

**PENGARUH KELEBIHAN BESI TERHADAP HISTOPATOLOGI HEPAR
(Studi Eksperimental Terhadap Mencit Balb/c Jantan)**

Skripsi

Untuk memenuhi sebagian persyaratan
mencapai gelar Sarjana Kedokteran



oleh :

Wildan Chanieful Wajiih

30101800180

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG
SEMARANG**

2022

SKRIPSI

PENGARUH KELEBIHAN BESI TERHADAP HISTOPATOLOGI HEPAR

Studi Eksperimental Terhadap Mencit BALB/c Jantan

Yang dipersiapkan dan disusun oleh :

Wildan Chanieful Wajjih

30101800180

telah dipertahankan di depan Dewan Penguji

pada tanggal 2 Februari 2022

dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Susunan Tim Penguji

Pembimbing I

dr. Ulfah Dian Indrayani, M.Sc.

Anggota Tim Penguji

Dr. dr. Susilorini, M.Si.Med., Sp.PA.

Pembimbing II

Dr. dr. Hadi Sarosa, M.Kes.

dr. Naili Sofi Riasari, Sp.N

Semarang, 11 Maret 2022

Fakultas Kedokteran

Universitas Islam Sultan Agung

Dekan,



Dr. dr. Setyo Trisnadi, Sp.KF.

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Wildan Chanieful Wajjih

NIM : 30101800180

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi yang berjudul :

PENGARUH KELEBIHAN BESI TERHADAP HISTOPATOLOGI HEPAR

Studi Eksperimental Terhadap Mencit BALB/c Jantan

adalah benar hasil karya saya dan penuh kesadaran bahwa saya tidak melakukan tindakan plagiasi atau mengambil alih seluruh karya tulis orang lain tanpa menyebutkan sumbernya. Jika saya terbukti melakukan hal plagiasi, saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan aturan yang berlaku.

Semarang, 14 Maret 2022
Yang menyatakan,



Wildan Chanieful Wajjih

PRAKATA

Assalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh,

Alhamdulillahirrabbi lalamin, puji syukur kehadiran Allah SWT atas limpahan ridho, nikmat dan rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“PENGARUH KELEBIHAN BESI TERHADAP HISTOPATOLOGI HEPAR (Studi Eksperimental Terhadap Mencit Balb/c Jantan)”** ini dapat terselesaikan dengan pendanaan internal UNISSULA tahun 2020/2021.

Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar sarjana kedokteran di Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang. Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan ucapan banyak terima kasih kepada:

1. Dr. dr. Setyo Trisnadi, Sp.KF.,SH., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
2. dr. Ulfah Dian Indrayani, M.Sc. dan Dr. dr. Hadi Sarosa, M.Kes. selaku dosen pembimbing I dan II yang telah sabar meluangkan waktu dan pikiran untuk mengarahkan dan membimbing penulis hingga terselesaikannya Skripsi ini.
3. Dr. dr. Susilorini, Sp.PA., M.Si. dan dr. Naili Sofi Riasari, Sp.N. selaku dosen penguji yang telah sabar meluangkan waktu dan pikiran untuk mengarahkan dan membimbing penulis hingga terselesaikannya Skripsi ini.
4. Dr. dr. Susilorini, Sp.PA., M.Si. yang telah meluangkan waktu untuk membimbing penulis melakukan pembacaan histopatologi hepar.

5. dr. Kamilia Dwi Utami, M.Biomed selaku Ka.Lab Histologi FK Unissula yang telah mengizinkan penulis menggunakan laboratorium Histologi FK Unissula.
6. Laboratorium Histologi FK Unissula beserta staf (Mbak Ita Yufrita), Laboratorium Patologi Anatomi RS Islam Sultan Agung beserta staf (Pak Hadi Suryono), Bagian Unit Skripsi FK Unissula (dr Rita Kartika Sari, SKM., M.Kes., Pak Sahid dan Bu Rohmah), yang telah membantu dalam penelitian ini.
7. Orang tua penulis, Abdul Syukur, S.T. dan Muhayanah, yang telah memberikan doa, kasih sayang, fasilitas, dan dukungan yang tiada henti selama penyusunan Skripsi ini.
8. Rizky Ramadhani Putri, Rowaida Putri Anggraily Bian, Fitri Damayanti, Arvin Naufal Wavi, Irkham Rafi Zaen, Mohammad Hifni Aziz, Ghaniyya Chandra Nada, dan Rahmawati Nur Pangestu, sahabat tencita seperjuangan selama menjalani studi sarjana kedokteran hingga hari tua yang telah banyak membantu dan mendukung selama ini.

Sebagai akhir kata dari penulis, penulis hanya bisa berharap semoga Skripsi ini dapat bermanfaat.

Wassalamu 'alaikum Warahamatullahi Wabarakatuh.

Semarang, 13 Maret 2022
Penulis,

Wildan Chanieful Wajih

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
SURAT PERNYATAAN.....	iii
PRAKATA.....	iv
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR SINGKATAN	ix
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
INTISARI.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah	3
1.3. Tujuan Penelitian.....	3
1.3.1. Tujuan Umum	3
1.3.2. Tujuan Khusus	4
1.4. Manfaat Penelitian.....	4
1.4.1. Manfaat Teoritis.....	4
1.4.2. Manfaat Praktis	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1. Histopatologi Hepar.....	5
2.1.1. Histologi Hepar	5
2.1.2. Anatomi dan Fisiologi Hepar	9
2.1.3. Kerusakan Hepar	13
2.1.4. Gambaran Histopatologi Hepar.....	17
2.2. Kelebihan Besi.....	25
2.2.1. Absorpsi Besi	25
2.2.2. Pengertian Kelebihan Besi	27
2.2.3. Etiologi Kelebihan Besi	27

2.2.4.	Patogenesis Kerusakan Hepar Karena Kelebihan Besi.....	31
2.3.	Penilaian Kerusakan Hepar	32
2.4.	Hubungan Kelebihan Besi dan Histopatologi Hepar.....	34
2.5.	Kerangka Teori.....	39
2.6.	Kerangka Konsep	39
2.7.	Hipotesis	39
BAB III METODE PENELITIAN.....		40
3.1.	Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian.....	40
3.2.	Variabel dan Definisi Operasional	40
3.2.1.	Variabel Penelitian	40
3.2.2.	Definisi Operasional.....	40
3.3.	Populasi dan Sampel.....	41
3.3.1.	Populasi Penelitian.....	41
3.3.2.	Sampel Penelitian.....	41
3.3.3.	Cara Pengambilan Sampel	42
3.4.	Alat dan Bahan Penelitian	42
3.4.1.	Alat Penelitian.....	42
3.4.2.	Alat Pembuatan Preparat Histopatologi Hepar	43
3.4.3.	Spesimen Pemeriksaan : Hepar.....	43
3.4.4.	Bahan Penelitian.....	43
3.5.	Cara Penelitian.....	44
3.5.1.	Penentuan Dosis	44
3.5.2.	Pelaksanaan Penelitian	44
3.5.3.	Pembuatan Preparat Histopatologi	45
3.5.4.	Pembacaan Preparat Histopatologi	47
3.6.	Alur Penelitian.....	48
3.7.	Tempat dan Waktu Penelitian	49
3.7.1.	Tempat Penelitian.....	49
3.7.2.	Waktu Penelitian	49
3.8.	Analisis Hasil.....	49
3.8.1.	Analisis Statistik Deskriptif	49

3.8.2. Analisis Statistik Inferensial	50
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	51
4.1. Hasil Penelitian.....	51
4.2. Pembahasan	53
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	61
5.1. Kesimpulan.....	61
5.2. Saran	61
DAFTAR PUSTAKA	63
LAMPIRAN.....	78



DAFTAR SINGKATAN

●OH	: Hidroksil radikal
µm	: Mikro Meter
AAST	: <i>American Association for the Surgery of Trauma</i>
Asetil-KoA	: Asetil Koenzim A
ATP	: <i>Adenosine Triphosphate</i>
ATPase	: <i>Adenosine Triphospatase</i>
Cc	: <i>Cubic Centrimetre</i>
CCL4	: <i>Carbon Tetrachloride</i>
CMC	: <i>Carboxymethyl Cellulose</i>
DMT1	: <i>Divalent Metal Transporter-1</i>
<i>Et al</i>	: <i>Et alia</i>
Fe	: Ferrum
Fe ²⁺	: Ferro
Fe ³⁺	: Ferri
G	: Gram
H ₂ O ₂	: Hidrogen peroksida
HBsAg	: <i>Hepatitis B Surface Antigen</i>
K ⁺	: Kalium
Kg	: Kilo gram
LCI	: <i>Labile Cellular Iron</i>
LPI	: <i>Labile Plasma Iron</i>
Mg	: Mili Gram
ml	: Mili Liter
Mm	: Mili Meter
Na ⁺	: Natrium
NaCl	: <i>Natrium Chloride</i>
NAFLD	: <i>Non-alcoholic Fatty Liver Disease</i>
NTBI	: <i>Non Transferrin Bound Iron</i>
O ₂ ⁻	: Superoksida

RE	: Retikulum Endoplasma
Redoks	: Reduksi oksidasi
RNA	: <i>Ribonucleid Acid</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
SAF	: <i>Steatosis, Activity and Fibrosis</i>
TGF β	: <i>Transforming Growth Factor β</i>
TIMPs	: <i>Tissue Inhibitors of Metalloproteinases</i>
VLDL	: <i>Very Low-Density Lipoproteins</i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>



DAFTAR TABEL

Tabel 2.1.	Perbedaan Perwarnaan Hematoksilin dan Eosin dengan Masson Trikrom pada Jaringan (Suvarna et al., 2013).....	33
Tabel 4.1.	Hasil Statistik Deskriptif Fraksi Area Fibrosis Mencit Balb/c Tanpa Pemerian Fe dan Dengan Pemberian Fe.	53

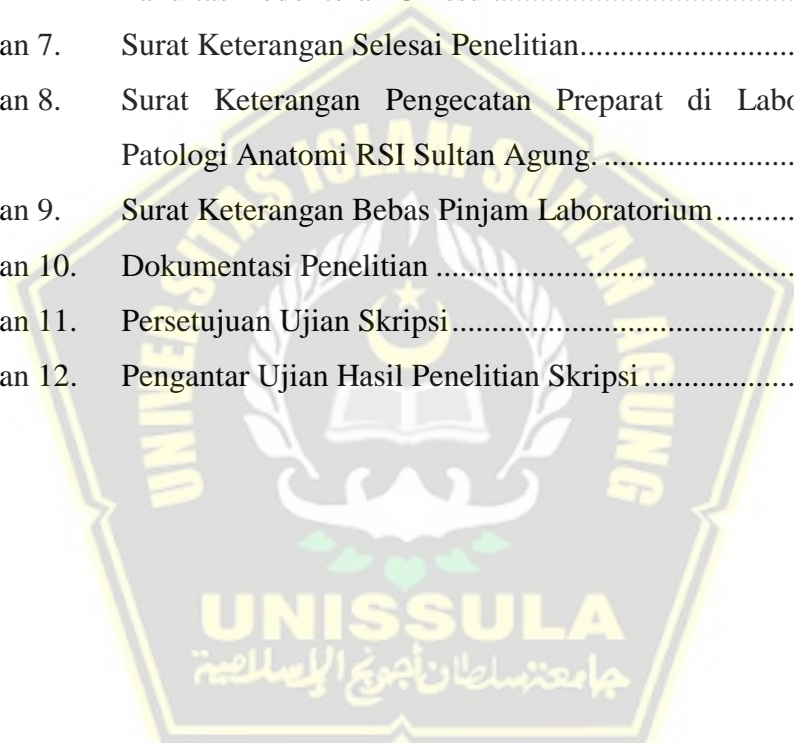


DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.	Histologi Hepar	8
Gambar 2.2.	Anatomi Hepar Tampak Anterior dan Posterior	11
Gambar 2.3.	Penyebab Kerusakan Hepar	17
Gambar 2.4.	Gambaran Peradangan pada Hepar	18
Gambar 2.5.	Gambaran Degenerasi Parenkimatososa pada Hepar	19
Gambar 2.6.	Gambaran Degenerasi Hidropik pada Hepar	20
Gambar 2.7.	Gambaran Nekrosis pada Hepar.....	21
Gambar 2.8.	Gambaran Fibrosis pada Hepar	23
Gambar 2.9.	Mekanisme Pembentukan Makrofag M1 dan M2.....	24
Gambar 2.10.	Gambaran Sirosis pada Hepar	24
Gambar 2.11.	Mekanisme Absorpsi Besi di Enterosit.....	25
Gambar 2.12.	Tampilan software ImageJ	33
Gambar 2.13.	Polarisasi dan fenotipe makrofag pada inflamasi dan fibrosis hepar.....	36
Gambar 2.14.	Hubungan Makrofag M1 dan M2 terhadap pembentukan Fibrosis.....	37
Gambar 2.15.	Fibrogenesis pada Hepar	38
Gambar 2.16.	Bagan Kerangka Teori	39
Gambar 2.17.	Bagan Kerangka Konsep.....	39
Gambar 3.1.	Bagan Alur Penelitian	48
Gambar 4.1.	Grafik Rata-rata Fraksi Area Fibrosis Hepar Mencit Tanpa Pemberian Fe dan Dengan Pemberian Fe	51
Gambar 4.2.	Gambaran Histopatologi Hepar Mencit Balb/c dengan Pengecatan Masson Trichrome	52

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Data Fraksi Area Fibrosis Hepar Mencit Balb/c Tanpa Pemberian Fe dan Dengan Pemberian Fe	78
Lampiran 2.	Hasil Uji Deskriptif	79
Lampiran 3.	Hasil Uji Normalitas dan Homogenitas	80
Lampiran 4.	Surat Ijin Peelaksanaan Penelitian	81
Lampiran 5.	Ethical Clearance	82
Lampiran 6.	Surat Keterangan Penggunaan Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Unissula.....	83
Lampiran 7.	Surat Keterangan Selesai Penelitian.....	84
Lampiran 8.	Surat Keterangan Pengecatan Preparat di Laboratorium Patologi Anatomi RSI Sultan Agung.	85
Lampiran 9.	Surat Keterangan Bebas Pinjam Laboratorium.....	86
Lampiran 10.	Dokumentasi Penelitian	87
Lampiran 11.	Persetujuan Ujian Skripsi.....	88
Lampiran 12.	Pengantar Ujian Hasil Penelitian Skripsi	89



INTISARI

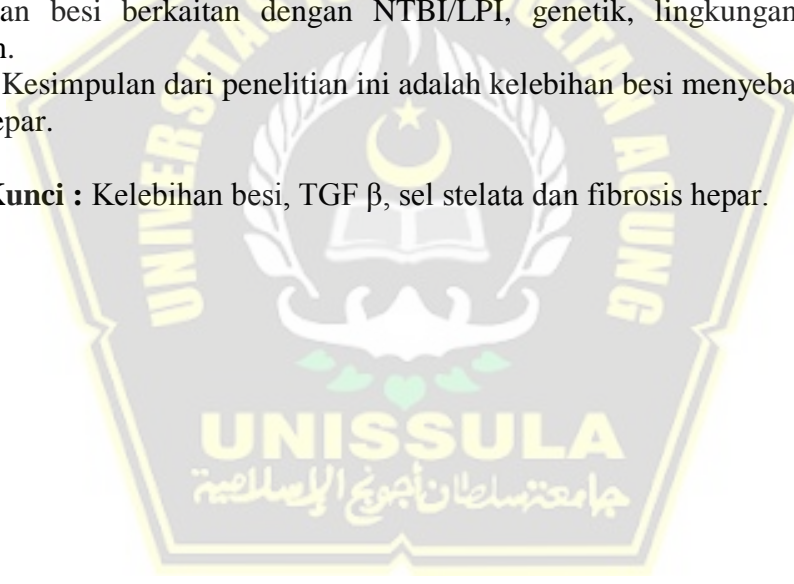
Kelebihan besi menyebabkan oksidasi mitokondria di hepar sehingga terjadi cedera hepatosit dan peningkatan TGF β . Fibrosis hepar terbentuk akibat fibrogenesis sel stelata yang diaktivasi oleh cedera hepatosit kronis. Fibrosis hepar adalah penyebab utama morbiditas dan mortalitas pada kasus kelebihan besi. Tujuan penelitian ini untuk membuktikan bahwa kelebihan besi dapat menyebabkan perubahan histopatologi pada hepar.

Metode penelitian ini adalah eksperimental dengan rancangan post-test only control group design menggunakan mencit BALB/C Jantan yang dibagi menjadi 2 kelompok secara random. Kelompok tanpa pemberian Fe (0,3 cc NaCl 0,9% dan 0,5 cc pelarut obat) dan kelompok dengan pemberian Fe (0,3 cc Fe + sukrosa (Venofer®) dan 0,5 pelarut obat) secara intra peritoneal selama 60 hari. Fraksi area fibrosis dinilai menggunakan *software ImageJ*.

Hasil rerata fraksi area fibrosis kelompok tanpa pemberian Fe adalah $0,00 \pm 0,00\%$ dan fraksi area fibrosis kelompok dengan pemberian Fe adalah $11,38 \pm 10,74\%$. Kelompok dengan pemberian Fe terdapat 3 sampel yang terdapat fibrosis, tapi 2 sampel lainnya tidak ditemukan fibrosis. Fibrosis hepar akibat kelebihan besi berkaitan dengan NTBI/LPI, genetik, lingkungan dan waktu paparan.

Kesimpulan dari penelitian ini adalah kelebihan besi menyebabkan fibrosis pada hepar.

Kata Kunci : Kelebihan besi, TGF β , sel stelata dan fibrosis hepar.



BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Besi merupakan zat gizi mikro yang penting bagi manusia, tapi besi yang berlebihan dapat meningkatkan stress oksidatif dan meningkatkan kerusakan jaringan akibat peroksidasi lipid (Kang *et al.*, 2019). Kadar besi yang berlebihan dalam plasma akan menumpuk di hepar dan organ lain (Wahidiyat *et al.*, 2017). Kelebihan zat besi menjadi penyebab utama penyakit hati kronis, selain penyakit hati berlemak (Kühn *et al.*, 2017; Yokoo & Browning, 2014). Timbunan besi dalam hepar dapat menyebabkan peradangan kronis yang kemudian menyebabkan fibrosis, sirosis bahkan munculnya keganasan pada hepar (Duarte *et al.*, 2017).

Kelebihan besi merupakan faktor penting yang mempengaruhi perubahan penyakit hati menjadi sirosis hepatis (Sikorska *et al.*, 2016). Sirosis hepatis merupakan hasil cedera kronis yang ditandai dengan nodul abnormal yang dikelilingi dengan pita fibrosis (Schuppan & Afdhal, 2008). Menurut *World Health Organization* (WHO) pada tahun 2019 sirosis hepatis merupakan penyebab kematian nomor 10 pada negara dengan penghasilan rendah (WHO, 2021). *Global Burden of Disease* pada tahun 2019 melaporkan bahwa jumlah kematian akibat sirosis hepatis di Asia Tenggara lebih dari 442.000 kematian sehingga menjadikan Asia Tenggara sebagai wilayah di dunia dengan jumlah penyebab kematian terbesar diakibatkan oleh sirosis hepatis (Abbatati *et al.*, 2020). Sedangkan menurut

RISKESDAS tahun 2007 penyakit hati merupakan penyebab nomor 8 kematian di Indonesia (Kemenkes, 2007). Kelebihan besi pada hepar juga terjadi lebih dari satu per tiga pada kasus penyakit hepar kronis lainnya termasuk hepatitis virus kronik dan juga *non-alcoholic fatty liver disease* (NAFLD) (Atarashi *et al.*, 2018; Guyader *et al.*, 2007). Fibrosis hepar adalah penyebab utama morbiditas dan mortalitas pada kasus penyakit hati (Unalp-Arida & Ruhl, 2017). Penelitian pada mencit yang diberi besi sukrosa secara intra peritoneal mengalami fibrosis yang bermakna pada jantung mencit (Sarosa *et al.*, 2020). Kelebihan besi juga menyebabkan inflamasi dan apoptosis pada sel-sel pankreas mencit yang diberi makan sekitar 180 mg/kg zat besi (M. Chen *et al.*, 2018).

Berdasarkan penelitian Lambrecht (2011), menjelaskan bahwasanya kerusakan hepar pada hepatitis C kronis bisa disebabkan karena adanya peningkatan kadar zat besi pada hepar (Lambrecht *et al.*, 2011). Kelebihan besi pada hepar dapat menyebabkan kematian sel (Dixon *et al.*, 2012). Kematian hepatosit dapat terjadi terjadi karena zat besi menyebabkan stress oksidatif yang berat pada tingkat sistemik maupun seluler (Pilo & Angelucci, 2019) melalui pembentukan *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang berlebih (Güvendi *et al.*, 2020; Sies, 1991). Kematian sel atau nekrosis pada hepar banyak dijumpai di area dekat dengan vena sentralis atau disebut zona 3 (Assis-Mendonça *et al.*, 2020). Obat toksik seperti *carbon tetrachloride* dapat menyebabkan munculnya jaringan kolagen atau fibrosis pada hepar tikus (Q. S. Chen *et al.*, 2017). Laporan kasus dari gambaran

histopatologi hepar pada pasien laki-laki 46 tahun di China yang diduga memiliki penyakit hemochromatosis diinduksi kardiomiopati restriktif dalam biopsi heparnya ditemukan pembengkakan pada hepatosit dengan sitoplasma yang keruh dan muncul juga peradangan dan fibrosis di sekitar porta (Cheang *et al.*, 2020). Fibrosis pada jaringan mudah diamati pada preparat histopatologi dengan pulasan masson trikrom (Kaimori *et al.*, 2017; Street *et al.*, 2014)

Berdasarkan uraian tersebut, peneliti akan melakukan sebuah penelitian tentang pengaruh kelebihan besi terhadap histopatologi hepar mencit Balb/c. Penilaian histopatologi hepar mencit Balb/c dengan cara menilai fraksi area fibrosis hepar untuk memastikan efek yang ditimbulkan dari kelebihan zat besi dalam menyebabkan fibrosis pada hepar mencit Balb/c.

1.2. Rumusan Masalah

Apakah kelebihan besi berpengaruh terhadap gambaran histopatologi hepar mencit Balb/c ?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Mengetahui pengaruh kelebihan besi terhadap gambaran histopatologi hepar mencit Balb/c.

1.3.2. Tujuan Khusus

1.3.2.1 Mengetahui gambaran histopatologi hepar mencit Balb/c yang diberi 0,3 cc NaCl 0,9% dan pelarut obat (Aquabidest, CMC dan Nipagin) 0,5 cc intra peritoneal.

1.3.2.2 Mengetahui gambaran histopatologi hepar mencit Balb/c yang diberi 1,5 mg (0,3 cc) besi sukrosa (Venofer®) dan pelarut obat (Aquabidest, CMC dan Nipagin) 0,5 cc intra peritoneal.

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat Teoritis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tambahan, sebagai masukan dan juga untuk dijadikan sebagai dasar penelitian oleh para peneliti selanjutnya yang ingin melakukan pengembangan penelitian selanjutnya terkait pengembangan farmakologis untuk mengatasi pengaruh dari kelebihan zat besi terhadap organ hepar mencit.

1.4.2. Manfaat Praktis

Memberikan informasi kepada masyarakat atas efek atau pengaruh yang terjadi akibat kelebihan zat besi terhadap kerusakan hepar mencit.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Histopatologi Hepar

2.1.1. Histologi Hepar

Hepar merupakan organ yang hampir sama dengan pankreas karena menghasilkan sebuah produk endokrin dan eksokrin, tetapi pada hepar dua produk tersebut dihasilkan oleh satu sel khusus yang disebut hepatosit (Gartner & Hiatt, 2014). Hepatosit berukuran besar dan berbentuk kuboid atau polihedral yang akan membentuk ribuan lobulus hepar yang berbentuk polihedral dengan masing-masing lobulus berukuran 0,7 – 2,0 mm (Mescher, 2013). Lobulus hepar memiliki 3 – 6 trias porta yang akan membentuk lobulus hepar bersama hepatosit, yang masing-masing portal tersusun atas tiga bangunan antara lain arteriol cabang dari arteri hepatic, venula cabang dari vena porta hepatica, dan duktulus biliaris cabang dari ductus biliaris (Mescher, 2013). Sehingga secara histologis, hepar tersusun atas 3 komponen, yaitu : hepatosit, kanalikuli biliaris dan sinusoid hepar (Tortora & Derrickson, 2014).

Hepatosit sebagai sel utama dalam hepar tersusun secara radier mengelilingi vena sentralis dengan sel berbentuk kuboid atau polihedral, berinti bulat dan sitoplasmanya terlihat eosinofilik karena banyak terdapat mitokondria untuk mendukung hepatosit melakukan fungsinya sebagai sel yang paling banyak memiliki fungsi (Mescher,

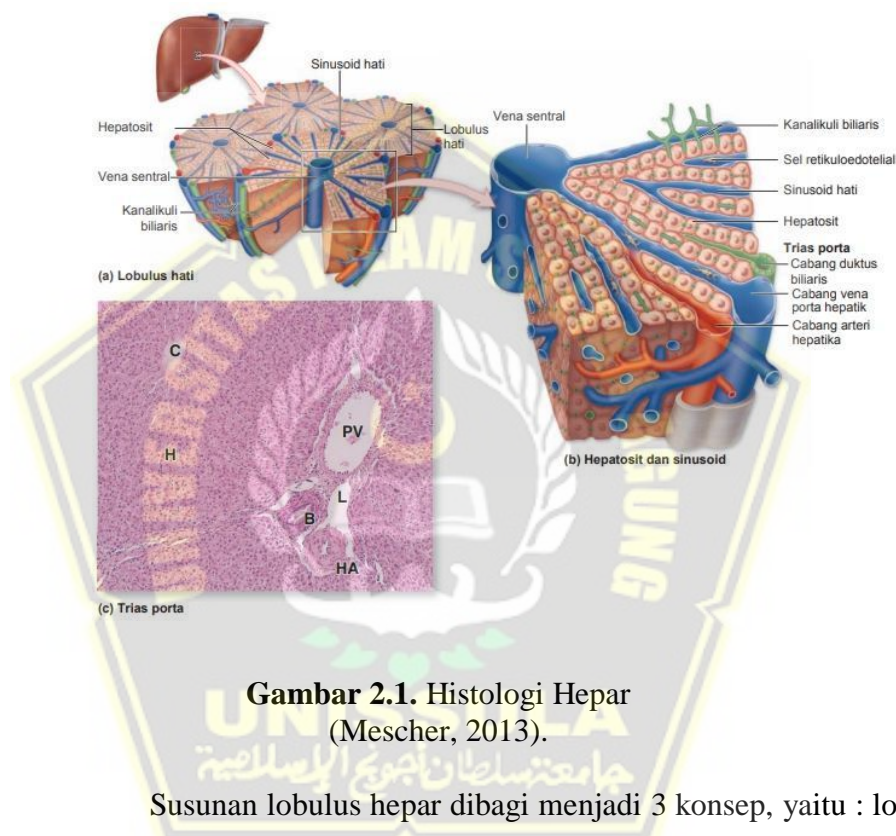
2013). Hepatosit memiliki organel sel seperti apparatus golgi, retikulum endoplasma halus, retikulum endoplasma kasar, mitokondria, inti sel, lisosom, peroksisom serta kaya akan lipid, VLDL, dan glikogen. Hepatosit mempunyai beberapa sisi yang dibagi menjadi dua ranah, yaitu : ranah sinusoidal yang menghadap ke ruang perisinusoidal, dan ranah lateral yang membentuk kanalikuli biliaris (Gartner & Hiatt, 2014). Pada ranah perisinusoidal, membran plasma hepatosit memiliki banyak reseptor manosa-6-fosfat, Na^+ , K^+ , ATPase, dan adenilat siklase sebagai tempat sekresi produk endokrin dan tempat masuknya bahan dalam darah ke sitoplasma hepatosit (Mescher, 2013).

Pada ranah lateral hepatosit terdapat kanalikuli biliaris yang merupakan saluran kecil dengan diameter 1 sampai 2 μm , berfungsi untuk mengalirkan produk eksokrin dari hepatosit ke perifer dari lobulus klasik (Gartner & Hiatt, 2014). *Tight junction* yang ada di antara hepatosit yang berdempetan mencegah bocornya empedu yang masuk di kanalikuli biliaris (Gartner & Hiatt, 2014). Empedu dari kanalikuli biliaris akan dilanjutkan ke duktulus biliaris dan duktus biliaris (Mescher, 2013). Duktus biliaris yang merupakan bagian dari trias porta akan berkonvergensi menjadi duktus hepaticus dekstra dan sinistra, lalu menyatu menjadi duktus hepaticus komunis (Tortora & Derrickson, 2014).

Sinusoid yang ada di ranah sinusoidal merupakan kapiler berfenestra dengan sel pelapis yang kebanyakan tidak saling berhubungan erat sehingga menimbulkan adanya banyak celah berukuran sekitar 0,5 μm (Gartner & Hiatt, 2014). Hal itu memungkinkan plasma untuk melewati celah sinusoid dan masuk ke ruang disse atau ruang perisinusoid (Mescher, 2013). Sel yang menetap di sinusoid hepar adalah makrofag hepar yang disebut sel kupffer atau scavenger migran karena tidak membentuk tautan sel dengan sel pelapis (Gartner & Hiatt, 2014). Sel kupffer merupakan derivat monosit yang dapat mengenali eritrosit tua yang kemudian akan difagositosis olehnya, dan memisahkan heme atau besi dengan bilirubin yang akan di serap oleh hepatosit (Mescher, 2013). Sel kupffer juga penting untuk melindungi hepar dengan cara menghancurkan benda asing, beracun dan infeksius yang masuk ke sinusoid hepar (Ovalle & Nahirney, 2013).

Ruang perisinusoid atau ruang disse merupakan ruangan atau celah di antara epitel pelapis sinusoid dan lempeng hepatosit yang berfungsi sebagai tempat pertukaran zat di daerah basolateral hepatosit (Lowe & Anderson, 2015). Bahan dalam plasma yang masuk di dalam ruang perisinusoid ini akan masuk ke hepatosit dibantu oleh juluran mikrovili yang ada di ruangan ini (Gartner & Hiatt, 2014). Selain itu, terdapat pula sel khas dengan banyak droplet lipid, dan berfungsi untuk menyimpan ataupun meregulasi transport

retinoid (vitamin A) dalam tubuh makhluk hidup yaitu sel stelata (Ovalle & Nahirney, 2013). Sel stelata pada hepar juga disebut sebagai sel Ito yang merupakan serat saraf tak bermielin untuk menyimpan lemak, memproduksi faktor pertumbuhan, dan membentuk jaringan ikat fibrosa menggantikan hepatosit yang rusak karena zat toksin (Gartner & Hiatt, 2014).



Gambar 2.1. Histologi Hepar (Mescher, 2013).

Susunan lobulus hepar dibagi menjadi 3 konsep, yaitu : lobulus klasik, lobulus portal dan asinus hepar. Konsep lobulus klasik merupakan konsep berdasarkan arah aliran darah dari trias porta (perifer) ke vena sentralis (sentral) sehingga menjadikan vena sentralis sebagai pusat dari konsep klasik ini. Konsep lobulus portal menggambarkan aliran eksokrin hepar, yaitu menuju duktulus biliaris. Konsep tersebut digambarkan dengan garis imajiner dari 3

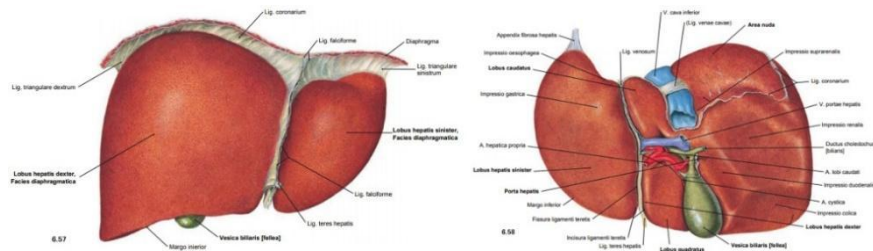
vena sentralis membentuk segitiga dengan trias porta sebagai pusatnya. Konsep asinus hepar berdasarkan perbedaan konsentrasi oksigen dan nutrisi pada aliran darah di lobulus hepar. Zona yang terdekat dengan vena sentralis disebut zona 3, zona 1 merupakan zona yang terdekat dengan perifer dan kaya akan oksigen, serta di antara zona 1 dan zona 3 adalah zona 2 (Gartner & Hiatt, 2014). Sel-sel pada zona 3 mengandung sedikit oksigen, nutrien, serta banyak mengandung enzim yang terlibat dalam proses glikolisis, pembentukan lipid, dan biotransformasi obat sehingga hepatosit di zona 3 menjadi yang pertama mengalami akumulasi lemak dan nekrosis iskemik (Gartner & Hiatt, 2014).

2.1.2. Anatomi dan Fisiologi Hepar

Hepar adalah organ kelenjar terbesar di dalam tubuh manusia dengan berat rata-rata sekitar 1200-1800 gram (Paulsen & Waschke, 2019). Hampir keseluruhan bagian dari hepar berada di bawah diafragma yang membentang dari regio hipokondriaka dextra, epigastrium dan meluas ke regio hipokondriaka sinistra (Drake *et al.*, 2012). Hepar dilapisi oleh kapsula Glissoni yang kemudian ditutupi oleh peritoneum visceral (Tortora & Derrickson, 2014). Hepar dibagi menjadi dua lobus oleh fossa vesica fellea dan vena cava inferior hepar, yaitu lobus dextra yang lebih besar dan lobus sinistra (Drake *et al.*, 2012).

Hepar dilihat dari sisi posterior akan tampak lobus dekstra, lobus sinistra, lobus kaudatus maupun lobus kuadratus (Tortora & Derrickson, 2014). Lobus kaudatus dan lobus kuadratus terletak di lobus dekstra hepatis (Drake *et al.*, 2012). Hepar melekat pada dinding anterior abdomen oleh ligamentum falciformis yang terbentang dari tepi bawah diafragma, di antara dua lobus menuju permukaan superior hepar. Di dalam ligamentum falciformis, terdapat penggantung hepar yang merupakan obliterasi dari vena umbilikal is yaitu ligamentum teres hepatis (Tortora & Derrickson, 2014). Ligamentum falciformis berjalan ke arah cranial membentuk ligamentum coronarium dan berakhir menjadi ligamentum triangular di sisi kanan dan kiri hepar menghubungkan hepar dengan diaphragma (Paulsen & Waschke, 2019).

Hepar akan menerima oksigen dan metabolit-metabolit melalui dua pembuluh darah : arteri hepatica yang membawa banyak oksigen dan vena porta hepatica yang membawa produk dari sistem pencernaan untuk diolah, disimpan dan juga di detoksifikasi sebelum disebarkan ke seluruh tubuh (Sherwood, 2019).



Gambar 2.2. Anatomi Hepar Tampak Anterior dan Posterior
(Paulsen & Waschke, 2019)

Hepar akan menerima produk yang diserap dari sistem pencernaan menandakan bahwa hepar memiliki sebuah peran dalam proses metabolisme dalam tubuh. Fungsi - fungsi hepar dalam metabolisme yang penting dalam memahami fisiologis tubuh yaitu (Hall, 2011) :

a. Metabolisme Karbohidrat

Hepar adalah organ yang penting sebagai penyeimbang kadar glukosa dalam darah. Pada keadaan kadar glukosa darah yang rendah, hepar akan membentuk glukosa dengan melakukan perombakan terhadap glikogen, asam amino, asam laktat, fruktosa dan galaktosa yang tersimpan di hepar dan kemudian melepaskannya ke dalam aliran darah. Saat glukosa darah tinggi, hepar mengubah glukosa menjadi glikogen dan trigliserid untuk disimpan.

b. Metabolisme Lemak

Hepar dapat merubah lemak menjadi sumber energi dengan melakukan oksidasi gliserol dan asam lemak menjadi asetil-KoA. Hepar juga mensintesis lemak menjadi kolesterol

dan fosfolipid yang penting untuk membentuk dan membantu fungsi sel di seluruh tubuh. Hepar juga dapat membentuk lemak dari protein dan karbohidrat yang kemudian di simpan dalam jaringan adiposa.

c. Metabolisme Protein

Hepatosit dapat merubah protein menjadi asam amino yang berguna untuk produksi ATP atau diubah menjadi karbohidrat dan lemak. Ammonia (NH_2) yang bersifat toksik diubah menjadi senyawa non toksik untuk diekskresikan di dalam urin. Hepatosit juga mensintesis protein plasma seperti α globulin, β globulin, albumin, protrombin dan fibrinogen.

d. Metabolisme Besi

Hepatosit mengandung apoferritin yang merupakan protein pengikat besi pada saat kadar besi dalam tubuh sedang turun maupun tinggi. Hepatosit akan menyimpan besi pada saat kadar besi tinggi dalam cairan tubuh dengan cara diikat oleh apoferritin menjadi ferritin. Besi juga akan dilepaskan oleh ferritin pada kondisi kadar besi yang rendah di sirkulasi. Hal ini menjelaskan fungsi apoferritin-ferritin dalam hepar sebagai penyangga besi darah dan juga sebagai tempat untuk menyimpan besi.

e. Fungsi Metabolik Hepar yang Lain

Hepar merupakan organ yang menyimpan banyak vitamin, seperti vitamin A, vitamin D dan vitamin B₁₂. Tapi hepar juga membutuhkan sebuah vitamin K untuk membuat faktor-faktor koagulasi. Selain hal itu, hepar juga dapat berfungsi untuk detoksifikasi substansi seperti alkohol dan ekskresi obat-obatan menuju kantung empedu. Hepar juga dapat mensekresi hormon tiroid dan hormon steroid seperti estrogen dan aldosteron. Fungsi lain yang dimiliki hepar adalah ekskresi bilirubin, sintesis garam empedu, penyimpanan vitamin dan mineral, fagositosis oleh sel kupffer, dan aktivasi vitamin D.

2.1.3. Kerusakan Hepar

Hepar merupakan organ yang berperan penting terhadap proses metabolisme makhluk hidup. Proses metabolisme makhluk hidup akan terganggu saat hepar mengalami kerusakan. Kerusakan pada hepar dapat terjadi karena beberapa penyebab, yaitu :

a. Obat-Obatan / Zat Toksik

Obat-obatan atau zat yang dapat mencederai hepatosit secara langsung disebut sebagai obat / zat hepatotoksik. Obat yang diberikan secara per oral atau parenteral akan diserap oleh usus untuk dibawa ke hepar melalui vena porta sehingga akan melewati proses eliminasi, biotransformasi, detoksifikasi (Katzung, 2012). Beberapa obat-obatan dapat menyebabkan

kerusakan hepar seperti asetaminofen, klorpromazin, papaverine, CCL4, dan sebagainya (Kumar *et al.*, 2015). Proses detoksifikasi obat-obatan tersebut dilakukan oleh RE halus dan peroksisom yang ada di dalam hepatosit (Katzung, 2012).

Besi dapat menjadi zat toksik untuk hepar karena zat besi dapat masuk ke hepar dibawa oleh apotransferrin di plasma. Sebagian besar zat besi disimpan di hepar dan sedikitnya di sel retikuloendotelial (Hall, 2011). Cedera pada hepatosit karena obat atau zat besi terjadi melalui perantara radikal bebas atau metabolik yang menyebabkan peroksidasi lipid membran. Selain itu, obat atau metabolitnya dapat mendistorsi membran sel atau molekul seluler lainnya, ekspor garam empedu, atau memblokir jalur biokimia atau integritas seluler mengikat secara kovalen ke protein intraseluler, mengaktifkan jalur apoptosis, atau memblokir jalur biokimia maupun integritas seluler (Fauci *et al.*, 2018). Saat hepatosit tidak mampu menetralkan zat toksik akan tampak gambaran hepatosit dengan nekrosis koagulatif, degenerasi hidropik atau perlemakan yang bervariasi ataupun inflamasi. Jika dosis zat hepatotoksik cukup besar, nekrosis dapat meluas hingga melibatkan seluruh lobulus (Rubin & Reisner, 2014). Kerusakan hepatosit seperti degenarasi dan apoptosis tersebut dapat menyebabkan aktivasi sel stelata yang menyebabkan fibrosis pada hepar (Ruoff *et al.*, 2020).

b. Alkohol

Alkohol memiliki kandungan senyawa asetaldehid yang dapat menyebabkan perlemakan hati, hepatitis alkoholik dan sirosis. Hepatosit pada perlemakan hati akibat alkohol dapat terlihat mengalami steatosis dan sel-sel menjadi nekrosis yang berakhir menjadi sirosis. Sel yang mengalami pembengkakan dan nekrosis disebut dengan *ballooning* hepatosit. Selain itu, juga terdapat struktur khusus pada hepatosit berupa gelondong kusut dari intermediat filamen di dalam sitoplasma yang disebut *Jisim Mallory-Denk*. Sel radang (neutrofil) menyusup di sekitar lobulus hepar, terutama di sekeliling hepatosit yang mengalami degeneratif (Kumar *et al.*, 2015). Penyakit perlemakan hati akibat alkohol juga menyebabkan fibrosis pada hepar (Patel & Sebastiani, 2020).

c. Virus

Semua virus yang hepatotropik dapat menyebabkan hepatitis virus. Virus hepatitis dapat menyebabkan perubahan morfologi hepar, sehingga dapat ditemukan infiltrat mononuklear, dan sebagian besar cedera parenkim tersebar di seluruh lobulus hepar sebagai "*spotty necrosis*" atau hepatitis lobular. Pada hepatitis akut juga dapat terlihat nekrosis konfluen di sekitar vena sentralis. HBsAg pada hepatitis B kronik menimbulkan pembengkakan pada retikulum endoplasma sel

hepatosit, atau bisa disebut “*ground-glass*” hepatosit (Kumar *et al.*, 2015). Fibrosis juga ditemukan pada hepar pasien dengan hepatitis B kronik (Patel & Sebastiani, 2020).

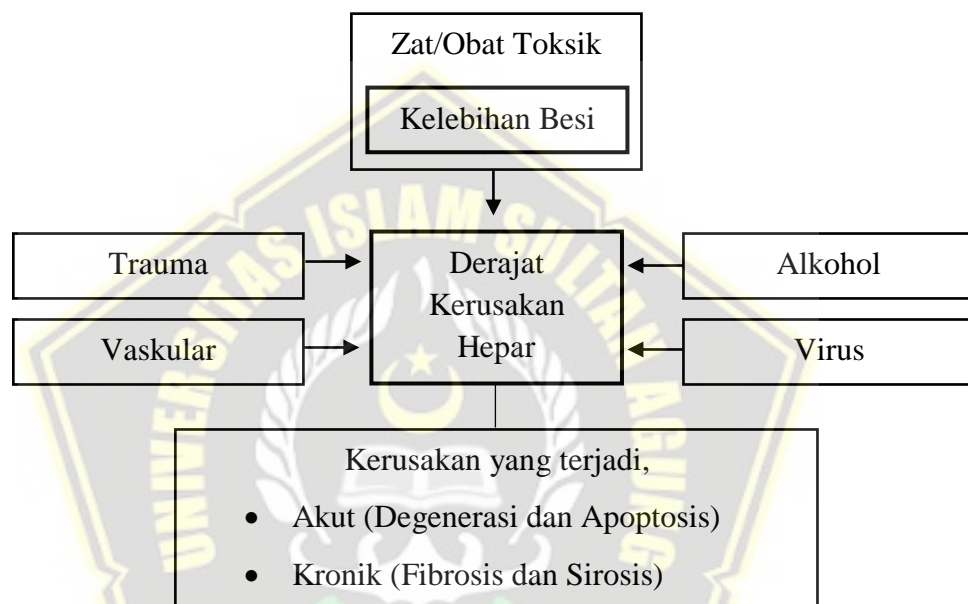
d. Trauma

Hepar sebagai organ yang penting dilapisi dengan kapsula fibrosa yang disebut kapsula glissoni dan dilindungi oleh costa (tulang rusuk) dekstra dan sinistra. Akan tetapi hepar masih beresiko untuk mengalami trauma seperti *crush injury*, luka tembak, ataupun luka tusuk (Snell, 2011). *American Association for the Surgery of Trauma* (AAST) membagi trauma pada hepar menjadi beberapa *grade* atau tingkat. Trauma pada hepar dari tingkat paling rendah terjadi jika trauma sampai ke subkapsuler yang menyebabkan hematoma dan laserasi. Tingkat paling parah yaitu saat trauma sampai mengenai vaskular dari hepar. Pada tingkat paling parah, trauma pada hepar dapat menyebabkan gangguan hemodinamik (Coccolini *et al.*, 2016). Trauma juga dapat mengaktifkan myofibroblast yang menyebabkan fibrosis pada hepar (Aydin & Akcali, 2018).

e. Vaskular

Hepar menerima darah dari arteri hepatis dan vena porta hepatis yang kemudian masuk ke jaringan hepar membentuk sebuah sistem sinusoid (Snell, 2011). Trombosis dapat terjadi menyumbat di vena porta ataupun pembuluh darah lainnya.

Gangguan vaskular tersebut jarang terjadi, akan tetapi dapat menimbulkan hipertensi portal dengan tingkat mortalitas dan morbiditas yang tinggi (Garcia-Pagán *et al.*, 2016). Indeks serum fibrosis hepar dapat digunakan sebagai penanda hipertensi porta karena peningkatan resistensi pembuluh darah terjadi pada fibrosis hepar (Wang *et al.*, 2017).



Gambar 2.3. Penyebab Kerusakan Hepar

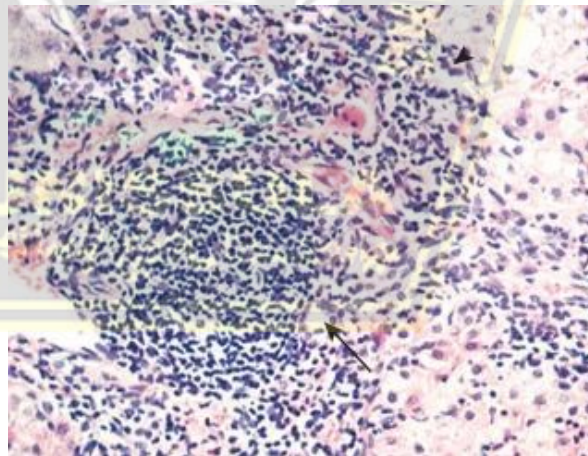
2.1.4. Gambaran Histopatologi Hepar

Hepar merupakan organ yang punya kemampuan regenerasi sangat baik. Pada kasus nekrosis hepar yang luas atau masif sebagian besar hepatosit akan mengalami penyembuhan sempurna apabila seseorang dapat bertahan dari gangguan metabolit berat akibat gagalnya hepar melakukan fungsinya (V. Kumar *et al.*, 2015). Hepar yang memiliki ragam respon terbatas terhadap cedera terdapat lima

respon yaitu : peradangan, degenerasi, nekrosis, fibrosis, dan sirosis (Johan *et al.*, 2017).

a. Peradangan

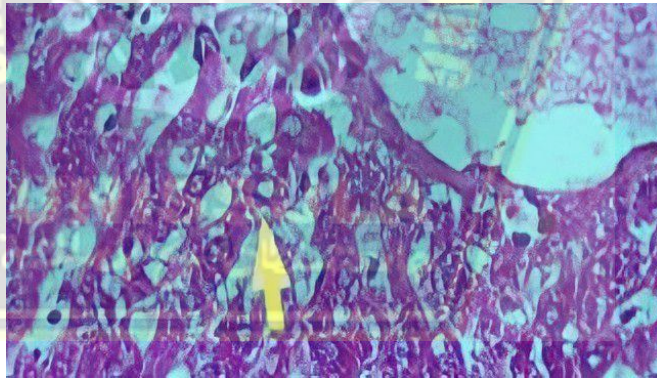
Hepatosit normal memiliki bentuk polihedral dengan inti sel ditengah, sedangkan hepatosit yang mengalami cedera karena trauma, zat kimia, bakteri maupun hal lainnya dapat menyebabkan penyusupan sel radang ke hepar yang dapat disebut hepatitis. Serangan terhadap hepatosit hidup yang mengekspresikan antigen oleh sel T yang telah tersensitisasi merupakan penyebab umum kerusakan hepar. Hepatosit yang mati akan difagosit oleh makrofag akan meninggalkan kumpulan sel radang terbatas di saluran porta atau mungkin juga dapat meluas ke parenkim hepar (Kumar *et al.*, 2015).



Gambar 2.4. Gambaran Peradangan pada Hepar (Kumar *et al.*, 2015)

b. Degenerasi

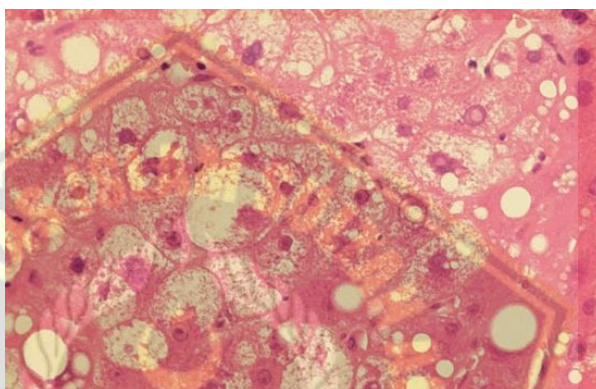
Degenerasi merupakan tanda cedera sel yang bersifat reversibel. Degenerasi parenkimatosa adalah degenerasi teringan ditandai dengan pembengkakan sel dengan sitoplasma yang keruh karena hepatosit yang gagal mempertahankan keseimbangan ion dan cairan. Cairan yang masuk kedalam sitoplasma membuat sel menjadi bengkak. Organela-organela sel juga ikut membengkak karena menyerap air yang masuk ke sitoplasma sehingga memberikan penampakan sitoplasma yang keruh atau bergranul (Meutia, 2015). Cairan masuk kedalam hepatosit karena terjadi karena kegagalan pompa ion yang tergantung energi dependen di membran plasma (V. Kumar et al., 2015).



Gambar 2.5. Gambaran Degenerasi Parenkimatosa pada Hepar (Arifuddin *et al.*, 2016).

Pada degenerasi hidropik muncul gambaran berupa sel yang juga membengkak dengan sitoplasma jernih, berserabut dan muncul vakuola-vakuola. Vakuola kecil jernih yang muncul merupakan

reticulum endoplasmik yang melebar dan lepas. Degenerasi hidropik disebut juga degenerasi lemak jika vakuola yang terbentuk akibat akumulasi lemak di dalam hepatosit. Butir lemak halus yang tidak menyebabkan nukleus bergeser disebut steatosis mikrovaskular yang ditemukan pada keadaan - keadaan seperti penyakit hepar alkoholik, sindrom Reye, dan perlemakan hepar akut pada kehamilan. (Kumar *et al.*, 2015).



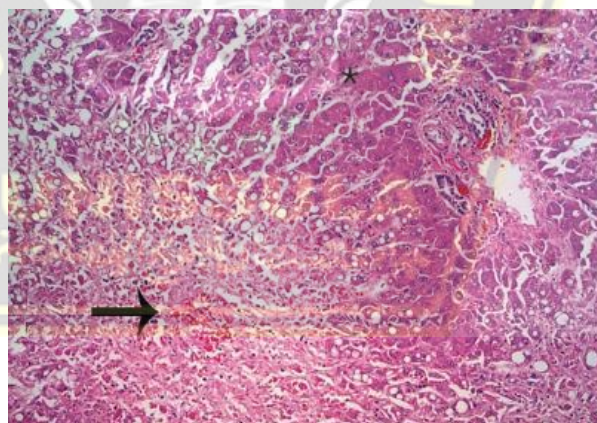
Gambar 2.6. Gambaran Degenerasi Hidropik pada Hepar (Dancygier, 2010)

c. Nekrosis

Nekrosis pada hepar merupakan perubahan morfologi akibat degenerasi yang tidak terkompensasi oleh hepatosit saat mengalami cedera. Perubahan morfologi yang terjadi ditandai dengan berubahnya inti sel. Perubahan inti sel ini terdapat tiga pola, yaitu : piknotik, karioreksis, dan kariolisis. Piknotik merupakan inti sel yang terlihat kecil dan warna basophil meningkat sehingga terlihat lebih gelap dengan sitoplasma sel kemerahan dan batasnya irregular. Kemerahan pada sitoplasma

terjadi karena peningkatan ikatan eosin dengan protein sitoplasma yang mengalami denaturasi dan akibat hilangnya warna basofil yang biasanya dijumpai pada asam ribonukleat (RNA) pada sitoplasma. Karioreksi merupakan keadaan fragmentasi atau pembentukan fragmen-fragmen pada inti sel yang kemudian hancur dan berakhir pada hilangnya inti sel di sebut dengan kariolisis. (Kumar *et al.*, 2015).

Gambaran lain dari nekrosis adalah hepatosit yang mengerut karena hilangnya integritas membran dan bocornya isi sel sehingga terjadi kerusakan sel. Isi sel yang bocor keluar akan mengakibatkan peradangan sebagai usaha untuk menghilangkan sel yang mati dan memulai proses perbaikan (V. Kumar *et al.*, 2015).

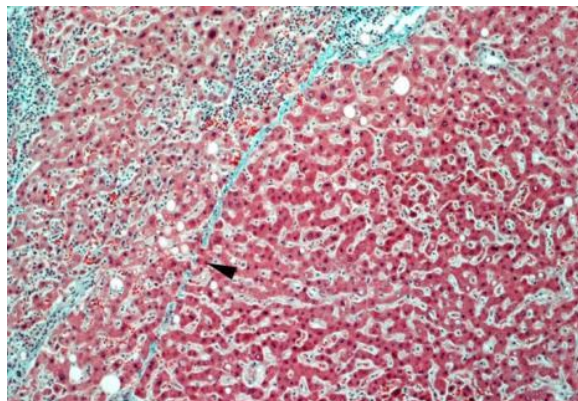


Gambar 2.7. Gambaran Nekrosis pada Hepar
(Kumar *et al.*, 2015)

d. Fibrosis

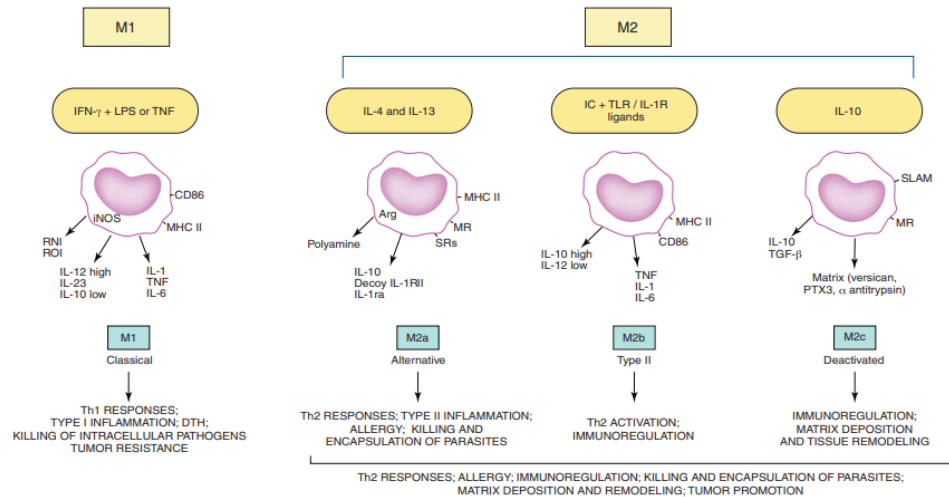
Jaringan fibrosis terbentuk sebagai respon terhadap peradangan atau gangguan toksik langsung ke hepar. Sel stelata yang teraktivasi akan berubah menjadi miofibroblas. Sel kupffer dan limfosit melepaskan sitokin dan kemokin seperti TGF β yang memodulasi fibrogenesis sel stelata. Setelah menjadi fibroblas, sel melepaskan faktor kemotaktik dan vasoaktif, sitokin dan growth factors. Miofibroblas akan berkontraksi dan mensintesis komponen matriks ekstraseluler. Fibrosis ini akan mengendap dan menutupi sel yang cedera sebagai respon penyembuhan terhadap cedera. Fibrosis pada hepar dapat teratasi atau kembali normal saat penyebab penyakit dapat teratasi atau etiologinya dapat dihilangkan (Kumar *et al.*, 2015).

Penimbunan jaringan kolagen di perisinusoid yang dihasilkan oleh sel stelata dapat berdampak konstan pada pola aliran darah hepar dan perfusi hepatosit. Fibrosis dapat meluas dari perisinusoid ke sinusoid ataupun di sekitar saluran porta atau vena sentralis. Lama kelamaan jaringan fibrosa dapat menghubungkan regio hepar dari porta-porta, porta-sentral, atau sentral-sentral yang disebut *bridging fibrosis* (Kumar *et al.*, 2015).



Gambar 2.8. Gambaran Fibrosis pada Hepar
(Lo & Kim, 2017).

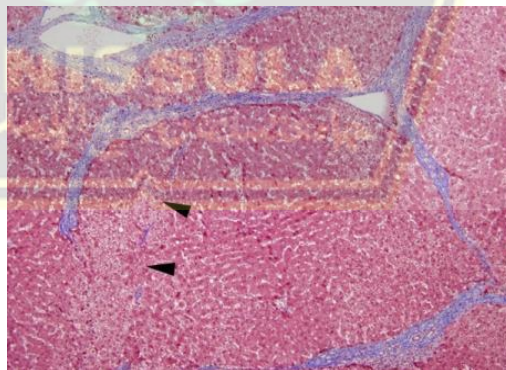
Sel Kupffer merupakan makrofag residen didalam hepar (Mescher, 2013). Makrofag akan memfagosit antigen atau partikel asing, mengeliminasi sel yang apoptosis dan mempresentasikan antigen asing ke limfosit (Bratawidjaja dan Rengganis, 2018). Monosit naive atau makrofag yang dipaparkan sitokin Th1 IFN- γ , TNF atau LPS akan berkembang menjadi M1 yang akan mengeluarkan sitokin pro-inflamasi seperti TNF (Duque dan Descoteaux, 2014). Makrofag M2 memproduksi sitokin anti-inflamasi seperti IL-4 atau IL-13, serta merangsang pembentukan fibrosis ditandai dengan peningkatan deposisi matriks ekstraseluler untuk *remodelling* jaringan hepar (Martinez & Gordon, 2014; Murray & Wynn, 2011; Weng et al., 2018).



Gambar 2.9. Mekanisme Pembentukan Makrofag M1 dan M2 (Martinez & Gordon, 2014)

e. Sirosis

Sirosis merupakan kondisi yang ditandai dengan transformasi difus pada seluruh permukaan hepar menjadi nodulus hepatosit yang ditutupi jaringan fibrosa dan neovaskularisasi, Kegagalan hepar pada penyakit hepar kronik paling sering berkaitan dengan sirosis (Kumar *et al.*, 2015).

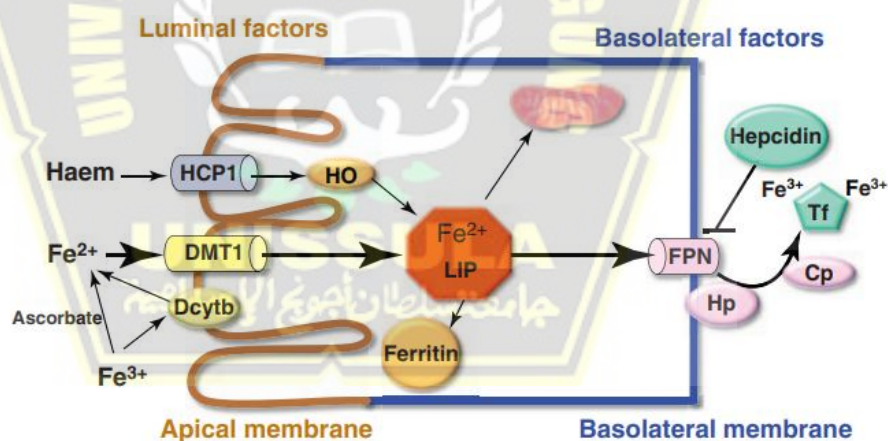


Gambar 2.10. Gambaran Sirosis pada Hepar (Lo & Kim, 2017)

2.2. Kelebihan Besi

2.2.1. Absorpsi Besi

Besi digunakan tubuh untuk membentuk hemoglobin. Manusia mengonsumsi besi normalnya adalah 15 - 20 mg/hari, tetapi pria biasanya menyerap 0,5 - 1 mg/hari ke dalam sirkulasi, dan wanita menyerap sedikit lebih banyak yaitu 1,0 - 1,5 mg/hari. Wanita memerlukan lebih banyak besi karena secara berkala wanita kehilangan besi melalui darah haid (Sherwood, 2019). Zat besi diserap oleh enterosit yang ada di duodenum dan jejunum proksimal (Katzung, 2012). Daging mengandung heme sedangkan besi anorganik seperti Fe^{3+} dan Fe^{2+} dapat ditemukan pada sayuran (Sherwood, 2019).



Gambar 2.11. Mekanisme Absorpsi Besi di Enterosit
(Murgia *et al.*, 2012)

Absorpsi besi memiliki dua fase : fase luminal yang terdiri dari transfer besi dari lumen usus ke enterosit, dan fase basolateral yang terdiri dari transfer besi dari enterosit ke pembuluh darah (Murgia et

al., 2012). Zat besi di fase luminal melewati membran apikal enterosit melalui dua mekanisme : transport heme oleh *haem carrier protein* (HCP1) dan transpor aktif Fe^{2+} oleh *divalent metal transporter 1* (DMT1). Fe^{3+} harus direduksi menjadi Fe^{2+} oleh ferrireduktase dan *duodenal cytochrome b* (Dcytb) untuk ditransporkan ke enterosit oleh DMT1 (Sherwood, 2019). Besi di dalam enterosit memiliki tiga kemungkinan rute : penyimpanan menjadi feritin, penggunaan intraseluler oleh terutama oleh mitokondria, atau diekspor ke darah oleh ferroportin (FPN) (Murgia et al., 2012). Mekanisme *mucosal block* memungkinkan enterosit yang terpapar besi dosis besar tidak akan menyerap besi berikutnya sampai mereka digantikan oleh enterosit baru setelah lima sampai enam hari (Stoffel et al., 2020)

Hepcidin memegang peranan penting transpor besi di sisi basolateral. Besi diangkut secara aktif ke dalam darah menembus membran basolateral oleh ferroportin dan dioksidasi menjadi Fe^{3+} oleh hephaestin. Hepcidin yang berasal dari hati menghambat pelepasan besi sel usus dengan mengikat ferroportin dan memicu internalisasi dan destruksinya. Kelebihan besi disimpan di sel epitel usus sebagai feritin (Katzung, 2012). Hepcidin diatur secara negatif oleh status zat besi tubuh, dan diatur secara positif oleh peradangan. Akibatnya, dalam kondisi status zat besi rendah dan tanpa adanya peradangan, penyerapan zat besi menjadi tinggi, sedangkan dengan

adanya peradangan, seperti yang terjadi pada infeksi, penyerapannya berkurang (Murgia et al., 2012).

2.2.2. Pengertian Kelebihan Besi

Kadar normal zat besi pada tubuh orang dewasa sekitar 2 sampai 4 gram (Katzung, 2012). Kelebihan zat besi dalam plasma terjadi akibat terganggunya homeostasis besi sistemik (Pantopoulos, 2018). Transferrin akan mengikat zat besi yang ada di dalam plasma untuk disimpan dalam organ (Karuniawati, Benny, 2016) sehingga akan terkumpul menjadi sebuah timbunan besi di dalam sel (Gujja *et al.*, 2010). Hal itu menjelaskan bahwa kondisi penimbunan atau penyimpanan besi dalam sel atau organ juga dapat disebut atau dapat terjadi karena kondisi kelebihan besi plasma atau *iron overload*.

2.2.3. Etiologi Kelebihan Besi

Primary Iron Overload atau Hemokromatosis herediter merupakan kelebihan besi yang diwariskan, salah satu penyebab yang paling umum karena adanya mutasi gen (C282Y dan H63D) dari gen HFE (Radford-Smith *et al.*, 2018). *Primary Iron Overload* ditandai dengan mekanisme peningkatan absorpsi besi di usus padahal dengan diet besi yang normal (Gujja *et al.*, 2010). Hemochromatosis didapat atau *Secondary iron overload* disebabkan oleh masuknya zat besi berlebih ke dalam tubuh dan diketahui penyebabnya. Kondisi yang dapat menyebabkan kelebihan besi

melalui transfusi darah, hemolisis atau konsumsi parenteral ataupun asupan besi berlebih (Kumar *et al.*, 2015).

a. Transfusi darah

Pemberian transfusi darah dilakukan jika konsentrasi hemoglobin berada di bawah 7 g/100 mL darah lengkap, dikatakan normal pada laki-laki adalah 13-18 g/100 mL dan 12-16 g/100 mL untuk perempuan (Sherwood, 2019). Transfusi darah jangka panjang dapat membuat penimbunan zat besi yang progresif pada pasien dengan kasus anemia karena kelainan genetik seperti thalassemia ataupun anemia sel sabit (Brissot *et al.*, 2019)

Penderita thalassemia diharuskan untuk mengkonsumsi obat kelasi besi saat melakukan transfusi darah untuk mencegah terjadinya *secondary iron overload* karena tambahan zat besi dari sel darah merah yang ditransfusikan padahal penyerapan zat besi pada penderita thalassemia usus sudah berlebihan dalam mengabsorpsi zat besi (Kumar *et al.*, 2015). Apalagi zat besi dalam tubuh manusia tidak dapat diekskresikan. Zat besi dapat dikeluarkan oleh tubuh hanya 1 mg/hari melalui eksfoliasi sel-sel mukosa usus, keringat, urin ataupun melalui empedu (Katzung, 2012). Pada kasus *primary iron overload* didapatkan kegagalan pengaturan penyerapan zat besi di usus sehingga

menyebabkan pengumpulan besi bersih sebanyak 0,5 - 1 g setiap tahunnya (Kumar *et al.*, 2015).

Labile plasma iron (LPI) akan positif dengan pemberian dosis tinggi besi venofer sekitar adalah 250 mg/bulan atau 8,33 mg/ hari (Bnaya *et al.*, 2020; Kosch *et al.*, 2001). Tapi hanya sekitar 1 mg zat besi akan diekskresi setiap harinya (Katzung, 2012). Jika diberikan 1,5 mg zat besi secara intravena dengan ekskresi sekitar 1 mg setiap hari maka 0,5 mg zat besi akan disimpan dalam tubuh sehingga dapat memberikan fibrosis pada jantung (Sarosa *et al.*, 2020).

b. Hemolisis

Hemoglobin adalah protein yang mengandung besi yang terdapat dalam eritrosit. Besi yang tergabung dengan globin dalam eritrosit akan secara utuh dibebaskan ke cairan tubuh pada saat terjadi hemolisis (eritrosit yang pecah/rupture/degenerasi) (Sherwood, 2019). Padahal hemoglobin merupakan sumber besi utama tubuh, sekitar 70% (Qamariah & Yanti, 2018). Pada saat terjadi pemecahan eritrosit yang berlebihan akan banyak besi yang bebas di cairan tubuh menyebabkan kondisi *iron overload*.

Gagalnya eritropoesis juga menyebabkan kondisi kelebihan besi. Eritroid adalah benih atau cikal bakal eritrosit yang ada di dalam sumsum tulang. Kematian benih eritrosit di sumsum

tulang dapat meningkatkan absorpsi zat besi dari usus yang dapat menyebabkan kelebihan besi, sehingga menyebabkan kerusakan hepar, jantung ataupun organ endokrin lainnya (Kumar *et al.*, 2015).

c. Asupan besi berlebih

Rata-rata manusia mengkonsumsi 10-15 mg besi dari porsi makanannya setiap hari. Sekitar 5-10% dari total besi yang dikonsumsi atau 1-1,5 mg besi diserap oleh duodenum dan jejunum proksimal. Besi yang diserap oleh usus terdiri dari besi heme dari daging dan besi anorganik (Fe^{3+} dan Fe^{2+}) dari sayur-sayuran atau padi-padian. Besi heme lebih mudah untuk diserap tanpa harus diuraikan terlebih dahulu sedangkan Fe^{3+} harus direduksi terlebih dahulu sebelum diserap oleh mukosa usus oleh ferireduktase menjadi besi Fero (Fe^{2+}) (Katzung, 2012).

Pengaturan jumlah besi dalam tubuh manusia di atur dengan mengatur kecepatan absorpsi di usus. Pada saat tubuh kekurangan besi, kecepatan absorpsi besi di usus akan ditingkatkan. Sebaliknya, pada saat tubuh kelebihan zat besi, kecepatan absorpsi besi di usus akan diturunkan (Hall, 2011). Asam askorbat atau vitamin C dapat meningkatkan penyerapan besi, terutama dengan mereduksi besi feri menjadi fero (Sherwood, 2019). Perubahan feri menjadi fero memudahkan sel-sel mukosa usus menyerap besi tersebut. Tapi, pada *African*

Dietary Iron Overload, konsumsi bir tradisional dalam jumlah banyak yang dibuat di dalam drum atau pot besi dapat menyebabkan kondisi kelebihan besi yang dapat menyebabkan fibrosis portal hepatic dan sirosis (Kew & Asare, 2007; Moyo *et al.*, 1997)..

2.2.4. Patogenesis Kerusakan Hepar Karena Kelebihan Besi

Duodenum dan jejunum proksimal adalah bagian usus yang berperan untuk mengabsorpsi zat besi (Katzung, 2012). Besi non heme diangkut menembus membran apikal dan basolateral dari sel mukosa usus kemudian direduksi oleh ferireduktase menjadi besi ferro (Fe^{2+}) yang akan diangkut menembus membrane apikal oleh *divalent metal transporter-1* (DMT1). Kemudian ferroportin memindahkan zat besi dari sitoplasma sel usus ke plasma dengan menembus membran basolateral. Zat besi yang baru diserap kemudian dioksidasi oleh hephaestin dan ceruloplasmin menjadi zat besi ferri (Fe^{3+}) sebagai bentuk ion yang berikatan dengan transferrin. DMT1 dan ferroportin tersebar di seluruh tubuh untuk ikut dalam transpor besi jaringan lain (Kumar *et al.*, 2015).

Pada saat tubuh kelebihan zat besi maka sebagian besar zat besi masuk ke sel duodenum dan diserahkan kepada ferritin dalam sitoplasma sel usus dan kemudian hilang bersama sel usus yang terlepas. Homeostasis besi tubuh juga diatur oleh hepsidin yaitu peptida hepatic kecil yang dibuat dan dikeluarkan pada keadaan yang

bergantung kepada zat besi. Hepsidin plasma mengikat ferroportin dan merangsang penyebaran dan pengurangannya. Apabila kadar hepsidin tinggi maka kadar ferroportin turun dan sedikit besi yang di absorpsi. Sebaliknya apabila kadar hepsidin rendah maka pengangkutan basolateral zat besi meningkat, yang dapat menyebabkan kelebihan besi sistemik (Kumar *et al.*, 2015). Kelebihan besi dapat terjadi saat ferroportin mulai resisten terhadap hepsidin (Neves *et al.*, 2017).

Selain dari absorpsi di usus, sumber zat besi tubuh juga dari *recycle* besi yang ada di dalam eritrosit (Hall, 2011). Pada saat eritrosit tua difagosit oleh makrofag akan dihasilkan agregat coklat padat dari feritin yang didenaturasi dengan banyak atom besi terikat (Mescher, 2013). Hemosiderin akan banyak ditemukan di jaringan pada saat kondisi lokal atau sistemik sedang kelebihan besi. Besi seharusnya banyak disimpan dalam ferritin. Hemosiderin dapat dijumpai normal pada sumsum tulang, lien, dan hepar dalam jumlah yang sedikit. Maka dari itu akumulasi hemosiderin yang berlebihan adalah tanda patologis kelebihan besi (Kumar *et al.*, 2015).

2.3. Penilaian Kerusakan Hepar

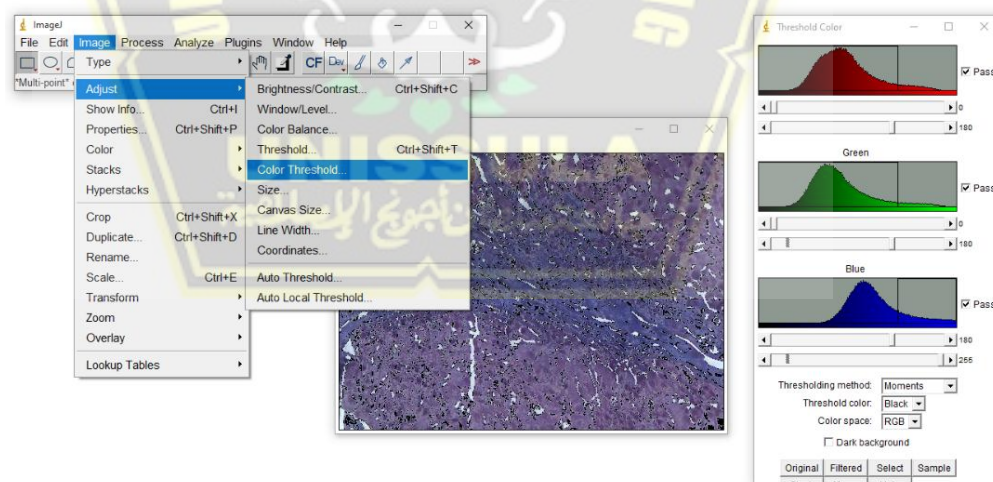
Penilaian kerusakan hepar dengan tujuan menilai fraksi area fibrosis lebih baik dilakukan pada preparat dengan pewarnaan masson trikrom dibandingkan dengan pewarnaan hematoksilin dan eosin. Perbedaan

kolagen dengan jaringan lain akan terlihat karena kolagen akan berwarna hijau-biru atau biru pada pewarnaan masson trikrom (Mescher, 2013).

Tabel 2.1. Perbedaan Perwarnaan Hematoksilin dan Eosin dengan Masson Trikrom pada Jaringan (Suvarna et al., 2013)

Jaringan	Pewarnaan	
	Hematoksilin dan Eosin	Masson Trikrom
Otot	Merah muda (gelap)	Merah
Kolagen	Merah muda (gelap)	Biru/hijau
Elastin	Merah muda (gelap)	Biru/hijau
Retikulin	Merah muda (gelap)	Biru/hijau
Fibrin	Merah muda	Merah

Gambar digital dapat diambil menggunakan opti lab yang dipasang di mikroskop cahaya. Analisis gambar dapat menggunakan *image analysis software* seperti ImageJ (*National Institutes of Health*). *Software* ImageJ merupakan *software* analisis gambar yang bebas digunakan dan merupakan *software* yang paling sering digunakan untuk penilaian fraksi area (Suvarna et al., 2013).



Gambar 2.12. Tampilan software *ImageJ*

2.4. Hubungan Kelebihan Besi dan Histopatologi Hepar

Efek toksik besi pada kondisi kelebihan besi sistemik terjadi ketika besi terakumulasi secara berlebihan di jantung, hepar, pankreas, dan organ lain (Katzung, 2012). *Non transferrin bound iron* (NTBI) dan *Labile plasma iron* (LPI) akan terbentuk saat transferrin tidak dapat membawa besi yang berlebihan karena ferroportin yang resisten terhadap hepsidin. LPI dapat masuk ke dalam sel melalui jalur kanonik dan jalur alternatif lainnya dan berpartisipasi dalam peningkatan *labile cellular iron* (LCI) (Pilo & Angelucci, 2019). LCI bersifat toksik karena memiliki kandungan Fe^{2+} aktif redoks (Nakamura *et al.*, 2016). LCI yang berlebihan dapat masuk ke mitokondria untuk ikut serta dalam meningkatkan kadar ROS sehingga mengakibatkan perubahan gambaran histopatologi pada hepar berupa cedera hepatosit (Pilo & Angelucci, 2019). Penyimpanan besi yang berlebihan di hepar dapat merubah gambaran hepar melalui mekanisme berikut ini (Kumar *et al.*, 2015) :

a. Peroksidasi lipid oleh reaksi radikal bebas yang dikatalisasi besi

Keadaan stress oksidatif akan terjadi karena peningkatan kadar *reactive oxygen species* (ROS) pada saat terjadi ketidakseimbangan kadar aktif reduksi-oksidasi (redoks) di intraseluler (Pilo & Angelucci, 2019). ROS adalah oksigen tidak stabil yang akan bergabung dengan zat kimia anorganik atau organik seperti asam nukleat dan juga berbagai protein sel dan lipid (Kumar *et al.*, 2015). ROS dalam bentuk kecil dihasilkan oleh mitokondria selama proses respirasi sel dan

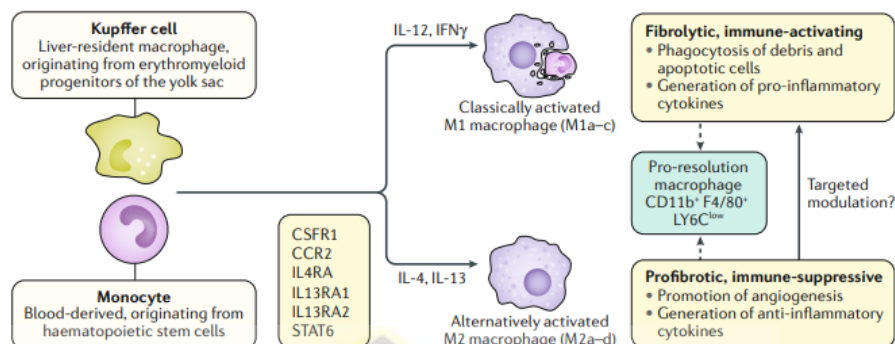
pembentukan energi. Hasil sementara tersebut adalah superoksida (O_2^-) yang akan diubah menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2) secara spontan dipengaruhi enzim superoksida dismutase. Hidrogen peroksida juga dihasilkan saat proses peradangan. Hidrogen peroksida yang terbentuk dapat bertemu dengan Fe^{2+} akan menjadi hidroksil radikal ($\bullet OH$) yang lebih reaktif. Ikatan rangkap pada membran lemak *polyunsaturated* sangat rawan terhadap serangan ROS. Interaksi lemak dengan radikal menghasilkan peroksida yang tidak stabil dan reaktif sehingga akan terjadi reaksi rantai autokatalitik yang berakhir menjadi kerusakan membrane (V. Kumar et al., 2015).

Membran plasma hepatosit yang rusak dapat menyebabkan kegagalan pompa ion yang tergantung energi dependen (Kumar *et al.*, 2015). Gagalnya pompa ion di membran plasma mengakibatkan cairan masuk ke hepatosit mengakibatkan degenerasi pada hepatosit (Craft *et al.*, 2018). Degenerasi yang tidak teratasi etiologinya akan menyebabkan membran plasma pecah dan terjadi nekrosis (V. Kumar et al., 2015).

b. Stimulasi pembentukan kolagen

Kelebihan besi akan mengaktifkan sel kupffer yang kemudian akan merangsang sel stelata untuk memproduksi kolagen (Bacon *et al.*, 2011; Kim *et al.*, 2017). Sel Kupffer adalah makrofag *resident* atau monosit yang masuk ke hepar dari sirkulasi (Mescher, 2013). Makrofag memiliki 2 fenotipe, yaitu : makrofag M1 yang muncul pada inflamasi akut dan makrofag M2 yang muncul pada fase lanjut (Safithri, 2018). Perubahan

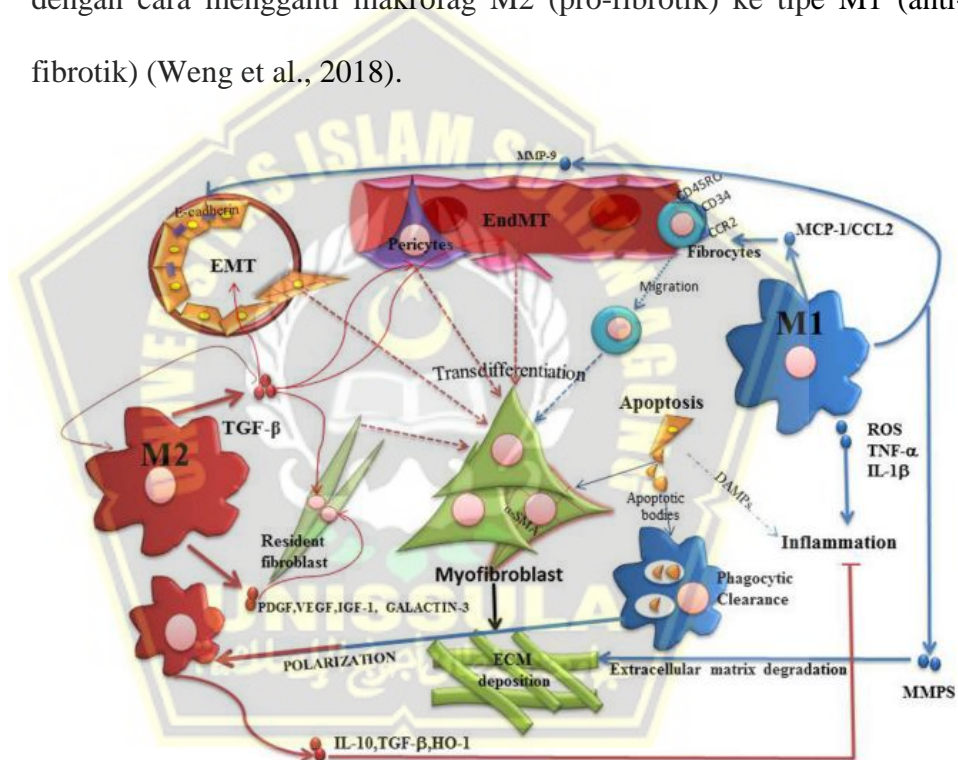
makrofag memainkan peran utama terhadap pembentukan dan pelemahan fibrosis hati karena mengatur *signalling* antar sel, sitokin, dan protease (Luo *et al.*, 2019).



Gambar 2.13. Polarisasi dan fenotipe makrofag pada inflamasi dan fibrosis hepar (Kazankov *et al.*, 2019)

Monosit dapat terpolarisasi menjadi makrofag tipe M1 atau tipe M2 (Kazankov *et al.*, 2019). Makrofag M1 mewakili titik awal proses pro-fibrotik karena M1 melepaskan sitokin dan kemokin pro-inflamasi yang secara tidak langsung mendorong proliferasi miofibroblas. M1 dapat melepaskan CCL2 untuk perekrutan fibrosit dan melepaskan MMP-9 untuk mempromosikan EMT/EndoMT. *Epithelium to mesenchymal* (EMT) atau *endothelium to mesenchymal* (EndoMT) merupakan sumber lain dari *myofibroblast*. Makrofag M1 juga memiliki efek anti-fibrotik dengan melepaskan MMP yang menurunkan ECM (Braga *et al.*, 2015). Makrofag M1 dapat meningkatkan jumlah sel NK, yang melepaskan *TNF-related apoptosis-inducing ligand* (TRAIL), untuk menginduksi apoptosis sel stelata (Ma *et al.*, 2017).

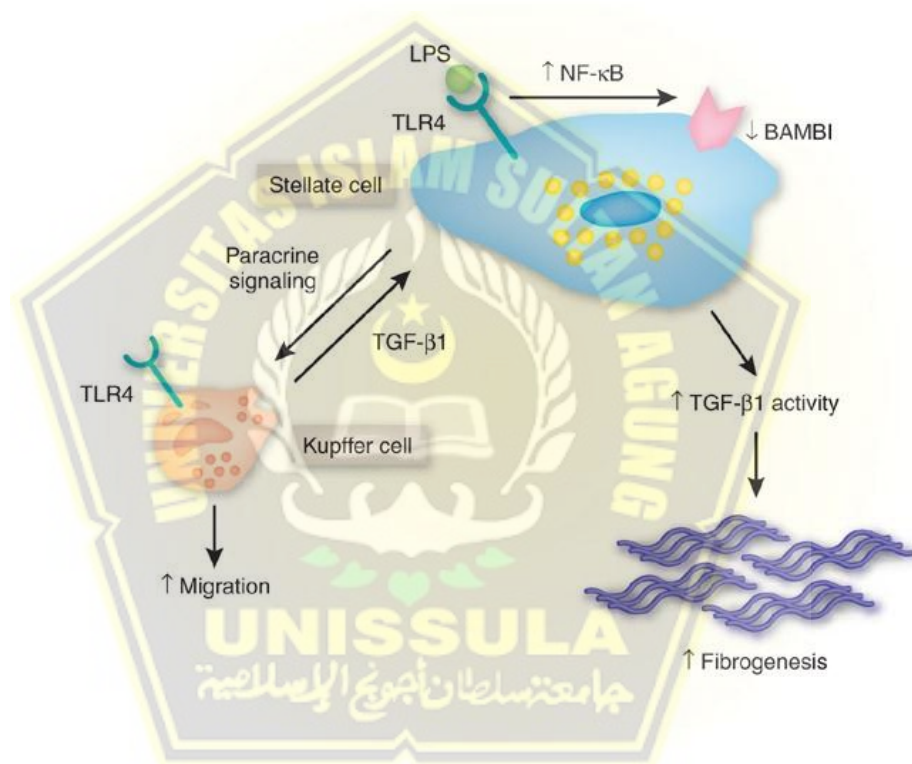
Makrofag M2 dihasilkan oleh fagositosis atau stimulasi sitokin Th2. M2 awalnya merupakan sel anti inflamasi melalui pelepasan IL10, arginase, TGF β dan HO-1. Tetapi ketika kerusakan berlanjut, M2 menyebabkan fibrosis karena pelepasan TGF β dan faktor pertumbuhan lainnya. Maka dari itu, modulasi makrofag adalah hal yang penting untuk mengontrol kontrol fibrosis (Braga et al., 2015). Target farmakologis untuk menghambat penyembuhan luka fibrogenik adalah dengan cara mengganti makrofag M2 (pro-fibrotik) ke tipe M1 (anti-fibrotik) (Weng et al., 2018).



Gambar 2.14. Hubungan Makrofag M1 dan M2 terhadap pembentukan Fibrosis (Braga et al., 2015).

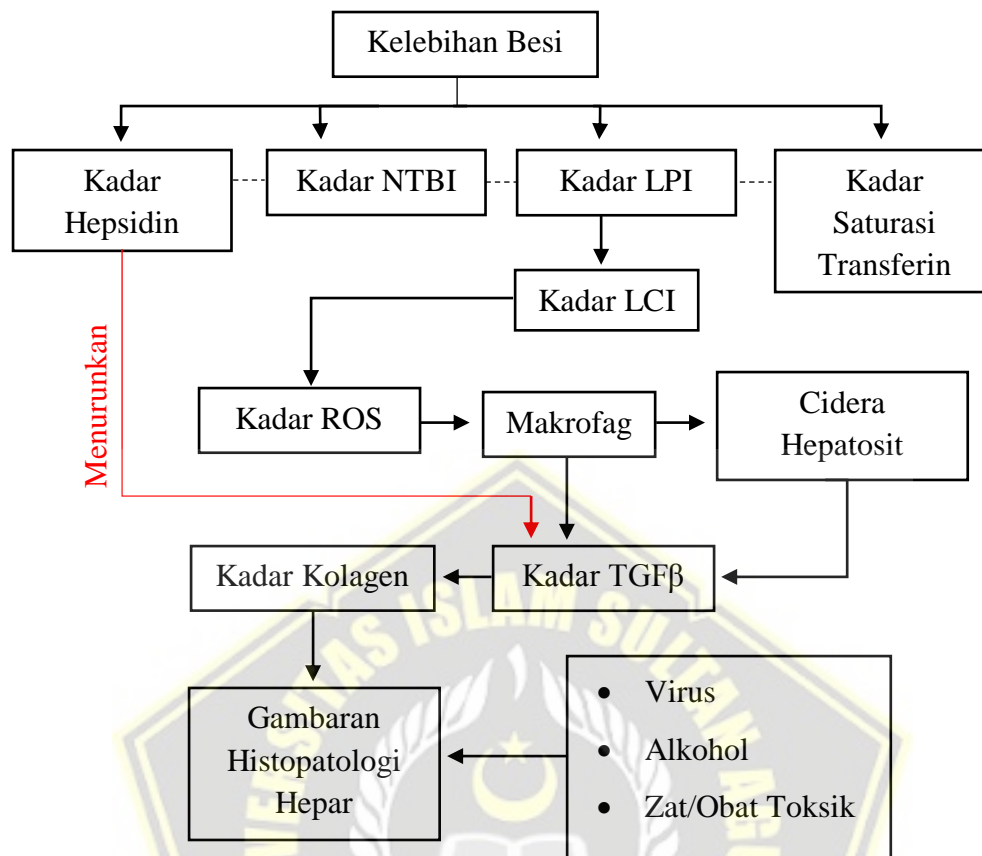
Sel kupffer dan limfosit melepaskan sitokin dan kemokin seperti TGF β yang memodulasi fibrogenesis sel stelata. TGF β merangsang produksi kolagen, fibronectin, dan proteoglikan, dan meningkatkan aktivitas inhibitor proteinase dikenal sebagai TIMPs untuk mencegah

degradasi kolagen, sehingga terbentuknya fibrosis hepar setelah terjadi radang kronik. Kolagen tipe I, II, III, dan V akan membentuk fibril karena adanya hubungan silang lateral dari tripel heliks yang merupakan bagian terbesar dari jaringan ikat pada penyembuhan luka dan khususnya pada jaringan parut (Kumar *et al.*, 2015). Kolagen di jaringan dapat dilihat di preparat dengan pewarnaan sirius red atau masson trikrom (Kaimori *et al.*, 2017).



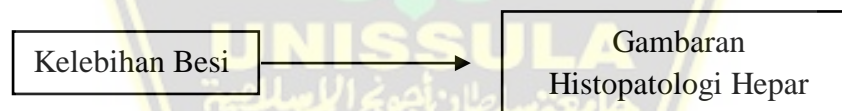
Gambar 2.15. Fibrogenesis pada Hepar
(Friedman, 2007)

2.5. Kerangka Teori



Gambar 2.16. Bagan Kerangka Teori

2.6. Kerangka Konsep



Gambar 2.17. Bagan Kerangka Konsep

2.7. Hipotesis

Kelebihan besi berpengaruh terhadap gambaran histopatologi hepar mencit Balb/c jantan.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental (*true experimental research*) yang menggunakan rancangan penelitian “*post-test control grup design*”.

3.2. Variabel dan Definisi Operasional

3.2.1. Variabel Penelitian

3.2.1.1. Variabel Bebas

Kelebihan besi.

3.2.1.2. Variabel Terikat

Gambaran histopatologi hepar.

3.2.2. Definisi Operasional

3.2.2.1. Kelebihan Besi

Kelebihan besi merupakan kondisi peningkatan kadar zat besi karena pemberian sukrosa besi intra peritoneal secara berkala dengan dosis 1,5 mg atau 0,3 cc dalam jangka waktu 60 hari (Sarosa *et al.*, 2020). Sukrosa besi diberikan kepada subjek penelitian sesuai dengan kelompok perlakuan.

Skala data : nominal

3.2.2.2. Gambaran Histopatologi Hepar

Gambaran histopatologi hepar adalah persentase area fraksi fibrosis pada preparat hepar dengan pengecatan trikrom masson yang diamati dalam lima lapang pandang pada zona 2. Pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop cahaya perbesaran 400x (lensa okuler 10x dan lensa objektif 40x).

Skala : rasio

3.3. Populasi dan Sampel

3.3.1. Populasi Penelitian

Populasi Penelitian ini adalah mencit Balb/c yang dipelihara di Laboratorium Hewan Coba Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

3.3.2. Sampel Penelitian

Besarnya sampel penelitian berdasarkan ketentuan WHO yang menyebutkan jumlah minimal hewan coba tiap kelompok adalah 5 ekor. Untuk menghindari *lost to follow up*, maka peneliti menambah 1 sampel pada setiap kelompok. Untuk penelitian kali ini, sampel dibagi dalam 2 kelompok. Oleh karena itu, sampel yang digunakan sebanyak 12 ekor mencit Balb/c jantan yang memenuhi kriteria inklusi sebagai berikut :

3.3.2.1. Mencit sehat, bergerak aktif dan tidak ada kelainan anatomis

3.3.2.2. Umur 8 minggu

3.3.2.3. Berat badan 30 - 40 gram

3.3.2.4. Belum pernah digunakan untuk penelitian sebelumnya.

Kriteria *drop out* yaitu apabila mencit yang mati selama penelitian berlangsung dan masuk kriteria eksklusi yaitu apabila mencit mengalami kecacatan secara anatomis selama penelitian berlangsung.

3.3.3. Cara Pengambilan Sampel

Hewan coba yang digunakan sebanyak 12 ekor mencit Balb/c jantan yang dibagi menjadi 2 kelompok, dengan setiap kelompok terdiri dari 6 ekor (sudah termasuk 1 ekor jantan sebagai cadangan *lost of follow*). Pengambilan sampel secara random dengan menggunakan sistem pengundian (*simple random sampling*).

3.4. Alat dan Bahan Penelitian

3.4.1. Alat Penelitian

- a. Timbangan mencit
- b. Kandang mencit lengkap dengan tempat pakan dan minumannya.
- c. Sarung tangan
- d. Pisau bedah

- e. *Scalpel*
- f. Pinset
- g. Gunting anatomi
- h. Jarum
- i. Mikroskop cahaya dengan lensa okuler perbesaran 10x dan lensa objektif perbesaran 10x, 40x, dan 100x
- j. Klem
- k. Kamera atau opti lab
- l. Laptop atau computer

3.4.2. Alat Pembuatan Preparat Histopatologi Hepar

- a. Mikrotom
- b. Rak pengecatan
- c. Pipet pastour
- d. Tissue
- e. Kassa
- f. *Object glass*
- g. *Cover glass*

3.4.3. Spesimen Pemeriksaan : Hepar

3.4.4. Bahan Penelitian

- a. Besi sukrosa (Venofer®)
- b. NaCl 0,9%
- c. Pelarut obat (Aquabidest, CMC dan Nipagin)

- d. Xylol
- e. Alkohol bertingkat
- f. *Aquadest*
- g. *Iodine*
- h. *Sodium Thiosulfate*
- i. *Celestine blue-Hematoxylin*
- j. *Methyl blue*
- k. *Acetic acid 1%*
- l. *Acid fuchsin*
- m. *Phosphomolybdic acid*
- n. Kanada balsam

3.5. Cara Penelitian

3.5.1. Penentuan Dosis

Dosis besi sukrosa ditentukan sesuai dengan penelitian yang sudah dilakukan sebelumnya (Sarosa *et al.*, 2020), yaitu menggunakan besi sukrosa (Venofer®) dengan dosis 1,5 mg (0,3 cc) dan pelarut obat (Aquabidest, CMC dan Nipagin) 0,5 cc per intra peritoneal yang akan diberikan setiap hari selama 60 hari.

3.5.2. Pelaksanaan Penelitian

Mencit yang akan diteliti sebelumnya dilakukan penilain dari berat badannya. Setelah mencit diadaptasikan selama 1 minggu, kemudian mencit dibagi secara acak menjadi 2 kelompok, masing-

masing kelompok terdiri dari 5 ekor mencit dan 1 ekor mencit untuk menghindari *lost to follow up* (WHO, 2008). Dari 2 kelompok tersebut diberikan perlakuan selama 60 hari.

a. Kelompok I

Kelompok I terdiri dari 6 mencit jantan yang setiap hari diberi makan standar, 0,3 cc NaCl + S secara intra peritoneal, dan 0,5 cc aquabidest, CMC serta nipagin sebagai pelarut obat.

b. Kelompok II

Kelompok II terdiri dari 6 mencit jantan yang setiap hari diberi makan standar, 0,3 cc atau 1,5 mg Fe + S (Venofer[®]) secara intra peritoneal, dan 0,5 cc aquabidest, CMC serta nipagin sebagai pelarut obat.

3.5.3. Pembuatan Preparat Histopatologi

Mencit di anastesi menggunakan pentobarbital 60 mg/kgBB secara intra peritoneal untuk kemudian dilakukan terminasi dengan metode dekapitasi untuk kemudian diambil heparnya. Hepar yang sudah diambil kemudian dibilas dengan Natrium Clorida (NaCl) fisiologis. Jaringan hepar yang telah dibilas akan difikisasi dengan buffer formalin 10% selama 24 jam supaya struktur sel dapat dipertahankan. Kemudian hepar didehidrasi agar tidak ada air dalam jaringan dengan alkohol bertingkat 70%, 80%, 90%, 95% dan 100% masing-masing selama 1 jam. Setelah dilakukan dehidrasi dilanjutkan dengan proses penjernihan menggunakan xylol/benzene

selama 1 jam. Selanjutnya adalah proses pemendaman dengan meletakkan jaringan hepar pada suatu wadah yang terdapat parafin cair pada suhu 58° C selama 90 menit. Kemudian jaringan hepar yang berada di dalam blok parafin dipotong menggunakan mikrotom dengan ketebalan 4 mikrometer dan diletakkan di atas kaca objek untuk dilakukan pemulasan dengan masson trikrom. Pemulasan masson trikrom dilakukan secara berurutan dengan metode seperti berikut :

- a. Deparafinasi dengan xylol, kemudian bilas dengan air
- b. Hapus pigmen merkuri dengan larutan *iodine*, natrium tiosulfat
- c. Bilas perlahan dengan air
- d. Pewarnaan inti sel atau nucleus dengan metode *celestine blue-hematoxylin*
- e. Bedakan dengan *acid alcohol* 1%
- f. Bilas perlahan dengan air
- g. Pewarnaan dalam larutan fuchin acid selama 5 menit
- h. Bilas dengan *aquadest*
- i. Rendam dalam larutan *phosphomolybdic acid* selama 5 menit
- j. Keringkan
- k. Pewarnaan dengan *methyl blue* selama 2-5 menit
- l. Bilas dengan *aquadest*
- m. Rendam dalam asam asetat 1% selama 2 menit
- n. Dehidrasi dengan alkohol bertingkat

- o. Penjernihan menggunakan xylol I
- p. Preparat diangkat untuk dilakukan perekatan atau *mounting* dengan kanada balsam.

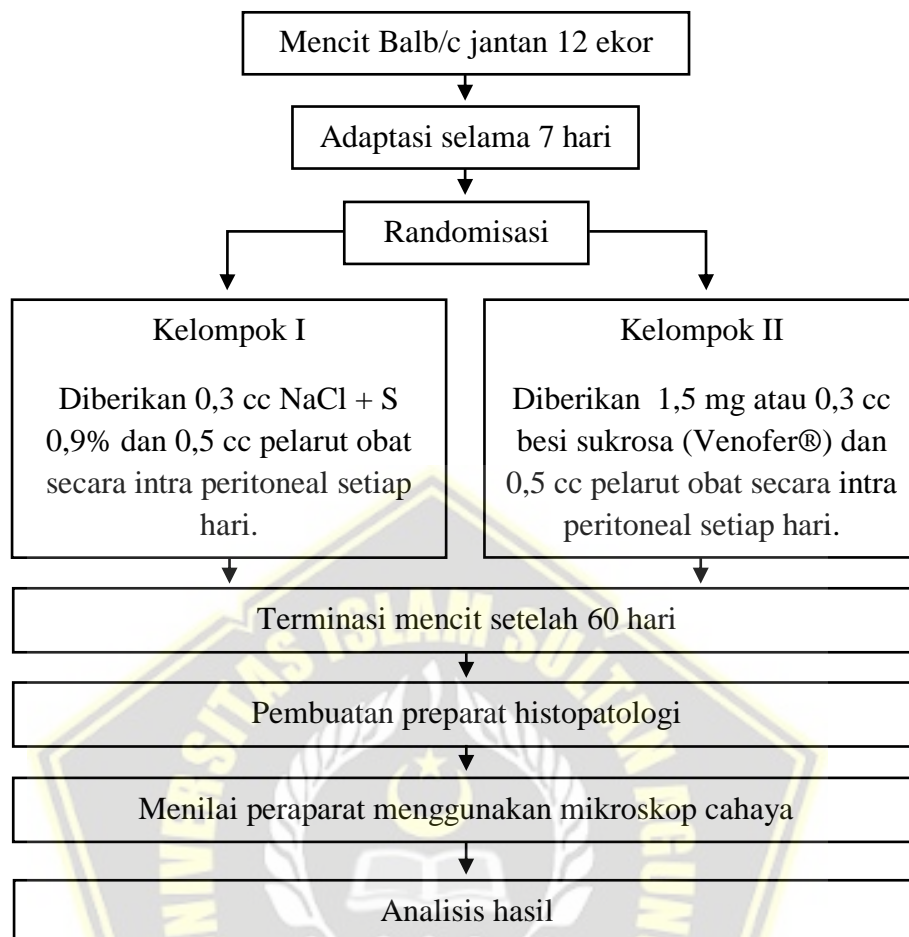
3.5.4. Pembacaan Preparat Histopatologi

Preparat histopatologi hepar yang telah dibuat dan dipulas dengan pulasan masson trikrom, kemudian diamati dibawah mikroskop yang sudah dilengkapi dengan *opti lab* dalam lima lapang pandang yang berbeda di zona 2, dengan perbesaran 400 X. Gambar yang telah didapatkan akan diolah menggunakan *software* ImageJ untuk mengetahui presentase area fraksi fibrosis di interstitial.

Pembacaan preparat dilakukan pada zona 2 untuk menghindari bias dari kerusakan yang pasti terjadi pada zona 3 karena hipoksia akut saat dilakukan terminasi. Gambaran kerusakan hepar seperti nekrosis koagulatifa dapat muncul di zona 3 pada kondisi hipoksia akut (Xanthopoulos *et al.*, 2019)

Fibrosis atau kolagen pada hepar akan terwakili dengan warna hijau-biru atau biru pada pengecatan masson trikrom. Warna biru atau biru-hijau akan diwakilkan dengan warna biru RGB dengan metode *color thresholding* dan *color moments*. Sensitifitas penilaian diatur berdasarkan penentuan nilai spesifik warna RGB dan histogram warna tiap gambar. Warna biru dengan nilai spesifik 180 hingga 255 sedangkan warna merah dan hijau dengan nilai spesifik 0 hingga 170 atau 0 hingga 180 (Hong *et al.*, 2019).

3.6. Alur Penelitian



Gambar 3.1. Bagan Alur Penelitian

3.7. Tempat dan Waktu Penelitian

3.7.1. Tempat Penelitian

- a. Pemeliharaan dan penelitian hewan coba dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
- b. Pembuatan preparat dilakukan di Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

3.7.2. Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan mulai bulan Juli 2021 sampai dengan bulan September 2021.

3.8. Analisis Hasil

Analisis data untuk penelitian kuantitatif terbagi menjadi dua analisis sebagai berikut :

3.8.1. Analisis Statistik Deskriptif

Analisis statistik deskriptif bertujuan untuk menjelaskan data dari sampel yang telah diteliti saja, bukan untuk membuat kesimpulan secara umum atau generalisasi sehingga tidak sampai pada pengujian hipotesisnya. Disini peneliti hanya akan menjelaskan sampel melalui grafik atau tabel yang menjelaskan mean, modus, median, presentase dan standar deviasinya.

3.8.2. Analisis Statistik Inferensial

Peneliti akan melakukan pengujian hipotesis menggunakan uji parametrik karena variabel gambaran histopatologi hepar pada penelitian ini memiliki skala ratio ataupun non-parametrik jika data tidak berdistribusi normal. Data hasil dari penelitian diolah dengan menggunakan program IBM SPSS Statistic 26. Pertama akan dilakukan uji normalitas menggunakan uji *Shapiro-Wilk* dan uji homogenitas menggunakan uji *Levene Test*. Jika hasil uji Shapiro Wilk = $p > 0.05$ maka data dinyatakan berdistribusi normal dan jika hasil Levene's test = Sig. > 0.05 maka data dinyatakan homogen.

Selain uji *Shapiro-Wilk* atau *Skewness-Kurtosis* juga bisa dilakukan uji normalitas secara visual menggunakan grafik *Q-Q Plot* atau *Histogram Normality Plot*. Pada grafik Q-Q Plot data berdistribusi normal jika titik-titik yang muncul mengikuti garis linier yang terbentuk. Pada Histogram Normality Plot data berdistribusi normal jika data membentuk lonceng. Tetapi uji visual bersifat subjektif sehingga tidak akan dilakukan dalam penelitian ini.

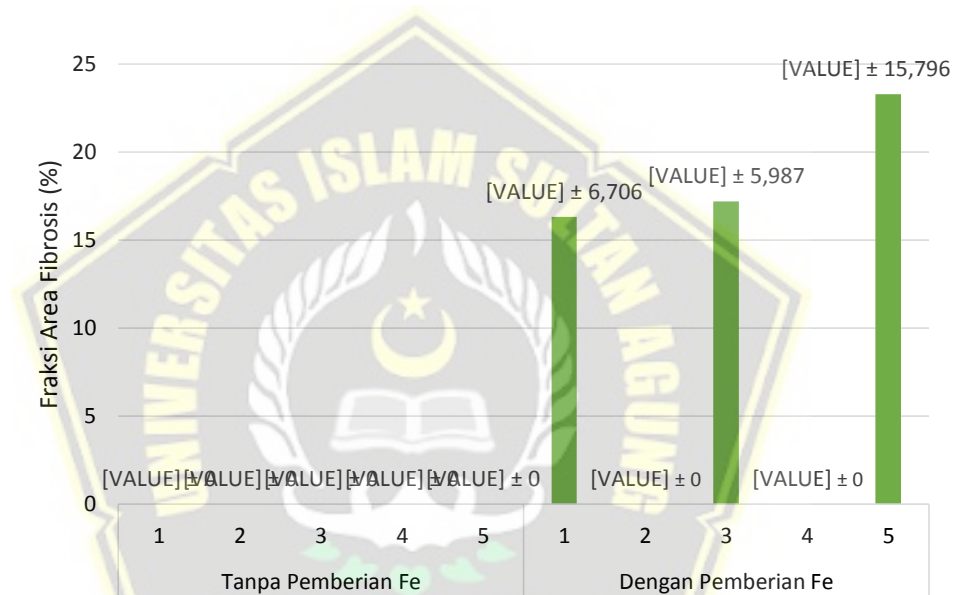
Jika data didapatkan tidak berdistribusi normal akan dilakukan transformasi data. Selanjutnya data yang sudah berdistribusi normal dan homogen akan dilakukan analisis data dengan uji parametrik *Independent Sample T Test*. Tapi jika setelah dilakukan transformasi data tetap tidak normal maka dilakukan uji non parametrik *Mann Whitney*.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Hasil Penelitian

Organ hepar dari 10 ekor mencit Balb/c dibuat preparat dengan pengecatan masson trichrome. Preparat di foto menggunakan mikroskop dan optilab dengan pembesaran 400 kali. Fraksi area fibrosis yang dilihat dengan *software imageJ* dapat dilihat di gambar 4.1.

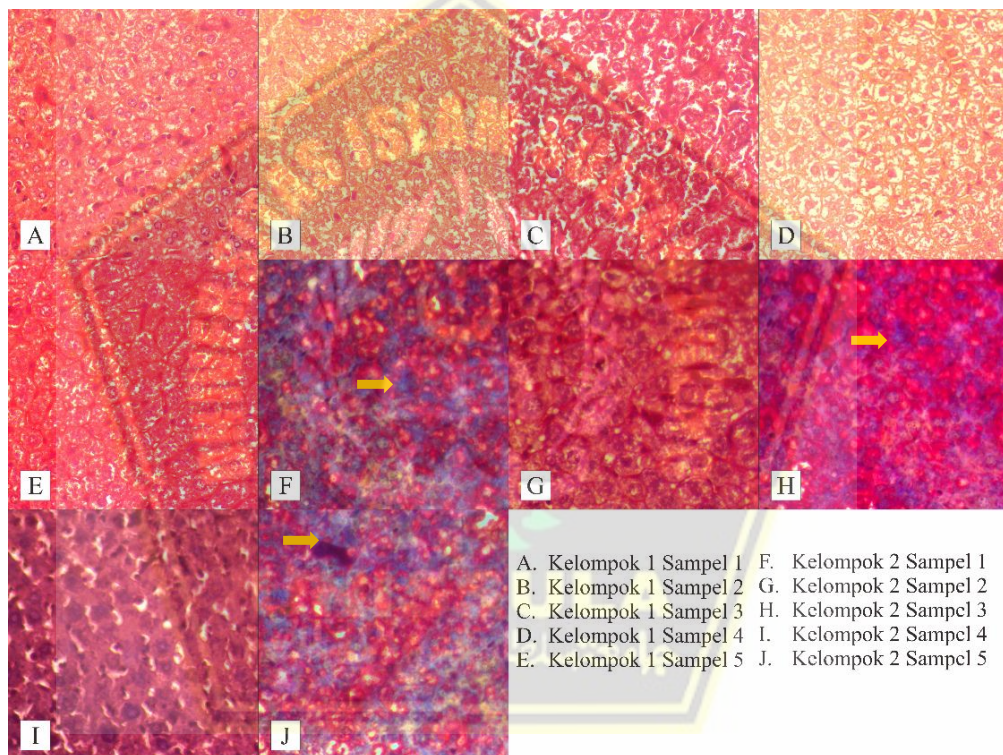


Gambar 4.1. Grafik Rata-rata Fraksi Area Fibrosis Hepar Mencit Tanpa Pemberian Fe dan Dengan Pemberian Fe

Rata-rata fraksi area fibrosis paling tinggi adalah sampel nomor 5 pada kelompok dengan pemberian Fe ($23,2822 \pm 15,796\%$). Rata-rata fraksi area fibrosis terkecil adalah $0 \pm 0\%$ yang ada di semua sampel pada kelompok tanpa pemberian Fe. Sampel nomor 2 dan nomor 4 juga memiliki rata-rata fraksi area fibrosis $0 \pm 0\%$. Tapi 3 sampel lainnya pada kelompok dengan pemberian Fe menunjukkan hasil fraksi area fibrosis yang tinggi secara

berurutan yaitu $23,2822 \pm 15,796\%$ (sampel nomor 5), $17,195 \pm 5,987\%$ (sampel nomor 3) dan $16,3012 \pm 6,706\%$ (sampel nomor 1).

Fraksi area fibrosis pada hepar diamati di zona 2 bukan di zona 3 untuk menghindari bias dari kerusakan yang biasanya terjadi di zona 3 karena hipoksia akut saat mencit dilakukan terminasi. Fibrosis yang dipulas dengan pengecatan masson trichrome akan terlihat berwarna biru. Gambaran histopatologi hepar mencit Balb/c tanpa pemberian Fe dan dengan



pemberian Fe dapat dilihat pada gambar 4.2.

Gambar 4.2. Gambaran Histopatologi Hepar Mencit Balb/c dengan Pengecatan Masson Trichrome

Keterangan : fibrosis (panah kuning) di sinusoid dan perisinusoid hepar berwarna biru dengan pengecatan masson trichrome.

Tabel 4.1. Hasil Statistik Deskriptif Fraksi Area Fibrosis Mencit Balb/c Tanpa Pemberian Fe dan Dengan Pemberian Fe.

Kelompok	Mean	Median	Standar Deviasi	Nilai Maksimum	Nilai Minimum	Range
Tanpa Pemberian Fe	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Dengan Pemberian Fe	11,38	16,30	10,74	23,38	0,00	23,38

Tabel 4.1 menjelaskan rata-rata fraksi area fibrosis pada kelompok tanpa pemberian Fe dan kelompok dengan pemberian Fe. Kelompok tanpa pemberian Fe memiliki rata-rata fraksi area fibrosis $0,00 \pm 0,00\%$. Nilai rata-rata fraksi area fibrosis kelompok dengan pemberian Fe sebesar $11,38 \pm 10,74\%$.

4.2. Pembahasan

Hepar memiliki celah perisinusoid sebagai tempat pertukaran zat dari darah di sinusoid ke basolateral hepatosit (Gartner & Hiatt, 2014). Sel stelata yang terletak di celah perisinusoid ini berfungsi membantu remodelling hepatosit dan epitel sinusoid (Cordero-Espinoza & Huch, 2018; Tanaka & Miyajima, 2016). Sel stelata memproduksi *hepatocyte growth factor* (HGF) untuk menginisiasi regenerasi hepatosit dan mensekresi kolagen yang menyusun fibrosis pada hepar. TGF β merupakan sitokin yang akan menginduksi fibrosis dengan mensintesis komponen matriks ekstraseluler, yaitu : kolagen tipe I dan III, α -SMA, laminin dan fibronectin (Parola & Pinzani, 2019). Kolagen fibrosis lainnya adalah II, IV, XI, XXIV dan

XXVII (Karsdal *et al.*, 2020). Fibrosis ini merupakan *scaffold* (perancah) untuk tempat hepatosit berproliferasi (Ruoß *et al.*, 2020).

Hepar normal tidak ditemukan deposisi besi (hemosiderin) (Zhabyeyev *et al.*, 2021; Ziv *et al.*, 2010) dan fibrosis (Iwaisako *et al.*, 2012; Kisseleva & Brenner, 2008). Zat besi dalam hepatosit disimpan dalam ferritin dan sebagian besi yang bebas didalam sel (LCI) akan digunakan oleh mitokondria (Pilo & Angelucci, 2019). Kelebihan zat besi mengakibatkan terbentuknya besi hemosiderin (Golfeyz *et al.*, 2018; Saito, 2014). Muatan elektron Fe^{2+} dan Fe^{3+} pada hemosiderin dapat terpulas biru menggunakan pengecatan *Prussian blue* (Grandjean *et al.*, 2016). Sedangkan fibrosis pada hepar akan terbentuk disebabkan kerusakan hepatosit (Ruoß *et al.*, 2020). Kerusakan hepar terjadi akibat peningkatan *Reactive Oxygen Species* (ROS) (Abbina *et al.*, 2019; Yuan *et al.*, 2019) yang disebabkan karena peningkatan LCI (Pilo & Angelucci, 2019). Kadar LCI pada hepar di pertahankan dipertahankan sekitar 0,5 – 1,5 μ M dalam kondisi fisiologis (Cabantchik, 2015).

Kerusakan hepatosit menyebabkan hepatosit dan sel kupffer memproduksi TGF β (Yoon & Eun, 2019). TGF β menjadi penanda fibrosis akibat kelebihan besi (Zhang *et al.*, 2020). TGF β menyebabkan akumulasi lipid di hepatosit dan mengaktivasi sel stelata untuk memproduksi kolagen (Yoon & Eun, 2019). Efek toksik dari kelebihan besi dapat menyebabkan degenarasi pada hepatosit (Craft *et al.*, 2018) dan pembentukan fibrosis di celah perisinusoid (Cordero-Espinoza & Huch, 2018; Lo & Kim, 2017).

Fibrogenesis terbentuk saat paparan zat toksik tetap berlangsung setelah proses degenerasi sel dan apoptosis sel (Campana & Iredale, 2017). Pengecatan HE menunjukkan gambaran degenerasi dan apoptosis sel pada tikus dengan fibrosis hepar di induksi SiO₂ NPs pada hari ke 30, fibrosis terdeteksi menggunakan TEM imaging pada hari ke 60 (Yu *et al.*, 2017). Penilaian degenerasi dan apoptosis sel menggunakan pengecatan HE diperlukan untuk menilai kerusakan lain pada hepar akibat kelebihan besi selain fibrosis.

Kelebihan besi dapat didiagnosis dengan akurat menggunakan MRI untuk menghitung konsentrasi besi di hepar (Sarigianni *et al.*, 2015). Konsentrasi besi di hepar > 15 mg/g berat kering dapat menyebabkan perkembangan fibrosis di hepar (Poggiali *et al.*, 2012). Kelebihan besi juga dapat diketahui dengan menilai kadar *Labile Plasma Iron* (LPI) (Gu *et al.*, 2017), *Non-Transferrin Binding Iron* (NTBI) dan *Transferrin Saturation* (TfSat) (Porter *et al.*, 2017). Kelebihan besi terjadi saat serum ferritin > 250 ng/mL (Saito, 2019) dan TfSat > 60% (Barcellini *et al.*, 2019). TfSat > 45% akan menghasilkan NTBI sedangkan TfSat > 75% akan menghasilkan LPI dalam serum (Brissot & Brissot, 2020). LPI dapat meningkatkan LCI sehingga terjadi kerusakan hepatosit karena peningkatan produksi ROS di mitokondria (Cabantchik, 2015). Hepatosit yang rusak menginduksi sel Kupffer untuk mengaktifkan fibrogenesis sel stelata hepar (S. Kumar *et al.*, 2021). Oleh karena itu, NTBI, LPI, serum ferritin, TfSat dalam darah perlu

diamati karena memegang peran penting terhadap pembentukan fibrosis di hepar.

Pemberian zat besi secara oral meningkatkan kadar NTBI dan TfSat (D. Liu et al., 2013; Moretti et al., 2015). NTBI terbentuk akibat peningkatan absorpsi zat besi oleh enterosit karena kadar hepsidin yang rendah atau ferroportin yang resisten terhadap hepsidin (Pilo & Angelucci, 2019; Porter et al., 2017). Tapi menurut Steele (2019) pemberian suplemen besi oral (FeSO_4) tidak menunjukkan peningkatan kadar NTBI (Steele et al., 2019). FeSO_4 sebagai Fe^{2+} lebih mudah masuk enterosit oleh bantuan DMT1 tanpa dirubah terlebih dahulu (Ginancar et al., 2018; Marx & Aisen, 1981). Tapi peningkatan besi secara oral membutuhkan waktu yang lama dibandingkan secara parenteral karena absorpsi besi di usus hanya 1-2 mg/day sama dengan ekskresi besi tubuh (Girelli et al., 2018). Pemberian secara intraperitoneal meningkatkan level iron di hepar dan jantung (Italia et al., 2015) karena tidak melewati regulasi besi di usus (Stefanova et al., 2017).

Kerusakan hepar terjadi pada pemberian *iron sucrose* (IS) dan *ferric carboxymaltose* (FCM) secara IV, tapi tidak pada pemberian *ferumoxytol* (FMX) dan *low molecular weight iron dextran* (LMWID) (Toblli et al., 2011). Menurut Ito (2016), pemberian IS secara parenteral dapat menyebabkan peningkatan NTBI (Ito et al., 2016). Tapi pemberian *Sodium ferric gluconate* (SFG) dibandingkan IS menunjukkan penyimpanan besi di hepar yang lebih tinggi (Span et al., 2018). Berat molekul SFG (37,5 kDa

dalton) dan IS (43 kDa) yang kecil dapat meningkatkan NTBI dan LPI lebih tinggi daripada FCM (150 kDa), iron dextran (103 kDa), dan FMX (185 kDa) (Bhandari *et al.*, 2018; Geisser & Burckhardt, 2011). Setiap jenis terapi zat besi memiliki kemampuan yang berbeda-beda untuk meningkatkan serum besi dalam tubuh.

Iron sucrose dapat diberikan secara intraperitoneal untuk uji kelebihan besi pada tikus (Italia *et al.*, 2015; Sarosa *et al.*, 2020). Secara *in vitro* IS memiliki biokompatibilitas yang rendah terhadap sel mesotelial (Bręborowicz *et al.*, 2003). Tapi tikus yang diberi IS 50 mg/kg secara intraperitoneal 2 kali seminggu terdapat peningkatan deposisi besi di hepar, lien dan *bone marrow* (Abedi *et al.*, 2020). Tikus yang diberi IS intraperitoneal selama 4 minggu dengan dosis rendah (5 mg/mL) tidak menunjukkan perubahan patologis pada struktur hepar, mulai terjadi kerusakan dan terlihat deposisi besi yang minimal dengan dosis sedang (10 mg/mL), dan dengan dosis tinggi *iron sucrose* (20 mg/mL) menunjukkan kerusakan struktur hepar terlihat jelas dengan deposisi besi berwarna coklat kental di sekitar hepatosit (Wu *et al.*, 2020). Maka dari itu perlu dipertimbangkan penggunaan variasi dosis *iron sucrose*.

Kerusakan hepar tidak hanya disebabkan karena peningkatan NTBI/LPI (D. Liu *et al.*, 2013). Toksisitas besi jaringan berbanding lurus dengan *tissue reactive species* (NTBI/LPI), genetik, lingkungan dan waktu paparan (Pilo & Angelucci, 2019). Fibrosis pada hepar, pulmo dan lien pasti ditandai dengan peningkatan kadar TGF β (Hu *et al.*, 2018). Pemberian

hepsidin pada tikus dapat menurunkan kadar TGF β (W. Y. Liu *et al.*, 2019). BMP6 dan BMPR akan meningkatkan ekspresi hepsidin pada saat jumlah atau beban besi meningkat (Cells *et al.*, 2017; Piubelli *et al.*, 2017). Hepsidin mencegah ferroportin melepaskan besi dari enterosit ke sirkulasi (Pilo & Angelucci, 2019). Hepsidin secara langsung juga dapat melindungi hati dari fibrosis dengan cara menonaktifkan sel stelata di celah perisinusoid hepar (Vela, 2018). Pemulihan kadar hepsidin dapat mencegah fibrosis dengan mencegah pengaktifan sel stelata (Han *et al.*, 2016). Begitupula dengan BPM6 yang dapat mencegah fibrosis hepar dengan menonaktifkan sel stelata hepar (Arndt *et al.*, 2014).

Aktivasi sel stelata juga dipengaruhi oleh sitokin pro-inflamatori, seperti IL-17 dan IL-20 yang menginduksi teraktivasi sel stelata. Sebaliknya, IL-15 memiliki peran protektif dalam perkembangan fibrosis hati dan IL-22 yang dapat mengurangi umur dari sel stelata (Tsuchida & Friedman, 2017). Peningkatan kadar IL-22 melindungi hepar tikus yang diinduksi *bile duct ligation* (BDL), sedangkan pengurangan kadar IL-22 dapat menyebabkan fibrosis hepar semakin parah (Meng *et al.*, 2012). IL-22 meningkatkan kadar hepsidin untuk mencegah fibrosis hepar dengan cara membunuh sel stelata (Smith *et al.*, 2013).

Sel stelata dapat dibunuh oleh sel NK sehingga fibrosis hepar dapat dikurangi (Hou *et al.*, 2012; Radaeva *et al.*, 2006). *Pit cells* atau sel NK ini dapat ditemukan di ruang perisinusoid hepar mencit, tikus dan manusia (Gartner & Hiatt, 2014). Sel NK memproduksi INF γ yang mempunyai efek

antifibrogenik dengan cara mengambat signaling TGF β sehingga sel stelata tidak dapat diaktifkan (Baroni *et al.*, 1996; Hou *et al.*, 2012). Hampir 50% sel NK di hati terdiri dari sel CD56^{bright} Ir-NK yang menempati sinusoid (Hudspeth *et al.*, 2016). Jumlah sel CD56^{bright} Ir-NK setiap individu berbeda dipengaruhi oleh genetik, seperti : GATA2, IRF8, MCM4, RTEL1 dan FCGR3A (Mace & Orange, 2016). Mutasi dari GATA2 dapat menyebabkan penurunan jumlah sel NK dalam darah (Mace *et al.*, 2013). Walaupun subset sel NK di hati dan di darah sama, tapi efek mutasi GATA2 terhadap sel NK dalam hepar mungkin perlu dilakukan. Defisiensi sel NK disebabkan oleh defek osteoklas dan monosit (osteoporosis), immunosupresi dan paparan radiasi (Marliana & Widhyasih, 2018).

Keterbatasan pada penelitian ini adalah dosis besi sukrosa yang tidak bervariasi sehingga peneliti tidak dapat menjelaskan jumlah dosis zat besi yang dapat menyebabkan kelebihan besi dan fibrosis hepar. Pemilihan jenis zat besi yang diberikan juga menjadi keterbatasan penelitian ini karena ternyata FSG memiliki berat molekul yang lebih kecil dibandingkan IS sehingga FSG dapat meningkatkan kadar besi serum lebih tinggi. Kelebihan besi pada serum juga harus dipastikan terlebih dahulu sebelum menilai fibrosis pada hepar. Pada penelitian ini hanya menggunakan pengecatan masson trichrome hanya untuk melihat fibrosis sehingga tidak dapat melihat kerusakan hepar lainnya seperti degenerasi dan apoptosis yang dapat diamati menggunakan pengecatan HE. Lobus yang peneliti gunakan pada penelitian ini adalah lobus kanan saja tanpa mempertimbangkan kelainan makroskopis

yang dapat dilihat. Panilaian kelainan organ hepar secara makroskopis diperlukan untuk memilih bagian hepar yang harus di pendam dalam paraffin, dan dipotong dengan mikrotom untuk nantinya akan diamati dengan mikroskop.



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil analisis dan pembahasan data, penulis memperoleh sebuah kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian tentang Pengaruh Kelebihan Besi Terhadap Gambaran Histopatologi Hepar Mencit Balb/c sebagai berikut :

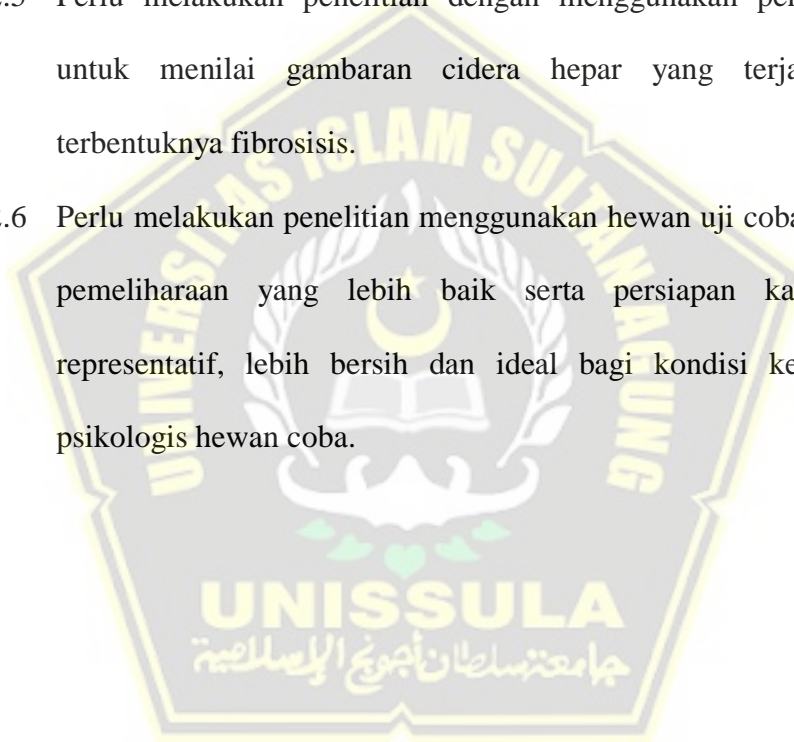
- 5.1.1 Pada kelompok tanpa pemberian Fe, hanya diberi 0,3 cc NaCl 0,9% intra peritoneal dan pelarut obat (Aquabidest, CMC dan Nipagin) 0,5 cc selama 60 hari tidak menunjukkan adanya fraksi area fibrosis pada hepar.
- 5.1.2 Pada kelompok dengan pemberian 1,5 mg (0,3 cc) besi sukrosa (Venofer®) dan pelarut obat (Aquabidest, CMC dan Nipagin) 0,5 cc intra peritoneal selama 60 hari menunjukkan adanya fraksi area fibrosis pada hepar.

5.2. Saran

Saran untuk penelitian selanjutnya dalam menyempurnakan penelitian tentang Pengaruh Kelebihan Besi Terhadap Gambaran Histopatologi Hepar Mencit Balb/c atau untuk perkembangan ilmu pengetahuan lainnya, sebagai berikut :

- 5.2.1 Perlu melakukan penelitian dengan penambahan variasi dosis sukrosa besi dari dosis rendah, sedang dan tinggi.

- 5.2.2 Perlu melakukan penelitian dengan jenis zat besi yang berat molekulnya lebih ringan.
- 5.2.3 Perlu untuk menilai kadar TfSat, NTBI dan LPI untuk memastikan bahwa telah terjadi kelebihan besi di sirkulasi hewan coba.
- 5.2.4 Perlu melakukan penelitian dengan melakukan pemendaman seluruh lobus hepar atau lobus hepar yang terlihat adanya kelaianan secara makroskopis dalam paraffin.
- 5.2.5 Perlu melakukan penelitian dengan menggunakan pengecatan HE untuk menilai gambaran cedera hepar yang terjadi sebelum terbentuknya fibrosis.
- 5.2.6 Perlu melakukan penelitian menggunakan hewan uji coba lain dengan pemeliharaan yang lebih baik serta persiapan kandang yang representatif, lebih bersih dan ideal bagi kondisi kesehatan dan psikologis hewan coba.



DAFTAR PUSTAKA

- Abbafati, C., Machado, D. B., Cislighi, B., Salman, O. M., Karanikolos, M., McKee, M., Abbas, K. M., Brady, O. J., Larson, H. J., Trias-Llimós, S., Cummins, S., Langan, S. M., Sartorius, B., Hafiz, A., Jenabi, E., Mohammad Gholi Mezerji, N., Borzouei, S., Azarian, G., Khazaei, S., ... Zhu, C. (2020). Global age-sex-specific fertility, mortality, healthy life expectancy (HALE), and population estimates in 204 countries and territories, 1950–2019: a comprehensive demographic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *The Lancet*, 396(10258), 1160–1203. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30977-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30977-6)
- Abbina, S., Abbasi, U., Gill, A., Wong, K., Kalathottukaren, M. T., & Kizhakkedathu, J. N. (2019). Design of Safe Nanotherapeutics for the Excretion of Excess Systemic Toxic Iron. *ACS Central Science*, 5(5), 917–926. <https://doi.org/10.1021/acscentsci.9b00284>
- Abedi, M., Rahgozar, S., & Esmaeili, A. (2020). Iron protects childhood acute lymphoblastic leukemia cells from methotrexate cytotoxicity. *Cancer Medicine*, 9(10), 3537–3550. <https://doi.org/10.1002/cam4.2982>
- Alemán-García, N., Sánchez-Pérez, C., Pérez-García, A., Durán-Padilla, M. A., Kershenobich, D., & Hernández-Ruíz, J. (2020). Correlation of hepatic fibrosis assessed by Metavir score and digital morphometry in a murine model. *Revista Medica Del Hospital General de Mexico*, 83(1), 13–19. <https://doi.org/10.24875/hgmx.m20000034>
- Arifuddin, A., Asri, A., & Elmatris, E. (2016). Efek Pemberian Vitamin C terhadap Gambaran Histopatologi Hati Tikus Wistar yang Terpapar Timbal Asetat. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 5(1), 215–220. <https://doi.org/10.25077/jka.v5i1.471>
- Arndt, S., Wacker, E., Dorn, C., Koch, A., Saugspier, M., Thasler, W. E., Hartmann, A., Bosserhoff, A. K., & Hellerbrand, C. (2014). *Enhanced expression of BMP6 inhibits hepatic fibrosis in non-alcoholic fatty liver disease*. 1–9. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2014-306968>
- Assis-Mendonça, G. R., Cunha-Silva, M., Fernandes, M. F., Torres, L. D., De Almeida Verissimo, M. P., Okano, M. T. N., Mazo, D. F., Lalli, C. A., Sevá-Pereira, T., Stelini, R. F., & Da Costa, L. B. E. (2020). Massive iron overload and acute-on-chronic liver failure in a patient with Diamond-Blackfan anaemia: A case report. *BMC Gastroenterology*, 20(1), 1–7. <https://doi.org/10.1186/s12876-020-01468-9>
- Atarashi, M., Izawa, T., Mori, M., Inai, Y., Kuwamura, M., & Yamate, J. (2018). *Dietary Iron Overload Abrogates Chemically-Induced*. 4–15.

<https://doi.org/10.3390/nu10101400>

- Aydin, M. M., & Akcali, K. C. (2018). Liver fibrosis. *Turkish Journal of Gastroenterology*, 29(1), 14–21. <https://doi.org/10.5152/tjg.2018.17330>
- Bacon, B. R., Adams, P. C., Kowdley, K. V., Powell, L. W., & Tavill, A. S. (2011). Diagnosis and management of hemochromatosis: 2011 Practice Guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology*, 54(1), 328–343. <https://doi.org/10.1002/hep.24330>
- Barcellini, W., Zaninoni, A., Gregorini, A. I., Soverini, G., Duca, L., Fattizzo, B., Giannotta, J. A., Pedrotti, P., Vercellati, C., Marcello, A. P., Fermo, E., Bianchi, P., & Cappellini, M. D. (2019). Iron overload in congenital haemolytic anaemias: role of hepcidin and cytokines and predictive value of ferritin and transferrin saturation. *British Journal of Haematology*, 185(3), 523–531. <https://doi.org/10.1111/bjh.15811>
- Baroni, G. S., D'Ambrosio, L., Curto, P., Casini, A., Mancini, R., Jezequel, A. M., & Benedetti, A. (1996). Interferon gamma decreases hepatic stellate cell activation and extracellular matrix deposition in rat liver fibrosis. *Hepatology*, 23(5), 1189–1199. <https://doi.org/10.1053/jhep.1996.v23.pm0008621153>
- Bhandari, S., Pereira, D. I. A., Chappell, H. F., & Drakesmith, H. (2018). Intravenous irons: From basic science to clinical practice. *Pharmaceuticals*, 11(3), 1–20. <https://doi.org/10.3390/ph11030082>
- Bnaya, A., Shavit, L., Malyszko, J. S., Malyszko, J., & Slotki, I. (2020). Labile plasma iron levels in chronic hemodialysis patients treated by intravenous iron supplementation. *Therapeutic Apheresis and Dialysis*, 24(4), 416–422. <https://doi.org/10.1111/1744-9987.13458>
- Braga, T. T., Sebastian, J., & Agudelo, H. (2015). *Macrophages During the Fibrotic Process: M2 as Friend and Foe*. 6(November), 1–8. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00602>
- Bratawidjaja, K. G., & Rengganis, I. (2018). *IMUNOLOGI DASAR* (12th ed.). Badan Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Bręborowicz, M., Polubinska, A., Tam, P., Wu, G., & Bręborowicz, A. (2003). Effect of iron sucrose on human peritoneal mesothelial cells. *European Journal of Clinical Investigation*, 33(12), 1038–1044. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2362.2003.01264.x>
- Brissot, P., & Brissot, E. (2020). What's Important and New in Hemochromatosis? *Clinical Hematology International*, 2(4), 143. <https://doi.org/10.2991/chi.k.200726.001>

- Brissot, P., Troadec, M. B., Loréal, O., & Brissot, E. (2019). Pathophysiology and classification of iron overload diseases; update 2018. *Transfusion Clinique et Biologique*, 26(1), 80–88. <https://doi.org/10.1016/j.tracli.2018.08.006>
- Cabantchik, Z. I. (2015). *Labile iron in cells and body fluids: physiology, pathology, and pharmacology*. June. <https://doi.org/10.3389/fphar.2014.00045>
- Campana, L., & Iredale, J. P. (2017). Regression of Liver Fibrosis. *Seminars in Liver Disease*, 37(1), 1–10. <https://doi.org/10.1055/s-0036-1597816>
- Cells, R. E. D., Canali, S., Zumbrennen-bullough, K. B., Core, A. B., Wang, C., Nairz, M., Bouley, R., Swirski, F. K., & Babitt, J. L. (2017). *Plenary Paper Endothelial cells produce bone morphogenetic protein 6 required for iron homeostasis in mice*. 129(4), 405–414. <https://doi.org/10.1182/blood-2016-06-721571>.The
- Cheang, I., Liao, S., Gao, R., Zhou, Y., Xu, Y., Zhu, Y., & Li, X. (2020). Hereditary Hemochromatosis and Restrictive Cardiomyopathy Caused by Missense Mutation in HAMP and DSP: A Case Report Case Report. *American Journal of Clinical Case Reports*, 1(Figure 3), 1001.
- Chen, M., Zheng, J., Liu, G., Xu, E., Wang, J., Fuqua, B. K., Vulpe, C. D., Anderson, G. J., & Chen, H. (2018). Ceruloplasmin and hephaestin jointly protect the exocrine pancreas against oxidative damage by facilitating iron efflux. *Redox Biology*, 17(May), 432–439. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2018.05.013>
- Chen, Q. S., Zhang, H., Cao, Y., Li, Y., Sun, S., Zhang, J. P., & Zhang, G. Q. (2017). Schisandrin B attenuates CCI4-induced liver fibrosis in rats by regulation of Nrf2-ARE and TGF- β /smad signaling pathways. *Drug Design, Development and Therapy*, 11, 2179–2191. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S137507>
- Coccolini, F., Catena, F., Moore, E. E., Ivatury, R., Biffi, W., Peitzman, A., Coimbra, R., Rizoli, S., Kluger, Y., Abu-Zidan, F. M., Ceresoli, M., Montori, G., Sartelli, M., Weber, D., Fraga, G., Naidoo, N., Moore, F. A., Zanini, N., & Ansaloni, L. (2016). WSES classification and guidelines for liver trauma. *World Journal of Emergency Surgery*, 11(1), 1–8. <https://doi.org/10.1186/s13017-016-0105-2>
- Cordero-Espinoza, L., & Huch, M. (2018). The balancing act of the liver: tissue regeneration versus fibrosis. *Journal of Clinical Investigation*, 128(1), 85–96. <https://doi.org/10.1172/JCI93562>

- Craft, J., Gordon, C., Huether, S., McCance, K., & Brashers, V. (2018). *Understanding Pathophysiology ANZ* (3rd editio). Elsevier.
- Dancygier, H. (2010). Clinical hepatology: Principles and practice of hepatobiliary diseases. *Clinical Hepatology: Principles and Practice of Hepatobiliary Diseases*, 1–538. <https://doi.org/10.1007/978-3-540-93842-2>
- Dixon, S. J., Lemberg, K. M., Lamprecht, M. R., Skouta, R., Zaitsev, E. M., Gleason, C. E., Patel, D. N., Bauer, A. J., Cantley, A. M., Yang, W. S., Morrison, B., & Stockwell, B. R. (2012). Ferroptosis: An iron-dependent form of nonapoptotic cell death. *Cell*, 149(5), 1060–1072. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.03.042>
- Drake, R. L., Vogl, W., & Mitchell, A. W. M. (2012). *Gray's Basic Anatomy* (1st ed.). Elsevier.
- Duarte, T. L., Caldas, C., Santos, A. G., Silva-Gomes, S., Santos-Gonçalves, A., Martins, M. J., Porto, G., & Lopes, J. M. (2017). Genetic disruption of NRF2 promotes the development of necroinflammation and liver fibrosis in a mouse model of HFE-hereditary hemochromatosis. *Redox Biology*, 11(November 2016), 157–169. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2016.11.013>
- Duque, G. A., & Descoteaux, A. (2014). Macrophage cytokines: Involvement in immunity and infectious diseases. *Frontiers in Immunology*, 5(OCT), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00491>
- Fauci, A. S., Hauser, S. L., Jameson J., L., Kasper, D. L., Longo, D. L., & Loscalzo, J. (2018). *Harrison's Principles of Internal Medicines* (20th ed.). McGraw-Hill Education.
- Friedman, S. L. (2007). A deer in the headlights: BAMBI meets liver fibrosis. *Nature Medicine*, 13(11), 1281–1282. <https://doi.org/10.1038/nm1107-1281>
- Garcia-Pagán, J. C., Buscarini, E., Janssen, H. L. A., Leebeek, F. W. G., Plessier, A., Rubbia-Brandt, L., Senzolo, M., Schouten, J. N. L., Tripodi, A., & Valla, D. C. (2016). EASL Clinical Practice Guidelines: Vascular diseases of the liver. *Journal of Hepatology*, 64(1), 179–202. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2015.07.040>
- Gartner, L. P., & Hiatt, J. L. (2014). *Color Atlas and Text of Histology*. Lippincott Williams & Wilkins (LWW).
- Geisser, P., & Burckhardt, S. (2011). The pharmacokinetics and pharmacodynamics of iron preparations. *Pharmaceutics*, 3(1), 12–33.

<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics3010012>

- Ginanjar, E., Indrawati, L., Setianingsih, I., Atmakusumah, D., Harahap, A., Timan, I. S., & Marx, J. J. M. (2018). Iron absorption in iron-deficient women, who received 65 mg Fe with an Indonesian breakfast, is much better from naFe(III)EDTA than from Fe(II)SO₄, with an acceptable increase of plasma NTBI. A randomized clinical trial. *Pharmaceutics*, *11*(3), 25–30. <https://doi.org/10.3390/ph11030085>
- Girelli, D., Ugolini, S., Busti, F., Marchi, G., & Castagna, A. (2018). Modern iron replacement therapy: clinical and pathophysiological insights. *International Journal of Hematology*, *107*(1), 16–30. <https://doi.org/10.1007/s12185-017-2373-3>
- Golfeyz, S., Lewis, S., & Weisberg, I. S. (2018). Hemochromatosis: pathophysiology, evaluation, and management of hepatic iron overload with a focus on MRI. *Expert Review of Gastroenterology and Hepatology*, *12*(8), 767–778. <https://doi.org/10.1080/17474124.2018.1496016>
- Goodman, Z. D. (2007). Grading and staging systems for inflammation and fibrosis in chronic liver diseases. *Journal of Hepatology*, *47*(4), 598–607. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2007.07.006>
- Grandjean, F., Samain, L., & Long, G. J. (2016). Characterization and utilization of Prussian blue and its pigments. *Dalton Transactions*, *45*(45), 18018–18044. <https://doi.org/10.1039/c6dt03351b>
- Gu, S., Xv, Y., Fei, C., Xiao, C., Guo, J., Zhao, Y., Xv, F., Li, X., & Chang, C. (2017). Labile plasma iron, more practical and more sensitive to iron overload in myelodysplastic syndromes. *Hematology*, *22*(1), 9–15. <https://doi.org/10.1080/10245332.2016.1199178>
- Gujja, P., Rosing, D. R., Tripodi, D. J., & Shizukuda, Y. (2010). Iron overload cardiomyopathy: Better understanding of an increasing disorder. *Journal of the American College of Cardiology*, *56*(13), 1001–1012. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2010.03.083>
- Güvendi, G. F., Eroğlu, H. A., Güvendi, B., & Adalı, Y. (2020). Jo ur. *Life Sciences*, 118558. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.118558>
- Guyader, D., Thirouard, A., Erdtmann, L., Rakba, N., Jacquelinet, S., Brissot, P., & Deugnier, Y. (2007). *Liver iron is a surrogate marker of severe fibrosis in chronic hepatitis C q*. *46*, 587–595. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2006.09.021>
- Hagström, H., Nasr, P., Ekstedt, M., Kechagias, S., Stål, P., Bedossa, P., &

- Hultcrantz, R. (2017). SAF score and mortality in NAFLD after up to 41 years of follow-up. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 52(1), 87–91. <https://doi.org/10.1080/00365521.2016.1230779>
- Hall, J. E. (2011). *Guyton dan Hall Buku Ajar Fisiologi Kedokteran* (Edisi 12). Elsevier.
- Han, C. Y., Koo, J. H., Kim, S. H., Gardenghi, S., Rivella, S., Strnad, P., Hwang, S. J., & Kim, S. G. (2016). Hepcidin inhibits Smad3 phosphorylation in hepatic stellate cells by impeding ferroportin-mediated regulation of Akt. *Nature Communications*, 7(May), 1–14. <https://doi.org/10.1038/ncomms13817>
- Hong, J. H., Kim, D. H., Rhyu, I. J., & Kye, Y. C. (2019). A simple morphometric analysis method for dermal microstructure using color thresholding and moments. *May*, 1–5. <https://doi.org/10.1111/srt.12776>
- Hou, X., Yu, F., Man, S., Huang, D., Zhang, Y., Liu, M., Ren, C., & Shen, J. (2012). Negative regulation of *Schistosoma japonicum* egg-induced liver fibrosis by natural killer cells. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 6(1), 1–10. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001456>
- Hu, H. H., Chen, D. Q., Wang, Y. N., Feng, Y. L., Cao, G., Vaziri, N. D., & Zhao, Y. Y. (2018). New insights into TGF- β /Smad signaling in tissue fibrosis. *Chemico-Biological Interactions*, 292, 76–83. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2018.07.008>
- Hudspeth, K., Donadon, M., Cimino, M., Pontarini, E., Tentorio, P., Preti, M., Hong, M., Bertolotti, A., Biccato, S., Invernizzi, P., Lugli, E., Torzilli, G., Gershwin, M. E., & Mavilio, D. (2016). Human liver-resident CD56^{bright}/CD16^{neg} NK cells are retained within hepatic sinusoids via the engagement of CCR5 and CXCR6 pathways. *Journal of Autoimmunity*, 66, 40–50. <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2015.08.011>
- Italia, K., Colah, R., & Ghosh, K. (2015). Experimental animal model to study iron overload and iron chelation and review of other such models. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*, 55(3), 194–199. <https://doi.org/10.1016/j.bcmed.2015.06.003>
- Ito, S., Ikuta, K., Kato, D., Lynda, A., Shibusa, K., Niizeki, N., Toki, Y., Hatayama, M., Yamamoto, M., Shindo, M., Iizuka, N., Kohgo, Y., & Fujiya, M. (2016). In vivo behavior of NTBI revealed by automated quantification system. *International Journal of Hematology*, 104(2), 175–181. <https://doi.org/10.1007/s12185-016-2002-6>
- Iwaisako, K., Brenner, D. A., & Kisseleva, T. (2012). What's new in liver fibrosis? The origin of myofibroblasts in liver fibrosis. *Journal of*

Gastroenterology and Hepatology (Australia), 27(SUPPL.2), 65–68.
<https://doi.org/10.1111/j.1440-1746.2011.07002.x>

- Johan, J., Hadi, H., & Amarwati, S. (2017). Pengaruh Pemberian Merkuri Per Oral Terhadap Gambaran Histopatologi Liver Tikus Wistar. *Diponegoro Medical Journal (Jurnal Kedokteran Diponegoro)*, 6(2), 673–681.
- Kaimori, J. Y., Isaka, Y., Hatanaka, M., Yamamoto, S., Ichimaru, N., Fujikawa, A., Shibata, H., Fujimori, A., Miyoshi, S., Yokawa, T., Kuroda, K., Moriyama, T., Rakugi, H., & Takahara, S. (2017). Diffusion Tensor Imaging MRI With Spin-Echo Sequence and Long-Duration Measurement for Evaluation of Renal Fibrosis in a Rat Fibrosis Model. *Transplantation Proceedings*, 49(1), 145–152.
<https://doi.org/10.1016/j.transproceed.2016.10.014>
- Kang, H., Han, M., Xue, J., Baek, Y., Chang, J. O., Hu, S., Nam, H. Y., Jo, M. J., El Fakhri, G., Hutchens, M. P., Choi, H. S., & Kim, J. (2019). Renal clearable nanochelators for iron overload therapy. *Nature Communications*, 10(1), 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-13143-z>
- Karsdal, M. A., Daniels, S. J., Holm Nielsen, S., Bager, C., Rasmussen, D. G. K., Loomba, R., Surabattula, R., Villesen, I. F., Luo, Y., Shevell, D., Gudmann, N. S., Nielsen, M. J., George, J., Christian, R., Leeming, D. J., & Schuppan, D. (2020). Collagen biology and non-invasive biomarkers of liver fibrosis. *Liver International*, 40(4), 736–750.
<https://doi.org/10.1111/liv.14390>
- Katzung, B. G. (2012). *Farmakologi Dasar dan Klinik* (Edisi 10).
- Kazankov, K., Jørgensen, S. M. D., Thomsen, K. L., Møller, H. J., Vilstrup, H., George, J., Schuppan, D., & Grønbaek, H. (2019). The role of macrophages in nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, 16(3), 145–159. <https://doi.org/10.1038/s41575-018-0082-x>
- Kemenkes. (2007). Laporan Nasional Riskesdas 2007. In *Laporan Nasional 2007*. [http://kesga.kemkes.go.id/images/pedoman/Riskesdas 2007 Nasional.pdf](http://kesga.kemkes.go.id/images/pedoman/Riskesdas%202007%20Nasional.pdf)
- Kew, M. C., & Asare, G. A. (2007). Dietary iron overload in the African and hepatocellular carcinoma. *Liver International*, 27(6), 735–741.
<https://doi.org/10.1111/j.1478-3231.2007.01515.x>
- Kim, S. M., Yalamanchi, S., & Dobs, A. S. (2017). Male hypogonadism and liver disease. *Contemporary Endocrinology*, 219–234.
https://doi.org/10.1007/978-3-319-53298-1_11

- Kisseleva, T., & Brenner, D. A. (2008). Fibrogenesis of parenchymal organs. *Proceedings of the American Thoracic Society*, 5(3), 338–342. <https://doi.org/10.1513/pats.200711-168DR>
- Kosch, M., Bahner, U., Bettger, H., Matzkies, F., Teschner, M., & Schaefer, R. M. (2001). A randomized, controlled parallel-group trial on efficacy and safety of iron sucrose (Venofer®) vs iron gluconate (Ferrlecit®) in haemodialysis patients treated with rHuEpo. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 16(6), 1239–1244. <https://doi.org/10.1093/ndt/16.6.1239>
- Kühn, J. P., Meffert, P., Heske, C., Kromrey, M. L., Schmidt, C. O., Mensel, B., Völzke, H., Lerch, M. M., Hernando, D., Mayerle, J., & Reeder, S. B. (2017). Prevalence of fatty liver disease and hepatic iron overload in a northeastern German population by using quantitative MR imaging. *Radiology*, 284(3), 706–716. <https://doi.org/10.1148/radiol.2017161228>
- Kumar, S., Duan, Q., Wu, R., Harris, E. N., & Su, Q. (2021). Pathophysiological communication between hepatocytes and non-parenchymal cells in liver injury from NAFLD to liver fibrosis. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 176(xxxx), 113869. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2021.113869>
- Kumar, V., Abbas, A., & Aster, J. (2015). *Robbins Basic Pathology* (9th ed.). Elsevier.
- Lambrecht, R. W., Sterling, R. K., Naishadham, D., Stoddard, A. M., Rogers, T., Morishima, C., Morgan, T. R., & Bonkovsky, H. L. (2011). TRACT Iron Levels in Hepatocytes and Portal Tract Cells Predict Progression and Outcomes of Patients With Advanced Chronic Hepatitis C. *YGA&ST*, 140(5), 1490-1500.e3. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2011.01.053>
- Liu, D., He, H., Yin, D., Que, A., Tang, L., Liao, Z., Huang, Q., & He, M. (2013). Mechanism of chronic dietary iron overload induced liver damage in mice. *Molecular Medicine Reports*, 7(4), 1173–1179. <https://doi.org/10.3892/mmr.2013.1316>
- Liu, W. Y., Wang, L., & Lai, Y. F. (2019). Hepcidin protects pulmonary artery hypertension in rats by activating NF-κB/TNF-α pathway. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 23(17), 7573–7581. https://doi.org/10.26355/eurrev_201909_18878
- Lo, R. C., & Kim, H. (2017). *Histopathological evaluation of liver fibrosis and cirrhosis regression*. 302–307.
- Lowe, J., & Anderson, P. (2015). *Stevens and Lowe's Human Histology* (4th., Vol.). Elsevier.

- Luo, X. Y., Meng, X. J., Cao, D. C., Wang, W., Zhou, K., Li, L., Guo, M., & Wang, P. (2019). Transplantation of bone marrow mesenchymal stromal cells attenuates liver fibrosis in mice by regulating macrophage subtypes Rocky Tuan; Timothy O'Brien. *Stem Cell Research and Therapy*, *10*(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/s13287-018-1122-8>
- Ma, P. F., Gao, C. C., Yi, J., Zhao, J. L., Liang, S. Q., Zhao, Y., Ye, Y. C., Bai, J., Zheng, Q. J., Dou, K. F., Han, H., & Qin, H. Y. (2017). Cytotherapy with M1-polarized macrophages ameliorates liver fibrosis by modulating immune microenvironment in mice. *Journal of Hepatology*, *67*(4), 770–779. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2017.05.022>
- Mace, E. M., Hsu, A. P., Monaco-Shawver, L., Makedonas, G., Rosen, J. B., Dropulic, L., Cohen, J. I., Frenkel, E. P., Bagwell, J. C., Sullivan, J. L., Biron, C. A., Spalding, C., Zerbe, C. S., Uzel, G., Holland, S. M., & Orange, J. S. (2013). Mutations in GATA2 cause human NK cell deficiency with specific loss of the CD56bright subset. *Blood*, *121*(14), 2669–2677. <https://doi.org/10.1182/blood-2012-09-453969>
- Mace, E. M., & Orange, J. S. (2016). Genetic causes of human NK cell deficiency and their effect on NK cell subsets. *Frontiers in Immunology*, *7*(DEC), 1–8. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2016.00545>
- Marliana, N., & Widhyasih, R. M. (2018). *Bahan Ajar Teknologi Laboratorium Medik (TLM) Imunoserologi*. Pusat pendidikan sumber daya manusia kesehatan.
- Martinez, F. O., & Gordon, S. (2014). The M1 and M2 paradigm of macrophage activation: Time for reassessment. *F1000Prime Reports*, *6*(March), 1–13. <https://doi.org/10.12703/P6-13>
- Marx, J. J. M., & Aisen, P. (1981). Iron uptake by rabbit intestinal mucosal membrane vesicles. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, *649*(2), 297–304. [https://doi.org/10.1016/0005-2736\(81\)90418-1](https://doi.org/10.1016/0005-2736(81)90418-1)
- Meng, F., Wang, K., Aoyama, T., Grivennikov, S. I., Paik, Y., Scholten, D., Cong, M., Iwaisako, K., Liu, X., Zhang, M., Sterreicher, C. H., Stickel, F., Ley, K., Brenner, D. A., & Kisseleva, T. (2012). Interleukin-17 signaling in inflammatory, Kupffer cells, and hepatic stellate cells exacerbates liver fibrosis in mice. *Gastroenterology*, *143*(3), 765-776.e3. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2012.05.049>
- Mescher, A. L. (2013). *Junqueira's Basic Histology Text and Atlas Thirteenth Edition* (13th ed.). McGraw-Hill Education.

- Meutia, M. (2015). Zat-Zat yang Mempengaruhi Histopatologi Hepar. *Maulina, Dr. Meutia*, 49, 13.
- Moretti, D., Goede, J. S., Zeder, C., Jiskra, M., Chatzinakou, V., Tjalsma, H., Melse-Boonstra, A., Brittenham, G., Swinkels, D. W., & Zimmermann, M. B. (2015). Oral iron supplements increase hepcidin and decrease iron absorption from daily or twice-daily doses in iron-depleted young women. *Blood*, 126(17), 1981–1989. <https://doi.org/10.1182/blood-2015-05-642223>
- Moyo, V. M., Gangaidzo, I. T., Gomo, Z. A. R., Khumalo, H., Saungweme, T., Kiire, C. F., Rouault, T., & Gordeuk, V. R. (1997). Traditional beer consumption and the iron status of spouse pairs from a rural community in Zimbabwe. *Blood*, 89(6), 2159–2166. <https://doi.org/10.1182/blood.v89.6.2159>
- Murgia, I., Arosio, P., Tarantino, D., & Soave, C. (2012). Biofortification for combating “hidden hunger” for iron. *Trends in Plant Science*, 17(1), 47–55. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2011.10.003>
- Murray, P. J., & Wynn, T. A. (2011). Protective and pathogenic functions of macrophage subsets. *Nature Reviews Immunology*, 11(11), 723–737. <https://doi.org/10.1038/nri3073>
- Nakamura, K., Kawakami, T., Yamamoto, N., Tomizawa, M., Fujiwara, T., Ishii, T., Harigae, H., & Ogasawara, K. (2016). Activation of the NLRP3 inflammasome by cellular labile iron. In *Experimental Hematology* (Vol. 44, Issue 2). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.exphem.2015.11.002>
- Neves, J., Leitz, D., Kraut, S., Brandenberger, C., Agrawal, R., Weissmann, N., Mühlfeld, C., Mall, M. A., Altamura, S., & Muckenthaler, M. U. (2017). Disruption of the Hepcidin/Ferroportin Regulatory System Causes Pulmonary Iron Overload and Restrictive Lung Disease. *EBioMedicine*, 20, 230–239. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2017.04.036>
- Ovalle, W., & Nahirney, P. (2013). *Netter's Essential Histology* (2nd ed.). Elsevier.
- Pantopoulos, K. (2018). Inherited Disorders of Iron Overload. *Frontiers in Nutrition*, 5(October), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fnut.2018.00103>
- Parola, M., & Pinzani, M. (2019). Molecular Aspects of Medicine Liver fibrosis : Pathophysiology , pathogenetic targets and clinical issues. *Molecular Aspects of Medicine*, 65(July 2018), 37–55. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2018.09.002>

- Patel, K., & Sebastiani, G. (2020). Limitations of non-invasive tests for assessment of liver fibrosis. *JHEP Reports*, 2(2), 100067. <https://doi.org/10.1016/j.jhepr.2020.100067>
- Paulsen, F., & Waschke, J. (2019). *Sobotta Atlas Anatomi Manusia Organ Interna* (Edisi 24). Elsevier.
- Pilo, F., & Angelucci, E. (2019). Iron toxicity and hemopoietic cell transplantation: Time to change the paradigm. *Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases*, 11(1), 1–8. <https://doi.org/10.4084/MJHID.2019.030>
- Poggiali, E., Cassinerio, E., Zanaboni, L., & Cappellini, M. D. (2012). An update on iron chelation therapy. *Blood Transfusion*, 10(4), 411–422. <https://doi.org/10.2450/2012.0008-12>
- Porter, J. B., Domenica, M., Kattamis, A., Musallam, K. M., Zhu, Z., & Taher, A. T. (2017). *Iron overload across the spectrum of non-transfusion-dependent thalassaemias: role of erythropoiesis, splenectomy and transfusions*. 288–299. <https://doi.org/10.1111/bjh.14373>
- Radaeva, S., Sun, R., Jaruga, B., Nguyen, V. T., Tian, Z., & Gao, B. (2006). Natural killer cells ameliorate liver fibrosis by killing activated stellate cells in NKG2D-dependent and tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand-dependent manners. *Gastroenterology*, 130(2), 435–452. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2005.10.055>
- Radford-Smith, D. E., Powell, E. E., & Powell, L. W. (2018). Haemochromatosis: a clinical update for the practising physician. *Internal Medicine Journal*, 48(5), 509–516. <https://doi.org/10.1111/imj.13784>
- Rubin, E., & Reisner, H. M. (2014). *Essentials of Rubin's Pathology* (6th ed.). Wolters Kluwer - Lippincot Williams & Wilkins.
- Ruoß, M., Rebholz, S., Weimer, M., Grom-baumgarten, C., Athanasopulu, K., Kemkemer, R., Käß, H., & Ehnert, S. (2020). Development of Scaffolds with Adjusted Stiffness for Mimicking Disease-Related Alterations of Liver Rigidity. *J Funct Biomater.*, 11(1), 17. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/jfb11010017>
- Safithri, F. (2018). Mekanisme Regenerasi Hati secara Endogen pada Fibrosis Hati. *MAGNA MEDICA: Berkala Ilmiah Kedokteran Dan Kesehatan*, 2(4), 9. <https://doi.org/10.26714/magnamed.2.4.2018.9-26>
- Saito, H. (2014). Metabolism of iron stores. *Nagoya Journal of Medical Science*, 76(3–4), 235–254. <https://doi.org/10.18999/nagjms.76.3-4.235>

- Saito, H. (2019). Storage Iron Turnover from a New Perspective. *Acta Haematologica*, 201–208. <https://doi.org/10.1159/000496324>
- Sarigianni, M., Liakos, A., Vlachaki, E., Paschos, P., Athanasiadou, E., Montori, V. M., Murad, M. H., & Tsapas, A. (2015). Accuracy of magnetic resonance imaging in diagnosis of liver iron overload: A systematic review and meta-analysis. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 13(1), 55-63.e5. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2014.05.027>
- Sarosa, H., Bahrudin, U., Soemantri, A., Fatimah-muis, S., Arfian, N., & Hisatome, I. (2020). The Protective Effect of Azelnidipine for the Prevention of Heart Fibrosis Occurrence on Balb/c Mice with Iron Overload. *Bangladesh Journal of Medical Science*, 19(02), 223–228.
- Schuppan, D., & Afdhal, N. H. (2008). Liver cirrhosis. *The Lancet*, 371(9615), 838–851. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(08\)60383-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(08)60383-9)
- Sherwood, L. (2019). *Fisiologi Manusia Dari Sel ke Sistem* (Edisi 9). Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Shiha, G., & Zalata, K. (2011). Ishak versus METAVIR: terminology, convertibility and correlation with laboratory changes in chronic hepatitis C. In H. Takahashi (Ed.), *Liver Biopsy* (pp. 155–170). BoD – Books on Demand.
- Sies, H. (1991). *Oxidative Stress : From Basic Research to Clinical Application*. 91, 31–38.
- Sikorska, K., Bernat, A., & Wróblewska, A. (2016). Molecular pathogenesis and clinical consequences of iron overload in liver cirrhosis. *Hepatobiliary and Pancreatic Diseases International*, 15(5), 461–479. [https://doi.org/10.1016/S1499-3872\(16\)60135-2](https://doi.org/10.1016/S1499-3872(16)60135-2)
- Smith, C. L., Arvedson, T. L., Cooke, K. S., Dickmann, L. J., Forte, C., Li, H., Merriam, K. L., Perry, V. K., Tran, L., Rottman, J. B., & Maxwell, J. R. (2013). IL-22 Regulates Iron Availability In Vivo through the Induction of Hepcidin. *The Journal of Immunology*, 191(4), 1845–1855. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1202716>
- Snell, R. S. (2011). *Anatomi Klinis Berdasarkan Sistem* (A. Suwahjo & Y. A. Liestyawan (Eds.)). Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Span, K., Pieters, E. H. E., Brinks, V., Hennink, W. E., & Schellekens, H. (2018). Evaluation of the suitability of a Sprague Dawley rat model to assess intravenous iron preparations. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, 91, 7–17. <https://doi.org/10.1016/j.vascn.2017.12.001>

- Steele, S. L., Kroeun, H., & Karakochuk, C. D. (2019). The effect of daily iron supplementation with 60 mg ferrous sulfate for 12 weeks on non-transferrin bound iron concentrations in women with a high prevalence of hemoglobinopathies. *Journal of Clinical Medicine*, 8(2). <https://doi.org/10.3390/jcm8020180>
- Stefanova, D., Raychev, A., Arezes, J., Ruchala, P., Gabayan, V., Skurnik, M., Dillon, B. J., Horwitz, M. A., Ganz, T., Bulut, Y., & Nemeth, E. (2017). Endogenous hepcidin and its agonist mediate resistance to selected infections by clearing non-transferrin-bound iron. *Blood*, 130(3), 245–257. <https://doi.org/10.1182/blood-2017-03-772715>
- Stoffel, N. U., Zeder, C., Brittenham, G. M., Moretti, D., & Zimmermann, M. B. (2020). *Iron absorption from supplements is greater dosing in iron-deficient anemic women.* 105(Id). <https://doi.org/10.3324/haematol.2019.220830>
- Street, J. M., Souza, A. C. P., Alvarez-Prats, A., Horino, T., Hu, X., Yuen, P. S. T., & Star, R. A. (2014). Automated quantification of renal fibrosis with Sirius Red and polarization contrast microscopy. *Physiological Reports*, 2(7), 1–9. <https://doi.org/10.14814/phy2.12088>
- Suvarna, S. K., Layton, C., & Bancroft, J. D. (2013). *Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques* (7th ed.). Churchill Livingstone Elsevier.
- Tanaka, M., & Miyajima, A. (2016). Liver regeneration and fibrosis after inflammation. *Inflammation and Regeneration*, 36(1), 1–6. <https://doi.org/10.1186/s41232-016-0025-2>
- Toblli, E., Cao, G., Oliveri, L., & Angerosa, M. (2011). Assessment of the extent of oxidative stress induced by intravenous ferumoxytol, ferric carboxymaltose, iron sucrose and iron dextran in a nonclinical model. *Arzneimittelforschung*, 61(07), 399–410. <https://doi.org/10.1055/s-0031-1296218>
- Tortora, G. J., & Derrickson, B. (2014). *Principles of Anatomy & Physiology*. In Wiley (14th ed.). Wiley.
- Tsuchida, T., & Friedman, S. L. (2017). Mechanisms of hepatic stellate cell activation. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, 14(7), 397–411. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2017.38>
- Unalp-Arida, A., & Ruhl, C. E. (2017). Liver fibrosis scores predict liver disease mortality in the United States population. *Hepatology*, 66(1), 84–95. <https://doi.org/10.1002/hep.29113>

- Vela, D. (2018). *Low hepcidin in liver fibrosis and cirrhosis; a tale of progressive disorder and a case for a new biochemical marker*. 1–18.
- Wahidiyat, P. A., Liauw, F., Sekarsari, D., Putriasih, S. A., Berdoukas, V., & Pennell, D. J. (2017). Evaluation of cardiac and hepatic iron overload in thalassemia major patients with T2* magnetic resonance imaging. *Hematology*, 22(8), 501–507. <https://doi.org/10.1080/10245332.2017.1292614>
- Wang, L., Feng, Y., Ma, X., Wang, G., Wu, H., Xie, X., Zhang, C., & Zhu, Q. (2017). Diagnostic efficacy of noninvasive liver fibrosis indexes in predicting portal hypertension in patients with cirrhosis. *PLoS ONE*, 12(8), 1–13. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0182969>
- Weng, S.-Y., Wang, X., Vijayan, S., Tang, Y., Kim, Y. O., Padberg, K., Regen, T., Molokanova, O., Chen, T., Bopp, T., Schild, H., Brombacher, F., Crosby, J. R., McCaleb, M. L., Waisman, A., Bockamp, E., & Schuppan, D. (2018). IL-4 Receptor Alpha Signaling through Macrophages Differentially Regulates Liver Fibrosis Progression and Reversal. *EBioMedicine*, 29, 92–103. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2018.01.028>
- World Health Statistics 2021: Monitoring Health for The SDGs, Sustainable Development Goals*. (2021). World Health Organization.
- Wu, X. Q., Lin, K. N., Chen, M. M., Jiang, P. F., Zhang, Y. X., Chen, Y. Q., Chen, Q. R., Xiao, M., Zhu, H. J., Issa, H. A., Chen, S. Z., Luo, X. F., Ren, J. H., Li, Q., Zeng, Y. L., Xu, J. J., Lin, Y. F., Zheng, R., Zheng, Z. H., ... Yang, T. (2020). Iron overload as a risk factor for poor graft function following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Kaohsiung Journal of Medical Sciences*, 36(10), 825–833. <https://doi.org/10.1002/kjm2.12238>
- Xanthopoulos, A., Starling, R. C., Kitai, T., & Triposkiadis, F. (2019). Heart Failure and Liver Disease: Cardiohepatic Interactions. *JACC: Heart Failure*, 7(2), 87–97. <https://doi.org/10.1016/j.jchf.2018.10.007>
- Yokoo, T., & Browning, J. D. (2014). Fat and Iron Quantification in the Liver. *Topics in Magnetic Resonance Imaging*, 23(2), 73–94. <https://doi.org/10.1097/RMR.0000000000000016>
- Yoon, I. C., & Eun, J. R. (2019). Pharmacologic therapy for nonalcoholic steatohepatitis focusing on pathophysiology. *Yeungnam University Journal of Medicine*, 36(2), 67–77. <https://doi.org/10.12701/yujm.2019.00171>
- Yu, Y., Duan, J., Li, Y., Li, Y., Jing, L., Yang, M., Wang, J., & Sun, Z. (2017). Silica nanoparticles induce liver fibrosis via TGF- β 1/Smad3 pathway in

- ICR mice. *International Journal of Nanomedicine*, 12, 6045–6057. <https://doi.org/10.2147/IJN.S132304>
- Yuan, Q., Zhang, Z., Hu, X., Liao, J., & Kuang, J. (2019). miR-374a/Myc axis modulates iron overload-induced production of ROS and the activation of hepatic stellate cells via TGF- β 1 and IL-6. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 515(3), 499–504. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2019.05.152>
- Zhabyeyev, P., Das, S. K., Basu, R., Shen, M., Patel, V. B., Kassiri, Z., & Oudit, G. Y. (2021). *TIMP3* deficiency exacerbates iron overload-mediated cardiomyopathy and liver disease. 978–990. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00597.2017>
- Zhang, Y., Zhang, G., Liang, Y., Wang, H., Wang, Q., Zhang, Y., Zhang, X., Zhang, J., & Chu, L. (2020). Potential mechanisms underlying the hepatic-protective effects of danshensu on iron overload mice. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 43(6), 968–975. <https://doi.org/10.1248/BPB.B19-01084>
- Ziv, K., Meir, G., Harmelin, A., Shimoni, E., Klein, E., & Neeman, M. (2010). Ferritin as a reporter gene for MRI: Chronic liver over expression of h-ferritin during dietary iron supplementation and aging. *NMR in Biomedicine*, 23(5), 523–531. <https://doi.org/10.1002/nbm.1491>