

**STEMPOWERING (*Stem Cell Empowering*):
INOVASI PENGEMBANGAN TERAPI AUTO-REGENERASI BERBASIS
MOBILISASI HEMATOPOIETIC STEM CELL PADA MENCIT MODEL
DM MENGGUNAKAN EKSTRAK JAMUR TIRAM (*Pleurotus ostreatus*)**

TUGAS AKHIR

Untuk Memenuhi Persyaratan

Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran Umum



Oleh:

**Durrotul Ikrimah
NIM: 0910710007**

**JURUSAN PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2012**

HALAMAN PERSETUJUAN

TUGAS AKHIR

**STEMPOWERING (*Stem Cell Empowering*):
INOVASI PENGEMBANGAN TERAPI AUTO-REGENERASI BERBASIS
MOBILISASI HEMATOPOIETIC STEM CELL PADA MENCIT MODEL DM
MENGUNAKAN EKSTRAK JAMUR TIRAM (*Pleurotus ostreatus*)**

Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran Umum

Oleh:

Durrotul Ikrimah
NIM: 0910710007

Menyetujui untuk diuji:

Dosen Pembimbing

Dr.drg Nur Permatasari, M.S
NIP. 19601005 199103 2 001

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

**STEMPOWERING (*Stem Cell Empowering*):
INOVASI PENGEMBANGAN TERAPI AUTO-REGENERASI BERBASIS
MOBILISASI HEMATOPOIETIC STEM CELL PADA MENCIT MODEL DM
MENGUNAKAN EKSTRAK JAMUR TIRAM (*Pleurotus ostreatus*)**

Oleh:

Durrotul Ikrimah
NIM: 0910710007

Telah diuji pada

Hari :

Tanggal :

dan dinyatakan lulus oleh:

Penguji,

Dr.drq Nur Permatasari, M.S
NIP. 19601005 199103 2 001

KATA PENGANTAR

Segala puji hanya bagi Allah SWT yang telah memberi petunjuk dan hidayah-nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir dengan judul "STEMPOWERING (*Stem Cell Empowering*): INOVASI PENGEMBANGAN TERAPI AUTO-REGENERASI BERBASIS MOBILISASI HEMATOPOIETIC STEM CELL PADA MENCIT MODEL DM MENGGUNAKAN EKSTRAK JAMUR TIRAM (*Pleurotus ostreatus*)".

Ketertarikan penulis akan topik ini didasari oleh fakta bahwa penyakit diabetes mellitus (DM) merupakan salah satu penyakit metabolik yang prevalensinya di Indonesia dan Dunia cukup tinggi. Penelitian kami memfokuskan pengobatan DM dengan cara meregenerasi sel beta pankreas melalui pelepasan hematopoietic stem cell (HSC) yang terdapat pada sum-sum tulang. Sedangkan zat penting yang digunakan untuk merangsang HSC itu tadi bernama Beta glucan yang banyak terdapat pada jamur. Jenis jamur yang kami gunakan adalah jamur tiram yang banyak di konsumsi dan produksinya di Indonesia pun sangat tinggi.

Dengan selesainya Tugas Akhir ini, penulis mengucapkan terima kasih yang tak terhingga kepada:

1. Allah SWT yang telah memberikan nikmat dan rizki tak terhingga telah memberikan saya kesempatan menuntut ilmu di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya dan menyelesaikan Tugas Akhir.
2. Dr dr. Karyono Mintaroem, SpPA, dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya beserta jajarannya.
3. Dr.drg Nur Permatasari, M.S sebagai dosen pembimbing yang dengan sabar membimbing untuk bisa menulis dengan baik, dan senantiasa memberi semangat mulai saat pengusulan proposal PKM, Pimnas, hingga penyelesaian Tugas Akhir.
4. Dr. Dra. *Sri Winarsih*, Apt., MSi. sebagai ketua tim penguji Tugas Akhir dan segenap anggota Tim Pengelola Tugas Akhir FKUB.
5. Bapak Muhaimin Rifa'i, M.sc P.hd yang membimbing secara intesif khususnya masalah penggunaan CD34.
6. Pihak laboratorium - laboratorium terkait yang ada di FKUB, khususnya mbak Taryna, mas Yudha, mas Memet, Mas Mizan.
7. Ditjen Dikti yang telah membantu pendanaan PKM.
8. Yang tercinta ayahanda Kolonel Sus Ir. Muchtar Mawardi, Ibunda dr. Devi Rachmayanti, mbak Nailu Nur Izzati, ST dan adik Nadhifati Rifdah terimakasih atas do'a, cinta, kasih sayang, support lahir bathin serta motivasinya selama ini.
9. Aa Muhammad Mustafainal Akhyar yang selalu berjuang bersama, terimakasih atas doa, support dan motivasi yang diberikan.
10. Rekan seperjuangan satu kelompok PKMP, Mas Makhyan Jibril Al-Farabi, Mas Dicky Stevano Zuhri, Annisa Alkarimah dan Mas Aditya Satriya Nugraha atas kerja sama dan pengalaman yang tidak pernah terlupa.
11. Sahabat terbaik yang tersayang Siska, Icha, Nofi, Nydya, Luki, Ifah, Airin, Hendra terimakasih telah memberikan warna dalam hari-hari di Kampus FKUB.

- repository.ub.ac.id
12. Keluarga besar Ikatan Senat Mahasiswa Kedokteran Indonesia, khususnya keluarga Pendidikan dan Profesi yang selalu bersemangat dan memberikan motivasi untuk terus berjuang.
 13. Keluarga besar Pendidikan Dokter 2009 yang hingga saat ini menjadi sahabat setia dalam menapaki pendidikan di FKUB.
 14. Semua pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan Tugas Akhir ini yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa penulisan ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis membuka diri untuk segala saran dan kritik yang membangun. Akhirnya, semoga Tugas Akhir ini dapat bermanfaat bagi yang membutuhkan.

Malang, 13 Januari 2012

Penulis



ABSTRAK

Ikrimah, Durrotul. 2012. **STEMPOWERING (Stem Cell Empowering): Inovasi Pengembangan Terapi Auto-Regenerasi Berbasis Mobilisasi Hematopoietic Stem Cell Pada Mencit Model DM Menggunakan Ekstrak Jamur Tiram (*Pleurotus Ostreatus*)**. Tugas Akhir, Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: Dr.drg Nur Permatasari, MS.

Diabetes merupakan salah satu masalah kesehatan yang paling serius di abad 21. Pada penderita diabetes terjadi kerusakan sel β pankreas secara progresif. Jamur tiram (*Pleurotus ostreatus*) memiliki kandungan beta glucan yang tinggi dimana pada mencit terbukti meningkatkan G-CSF. G-CSF merupakan stimulan dalam pelepasan *hematopoietic stem cell* yang diharapkan dapat meregenerasi pankreas. Penelitian ini menggunakan desain *true experimental laboratory* menggunakan model mencit Balb/C diabetes yang dibagi menjadi 3 kelompok perlakuan, kontrol positif dan kontrol negatif. Induksi diabetes menggunakan Streptozotocin dan Nicotinamide kemudian dilanjutkan dengan pemberian ekstrak jamur tiram pada kelompok P1, P2 dan P3 dengan dosis 25, 50 dan 100 mg/KgBB/hari selama 7 hari. Pengukuran *Hematopoietic stem cell* menggunakan penanda CD34+ dengan *flowcytometry*. Berat pankreas diukur dengan timbangan dan morfologi dilihat dari histopatologi. Terapi mencit DM dengan ekstrak jamur tiram dapat menurunkan glukosa darah sebanyak 43% (P1), 55% (P2) and 46% (P3). Terdapat peningkatan CD34+ secara bermakna antar perlakuan pada persentase ekspresi CD34+ ($p=0,000$; $p<0,05$) dengan korelasi pearson 0,601, signifikansi 0,000. Terdapat perbedaan bermakna antar perlakuan pada masa pankreas mencit ($p=0,006$; $p<0,05$) dengan korelasi pearson 0,579 dengan signifikansi 0,001. *Kruskall Wallis* menunjukkan perbedaan bermakna antar perlakuan pada persentase kerusakan sel langerhans pankreas ($p=0,005$; $p<0,05$). Korelasi antara CD34+ dengan berat pankreas dan glukosa darah ($r=0,447$; $r= -0,597$). Uji *spearman rho* didapatkan korelasi erat antara derajat kerusakan langerhans dengan berat pankreas, persentase glukosa dan CD34+ ($r= -0,717$; $r=0,595$; $r= -0,496$). Penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak jamur tiram mampu menjadi modalitas penatalaksanaan DM tipe II dengan mekanisme mobilisasi *hematopoietic stem cell*.

Kata Kunci : Diabetes, Sel Langerhans Pankreas, *Hematopoietic stem cell*, *Pleurotus ostreatus*, G-CSF, Regenerasi, CD34

ABSTRACT

Ikrimah, Durrotul. 2012. **STEMPOWERING (Stem Cell Empowering): Innovative Development of Auto-Regeneration-Based Therapy with Hematopoietic Stem Cell Mobilization in Diabetic Mice Using Oyster Mushroom (*Pleurotus ostreatus*) Extract**. Final Assignment, Medical program, Faculty of Medicine, Brawijaya University. Supervisors: Dr.drg Nur Permatasari, MS.

Diabetes is one of the most serious health problem in the 21st century. People with diabetes will experience progressif β cells damage. Oyster mushrooms (*Pleurotus ostreatus*) is a fungus that has a high content of beta glucan. Giving beta glucan in mice shown to increase G-CSF. G-CSF is a stimulant in the release of hematopoietic stem cells. This study uses a true experimental design laboratory using diabetic Balb/C mice model which were divided into 3 treatment groups, the positive control and negative control. Induction of diabetes using Streptozotocin and Nicotinamide and were continued with Oyster mushroom extract for group P1, P2 and P3 dose 25, 50 and 100 mg/KgBW/day for 7 days. Hematopoietic stem cell measurements using the marker CD34 by flowcytometry. Pancreas weight was measured with the scales and morphology seen from histopathology. Therapy of DM mice with oyster mushroom extract lowered blood glucose significantly by 43% (P1), 55% (P2) and 46% (P3). There are increased CD34 significantly between treatments in the percentage of CD34 expression ($p = 0.000$, $p < 0.05$) with a pearson correlation 0,601 and significance 0,000. There are significant differences between treatments in the pancreas of mice ($p = 0006$, $p < 0.05$) with a pearson correlation of 0,579 with a significance of 0.001. Kruskal Wallis showed significant differences between treatments in the percentage of pancreatic Langerhans cell damage ($p = 0.005$, $p < 0.05$). The correlation between CD34 with pancreatic weight and blood glucose ($r = 0.447$; $r = -0.597$). Spearman rho test found a strong correlation between the degree of damage with severe Langerhans of the pancreas, the percentage of glucose and CD34 ($r = -0.717$; $r = 0.595$; $r = -0.496$). This study suggests that the oyster mushroom extract could be a modality of treatment of diabetes mellitus type II, which is likely the mechanism is the mobilization of hematopoietic stem cells.

Key words: Diabetes, Cell Langerhans Pancreas, Hematopoietic stem cells, *Pleurotus ostreatus*, G-CSF, Regeneration, CD34

DAFTAR ISI

Halaman Judul.....	i
Halaman Persetujuan	ii
Halaman Pengesahan	iii
Kata Pengantar.....	iv
Abstrak	vi
Abstract	vii
Daftar Isi	viii
Daftar Tabel.....	xii
Daftar Gambar	xiii
Daftar Singkatan.....	xiv
 BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.2.1 Sub Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1 Tujuan Umum.....	4
1.3.2 Tujuan Khusus	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
1.4.1 Manfaat Bagi Akademisi	5
1.4.2 Manfaat Bagi Praktisi.....	5

BAB II TINJAUAN PUSTAKA



2.1 Diabetes Mellitus	6
2.1.1 Definisi, Etiologi dan Klasifikasi	6
2.2 Pulau Langerhans	7
2.2.1 Sel β Pankreas	7
2.2.2 Gambaran Morfologis Kerusakan Pankreas	8
2.3 <i>Hematopoietic Stem Cell</i>	8
2.4 Jamur Tiram	9
2.5 Beta Glucan	10
 BAB III KERANGKA KONSEP	
3.1 Metode Konsep Stempowering	12
3.2 Hipotesis Konsep Stempowering	12
 BAB IV METODE PENELITIAN	
4.1 Rancangan Penelitian	14
4.2 Sampel	14
4.2.1 Kriteria Inklusi Sampel	15
4.2.2 Sampel	15
4.3 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional	16
4.3.1 Variabel Bebas Penelitian	16
4.3.2 Variabel Tergantung Penelitian	16
4.3.3 Definisi Operasional	16
4.4 Tempat dan Waktu Penelitian	17
4.4.1 Tempat Penelitian	17



4.4.2 Waktu Penelitian	17
4.5 Instrumen Penelitian.....	17
4.5.1 Alat dan Bahan untuk Pemeliharaan Mencit	17
4.5.2 Alat dan Bahan untuk Induksi Mencit Model Diabetes Meliitus	17
4.5.3 Alat dan Bahan Pembuatan Ekstrak Jamur Tiram	18
4.5.4 Alat dan Bahan Pemberian Ekstrak Jamur Tiram	18
4.5.5 Alat dan Bahan untuk Penimbangan Mencit dan Pankreas.....	18
4.5.6 Alat dan Bahan untuk Pembedahan Mencit	18
4.5.7 Alat dan Bahan untuk Pemeriksaan Histopatologi Pankreas.....	18
4.5.8 Alat dan Bahan Untuk Perhitungan <i>Hematopoietic Stem Cell</i> Menggunakan Flowcytometri.....	18
4.5.9 Alat untuk Sanitasi dan Higienisasi	19
4.6 Prosedur Penelitian/Pengumpulan Data	19
4.6.1 Persiapan Hewan Coba	19
4.6.2 Pembuatan Ekstrak Jamur Tiram	19
4.6.3 Induksi Kerusakan Beta Pankreas Model Diabetes Mellitus Tipe II	20
4.6.4 Pengukuran Glukosa Darah Mencit.....	20
4.6.5 Pengukuran Jumlah Hematopietic Stem Cell dengan Penanda CD34 Menggunakan Flowcytometri	20
4.6.6 Penimbangan Berat Mencit dan Pankreas	21
4.6.7 Pembuatan Preparat Histopatologi Pankreas	21
4.7 Analisis Data	23

BAB V HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Persentase Kadar Glukosa Darah	24
5.2 Persentase CD34	25
5.3 Berat Pankreas	26
5.4 Histologi Jaringan Islet Langerhans	27
5.5 Persentase Destruksi Pulau Langerhans	27
5.6 Jumlah Rerata Sel dalam Pulau Langerhans	28

BAB VI PEMBAHASAN

6.1 Glukosa Darah	30
6.2 Persentase Ekspresi Penanda <i>Hematopoietic Stem Cell</i> (CD 34)	31
6.3 Berat Pankreas	33
6.4 Histologi Pankreas	34
6.5 Jumlah Sel Pankreas	34
6.6 Hubungan Antar Mobilisasi CD 34, Perbaikan Fungsi dan Struktur Sel Islet Langerhans Pankreas dengan Pemberian Perlakuan	35

BAB VII PENUTUP

7.1 Kesimpulan	36
7.2 Saran	36

DAFTAR PUSTAKA	37
----------------------	----

LAMPIRAN	41
----------------	----



DAFTAR TABEL

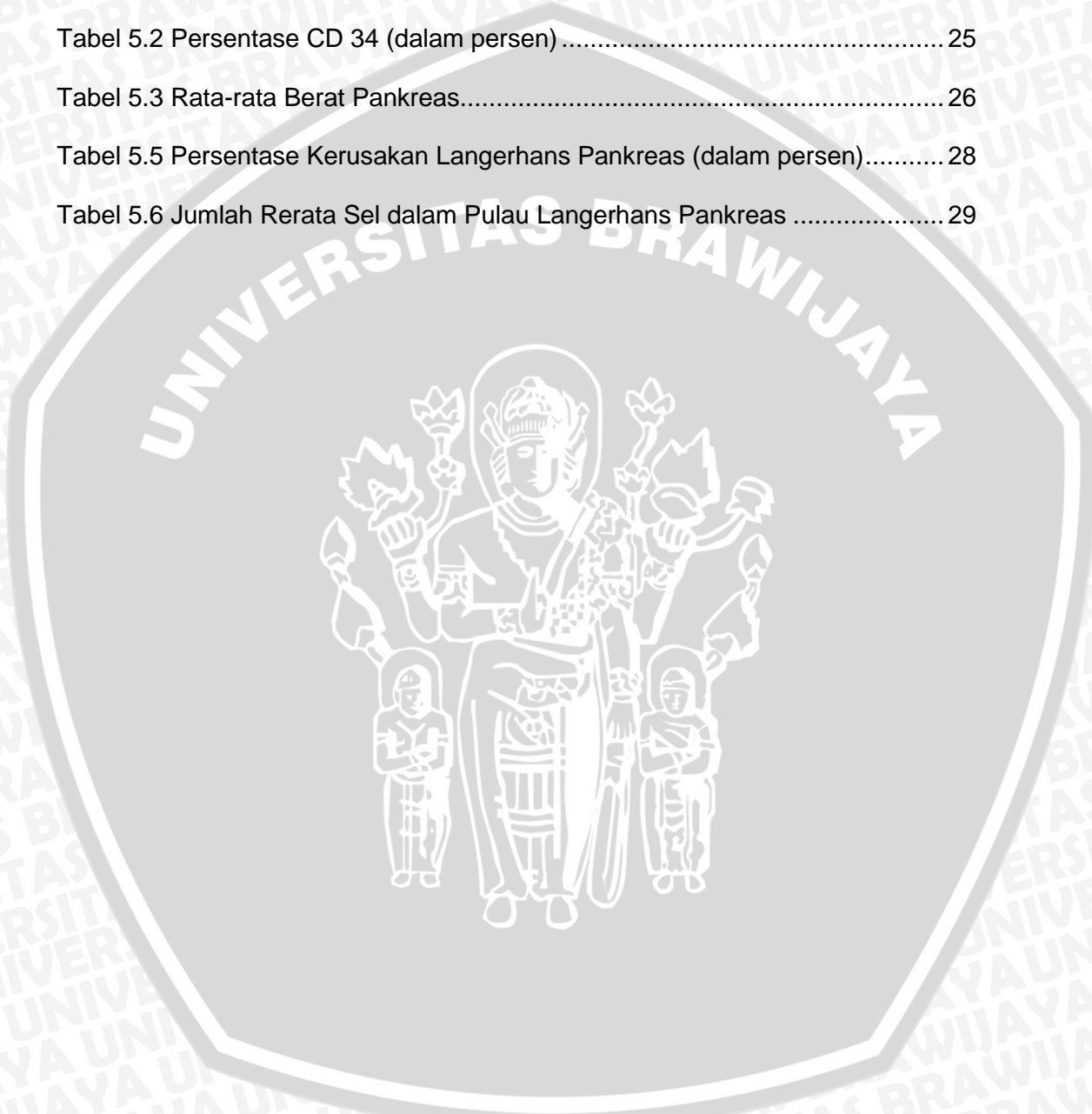
Tabel 5.1 Persentase Kadar Glukosa Darah Mencit 24

Tabel 5.2 Persentase CD 34 (dalam persen) 25

Tabel 5.3 Rata-rata Berat Pankreas..... 26

Tabel 5.5 Persentase Kerusakan Langerhans Pankreas (dalam persen)..... 28

Tabel 5.6 Jumlah Rerata Sel dalam Pulau Langerhans Pankreas 29



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Jamur Tiram.....	10
Gambar 3.1 Bagan Pelaksanaan penelitian Stempowering	12
Gambar 4.1 Rancangan Penelitian	14
Gambar 5.1 Persentase Kadar Glukosa Darah Mencit	24
Gambar 5.2 Persentase CD 34 (dalam persen)	25
Gambar 5.3 Rata-rata Berat Pankreas.....	26
Gambar 5.4 Histologi Jaringan Pulau Langerhans.....	27
Gambar 5.5 Persentase Kerusakan Langerhans Pankreas (dalam persen).....	27
Gambar 5.6 Jumlah Rerata Sel dalam Pulau Langerhans Pankreas.....	28



DAFTAR SINGKATAN

DM	: Diabetes Mellitus
WHO	: <i>World Health Organization</i>
G-CSF	: <i>Granulocyte-Colony Stimulating Factor</i>
G-CSFR	: <i>Granulocyte-Colony Stimulating Factor Reseptor</i>
CD34+	: <i>Cluster of Differentiation</i>
HE	: <i>Hematoeosin</i>
HSC	: <i>Hematopoietic Stem Cell</i>
VCAM-1	: <i>Vascular Cell Adhesion Molecule 1</i>
VLA-4	: <i>Very Late Antigen 4</i>
CXCR4	: <i>C-X-C Chemokin Receptor Type 4</i>
CXCL12	: <i>C-X-C Chemokine Ligand 12</i>
SDF-1	: <i>Stromal Cell Derived Factor</i>
RAK	: Rancangan Acak Kelompok
BB	: Berat badan
STZ	: <i>Streptozotocin</i>
PBS	: <i>Phospat Buffer Saline</i>
RNAse	: <i>Ribonuclease</i>
FACS	: <i>Facial Action Coding System</i>
Ig	: <i>Immunoglobulin</i>

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Diabetes mellitus (DM) merupakan keadaan hiperglikemia (peningkatan glukosa darah) kronik disertai berbagai kelainan metabolik akibat gangguan hormonal. Diabetes merupakan salah satu masalah kesehatan yang paling serius di abad 21 (Donnath *et al.*, 2003). Gambaran patologik diabetes mellitus sebagian besar dapat dihubungkan dengan salah satu efek utama akibat kurangnya insulin yaitu berkurangnya pemakaian glukosa oleh sel-sel tubuh, peningkatan metabolisme lemak yang menyebabkan terjadinya metabolisme lemak abnormal disertai endapan kolesterol pada dinding pembuluh darah sehingga timbul gejala aterosklerosis serta berkurangnya protein dalam jaringan tubuh (Guyton, 2006).

Jumlah penderita DM usia 20-79 tahun di dunia berkisar 150 juta pada tahun 2003 dan diestimasi akan meningkat menjadi 333 juta pada 20 tahun kedepan (International Diabetes Foundation, 2005), dimana 90-95% penderita DM ialah menderita diabetes mellitus tipe II (King *et al.*, 2003). Berdasarkan catatan Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) tahun 1998, Indonesia menduduki peringkat keenam dengan jumlah penderita diabetes mellitus terbanyak setelah India, Cina, Rusia, Jepang, dan Brasil. Di Indonesia, diperkirakan tahun 2020 nanti akan ada 178 juta penduduk di atas umur 20 tahun, dan dari jumlah tersebut bila diasumsikan prevalensi DM 5%, maka akan didapatkan 9 juta penderita diabetes mellitus (Depkes, 2007).



Diabetes mellitus merupakan penyakit yang tidak dapat disembuhkan secara total, akan tetapi diabetes dapat dihambat dan dikendalikan perkembangannya. Namun, pengobatan diabetes yang tersedia saat ini seringkali masih memiliki banyak efek samping dan tidak mampu mengembalikan homeostasis glukosa normal dan harganya mahal (Rang dan Dale, 1991). Selama ini obat yang menurunkan resistensi insulin seperti thiazolidinediones (glitazones) justru memiliki efek samping peningkatan resiko terjadinya *myocard infarct* dan kematian yang berhubungan dengan penyakit jantung (Ligaray, 2009).

Keberadaan sel beta pankreas merupakan salah satu hal yang penting dalam menunjang kehidupan manusia (Rhisbud dan Bonde, 2002). Regulasi intraseluler dari sel beta pankreas masih belum diketahui secara rinci, sejauh ini mekanisme yang sudah diketahui yaitu replikasi dari sel beta pankreas, diferensiasi dari stem sel/sel progenitor untuk menjadi beta pankreas dan inhibisi apoptosis sel beta pankreas (Murtaugh dan Melton, 2003; Trucco, 2005). Stem sel ekstra-pankreas yang telah dibuktikan mampu berdiferensiasi menjadi sel beta pankreas yang kompeten untuk sekresi insulin yaitu berasal dari liver (Yang *et al.*, 2002), usus halus (Lanus *et al.*, 2003) dan *sumsum tulang* (Tang *et al.*, 2004).

Beta glucan merupakan salah satu konstituen pada dinding sel yeast, beberapa bakteri dan jamur yang bisa dimakan. Jamur tiram (*Pleurotus ostreatus*) merupakan salah satu jamur yang memiliki kandungan *beta glucan* yang tinggi (Bobek dan Galbavy 2001). Umumnya jamur ini digunakan sebagai bahan makanan. Hingga saat ini belum pernah digunakan secara klinis terapi auto-regenerasi sel beta pankreas berbasis mobiliasi *hematopoietic stem cell* oleh jamur tiram.

Diketahui bahwa pada penelitian Lin *et al.*, (2009) membuktikan bahwa pemberian *beta glucan* pada mencit mampu meningkatkan G-CSF. Pada penelitian Goodman dan Hodgson (1990) dibuktikan bahwa peningkatan *hematopoietic stem cell* yang berada dalam sirkulasi dengan pemberian G-CSF mampu meningkatkan *survival* pada mencit dengan kerusakan sumsum tulang. Selain itu, kedokteran regeneratif akan menjadi pijakan pengobatan di masa depan (Ikrrar, 2010).

Sehingga dengan demikian diharapkan model penggunaan ekstrak jamur tiram ini mampu menjadi salah satu modalitas terapi regeneratif mutakhir berbasis alam untuk penderita diabetes mellitus dengan *brand name* "STEMPOWERING (*Stem Cell Empowering*)".

1.2 Rumusan Masalah

Apakah pemberian ekstrak jamur tiram mampu memperbaiki struktur dan fungsi pankreas serta meningkatkan hematopoietic stem cell pada mencit model DM?

1.2.1 Sub Masalah

1. Apakah pemberian ekstrak jamur tiram mempunyai pengaruh terhadap jumlah *hematopoietic stem cell* (dengan penanda CD34+) dalam darah pada mencit model diabetes mellitus?
2. Apakah pemberian ekstrak jamur tiram mempunyai pengaruh terhadap morfologi pankreas dengan indikator berat dan histopatologi pankreas pada mencit model diabetes mellitus?
3. Apakah pemberian ekstrak jamur tiram mempunyai pengaruh terhadap fungsi pankreas dengan indikator kadar glukosa darah pada mencit model diabetes mellitus?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Memperoleh bukti bahwa ekstrak jamur tiram bermanfaat dalam terapi regenerasi sel pulau pankreas berbasis *hematopoietic stem cell* untuk terapi DM.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengukur jumlah *hematopoietic stem cell* (dengan penanda CD34+) dalam darah pada mencit model DM yang diberi ekstrak jamur tiram.
2. Mengamati perbaikan struktur histologi dan berat pankreas pada mencit model DM yang diberi ekstrak jamur tiram.
3. Mengukur perbaikan fungsi pankreas dengan indikator kadar glukosa darah pada mencit model DM yang diberi ekstrak jamur tiram.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Bagi Akademisi

Dapat dijadikan sebagai dasar teori untuk menambah khasanah ilmu pengetahuan dalam bidang kesehatan modern berbasis regeneratif untuk pengobatan diabetes mellitus berbasis bahan alam Indonesia.

1.4.2 Manfaat Bagi Praktisi

1. Dapat dijadikan informasi untuk meningkatkan pengetahuan masyarakat dalam pemanfaatan tanaman obat tradisional khususnya jamur tiram sebagai obat alternatif dalam bentuk ekstrak sebagai modalitas terapi mutakhir berbasis alam menggunakan jamur tiram yang efektif, alamiah, aman dan lebih terjangkau dalam terapi diabetes mellitus.

2. Dapat dijadikan sebagai bahan pertimbangan industri obat untuk meningkatkan ragam produksi obat berbasis bahan alam, khususnya ekstrak jamur tiram.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Diabetes Mellitus

2.1.1 Definisi, Etiologi, dan Klasifikasi

Diabetes mellitus merupakan penyakit gangguan kronik pada metabolisme yang ditandai dengan hiperglikemia yang berhubungan dengan abnormalitas metabolisme karbohidrat, lemak dan protein, disebabkan oleh defisiensi insulin relatif atau absolut. Diabetes mellitus adalah gangguan metabolisme yang secara genetis dan klinis termasuk heterogen dengan manifestasi berupa hilangnya toleransi glukosa. (Inzuchi SE, 2003). Jika diabetes telah berkembang penuh secara klinis, maka diabetes mellitus ditandai dengan hiperglikemia puasa dan postprandial, aterosklerotik dan penyakit vaskular mikroangiopati, dan neuropati (Resnick, 2001; Mansjoer, 2007).

Jumlah penderita DM usia 20-79 tahun di dunia berkisar 150 juta pada tahun 2003 dan diestimasi akan meningkat menjadi 333 juta pada 20 tahun kedepan (International Diabetes Foundation, 2005), dimana 90-95% penderita DM ialah menderita diabetes mellitus tipe II (King *et al.*, 2003).

Menurut anjuran Perkumpulan Endokrinologi Indonesia (PERKENI), sesuai dengan anjuran American Diabetes Association (ADA) 2007, DM diklasifikasikan secara etiologi menjadi diabetes tipe 1, diabetes tipe II, diabetes dalam kehamilan, dan diabetes tipe lain (Mansjoer, 2007). DM tipe 1 atau yang dulu dikenal dengan nama *Insulin Dependent Diabetes Melitus* (IDDM), terjadi karena kerusakan sel beta pankreas (reaksi autoimun). Bila kerusakan sel beta

telah mencapai 90% maka gejala DM mulai muncul. DM tipe II merupakan 90% dari kasus diabetes mellitus yang dulu dikenal sebagai *non insulin dependent Diabetes Melitus (NIDDM)* dan mempunyai pola familial yang kuat. DM tipe II seringkali terjadi resistensi insulin disertai defisiensi insulin relatif sampai defek sekresi insulin disertai resistensi insulin (Price, 2006).

Pada DM tipe I dan II terjadi kerusakan sel β pankreas secara progresif. Patogenesis DM tipe II lebih bervariasi dibandingkan DM tipe I terdiri dari kerusakan relatif sel β pankreas dengan derajat yang berbeda tergantung tingkat resistensi insulin (Cnop *et al.*, 2005)

2.2 Pulau Langerhans

Pulau Langerhans membentuk 5% dari total massa pankreas dan terdistribusi ke seluruh jaringan eksokrin pankreas dan banyak dilalui oleh kapiler-kapiler darah (Clark, 2003). Pulau yang terdiri dari sel-sel yang mengandung insulin (sel- β , 70-80%), glukagon (sel- α , 15-20%), somatostatin (sel- δ , 5-10%), dan pankreas polipeptida (sel-PP, 15-20%) serta memiliki granula sekretorik (ghrelin) dengan morfologi karakteristik yang berbeda (1%) (Wierup *et al.*, 2002).

2.2.1 Sel β Pankreas

Sel β pankreas adalah sel endokrin yang sangat khusus dalam memproduksi, menyimpan, dan mensekresi insulin, satu-satunya hormon hipoglikemik fisiologis dalam tubuh (Russ *et al.*, 2008). Sel β pankreas merupakan sel yang paling sensitif dengan keberadaan glukosa di dalam darah (Ebong, 2006). Penderita diabetes akan mengalami perubahan morfologi pada sel β pankreas, baik dalam ukuran maupun jumlahnya (Guz *et al.*, 2001; Butler *et al.*, 2001).

Resistensi insulin dan defek pada sekresi insulin merupakan faktor risiko utama untuk DM tipe II. Penurunan fungsi secara progresif pada sel β pankreas menyebabkan intoleransi glukosa, yang kemudian akan diikuti dengan diabetes tipe 2 (Kahn, 2003). Penurunan massa sel β pankreas cenderung memainkan peran dalam patogenesis DM tipe II manusia (Butler *et al.*, 2001), seperti halnya pada hewan model penyakit (Kaiser *et al.*, 2003) (Rhodes, 2005).

Oleh karena itu, jumlah sel β pankreas di dalam pulau Langerhans merupakan parameter yang penting dalam menentukan tingkat kerusakan pankreas.

2.2.2 Gambaran Morfologis Kerusakan Pankreas

Pada hewan coba yang diinduksi diabetes mellitus akan terlihat morfologi pankreas dengan pulau Langerhans yang irregular, penurunan jumlah sel β disertai degranulasi dan nekrosis, serta didapatkan proliferasi dan dilatasi struktur duktal (Like dan Chick, 1970). Secara umum, hasil penelitian Andayani (2003) menunjukkan bahwa tikus yang diinduksi DM mengalami penurunan jumlah pulau Langerhans.

Pada pewarnaan HE, akan terlihat pulau Langerhans lebih pucat dibandingkan dengan sel-sel kelenjar acinar disekelilingnya sehingga pulau Langerhans mudah dibedakan. Penderita DM akan mengalami perubahan morfologi pada pulau Langerhans, baik dalam jumlah maupun ukurannya (Guz *et al.*, 2001; Butler *et al.*, 2001).

2.3 Hematopoietic Stem Cell

Hematopoietic stem cell adalah sel induk dewasa yang memiliki potensi untuk memperbaharui diri dan berdiferensiasi menjadi sel darah yang berfungsi dalam beberapa aktivitas biologis: keseimbangan homeostasis, fungsi kekebalan tubuh, dan respon terhadap mikroorganisme dan inflamasi. Selain itu HSC diketahui dapat berdiferensiasi menjadi sel khusus (sifat plastisitas) seperti adipocytes (Sera *et al.*, 2009), kardiomiosit (Pozzobon *et al.*, 2010), sel-sel endotel (Elkhafif *et al.*, 2011), fibroblas / myofibroblasts (Ebihara *et al.*, 2006), sel-sel hati (Khurana *et al.*, 2008; Sellamuthu *et al.*, 2011), osteochondrocytes (Dominichi *et al.*, 2004), dan sel pankreas (Minamiguchi *et al.*, 2008; Tang *et al.*, 2004).

Hematopoietic stem cell termasuk dalam jenis stem sel yang berasal dari sumsum tulang jaringan dewasa (Lin *et al.*, 2009). Pada sinusoidal di endothelial *niche* terdapat *Hematopoietic Stem Cell* (HSC) dengan jumlah yang signifikan yang siap untuk masuk kedalam darah perifer dan berdiferensiasi. Sebagian besar HSC berada dalam fase dorman dan akan merespon sinyal setelah keseimbangan sel darah atau *pooling* terganggu baik disebabkan oleh rangsangan intrinsik atau ekstrinsik. Pengamatan terhadap jumlah HSC dapat diukur dengan menggunakan penanda CD34+ dan CD 133+ (Adam dan Scadden, 2006).

2.4 Jamur Tiram

Kingdom	:	<i>Fungi</i>
Phylum	:	<i>Basidiomycota</i>
Class	:	<i>Agaricomycetes</i>
Order	:	<i>Agaricales</i>
Family	:	<i>Pleurotaceae</i>

Genus : *Pleurotus*
Species : *Pleurotus ostreatus*



Gambar 2.1 Jamur Tiram (NCBI, 2010)

Indonesia merupakan salah satu negara yang dikenal sebagai gudang produksi jamur (Astuti dan Nurbana, 2006). Jamur tiram (*Pleurotus ostreatus*) merupakan salah satu jenis jamur kayu yang banyak ditemukan di Indonesia. Tubuh jamur tiram memiliki warna putih, coklat, atau merah jambu, dengan atau tanpa tangkai, dengan bentuk tudung berupa lingkaran penuh atau setengah lingkaran (Achmad *et al.*, 2011).

Salah satu kandungannya yaitu beta 1-3/1-6 D glucan yang juga disebut sebagai pleuran sebagai komposisi utama jamur ini (Lindequist *et al.*, 2005).

2.5 Beta glucan

Beta glucan adalah polisakarida yang merupakan konstituen dari dinding sel yeast, fungi, dan bakteri patogenik tertentu. Kemampuan *beta glucan* dalam menginduksi respon imunitas tubuh dan mempercepat penyembuhan diketahui melalui aktivasi sistem komplemen, serta makrofag dan *natural killer enhancing*.

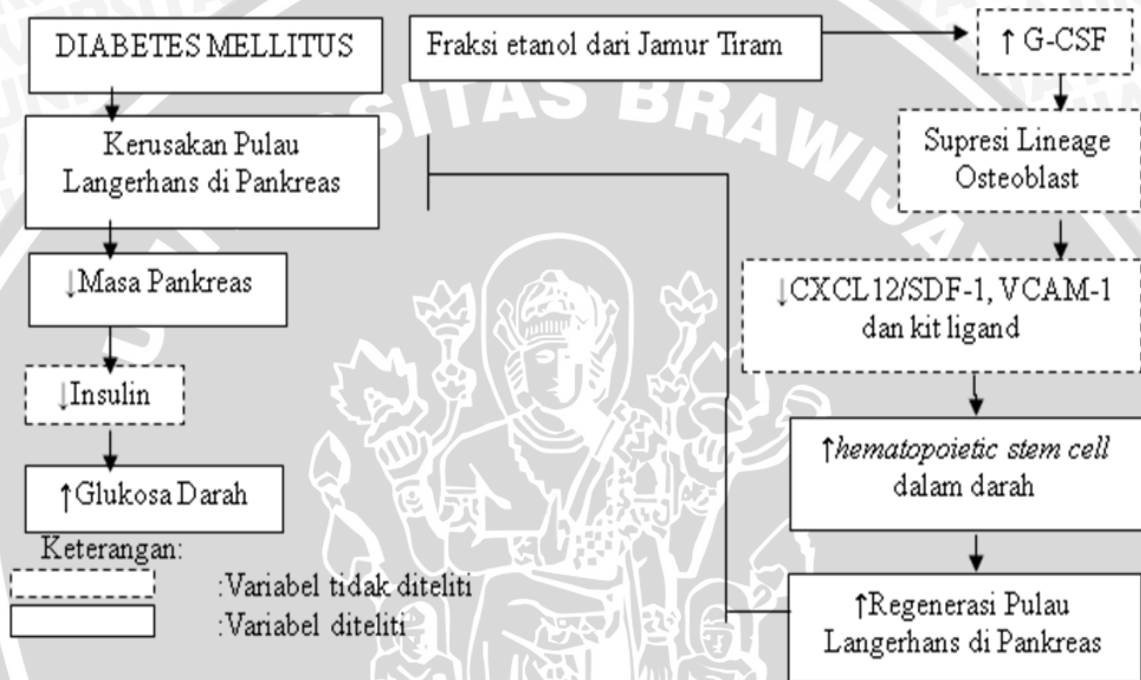
Selain itu *beta glucan* memiliki aktivitas antikanker dan menghambat pertumbuhan tumor pada *promotion stage* (Akramiene *et al.*, 2007).

β -(1,3 / 1,6)-D-glucan, isolasi polisakarida insoluble dari jamur *Pleurotus ostreatus*, merupakan suplemen nutrisi yang memiliki efek sebagai imunomodulator non spesifik dengan aktivitas antioksidan (Nosál'ová *et al.*, 2001). Studi pada mencit menunjukkan bahwa *beta glucan* spesifik dari jamur seperti *Pleurotus ostreatus*, *Sclerotinia sclerotiorum* dan *Sparassis crispa*, dapat meningkatkan hematopoiesis dan melindungi sel sumsum tulang dari radiasi dan kemoterapi (Kodama, 2002).

Peningkatan kadar G-CSF akibat beta-glucan dalam *sumsum tulang* akan meningkatkan ikatan G-CSF dengan reseptornya G-CSFR di monosit sehingga sel osteoblast *lineage* tersupresi. Dengan menurunnya *lineage* sel osteoblast maka akan terjadi penurunan ekspresi CXCL12/SDF-1, VCAM-1 dan kit ligand yang kesemuanya ialah reseptor untuk HSC (Link, 2010). Dengan demikian maka akan terjadi penurunan adhesi CXCL12/SDF-1 dengan molekul CXCR4, VLA-4 dengan VCAM-1 dan c-kit dengan kit ligand pada *hematopoietic stem cell* dan akhirnya *hematopoietic stem cell* dilepaskan kearah perifer.

BAB III
KERANGKA KONSEP

3.1 Kerangka Konsep Stempowering



Gambar 3.1 Bagan pelaksanaan penelitian Stempowering

3.2 Hipotesis Konsep STEMPOWERING

Pada kondisi diabetes mellitus, terjadi kerusakan sel pulau langerhans pankreas yang berisi sel alfa, beta dan delta. Fenomena ini mengakibatkan terjadinya penurunan produksi insulin, penurunan masa pankreas yang pada akhirnya akan mengakibatkan terjadinya hiperglikemia kronis pada diabetes, hiperglikemia dalam jangka panjang akhirnya mengakibatkan komplikasi diabetes yang berbahaya.



Hipotesis dari penelitian ini mengacu pada rumusan masalah dan sub masalah, yakni:

1. Pemberian ekstrak jamur tiram mampu meningkatkan hematopoietic stem cell (dengan penanda CD34+) pada mencit model DM:

Jamur tiram (*Pleurotus ostreatus*) merupakan salah satu jamur dengan kandungan *beta glucan* yang tinggi (Lindequist *et al.*, 2005). Dimana *beta glucan* mampu meningkatkan G-CSF, G-CSF akan mensupresi osteoblast *lineage* yang mengikat hematopoietic stem cell, sehingga hematopoietic stem cell yang berada dalam sirkulasi darah akan meningkat (Link, 2010)..

2. Pemberian ekstrak jamur tiram mampu memperbaiki morfologi pankreas dan berat pankreas pada mencit model DM.

Pada kerusakan jaringan, salah satunya pada pankreas akan terjadi peningkatan ekspresi SDF-1 yang bisa berikatan dengan hematopoietic stem cell (Lindequist *et al.*, 2005). Dengan demikian *hematopoietic stem cell* akan berikatan dengan jaringan yang rusak dan berdiferensiasi menjadi sel alfa, beta dan delta dalam pulau langerhans pankreas mencit.

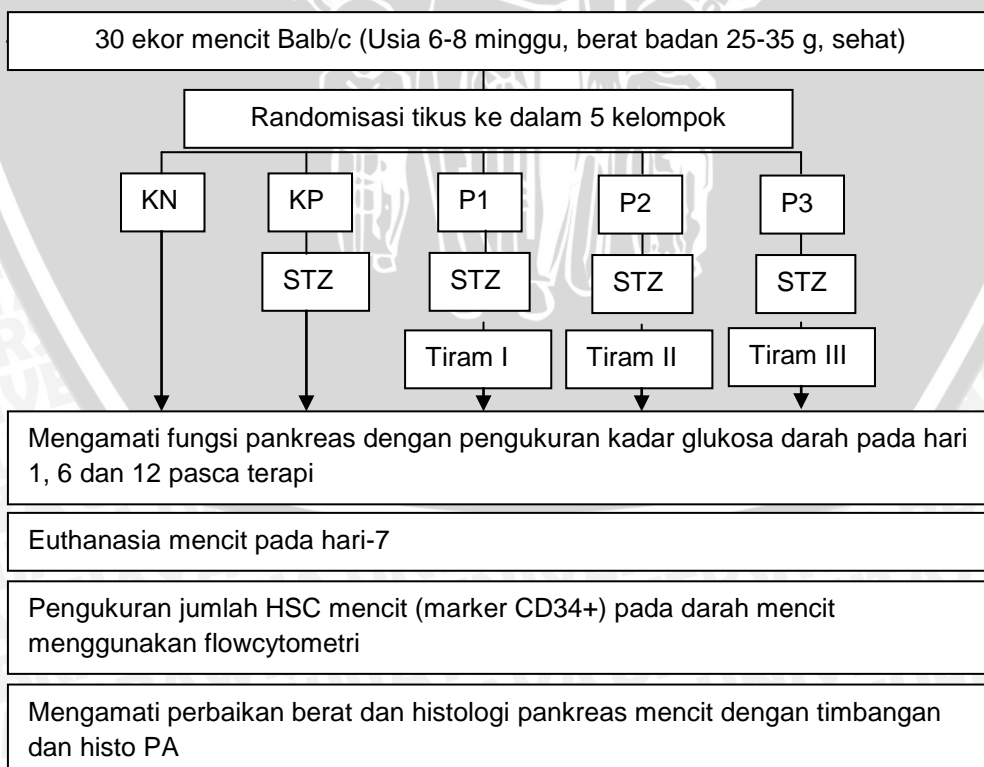
3. Pemberian ekstrak jamur tiram mampu memperbaiki fungsi pankreas dengan indikator kadar glukosa darah pada mencit model DM.

Pada kondisi diabetes, kerusakan sel dalam pulau langerhans memiliki peranan penting dalam terjadinya hiperglikemia dikarenakan terjadi penurunan insulin (Butler *et al.*, 2001). Dengan diperbaikinya sel beta dalam pulau langerhans, maka produksi insulin akan meningkat dan akhirnya kejadian hiperglikemi dapat dicegah.

BAB IV METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain *true experimental laboratory* yang Metode yang digunakan yaitu *Randomized Posttest Only Controlled Group Design*. Rancangan penelitian yang dipakai adalah rancangan acak kelompok (RAK). Induksi STZ mengacu pada dosis (Hasmono *et al.*, 2008) yaitu 100mg/kg, dosis ini optimal untuk menghasilkan diabetes mellitus tanpa menimbulkan kematian pada mencit. Dosis ekstrak mengacu pada penelitian Lin *et al.*, (2009) dengan pemberian ekstrak *beta glucan* 6 mg/kg BB didapatkan peningkatan G-CSF yang signifikan. Maka digunakan variasi dosis 25 mg/kg BB, 50mg/kgBB dan 100 mg/kgBB.



Gambar 4.1 Rancangan Penelitian



1. Kelompok KN (n = 6) : mencit sehat tanpa diberikan perlakuan apapun.
2. Kelompok KP (n = 6) : mencit diinduksi STZ tanpa diberikan ekstrak jamur tiram.
3. Kelompok P1 (n = 6) : mencit diinduksi STZ dan diberikan ekstrak jamur tiram dengan dosis 25 mg/kg BB.
4. Kelompok P2 (n = 6) : mencit diinduksi STZ dan diberikan ekstrak jamur tiram dengan dosis 50mg/kgBB.
5. Kelompok P3 (n = 6) : mencit diinduksi STZ dan diberikan ekstrak jamur tiram dengan dosis 100 mg/kgBB.

Untuk desain pemberian ekstrak mengacu pada penelitian Ebong (2006) Pemberian ekstrak dilakukan dengan jarak tiap 12 jam sekali selama 7 hari (pukul 06.00 dan pukul 18.00).

4.2 Sampel

4.2.1 Kriteria Inklusi Sampel

- a. Mencit galur Balb/C berjenis kelamin jantan
- b. Berumur 6-8 minggu dengan berat badan 20-25 gram
- c. Kondisi sehat yang ditandai dengan gerakan yang aktif

4.2.2 Sampel

Selanjutnya jumlah mencit dihitung dengan rumus (Andayani, 2003)

Dimana: $p(n - 1) > 15$ n = jumlah sampel tiap perlakuan,

p = jumlah perlakuan

Dalam penelitian ini diketahui perlakuan (p) = 5, yaitu 1 kelompok kontrol negative, 1 kontrol positif, dan 3 kelompok perlakuan sehingga didapat nilai n sebagai berikut: $5(n - 1) > 15$; $n - 1 > 3$; $n > 4$

Jadi dalam penelitian ini jumlah sampel tiap perlakuan minimal 5 ekor mencit sehingga jumlah total mencit yang dibutuhkan sejumlah 25 mencit. Namun untuk mengurangi terjadinya *lose of sample* di tengah-tengah penelian karena mencit mati, maka jumlah sampel ditambah 1 tiap perlakuan menjadi 30 mencit.

4.3 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

4.3.1 Variabel Bebas Penelitian

Pemberian ekstrak jamur tiram (*Pleurotus ostreatus*) dengan dosis 25 mg/kg BB, 50mg/kgBB dan 100 mg/kgBB.

4.3.2 Variabel Tergantung Penelitian

Jumlah *hematopoietic stem cell* dari darah dihitung dengan penanda CD34+, berat dan morfologi pankreas pada mencit kontrol dan perlakuan serta kadar glukosa darah mencit.

4.3.3 Definisi Operasional

1. Jamur Tiram yang digunakan yaitu Jamur dengan Jenis *Pleurotus ostreatus*. Jamur ini diperoleh dari UPT Materia Medika Batu, Jawa Timur. Selanjutnya jamur tiram ini diekstrak dengan pelarut etanol dengan metode sochlet.
2. Hewan coba yang digunakan adalah mencit galur Balb/C karena galur ini mampu memperagakan status imunitas manusia dalam diabetes mellitus (Amirshahrokhi *et al.*, 2008), mengingat peran *beta glucan* disini sebagai imunomodulator (Lin *et al.*, 2009). Mencit diperoleh dari laboratorium biokima- biomol MIPA berumur 6-8 minggu dengan berat 20-25 gram.

3. STZ (SIGMA) didapat dari lab biomedik, mencit diadaptasi selama tujuh hari sebelum diinduksi STZ.
4. *Hematopoietic stem cell* pada darah dikur menggunakan metode *flowcytometry* dengan penanda antibodi CD34+.
5. Glucometer merek TrueTrack dengan stripnya, didapatkan dari CV. Indonetwork.

4.4 Tempat dan Waktu Penelitian

4.4.1 Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Farmakologi, Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran, Laboratorium Biokimia dan Biomol Fakultas MIPA Universitas Brawijaya Malang dan Laboratorium Patologi Syaiful Anwar Malang.

4.4.2 Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Maret 2011 – Juni 2011

4.5 Instrumen Penelitian

4.5.1 Alat dan Bahan Untuk Pemeliharaan Mencit

Bahan dan alat yang diperlukan adalah kandang pemeliharaan hewan coba, tutup kandang dari anyaman kawat, sekam, botol minum, alat semprot, tempat makan, pakan *cornfeed* (makanan standar mencit), dan alkohol 70% untuk memandikan mencit yang disemprotkan tiap hari.

4.5.2 Alat dan Bahan Untuk Induksi Mencit Model Diabetes Mellitus

Sprit injeksi intraperitoneal, streptozotocin (STZ), nicotinamide, kapas alkohol.

4.5.3 Alat dan Bahan Pembuatan Ekstrak Jamur Tiram

Bahan untuk ekstraksi adalah etanol 95%, jamur tiram. Alat untuk ekstraksi adalah pisau, blender, neraca analitik, kertas saring, *beaker glass* 500mL dan *rotary evaporator vacum*.

4.5.4 Alat dan Bahan Pemberian Ekstrak Jamur Tiram

Timbangan OHAUS dengan kapasitas maksimal penimbangan 210 gr dengan ketelitian 0,1 mg, mortar, gelas ukur, pengaduk, sonde lambung mencit.

4.5.5 Alat dan Bahan untuk Penimbangan Mencit dan Pankreas

Timbangan digital

4.5.6 Alat dan Bahan untuk Pembedahan Mencit

Pisau bedah, papan bedah, pinset, *Potter-Homogenizer*, asam alkohol.

4.5.7 Alat dan Bahan untuk Pemeriksaan Histopatologi Pankreas

Object Glass, Mikrotom, *heater*, alkohol absolut, alkohol 96%, alkohol 85% alkohol 70%, alkohol asam, alkohol asam formalin 10%, xylol paraffin, gliserin *egg albumin*, kamera digital.

4.5.8 Alat dan Bahan Perhitungan *Hematopoietic Stem Cell* Menggunakan *Flowcytometry*

Mikropipet 10, 20, 200, 1000 ml, Tabung sentrifus 1,5 ml, Rak tabung kecil, Sentrifugator, Inkubator CO₂, Penangas air (37°C), FACS-Calibur, Bahan: Sampel dengan konsentrasi tertentu, Phosphat Buffer

Saline (PBS) 1x pH 7, Media kultur (MK), Tripsin-EDTA 0,25%, RNase, Propidium iodide, Triton-X, Buangan untuk media bekas dan PBS.

4.5.9 Alat untuk Sanitasi dan Higienisasi

Tempat cuci tangan, sarung tangan (*hand gloves*), jas laboratorium, sabun antiseptik, masker, alkohol dan *cotton ball*.

4.6 Prosedur Penelitian/ Pengumpulan Data

4.6.1 Persiapan Hewan coba

Dilakukan persiapan pemeliharaan hewan coba mulai dari kandang pemeliharaan hewan coba, anyaman kawat, sekam, botol minum, alat semprot, tempat makan, pakan *comfeed*, alkohol 70%, hewan uji mencit galur Balb/C, dan seleksi mencit (usia, berat badan, jenis kelamin, kesehatan). Mencit diadaptasikan di dalam laboratorium farmakologi selama tujuh hari dan dibagi enam kelompok.

4.6.2 Pembuatan Ekstrak Jamur Tiram

Jamur tiram dipotong kecil-kecil, dicuci lalu dikeringkan dan dihaluskan menggunakan blender dan ditimbang 100 gram menggunakan timbangan analitik. Kemudian dimasukkan kedalam *beaker glass* dan ditambah dengan pelarut etanol 95 % kemudian direndam (maserasi) selama 3 hari. Pasang evaporator pada tiang permanen agar dapat digantung dengan kemiringan 30°-40° terhadap meja. Kemudian hasil maserasi dimasukkan dalam labu ekstraksi. Satu set alas evaporasi diletakkan sedemikian rupa sehingga sebagian labu ekstraksi terendam aquades pada *water bath*. *Water bath* dihubungkan dengan sumber listrik

dan dinaikkan suhunya sampai 70° C (sesuai dengan titik didih etanol). Kemudian ditunggu proses berjalan (pengembunan dan pemisahan di pendingin) sampai hasil evaporasi tersisa dalam labu ekstraksi. Hasil evaporasi berupa cairan kental.

4.6.3 Induksi Kerusakan Sel Beta Pankreas Mencit Model Diabetes Mellitus Tipe II

STZ (Streptozotocin) dimasukkan kedalam 50mM-*citric acid buffer* dan Nicotinamide dileburkan kedalam *normal saline* saat akan digunakan. Mencit Balb/c dipuasakan semalam, lalu diinjeksikan STZ intraperitoneal 15 menit setelah injeksi 240mg/kg nicotinamide. Kerusakan Beta Pankreas ditandai dengan adanya kondisi hiperglikemi pada hari ke-7 pasca induksi. Mencit dianggap mengalami diabetes apabila *non fasting blood glucose* mencapai 200mg/dl dalam dua hari berturut-turut (Amirshahrokhi *et al.*, 2008)

4.6.4 Pengukuran Glukosa Darah Mencit

Konsentrasi glukosa dalam darah diukur secara enzimatik dari 10µL volume darah yang diambil dari ekor mencit, dan menggunakan *Glucotide strips* dan *Glucometer*. Pengukuran dilakukan pada hari 1, 6, dan 12 pasca terapi untuk mengetahui perbaikan fungsi beta pankreas.

4.6.5 Pengukuran Jumlah *Hematopoietic stem cell* dengan Penanda CD34+ Menggunakan *Flowcytometry*

Sentrifugasi preparasi *whole blood* dalam suhu 4°C, dengan kecepatan 6000 rpm selama 15 menit. Hasil sentifugasi berupa endapan sel dicampur dengan cytoperm/cytofix sejumlah 2 kali dari jumlah sel yang

didapat. Campuran sel dan cytoperm/cytofix disentrifugasi sehingga didapatkan sup dan pellet. Kemudian ditambahkan *BD wash* pada pelet sejumlah 4 kali dari jumlah sel yang didapat di sentifugasi pertama. Sentifugasi campuran tersebut kemudian tambahkan lisis buffer sejumlah 2 kali jumlah sel awal yang didapat. Setelah itu tambahkan antibodi terlabel untuk setiap sampel, lima tabung disiapkan dan diproses secara paralel. (1) Perwanaaan tunggal dengan CD34+ PE ditambahkan ke dalam *wash tube*. (2) Pewarnaan ganda dengan CD34+ PE dan CD45 PerCP-*wash tube*. (3) Pewarnaan ganda dengan CD34+ PE dan CD45 PerCP-*trucount tube*. (4) Reagen isotop kontrol – IgG1 PE dan CD45 perCP-*wash tube*. (5) Reagen isotop kontrol – IgG1 PE dan CD45 perCP-*trucount tube*. Seluruh sampel kemudian disimpan dalam suhu 4°C dalam kondisi gelap dan dianalisa menggunakan *flowcytometry* selama 1 jam.

4.6.6 Penimbangan Berat Mencit dan Pankreas

Penderita diabetes akan mengalami perubahan morfologi pada sel β pankreas, baik dalam ukuran maupun jumlahnya sehingga mengakibatkan penurunan masa pankreas (Guz *et al.*, 2001; Butler *et al.*, 2001). Untuk mengetahui kenaikan jumlah perbaikan sel pankreas, hal ini ditandai dengan rasio berat badan mencit dengan berat dari pankreas, maka dilakukan penimbangan langsung dengan menggunakan timbangan digital.

4.6.7 Pembuatan Preparat Histopatologi Pankreas

Pankreas diambil melalui pembedahan mencit. Pembuatan preparat histopatologi dilakukan dengan metode paraffin. Fiksasi

dilakukan dengan merendam jaringan pankreas mencit dalam formalin 10% selama sehari semalam (24 jam) kemudian dilanjutkan dengan tahap pencucian menggunakan air minimal 1,5 jam. Jaringan dimasukkan dalam alkohol 70% selama 1 jam, alkohol 80% selama 1 jam, alkohol 99 % selama 1 jam dan alkohol absolut selama 2x1 jam lalu dalam campuran xylol : alkohol absolut = 1:1 selama 0,5 jam, dan xylol PA selama 2x30 menit. Jaringan dipotong setipis mungkin dan dimasukkan ke dalam *melted* paraffin : xylen = 1:1 sekana 1 jam, paraffin (54-58) selama 2x1 jam. *Melted* paraffin dimasukkan ke dalam cetakan berbentuk kubus lalu ditempatkan pada posisi yang diinginkan dalam paraffin tersebut kemudian disiram lagi dengan *melted* paraffin secukupnya. Blok paraffin dibiarkan sampai dingin dan dikeluarkan dari cetakannya. Bagian blok yang dibelakang dilekatkan pada kayu pemegang blok pada mikrotom kemudian posisi indikator yang menunjukkan ketebalan pemotongan (6-8 mikrometer) diatur. Hasil pemotongan saling bersambungan membentuk pita, ujung pita diangkat dengan kuas dan direntangkan diatas permukaan air hangat (30-40⁰C) secara lembut dan tanpa lipatan. Gelas objek dilapisi dengan lapisan putih telur : gliserol = 1:1 sebagai lapisan tipis dan biarkan kering (untuk merekatkan sediaan). Pita paraffin dan pita tersebut diangkat dengan gelas objek. Gelas objek diletakkan di atas steamer hangat (agar pita mengembang dan lurus tanpa lekukan) kemudian dibiarkan kering dan sediaan melekat erat (1 hari). Jaringan yang berada di gelas objek dimasukkan ke dalam xylol selama 3x5 menit. Lalu dikeringkan. Hasil

diamati pada mikroskop untuk mengetahui progresivitas perbaikan sel beta pankreas

4.7 Analisis Data

Hasil pengukuran kadar glukosa mencit, jumlah *hematopoietic stem cell*, berat pankreas dan tingkat morfologi sel pankreas kontrol dan perlakuan dianalisa secara statistik dengan menggunakan program SPSS 17.0 for Windows XP dengan tingkat signifikansi 0,05 ($p = 0,05$) dan taraf kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$).

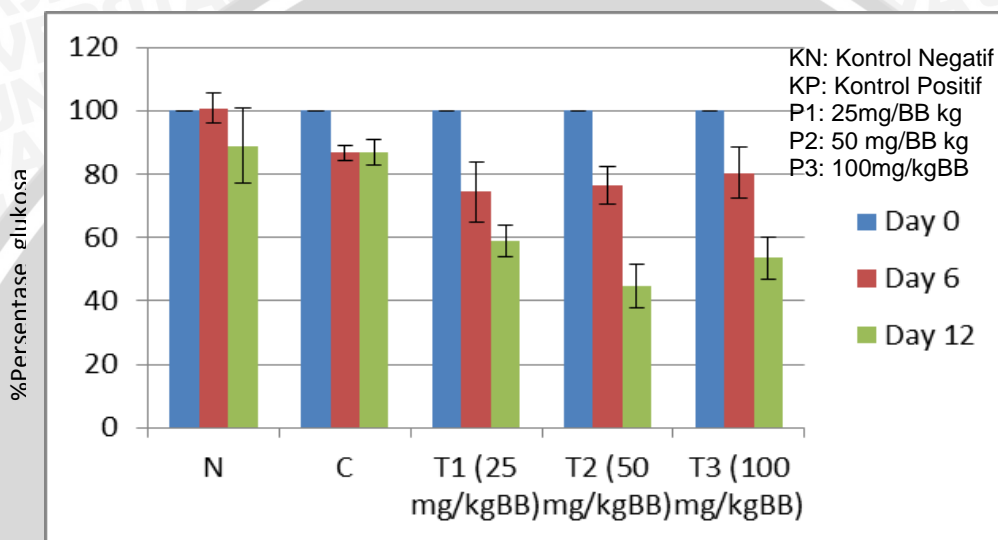
Langkah-langkah uji hipotesis komparatif dan korelatif adalah sebagai berikut :

1. Uji normalitas data
2. Uji homogenitas varian
3. Uji One-way ANOVA
4. Post hoc test (uji Least Significant Difference)
5. Uji korelasi Pearson

BAB V

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Persentase Kadar Glukosa Darah



Gambar 5.1 Persentase Kadar Glukosa Darah Mencit

Tabel 5.1 Persentase Kadar Glukosa Darah Mencit

No	Kelompok (n=5)	HariKe- 0 ($\bar{x} \pm SD$)	HariKe- 6 ($\bar{x} \pm SD$)	HariKe- 12 ($\bar{x} \pm SD$)
1	KN	100 %	100,72±4,76% ^a	88,89±11,83% ^a
2	KP	100 %	86,66±2,38% ^a	86,78±4,14% ^a
3	P1	100 %	74,34±9,34% ^b	58,81±4,97% ^b
4	P2	100 %	76,4±5,8% ^b	44,57±6,79% ^c
5	P3	100 %	80,34±8,15% ^a	53,49±6,56% ^c

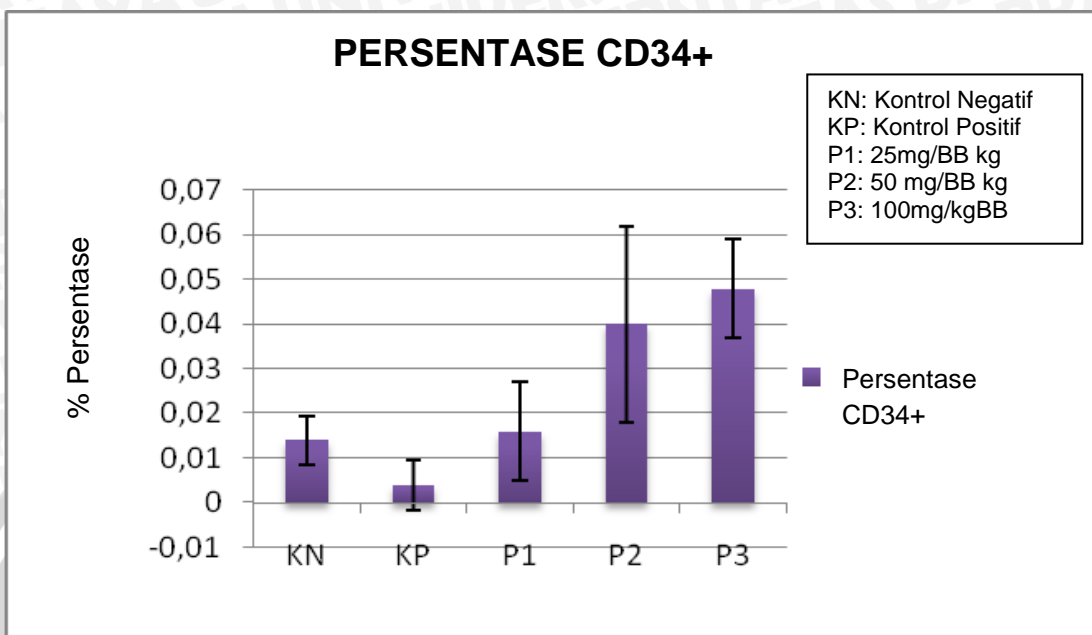
Notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$)

KP: 100% = ±163 KN: 100% = ±85

Dari korelasi pearson, diperoleh korelasi antara dosis dengan glukosa darah hari ke 12 adalah -0,657 dengan nilai signifikansi $p=0,002$ ($p<0,01$). Uji regresi menunjukkan nilai *r square* 0.680 dan *Adjusted r square* 0.666.



5.2 Persentase CD34+



Gambar 5.2 Persentase CD34+ (dalam persen)

Tabel 5.2 Persentase CD34+ (dalam

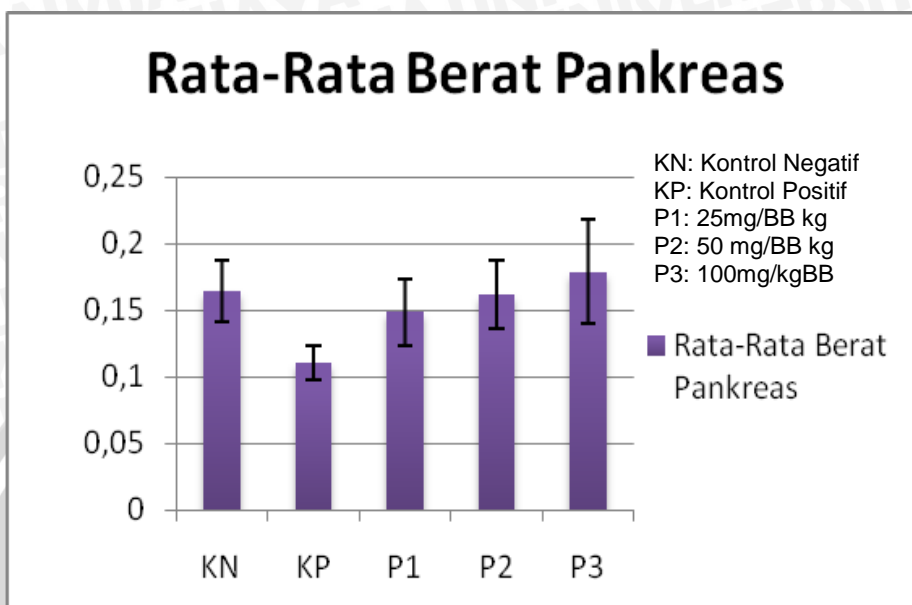
No	Kelompok (n=5)	Persentase CD34+ ($\bar{x} \pm SD$)
1	KN	0,014±0,0055 ^a
2	KP	0,004±0,0055 ^b
3	P1	0,016±0,011 ^a
4	P2	0,04±0,022 ^a
5	P3	0,048±0,011 ^a

Notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$)

Dari korelasi pearson, diperoleh korelasi antara dosis dengan persentase CD34+ adalah 0,786 dengan nilai signifikansi $p=0,000$ ($p<0,01$). Uji regresi menunjukkan nilai *r square* 0.618 dan *Adjusted r square* 0.601.

5.3 Berat Pankreas

Berikut adalah hasil pengukuran berat pankreas mencit,



Gambar 5.3 Rata-Rata Berat Pankreas

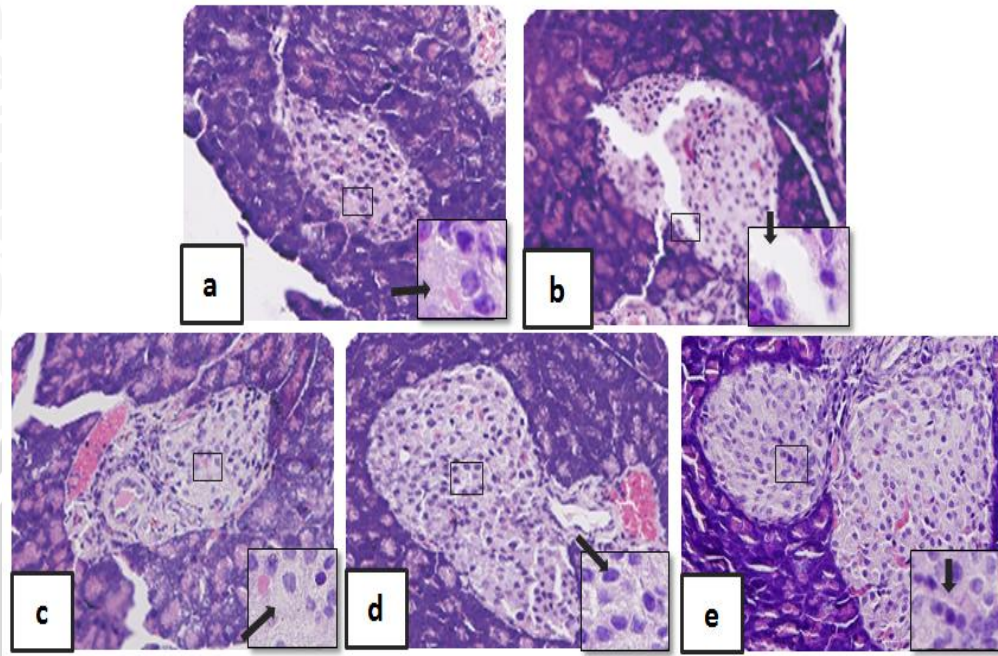
Tabel 5.3. Rata-Rata Berat Pankreas

No	Kelompok(n=5)	Rata-Rata Berat Pankreas ($\bar{x} \pm SD$)
1	KN	0,164±0,023 ^a
2	KP	0,111±0,013 ^b
3	P1	0,149±0,025 ^a
4	P2	0,162±0,026 ^a
5	P3	0,179±0,039 ^a

Notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$)

Dari korelasi pearson, diperoleh korelasi antara dosis dengan berat pankreas adalah 0,579 dengan nilai signifikansi $p = 0,002$ ($p < 0,01$). Uji regresi menunjukkan nilai *r square* 0.336 dan *Adjusted r square* 0.307.

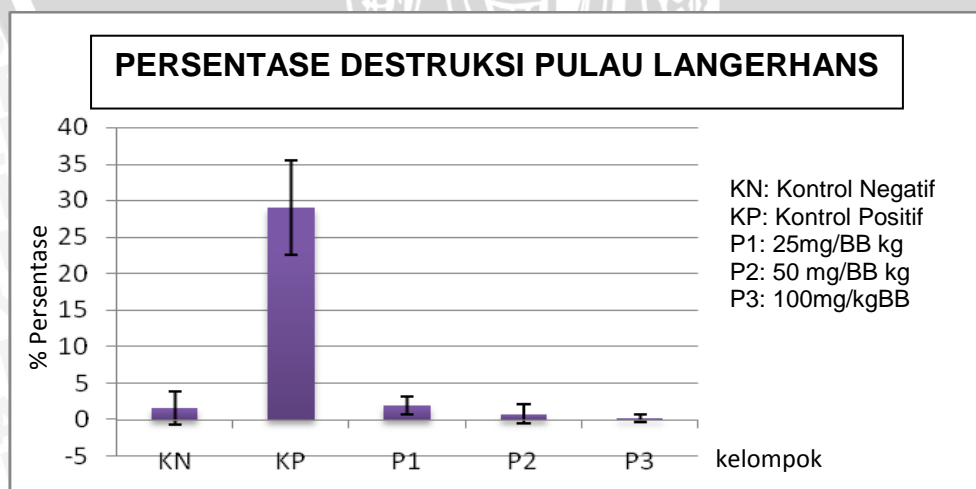
5.4 Histologi Jaringan Pulau Langerhans



Gambar 5.4 Histologi jaringan pulau langerhans dengan pewarnaan Hematoxylen-Eosin (HE)

(a) kontrol negatif (mencit *normal*); (b) kontrol positif (mencit *diabetes*), terdapat nekrosis jaringan yang menunjukkan destruksi pulau langerhans (tanda panah hitam.); (c) P1, 25 mg/kgBB (terapi) (d) P2, 50 mg/kgBB (terapi); (e) P3, 100 mg/kgBB (terapi) (Perbesaran 400 x).

5.5 Persentase Destruksi Pulau Langerhans



Gambar 5.5 Persentase Kerusakan Langerhans Pankreas (dalam persen)

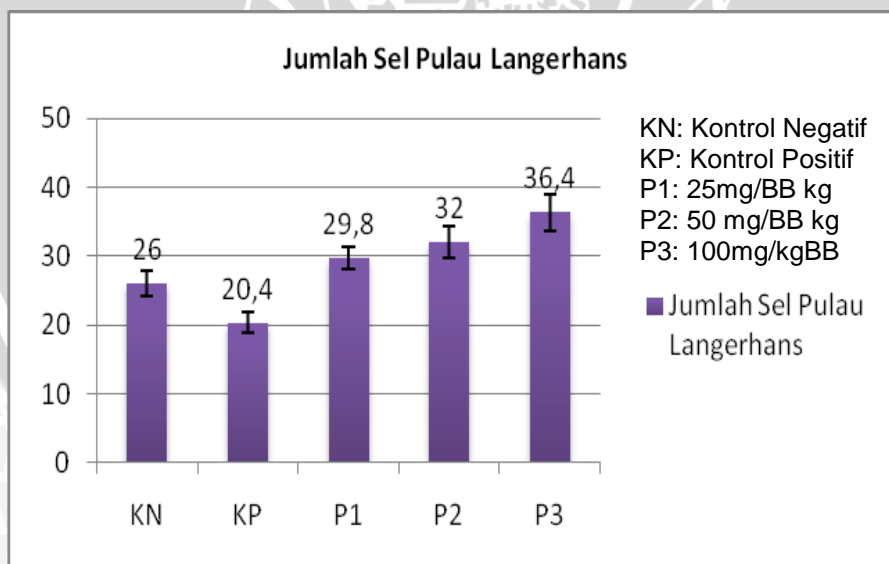
Tabel 5.5 Persentase Kerusakan Langerhans Pankreas (dalam persen)

No	Kelompok (n=5)	Persentase Kerusakan ($\bar{x} \pm SD$)
1	KN	1,6 \pm 2,3% ^a
2	KP	29 \pm 6,52% ^b
3	P1	2 \pm 1,22% ^a
4	P2	0,8 \pm 1,3% ^a
5	P3	0,2 \pm 0,45% ^a

Notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan yang bermakna $p < 0,05$

Dari korelasi spearman rho, diperoleh korelasi antara dosis dengan persentase destruksi langerhans adalah -0,676 dengan nilai signifikansi $p=0,000$ ($p < 0,01$). Uji regresi linier menunjukkan nilai *r square* 0.514 dan *Adjusted r square* 0.493

5.6 Jumlah Rerata Sel dalam Pulau Langerhans



Gambar 5.6 Jumlah Rerata Sel Dalam Pulau Langerhans Pankreas

Tabel 5.6 Jumlah rerata sel dalam pulau langerhans pankreas

No	Kelompok (n=5)	Persentase Kerusakan ($\bar{x} \pm SD$)
1	KN	26 \pm 1,87% ^a
2	KP	20,4 \pm 1,52% ^b
3	P1	29,8 \pm 1,64% ^c
4	P2	32 \pm 2,34% ^c
5	P3	36,4 \pm 2,7% ^d

Notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$)

Dari korelasi pearson, diperoleh korelasi antara dosis dengan jumlah sel dalam isle pankreas adalah 0.937 dengan nilai signifikansi $p = 0,000$ ($p < 0,01$). Uji regresi menunjukkan nilai *r square* 0.879 dan *Adjusted r square* 0.873.



BAB VI

PEMBAHASAN

6.1 Glukosa Darah

STZ (Streptozotocin) terbukti mampu memproduksi radikal bebas pada tubuh yang secara spesifik merusak rantai DNA pada sel beta pankreas yang mengakibatkan gangguan fungsi sel beta pankreas dan kehancuran sel beta pankreas melalui nekrosis (Okamoto dan Yamamoto, 1983). Hewan model DM tipe II yang diinduksi STZ dan NA (Nicotinamide) memiliki karakteristik yang sama dengan nonobese DM tipe II yang merupakan jenis kasus diabetes terbanyak di Asia timur (Giroix *et al.*, 2002). Pada kondisi normal, glukosa darah mencit berkisar antara ± 85 mg/dL, sedangkan untuk mencit diabetes tipe II yang di induksi STZ+NA yakni ± 163 mg/dL (Firdous *et al.*, 2009).

Analisis statistik menggunakan *one way ANOVA* menunjukkan perbedaan bermakna antar perlakuan pada persentase glukosa darah mencit pada hari ke-6 ($p=0.000$; $p<0,05$) dan ke-12 ($p=0.000$; $p<0,05$). Untuk hasil akhir pada hari ke-12, dapat diketahui bahwa terdapat perbedaan bermakna ($p<0,05$) dari persentase glukosa darah antara P1, P2 dan P3 dengan kontrol positif. Ini menunjukkan bahwa pemberian terapi ekstrak jamur tiram pada dosis 25, 50 dan 100 mg/kgBB mampu menurunkan glukosa darah mencit. Namun tidak didapatkan perbedaan yang bermakna antara persentase akhir dari KN dengan KP, P1 dengan P3 dan P2 dengan P3. Dengan demikian maka dapat disimpulkan bahwa persentase akhir dari kontrol positif dengan kontrol negatif dikatakan tidak berbeda, namun bukan berarti hal ini menunjukkan kesamaan

kadar glukosa darah akhir yang sama, Mengingat persentase didasarkan dari kadar glukosa darah awal (100%) yang berbeda yakni dari kontrol negatif ($\pm 85\text{mg/dL}$) dan kontrol positif ($\pm 163\text{mg/dL}$). Sehingga yang dapat dikatakan tidak berbeda ialah Δ persentase penurunan glukosa darah yang akhirnya menghasilkan persentase glukosa darah akhir. Penurunan persentase kadar glukosa darah yakni KN (11,1 %), KP (13,21%), P1 (41,18%), P2 (55,43%), P3 (46,51%). Tidak adanya perbedaan yang bermakna antara P1 dengan P3 dan P2 dengan P3 menunjukkan semua dosis memiliki efektivitas yang tidak berbeda dalam menurunkan kadar glukosa darah. Selanjutnya hubungan antara dosis dan persentase glukosa akhir dianalisa dengan uji korelasi pearson, didapatkan korelasi pearson -0.824 dengan signifikansi 0.000 . Nilai koefisien ini menunjukkan pula bahwa terdapat hubungan yang erat ($p < 0,01$) dan berkebalikan antara pemberian dosis ekstrak jamur tiram dengan glukosa darah mencit yakni semakin besar pemberian dosis ekstrak jamur tiram maka semakin rendah glukosa darah mencit. Hasil analisa regresi menghasilkan *Adjusted r square* 0.666 yang menunjukkan 66% penurunan kadar glukosa darah disebabkan perlakuan.

6.2 Persentase Ekspresi Penanda *Hematopoietic Stem Cell* (CD34+)

Stem sel pada *sumsum tulang* terdistribusi dalam endosteum *sumsum tulang* yakni pada sinusoidal di endothelial *niche* berupa *hematopoietic stem cell* (HSC) dengan jumlah yang signifikan yang siap untuk masuk kedalam darah perifer dan berdiferensiasi (Adam dan Scadden, 2006). Analisis statistik menggunakan *one way ANOVA* menunjukkan perbedaan bermakna antar perlakuan pada persentase ekspresi CD34+ ($p=0.000$; $p < 0,05$). Pada tabel 2 dapat diketahui bahwa terdapat perbedaan bermakna ($p < 0,05$) dari persentase

CD34+ dalam darah antara KN, P1, P2 dan P3 dengan KP. Ini menunjukkan bahwa pemberian adanya perbedaan persentase CD34+ antara mencit yang di induksi DM dengan mencit normal dan adanya peningkatan persentase CD34+ pada terapi ekstrak jamur tiram pada dosis 25, 50 dan 100 mg/kgBB. Namun tidak ada perbandingan yang bermakna antara KN dengan P1, antara P1 dengan P2, antara P2 dengan P3. Selanjutnya hubungan antara dosis dan kadar glukosa dianalisa dengan uji korelasi pearson, didapatkan korelasi pearson 0.786 dengan signifikansi 0.000. Nilai koefisien ini menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang erat ($p < 0,01$) dan selaras antara pemberian dosis ekstrak jamur tiram dengan jumlah *hematopoietic stem cell* dengan penanda CD34+ yakni semakin besar pemberian dosis ekstrak jamur tiram maka semakin banyak *hematopoietic stem cell* dengan penanda CD34+ di dalam darah perifer. Hasil *Adjusted r square* pada analisa regresi menunjukkan 0.601 yang artinya 60,1% peningkatan Hemtopoietic stem cell disebabkan ekstrak jamur tiram. Mekanisme peningkatan *hematopoietic stem cell* pada sel darah perifer dimungkinkan ada kesamaan dengan penelitian sebelumnya, dimana beta-glucan yang diekstrak dari jamur maitake *Grifola frondosa* mampu meningkatkan produksi G-CSF dan GM CFU pada mencit yang diinduksi racun doxorubicin (DOX) (Lin *et al.*, 2004). G-CSF terbukti mampu meningkatkan peripheralisasi dari *hematopoietic stem cell* pada *sumsum tulang* (Korbling, 1997). Peningkatan kadar G-CSF akibat beta-glucan dalam *sumsum tulang* akan meningkatkan ikatan G-CSF dengan reseptornya G-CSFR di monosit sehingga sel *osteoblast lineage* tersupresi. Dengan menurunnya sel *osteoblast lineage* maka akan terjadi penurunan ekspresi CXCL12/SDF-1, VCAM-1 dan kit ligand yang kesemuanya ialah reseptor untuk *hematopoietic stem cell* (Link, 2010). Dengan demikian maka akan terjadi penurunan adhesi

CXCL12/SDF-1 dengan molekul CXCR4, VLA-4 dengan VCAM-1 dan c-kit dengan kit ligand pada *hematopoietic stem cell*, sehingga perlekatan tidak terjadi dan *hematopoietic stem cell* dilepaskan ke darah perifer. Sejauh ini, penelitian menggunakan stem sel dari aspirasi *sumsum tulang* yang dimasukkan kedalam sirkulasi darah tidak menunjukkan terjadinya neoplasia (Hirata *et al.*, 2003). Dengan demikian maka kemungkinan besar peningkatan *hematopoietic stem cell* dalam sirkulasi bisa dikatakan aman dan tidak memicu kanker.

6.3 Berat Pankreas

Penderita diabetes akan mengalami perubahan morfologi pada sel beta pankreas, baik dalam ukuran maupun jumlahnya sehingga mengakibatkan penurunan berat pankreas (Butler *et al.*, 2001). Sehingga, kerusakan sel beta pankreas pada mencit akibat STZ mampu menurunkan berat pankreas. Analisis statistik menggunakan *one way ANOVA* menunjukkan perbedaan bermakna antar perlakuan pada masa pankreas mencit ($p=0.006$; $p<0,05$). Pada Tabel 3 dapat diketahui bahwa terdapat perbedaan bermakna ($p<0,05$) dari persentase glukosa darah antara KN, P1, P2 dan P3 dengan KP. Ini menunjukkan bahwa pemberian adanya perbedaan antara mencit yang di induksi DM dengan mencit normal dan adanya peningkatan massa pankreas pada terapi ekstrak jamur tiram pada dosis 25, 50 dan 100 mg/kgBB. Namun tidak ada perbandingan yang bermakna antara KN dengan P1, P2 dan P3, antara P1 dengan P2, antara P2 dengan P3, maupun P1 dengan P3. Sehingga dapat disimpulkan bahwa kondisi berat pankreas bisa dikatakan tidak berbeda pada mencit normal dibandingkan dengan mencit diabetes yang telah di terapi dosis 25, 50 dan 100 mg/kgBB. Selanjutnya hubungan antara dosis dan kadar glukosa dianalisa dengan uji korelasi pearson, didapatkan korelasi pearson 0.579 dengan signifikansi 0.002.

Nilai koefisien ini menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang erat ($p < 0,01$) dan selaras antara pemberian dosis ekstrak jamur tiram dengan berat pankreas yakni semakin besar pemberian dosis ekstrak jamur tiram maka semakin tinggi berat pankreas mencit.

6.4 Histologi Pankreas

Sel langerhans pankreas terdiri dari sel alpha (20%) yang berisi granul tidak larut alkohol, sel beta pankreas dengan granul larut dalam air (75%) dan sel terbesar yaitu sel delta (5%) tetapi granul yang kurang padat dibandingkan sel alpha (Leeson *et al.*, 1996). Menurut Nurdiana (1998) bahwa ruang-ruang kosong pada pulau langerhans disebabkan karena nekrosis dari sel beta di langerhans. Analisis statistik menggunakan *Kruskall Wallis* menunjukkan perbedaan bermakna antar perlakuan pada persentase kerusakan sel langerhans pankreas ($p = 0.005$; $p < 0,05$). Uji *Mann Whitney* menunjukkan adanya perbedaan bermakna ($p < 0,05$) dari persentase kerusakan sel langerhans pankreas antara KP dengan KN, P1, P2 dan P3, namun tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara KN dengan P1, P2, P3 yang artinya kerusakan kembali normal seperti semula.

6.5 Jumlah Sel Pankreas

Sel pulau langerhans pankreas terdiri dari sel alpha, sel beta dan sel delta (5%) (Leeson *et al.*, 1996). Uji korelasi pearson antara dosis dengan jumlah sel dalam pulau pankreas yakni 0.937 dengan signifikansi 0.000. Uji regresi linier menunjukkan nilai *r square* 0.879 dan *Adjusted r square* 0.873 yang artinya 87% peningkatan sel didalam pulau pankreas disebabkan dosis perlakuan.

6.6 Hubungan Antar Mobilisasi CD34+, Perbaikan Fungsi dan Struktur Sel Pulau Langerhans Pankreas dengan Pemberian Perlakuan

Dalam uji korelasi *pearson* antar variabel tidak tetap didapatkan korelasi erat antara CD34+ dengan berat pankreas dan glukosa darah ($r=0,447$; $r= -0,597$). Dari uji *spearman rho* didapatkan korelasi erat antara derajat kerusakan langerhans dengan berat pankreas, persentase glukosa dan CD34+ ($r= -0,717$; $r=0,595$; $r= -0,496$). Ini membuktikan bahwa induksi pelepasan *hematopoietic stem cell* memiliki pengaruh terhadap massa dan derajat kerusakan langerhans pankreas, sehingga pada akhirnya menurunkan kadar glukosa darah sebagaimana Iwahasi (1998) menyatakan bahwa apabila terjadi kerusakan sel pankreas maka akan terjadi peningkatan kadar glukosa dalam darah.



BAB VII

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

1. Ekstrak jamur tiram pada dosis 25mg/kgBB, 50mg/kgBB, 100mg/kgBB. mampu meningkatkan hematopoietic stem cell (dengan penanda CD34+) pada mencit model DM
2. Ekstrak jamur tiram pada dosis 25mg/kgBB, 50mg/kgBB, 100mg/kgBB. mampu memperbaiki morfologi pankreas dengan indikator berat dan histologi pankreas pada mencit model DM.
3. Ekstrak jamur tiram pada dosis 25mg/kgBB, 50mg/kgBB, 100mg/kgBB. mampu memperbaiki fungsi pankreas dengan indikator kadar glukosa darah pada mencit model DM.

7.2 Saran

1. Perlu dipelajari efek pemberian ekstrak jamur tiram terhadap kerusakan jaringan lain yang dialami oleh mencit model DM.
2. Perlu dipelajari parameter spesifik apakah sel pulau langerhans hanya diregenerasi oleh *hematopoietic stem cell* atau oleh mekanisme lain.
3. Perlu dipelajari seberapa lama efek regenerasi ini akan mengontrol glukosa darah mencit pasca terapi dihentikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, Herliyana EN, Siregar IZ, Permana O. 2011. *Karakter Morfologis dan Genetik Jamur Tiram (Pleurotus spp.)*. Departemen Silvikultur Fakultas Kehutanan : Institut Pertanian Bogor.
- Adams GB, Scadden DT. 2006. The hematopoietic stem cell in its place. *Nat Immunol*;7:333-7
- Akramiene D, Kondrotas A, Didziapetriene J, Kevelaitis E. *Effects of beta-glucans on the immune system*. *Medicina (Kaunas)*. 2007;43(8):597-606.
- Astuti, Wigati dan Nurbana Siti. 2006. *Budidaya Jamur Tiram*. Info Teknologi: Jakarta
- Bobek dan Galbavy. 2001. *Effect of pleuran (beta-glucan from Pleurotus ostreatus) on the antioxidant status of the organism and on dimethylhydrazine-induced precancerous lesions in rat colon*. *British Journal of Biomedical Science*. 58(3):164-8.
- Butler AE, Janson J, Bonner-Weir S, Ritzel R, Rizza RA, Butler PC. 2001. *Cell Deficit and Increased β -cell Apoptosis in Humans With Type 2 Diabetes*. *Diabetes* 32: 102-110.
- Clark, A. 2003. *Morphology of The Pancreas In Normal and Diabetic State*. *International Textbook of Diabetes Mellitus*.
- Cnop M, Welsh N, Jonas JC, Jorns A, Lenzen S, Eizirik DL. 2005. *Mechanisms of Pancreatic β -Cell Death in Type 1 and Type 2 Diabetes Many Differences, Few Similarities*. *Diabetes* vol. 54 no. suppl 2 S97-S107
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2007. *P2M, PL, LITBANGKES*. (Online)<http://www.depkes.go.id/index.php?option=news&task=viewarticle&sid=283&Itemid=2>, Diakses 5 Oktober 2010. Jam 08.13.
- Dominici M, Pritchard C, Garlits JE, Hofmann TJ, Persons DA, and Horwitz EM. 2004. *Hematopoietic Cells and Osteoblasts Are Derived From A Common Marrow Progenitor After Bone Marrow Transplantation*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 101, no. 32, pp. 11761–11766
- Donnath, M.Y., Gross, D.J., Cerasi, E., and Kaiser, N. 2003. *Diabetes Prevalence*. *Diabetes*. 48:738
- Ebihara Y, Masuya M, LaRue AC. 2006. *Hematopoietic Origins of Fibroblasts: II. In Vitro Studies of Fibroblasts, CFU-F, and Fibrocytes*. *Experimental Hematology*, vol. 34, no. 2, pp. 219–229
- Firdous M, Koneri R, Sarvaraidu Ch, Harish M, Shubhapriya Kh. 2009. *NIDDM Antidiabetic Activity Of Saponins Of Momordica Cymbalaria In Streptozotocin-Nicotinamide NIDDM Mice*. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. (3)1460-1465

- Ebong, Patrick. 2006. *Pancreatic Beta Cell regeneration: Probable Parrarel Mechanism of Anti Hyperglycaemic Effect of Vernonia amygdalina and Azadirahta indica*. Paper Presented At International Neem Conference In Kunming, China. Diakses 18 Oktober 2010 pukul 08.56
- Elkhafif N, El Baz H, Hammam O. 2011. *CD133⁺ Human Umbilical Cord Blood Stem Cells Enhance Angiogenesis In Experimental Chronic Hepatic Fibrosis*. Acta Pathologica, Microbiologica et Immunologica, vol. 119, no. 1, pp. 66–75
- Giroix MH, Nadi AB, Sener A, Portha B, Malaisse W. 2002. *Metabolism of D-[3-3H]glucose, D- [5-3H]glucose, D-[U-14C]glucose, D-[1- 14C]glucose and D-[6-14C]glucose in pancreatic islets in an animal model of type-2 diabetes*. J., Int. J.Mol. Med. 9:381—84
- Goodman JW, Hodgson GS. 1990. *Evidence for stem cells in the peripheral blood of mice*. Blood 19:702–714.
- Hasmono D, Arijanto AN, Khotib J. 2008. *Peran Protein Tirosin Fosfatase pada Penurunan Glukosa Darah Mencit (Mus musculus) yang Menderita Diabetes Mellitus Tipe 2*. Ilmu Biomedik Famasi : Universitas Airlangga.
- Hirata K Li T.-S, Nishida M, Ito H, Matsuzaki M, Kasaoka S, Harmano K. 2003. *Autologous Bone Marrow Cell Implantation As Therapeutic Angiogenesis For Ischemic Hindlimb In Diabetic Rat Model*. Am J Heart Care Physiol 284:66–70.
- Ikrar, Taruna. 2010. *Kedokteran Indonesia dan Globalisasi Kesehatan* . <http://suarapembaca.detik.com/read/2010/04/09/181128/1335557/471/ke-dokteran-indonesia-dan-globalisasi-kesehatan?882205470> diakses tanggal 18 Oktober 2010 pukul 08.33
- International Diabetes Federation. 2005. *Diabetes e-Atlas*. (Online)
- Inzuchi S.E. 2003. *Classification and Diagnosis of Diabetes Melitus*. In Editor Porte D JR et al. Ellenberg & Rifkin's. Diabetes Melitus, New York : McGraw- Hill Medical Publishing Division. hal. 265-275
- Iwahasi, H. 1998. *Mollecular Mechanism of Pancreatic Beta Cell Destruction in Autoimun Diasease; Potensial Target for Preventive Therapy*. Cytokines, cellular dan mollecular therapy (4): 45-51
- Kaiser N, Leibowitz G, Neshet R. 2003. *Glucotoxicity and β -cell failure in type 2 diabetes mellitus*. J Pediatr Endocrinol Metab 16 :5 –22
- Kahn SE. 2003. *The relative contributions of insulin resistance and β -cell dysfunction to the pathophysiology of type 2 diabetes*. Diabetologia 46 :3 - 9
- King, H., Aubert, R.E., and Herman, W.H. 2003. *Global Burden of Diabetes*. Diabetes Care. 21:1414

- Khurana S and Mukhopadhyay A. 2008. *In Vitro Transdifferentiation Of Adult Hematopoietic Stem Cells: An Alternative Source Of Engraftable Hepatocytes*. Journal of Hepatology, vol. 49, no. 6, pp. 998–1007.
- Körbling, M. 1997. *Autologous and Allogeneic Blood Stem Cell Transplantation : Potential Advantage Of Blood-Over Marrow-Derived Stem Cell Grafts*. Cancer Investigation 15 (2) : 127-137
- Leeson, R.C., T. S., Leeson, Paparo., A.A.. 1996. *Buku Ajar Histologi*, diterjemahkan : Tambajong, J dkk. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Like, A. A., and Chick, W. L. 1970. *Studies In The Diabetic Mutant Mouse II : Electron Microscopy of Pancreatic Islets*. Diabetologia 6:216-42, 1970.
- Lin H, She YH, Cassileth BR, Sirotiak F, Cunningham-Rundles S. 2004. *Maitake beta-glucan MD-fraction enhances bone marrow colony formation and reduces doxorubicin toxicity in vitro*. Int Immunopharmacol 4:91–99.
- Lin, Hong, Elisa de Stanchina, Xi Kathy Zhou, Feng Hong, Andrew Seidman, Monica Fornier, Wei-Lie Xiao, Edward J. Kelleny, Kathleen Wesa and Barrie R. Cassileth. 2009. *Maitake beta-glucan promotes recovery of leukocytes and myeloid cell function in peripheral blood from paclitaxel hematotoxicity*. Cancer immunology, immunotherapy Volume 59, Number 6, 885-897,
- Lindequist, U., T H J Niedermeyer dan Wolf-Dieter Julich. 2005. *The pharmacological potential of mushrooms*. Evid. Based Complement Alternat.Med., 2(3): 285-299.
- Link, Daniel C. 2010. *Mobilization of hematopoietic stem cells (HSCs) by G-CSF* <http://hematology.wustl.edu/faculty/link/linkBio.html>. diakses 14.05,19 September 2010
- Mansjoer, Arif. 2007. *Kapita Selekt Kedokteran. Edisi Ketiga*. Jakarta: Media
- Minamiguchi H, Ishikawa F, Fleming PA. 2008. *Transplanted Human Cord Blood Cells Generate Amylase-Producing Pancreatic Acinar Cells In Engrafted Mice*. Pancreas, vol. 36, no. 2, pp. e30–e35
- Murtaugh, L.C. and D.A. Melton. 2003 *Genes, Signals, and Lineages in Pankreas Development*. Ann. Rev. Cell Dev. Biol. 19:71–89
- Nosál'ová V, Bobek P, Černá S, Galbavý S, Štvrtina S. 2001. *Effects Of Pleuran (Beta-glucan isolated from Pleurotus ostreatus) On Experimental Colitis in Rats*. Physiol Res 50: 575-81
- Nurdiana, N.P., Setyawati dan M. Ali. 1998. *Efek Streptozotocin Sebagai Bahan Diabetogenik Pada Tikus Wistar dengan Cara Pemberian Intraperitoneal dan Intravena*. Majalah Kedokteran Unibraw. Vol XIV, No 2: hal 66-77

- Okamoto H., Yamamoto H. 1983. *DNA strand breaks and poly (ADP-ribose) synthetase activation in pancreatic islets--a new aspect to development of insulin-dependent diabetes an pancreatic B-cell tumors*. Princess Takamatsu. Symp. 13: 297—308. Pertanian no.88
- PERKENI. 2006. *Konsensus Pengelolaan dan Pencegahan Diabetes Mellitus Tipe 2 di Indonesia*.
- Pozzobon M, Bollini S, Lop L. 2010. *Human Bone Marrow-Derived CD133⁺ Cells Delivered to A Collagen Patch On Cryoinjured Rat Heart Promote Angiogenesis and Arteriogenesis*. Cell Transplantation, vol. 19, no. 10, pp. 1247–1260
- Price, S.A. and Wilson, L.M. 2006. *Patofisiologi : Konsep Klinis Proses-proses Penyakit (Volume 2 Edisi 6)*. Jakarta : EGC.
- Rhisbud MV, Bhonde RR. 2002. *Models of pancreatic regeneration in diabetes*. Diabetes Res Clin Pract 58 :155 –165
- Rhodes CJ. 2005. *Type 2 Diabetes: A Matter of β -cell Life and Death?*. Science 307 :380 –384.
- Russ HA, Bar Y, Ravassard P, Efrat S. 2008. *In Vitro Proliferation of Cells Derived From Adult Human Beta-Cells Revealed by Cell-Lineage Tracing*. Diabetes 57(6):1575–1583.
- Sellamuthu S, Manikandan R, Thiagarajan R. 2011. *In Vitro Trans-Differentiation of Human Umbilical Cord Derived Hematopoietic Stem Cells Into Hepatocyte Like Cells Using Combination Of Growth Factors For Cell Based Therapy*. Cytotechnology, vol. 63, no. 3, pp. 259–268
- Sera Y, LaRue AC, Moussa O. 2009. *Hematopoietic Stem Cell Origin of Adipocytes*. Experimental Hematology vol. 37, no. 9, pp. 1108.e4–1120.e4
- Tang , Cao LZ, Burkhardt BR, Xia CQ, Litherland SA, Atkinson MA, Yang LJ. 2004. *In vivo and in vitro characterization of insulin-producing cells obtained from murine bone marrow*. Diabetes 53 :1721 –1732
- WHO. 1998. *Diabetes*. (Online) <http://www.who.int/diabetes/facts/worldfigures/en/>, Diakses 3 Januari 2012. Jam 18.17.
- Wierup N, Svensson H, Mulder H, Sundler F. 2002. *The Ghrelin Cell: A Novel Developmentally Regulated Islet Cell in The Human Pancreas*. Regul Pept 107:63–9.

LAMPIRAN

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Durrotul Ikrimah

NIM : 0910710007

Program Studi : Pendidikan Dokter

Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

menyatakan dengan sebenarnya bahwa Tugas Akhir yang saya tulis ini benar-benar hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pikiran orang lain yang saya aku sebagai tulisan atau pikiran saya sendiri. Apabila di kemudian hari dapat dibuktikan bahwa Tugas Akhir ini adalah hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 13 Januari 2011

Yang membuat pernyataan

Durrotul Ikrimah

NIM. 0910710007

SURAT KEPUTUSAN



**KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS KEDOKTERAN**

Jalan Veteran Malang – 65145, Jawa Timur - Indonesia
Telp. (0341) 551611 Pes. 213.214; 569117, 567192 – Fax. (62) (0341) 564755
e-mail : sekr.fk@ub.ac.id http://www.fk.ub.ac.id

**Perbaikan I:
3 Januari 2012**

**KEPUTUSAN
DEKAN FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA
NOMOR : 116/SK/UN10.7/KM/2011**

Tentang

**PEMBERIAN PENGHARGAAN KEPADA MAHASISWA BERPRESTASI
PESERTA PIMNAS XXIV DAN KOMPETISI NASIONAL TAHUN AJARAN 2010/2011
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

DEKAN FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA

- Menimbang :
1. Bahwa untuk peningkatan atmosfer akademik di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya perlu di tingkatkan kegiatan-kegiatan kemahasiswaan yang bernuansa akademis
 2. Bahwa dalam meningkatkan motivasi dan mendorong partisipasi para mahasiswa dalam kegiatan yang bernuansa tersebut perlu adanya penghargaan
- Mengingat :
1. Undang-undang Nomor : 20 Tahun 2003 Tentang Sistem Pendidikan Nasional;
 2. Peraturan Pemerintah Nomor : 17 Tahun 2010 jo Nomor : 66 Tahun 2010 tentang Pengelolaan dan Penyelenggaraan Pendidikan;
 3. Keputusan Mendiknas Republik Indonesia No. 232/U/2000 tentang Pedoman Penyusunan Kurikulum Pendidikan Tinggi dan Penilaian Hasil Belajar Mahasiswa;
 4. Keputusan Mendiknas Republik Indonesia No. 080/O/2002 tentang Statuta Universitas Brawijaya
 5. Keputusan Rektor Universitas Brawijaya Nomor : 074/SK/2005 tentang Organisasi dan Tata Kerja Universitas Brawijaya;
 6. Surat Keputusan Rektor Universitas Brawijaya No. 049/SK/2011 tentang Pemberhentian dan Pengangkatan Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Periode 2011 – 2015
- Memperhatikan :
- Hasil pada PIMNAS XXIV Universitas Hasanuddin, Makassar–Sulawesi Selatan yang diselenggarakan pada tanggal 18-22 Juli 2011 dan Kompetisi-kompetisi Nasional Tingkat Kementerian / DIKTI / LIPI yang diikuti para mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya selama Tahun Ajaran 2010/2011
- MEMUTUSKAN**
- Menetapkan :
- Pertama :
- Memberikan Penghargaan kepada Mahasiswa anggota Tim PIMNAS dan peserta Kompetisi-kompetisi Tingkat Nasional Tahun 2011 Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Tahun Ajaran 2010/2011 yang susunan anggotanya seperti tercantum dalam lampiran Surat Keputusan ini.
- Kedua :
- Bentuk penghargaan berupa pembebasan para anggota Tim Mahasiswa dari kewajiban akademis pembuatan Karya Ilmiah Tugas Akhir reguler, dengan tetap berkewajiban menyerahkan naskah karya ilmiah yang diikutinya oleh masing-masing mahasiswa.
- Ketiga :
- Memberikan nilai prestasi Akademis A pada Karya Ilmiah Tugas Akhir bagi setiap mahasiswa anggota TIM oleh karena capaian prestasi berskala nasional yang diperoleh pada PIMNAS XXIV dan Kompetisi-kompetisi Nasional Tingkat Kementerian / DIKTI / LIPI pada Tahun Ajaran 2010/2011.
- Keempat :
- Memberikan dana pembinaan kepada setiap kelompok dari Tim Mahasiswa sesuai





**KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS KEDOKTERAN**

Jalan Veteran Malang – 65145, Jawa Timur - Indonesia
Telp. (0341) 551611 Pes. 213.214; 569117, 567192 – Fax. (62) (0341) 564755
e-mail : sekr.fk@ub.ac.id <http://www.fk.ub.ac.id>

Kelima : Menugaskan kepada lembaga-lembaga di lingkungan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang terkait dengan ini untuk menindaklanjuti keputusan ini.

Ditetapkan di : M a l a n g
Pada tanggal : 23 Desember 2011



[Signature]
Dr. dr. Karyono Mintaroem, Sp.PA
NIP. 195011161980021001

Tembusan :

1. Bapak Rektor Universitas Brawijaya;
2. Para Pembantu Dekan di Lingkungan FKUB;
3. Para Ka. Jur. dan KPS di Lingkungan FKUB;
4. Para Ka. Lab. di Lingkungan FKUB;
5. Presiden BEM FKUB;
6. Arsip





**KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS KEDOKTERAN**

Jalan Veteran Malang – 65145, Jawa Timur - Indonesia
Telp. (0341) 551611 Pes. 213.214; 569117, 567192 – Fax. (62) (0341) 564755
e-mail : sekr.fk@ub.ac.id http://www.fk.ub.ac.id

**Perbaikan I:
3 Januari 2012**

Lampiran : Keputusan Dekan Fakultas Kedokteran UB
Nomor : 116/SK/UN10.7/KM/2011

**PEMBERIAN PENGHARGAAN KEPADA MAHASISWA BERPRESTASI
PESERTA PIMNAS XXIV DAN KOMPETISI NASIONAL TINGKAT KEMENTERIAN / DIKTI / LIPI
TAHUN AJARAN 2010/2011
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

NO	NAMA MAHASISWA	NIM	KEGIATAN	TINGKAT KEGIATAN	PRESTASI YANG DI CAPAI	KET
1	1. Makhyan Jibril A 2. Aditya Satriya Nugraha 3. Dicky Stevano Zukhri 4. Annisa Alkarimah 5. Durrotul Ikrimah	0810710073 0810710001 0810710006 0910710035 0910710007	PIMNAS XXIV Tahun 2011 Universitas Hasanuddin, Makassar	Nasional	Juara I	18 - 22 Juli 2011
2	1. Benny Arie P. 2. Aditya Indra M. 3. Achmad Arrizal 4. Shochibul Kahfi 5. Eko Aprilianto	0810710005 0910710125 0910710021 0910710014 0710710108	PIMNAS XXIV Tahun 2011 Universitas Hasanuddin, Makassar	Nasional	Juara III	18 - 22 Juli 2011
3	1. Rivo Yudhinata B N 2. Mirza Zaka Pratama 3. Tita Luthfiasari 4. Aditya Indra 5. Fredo Tamara	0810710099 0810713023 0810710107 0910710025 0910710077	PIMNAS XXIV Tahun 2011 Universitas Hasanuddin, Makassar	Nasional	Finalis	18 - 22 Juli 2011

Ditetapkan di : M a l a n g
Pada tanggal : 23 Desember 2011



Karyono
Dr. dr. Karyono Mintaroem, Sp.PA
NIP. 195011161980021001



SERTIFIKAT PIMNAS



KEMENTERIAN PENDIDIKAN NASIONAL
DIREKTORAT JENDERAL PENDIDIKAN TINGGI
DIKEMENDIKBUD
NOMOR : 1041 / E / T / 2011

Direktur Jenderal Pendidikan Tinggi, Kementerian Pendidikan Nasional Republik Indonesia memberikan penghargaan kepada :

Nama : Direktur Ikritmah
 Perguruan Tinggi : UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Atas prestasinya dalam penyusunan dan penyajian pkm yang berjudul :

STEM(B)WU(ER)ING (Stem Cell Empowering): Inovasi Pengembangan Tempi Auto-Regenerasi Pancreas Berbasis Mobilisasi Hematopoietic Stem Cell Pada Mice Model DM Menggunakan Ekstrak Jamur Tiram (Pleurotus ostreatus).

dan dinyatakan sebagai penemuan penyaji terbaik : Setan EMAS

dalam Presentasi

PROGRAM KREATIVITAS MAHASISWA PENELITIAN

Pada Pekan Ilmiah Mahasiswa Nasional (PIMNAS) XXIV Tahun 2011 yang diselenggarakan pada tanggal 18 s.d. 22 Juli 2011 bertempat di Universitas Hasanudin Makassar sesuai dengan Keputusan Tim Juri PIMNAS nomor : 003/SK-DJ/PIMNAS XXIV/UNHAS/2011 tanggal 21 Juli 2011.



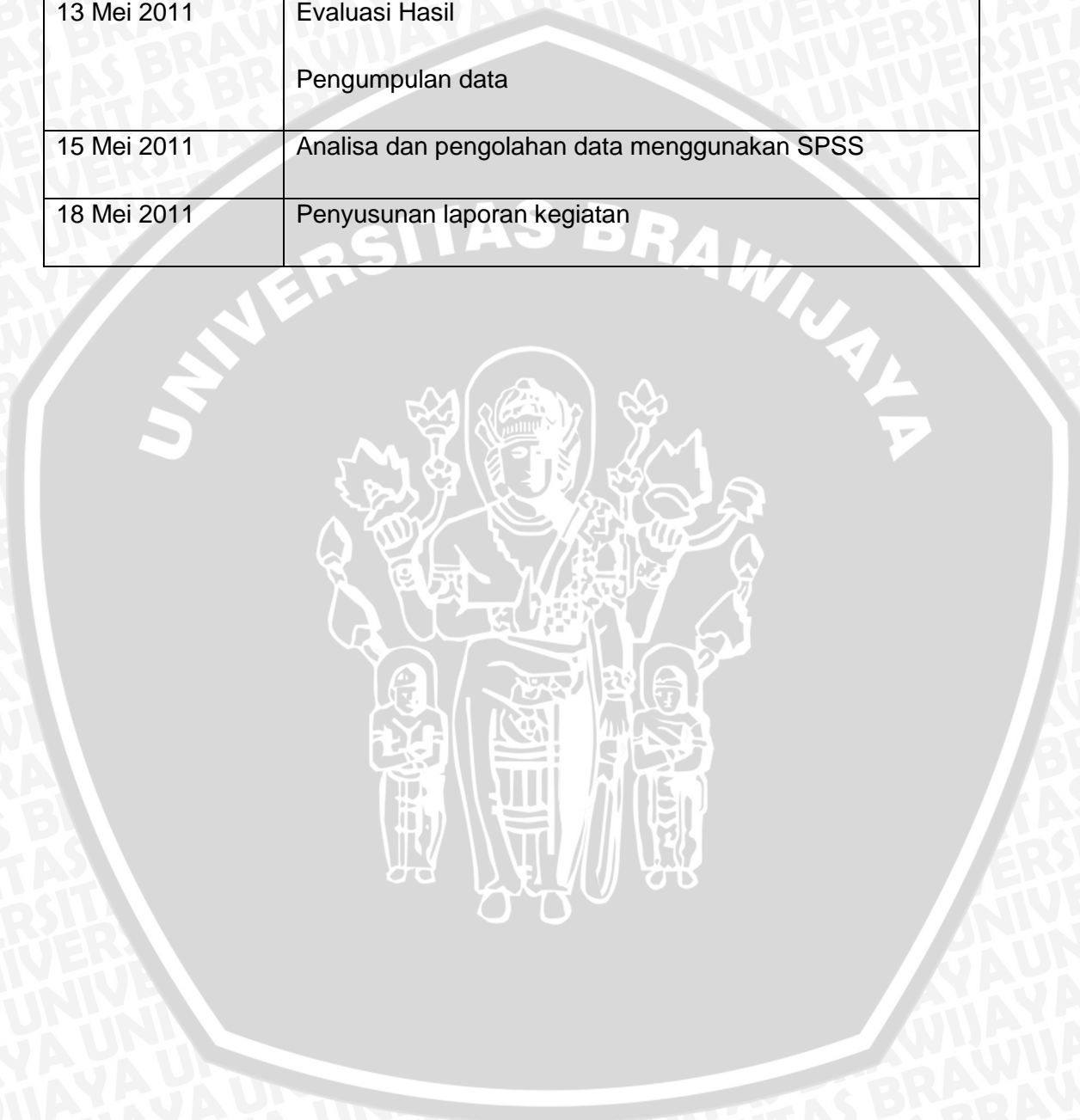
Jakarta, 21 Juli 2011
 Direktur Jenderal
 Pendidikan Tinggi
 Prof. DR. Ir. Djoko Santoso, M.Sc.
 NIP. 19530909 197803 1 003



LOGBOOK KEGIATAN




Waktu Kegiatan	Kegiatan
12 Februari 2011	Belanja peralatan laboratorium Persiapan kandang mencit
13 Februari 2011	Pemesanan mencit di UGM
16 Februari 2011	Pembuatan form etik Persiapan laboratorium parasitologi, farmakologi dan biokimia Penyediaan jamur maitake
15 Maret 2011	Persiapan hewan coba Pengadaptasian mencit galur Balb/C Pengukuran Glukosa darah mencit
21 Maret 2011	Penimbangan berat badan mencit awal
22 Maret 2011	Merancang penentuan dosis mencit pada induksi STZ dan NA serta dosis ekstrak etanol jamur tiram
4 April 2011	Pembuatan larutan STZ dan NA untuk induksi mencit DM tipe II
5 April 2011	Injeksi STZ dan NA pada mencit
16 April 2011	Ekstraksi jamur maitake menggunakan metode sokhlet Pemberian ekstrak jamur maitake melalui oral (dilakukan dengan penyondean)
29 April 2011	Pembedahan mencit dan Penimbangan berat pankreas Penghitungan CD34+ pada darah mencit menggunakan



	flowcytometri
9 Mei 2011	Histo PA organ pankreas untuk melihat sel beta pankreas
13 Mei 2011	Evaluasi Hasil Pengumpulan data
15 Mei 2011	Analisa dan pengolahan data menggunakan SPSS
18 Mei 2011	Penyusunan laporan kegiatan




METODE

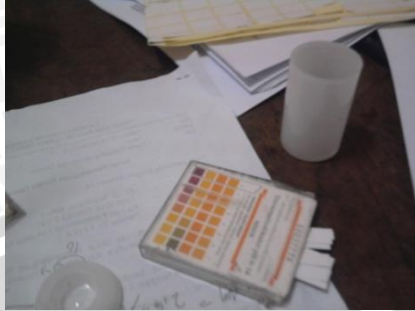


A. Metode Pembuatan Larutan Nicotinamide

1	 <p>Menghaluskan/menggerus 3 tablet nicotinamide 100mg tablet menggunakan mortar</p>
2	 <p>Menimbang hasilnya dengan timbangan analitik</p>
3	 <p>Melarutkan gerusan dengan Normal Saline (NaCl 0,9%)</p>

<p>4</p>	 <p>Memanaskan larutan tersebut dengan oven agar nicotinamide larut didalam air</p>
<p>5</p>	 <p>Siap disuntikan intra peritoneal ke mencit (0,1 cc/suntikan)</p>

B. Metode Pembuatan Larutan STZ

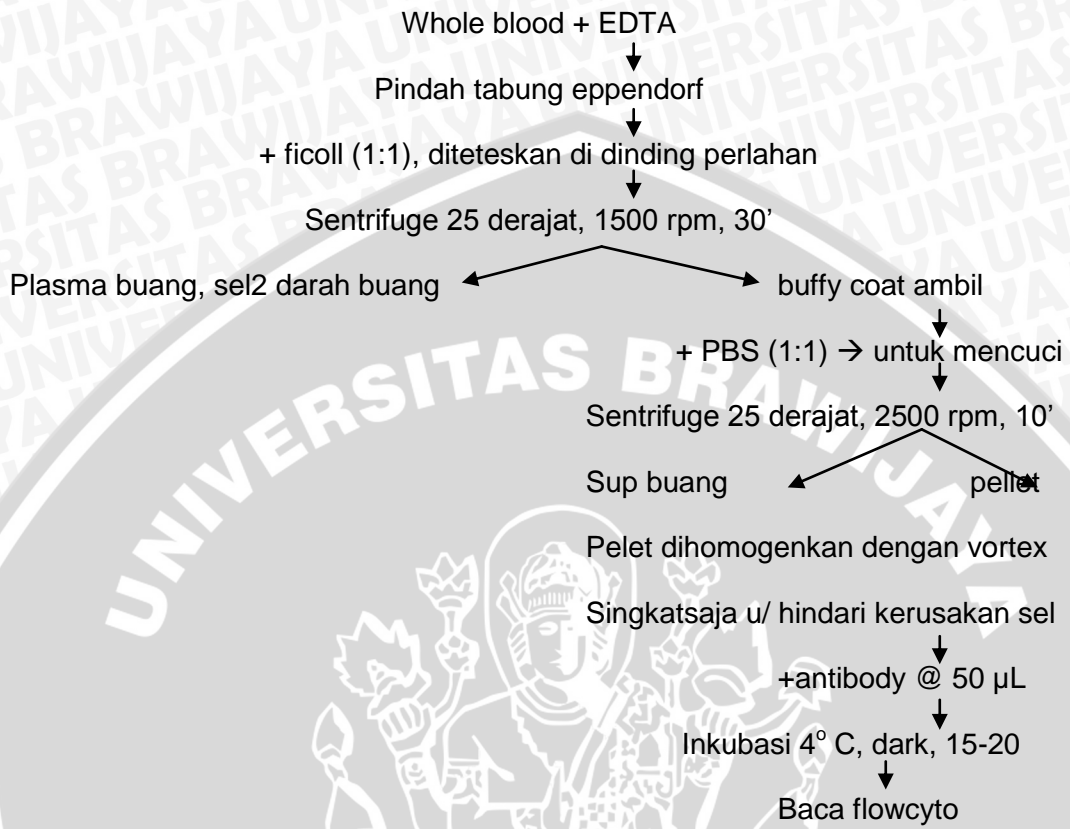
<p>1</p>	 <p>Melarutkan 40mg STZ dengan Normal Saline 20ml</p>
----------	---

2	 <p>Mengecek pH larutan (pH harapannya antara 3,5-4)</p>
3	 <p>Apabila pH belum sampai angka tersebut ditambahkan asam sitrat 0,01</p>
4	 <p>Larutan STZ siap disuntikkan ke mencit</p>

C. Prosedur pemberian pada mencit :

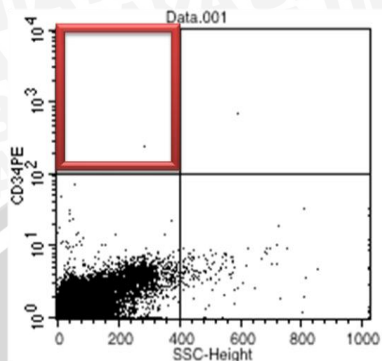
1. Persiapan alat dan bahan : spuit 1 ml, alcohol, kapas, STZ, niacinamie, handscoon (sebelumnya mencit harus ditandai)
 2. Suntikkan 0,1 mL (4strip) secara i.p niacinamide
 3. Tunggu hingga 15 menit
 4. Suntikkan 0,1 mL (4strip) STZ secara i.p
- Notes: STZ harus didalam tabung pendingin

D. Metode Preparasi Sample Flowcytometri



HASIL FLOWCYTOMETRY

A. Kelompok Kontrol Negatif



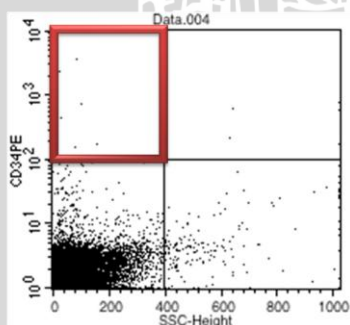
Quadrant Statistics

File: Data.001
 Sample ID:
 Tube: Untitled
 Acquisition Date: 02-May-11
 Gated Events: 100000
 X Parameter: SSC-Height (Linear)
 Quad Location: 402, 100

Log Data Units: Linear Values
 Patient ID:
 Panel: Untitled Acquisition Tube List
 Gate: No Gate
 Total Events: 100000
 Y Parameter: CD34PE (Log)

Quad	Events	% Gated	% Total	X Mean	X Geo Mean	Y Mean	Y Geo Mean
UL	1	0.00	0.00	285.00	285.00	248.05	248.05
UR	1	0.00	0.00	591.00	591.00	679.25	679.25
LL	99853	99.85	99.85	47.59	34.07	1.27	1.20
LR	145	0.15	0.15	558.30	536.29	5.53	4.54

B. Kelompok Kontrol Positif



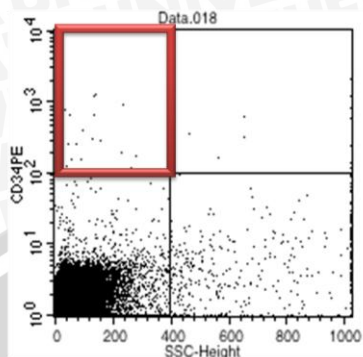
Quadrant Statistics

File: Data.004
 Sample ID:
 Tube: Untitled
 Acquisition Date: 02-May-11
 Gated Events: 100000
 X Parameter: SSC-Height (Linear)
 Quad Location: 397, 100

Log Data Units: Linear Values
 Patient ID:
 Panel: Untitled Acquisition Tube List
 Gate: No Gate
 Total Events: 100000
 Y Parameter: CD34PE (Log)

Quad	Events	% Gated	% Total	X Mean	X Geo Mean	Y Mean	Y Geo Mean
UL	6	0.01	0.01	78.00	62.62	1237.99	650.36
UR	5	0.00	0.00	867.80	845.33	479.55	404.61
LL	99815	99.82	99.82	51.32	34.94	1.40	1.28
LR	174	0.17	0.17	577.22	552.01	7.95	4.69

C. Kelompok Perlakuan 1



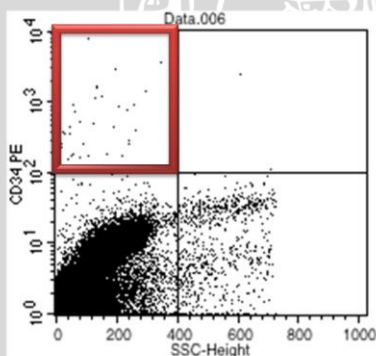
Quadrant Statistics

File: Data.018
 Sample ID:
 Tube: Untitled
 Acquisition Date: 02-May-11
 Gated Events: 100000
 X Parameter: SSC-Height (Linear)
 Quad Location: 397, 100

Log Data Units: Linear Values
 Patient ID:
 Panel: Untitled Acquisition Tube List
 Gate: No Gate
 Total Events: 100000
 Y Parameter: CD34PE (Log)

Quad	Events	% Gated	% Total	X Mean	X Geo Mean	Y Mean	Y Geo Mean
UL	19	0.02	0.02	116.84	85.63	444.93	325.96
UR	13	0.01	0.01	887.77	858.17	570.90	386.76
LL	99578	99.58	99.58	47.16	36.57	1.46	1.32
LR	390	0.39	0.39	688.03	650.80	9.00	4.42

D. Kelompok Perlakuan 2



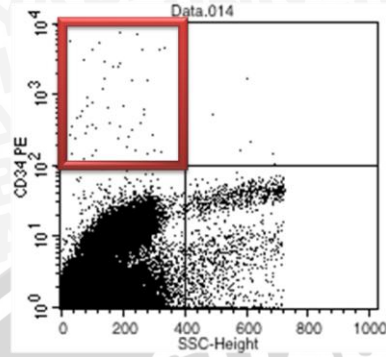
Quadrant Statistics

File: Data.006
 Sample ID: D/5
 Tube: Untitled
 Acquisition Date: 29-Apr-11
 Gated Events: 100000
 X Parameter: SSC-Height (Linear)
 Quad Location: 402, 100

Log Data Units: Linear Values
 Patient ID:
 Panel: Untitled Acquisition Tube List
 Gate: No Gate
 Total Events: 100000
 Y Parameter: CD34 PE (Log)

Quad	Events	% Gated	% Total	X Mean	X Geo Mean	Y Mean	Y Geo Mean
UL	35	0.04	0.04	140.14	104.02	903.30	485.22
UR	2	0.00	0.00	659.50	657.56	1273.32	518.61
LL	99186	99.19	99.19	49.00	30.05	2.01	1.44
LR	777	0.78	0.78	539.79	532.32	17.92	9.71

E. Kelompok Perlakuan 3



Quadrant Statistics

File: Data.014
 Sample ID: E/7
 Tube: Untitled
 Acquisition Date: 29-Apr-11
 Gated Events: 100000
 X Parameter: SSC-Height (Linear)
 Quad Location: 402, 100

Log Data Units: Linear Values
 Patient ID:
 Panel: Untitled Acquisition Tube List
 Gate: No Gate
 Total Events: 100000
 Y Parameter: CD34 PE (Log)

Quad	Events	% Gated	% Total	X Mean	X Geo Mean	Y Mean	Y Geo Mean
UL	56	0.06	0.06	160.02	132.18	1734.06	707.42
UR	6	0.01	0.01	612.17	608.08	470.09	279.65
LL	98577	98.58	98.58	96.55	73.22	2.91	1.81
LR	1361	1.36	1.36	548.43	540.83	19.57	9.80



DOKUMENTASI PENELITIAN



Hewan coba mencit Balb/C



Pembuatan STZ dan Nicotinamide



Kelompok mencit



Evaporasi ekstrak jamur tiram



Menimbang dosis STZ



Dosis ekstrak yang siap diberikan pada mencit



Proses euthanasia mencit dengan kloroform



Pembedahan Mencit



Sentrifugasi Darah



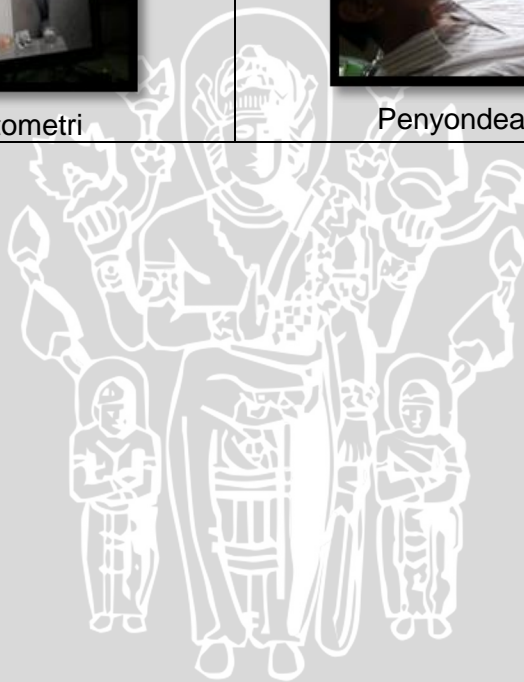
Pengambilan sampel darah



Alat Flowcytometri



Penyondean menci



ETHICAL CLEARANCE



KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA

KETERANGAN KELAIKAN ETIK
("ETHICAL CLEARANCE")

No. 048 / EC / KEPK-S1-JK-PKMP/ 02 / 2011

Setelah Tim Etik Penelitian Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya mempelajari dengan seksama rancangan penelitian yang diusulkan :

- Judul : *Stempowering (Stem Cell Empowering): Inovasi Pengembangan Terapi Auto – Regenerasi Pankreas Berbasis Mobilisasi Hematopoietic Stem Cell Pada Mencit Model DM Menggunakan Ekstrak Jamur Tiram (Pleurotus Ostreatus)*
- Peneliti : Makhyan Jibril A NIM : 0810710073
Aditya Satriya Nugraha NIM : 0810710001
Dicky Stevano Zukhri NIM : 0810710006
Annisa Alkarimah NIM : 0910710035
Durratul Ikrimah NIM : 0910710007
- Unit / Lembaga : Jurusan Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang
- Tempat Penelitian : Laboratorium Farmakologi, Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran, Laboratorium Biokimia dan Biomol Fakultas MIPA Universitas Brawijaya dan Laboratorium Patologi Anatomi RSU dr. Saiful Anwar Malang

Maka dengan ini menyatakan bahwa penelitian tersebut telah memenuhi syarat atau laik etik.

Malang, 28 FEB 2011,

An. Ketua,
Koordinator Divisi I,



Prof. Dr. dr. Teguh W. Sardjono, DTM&H, MSc, SpParK
NIP. 19520410 198002 1 001





FORMULIR ETIK PENELITIAN KESEHATAN

1	<p>Peneliti : Makhyan Jibril A (0810710073), Aditya Satriya Nugraha (0810710001), Dicky Stevano Zuhri (0810710006), Annisa Alkarimah (0910710035), Durrotul Ikrimah (0910710007)</p> <p>Dibawah bimbingan komisi pembimbing a. Dr.drg Nur Permatasari, M.S</p>
2.	<p>Judul Penelitian : <i>Stempowering (Stem Cell Empowering):</i> Inovasi Pengembangan Terapi Auto-Regenerasi Pankreas Berbasis Mobilisasi Hematopoietic Stem Celi Pada Mencit Model DM Menggunakan Ekstrak Jamur Tiram (<i>Pleurotus Ostreatus</i>).</p>
3.	<p>Subyek : Mencit model Dm galur Balb/C jantan</p>
4.	<p>Perkiraan waktu Penelitian : 3 bulan</p>
5.	<p>Ringkasan usulan penelitian yang mencakup objektif/tujuan penelitian, manfaat/relevansi dari hasil penelitian dan alasan/motivasi untuk melakukan penelitian.</p> <p>Tujuan penelitian</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak jamur tiram mempunyai pengaruh terhadap jumlah hematopoietic stem cell (dengan penanda CD34+) dalam darah pada mencit model diabetes. 2. Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak jamur tiram terhadap struktur pankreas dengan indikator dan histopatologi pankreas pada mencit model diabetes. 3. Mengetahui pengaruh ekstrak jamur tiram terhadap fungsi pankreas dengan indikator kadar glukosa darah pada mencit model diabetes? <p>Manfaat Keilmuan:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Dapat dijadikan sebagai dasar teori untuk meningkatkan khasanah ilmu pengetahuan masyarakat dalam pemanfaatan jamur tiram dalam bentuk ekstrak sebagai modalitas terapi mutakhir berbasis alam menggunakan jamur tiram yang efektif, aliamiah, aman dan lebih terjangkau dalam terapi diabetes mellitus. 2. Dapat dijadikan sebagai dasar teori untuk memberikan informasi di kalangan perindustrian obat tentang efektivitas jamur tiram dalam bentuk ekstrak sebagai modalitas terapi mutakhir berbasis alam menggunakan jamur tiram yang mungkin di masa mendatang dapat meningkatkan ragam produksi obat regenerasi yang alami.



6.	<p>Masalah etik (nyatakan pendapat anda tentang masalah etik yang mungkin dihadapi)</p> <ul style="list-style-type: none"> - Masalah perawatan mencit harus lebih diperhatikan, keteraturan perawatan mencit dan kandang, serta keteraturan pemberian makanan - Cara euthanasia mencit. mencit dibunuh dengan cara dimasukkan kaleng berisi ether dan ditutup rapat, ditunggu sampai mencit meninggal - Cara pengambilan darah mencit untuk diukur menggunakan glukometer → pengambilan diambil dari vena ekor mencit dengan sedikit dilukai
7.	<p>Bila penelitian ini menggunakan subyek manusia, apakah percobaan pada hewan sudah dilakukan? Bila belum, sebutkan alasan untuk memulai penelitian ini pada manusia</p> <p>Penelitian tidak dilakukan pada manusia, tetapi pada hewan coba mencit model DM galur Balb/C jantan.</p>
8.	<p>Prosedur penelitian yang dilakukan :</p> <p>Persiapan Hewan coba Dilakukan persiapan pemeliharaan hewan coba mulai dari kandang pemeliharaan hewan coba, anyaman kawat, sekam, botol minum, alat semprot, tempat makan, pakan <i>comfeed</i>, alcohol 70%, hewan uji mencit galur Balb/C, dan seleksi mencit (usia, berat badan, jenis kelamin, kesehatan). Mencit diadaptasikan di dalam laboratorium farmakologi selama tujuh hari dan dibagi enam kelompok.</p> <p>Pembuatan Ekstrak Jamur Tiram Jamur tiram dipotong kecil-kecil, dicuci lalu dikeringkan dan dihaluskan menggunakan blender dan ditimbang 100 gram menggunakan timbangan analitik. Kemudian dimasukkan kedalam <i>beaker glass</i> dan ditambah dengan pelarut etanol 95 % kemudian direndam (maserasi) selama 3 hari. Pasang evaporator pada tiang permanen agar dapat digantung dengan kemiringan 30°-40° terhadap meja. Kemudian hasil maserasi dimasukkan dalam labu ekstraksi. Satu set alas evaporasi diletakkan sedemikian rupa sehingga sebagian labu ekstraksi terendam aquades pada <i>water bath</i>. <i>Water bath</i> dihubungkan dengan sumber listrik dan dinaikkan suhunya sampai 70° C (sesuai dengan titik didih etanol). Kemudian ditunggu proses berjalan (pengembunan dan pemisahan di pendingin) sampai hasil evaporasi tersisa dalam labu ekstraksi. Hasil evaporasi berupa cairan kental.</p> <p>Induksi Kerusakan Beta Pankreas Model Diabetes Mellitus Tipe II STZ (Streptozotocin) dimasukkan kedalam 50mM-<i>citric acid buffer</i> dan Nicotinamide dileburkan kedalam <i>normal saline</i> saat akan digunakan. Mencit Balb/c dipuaskan semalam, lalu diinjeksikan STZ intraperitoneal 15 menit setelah injeksi 240mg/kg nicotinamide. Kerusakan Beta Pankreas ditandai dengan adanya kondisi hiperglikemi pada hari ke-7 pasca induksi. Mencit dianggap mengalami diabetes apabila <i>non fasting blood glucose</i> mencapai 200mg/dl dalam dua hari berturut-turut (Amirshahrokhi <i>et al.</i>, 2008)</p> <p>Pengukuran Glukosa Darah Mencit Konsentrasi glukosa dalam darah diukur secara enzimatik dari 10µL volume darah yang diambil dari ekor mencit, dan menggunakan <i>Glucotide strips</i> dan <i>Glucometer</i>. Pengukuran dilakukan pada hari 1, 3, 5 dan 7 pasca terapi untuk mengetahui perbaikan fungsi beta pancreas.</p> <p>Pengukuran Jumlah Hematopoietic stem cell dengan Penanda CD34</p>



Menggunakan Flowcytometri

Sentrifugasi preparasi *whole blood* dalam suhu 4°C. dengan kecepatan 6000 rpm selama 15 menit. Hasil sentrifugasi berupa endapan sel dicampur dengan cytoperm/cytofix sejumlah 2 kali dari jumlah sel yang didapat. Campuran sel dan cytoperm/cytofix disentrifugasi sehingga didapatkan sup dan pellet. Kemudian ditambahkan *BD wash* pada pelet sejumlah 4 kali dari jumlah sel yang didapat di sentrifugasi pertama. Sentrifugasi campuran tersebut kemudian tambahkan lisris buffer sejumlah 2 kali jumlah sel awal yang didapat. Setelah itu tambahkan antibody terlabel untuk setiap sampel, lima tabung disiapkan dan diproses secara paralel. (1) Pewarnaan tunggal dengan CD34 PE ditambahkan ke dalam *wash tube*. (2) Pewarnaan ganda dengan CD34 PE dan CD45 PerCP-*wash tube*. (3) Pewarnaan ganda dengan CD34 PE dan CD45 PerCP-*trucount tube*. (4) Reagen isotop kontrol - IgG1 PE dan CD45 perCP-*wash tube*. (5) Reagen isotop kontrol - IgG1 PE dan CD45 perCP-*trucount tube*. Seluruh sampel kemudian disimpan dalam suhu 4°C dalam kondisi gelap dan dianalisa menggunakan flowcytometri selama 1 jam.

Penimbangan Berat Mencit dan Pankreas

Penderita diabetes akan mengalami perubahan morfologi pada sel β , baik dalam ukuran maupun jumlahnya sehingga mengakibatkan penurunan masa pankreas (Guz *et al.*, 2001; Butler *et al.*, 2001). Untuk mengetahui kenaikan jumlah perbaikan sel pankreas, hal ini ditandai dengan rasio berat badan mencit dengan berat dari pankreas, maka dilakukan penimbangan langsung dengan menggunakan timbangan digital.


Pembuatan Preparat Histopatologi Pankreas

Pankreas diambil melalui pembedahan mencit. Pembuatan preparat histopatologi dilakukan dengan metode paraffin. Fiksasi dilakukan dengan merendam jaringan pankreas mencit dalam formalin 10% selama sehari semalam (24 jam) kemudian dilanjutkan dengan tahap pencucian menggunakan air minimal 1,5 jam. Jaringan dimasukkan dalam alkohol 70% selama 1 jam, alkohol 80% selama 1 jam, alkohol 99 % selama 1 jam dan alkohol absolut selama 2x1 jam lalu dalam campuran xylol : alkohol absolut = 1:1 selama 0,5 jam, dan xylol PA selama 2x30 menit. Jaringan dipotong setipis mungkin dan dimasukkan ke dalam *melted paraffin* : xylene = 1:1 sekana 1 jam, paraffin (54-58) selama 2x1 jam. *Melted paraffin* dimasukkan ke dalam cetakan berbentuk kubus lalu ditempatkan pada posisi yang diinginkan dalam paraffin tersebut kemudian disiram lagi dengan *melted paraffin* secukupnya. Blok paraffin dibiarkan sampai dingin dan dikeluarkan dari cetaknya. Bagian blok yang dibelakang dilekatkan pada kayu pemegang blok pada mikrotom kemudian posisi indikator yang menunjukkan ketebalan pemotongan (6-8 mikrometer) diatur. Hasil pemotongan saling bersambungan membentuk pita, ujung pita diangkat dengan kuas dan direntangkan diatas permukaan air hangat (30-40°C) secara lembut dan tanpa lipatan. Gelas objek dilapisi dengan lapisan putih telur : gliserol = 1:1 sebagai lapisan tipis dan biarkan kering (untuk merekatkan sediaan). Pita paraffin dan pita tersebut diangkat dengan gelas objek. Gelas objek diletakkan di atas steamer hangat (agar pita mengembang dan lurus tanpa lekukan) kemudian dibiarkan kering dan sediaan melekat erat (1 hari). Jaringan yang berada di gelas objek dimasukkan ke dalam xylol selama 3x5 menit. Lalu dikeringkan. Hasil diamati pada mikroskop untuk mengetahui progresivitas perbaikan sel beta pankreas

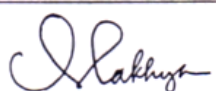




9.	<p>Bahaya potensial yang langsung atau tidak langsung, segera atau kemudian dan cara-cara untuk mencegah atau mengatasi kejadian (termasuk rasa nyeri dan keluhan lain)</p> <p>Injeksi STZ intraperitoneal apabila tidak tepat bisa mengenai organ visceral dan membunuh mencit → solusi dikerjakan bersama sang ahli dan berlatih sebelum melakukan perlakuan sebenarnya</p> <p>Aspirasi akibat salah menyonde → solusinya dilakukan bersama ahli dan berlatih terlebih dahulu</p>
10.	<p>Pengalaman terdahulu (sendiri atau orang lain) dan tindakan yang hendak diterapkan.</p> <p>Pengalaman terdahulu : sudah pernah melakukan pembedahan pada mencit</p> <p>Sudah pernah melakukan pengambilan darah dari ekor mencit</p> <p>Sudah pernah geuethanasia mencit menggunakan ether</p> <p>Sudah pernah menyonde mencit</p>
11.	<p>Bila penelitian ini menggunakan orang sakit dan dapat memberi manfaat untuk subyek yang bersangkutan, uraikan manfaat itu ?</p> <p>Penelitian menggunakan mencit model Dm galur Balb/C jantan</p>
12.	<p>Bagaimana memilih pasien/sukarelawan sehat</p> <p>Penelitian menggunakan mencit model Dm galur Balb/C jantan</p>
13.	<p>Bila penelitian ini menggunakan subyek manusia, jelaskan hubungan antara peneliti dengan subyek yang diteliti</p> <p>Penelitian menggunakan mencit model Dm galur Balb/C jantan</p>
14.	<p>Bila penelitian ini menggunakan orang sehat, jelaskan cara pemeriksaan kesehatannya</p> <p>Penelitian menggunakan mencit model Dm galur Balb/C jantan</p>
15.	<p>Jelaskan cara pencatatan selama penelitian, efek samping dan komplikasi bila ada</p> <p>Pencatatan pada log book dilakukan setiap kali pada saat pemberian perlakuan, pengukuran glukosa dan pembedahan mencit</p> <p>Efek samping dan komplikasi yang bisa terjadi dari injeksi intraperitoneal adalah bisa terjadi kematian mencit jika cara injeksi salah</p>
16.	<p>Bila penelitian ini menggunakan subyek manusia, jelaskan bagaimana cara memberitahu dan mengajak subyek (lampirkan contoh surat persetujuan subyek)</p> <p>Bila pemberitahuan dan kesediaan subyek bersifat lisan atau bila karena sesuatu hal subyek tidak dapat atau tidak perlu dimintakan persetujuan, berilah alasan yang kuat untuk itu.</p> <p>Penelitian menggunakan mencit model DM galur Balb/C jantan</p>
17.	<p>Bila penelitian ini menggunakan subyek manusia, apakah subyek mendapat ganti</p>

	rugi bila ada efek samping? Berapa banyak? Penelitian menggunakan mencit model DM galur Balb/C jantan
18.	Bila penelitian ini menggunakan subyek manusia, apakah subyek diasuransikan? Penelitian menggunakan mencit model DM galur Balb/C jantan

Pembimbing :

1. Dr.drg Nur Permatasari, M.S	
2.	

Peneliti

1. Makhyan Jibril A.	
2. Aditya Satriya Nugraha	
3. Dicky Stefano Zukhri	
4. Annisa Alkarimah	
5. Durrotul Ikrimah	

28 FEB 2011

Telah diperiksa dan disetujui pada tanggal