungky, Daimah, Bang Rio, Bli Wayan dan Bang Egy yang sudah banyak membantu penulis dan senantiasa memberikan semangat.
17. Terima kasih kepada Ibu R selaku pendonor tali pusat dan Bidan Puskesmas Karang Anyar yang telah membantu dan mengizinkan untuk mendapatkan donor tali pusat.
18. Teman-teman angkatan 2016 (TR16EMINUS) yang tidak dapat disebutkan satu persatu, terimakasih atas bantuan dan dukungan selama proses perkuliahan.

Semoga Allah SWT senantiasa memberikan rahmat dan balasan yang berlipat atas segala bantuan dan kebaikan yang telah diberikan kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini. Aamiin Yaa Robbal 'Aalamiin.

Bandar Lampung, Desember 2019

Penulis

Cahaya Carla Bangsawan

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.....	5
1.3. Tujuan Penelitian	5
1.4. Manfaat Penelitian	6
1.4.1. Manfaat Teoritis	6
1.4.2. Manfaat Praktik	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	8
2.1. Aspirin.....	8
2.1.1. Mekanisme Kerja	8
2.1.2. Farmakodinamik.....	9
2.1.3. Farmakokinetik.....	9
2.1.4. Efek Samping	11
2.2. Ginjal.....	12
2.2.1. Anatomi Ginjal	12
2.2.2. Histologi Ginjal	14
2.2.3. Fisiologi Ginjal.....	18
2.2.4. Pengaruh Aspirin terhadap Ginjal	20
2.3. Sel Punca Mesenkimal	25
2.4. Tikus Putih (Rattus norvegicus) Galur Sprague Dawley	38
2.5. Kerangka Teori	42
2.6. Kerangka Konsep.....	43
2.7. Hipotesis	43

BAB III METODE PENELITIAN	44
3.1. Rancangan Penelitian	44
3.2. Tempat dan Waktu Penelitian	44
3.3. Subjek Penelitian.....	45
3.3.1. Populasi Penelitian	45
3.3.2. Sampel Penelitian.....	45
3.4. Identifikasi Variabel Penelitian	48
3.4.1. Variabel Bebas	48
3.4.2. Variabel Terikat.....	49
3.5. Definisi Operasional.....	49
3.6. Alat dan Bahan Penelitian.....	50
3.6.1. Alat Penelitian	50
3.6.2. Bahan Penelitian.....	51
3.7. Prosedur Penelitian.....	52
3.7.3. Tahap Persiapan	52
3.7.2. Tahap Pengujian	55
3.7.3. Tahap Pasca Penelitian	57
3.8. Alur Penelitian.....	64
3.9. Pengolahan dan Analisis Data.....	65
3.10. Etika Penelitian.....	65
 BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	 67
4.1. Gambaran Umum Penelitian	67
4.1.1. Gambaran Histopatologi Ginjal.....	67
4.1.2. Analisis Histopatologi Ginjal	71
4.2. Pembahasan.....	78
4.3. Keterbatasan Penelitian.....	85
 BAB V SIMPULAN DAN SARAN	 86
5.1. Simpulan	86
5.2. Saran.....	86
 DAFTAR PUSTAKA	 87
 LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Definisi Operasional.....	49
Tabel 3. Skoring kerusakan ginjal	72
Tabel 4. Total dan Rerata Kerusakan Ginjal	74
Tabel 5. Uji Normalitas Shapiro-Wilk	76
Tabel 6. Hasil analisis uji Mann Whitney	78

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Ginjal kanan dan kiri	13
Gambar 2. Korpuskulum renalis	16
Gambar 3. Gambaran histologi tubulus renal dan duktus kolektivus.....	17
Gambar 4. Hubungan struktur nefron	19
Gambar 5. Gambaran histopatologi ginjal.....	23
Gambar 6. Sifat/karakter sel punca.....	29
Gambar 7. Sel punca totipotent dan pluripotent	30
Gambar 8. Multipotent dan unipotent stem cells pada sumsum tulang.....	32
Gambar 9. Tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>) Galur <i>Sprague dawley</i>	39
Gambar 10. Kerangka Teori	42
Gambar 11. Kerangka konsep	43
Gambar 12. Alur penelitian	64
Gambar 13. Gambaran histopatologi kelompok kontrol (KK).....	69
Gambar 14. Gambaran histopatologi ginjal kelompok perlakuan 1 (P1)	70
Gambar 15. Gambaran histopatologi ginjal kelompok perlakuan 2 (P2)	71
Gambar 17. Grafik rata - rata skor kerusakan ginjal	75

BAB I

PENDAHULUAN

1.1.Latar Belakang

Obat anti-inflamasi non-steroid (OAINS) merupakan salah satu obat yang mudah didapatkan karena terjual bebas di masyarakat dan sering diresepkan oleh dokter. Di negara selain Indonesia, seperti Amerika Serikat dan Eropa Barat, peresepan OAINS mencapai hingga 4%-7%, namun untuk data penggunaan OAINS di Indonesia sendiri belum didapatkan (*Zahra et al., 2017*).

Obat anti-inflamasi non-steroid (OAINS) merupakan jenis obat yang memiliki efek analgesik, antipiretik, dan pada dosis yang lebih tinggi dapat berefek anti-inflamasi. Pada penyakit arthritis, OAINS merupakan salah satu obat yang sering digunakan untuk mengatasi proses inflamasi dan menghilangkan rasa nyeri (*Lanza et al., 2009*).

Berdasarkan Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) di seluruh Indonesia, OAINS disimpan oleh 20.516 rumah tangga atau sekitar 19,8% dari seluruh rumah tangga yang menyimpan obat - obatan. Pada data penggunaan obat AINS di Indonesia berdasarkan Riskesdas tahun 2013 di

seluruh provinsi di Indonesia menyatakan bahwa provinsi tertinggi dalam penggunaan obat anti-inflamasi non-steroid adalah Jawa Timur (Kemenkes, 2013). Salah satu faktor yang menimbulkan kejadian ini ialah kurangnya pengetahuan masyarakat tentang penggunaan obat yang benar sehingga munculah peningkatan terhadap penggunaan obat - obatan secara bebas di kalangan masyarakat (Soleha *et al.*, 2018).

Jenis OAINS yang sering digunakan ialah dari golongan salisilat yang memiliki banyak bentuk sediaan. Aspirin merupakan salah satu obat golongan salisilat yang paling banyak diresepkan dan dijadikan sebagai standar evaluasi pemantauan anti-inflamasi lainnya (Miladiyah, 2012).

Aspirin dapat bekerja secara langsung untuk menghambat proses biosintesis dari prostaglandin melalui inhibisi kerja enzim siklooksigenase (COX). Seperti yang kita tahu bahwa enzim COX dan prostaglandin juga ikut berperan dalam menjaga fungsi berbagai organ seperti saluran cerna, ginjal, serta trombosit (Wilmana *et al.*, 2007). Berdasarkan mekanisme tersebut, penggunaan aspirin menimbulkan beberapa komplikasi seperti hipertensi, edema, pendarahan gastrointestinal, dan gangguan fungsi ginjal (Landefeld *et al.*, 2016; Lovell dan Ernst, 2017). Berdasarkan data yang diperoleh, 16% dari semua gagal ginjal yang terkait obat, aspirin diketahui dapat menjadi salah satu faktor terjadinya cedera ginjal akut melalui berbagai mekanisme (Ingrasciotta *et al.*, 2015).

Cedera ginjal yang terjadi dapat berupa perubahan fungsional maupun perubahan anatomic. Perubahan fungsional dapat berupa keadaan hemodinamik yang terganggu, misalnya penurunan volume sirkulasi, penurunan volume intravaskular, serta gangguan keseimbangan asam basa pada tubuh (Miladiyah, 2012). Selain itu, perubahan anatomic yang terjadi bisa berupa nefritis interstitial akut dengan hematuria, proteinuria dan nyeri panggul serta nekrosis tubular akut yang akan menyebabkan gagal ginjal yang sifatnya reversibel (Ingrasciotta *et al.*, 2015).

Pada dewasa ini, cedera ginjal akut yang sebelumnya dikenal dengan gagal ginjal akut memiliki peningkatan morbiditas dan mortalitas serta dikaitkan dengan peningkatan risiko terjadinya gagal ginjal kronis. Terapi obat pada cedera ginjal memiliki tingkat keberhasilan dan kesinambungan yang terbatas di bidang klinis, sehingga hal ini lah yang menjadikan terapi kuratif dan preventif dengan sel punca mesenkimal dapat dijadikan pilihan (Barnes *et al.*, 2016).

Sel punca merupakan sel yang dapat berproliferasi, berpotensi self-renewal, yang kemudian berdiferensiasi menjadi satu atau lebih jenis sel khusus sebagai respons terhadap stimuli sinyal yang sesuai (Djauhari, 2010). Manfaat sel punca bagi manusia untuk masa mendatang sangat menjanjikan karena dapat menyembuhkan berbagai penyakit serta dapat memulihkan kesehatan. Perlakuan dengan sel punca dapat dibagi menjadi

dua hal yaitu dengan terapi gen dan transplantasi (Kurniawaty *et al.*, 2018).

Tali pusat menjadi sumber sel punca yang penting, baik itu *haematopoietic stem cells* ataupun *mesenchymal stem cells* (Padeta., 2017). *Haematopoietic stem cells* mempunyai kemampuan multipoten dan kemampuan proliferasinya lebih baik dari sel punca dewasa asal sumsum tulang. Selain itu *haematopoietic stem cells* mempunyai sifat immunogenisitas yang lebih rendah, sehingga untuk transplantasi tidak memerlukan 100% ketepatan HLA (*human leucocyte antigen*) dan isolasinya tidak membutuhkan prosedur yang invasif karena jaringan ekstraembrional adalah jaringan buangan (Yuliana dan Suryani, 2012).

Sebagian besar dari penelitian memberikan bukti bahwa pemberian sistemik secara intravaskular *mesenchymal stem cell* dapat membantu menjaga fungsi ginjal dalam menghadapi kerusakan akut, seperti cedera akibat iskemik, obstruksi, dan juga dapat membantu mengurangi cedera tubular dan fibrosis. Dengan demikian, data yang tersedia menunjukkan bahwa *mesenchymal stem cell* yang diberikan secara sistemik dapat membantu meningkatkan atau menstabilkan fungsi ginjal pada cedera ginjal akut dengan berbagai mekanisme (Quimby, 2018). Namun pada penelitian yang dilakukan oleh Braid *et al* (2018), didapatkan bahwa pemberian ekstravaskular berupa injeksi intramuskular dari sel punca mesenkimal tali pusat manusia memiliki *dwell time* atau waktu tinggal yang cukup panjang di berbagai organ seperti ginjal, hepar, dan gaster.

Berdasarkan penelitian tersebut injeksi intramuskular diharapkan menghadirkan alternatif yang bermanfaat untuk mencapai manfaat klinis. Berdasarkan penjelasan di atas, penelitian lebih lanjut untuk mempelajari potensi injeksi intramuskular tali pusat sebagai terapi sel punca adalah suatu hal yang menarik untuk dilakukan dan memiliki manfaat yang besar. Sebelumnya belum pernah dilakukan penelitian terapi injeksi intramuskular sel punca mesenkimal tali pusat manusia terhadap gambaran histopatologi ginjal yang diinduksi aspirin. Oleh karena itu, peneliti sangat tertarik untuk mempelajari tentang manfaat tali pusat manusia sebagai terapi sel punca. Penelitian ini bermaksud untuk mempelajari pengaruh injeksi intramuskular sel punca mesenkimal tali pusat manusia terhadap histopatologi ginjal tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi aspirin.

1.2.Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian dan latar belakang masalah, rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

“Apakah terdapat pengaruh injeksi intramuskular sel punca mesenkimal tali pusat manusia terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* ?”

1.3.Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh injeksi intramuskular sel punca mesenkimal tali pusat manusia terhadap gambaran

histopatologi ginjal tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley*.

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat Teoritis

Penelitian ini diharapkan bermanfaat sebagai informasi tambahan untuk mengembangkan dan memperkaya keilmuan pada bidang biomolekuler, histopatologi dan farmakologi tentang pengaruh pemberian injeksi intramuskular sel punca mesenkimal tali pusat manusia terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus putih yang diinduksi aspirin.

1.4.2. Manfaat Praktik

1.4.2.1. Manfaat Bagi Penulis

Manfaat penelitian ini bagi peneliti yaitu untuk mendapatkan pengetahuan tentang *stem cell* atau sel punca mesenkimal, terutama mengenai pengaruh injeksi intramuskular sel punca mesenkimal tali pusat manusia terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley*.

1.4.2.2. Manfaat bagi Peneliti Lain

Penelitian ini dapat menjadi dasar dan referensi untuk penelitian *stem cell* atau sel punca mesenkimal khususnya pada penelitian mengenai pengaruh injeksi intramuskular sel punca mesenkimal tali pusat manusia

terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley*.

1.4.2.3. Manfaat bagi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung
Bagi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung, penelitian mengenai sel punca mesenkimal tali pusat manusia merupakan hal baru yang perlu dikembangkan lagi bagi para mahasiswa di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

1.4.2.4. Manfaat bagi Instansi Kesehatan
Hasil penelitian ini dapat bermanfaat sebagai data tambahan informasi serta data bagi pengembangan terapi dengan menggunakan sel punca mesenkimal tali pusat manusia.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Aspirin

Obat anti-inflamasi nonsteroid (AINS) merupakan suatu kelompok obat yang heterogen, secara kimia. Obat AINS secara umum dibagi menjadi dua, yaitu asam karboksilat dan asam enolat. Asam karboksilat dibagi menjadi asam asetat, derivat asam salisilat, derivat asam propionat, serta derivat asam fenamat. Untuk asam enolat dibagi menjadi derivat pirazolon dan derivat oksikam. Aspirin atau asam asetil salisilat atau yang biasa dikenal dengan asetosal adalah analgesik, antipiretik, dan anti-inflamasi yang sangat luas digunakan dan digolongkan dalam obat bebas yang masuk kedalam derivat asam salisilat (Wilmana *et al*, 2007).

2.1.1. Mekanisme Kerja

Secara umum, mekanisme kerja obat golongan ini berhubungan dengan biosintesis prostaglandin. Berdasarkan penelitian terdahulu telah memperlihatkan secara *in vitro* bahwa dosis rendah aspirin dan indometasin menghambat produksi enzimatik prostaglandin. Selain itu diketahui bahwa aspirin juga menghambat berbagai

reaksi biokimia lainnya yang berhubungan dengan efek analgesik, antipiretik dan anti inflamasi (Wilmana *et al*, 2007).

Golongan obat ini akan menghambat enzim siklooksigenase (COX) sehingga konversi asam arakidonat menjadi prostaglandin G₂ (PGG₂) terganggu. Enzim siklooksigenase ini terdapat dalam 2 isoform yaitu COX-1 dan COX-2. Aspirin 166 kali lebih kuat menghambat COX-1 dibanding COX-2. Secara umum, COX-1 berfungsi dalam pemeliharaan berbagai fungsi dalam kondisi normal di berbagai jaringan, khususnya ginjal, saluran cerna dan trombosit (Wilmana *et al*, 2007).

2.1.2. Farmakodinamik

Aspirin atau asetosal dosis terapi dapat bekerja cepat dan efektif sebagai antipiretik. Dosis toksik obat ini justru memberikan efek piretik yang menimbulkan gejala demam dan hiperhidrosis pada keracunan berat. Untuk memperoleh efek anti-inflamasi yang baik, kadar plasma perlu dipertahankan antara 250 – 300 mikrogram/mL. Kadar ini akan tercapai dengan dosis aspirin oral 4 gram per hari untuk orang dewasa (Wilmana *et al*, 2007).

2.1.3. Farmakokinetik

Pada pemberian secara oral, sebagian salisilat diabsorbsi dengan cepat dalam bentuk utuh di lambung, tetapi sebagian besar di usus

halus bagian atas. Kadar puncak asam salisilat dalam plasma tercapai dalam 1 – 2 jam. Absorbsi pada pemberian secara rektal lebih lambat dan tidak sempurna. Kecepatan absorbsi dipengaruhi oleh kecepatan disintegrasi dan disolusi, pH permukaan mukosa dan waktu pengosongan lambung (Wilmana *et al*, 2007 ; Miladiyah, 2012).

Setelah mengalami proses absorbsi, aspirin akan didistribusikan ke seluruh jaringan tubuh dan cairan transeluler seperti cairan synovial, cairan peritoneal, cairan spinal, liur dan air susu. Aspirin atau golongan salisilat mudah menembus sawar darah otak serta sawar plasenta. Saat pemberian dosis rendah (konsentrasi dalam plasma < 10 mg/ dL), 90% salisilat dapat diikat oleh albumin, sedangkan pada pemberian dosis yang lebih tinggi (> 40 mg/dl), hanya 75% salisilat yang dapat diikat oleh albumin (Wilmana *et al*, 2007 ; Miladiyah, 2012).

Aspirin akan dihidrolisi menjadi asam salisilat di dalam sistem pencernaan dan sirkulasi darah dimana waktu paruh aspirin mencapai 15 menit. Waktu paruh asam salisilat didalam plasma berbanding lurus dengan jumlah dosis yang diberikan. Oleh karena itu, semakin tinggi dosis aspirin yang diberikan akan semakin lama pula waktu paruhnya di plasma. Semakin tinggi waktu paruh pada plasma akan meningkatkan risiko timbulnya efek samping. Karena

aspirin akan segera terhidrolisis menjadi salisilat, maka dalam kejadian intoksikasi yang berperan adalah bentuk salisilat tersebut. Sekitar 80% aspirin akan dimetabolisme di hepar dan terkonjugasi oleh glisin membentuk asam salisil urat, dan akan membentuk asam salisil glukoronat serta salisil fenolat glukoronat apabila terkonjugasi oleh asam glukoronat (Miladiyah, 2012).

Salisilat dieksresi dalam bentuk metabolitnya terutama melalui ginjal dan sebagian kecil melalui keringat dan empedu. Ekskresi salisilat dalam bentuk urine dipengaruhi oleh filtrasi glomerulus dan sekresi aktif tubulus. Ekskresi salisilat dalam urin adalah dalam bentuk asam salisilat bebas (10%), asam salisilurat (75%), fenolat salisilat (10%), asilglukoronat (5%), dan asam gentisat (1%) (Roy, 2007 ; Miladiyah, 2012).

2.1.4. Efek Samping

Sebagian besar obat jenis ini bersifat asam sehingga akan lebih banyak terkumpul dalam sel yang bersifat asam seperti lambung, ginjal, dan jaringan inflamasi. Hal ini menyebabkan efek obat maupun efek samping dari obat ini akan lebih terlihat di tempat dengan kadar yang lebih tinggi. Efek samping yang sering dijumpai yaitu perdarahan pada mukosa lambung yang menyebabkan tukak peptik atau tukak lambung disertai anemia sekunder (Wilmana *et al*, 2007).

Efek samping lain juga dapat ditemukan berupa penghambatan biosintesis tromboksan A₂ (TXA₂) yang menyebabkan perpanjangan waktu perdarahan. Dalam terapi dosis tinggi, salisilat juga menyebabkan peningkatan konsumsi oksigen dan produksi CO₂ terutama di otot rangka karena pengaruh fosforilasi oksidatif, sedangkan di ginjal obat ini menyebabkan terganggunya biosintesis prostaglandin, khususnya PGE₂, yang mengakibatkan terganggunya homeostasis ginjal (Wilmana *et al*, 2007).

2.2. Ginjal

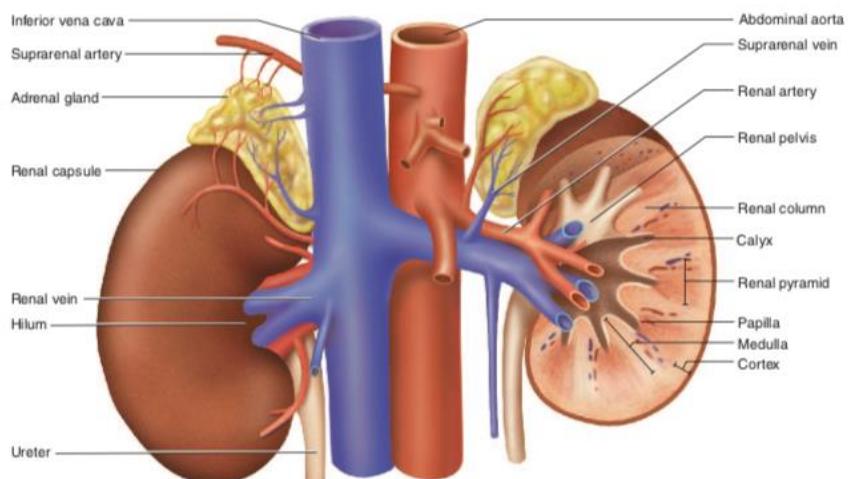
2.2.1. Anatomi Ginjal

Ginjal adalah organ berbentuk kacang yang berwarna coklat kemerahan dengan permukaan halus. Panjangnya sekitar 12 cm, lebar 6 cm, dan tebal 3 cm (Shier *et al.*, 2013). Ren (ginjal) terletak retroperitoneal pada dinding abdomen posterior, satu pada setiap sisi columna vertebralis setinggi vertebra T12-L3. (Moore dan Dalley, 20013). Ginjal kiri biasanya terletak 1,5 – 2 cm lebih tinggi dari yang kanan dikarenakan adanya lobus hepatis dekstra (Shier *et al.*, 2013).

Terdapat tiga lapisan jaringan yang mengelilingi masing-masing ginjal. Lapisan dalam yaitu kapsul ginjal yang berfungsi sebagai penghalang terhadap trauma dan membantu menjaga bentuk ginjal. Lapisan tengah yaitu kapsul adiposa dan lapisan yang paling luar

yaitu renal fascia yang merupakan lapisan tipis berupa jaringan konektif padat penghubung ginjal ke struktur di sekitarnya dan ke dinding perut (Tortora dan Derrickson, 2016).

Pada batas medial konkaf setiap ginjal terdapat celah berbentuk vertikal yang disebut hilum renale, di mana arteria renalis masuk dan vena renalis serta pelvis renalis keluar dari sinus renalis. Hilum renale merupakan jalan masuk menuju celah berlubang yang disebut sinus renalis (Moore dan Dalley, 2013). Ujung superior ureter melebar dan membentuk kantung berbentuk corong yang disebut renal pelvis yang terletak di dalam sinus ginjal. Renal pelvis dibagi lagi menjadi dua atau tiga tabung, yang disebut calices renales majores. Calices renales majores dibagi menjadi 8-14 calices renales minores (Shier *et al.*, 2013).



Gambar 1. Ginjal kanan dan kiri (Shier *et al.*, 2013)

Arteri ginjal, yang timbul dari aorta abdominalis, memasok darah ke ginjal. Arteri ginjal memasuki ginjal melalui hilus dan mengeluarkan beberapa cabang, yang disebut arteri interlobar, yang lewat di antara piramid ginjal. Pada persimpangan antara medula dan korteks, cabang arteri interlobar membentuk serangkaian lengkung yang tidak lengkap, arteri arcuata yang akan bercabang menjadi arteri interlobular. Cabang-cabang terakhir dari arteri introbular yaitu arteriol aferen glomerulus yang akan menuju ke nefron (Shier *et al.*, 2013). Untuk aliran darah balik ginjal akan dialirkan melalui vena renalis yang nantinya akan bermuara di vena kava inferior (Snell, 2012).

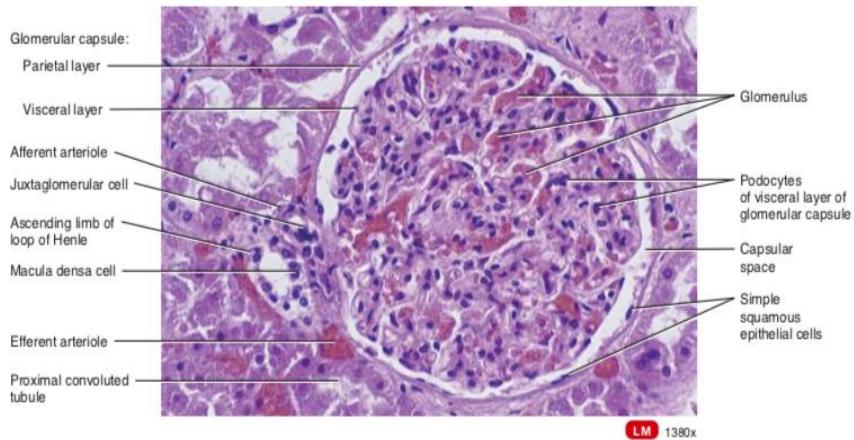
2.2.2. Histologi Ginjal

Setiap ginjal dilapisi oleh kapsul jaringan ikat padat yang tidak teratur. Potongan sagital ginjal menunjukkan adanya korteks dibagian luar yang berwarna lebih gelap, medula yang berada di bagian dalam berwarna lebih terang, dan terdiri dari banyak bangunan berbentuk kerucut yang disebut piramid ginjal (pyramides renales). Basis dari tiap piramid menghadap kearah korteks dan membentuk batas kortikomedularis, sedangkan bagian apeks akan meluas ke arah pelvis renalis untuk membentuk papilla renalis. Sebagian korteks renal juga akan meluas ke masing – masing sisi piramid ginjal dan membentuk columnae renales.

Masing – masing papilla renalis dikelilingi oleh calyx minor yang berfungsi mengumpulkan urine dari papilla. Calyx minor akan bergabung membentuk calyx major di sinus renalis yang kemudian akan bergabung membentuk pelvis renalis (Eroschenko, 2010).

Unit fungsional dari ginjal adalah tubulus uriniferus mikroskopik. Tubulus ini terdiri dari nefron dan duktus koligens. Nefron akan terbagi menjadi komponen korpuskulum ginjal dan tubulus renalis. Korpuskulum ginjal merupakan segmen awal dari nefron yang berisi kapiler – kapiler yang disebut glomerulus. Glomerulus dikelilingi oleh dua lapis sel epitel yaitu kapsul glomerulus atau kapsul Bowman (Eroschenko, 2010). Kapsul glomerulus terdiri dari lapisan parietal dan visceral. Lapisan visceral terdiri dari sel epitel khusus bercabang yang disebut podosit, sedangkan untuk lapisan parietal tersusun dari epitel selapis gepeng (Tortora dan Derrickson, 2016).

Proses filtrasi di korpuskulum ginjal dilakukan oleh endotel glomerulus. Endotel kapiler yang terdapat di glomerulus memiliki permukaan yang berpori (berfenestra) dan bersifat permeable terhadap banyak substansi darah kecuali yang terbentuk dari protein plasma (Eroschenko, 2010).



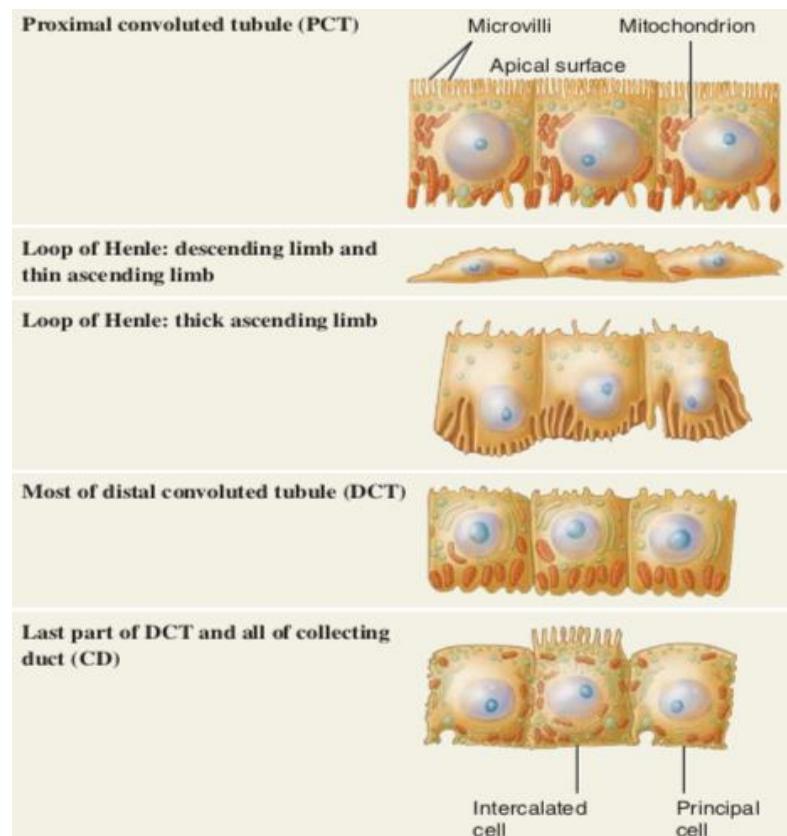
Gambar 2. Korpuskulum renalis (Tortora dan Derrickson, 2016)

Setelah melewati proses filtrasi, filtrat glomerulus akan keluar dari korpuskulum ginjal dan menuju tubulus renal dan duktus kolektivus. Bagian tubulus ginjal yang berawal di korpuskulum ginjal sangat berkelok atau melengkung yang disebut tubulus kontortus proksimal (tubulus proximal pars convoluta). Tubulus kontortus proksimal selanjutnya turun ke dalam medula untuk menjadi ansa henle. Bagian asendens ansa henle yang tebal disebut tubulus kontortus distal (tubulus distal pars convoluta). Tubulus kontortus distal lebih pendek dan tidak begitu berkelok dibandingkan tubulus kontortus proksimal, dan kemudian tubulus ini naik ke dalam korteks ginjal. (Eroschenko, 2010).

Pada tubulus kontortus proksimal dilapisi oleh sel epitel kuboid selapis dengan brush border berupa mikrovili. Pada bagian desendens ansa henle dilapisi oleh sel epitel skuamosa selapis, sedangkan untuk bagian asendens dilapisi oleh epitel selapis kuboid hingga epitel kolumnar sederhana. Tubulus kontortus distal

sendiri dilapisi oleh sel epitel kuboid selapis (Tortora dan Derrickson , 2016).

Setelah hasil filtrasi melewati tubulus kontortus distal, filtrat glomerulus kemudian mengalir ke tubulus koligens. Sejumlah tubulus koligens pendek bergabung membentuk beberapa duktus koligens yang lebih besar. Pada bagian ini dilapisi oleh epitel kuboid selapis yang terdiri dari sel prinsipal dan sel interkalasi (Eroschenko, 2010; Tortora dan Derrickson, 2016).



Gambar 3. Gambaran histologi tubulus renal dan duktus kolektivus (Tortora dan Derrickson, 2016)

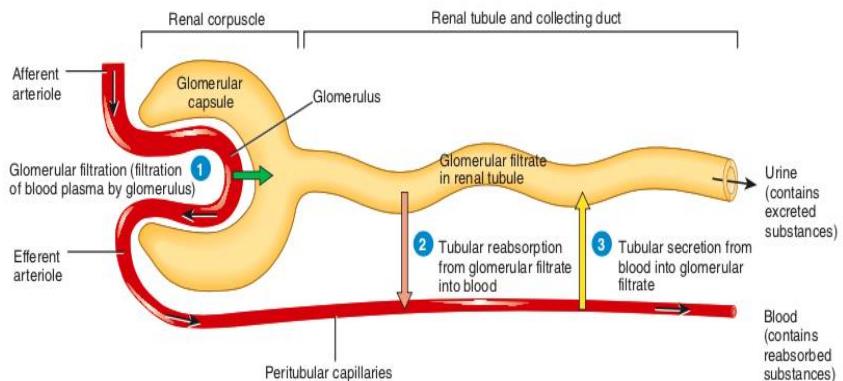
2.2.3. Fisiologi Ginjal

Ginjal merupakan organ yang memiliki peran utama dalam mempertahankan stabilitas volume, komposisi elektrolit, dan osmolaritas CES. Ketika CES mengalami kelebihan air atau elektrolit tertentu misalnya garam, ginjal dapat mengeluarkan kelebihan zat tersebut melalui urine. Selain memiliki peran regulatorik tersebut, ginjal juga merupakan rute utama untuk mengeluarkan bahan – bahan sisa metabolismik yang berpotensi toksik serta senyawa asing dari tubuh. Bahan – bahan tersebut harus dikeluarkan dalam bentuk larutan sehingga ginjal wajib menghasilkan paling sedikit 500 ml urine berisi bahan sisa setiap harinya (Sherwood, 2014).

Menurut Tortora dan Derrickson (2016), fungsi lain ginjal selain untuk eksresi zat – zat sisa ialah sebagai tempat penyimpanan juga. Selain itu, ada beberapa fungsi lain dari ginjal, diantaranya :

- a. Pengaturan komposisi ion darah, seperti ion sodium (Na^+), ion potassium (K^+), ion kalsium (Ca^{2+}), ion klorida (Cl^-), dan ion fosfat (HPO_4^{2-}).
- b. Regulasi pH darah dengan cara mengeksresikan ion H^+ dan menyerap ion karbonat (HCO_3^-)
- c. Pengaturan volume darah melalui eksresi urine atau dengan menyerap cairan

- d. Pemeliharaan osmolaritas darah melalui regulasi keseimbangan H_2O
- e. Memproduksi hormon seperti calcitrol dan eritropoietin
- f. Regulasi kadar glukosa darah
- g. Ekskresi zat sisa dan zat asing



Gambar 4. Hubungan struktur nefron terhadap 3 fungsi dasarnya (Tortora dan Derrickson, 2016)

Untuk memproduksi urine, nefron dan duktus kolektivus memiliki 3 fungsi dasar yaitu filtrasi glomerulus, reabsorpsi tubular, dan sekresi tubular. Pada proses filtrasi glomerulus, plasma bebas-protein tersaring melalui kapiler glomerulus ke dalam kapsula Bowman. Pada keadaan normal, 20% plasma yang masuk akan tersaring di glomerulus. Cairan yang difiltrasi dari glomerulus ke dalam kapsula Bowman harus melewati membrane glomerulus yang terdiri dari dinding kapiler glomerulus, membran basal, serta lapisan dalam kapsula Bowman (Tortora dan Derrickson, 2016 ; Sherwood, 2014).

Setelah meninggalkan kapsula Bowman, filtrat glomerulus akan memasuki tubulus renal untuk melewati proses reabsorbsi. Sewaktu filtrat melewati tubulus, bahan – bahan yang bermanfaat untuk tubuh akan dikembalikan ke plasma peritubulus yang kemudian akan menuju sistem vena dan dikembalikan ke jantung untuk diresirkulasi. Dari 180 liter plasma yang disaring per hari, 178,5 liter, secara rerata, direabsorbsi. Selanjutnya yaitu memasuki proses sekresi tubulus. Pada proses ini terjadi pemindahan selektif bahan – bahan dari kapiler peritubulus ke dalam lumen tubulus (Sherwood, 2014)

Setelah mengalami tiga proses di ginjal, selanjutnya urine akan di eksresikan. Semua konstituen plasma yang terfiltrasi atau telah disekresikan, tetapi tidak direabsorbsi akan tetap di tubulus dan dialirkan ke pelvis ginjal yang kemudian akan dieksresikan keluar tubuh. Dengan melalui proses ini, ginjal sudah membantu tubuh untuk melakukan homeostasis volume dan komposisi plasma (Sherwood, 2014 ; Tortora dan Derrickson, 2016).

2.2.4. Pengaruh Aspirin terhadap Ginjal

Pada awal tahun 1950, ilmuwan pertama kali menemukan adanya pengaruh penggunaan analgesik terhadap kejadian penyakit gagal ginjal baik akut maupun kronik. Gagal ginjal kronik paling banyak ditemukan pada individu yang menggunakan analgesik dalam

jangka waktu panjang dibandingkan mereka yang menggunakannya dalam waktu singkat. Obat – obatan yang dilaporkan dalam kejadian ini termasuk kedalam obat analgesik yang biasa digunakan seperti aspirin, paracetamol / asetaminofen, dan ibuprofen (Yaxley, 2017).

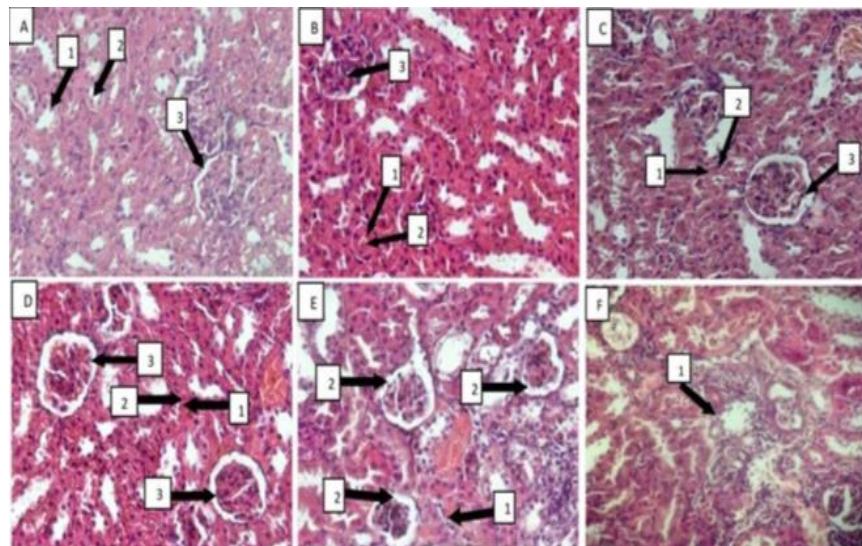
NSAID menyebabkan nefrotoksitas yang dapat muncul sebagai berbagai sindrom ginjal seperti cedera ginjal akut, sindrom nefritik, nefritis interstitial, dan gagal ginjal kronis. Hubungan umum antara berbagai sindrom ini adalah gangguan sintesis prostaglandin. Pada keadaan normal prostaglandin jarang mempengaruhi atau bahkan tidak mempengaruhi fisiologi fungsi ginjal, tetapi pada kondisi hemodinamik terganggu seperti gagal jantung, sirosis hati atau sudah ada gangguan fungsi ginjal yang sebelumnya penggunaan obat AINS atau aspirin harus hati-hati.

Prostaglandin (PG) termasuk dalam kelas eikosanoid yang berasal dari oksigenasi asam arakidonat oleh siklooksigenase (COX-1 dan COX-2). Prostaglandin pertama yang akan dibentuk adalah prostaglandin G₂ (PGG₂), kemudian PGH₂, dan diikuti oleh PGI₂, PGE₂, dan PGF₂. PGI₂ memiliki aksi vaskuler dominan dalam bentuk vasodilatasi ginjal. PGE₂ memiliki efek pada tubular ginjal dalam bentuk penghambatan reabsorpsi garam dan air, *ascending loop* dari ansa Henle dan tubulus kolektivus. Secara biologis,

pengaturan penurunan volume darah arteri yang efektif pada ginjal dipengaruhi oleh peningkatan sirkulasi angiotensin II (AII), *arginine vasopressin* (AVP), dan katekolamin. Prostaglandin berfungsi untuk mengimbangi efek dari hormon yang disebutkan di atas dengan menyebabkan vasodilatasi ginjal dan penghambatan reabsorpsi garam dan air. Jadi penghambatan sintesis PG oleh NSAID atau aspirin (*COX inhibitor*) mengarah pada aksi AII, AVP, dan katekolamin yang tidak diinginkan, sehingga menghasilkan peningkatan vasokonstriksi ginjal dan reabsorpsi garam dan air. Karena medula ginjal bergantung pada produksi PG untuk aliran darahnya, penghambatan sintesis PG oleh NSAID mengarah pada iskemia meduler dan nekrosis papilaris (Sampathkumar *et al*, 2016).

Mekanisme kerja aspirin yang juga dapat mengurangi aliran darah ginjal dan menyebabkan obstruksi tubulus melalui pengendapan kristal mampu menginduksi sitotoksitas langsung dan mekanisme cedera imun yang dimediasi sel yang mengarah pada kejadian cedera ginjal akut atau *acute kidney injury* (AKI) (Zhang *et al.*, 2017). Cedera ginjal akut (AKI) merupakan salah satu kondisi dengan pertumbuhan tercepat yang mempengaruhi ginjal dan merupakan faktor risiko hilangnya fungsi ginjal dan berujung pada penyakit kardiovaskular (Lipworth, 2016).

Kerusakan ginjal yang paling sering dan mudah diamati secara histopatologi adalah kerusakan glomerulus dan tubulus, sehingga kerusakan ginjal lebih mudah dinilai dari skor kerusakan glomerulus dan skor kerusakan tubulus. Skor kerusakan glomerulus yaitu 0=infiltrasi sel radang; 1=edema spantium Bowman; 3=nekrosis. Skor kerusakan tubulus ginjal 0= infiltrasi sel radang; 1=pembengkakan sel epitel tubulus; 3=nekrosis tubulus. Penilaian derajat kerusakan ginjal diambil dari kerusakan tertinggi kemudian dihitung dari total kerusakan glomerulus dan total kerusakan tubulus ginjal dengan skor kerusakan yaitu 0–6 (Muhartono *et al*, 2016).



Gambar 5. Gambaran histopatologi ginjal
(Muhartono *et al*, 2016)

Keterangan:

1. Inti sel epitel tubulus, 2. Lumen tubulus, 3. Spantium Bowman
1. Pembengkakan sitoplasma tubulus, 2. Inti sel tubulus pucat, 3. Glomerulus normal
1. Pembengkakan sitoplasma tubulus, 2. Inti sel tubulus pucat, 3. Edema spantium Bowman
1. Pembengkakan sitoplasma tubulus, 2. Inti sel tubulus pucat, 3. Edema spantium Bowman

- E. 1. Tubulus nekrosis, 2. Edema spantium Bowman
- F. 1. Infiltrat sel radang

Selain itu, penggunaan berlebihan obat AINS khusunya aspirin secara habitual bertahun – tahun dihubungkan dengan adanya kejadian nefropati analgesik. Nefropati analgesik merupakan bentuk insufisiensi ginjal kronis yang disebabkan oleh konsumsi rutin jangka panjang dari satu atau lebih obat analgesik. Etiopatogenesinya masih kontroversial dan agen-agen tertentu yang diketahui menyebabkan nefropati analgesik dan dosis kumulatif yang dibutuhkan pun belum ditetapkan (Yaxley, 2017). Nefropati analgesik ditandai oleh nekrosis papiler ginjal dan nefritis interstitial kronis. Cedera ginjal akibat analgesik terutama di medula ginjal. Burrell *et al* (1991) mempelajari perubahan histopatologis pada analgesik nefropati di *Fischer 344 rat models*. Perubahan paling awal terdiri dari penebalan kapiler vasa recta bersama dengan area menonjol berupa nekrosis tubular, yang menunjukkan bahwa sel-sel endotel vaskular terlibat terlebih dahulu. Hal ini diikuti oleh nekrosis papiler, nekrosis kortikal sekunder, peradangan interstitial, dan fibrosis (Sampathkumar, 2016). Pada banyak kasus, sejumlah besar perubahan inflamasi berupa peningkatan sitokin proinflamasi juga hadir sebagai bukti nekrosis papillaris (Keen dan Aeddula, 2019). Gangguan yang terjadi pada ginjal yang disebabkan oleh adanya hambatan

biosintesis prostaglandin ginjal (PGE₂) juga banyak berperan pada proses fisiologik ginjal (Ndagu *et al*, 2013).

Insidens kejadian ini cukup signifikan ditemukan pada wanita dibandingkan laki – laki dan dengan usia sekitar 30 sampai 70 tahun (Keen, 2019). Keracunan aspirin sering ditemukan pada individu yang menggunakan dosis tunggal yang berlebihan. Pada dosis 100 – 300 mg/kgBB dapat menimbulkan toksisitas sedang. Untuk toksisitas berat dapat terjadi pada dosis 300 – 500 mg/kgBB dan dosis lethal ditemukan apabila penggunaan aspirin >500 mg/kgBB (Van Heijst, 2006).

Prevalensi nefropati analgesik yang sebenarnya sulit diperkirakan karena diagnosis jarang dibuat oleh karena tidak adanya kriteria diagnostik objektif yang divalidasi. Hal ini seringkali menjadi diagnosis eksklusi pada pasien dengan gangguan ginjal yang menyatakan adanya riwayat penyalahgunaan analgesik tanpa adanya penyebab lain. Penderita sering menggambarkan riwayat nyeri kronis, biasanya sakit kepala atau nyeri punggung bawah (Yaxley, 2017).

2.3. Sel Punca Mesenkimal

Sesuai dengan kata – kata yang menyusunnya, stem cell merupakan awal mula dari pembentukan berbagai sel penyusun keseluruhan tubuh manusia.

Komisi Bioetika Nasional yang disetujui oleh Pusat Bahasa menetapkan stem cell diterjemahkan dalam bahasa Indonesia menjadi sel punca (punca = induk), sel induk, sel batang, sel primordial, sel tunas, atau sel dasar. Sel punca atau stem cell diusulkan pertama kali oleh histolog Russia, Alexander Maksimov, pada kongres hematologi Berlin. Pada pertemuan itu ia mengatakan bahwa adanya sel induk yang membentuk sel – sel darah. Teori ini diperkuat pada tahun 1978 dengan adanya penemuan sel – sel punca pada darah sumsum tulang belakang manusia yang mampu membentuk seluruh jenis sel darah pada tubuh manusia (Djauhari, 2010).

Makna yang terkandung dalam kata sel induk atau sel punca semakin diperkuat dengan ditemukannya keberadaan sel punca pada tahap embrio. Hal ini semakin menegaskan bahwa sel punca adalah sel yang menjadi awal mula terbentuknya sekitar 200 jenis sel yang menyusun tubuh (Danny dan Halim, 2010). Pada beberapa penelitian telah dibuktikan bahwa sel punca memiliki banyak manfaat untuk dunia kesehatan. Perlakuan dengan menggunakan sel punca dapat dibagi menjadi dua yaitu dengan terapi gen dan transplantasi. Proses terapi gen sel punca dilakukan dengan cara menyuntikkan sel punca ke jaringan yang rusak atau organ target dengan tujuan memperbaiki organ atau jaringan yang rusak, sedangkan transplantasi dilakukan dengan cara mendonorkan jaringan tubuh biologi manusia yang sudah dipastikan bebas dari penyakit menular (Kurniawaty *et al*, 2018).

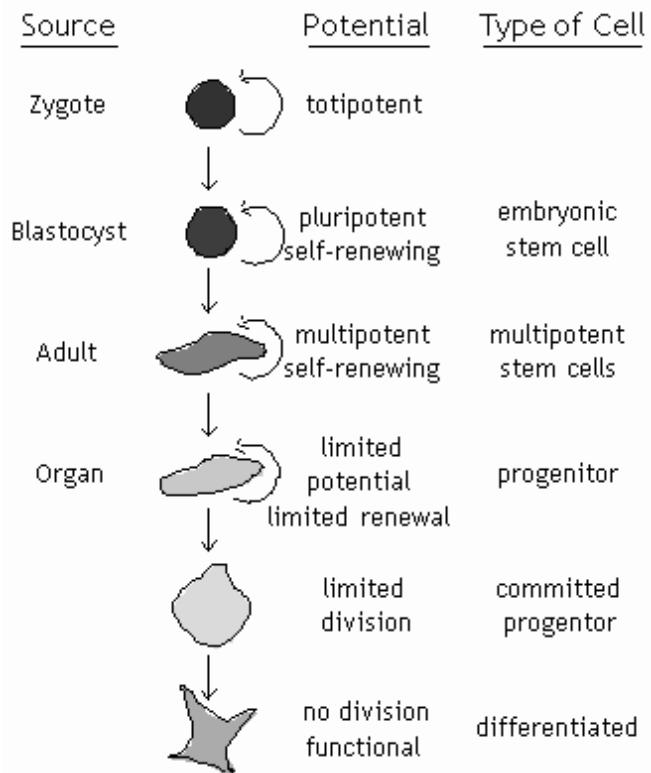
Menurut kemampuannya sel punca dapat diartikan sebagai sel yang belum berdiferensiasi sehingga memiliki kemampuan untuk tumbuh menjadi berbagai sifat sel tergantung dari lingkungan mikro (*niche*) di sekitarnya. Namun sel punca juga dapat memperbarui diri dengan pembelahan sel bahkan setelah tidak aktif dalam jangka waktu panjang (Imantika, 2014 ; Kurniawaty *et al*, 2018).

Sel punca dapat dibedakan menjadi 3 bagian besar berdasarkan tempat asalnya yaitu sel punca embrional, sel punca ekstraembrional, sel punca fetal dan sel punca dewasa. Sel punca embrional diambil dari *inner cell mass* yang merupakan kumpulan sel yang terletak di satu sisi *blastocyst* berumur 5 hari dan terdiri dari 100 sel. Sel diisolasi dari *inner cell mass* dan dikultur secara *in vitro* (Djauhari, 2010). Sel punca embrional memiliki sifat dasar yang terus menerus berkembang biak dalam media kultur optimal. Sel ini dapat diarahkan untuk membelah menjadi sel jantung, sel kulit, neuron, hepatosit, dan sebagainya. Sel punca fetal merupakan sel primitif yang dapat diperoleh dari berbagai organ dan jaringan fetus, misalnya otak yang diambil untuk menghasilkan sel punca neural, sumsum tulang untuk menghasilkan sel punca hematopoietik, serta jaringan bakal pancreas yang dapat menghasilkan progenitor sel β Langerhans (Yuliana dan Suryani, 2012 ; Djauhari, 2010).

Sel punca ekstraembrional sendiri dapat diperoleh dari plasenta, tali pusat (*Wharton's jelly*) dan darah segera dari bayi yang baru lahir. Sel punca

yang berasal dari darah tali pusat bayi yang baru lahir mengandung sel punca hematopoetik dengan kemampuan *multipotent* dan proliferasi yang lebih baik dari sel dewasa (Kurniawaty *et al*, 2018). Selain itu, sel punca yang didapatkan dari darah tali pusat memiliki imunogenisitas yang rendah. Hal ini menyebabkan tidak dibutuhkannya 100% ketepatan HLA (*Human Leukocytes antigen*) untuk proses transplantasinya. Isolasi sel punca juga tidak membutuhkan prosedur yang invasif oleh karena jaringan ini merupakan jaringan buangan sehingga tidak membahayakan ibu dan bayi (Kurniawaty, 2017 ; Yuliana dan Suryani, 2012).

Sel punca dewasa merupakan sel yang terdapat di semua organ tubuh, terutama di dalam sumsum tulang dan berfungsi untuk regenerasi jaringan – jaringan yang rusak. Sel punca dewasa memiliki sifat multipoten yang akan berdiferensiasi menjadi berbagai jenis sel. Sel punca dewasa ini mengacu pula pada berbagai sel tubuh yang bukan sel germinal serta biasa disebut sebagai sel punca somatik. Sel punca dewasa memiliki fungsi sebagai reparasi dan untuk memelihara jaringan tempat asal sel punca tersebut diambil. Semua jenis sel punca yang terpapar dengan kondisi tertentu yang sesuai akan berdiferensiasi menjadi 3 lapisan germinal dan juga primordial sel germinal (Setiawan, 2016; Yuliana dan Suryani, 2012 ; Imantika, 2014 ; Kurniawaty *et al*, 2018).

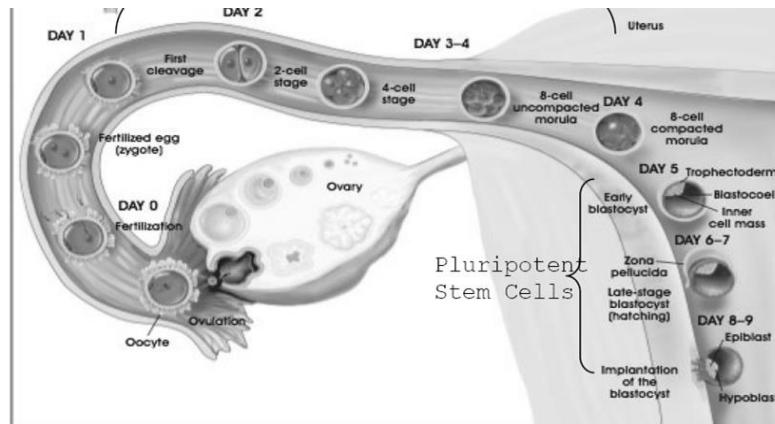


Gambar 6. Sifat/karakter sel punca yaitu *differentiate* dan *self regenerate/renew* (Jusuf, 2008)

Selain itu, terdapat juga beberapa terminologi yang biasa digunakan untuk menjelaskan karakteristik berbagai jenis sel punca berdasarkan potensi dan kemampuan berdeferasiannya, diantaranya yaitu sel punca totipoten, sel punca pluripoten, sel punca multipoten, sel punca unipoten, dan sel punca oligopoten (Kurniawaty, 2017).

Sel punca totipoten merupakan sel induk yang memiliki kemampuan untuk berdiferensiasi menjadi seluruh sel dan jaringan yang membangun embrio dan mendukung perkembangan fetus, misalnya zigot atau ovum yang dibuahi, yang mempunyai kemampuan untuk membentuk berbagai jenis sel termasuk sel-sel yang menyusun plasenta dan tali pusat. Karenanya sel punca kelompok ini mempunyai kemampuan untuk

membentuk satu individu yang utuh. Selanjutnya yaitu sel punca pluripotent yang memiliki potensi untuk berkembang menjadi sel yang berasal dari ketiga lapisan germinal (ektoderm, mesoderm, dan endoderm), misalnya sel punca embrionik. Sel punca pluripoten tidak dapat menjadi jaringan ekstraembrionik seperti plasenta dan tali pusat.

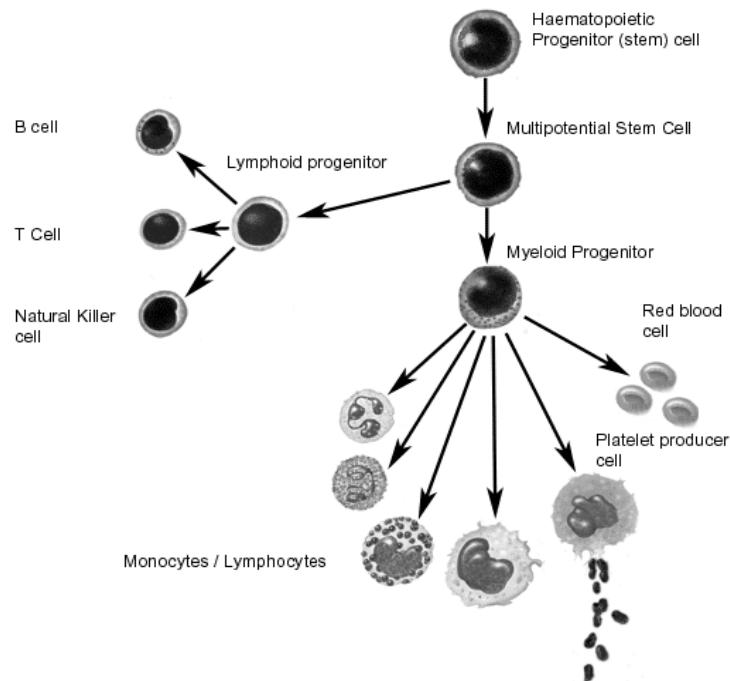


Gambar 7. Sel punca totipotent dan pluripotent (Jusuf, 2008)

Sel punca multipotent ialah sel yang memiliki kemampuan menghasilkan sejumlah sel spesifik yang berdiferensiasi sesuai tempatnya, misalnya sel punca somatik atau sel punca hemopoietik yang terdapat dalam sumsum tulang. Contoh lainnya yaitu sel punca saraf (*neural stem cells*) yang mempunyai kemampuan berdiferensiasi menjadi sel saraf dan sel glia. Jenis sel induk yang lainnya yaitu sel punca unipotent yang memiliki kemampuan berdiferensiasi menjadi satu jenis sel, seperti sel punca epidermal. Sel punca oligopoten merupakan sel yang mampu berdiferensiasi menjadi beberapa jenis sel, contohnya jaringan myeloid atau limfoid yang dapat menghasilkan lima jenis sel darah yaitu monosit,

makrofag, eosinofil, neutrofil dan eritrosit (Imantika, 2014 ; Jusuf, 2008 ; Kurniawaty *et al*, 2018).

Pengobatan berbagai penyakit tertentu masa kini, telah menjadikan sel punca mesenkimal sebagai salah satu *alternative* dengan berbagai alasan, diantaranya : (1) sel punca mesenkimal dapat menuju ke daerah peradangan yang rusak seperti luka atau nekrosis jaringan; (2) kemampuan imunosupresif; (3) kemampuan berdiferensiasi menjadi bentuk lain yang dimilikinya, seperti menjadi kartilago, tulang, lemak, dan sel lainnya dalam garis keturunan mesenkimal (Kurniawaty *et al*, 2017). Sel punca mesenkimal menjadi sumber penting untuk perbaikan dan regenerasi jaringan, seperti perbaikan jantung, meningkatkan hasil transplantasi sumsum tulang, mengobati penyakit degeneratif dan meregenerasi jaringan oleh karena kemampuannya untuk berdiferensiasi serta kemampuan *immunomodulatory* – nya. Selain itu juga, sel punca mesenkimal dapat mensekresi berbagai sitokin dan mediator angiogenik yang dapat memperbaiki sel yang rusak (Liu *et al.*, 2016).



Gambar 8. Multipotent dan unipotent stem cells pada sumsum tulang (Jusuf, 2008)

Sinyal yang berasal dari dalam dan luar sel memicu terjadinya proses diferensiasi sel punca. Sinyal dari dalam sel yang mempengaruhi terjadinya diferensiasi ialah gen pada DNA yang membawa kode untuk struktur dan fungsi sel. Selain itu, zat kimia yang disesekresikan oleh sel lain, kontak fizik dengan sel disampingnya, serta molekul tertentu dalam lingkungan mikro merupakan sinyal dari luar sel yang juga berperan dalam terjadinya proses diferensiasi. Hal ini akan menyebabkan DNA mengalami perubahan ekspresi dan pada akhirnya diferensiasi menjadi sel tertentu yang diturunkan melalui pembelahan sel (Yuliana dan Suryani, 2012).

Tali pusat atau tali plasenta kaya akan kandungan darah dan juga protein seperti albumin, hormon seperti estrogen serta substansi lain seperti asam

deoxy ribonukleat (Kurniawaty *et al*, 2018). Selain itu plasenta juga mengandung gamaglobulin, immunoglobulin seperti IgA, IgG, serta asam – asam amino beserta subsatansi biologi lainnya. Selain itu tali pusat merupakan jaringan ekstraembryonal yang kaya akan sel punca mesenkimal yang diperoleh dari darah tali pusat yang memiliki beberapa keuntungan jika digunakan seperti mudah didapat, tidak invasif, dan tidak kontroversial. Sel punca mesenkimal dari darah tali pusat juga telah terbukti memiliki kemampuan proliferasi lebih cepat dan kemampuan ekspansi lebih besar dibandingkan sel punca mesenkimal dewasa (Arno *et al.*, 2014). Selain itu sel punca mesenkimal tali pusat juga dalam penggunaannya lebih ekonomis, bersifat produktif, layak, dapat diterima (Kurniawaty *et al*, 2018).

Sel induk stroma tali pusat manusia adalah setara dengan sel induk mesenkimal sumsum tulang. Sel induk mesenkimal tidak berasal dari selubung otot polos pembuluh darah, melainkan *Wharton's jelly* dan juga dapat diperoleh dari darah tali pusat (Farias *et al.*, 2011). Beberapa penelitian menganggap bahwa sel punca yang berasal dari tali pusat juga lebih menguntungkan dibandingkan dengan sel punca mesenkimal yang berasal dari sumsum tulang belakang (*bone marrow mesenchymal stem cells* atau BM-MSCs) dan adiposa (*adipose-derived mesenchymal stem cells*). Hal ini disebabkan oleh isolasi sel punca mesenkimal dari sumsum tulang memerlukan prosedur invasif dan menimbulkan rasa sakit pada

pasien dan berbeda dengan prosedur sel punca mesenkimal dari tali pusat (Arno *et al*, 2014 ; Puranik *et al.*, 2012).

Penelitian sebelumnya dengan menggunakan sel punca mesenkimal tali pusat manusia telah menunjukkan bahwa sel punca mesenkimal tersebut menghasilkan banyak sel muda, non-tumorigenik, dan memiliki kemampuan imunomodulator yang mungkin dapat dapat ditransplantasi secara alogenik untuk meregenerasi hati, jantung, tulang, tulang rawan, lemak, pankreas, saraf, vaskular/endotel, dan komponen kulit (Arno *et al.*, 2014).

Sel punca mesenkimal dari tali pusat ini juga dapat mensekresikan sitokin yang berupa proangiogenik dan faktor pendukung penyembuhan luka, seperti *transforming growth factor beta* (TGF- β), *vascular endothelial growth factor* (VEGF), *platelet-derived growth factor*, *insulin-like growth factor-I*, interleukin-6 (IL-6) dan IL-8 yang merupakan faktor utama untuk *epithelial-mesenchymal transition* (EMT) pada jaringan yang mengarah ke fibrosis ginjal dan penyebab terjadinya gagal ginjal kronik (Arno *et al.*, 2014 ; Kurniawaty *et al*, 2018 ; Yokote *et al*,2012).

Sitokin – sitokin yang sifatnya antiinflamasi ini bertindak untuk mengurangi peradangan dan memperbaiki jaringan ginjal yang rusak. VEGF menghentikan peradangan glomerulus, meningkatkan perbaikan kapiler glomerulus, menginduksi proliferasi sel endotel, dan mencegah

hilangnya kapiler peritubular. HGF menghambat kematian sel epitel dan mempercepat regenerasi dan remodeling jaringan ginjal yang rusak. IGF-1 yang dikeluarkan oleh sel punca mesenkimal mempercepat proliferasi sel tubular dan membantu fungsi dan perbaikan jaringan ginjal yang terluka. Media terkondisi yang diperoleh dari kultur sel punca mesenkimal terbukti menginduksi migrasi dan proliferasi dari sel epitel yang diturunkan dari ginjal dan mengurangi kematian sel tubulus proksimal. Penelitian tersebut menunjukkan bahwa peningkatan fungsi ginjal yang terkait dengan terapi sel punca mesenkimal kemungkinan besar disebabkan oleh sekresi sitokin – sitokin yang bekerja pada jaringan yang rusak (Yokote *et al*, 2012).

Dewasa ini terapi sel punca yang dikenal sebagai terapi berbasiskan sel sangat diminati dan berkembang pesat. Sel punca menawarkan kemungkinan sebagai sumber pengganti sel dan jaringan yang rusak atau sakit, khususnya pada penyakit-penyakit kronis dan degeneratif, diantaranya pada penyakit jantung atau juga pada penyakit kronis ginjal, serta melakukan regenerasi pada jaringan ikat (Lefrandt dan Pearl, 2011).

Baru-baru ini, *mesenchymal stem cells* (MSC) tidak hanya digunakan dalam pengobatan cedera ginjal akut tetapi juga pengobatan gagal ginjal kronik, nefropati diabetik (ND), dan pada nefropati *allograft* kronis. Pengobatan MSC juga mengurangi fibrosis ginjal dan memperbaiki fungsi ginjal pada penelitian ginjal pada tikus. Tingkat semua sitokin proinflamasi dalam serum menurun pada tikus yang terkena gangguan

ginjal akut yang diobati dengan MSC. Hal ini menunjukkan bahwa terapi *mesenchymal stem cells* atau sel punca mesenkimal memang dapat memodulasi respons peradangan dan meningkatkan remodeling ginjal pada penyakit ginjal kronis maupun akut. Dengan cara yang sama, sel punca mesenkimal yang disuntikkan mengatur respon imun yang menghasilkan percepatan perbaikan jaringan glomerulus dan peningkatan fungsi ginjal pada tikus percobaan. Juga telah diamati bahwa injeksi sel punca mesenkimal selama 11 minggu setelah transplantasi ginjal mencegah fibrosis interstitial (Yokote *et al*, 2012).

Sebagian besar dari penelitian yang telah dilakukan juga memberikan bukti bahwa pemberian sistemik *Mesenchymal Stem Cells* (MSC) dapat membantu menjaga fungsi ginjal dalam menghadapi kerusakan akut, seperti cedera iskemik, obstruksi, dan juga dapat membantu mengurangi cedera tubular dan fibrosis. Dengan demikian, data yang tersedia menunjukkan bahwa sel punca mesenkimal yang diberikan secara sistemik dapat membantu meningkatkan atau menstabilkan fungsi ginjal pada cedera ginjal akut dengan berbagai mekanisme. Dalam sebagian besar studi model dengan menggunakan tikus pula, CKD atau *chronic kidney disease* yang telah dilakukan, pemberian sel punca mesenkimal telah menunjukkan efek renoprotektif yang signifikan, termasuk pengurangan infiltrat proinflamasi (Interleukin-1 β , *Tumor Necrosis Factor* α , Interferon γ) dan ekspresi ginjal yang lebih tinggi pada faktor-faktor antiinflamasi dan antiapoptotik, seperti Interleukin-10, *basic Fibroblast GF*, TGF α dan

Bcl-2 intrarenal yang menyebabkan penurunan fibrosis, dan glomerulosklerosis. (Quimby, 2018 ; Bochon *et al*, 2019). Studi lebih lanjut menunjukkan bahwa efek renoprotektif yang diberikan oleh *mesenchymal stem cell* disebabkan oleh efek parakrin sel. Sel punca mesenkimal memproduksi dan mengeluarkan vesikel ekstraseluler sebagai efek perlindungan terhadap ginjal (Yun *et al.*, 2019).

Pada penelitian yang dilakukan Bochon *et al* (2015), injeksi intravena sel punca mesenkimal sumsum tulang autolog ($1,5 \times 10^6$ sel / kg berat badan) kepada pasien 73 tahun dengan pANCA-positif glomerulonefritis progresif cepat, setelah tujuh hari pemberian sel punca mesenkimal, kreatinin serum menurun dari 7,8 menjadi 2,2 mg / dL, yang disertai dengan normalisasi sedimen urin, penurunan titer pANCA yang signifikan, dan penurunan konsentrasi sitokin serum, serta peningkatan regulasi *T-cell pool* dalam darah.

Pada beberapa penelitian telah dibuktikan bahwa injeksi sel punca mesenkimal secara intramuskular dipercaya lebih baik daripada injeksi secara intramiokard ataupun intravaskular. Mao *et al* (2017) dalam penelitiannya menunjukkan bahwa sel punca mesenkimal tali pusat manusia yang disuntikan secara intramuskular dapat secara signifikan memperluas terapi sel tersebut pada tikus yang mengalami pelebaran kardiomiopati. Selain itu, pada penelitian Fukushima, *et al* (2007) menunjukkan hasil bahwa injeksi sel punca mesenkimal secara intramiokard dapat memicu

aritmia dan infark miokard. Sementara penelitian Barbash, *et al* (2003) memberikan hasil bahwa sel punca mesenkimal yang disuntikan secara intravaskular akan menumpuk di paru-paru, hati dan limpa, sedangkan injeksi intravena dapat mengurangi efek terapi sel punca mesenkimal karena dapat menyebabkan sel punca mesenkimal banyak terperangkap di dalam paru yang mana waktu tinggalnya (*dwell time*) singkat. Injeksi sel punca mesenkimal secara intramuskular dapat menjadi alternatif yang lebih baik untuk mencapai manfaat klinis dari segi pemanjangan waktu tinggal (*dwell time*) sel mesenkimal serta merupakan rute pemberian dengan minimal invasif yang cocok untuk banyak pengaplikasian (Braid *et al.*, 2018).

2.4. Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Sprague Dawley

Hewan penggerat yang biasa digunakan saat penelitian atau untuk percobaan ialah tikus putih (*Rattus norvegicus*). Hewan ini termasuk ke dalam kelas hewan mamalia yang mana kelengkapan organ, keutuhan nutrisi, sistem reproduksi, sistem pernafasan, metabolism di tubuh, peredarah darah dan sistem ekskresinya hampir sama dengan manusia (Kesenja, 2005). Untuk taksonomi dari tikus putih (*Rattus norvegicus*) berupa:

Kingdom : Animalia

Filum : Chordata

Subfilum : Vertebrata

Kelas : Mammalia

Ordo : Rodentia

Subordo : Odontoceti

Familia : Muridae

Genus : Rattus

Spesies :Norvegicus



Gambar 9. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) Galur Sprague dawley (Koolhas, 2010)

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) berasal dari Asia Tengah dan penggunaannya telah menyebar luas di seluruh dunia. Tikus putih ini merupakan strain albino dari *Rattus norvegicus*. Selain *Wistar*, tikus ini memiliki beberapa galur yang merupakan hasil pembiakkan sesama jenis atau persilangan, seperti *Sprague dawley*.

Tikus putih *Rattus norvegicus* galur *Sprague dawley* merupakan jenis hewan yang memiliki ekor panjang yang melebihi tubuhnya sendiri. Selain itu hewan ini juga memiliki ciri – ciri bertubuh panjang dengan kepala lebih sempit, telinga tebal dan pendek, memiliki rambut halus, dan mata berwarna merah. Berat badan tikus jantan pada umur tiga bulan bisa

mencapai 240 gram sedangkan betinanya bisa mencapai 200 gram. Lama hidup tikus ini bisa bertahan sekitar 4 – 5 tahun dengan berat badan umum 267 – 500 gram dan betina 225 – 325 gram (Putra, 2009).

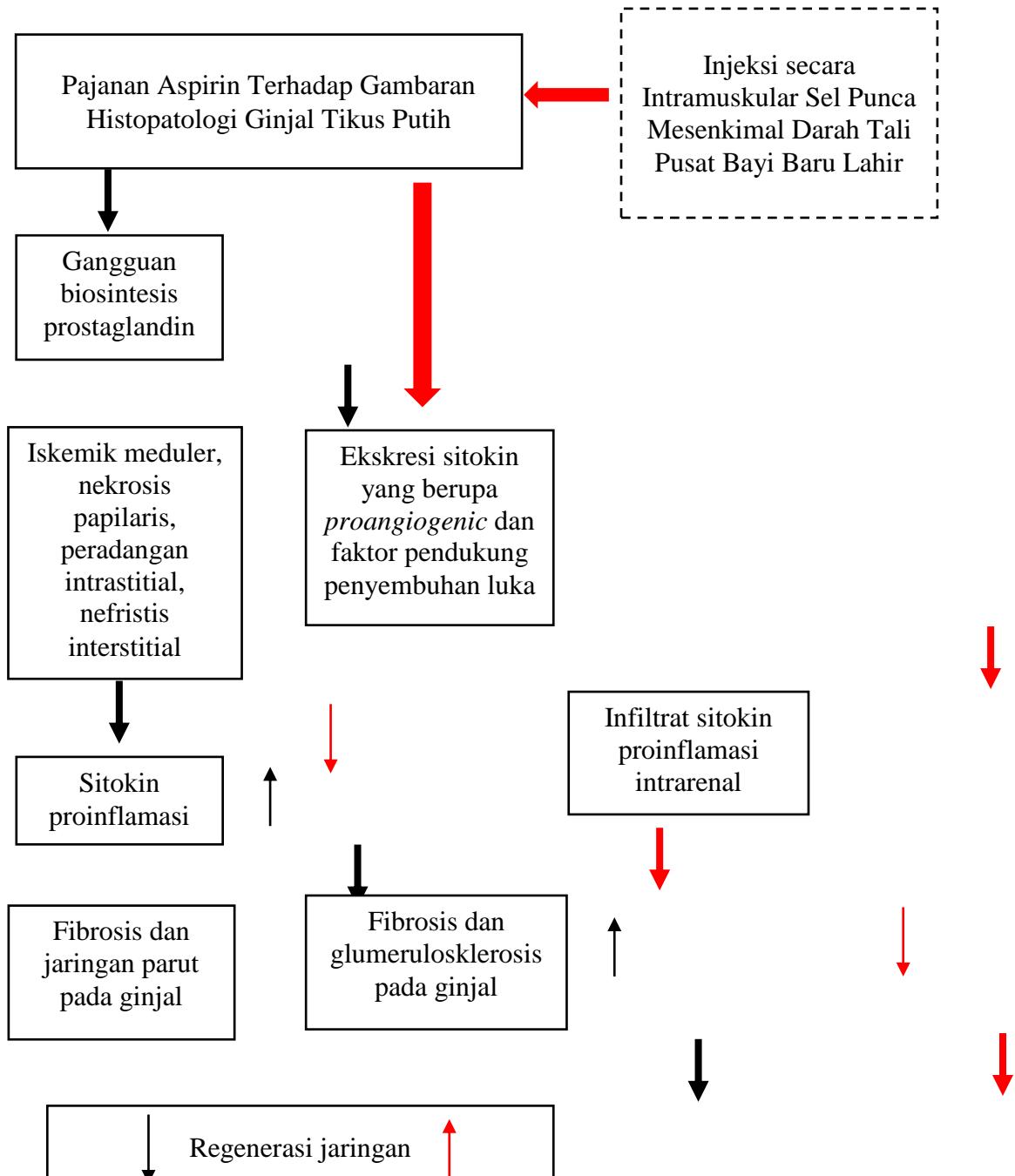
Untuk kebutuhan pakan dari tikus putih galur *Sprague dawley* sendiri membutuhkan kurang lebih sebanyak 10% dari bobot tubuhnya untuk pakan kering, dan 15% dari bobot tubuhnya untuk pakan basah. Kebutuhan minum tiap harinya bisa mencapai 15 – 30 ml air. Umur kelamin dewasa dipengaruhi oleh galur, tingkat pertumbuhan dan kualitas nutrisi (Putra, 2009).

Percobaan ini akan lebih baik apabila dilakukan pada pagi hari karena tikus akan menjadi agresif pada siang hari. Hal ini dikarenakan pada siang hari merupakan waktu tikus untuk beristirahat selain itu tikus juga merupakan hewan nokturnal yang aktif di malam hari. Tikus putih banyak digunakan dalam penelitian uji toksisitas obat, metabolism, embriologi maupun mempelajari tingkah laku. Tikus yang merupakan mamalia memiliki banyak kesamaan dengan manusia, mulai dari fisiologis, siklus hidup yang relative pendek, variasi sifat – sifatnya tinggi serta mudah dalam penanganan (Al Idrus, 2016).

Berdasarkan penelitian Mao, *et al* (2017), injeksi sel punca mesenkimal tali pusat manusia yang disuntikan secara intramuskular yang dilakukan pada tikus normal tidak akan mempengaruhi fungsi jantung, hati, serta

ginjal. Hal ini menunjukan bahwa cara ini merupakan prosedur administrasi yang aman. Berdasarkan hal tersebut maka peneliti ingin melihat ada atau tidaknya pengaruh injeksi intramuskular sel punca mesenkimal kepada tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* pada ginjal tikus putih yang diinduksi oleh aspirin.

2.5. Kerangka Teori

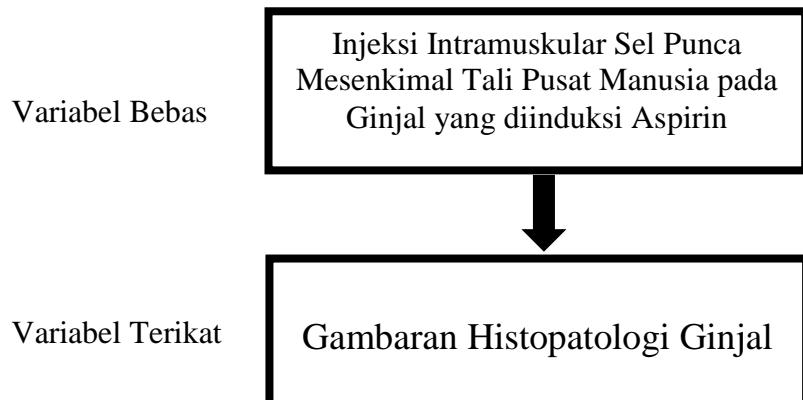


Gambar 10. Kerangka Teori
 (Yaxley, 2017 ; Keen & Aedulla, 2019 ; Lipworth, 2016 ;
 Quimby, 2018)

→ : Memberikan efek negatif

→ : Memberikan efek positif

2.6. Kerangka Konsep



Gambar 11. Kerangka konsep

2.7. Hipotesis

Berdasarkan dari tinjauan yang telah dijelaskan, penelitian ini memiliki hipotesis dua arah yaitu :

Ho : Tidak terdapat pengaruh injeksi intramuskular sel punca mesenkimal tali pusat manusia terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi aspirin.

Ha : Terdapat pengaruh injeksi intramuskular sel punca mesenkimal tali pusat manusia terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi aspirin.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan metode *Post Test Only Control Group*. Desain penelitian ini melibatkan tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* yang dipilih secara acak dan dibagi menjadi 3 kelompok yaitu kelompok kontrol (KK), kelompok perlakuan I (P1), dan kelompok perlakuan II (P2).

3.2. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan selama bulan Oktober - November 2019. Penelitian ini secara keseluruhan dilakukan di Universitas Lampung. Pemeliharaan tikus putih (*Rattus norvegicus*) dilakukan di *Animal House* Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Tempat pembedahan dan pembuatan preparat histopatologi hewan coba serta pengamatan mikroskopis preparat dilakukan di Laboratorium Anatomi, Histologi dan Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Untuk pembuatan ekstrak sel punca mesenkimal tali pusat manusia dilakukan di Laboratorium Biokimia, Biomolekuler dan Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

3.3. Subjek Penelitian

3.3.1. Populasi Penelitian

Populasi merupakan kumpulan unsur objek sejenis yang akan diteliti dan dikaji karakteristiknya. Pada penelitian kali ini populasi yang digunakan ialah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* yang diperoleh dari *Animal Vet Laboratorium Services*, Kabupaten Bogor.

3.3.2. Sampel Penelitian

3.3.2.1. Besar Sampel

Untuk penentuan jumlah sampel yang dipilih secara acak dan dibagi menjadi 3 kelompok dapat menggunakan rumus Frederer sebagai penentuan sampel uji eksperimental pada data homogen ialah (Sastroasmoro, 2014):

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

Keterangan :

t = banyaknya kelompok perlakuan

n = jumlah sampel tiap kelompok

Pada penelitian kali ini akan dibagi menjadi tiga kelompok perlakuan yang terdiri dari: (1) kelompok kontrol (KK) ; (2) kelompok perlakuan I (P1) ; dan (3) kelompok

perlakuan II (P2). Berdasarkan rumus Federer, maka penghitungan jumlah sampel menjadi:

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

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

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

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

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

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

$$n \geq 8,5$$

Berdasarkan perhitungan dari rumus Faderer didapatkan hasil 8,5 ekor yang dibulatkan menjadi 9 ekor. Untuk mengantisipasi terjadinya *drop out* saat penelitian dilakukan, maka tikus ditambahkan dengan rumus berikut ini:

$$N = \frac{n}{1 - f}$$

Keterangan:

N : Besar sampel koreksi

n : Jumlah sampel berdasarkan estimasi

f : Perkiraan drop out sebesar 10%

$$N = \frac{n}{1 - f}$$

$$N = \frac{9}{1 - 10\%}$$

$$N = \frac{9}{0,9}$$

$$N = 10$$

Berdasarkan dari perhitungan tersebut, didapatkan penambahan 1 tikus pada masing – masing kelompok percobaan. Dengan jumlah kelompok yang digunakan ialah 3 kelompok, yang terdiri dari kelompok kontrol (KK) berjumlah 10 ekor, kelompok perlakuan 1 (P1) berjumlah 10 ekor dan kelompok perlakuan 2 (P2) berjumlah 10 ekor. Oleh karena itu, jumlah hewan percobaan yang digunakan adalah 30 ekor tikus putih dari populasi yang ada.

3.3.2.2. Teknik Sampling

Untuk teknik sampling yang digunakan pada penelitian ini adalah probability sampling yang dilakukan secara random atau acak (*simple random sampling*). Hal ini disebabkan karena populasi tikus jantan yang disediakan memiliki karakteristik yang homogen.

3. Kriteria Sampel

Sampel yang akan digunakan untuk penelitian ini harus memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi sebagai berikut:

A. Kriteria Inklusi

Sampel yang digunakan harus tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* yang berjenis kelamin jantan. Selain itu juga harus memiliki berat badan normal (150 – 200 gram) dengan usia berkisar antara 2 – 3 bulan. Tikus putih jantan juga harus bergerak aktif, tidak memiliki kelainan anatomic, serta penampakan rambut tidak kusam, rontok ataupun botak.

B. Kriteria Eksklusi

Terdapat tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* jantan yang memiliki penurunan berat badan secara drastis (lebih dari 10% berat badan), penurunan aktivitas sehingga tidak dapat bergerak aktif, ataupun ditemukan tikus mati selama masa penelitian.

3.4. Identifikasi Variabel Penelitian

3.4.1. Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini yaitu sediaan injeksi intramuskular dari ekstrak sel punca mesenkimal tali pusat manusia dengan dosis 0,075 ml.

3.4.2. Variabel Terikat

Variabel terikat dari penelitian ini adalah kerusakan ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* yang diinduksi aspirin dimana kerusakannya dapat dinilai melalui gambaran histopatologinya

3.5. Definisi Operasional

a. Variabel Bebas

Variabel bebas penelitian ini adalah injeksi intramuskular sel punca mesenkimal tali pusat manusia terhadap ginjal yang diinduksi aspirin.

b. Variabel Terikat

Variabel terikat dari penelitian ini merupakan gambaran histopatologi ginjal berupa kerusakan glomerulus dan tubulus ginjal yang masing – masing memiliki skor kerusakan dimana pada akhirnya kerusakan ginjal dapat disimpulkan dengan skala ordinal. Berikut ini adalah definisi operasional pada penelitian kali ini:

Tabel 1. Definisi Operasional

Variabel	Definisi Operasional	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala
Variabel Bebas				
Injeksi intramuskular sel punca mesenkimal tali	Injeksi intramuskular dengan dosis 0,075 ml disuntikan pada kelompok perlakuan II	Dengan menggunakan spuit	Disuntik akan 1	Kategorik

pusat manusia terhadap ginjal yang diinduksi aspirin	(P2) yang telah diinduksi aspirin selama 14 hari.	cc, dilakukan nya injeksi		
	KK = Kelompok kontrol yang hanya disuntikan aquades dan diberikan pakan dan minum biasa	intramus kular sel punca tali pusat manusia		
	P1 = Kelompok perlakuan 1 yang diberikan aspirin secara oral dengan dosis 200 mg/kgBB selama 14 hari			
	P2 = Kelompok perlakuan 2 yang diberikan aspirin secara oral dengan dosis 200 mg/kgBB selama 14 hari dan diinjeksi intramuscular sel punca mesenkimal tali pusat 0,075 mL pada hari ke 14 dan 28			
Variabel Terikat				
Gambaran Histopatologi Ginjal	Gambaran kerusakan ginjal tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>) dilihat dengan cara mengamati sediaan histopatologi menggunakan mikroskop pada 5 lapang pandang dengan perbesaran 100 kali dan 400 kali dimana setiap lapang pandang dinilai kerusakan pada glomerulus dan tubulus ginjalnya.	Mikroskop cahaya	<p>1. Kerusakan glomerulus 0=Gambaran normal 1=Infiltrasi sel radang 2=Pelebaran spatium Bowman 3=Nekrosis</p> <p>2. Kerusakan tubulus 0=Gambaran normal 1=Infiltrasi sel radang 2=Pembengkakan sel epitel tubulus 3=Nekrosis</p> <p>Penilaian derajat kerusakan ginjal dapat diambil dari kerusakan tertinggi. Jumlah skor kerusakan diperoleh dari penjumlahan skor glomerulus dan skor kerusakan tubulus ginjal yang berkisar di angka 0 – 6 (Muhartono <i>et al</i>, 2016)</p>	Numerik

3.6. Alat dan Bahan Penelitian

3.6.1. Alat Penelitian

1. Neraca analitik
2. Kandang tikus yang terbuat dari kawat sebanyak 11 kandang
3. Botol minum tikus sebanyak 11 botol
4. Sonde lambung
5. Spuit 1cc, 3cc dan 5cc
6. Gelas ukur 10 ml dan 100 ml
7. Rak tabung reaksi
8. Mortar dan Alue
9. Pipet tetes
10. Tabung erlenmayer
11. Kertas saring
12. Labu ukur 100ml, 250 ml,
13. Pinset
14. Pisau scalpel
15. Gelas beker
16. Micropipet dan tipnya
17. *Quick-dna Universal Kit (Zymo-Spin IIC-XL Column)*
18. Tabung mikrosentrifugasi
19. *Biological safety cabinet*
20. Inkubator
21. *Handschoen* dan masker

3.6.2. Bahan Penelitian

1. Pakan dan minum tikus
2. Tali pusat bayi baru lahir

3. Larutan buffer fosfat
4. *Quick-DNA Universal Kit (Solid Tissue Buffer, Proteinase K, Genomic Binding Buffer, DNA-Pre Wash Buffer, g-DNA Wash Buffer, dan DNA Elution Buffer)*
5. Akuades atau NaCl fisiologis

3.7. Prosedur Penelitian

3.7.3. Tahap Persiapan

3.7.1.1. Aklimatisasi Hewan Uji

Aklimatisasi merupakan proses adaptasi hewan uji coba dengan lingkungannya, iklim, kondisi, serta keadaan yang dianggapnya masih asing. Proses aklimatisasi atau adaptasi ini dilakukan di Animal House Fakultas Kedokteran Universitas Lampung selama tujuh hari sebelum percobaan dimulai. Selama proses adaptasi, tikus diberikan makanan dan minuman sesuai dengan standar kebutuhannya.

3.7.1.2. Randomisasi Hewan Uji

Proses ini dilakukan guna mengelompokkan hewan uji sesuai kelompok perlakuan. Selanjutnya pada bagian punggung masing – masing tikus diberikan nomor yang berbeda untuk menghindari kesalahan pada setiap hewan uji.

3.7.1.3. Pembuatan Ekstrak Sel Punca Mesenkimal Tali Pusat Manusia

Penelitian akan dilakukan setelah mendapatkan persetujuan ethical clearance dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Tali pusat diperoleh dari pendonor sukarela yang telah menandatangani lembar informed consent dan disaksikan oleh seorang ahli. Donor diperoleh dari ibu yang tidak melahirkan janin mati, tidak mengalami pre – eclampsia, tidak memiliki riwayat penyakit hepatitis B, hepatitis C, infeksi CMV, HIV, infeksi Treponema pallidum, serta riwayat infeksi lainnya yang dapat ditularkan melalui darah, sawar plasenta, dan genital (Puranik *et al.*, Chen *et al.*, 2015). Tali pusat ini harus diproses 1 – 2 hari pasca proses melahirkan (Mennan *et al*, 2013).

Tali pusat dipotong segera setelah bayi lahir sepanjang 5 – 7 cm dengan pisau steril lalu disimpan dalam wadah steril yang berisi larutan normal *saline* 0,9% dan disimpan pada suhu 4°C sampai proses ekstraksi dilakukan. Dalam pembuatan ekstrak sel punca mesenkimal, tali pusat harus ditangani dengan prosedur aseptis yang sesuai di dalam *biological safety cabinet*. Selanjutnya tali pusat dibilas dengan larutan buffer garam fosfat yaitu larutan *sterile phosphate buffered saline* (PBS) sebanyak tiga kali untuk

membersihkannya dari darah yang menempel di permukaan. (Puranik *et al.*, 2012). Setelahnya tali pusat direndam di larutan ethanol 70% selama 30 detik dan dicuci kembali dengan larutan *buffered* untuk diproses ke tahap selanjutnya. (Mennan *et al.*, 2013).

Ekstrak sel punca mesenkimal dibuat dari darah tali pusat bayi baru lahir menggunakan *Quick – DNA Universal Kit D4068I* produksi *Zymo Research*. Darah diambil dari vena umbilikal tali pusat bayi yang baru lahir. Darah diambil dengan tabung mikrosentrifugasi sebanyak 200 μ L. Lalu ditambahkan 200 μ L *BioFluid & Cell Buffer* (yang berwarna merah) dan 20 μ L Proteinase K. Vortex selama 10 – 15 detik dan inkubasi tabung pada suhu 55° C selama 10 menit. Tambahkan *Genomic Binding Buffer* sebanyak satu kali volume sampel supernatant tersebut. Campur dengan vortex selama 10 – 15 detik.

Selanjutnya, pindahkan campuran tersebut ke tabung *Zymo-Spin IIC-XL* dalam *collection tube* lalu sentrifugasi dengan kecepatan 12.240 rpm selama 1 menit, kemudian buang supernatan hasil sentrifugasi.

Langkah selanjutnya yaitu menambahkan 400 μL *DNA Pre-Wash Buffer* yang selanjutnya dsentrifugasi dengan kecepatan 12.240 rotasi per menit selama 60 detik, lalu kosongkan collection tube. Kemudian 700 μL *g-DNA Wash Buffer* ditambahkan ke dalam *zymo spin tube* dan kemudian sentrifugasi kembali dengan kecepatan 12.240 rpm selama 1 menit, lalu kosongkan *collection tube*.

Langkah selanjutnya yaitu menambahkan kembali 200 μL *g-DNA Wash Buffer* lalu disentrifugasi dengan kecepatan dan waktu yang sama dengan proses sebelumnya, lalu kosongkan collection tube. Terakhir, pindahkan tabung *Zymo-Spin* yang telah ditambahkan 50 μL *DNA Elution* ke dalam *collection tube* baru. Setelah semua dilakukan maka selanjutnya cairan akan diinkubasi pada suhu ruang selama 5 menit, dan kemudian di sentrifugasi kembali dengan kecepatan dan waktu yang sama seperti proses sebelumnya untuk membilas DNA. Terbentuklah ekstrak sel punca mesenkimal darah tali pusat bayi baru lahir dalam bentuk *eluted DNA*. Penyimpanan ekstrak tali pusat diletakkan pada suhu -20°C sampai ekstrak akan digunakan.

3.7.2. Tahap Pengujian

3.7.2.1. Prosedur Pemberian Intervensi

Intervensi diberikan berdasarkan dari kelompok – kelompok perlakuan. Pada kelompok kontrol (KK) sampel tidak diinduksi dengan aspirin serta tidak diberikan injeksi sel punca mesenkimal tali pusat manusia. Untuk kelompok perlakuan I (P1) dan kelompok perlakuan II (P2) sampel diinduksi dengan aspirin secara peroral dengan dosis yang sudah ditentukan. Namun, perbedaannya ialah pada kelompok perlakuan II (P2) diberikan injeksi sel punca mesenkimal tali pusat manusia.

Dosis pemaparan akut aspirin secara oral atau intravena yang dapat menyebabkan nekrosis papilaris ginjal tikus berkisar pada 120 – 500 mg/kgBB/hari dengan dosis >500 mg/kgBB/hari dapat menyebabkan lethal (D'Agati, 2012). Berat tikus yang digunakan selama penelitian yaitu 120 gram sampai 160 gram. Untuk penelitian kali ini, akan dilakukan induksi aspirin secara oral dengan dosis 200 mg/kgBB/hari selama 14 hari untuk melihat tingkat kerusakan akut pada ginjal tikus putih tersebut. Sehingga dosis yang digunakan dalam penelitian kali ini yaitu:

$$200 \text{ mg/kgBB/hari} \times 0,16 \text{ kg} = 32 \text{ mg/hari}$$

(per ekor tikus)

Sediaan aspirin yang digunakan adalah aspirin tablet 500 mg. Aspirin tersebut dihancurkan dengan cara digerus dan dilarutkan dalam 15,6 mL aquadest. Jadi dalam 1 mL larutan terdapat 32 mg aspirin.

Pemberian injeksi sel punca mesenkimal tali pusat manusia dilakukan secara intramuskular pada otot anggota gerak sebelah kiri setelah 14 hari diinduksi dengan aspirin kepada tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley*. Menurut Braid (2018), dosis tunggal injeksi sel punca mesenkimal yang diberikan untuk hewan uji coba adalah 75 μ L atau 0,075 ml. Untuk dosis letal injeksi sel punca mesenkimal tali pusat manusia ialah lebih dari sama dengan 252×10^6 sel/kgBB yang setara dengan 1.875 μ L (Rengasamy, *et al.*, 2015). Sel punca diinjeksikan secara intramuskular sebanyak 0,075 ml pada salah satu sisi anggota gerak tikus. Setelah pemberian injeksi sel punca mesenkimal, amati selama 24 jam keadaan umum tikus untuk melihat ada atau tidaknya efek samping. Terapi dengan injeksi sel punca dilakukan kebali pada 14 hari kemudian. Tikus dari semua kelompok diterminasi pada hari ke 42 (Mao, *et al.*, 2017).

3.7.3. Tahap Pasca Penelitian

3.7.3.1. Prosedur Pengelolaan Hewan Uji Coba Pasca Penelitian

Sebelum dilakukannya proses pengambilan organ ginjal dari tikus putih yang sudah dilakukan intervensi, tikus harus diterminasi terlebih dahulu. Proses terminasi menggunakan *Ketamine-xylazine* 75 – 100 mg/kg + 5 – 10 mg/kg secara intraperitoneal kemudian tikus di euthanasia berdasar *Institutional Animal Care and Use Committee* (IACUC) dengan menggunakan metode *cervical dislocation* di *Animal House* Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. (Husnawati, 2005).

Setelah tikus mati, dilakukan nekropsi untuk pengambilan organ ginjal yang kemudian dimasukan ke dalam larutan *Buffered Neutral Formalin* (BNF) 10%. Hal ini bertujuan agar organ tidak membusuk dan dapat terfiksasi pada keadaan yang saat itu (Novitasari, 2017).

3.7.3.2. Prosedur Pengambilan Organ

Untuk mengambil organ yang ingin diamati, dilakukan pembedahan pada bagian abdomen untuk kemudian dilakukan pembuatan preparat mikroskopis dengan metode parrafin dan pewarnaan Hematokksiklin Eosin (HE).

3.7.3.3. Prosedur Operasional Pembuatan Slide Preparat

Pembuatan slide preparat histopatologi dilakukan di Laboratorium Histologi dan Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dengan metode berikut ini (Mahesya, 2014):

a. Fixation

Spesimen berupa potongan organ paru yang telah dipotong secara representatif kemudian segera difiksasi dengan formalin 10% selama 3 jam. Lalu, dicuci dengan air mengalir sebanyak 3–5 kali.

b. Trimming

Organ dikecilkan hingga ukuran ± 3 mm. Potongan organ paru tersebut lalu dimasukkan ke dalam *tissue cassette*.

c. Dehidrasi

Mengeringkan air dengan meletakkan tissue cassette pada kertas tisu. Dehidrasi dengan: 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, Alkohol xylol 1:1 selama 0,5 jam.

d. Clearing

Untuk membersihkan sisa alkohol, dilakukan clearing dengan xylol I dan II, masing–masing selama 1 jam.

e. Impregnasi

Impregnasi dilakukan dengan menggunakan paraffin selama 1 jam dalam oven suhu 65^0 C.

f. Embedding

Sisa paraffin yang ada pada pan dibersihkan dengan memanaskan beberapa saat di atas api dan diusap dengan kapas. Paraffin cair disiapkan dengan memasukkan paraffin ke dalam cangkir logam dan dimasukkan dalam oven dengan suhu diatas 58^0 C.

Paraffin cair dituangkan ke dalam pan. Dipindahkan satu persatu dari tissue cassette ke dasar pan dengan mengatur jarak yang satu dengan yang lainnya. Pan dimasukkan ke dalam air. Paraffin yang berisi potongan paru dilepaskan dari pan dengan dimasukkan ke dalam suhu $4-6^0$ C beberapa saat. Paraffin dipotong sesuai dengan letak jaringan yang ada dengan menggunakan skalpel atau pisau hangat. Lalu diletakkan pada balok kayu, diratakan pinggirnya, dan dibuat ujungnya sedikit meruncing. Memblok paraffin, siap dipotong dengan mikrotom.

g. Cutting

1. Pemotongan dilakukan pada ruangan dingin.
2. Sebelum memotong, blok didinginkan terlebih dahulu di lemari es.

3. Dilakukan pemotongan kasar, lalu dilanjutkan dengan pemotongan halus dengan ketebalan 4–5 mikron. Pemotongan dilakukan menggunakan rotary microtome dengan disposable knife.
 4. Dipilih lembaran potongan yang paling baik, diapungkan pada air, dan dihilangkan kerutannya dengan cara menekan salah satu sisi lembaran jaringan tersebut dengan ujung jarum dan sisi yang lain ditarik menggunakan kuas runcing.
 5. Lembaran jaringan dipindahkan ke dalam water bath suhu 60°C selama beberapa detik sampai mengembang sempurna.
 6. Dengan gerakan menyendok, lembaran jaringan tersebut diambil dengan slide bersih dan ditempatkan di tengah atau pada sepertiga atas atau bawah.
 7. Slide yang berisi jaringan ditempatkan pada inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam sampai jaringan melekat sempurna.
- h. Staining atau pewarnaan dengan Harris Hematoksilin–Eosin
- Setelah jaringan melekat sempurna pada slide, dipilih slide yang terbaik, selanjutnya secara berurutan

memasukkan ke dalam zat kimia di bawah ini dengan waktu sebagai berikut;

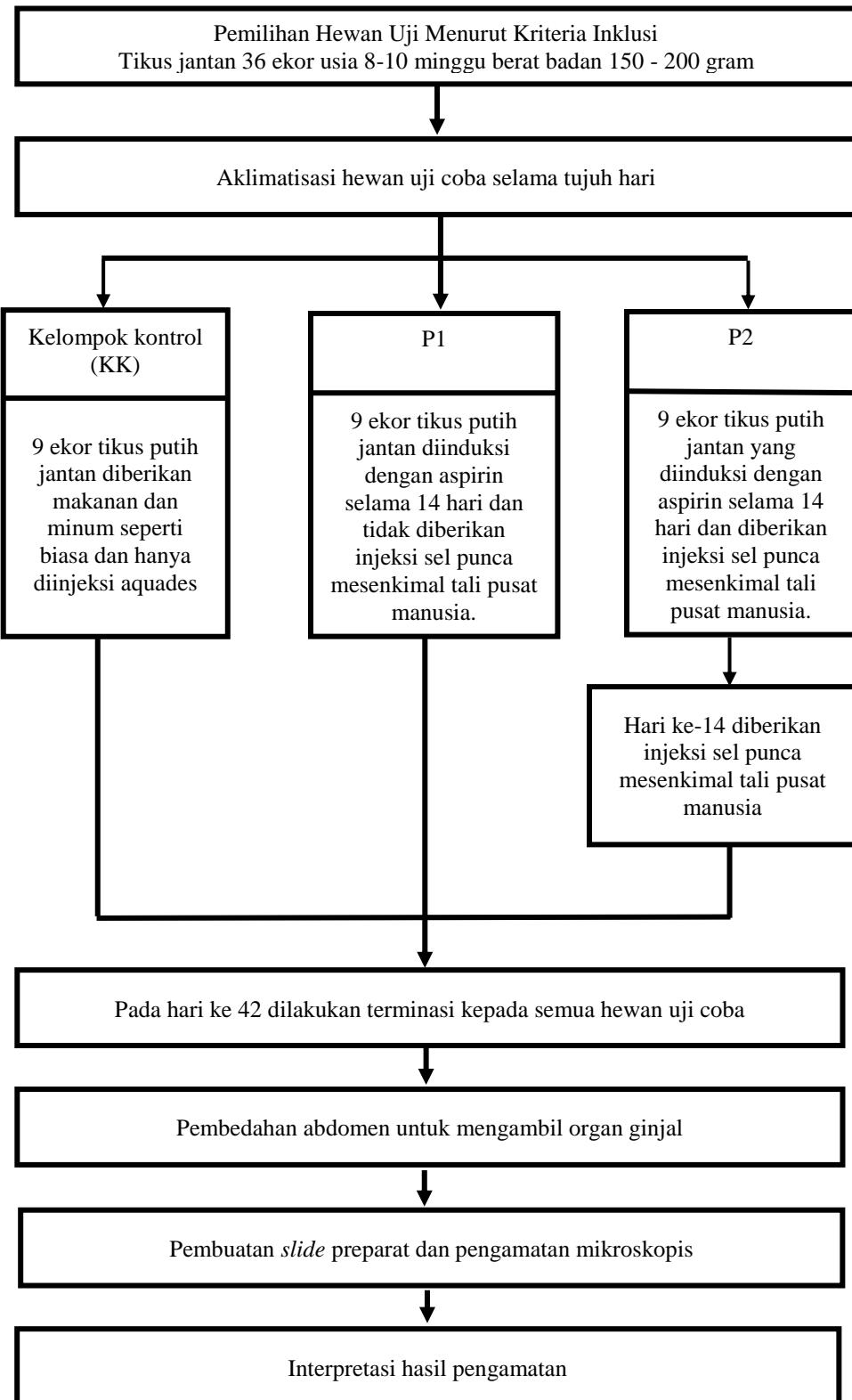
1. Dilakukan deparafinasi dalam larutan xylol I selama 5 menit. Larutan xylol II selama 5 menit. Ethanol absolut selama 1 jam.
2. Hydrasi dalam Alkohol 96% selama 2 menit. Alkohol 70% selama 2 menit, Air selama 10 menit.
3. Pulasan inti dibuat dengan menggunakan Harris Hematoksilin selama 15 menit. Dibilas dengan air mengalir. Diwarnai dengan eosin selama maksimal 1 menit.
4. Selanjutnya, didehidrasi dengan menggunakan Alkohol 70% selama 2 menit. Alkohol 96% selama 2 menit. Alkohol absolut selama 2 menit.
5. Setelah itu penjernihan dengan Xylol I selama 2 menit. Xylol II selama 2 menit.
 - i. Mounting dengan entelan dan tutup dengan deck glass
Setelah pewarnaan selesai, slide ditempatkan di atas kertas tisu pada tempat datar, ditetesi dengan bahan mounting, yaitu entelan, dan ditutup dengan deck glass, cegah jangan sampai terbentuk gelembung udara.
 - j. Slide dibaca dengan mikroskop
Slide diperiksa di bawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x. Preparat histopatologi dikirim ke

laboratorium Patologi Anatomi untuk dikonsultasikan dengan ahli patologi anatomi.

3.7.3.3. Pembacaan Slide Preparat

Dalam hal pembacaan slide preparat akan dibantu oleh seseorang yang ahli dalam bidang histopatologi di Laboratorium Anatomi, Histologi dan Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung

3.8. Alur Penelitian



Gambar 12. Alur penelitian

3.9. Pengolahan dan Analisis Data

Penelitian ini merupakan penelitian yang mana variabel bebasnya menggunakan skala kategorik dan variabel terikatnya berupa data yang menggunakan skala pengukuran numerik. Untuk menguji data yang telah diamati melalui mikroskop, digunakan *software* analisis statistik.

Hal pertama yang dilakukan adalah menguji normalitas dengan uji normalitas *Shapiro-Wilk* untuk menganalisis apakah data terdistribusi normal ($p>0,05$) atau tidak ($p<0,05$). Penggunaan uji *Shapiro-Wilk* dilakukan karena jumlah sampel ≤ 50 . Apabila data tidak terdistribusi normal, langkah selanjutnya ialah melakukan transformasi data dengan fungsi \log_{10} agar distribusi data menjadi normal. Namun, jika transformasi data masih belum dapat menormalkan data, maka uji parametrik *One Way Anova* tidak dapat dilakukan. Oleh karena itu digunakanlah uji non parametrik *Kruskal-Wallis*. Hipotesis dinyatakan bermakna atau H_0 ditolak apabila didapatkan hasil $p<0.05$. Hal ini berarti terdapat pengaruh injeksi intramuskular sel punca mesenkimal tali pusat manusia terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus yang diinduksi aspirin (Dahlan, 2017).

3.10. Etika Penelitian

Penelitian dengan menggunakan tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* didapatkan dari Institut Pertanian Bogor (IPB) yang telah tersertifikasi dalam keadaan sehat. Penelitian ini telah mendapatkan

persetujuan etik **No: 3139/UN26.18/PP.05.02.00/2019** oleh Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

5.1. Simpulan

Berdasarkan penelitian yang sudah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh injeksi intramuskular sel punca darah tali pusat manusia terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* yang diinduksi aspirin.

5.2. Saran

1. Diharapkan peneliti selanjutnya dapat mengembangkan teknik isolasi sel punca mesenkimal tali pusat sampai dilakukannya kultur sel.
2. Perlu meningkatkan pengetahuan mengenai cara mengendalikan faktor – faktor yang tidak terduga yang dapat mengganggu proses penelitian.
3. Diharapkan pengambilan darah tali pusat selanjutnya dilakukan oleh yang benar – benar ahli dalam bidangnya (contoh : Dokter Spesialis Kandungan dan Kebidanan)

DAFTAR PUSTAKA

- Al Idrus. 2016. Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun bawang mekah (*Eleutherine americana* Merr.) terhadap gambaran histopatologi paru tikus (*Rattus norvegicus*) wistar jantan pasca paparan asap rokok. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, Vol. 1 No. 2. Pontianak: Universitas Tanjungpura.
- Arno AI. 2014. Human Wharton's jelly mesenchymal stem cells promote skin wound healing through paracrine signaling. *Stemc cells research & therapy*. 5(1) : 28 – 41.
- Barbash IM, Chouraqui P, Baron J, Feinberg MS, Etzion S, Tessone A, *et al.* 2003. Systemic delivery of bone marrow-derived mesenchymal stem cells to the infarcted myocardium: feasibility, cell migration, and body distribution. *Journal Circulation*.108:863–8.
- Barnes CJ, Casey TD, Kristin MS, Valerie AV, Aviat H. 2016. Comparison of stem cell therapies for acute kidney injury. *American Journal of Stem Cells*. 5(1): 1- 10.
- Bochon B, Magdalena K, Grzegorz S, Agnieszka W, Roman K, Wladyslaw G, *et al.* 2015. Mesenchymal stem cells – potential applications in kidney disease. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019(20) : 5 – 21.
- Braid LR, Catherine A, Wood, Danielle M, Wiese, Barry NF. 2018. Intramuscular administration potentiates extended dwell time of mesenchymal stromal cells compared to other routes. *Journal Cytotherapy*.20: 232–244.
- Burrell, JH, Yong, JLC, Macdonald, GJ. 1991. Analgesics nephropathy in fischer 344 rats: comparative effects of chronic treatment with either aspirin or paracetamol. 23(2): 107-14.
- Chen G, Yue A, Ruan Z, Yin Y, Wang R, Ren Y *et al.* 2015. Comparison of biological characteristics of mesenchymal stem cells derived from maternal- origin placenta and wharton's Jelly. *stemcellres*. 6(1):1-7.
- D'Agati V. 2012. Does aspirin cause acute or chronic renal failure in experimental animals and in humans. *American Journal of Kidney Disease*. 28(1): 24 – 29.

- Dahlan MS. 2017. Statistik untuk kedokteran dan kesehatan. Edisi ke-6. Jakarta: Salemba Empat.
- Danny dan Halim. 2010. Stem Cell, Dasar teori & Aplikasinya. Jakarta: Erlangga.
- Djauhari. 2010. Sel PUnca. Jurnal Saintika Medika. 6(13): 91 – 96
- Eroschenko VP. 2010. Atlas histology difiore dengan korelasi fungsional. Jakarta: EGC.
- Farias VA, JLL Fernandez, JL Penalver, JA P Colmenero, GO Ferron, EL Duran, *et al.* 2011. Human umbilical cord stromal stem cell express CD10 and exert contractile properties. *Placenta*. 32(2011) : 86 – 95.
- Fleig, S. V dan Humphreys, B. D. 2014. Rationale of Mesenchymal Stem Cell Therapy in Kidney Injury. *Nephron Clinical Practice*, 127(1-4), 75–80.
- Fukushima S, Varela CA, Coppen SR, Yamahara K, Felkin LE, Lee J, *et al.* 2007. Direct intramyocardial but not intracoronary injection of bone marrow cells induces ventricular arrhythmias in a rat chronic ischemic heart failure model. *Journal Circulation*. 115:2254–61.
- Husnawati. 2015. Aktivitas antiobesitas ekstrak sirih merah (*Piper crocatum*) terhadap obesitas yang diinduksi pakan tinggi lemak pada tikus. [tesis]. Bogor : Institut Pertanian Bogor.
- Imantika E. 2014. Peran sel punca (stem cells) dalam mengatasi masalah infertilitas pada wanita. *Journal Medula*, 2(3), hlm.47–55.
- Ingrasciotta Y, Sultana J, Giorgianni F, Fontana A, Santangelo A, Tari DU, *et al.* 2015. Assosciation of individual non-steroidal anti-inflamatory drugs and chronic kidney disease: A population-based case control study. *Plos One* [Online Journal] [diunduh 31 Juli 2019].
- Jusuf AA. 2008. Aspek dasar sel punca embrionik (embryonic stem cells) dan potensi pengembangannya. Jakarta: Bagian Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Keen MU, Aeddula NR. 2019. Analgesic Nephropathy. StatPearls Publishing
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2013. Laporan hasil Riset Kesehatan Dasar Indonesia (Riskesdas) tahun 2013. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan RI
- Kesenja R. 2005. Pemanfaatan tepung buah pare (*Momordica charantia* L.) Untuk penurunan kadar glukosa darah pada tikus diabetes mellitus [skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.

- Khakim JL. 2007. Pengaruh Jus Buah Pepaya (Carica papaya) terhadap Kerusakan Histologis Lambung Mencit yang Diinduksi Aspirin. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Kumar V, Abbas AK, Aster JC. 2013. Robbins Basic Pathology. Philadelphia, PA: Saunders.
- 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. Lampung: AURA
- Landefeld K, Gonzales Hand Sander G. 2016. Hypertensive Crisis: The Causative Effects of Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs. *Journal of Clinical Case Reports*, 6(7): 1-3
- Lanza F, Chan F, dan Quigley E. 2009. Guideline for prevention of NSAID-related ulcer complications. *The American Journal of Gastroenterology*, 104: 728-738.
- Laurence LB. 2008. Goodman & Gilma's : Manual Pharmacology and Therapeutics. 7th Edition. McGraw Hill. hal. 546
- Lefrandt RL dan Pearla L. 2011. Pemanfaatan sel punca pada gagal jantung kronik. *Jurnal Biomedik*. 2(2) : 77 – 83.
- Lipworth L, Abdel-Kader K, Morse J, Stewart TG, Kabagamble EK, Parr SK, *et al.* 2016. High prevalence of non-steroidal anti-inflammatory drug use among acute kidney injury survivors in the southern community cohort study. *Biomed Central Nephrology*. 17(189): 2 – 9.
- Liu L, Yu Y, Chai J, Duan H, Chu W, Zhang H. 2014. Human umbilical cord mesenchymal stem cells transplantation promotes cutaneous wound healing of severe burned rats. *Plos One*. 9(2):1-10.
- Lovell A dan Ernst M. 2017. Drug- Induced Hypertension: Focus on Mechanisms and Management. *Curr Hypertens Rep*, 19(39): 1-12
- Mahesya AP. 2014. Pengaruh pemberian minyak goreng bekas yang dimurnikan dengan buah mengkudu (morinda citrifolia) terhadap gambaran hepatosit tikus wistar jantan [skripsi]. Bandarlampung: Universitas Lampung.
- Mao, C., Hou, X., Wang, B., Chi, J., Jiang, Y., Zhang, C., *et al.*. 2017. Intramuscular Injection of Human Umbilical Cord-Derived Mesenchymal Stem Cells Improves Cardiac Function in Dilated Cardiomyopathy Rats. Qingdao: Qingdao University.

- Mennan C, Wright K, Bhattacharjee A, Balain B, Richardson J, Roberrts S. 2013. Isolation and characterisation of mesenchymal stem cells from different regions of the human umbilical cord. Hindawi. 2013(916136): 1-8.
- Miladiyah, I. 2012. Therapeutic Drug Monitoring (TDM) pada penggunaan aspirin sebagai antireumatik. Departemen Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia (UII) Yogyakarta. 4(2): 212
- Moore KL, Dalley AF. 2013. Anatomi Berorientasi Klinis Edisi 5. Jakarta: Erlangga.
- Morigi, M dan De Coppi, P. 2014. Cell Therapy for Kidney Injury: Different Options and Mechanisms - Mesenchymal and Amniotic Fluid Stem Cells. *Nephron Experimental Nephrology*, 126(2), 59–63.
- Muhartono., Indri W., Diah SL., Susanti. 2016. Risiko herbisida diklorida terhadap ginjal tikus putih *Sprague dawley*. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*. 29 (1) : 43 – 46
- Ndagu LF, Arjana AAG, Berata IK. 2013. Madu berefek protektif terhadap infiltrasi sel radang dan perdarahan ginjal akibat induksi aspirin. *Indonesia Mediscus Veterinus*. 2(1) : 102 – 114.
- Novitasari MO. 2017. Analisis histopatologi organ paru-paru mencit (*Mus musculus*) yang diberi pretreatment untuk penyiapan penelitian biomedis [skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor
- Padeta I, Nugroho WS, Kusindarta DW, Fibrianto YH, Budipitojo T. 2017. Research article mesenchymal stem cell-conditioned medium promote the recovery of skin burn wound. *Asian J.Anim.* 12(3):132–41.
- Puranik SB, Nagesh A, Guttadar RS. 2012. Isolation of mesenchymal-like cells from wharton's jelly of umbilical cord. *IJP CBS*, 2(3), hlm.218–224.
- Putra AP. 2009. Efektivitas pemberian kedelai pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) bunting dan menyusui terhadap pertumbuhan dan kinerja reproduksi anak tikus betina [skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Quimby JM. 2018. Stem cell therapy. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*.
- Rengasamy M, Pawan KG, Udaykumar K, Gurbind S, Sudha B, Swathi SR, *et al.* 2015. Preclinical safety & toxicity evaluation of pooled, allogeneic human bone marrow-derived mesenchymal stromal cells. *Indian Journal Med Res* 144. hlm. 852-864.
- Ridwan E. 2013. Etika pemanfaatan hewan percobaan dalam Penelitian kesehatan. *Journal Indonesia Medical Association*. 63(3):112–6.

- Roy, V. 2007. Pharmacology Autacoids: Nonsteroidal Antiinflammatory Drugs, Antipyretics, Analgesics: Drugs used in Gout. [Online Jurnal] [diakses pada 3 Agustus 2019].
- Sampathkumar K, Rajiv A, Sampathkumar D. 2016. Analgesic nepropathy – A painful progression. Clinical Medicine Insights: Urology. 2016 (9): 7 – 10.
- Sanchez O, Arnau A, Pareje M, Poch E, Ramirez I, Soley M. 2002. Acute Stress Induced Tissue Injury In Mice; Differences Between Emotional and Social Stress. Cell Stress Society International. Barcelona. Hlm. 50(3): 82-119.
- Sastroasmoro S. 2014. Dasar-dasar metodelogi penelitian. Edisi ke- 5. Jakarta: Sagung Seto.
- Setiawan. 2006. Aplikasi terapeutik sel stem embrionikpada berbagai penyakit degenerative. Cermin Dunia Kedokteran. (153): 5 – 8.
- Sherwood L. 2014. Fisiologi Manusia: Dari Sel ke Sistem Edisi 6. Jakarta:EGC.
- Siagian M, Jusuf AA, Handini M. 2014. Pengaruh Pajanan Monosodium Glutamat TerhadapFungsidan Gambaran Histologis Ginjal Tikus Serta PerubahannyaPasca Penghentian Pajanan. J Indon Med Assoc. 64(7).
- Shier D, Buttler J, Lewis R. 2018. Hole's essentials of human anatomy & physiology. 13th edition. New York: Mc Graw Hill Education
- Snell RS. 2012. Anatomi Klinis Berdasarkan Sistem. Dialih bahasakan oleh Sugarto L. Jakarta:EGC.
- Soleha M, Isnawati A, Fitri N, Adelina R, Soblia, Hamim T, Winarsih. 2018. Profil penggunaan obat antiinflamasi nonsteroid di Indonesia. Jurnal Kefarmasian Indonesia. 8(2): 109-117
- Tobar A, Ori Y, Benchetrit S, Milo G, Herman M, Zingerman B *et al.* 2013. Proximal tubular hypertrophy and enlarged glomerular and proximal tubular urinary space in obese subjects with proteinuria. PLoS One. 8(9):1–9.
- Tortora GJ dan Derrickson B. 2012. Principles of Anatomy & Physiology 15th Edition. United States of America: John Wiley & Sons, Inc.
- Van Heijst ANP. 2006. Acetylsalicylic Acid. [Jurnal Online] [Diakses tanggal 2 Juni 2019.]
- Wilmana, PF, Gan, S. 2017. Farmakologi dan terapi edisi 5. Departemen Farmakologi dan Terapeutik: FKUI

- Yaxley J. 2016. Common analgesic agents and their role in analgesic nephropathy: A commentary of the evidence. International Journal of Risk & Safety in Medicine. 28(2016): 186 – 196.
- Yokote S, Shuichiro Y, Takashi Y. 2012. De novo kidney regeneration with stem cells. Journal of Biomedicine and Biotechnology.
- Yuliana dan Suryani. 2012. Terapi sel punca pada infark miokard. Bioteknologi. 11(2): 176-190.
- Yun CW, Lee SH. 2019. Potential and therapeutic efficacy of cell-based therapy using mesenchymal stem cells for acute/chronic kidney disease. International Journal of Molecular Sciences. 20(1619) : 2-16.
- Zahra AP, Carolia N. 2017. Obat anti-inflamasi non-steroid (OAINS): gastroprotektif vs kardiotoksik. Majority. 6(3):153
- Zhang X, Donnan PT, Bell S, Guthrie B. 2017. Non-steroidal anti-inflammatory drug induced acute kidney injury in the community dwelling general population and people with chronic kidney disease: systematic review and meta-analysis. BMC Nephrology. 18(256): 2 – 12