

Pemberian *Mesenchymal Stem Cell Wharton's Jelly* mampu meningkatkan kadar albumin serum pada tikus model sirosis hati

Muhammad Fadhel Ikram,¹ Endrinaldi,^{2*} Rauza Sukma Rita³

¹Program Studi Profesi Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Andalas, Padang, Indonesia

²Bagian Kimia, Fakultas Kedokteran, Universitas Andalas, Padang, Indonesia

³Bagian Biokimia Fakultas Kedokteran, Universitas Andalas, Padang, Indonesia

*Email: endrinaldi@med.unand.ac.id

Abstrak. Sirosis hati merupakan penyakit hati kronis yang ditandai dengan perkembangan histologis dari nodul regeneratif yang dikelilingi oleh pita fibrosa yang mengubah struktur hati normal sehingga menyebabkan berkurangnya massa hati yang fungsional. Sirosis hati akan menyebabkan penurunan sintesis albumin, sehingga kadar albumin serum akan mengalami penurunan. *Stem cell* dapat berdiferensiasi menjadi sel mirip hepatosit. Sel mirip hepatosit yang terbentuk dari pemberian *stem cell* akan menghasilkan albumin sehingga kadar albumin akan meningkat. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian *mesenchymal stem cell Wharton's Jelly* terhadap kadar albumin serum pada tikus model sirosis hati. Jenis penelitian ini adalah *true experimental* dengan pendekatan *posttest- only control group design*. Penelitian ini dilakukan di gedung *animal house* Fakultas Farmasi Universitas Andalas dan Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Andalas. Waktu penelitian mulai dari bulan Mei sampai Desember 2021. Untuk mengetahui pengaruh pemberian *mesenchymal stem cell Wharton's Jelly* dengan kadar albumin serum, maka dilakukan analisis data menggunakan uji *Kruskal-Wallis* serta uji *Post Hoc*. Hasil dinyatakan bermakna jika $p < 0,05$. Hasil menunjukkan rerata kadar albumin serum pada tikus model sirosis hati yang diberikan *mesenchymal stem cell Wharton's Jelly* sebesar 3,51 g/dl, sedangkan pada tikus yang tidak diberikan *mesenchymal stem cell Wharton's Jelly* sebesar 3,09 g/dl. Pada uji *Kruskal-Wallis* didapatkan nilai $p = 0,005$ ($p < 0,05$), sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh pemberian *mesenchymal stem cell Wharton's Jelly* terhadap kadar albumin serum.

Kata kunci: Sirosis hati, Albumin, *Mesenchymal Stem Cell Wharton's Jelly*

Abstract. Cirrhosis of the liver is a chronic liver disease characterized by the histological development of regenerative nodules surrounded by fibrous bands that alter the liver's normal structure, causing reduced functional liver mass. Cirrhosis of the liver will cause a decrease in albumin synthesis so that serum albumin levels will decrease. Stem cells can differentiate into hepatocyte-like cells. Hepatocyte-like cells formed from stem cell administration will produce albumin to increase albumin levels. The study aimed to determine the effect of mesenchymal stem cell Wharton's Jelly on serum albumin levels in rats model of liver cirrhosis. This type of research is true experimental with a posttest-only control group design approach. The study was conducted in the animal house-building of the Faculty of Pharmacy of Andalas University and the Biochemical Laboratory of the Faculty of Medicine of Andalas University. Research time from May to December 2021. To find out the effect of giving mesenchymal stem cells Wharton's Jelly with serum albumin levels, data analysis was conducted using the *Kruskal-Wallis* test and post hoc tests. The result is significant if $p < 0.05$. The results showed an average serum albumin level in rat model of cirrhosis of the liver given mesenchymal stem cell Wharton's Jelly of 3.51 g / dl, while in rat that were not given mesenchymal stem cells Wharton's Jelly of 3.09 g / dl. In the *Kruskal-Wallis* test, p -value = 0.005 ($p < 0.05$), so it can be concluded that there is an effect of giving mesenchymal stem cells Wharton's Jelly to serum albumin levels.

Keywords: Liver cirrhosis, Albumin, *Mesenchymal Stem Cell Wharton's Jelly*

Pendahuluan

Hati adalah kelenjar terbesar dan merupakan organ metabolisme utama tubuh manusia. Fungsi hati diantaranya: proses metabolisme berbagai nutrisi

utama seperti karbohidrat, protein dan lemak, detoksifikasi kotoran manusia, hormon, obat-obatan dan senyawa asing lainnya, pembentukan protein plasma, penyimpanan glikogen, lemak dan vitamin.^{1,2} Sirosis dapat didefinisikan sebagai tahap akhir dari

sejumlah besar kondisi penyakit hati kronis yang memiliki ciri umum nekroinflamasi, fibrosis, dan nodul regeneratif, yang mengubah struktur hati normal sehingga menyebabkan berkurangnya massa hati yang fungsional dan perubahan arsitektur vaskular.^{3,4}

Jumlah kasus sirosis hati secara global pada tahun 2017 diperkirakan mencapai 112 juta kasus untuk sirosis kompensata, dan 10,6 juta kasus sirosis dekompensata. Dengan angka kematian total mencapai 1,32 juta, dimana 66,7% terjadi pada laki-laki dan 33,3% pada perempuan.⁵ *World Health Organization* (WHO) melaporkan bahwa sirosis hati merupakan penyebab 1,8% dari seluruh kematian di Eropa, yaitu sekitar 170.000 kematian per tahun.⁶

Etiologi sirosis hati bermacam-macam, kadang ditemukan lebih dari satu penyebab pada satu penderita. Penyebabnya antara lain seperti; *alcoholic liver disease*, hepatitis C kronik, hepatitis B kronik, *nonalcoholic steatohepatitis* (NASH), hepatitis autoimun, dan lainnya.⁷ Etiologi sirosis hati juga bervariasi secara geografis. Alkoholisme, infeksi virus hepatitis C kronis dan *non-alcoholic fatty liver disease* (NAFLD) adalah penyebab tersering di negara-negara barat. Hepatitis B kronis merupakan penyebab utama sirosis hati di kawasan Asia-Pasifik.⁸

Banyak penyakit hati yang muncul sebagai akibat dari cedera, sebelum akhirnya menjadi sirosis hati. Meskipun etiologi penyakit hati dapat bervariasi, fibrosis dan sirosis berkembang melalui jalur yang sama. Respon multi-tahap menstimulasi sel-sel stellata hati (HSC) yang tidak aktif ke dalam bentuk aktifnya, yang mengarah pada akumulasi kolagen dan komponen matriks ekstraseluler (ECM) lainnya. Stimulasi dan akumulasi yang terus menerus dari zat-zat ini menyebabkan kerusakan struktur hati dan persarafan hati, serta penurunan fungsi hati.⁹

Sirosis hati lanjut dikaitkan dengan penurunan albumin plasma. Fungsi sel hati yang terganggu pada pasien dengan sirosis hati, menyebabkan sintesis albumin berkurang, dan dapat mencapai hingga 60-80% pada sirosis hati stadium lanjut. Albumin merupakan faktor prognostik utama dan prediktor penting kematian di lebih dari seratus penelitian pasien dengan sirosis hati, dan telah digunakan sebagai komponen skor prognosis sirosis yang paling penting dan banyak digunakan (skor *Child-Pugh-Turcotte*).¹⁰

Penurunan konsentrasi albumin serum (*hypoalbuminemia*) sangat umum pada pasien dengan sirosis hati, dan memiliki signifikansi prognostik yang buruk, yang berhubungan dengan penurunan kelangsungan hidup. *Hypoalbuminemia* dapat

mengganggu keseimbangan dengan mengurangi tekanan plasma osmotik koloid, sehingga memainkan peran penting dalam pembentukan asites. Molekul albumin juga memiliki domain fungsional dengan karakteristik penting yang memiliki antioksidan kuat sehingga dapat mengikat dan menghilangkan residu termal amino dari spesies logam reaktif dengan toksisitas tinggi. Albumin juga memiliki domain lain yang mengikat berbagai zat endogen dan eksogen, seperti bilirubin, garam empedu, endotoksin dan banyak obat. Albumin memiliki fungsi imunomodulator, melindungi integritas kapiler, dan mempengaruhi keseimbangan asam-basa dan hemostasis.¹¹

Pengobatan yang paling efektif untuk fibrosis hati stadium akhir adalah transplantasi hati. Tindakan transplantasi hati sangat terbatas, diantaranya disebabkan karena organ donor tidak mencukupi, komplikasi bedah, penolakan kekebalan, dan biaya pengobatan yang tinggi. Berbagai terapi farmakologis yang dapat menghentikan perkembangan sirosis kompensata atau bahkan sirosis dekompensata sedang dikembangkan.^{9,4,12}

Mesenchymal Stem Cell Therapy telah disarankan sebagai metode alternatif yang efektif untuk pengobatan penyakit hati. *Mesenchymal stem cell* memiliki potensi untuk berdiferensiasi menjadi hepatosit, dan nilai terapeutiknya terletak pada sifat imunomodulator dan sekresi faktor nutrisi seperti faktor pertumbuhan dan sitokin. *Mesenchymal stem cell* dapat menghambat inflamasi, menurunkan apoptosis sel hati, meningkatkan regenerasi sel hati, menurunkan fibrosis hati dan memperbaiki fungsi hati.¹² *Mesenchymal stem cell* (MSC) dapat dibudidayakan dengan relatif mudah, tidak hanya dari sumsum tulang, tetapi juga dari limbah medis seperti jaringan adiposa dan jaringan tali pusat. Injeksi MSC alogenetik aman untuk dilakukan, karena tingkat antigenisitasnya yang rendah dan telah dievaluasi di lebih dari 900 uji klinis di berbagai bidang, termasuk lebih dari 50 uji klinis terkait penyakit hati.¹³

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian *mesenchymal stem cell Wharton's jelly* terhadap kadar albumin serum pada tikus model sirosis hati yang diinduksi *carbon tetrachloride* CCl₄.

Metode penelitian

Jenis penelitian ini adalah *true experimental* dengan pendekatan *posttest-only control group design* yang menggunakan hewan coba sebagai objek penelitian. Persiapan hewan coba, pemberian perlakuan, dan

pengambilan darah tikus dilaksanakan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Farmasi. Pemeriksaan albumin dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Andalas. Penelitian ini dilakukan dari bulan Mei sampai dengan Desember 2021.

Populasi penelitian adalah tikus putih *Rattus norvegicus* jantan galur wistar berumur dua sampai tiga bulan dengan berat badan antara 200-300 gram yang mengalami sirosis hati yang diperoleh dari laboratorium hewan Fakultas Farmasi Universitas Andalas. Penelitian ini terdiri dari 3 kelompok sampel yaitu 1 kelompok kontrol tidak sirosis hati tanpa pemberian *stem cell*, 1 kelompok sirosis hati tanpa pemberian *stem cell*, dan 1 kelompok sirosis hati dan diberikan *stem cell*. Menurut kriteria *World Health Organization* (WHO), jumlah sampel minimal tiap kelompok hewan coba adalah 5 ekor tikus.¹⁴ Untuk menghindari terjadinya *drop out* selama penelitian karena tikus mati atau sakit, maka dilakukan koreksi besar sampel sehingga jumlah sampel tiap kelompok hewan coba adalah 6 ekor tikus. Jumlah total tikus yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebanyak 18 ekor tikus.

Hewan coba dibagi menjadi 3 kelompok perlakuan, yaitu kelompok tikus yang diberikan PBS tanpa diinduksi CCl₄ dan *mesenchymal stem cell Wharton's Jelly* (Kontrol Negatif), kelompok tikus yang diinduksi oleh CCl₄ dua kali seminggu selama 8 minggu tanpa pemberian *mesenchymal stem cell Wharton's Jelly* (Kontrol Positif), dan kelompok tikus yang diinduksi CCl₄ dua kali seminggu selama 8 minggu dengan pemberian *mesenchymal stem cell Wharton's Jelly* dosis tunggal dengan dosis 3x10⁶ sel tiap tikus (Perlakuan).

Setelah dilakukan pemberian *mesenchymal stem cell Wharton's Jelly* terhadap kelompok Perlakuan, maka darah tikus pada semua kelompok di ambil pada minggu ke 8 setelah pemberian MSC pada kelompok perlakuan.

Penelitian ini dilakukan setelah lulus uji etik dengan nomor: 493/UN.16.2/KEP-FK/2021 dari Fakultas Kedokteran Universitas Andalas.

Analisis data dilakukan dengan uji statistik non-parametrik *Kruskal-Wallis* untuk melihat apakah terdapat perbedaan signifikan antar kelompok hewan coba. Kemudian dilakukan uji *Post Hoc* dengan *Mann-Whitney test* untuk mengetahui kelompok mana saja yang memiliki perbedaan yang signifikan. Uji

statistik dilakukan pada derajat kepercayaan 95% ($p < 0,05$).

Hasil penelitian

Hasil pengukuran kadar albumin serum hewan coba diperoleh sebagaimana tercantum pada tabel 1:

Tabel 1. Rerata Kadar Albumin Serum Tikus

Kelompok Penelitian	Rerata $\pm$ SD Kadar Albumin Serum Tikus (g/dl)
Kontrol Negatif	3,72 $\pm$ 0,30
Kontrol Positif	3,09 $\pm$ 0,43
Perlakuan	3,51 $\pm$ 0,09

Tabel 1 menunjukkan bahwa kelompok tikus sirosis hati mengalami penurunan rerata kadar albumin serum. Kelompok Kontrol Positif kelompok tikus model sirosis hati tanpa pemberian *stem cell* mesenkim *Wharton's Jelly* memiliki rerata kadar albumin serum yang lebih rendah yakni 3,09 g/dl dibandingkan kelompok Kontrol Negatif kelompok tikus hanya diberikan PBS tanpa pemberian CCl₄ dan *stem sel* mesenkim *Wharton's Jelly* yang memiliki rerata 3,72 g/dl. Tabel 1 juga menunjukkan rerata kadar albumin serum pada kelompok Perlakuan kelompok tikus model sirosis hati dengan pemberian *stem cell* mesenkim *Wharton's Jelly* lebih tinggi dibandingkan kelompok Kontrol Positif kelompok tikus sirosis tanpa pemberian sel mesenkim *Wharton's Jelly*, yaitu sebesar 3,51 g/dl.

Hasil analisis data kadar albumin serum menggunakan uji non-parametrik *Kruskal-Wallis* menunjukkan nilai $p = 0,005$ ($p < 0,05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan bermakna kadar albumin serum tikus antar kelompok. Setiap kelompok kemudian dianalisis dengan uji *Post Hoc* yaitu *Mann-Whitney Test* untuk mengetahui adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok.

Tabel 2. Hasil Analisis *Mann-Whitney Test* Kadar Albumin Serum

Kelompok Penelitian	P
Kontrol Negatif	Kontrol Positif 0,005*
	Perlakuan 0,173
Kontrol Positif	Kontrol Negatif 0,005*
	Perlakuan 0,013*
Perlakuan	Kontrol Negatif 0,173
	Kontrol Positif 0,013*

Keterangan: *Perbedaan signifikan ($p < 0,05$)

Uji *Post Hoc* pada tabel 2 menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada dua kelompok, yaitu antara kelompok Kontrol Negatif dengan kelompok Kontrol Positif, dan antara kelompok Kontrol Positif dengan kelompok Perlakuan. Antara kelompok Kontrol Negatif dengan kelompok Perlakuan tidak terdapat perbedaan yang signifikan. Berdasarkan tabel 2 dapat disimpulkan bahwa terdapat penurunan kadar albumin serum yang signifikan pada kelompok tikus sirosis hati yang diinduksi CCL₄ tanpa pemberian MSC-WJ (Kontrol Positif) jika dibandingkan dengan kelompok tikus yang tidak diinduksi CCL₄ (Kontrol Negatif). Kadar albumin serum pada kelompok tikus sirosis hati yang diberikan MSC-WJ (Perlakuan) terdapat peningkatan yang signifikan jika dibandingkan dengan kelompok tikus sirosis hati tanpa pemberian MSC-WJ (Kontrol Positif).

Pembahasan

Berdasarkan hasil pengukuran kadar albumin serum tikus pada tabel 1, didapatkan bahwa pada kelompok tikus yang diinduksi CCL₄ tanpa pemberian MSC-WJ mengalami penurunan kadar albumin yang signifikan. Penurunan ini dapat terlihat pada perbandingan antara kelompok Kontrol Negatif dengan kelompok Kontrol Positif, dimana rerata kadar albumin serum menurun dari 3,72 g/dl menjadi 3,09 g/dl. Hasil uji *Mann-Whitney* menunjukkan penurunan kadar albumin tersebut signifikan dengan *p-value* 0,005 (*p*<0,05).

Albumin disintesis secara eksklusif oleh hepatosit hati selama jumlah nutrisi memadai dan sintesisnya berkurang apabila terdapat paparan hepatotoksik.^{15,16} CCL₄ adalah salah satu zat hepatotoksik yang menyebabkan cedera pada hati dengan cara membentuk radikal bebas seperti *trichloromethyl peroxy radical*.¹⁷ *Trichloromethyl peroxy radical* ini kemudian bereaksi dengan membran mikrosom dan menginduksi peroksidasi lipid yang kemudian mengakibatkan kerusakan sel hepatosit.¹⁸

Berdasarkan hasil pengukuran kadar albumin serum tikus pada tabel 1, pemberian MSC-WJ pada tikus yang mengalami sirosis hati meningkatkan rerata kadar albumin serum. Peningkatan ini dapat terlihat pada perbandingan antara kelompok Kontrol Positif dengan kelompok Perlakuan, dimana rerata kadar albumin serum meningkat dari 3,09 g/dl menjadi 3,51 g/dl. Hasil uji *Mann-Whitney* menunjukkan bahwa peningkatan kadar albumin tersebut signifikan dengan *p-value* 0,013 (*p*<0,05).

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Lin SZ *et al* pada tahun 2010, dimana

pemberian *mesenchymal stem cell Wharton's jelly* dapat meningkatkan kadar albumin pada tikus yang mengalami sirosis hati. *Mesenchymal stem cell Wharton's jelly* dapat berdiferensiasi menjadi sel mirip hepatosit dan mengekspresikan gen spesifik hati seperti albumin.¹⁹ *Mesenchymal stem cell* dapat mengeluarkan faktor trofik, termasuk faktor pertumbuhan, sitokin, dan kemokin, yang mendorong regenerasi hati yang rusak. Faktor trofik yang diekspresikan oleh MSC tidak hanya untuk mengurangi peradangan, apoptosis dan fibrosis jaringan yang rusak tetapi juga untuk merangsang *angiogenesis* dan regenerasi jaringan.²⁰

Kesimpulan

Terdapat pengaruh pemberian *mesenchymal stem cell Wharton's jelly* terhadap kadar albumin serum pada tikus putih model sirosis hati yang signifikan, dengan *p-value* 0,013 (*p*<0,05), dimana kadar albumin serum pada kelompok tikus sirosis yang diberikan *mesenchymal stem cell Wharton's jelly* lebih tinggi dibandingkan kelompok tikus sirosis yang tidak diberikan *mesenchymal stem cell Wharton's jelly*.

Daftar Pustaka

1. Paulsen F, Waschke J. Sobotta atlas anatomi manusia: organ-organ dalam. Edisi 23. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC; 2015.
2. Sherwood L. fisiologi manusia dari sel ke sistem. Edisi 8. Ong OH, Mahode AA, Ramadhani D, editors. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC; 2014.
3. Li B, Zhang C, Zhan Y-T. Nonalcoholic Fatty Liver Disease Cirrhosis: A Review of Its Epidemiology, Risk Factors, Clinical Presentation, Diagnosis, Management, and Prognosis. *Can J Gastroenterol Hepatol* . 2018 Jul 2;2018:1–8.
4. Schuppan D, Afdhal NH. Liver cirrhosis. *Lancet* . 2008 Mar;3719615:838–51.
5. Sepanlou SG, Safiri S, Bisignano C, Ikuta KS, Merat S, Saberifiroozi M, et al. The global, regional, and national burden of cirrhosis by cause in 195 countries and territories, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet Gastroenterol Hepatol* . 2020 Mar;53:245–66.
6. Blachier M, Leleu H, Peck-Radosavljevic M, Valla D-C, Roudot-Thoraval F. The burden of liver disease in Europe: A review of available epidemiological data. *J Hepatol* . 2013 Mar;583:593–608.
7. Nurhadjah S. Sirosis Hati dalam buku ajar Ilmu Penyakit Dalam. Edisi 4. Jakarta: Interna

- Publishing; 2014. p. 1980-5.
8. Zhou W-C. Pathogenesis of liver cirrhosis. *World J Gastroenterol* . 2014;2023:7312.
9. Jung YK, Yim HJ. Reversal of liver cirrhosis: current evidence and expectations. *Korean J Intern Med* . 2017 Mar 1;322:213–28.
10. Carvalho JR, Machado MV. New Insights About Albumin and Liver Disease. *Ann Hepatol* . 2018 Jul;174:547–60. A
11. Zaccherini G, Bernardi M. The role and indications of albumin in advanced liver disease. *Acta Gastroenterol Belg*. 2019;822:301–8.
12. Eom YW, Shim KY, Baik SK. Mesenchymal stem cell therapy for liver fibrosis. *Korean J Intern Med* . 2015 Aug 27;305:580–9.
13. Tsuchiya A, Takeuchi S, Watanabe T, Yoshida T, Nojiri S, Ogawa M, et al. Mesenchymal stem cell therapies for liver cirrhosis: MSCs as "conducting cells" for improvement of liver fibrosis and regeneration. *Inflamm Regen* . 2019 Dec 9;391:18.
14. World Health Organisation. General Guidelines for Methodologies on Research and Evaluation of Traditional Medicine World Health Organization. 2000;
15. Rothschild MA, Oratz M, Schreiber SS. Serum albumin. *Hepatology* . 1988 Mar;82:385–401.
16. Garcia-Martinez R, Caraceni P, Bernardi M, Gines P, Arroyo V, Jalan R. Albumin: Pathophysiologic basis of its role in the treatment of cirrhosis and its complications. *Hepatology* . 2013 Nov;585:1836–46.
17. Lee KS, Lee SJ, Park HJ, Chung JP, Han KH, Chon CY, et al. Oxidative stress effect on the activation of hepatic stellate cells. *Yonsei Med J* . 2001;421:1.
18. Bak J, Je NK, Chung HY, Yokozawa T, Yoon S, Moon J-O. Oligonol Ameliorates CCl₄ - Induced Liver Injury in Rats via the NF-Kappa B and MAPK Signaling Pathways. *Oxid Med Cell Longev*. 2016;2016:1–12.
19. Lin S-Z, Chang Y-J, Liu J-W, Chang L-F, Sun L-Y, Li Y-S, et al. Transplantation of Human Wharton's Jelly-Derived Stem Cells Alleviates Chemically Induced Liver Fibrosis in Rats. *Cell Transplant*. 2010 Nov 30;1911:1451–63.
20. Eom YW. Mesenchymal stem cell therapy for cirrhosis: Present and future perspectives. *World J Gastroenterol*. 2015;2136:10253.