

**PENGARUH OMENTOPLASTI PANKREAS DAN MSCs TERHADAP  
KADAR IL-1 $\beta$  DAN INDEKS RESISTENSI INSULIN  
(Studi Eksperimental Pada Tikus Obesitas yang Dilakukan *Sleeve Gastrectomy*)**

**Skripsi**

Untuk memenuhi sebagian persyaratan  
mencapai gelar Sarjana Kedokteran



Disusun Oleh:

**Muhammad Naufal Hilmi**

**30101800116**

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG  
SEMARANG**

**2022**



**SKRIPSI**  
**PENGARUH OMENTOPLASTI PANKREAS DAN MSCs TERHADAP**  
**KADAR IL-1 $\beta$  DAN INDEKS RESISTENSI INSULIN**  
**(Studi Eksperimental Pada Tikus Obesitas yang**  
**Dilakukan Sleeve Gastrectomy)**

Yang dipersiapkan dan disusun oleh:

**Muhammad Naufal Hilmi**

**30101800116**

Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji  
Pada tanggal, 29 Maret 2022 dan  
dinyatakan telah memenuhi syarat  
**Susunan Tim Penguji**

Pembimbing I,

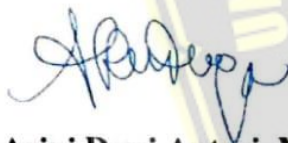
Anggota Tim Penguji,



dr. R. Vito Mahendra E, M.Si.Med,Sp.B Assoc Prof. dr. Agung Putra,M.Si.Med.



Pembimbing II,



dr. Arini Dewi Antari, M. Biomed.



dr. Yani Istandi,M.Med.Ed.

Semarang, 1 April 2022

Fakultas Kedokteran

Universitas Islam Sultan Agung

Dekan,



Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, S.H., Sp.KF

## SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan dibawah ini,

Nama : **MUHAMMAD NAUFAL HILMI**

NIM : **30101800116**

Dengan ini menyatakan bahwa karya ilmiah berjudul:

**“PENGARUH OMENTOPLASTI PANKREAS DAN MSCs TERHADAP  
KADAR IL-1 $\beta$  DAN INDEKS RESISTENSI INSULIN**

**(Studi Eksperimental Pada Tikus Obesitas yang Dilakukan *Sleeve  
Gastrectomy*)”**

Adalah benar hasil karya saya dan penuh kesadaran bahwa saya tidak melakukan tindakan plagiasi atau mengambil alih seluruh atau Sebagian besar karya tulis orang tanpa menyebutkan sumbernya. Jika saya terbukti melakukan Tindakan plagiasi, saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan peraturan yang berlaku.

Semarang, 27 Maret 2022

Yang menyatakan,



**MUHAMMAD NAUFAL HILMI**

## PRAKATA



*Assalamualaikum wr.wb.*

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “PENGARUH OMENTOPLASTI DAN MSC TERHADAP TNF- $\alpha$ , CRP, DAN RESISTENSI INSULIN (Studi Eksperimental pada Tikus Galur Wistar Obesitas dengan Diabetes Mellitus Tipe 2 yang Dilakukan *Sleeve gastrectomy*)” guna memenuhi syarat menempuh program Pendidikan Sarjana Farmasi di Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

Dalam proses penyusunan skripsi ini, penulis telah mendapat bantuan dan dukungan baik secara material maupun moral. Untuk itu penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Allah SWT.
2. Kedua orang tua saya ( Bapak Masvan Yulianto dan Ibu Dwi Susanti A.W ), kakak saya (Irvania) dan adik saya (Fitria).
3. Dr. dr. Setyo Trisnadi, SH., Sp.KF selaku Dekan Fakultas Kedoktera Universitas Sultan Agung Semarang.
4. dr. R.Vito Mahendra E, M.Si.Med., Sp.B dan dr. Arini Dewi Antari M. Biomed selaku dosen pembimbing I dan dosen pembimbing II yang telah meluangkan

waktu, membimbing, dan memberi ilmu serta memberi semangat dan motivasi kepada penulis dalam proses penyelesaian skripsi ini.

5. Assoc.Prof. Dr. dr. Agung Putra, M.Si. Med dan dr. Yani Istadi M.Med selaku dosen penguji I dan dosen penguji II yang telah berkenan meluangkan waktu untuk menguji dan memberikan saran serta masukan kepada penulis dalam penulisan skripsi.
6. Seluruh tim dan staff Laboratorium SCCR Unissula yang menjadi tempat penelitian dan telah membantu serta memberi ilmu dalam pelaksanaan penelitian.
7. Teman-teman yang selalu mendukung dan memberi semangat penulis dalam proses pengerjaan skripsi.

Semarang, 27 Maret 2022

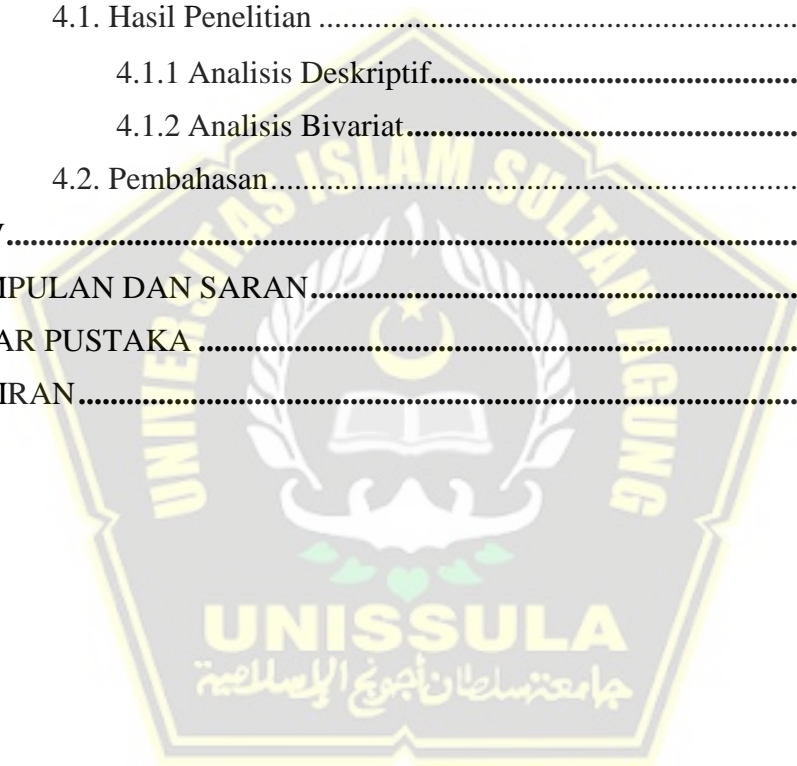


**MUHAMMAD NAUFAL HILMI**

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	i
SURAT PERNYATAAN.....	ii
PRAKATA.....	iii
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR SINGKATAN .....	vii
DAFTAR GAMBAR .....	x
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
INTISARI.....	xiii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	6
1.3 Tujuan Penelitian .....	6
1.4 Manfaat Penelitian .....	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	8
2.1 Kadar IL-1 $\beta$ .....	8
2.2 Indeks Resistensi Insulin.....	9
2.3 Obesitas .....	10
2.4 Sleeve Gastrectomy .....	15
2.5 Omentoplasty.....	19
2.6 Mesenchymal Stem Cell .....	20
2.7 Pengaruh Omentoplasty dan Mesenchymal Stem Cell pada Peningkatan IL 1- $\beta$ dan Indeks Resistensi Insulin .....	21
2.8 Kerangka Teori.....	23
2.9 Kerangka Konsep (berubah).....	24
2.10 Hipotesis Penelitian .....	24
BAB III METODOLOGI PENELITIAN.....	25

3.1	Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian.....	25
3.2	Variabel dan Definisi Operasional.....	26
3.3	Definisi Operasional.....	26
3.4	Populasi dan Sampel.....	28
3.5	Instrumen dan Bahan Penelitian.....	30
3.6	Cara Penelitian.....	32
3.7	Alur Penelitian.....	45
3.8	Tempat dan Waktu Penelitian.....	46
3.9	Analisis Hasil.....	46
<b>BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....</b>		<b>48</b>
4.1.	Hasil Penelitian.....	48
4.1.1	Analisis Deskriptif.....	49
4.1.2	Analisis Bivariat.....	54
4.2.	Pembahasan.....	58
<b>BAB V.....</b>		<b>63</b>
<b>KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>		<b>63</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>		<b>64</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>		<b>67</b>





## DAFTAR SINGKATAN

ASCs	: Adult Stem Cells
BAT	: Brown Adipose Tissue
BMI	: <i>Body Mass Index</i>
CCK	: Cholecystokinin
CD29	: <i>Cluster of Differentiation 29</i>
CD31	: <i>Cluster of Differentiation 31</i>
CD45	: <i>Cluster of Differentiation 45</i>
CD90	: <i>Cluster of Differentiation 90</i>
Cdna	: <i>Complementary Deoxyribonucleic Acid</i>
CO <sub>2</sub>	: Carbon Dioxide
ddH <sub>2</sub> O	: <i>Double-distilled water</i>
DEPC	: <i>Diethyl pyrocarbonat</i>
DMT2	: Diabetes Melitus Tipe 2
dTNP	: Deoxynucleotide
eAMV-RT	: <i>Enhanced Avian Reverse Transcriptase</i>
FBS	: Fetal Bovine Serum
FITC	: Fluorescein isothiocyanate
GLP-1	: <i>Glucagon Like Peptide-1</i>

HOMA-IR	: <i>Homeostatic Model Assessment of Insulin Resistance</i>
IFN- $\gamma$	: Interferon- $\gamma$
IL-1	: Interleukin-1
IL-1 $\beta$	: Interleukin-1 $\beta$
IL-6	: Interleukin-6
IMT	: Indeks Massa Tubuh
LPPT	: Lembaga Penelitian dan Pengujian terpadu
mRNA	: <i>Messenger Ribonucleic Acid</i>
MSCs	: <i>Mesenchymal Stem Cells</i>
NaCl	: Natrium Chloride
NPY	: Neuropeptida Y
PBS	: <i>Phosphate Buffered Saline</i>
POMC	: Pro-opiomelanocortin
PPIs	: <i>Proton Pump Inhibitors</i>
PYY	: <i>Peptide Tyrosine Tyrosine</i>
qRT-PCR	: <i>Real-Time Polymerase Chain Reaction</i>
RISKESDAS	: Riset Kesehatan Dasar
RNA	: <i>Ribonucleic Acid</i>
SCCR	: <i>Stem Cell and Cancer Research</i>
SPSS	: <i>Statistical Product and Service Solution</i>

STZ : Streptozocin  
TNF- $\alpha$  : *Tumour Necrosis Factor- $\alpha$*   
WAT : *White Adipose Tissue*  
WHO : *World Health Organization*



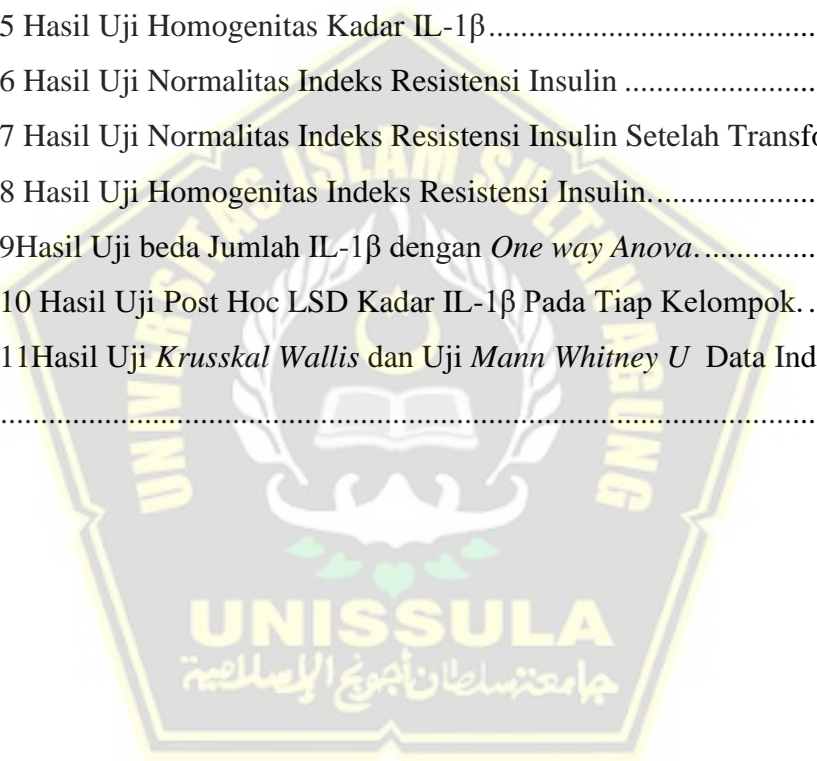
## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 <i>Sleeve Gastrectomy</i> (SG) .....	16
Gambar 2.2 Kerangka Teori.....	23
Gambar 2.3 Kerangka Konsep .....	24
Gambar 3.1 Rancangan Penelitian .....	25
Gambar 3.2 Alur Penelitian.....	45
Gambar 4.1 Rerata Kadar IL-1 $\beta$ .....	50
Gambar 4.2 Rerata Indeks Resistensi Insulin .....	51
Gambar 4.3 Hasil Uji Post Hoc LSD Kadar IL-1 $\beta$ Pada Tiap Kelompok. ....	56
Gambar 4.4 Hasil <i>Uji Kruskal Wallis</i> dan <i>Uji Mann Whitney U</i> Data Indeks Resistensi Insulin .....	57



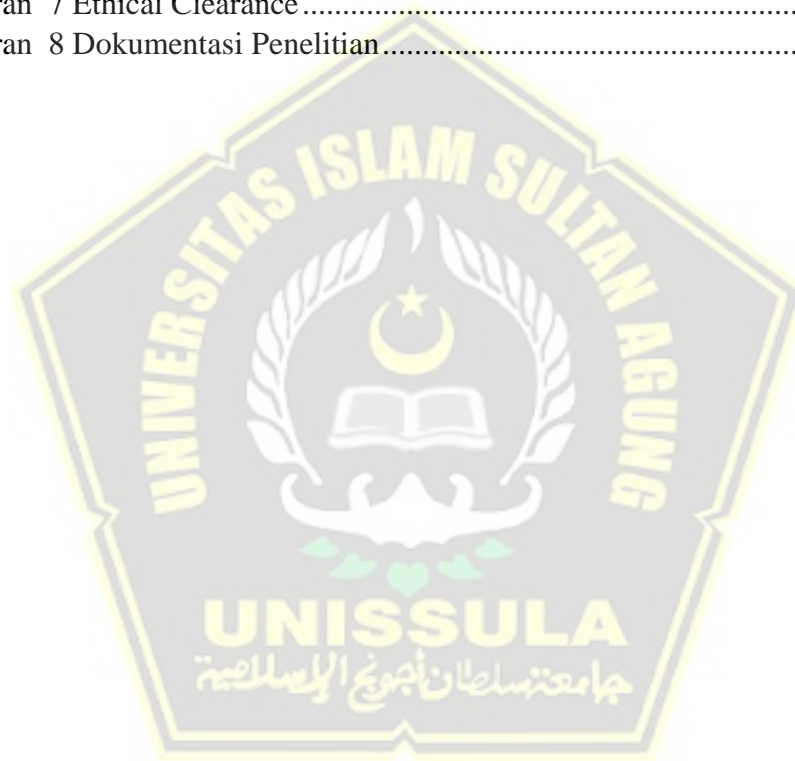
## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Kategori IMT berdasarkan Kemenkes RI 2019 .	11
Tabel 2.2.Kategori IMT dan risiko penyakit relatif berdasarkan Berat Badan dan Lingkar Pinggang	12
Tabel 4.1 Hasil Konfirmasi Kondisi Obesitas dan DMT2	49
Tabel 4.2 Hasil Rerata dan Standart Deviasi Kadar IL-1 $\beta$	50
Tabel 4.3 Hasil Rerata Indeks Resistensi Insulin	50
Tabel 4.4 Hasil Uji Normalitas Kadar IL-1 $\beta$	52
Tabel 4.5 Hasil Uji Homogenitas Kadar IL-1 $\beta$	52
Tabel 4.6 Hasil Uji Normalitas Indeks Resistensi Insulin	53
Tabel 4.7 Hasil Uji Normalitas Indeks Resistensi Insulin Setelah Transformasi	53
Tabel 4.8 Hasil Uji Homogenitas Indeks Resistensi Insulin	54
Tabel 4.9 Hasil Uji beda Jumlah IL-1 $\beta$ dengan <i>One way Anova</i>	55
Tabel 4.10 Hasil Uji Post Hoc LSD Kadar IL-1 $\beta$ Pada Tiap Kelompok	56
Tabel 4.11 Hasil Uji <i>Kruskal Wallis</i> dan Uji <i>Mann Whitney U</i> Data Indeks Resistensi Insulin	57



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Deskripsi data tabel uji deskripsi data Kadar IL-1 $\beta$ dan Indeks Resistensi Insulin tiap kelompok .....	67
Lampiran 2 Tabel Uji Normalitas dan Homogenitas data Kadar IL-1 $\beta$ dan Indeks Resistensi Insulin tiap kelompok .....	68
Lampiran 3 Hasil uji <i>One Way Anova</i> data Kadar IL-1 $\beta$ .....	69
Lampiran 4 Hasil uji beda Post-Hoc data Kadar IL-1 $\beta$ .....	70
Lampiran 5 Hasil uji <i>Kruskal-Wallis</i> H Indeks Resistensi Insulin .....	71
Lampiran 6 Hasil uji beda <i>Mann-Whitney</i> Indeks Resistensi Insulin antar kelompok .....	72
Lampiran 7 Ethical Clearance .....	75
Lampiran 8 Dokumentasi Penelitian .....	76



## INTISARI

Obesitas merupakan peningkatan akumulasi asam lemak yang menyebabkan terjadi proses inflamasi. Proses inflamasi tidak terlepas dari peran sitokin. Salah satu sitokin pro-inflamasi yang menyebabkan resistensi insulin adalah IL-1 $\beta$ . Inflamasi dapat menurunkan sensitivitas insulin dan menyebabkan atau diabetes melitus tipe 2 (DMT2). Kondisi tersebut dapat dilakukan operasi *bariatric* pada pasien obesitas dengan DMT2 dan terapi adjuvant yaitu tindakan omentoplasti pankreas dan injeksi *Mesencymal Stem Cell* (MSCs). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh omentoplasti pankreas dan pemberian MSCs terhadap kadar IL-1 $\beta$  dan indeks resistensi insulin pada tikus obesitas yang dilakukan *Sleeve gastrectomy*.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan *post test only control group design*. Sampel penelitian menggunakan 24 ekor tikus jantan Galur Wistar yang dibagi menjadi 4 kelompok yaitu kelompok kontrol negatif Sham, kelompok kontrol positif *Sleeve gastrectomy*, kelompok perlakuan *Sleeve gastrectomy* dengan omentoplasti pankreas dan kelompok perlakuan *Sleeve gastrectomy* dengan pemberian MSCs intraperitoneal.

Hasil Kelompok perlakuan *Sleeve gastrectomy* dengan injeksi MSCs memiliki nilai  $p < 0,05$  saat dibandingkan dengan seluruh kelompok penelitian selain itu kelompok perlakuan *Sleeve gastrectomy* dengan omentoplasti saat dibandingkan dengan kelompok kontrol *Sleeve gastrectomy* memiliki nilai  $p < 0,05$  pada kadar IL-1 $\beta$ . Indeks Resistensi Insulin memiliki hasil  $p < 0,05$  pada seluruh kelompok penelitian.

Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa pemberian MSCs pasca *Sleeve gastrectomy* memiliki hasil yang signifikan terhadap penurunan kadar kadar IL-1 $\beta$  dan Indeks Resistensi Insulin. Tindakan omentoplasti pasca *Sleeve gastrectomy* memiliki hasil yang signifikan terhadap penurunan kadar kadar IL-1 $\beta$  dan memiliki hasil yang signifikan terhadap penurunan Indeks Resistensi Insulin pada tikus obesitas dengan DMT2.

**Kata kunci:** *IL-1 $\beta$ , DMT2, Indeks Resistensi Insulin, Obesitas, Sleeve gastrectomy, Omentoplasty Pankreas, MSCs.*





# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Obesitas adalah kelebihan lemak pada bagian tubuh, dikarenakan asupan energi dan pengeluaran energinya tidak seimbang. (Kementerian Kesehatan RI, 2017). Faktor penyebab obesitas di Indonesia adalah faktor genetik, lingkungan, obat-obatan, dan hormonal. Obesitas dapat meningkatkan faktor resiko terjadinya penyakit kronis seperti diabetes melitus tipe 2 (DMT2), penyakit kardiovaskuler, hipertensi, stroke dan bentuk kanker tertentu bahkan dapat mengakibatkan kematian. (Morton, 2020). Ada kaitan antara obesitas dan proses inflamasi, dimana obesitas berakibat pada peningkatan resistensi insulin. Mekanisme resistensi insulin pada obesitas karena makrofag dapat mensekresikan sitokin pro inflamasi ataupun anti inflamasi (Ferrante, 2013). Inflamasi kronik pada keadaan obesitas ditandai dengan peningkatan sitokin *tumor necrosis factor* salah satunya adalah IL-1 $\beta$  (Interleukin 1 beta) yang dihasilkan oleh adipokin pada jaringan adipose terutama pada *White Adipose Tissue* (WAT) (McArdle *et al.*, 2013). Pada penelitian sebelumnya terjadi peningkatan IL-1  $\beta$  pada resistensi insulin (Duque and Descoteaux, 2014). Urutan pertama pada kelompok sitokin yang bekerja dalam respon imun adalah IL-1  $\beta$ , dimana IL-1  $\beta$  memiliki peran

penting dalam proses memperkuat pengaktifan Th oleh sel penyaji antigen (*Antigen Presenting Cell = APC*). (Di Domenico *et al.*, 2019).

Obesitas menyerang baik di Negara maju dan berkembang (Masrul, 2018). Lebih dari 650 juta jiwa, atau 13% banyaknya individu dewasa di dunia, peningkatannya mencapai 3 kali lipat sejak 1970 hingga tahun 2016. (*Obesity and Overweight*, 2020). Terutama pada penduduk di Indonesia yang mengalami obesitas sentral sebanyak 21,8% prevalensi obesitas pada usia 18 tahun keatas, penduduk di Indonesia juga mengalami DM diatas 15 tahun berjumlah 6,9% dan mengalami peningkatan 10,9% ditahun 2018. (Badan Litbang Kemenkes RI, 2013, 2019). Dari beberapa data dapat disimpulkan bahwa seiring bertambahnya waktu semakin bertambah pula obesitas dan DM. Selain itu buruknya kebiasaan menyebabkan obesitas dapat menimbulkan berbagai macam penyakit. (Masrul, 2018). Beberapa macam penyakit sistemik seperti penyakit *cardiovascular*, penyakit *musculoskeletal*, bahkan sindrom metabolik. Sindrom metabolik yang sering dikaitkan adalah resistensi insulin, dislipidemia, dan hipertensi (Koca, 2017).

Obesitas menjadi salah satu faktor resiko terjadinya resistensi insulin melalui proses inflamasi pada sel adiposa dan penurunan kadar oksigen yang menjadikannya hipoksia sel adiposa, dimana sel adiposa akan menghasilkan adipokin yang berperan dalam patofisiologi obesitas. Kelebihan *intake*

makanan juga mengakibatkan peningkatan senyawa *reactive oxygen species* (ROS) sehingga terjadi *stress oksidatif*. (O'Rourke, 2020). Hipoksia pada sel adiposa mengakibatkan *stress reticulum endoplasma* (RE). Interaksi antara *stress RE* dan *stress oksidatif* berakibat meningkatnya apoptosis pada adiposit. Sehingga mengakibatkan infiltrasi pada sel inflamatori salah satunya adalah makrofag. Makrofag akan menghasilkan sitokin pro inflamasi seperti IL-1  $\beta$ , TNF, IL-6 dan ROS yang dapat menurunkan sensitivitas insulin. (Duque and Descoteaux, 2014). Urutan pertama sitokin yang berperan dalam respon imun adalah IL-1  $\beta$ , dimana IL-1  $\beta$  memiliki peran penting dalam proses memperkuat pengaktifan sel *T-Helper* (Th) oleh sel penyaji antigen (Antigen Presenting Cell = APC). Peningkatan sitokin tersebut mengakibatkan menurunnya kerja insulin. (Di Domenico *et al.*, 2019) Turunnya kerja insulin menyebabkan turunnya sensitivitas pada insulin dikarenakan terjadi peningkatan sitokin pro-inflamasi pada penderita DMT2 dengan obesitas. (Rodrigues *et al.*, 2017). Penurunan berat badan dengan cara berolahraga dan mengatur pola makan merupakan cara untuk mencegah terjadinya komorbid obesitas. Sebagai alternatif, terapi bedah *bariatric* dapat dilakukan pada pasien obesitas berat secara klinis disertai kondisi komorbid (Sudoyo, 2009). Selain itu pendekatan melalui tindakan operasi juga sering digunakan untuk menangani obesitas (Bray *et al.*, 2018). Beberapa terapi pada pasien dengan obesitas yang tinggi, serta DMT2 secara sistemik dapat menekan peningkatan

sitokin pro inflamasi. Menurut Bray dkk (2018) tehnik pembedahan *bariatric* yang paling sering digunakan adalah prosedur *sleeve gastrectomy* (SG) (53.8%), diikuti oleh *Roux-en-Y gastric bypass* (RYGB) (23.1%), *laparoscopic adjustable gastric banding* (LAGB) (5.7%) dan prosedur lainnya. Tehnik pembedahan SG lebih banyak dilakukan karena memiliki keunggulan dari pada terapi lainnya. (Mechanick *et al.*, 2019). Pada penelitian (fatimo *et al.*) menyatakan efek operasi *bariatric* terhadap penurunan inflamasi lambat dan membutuhkan penelitian lebih lanjut (Biobaku *et al.*, 2020).

Pada penelitian yang dilakukan Hangman dkk (2017) kurang berpengaruhnya pembedahan dalam mengurangi kadar inflamasi, penelitian ini masih memerlukan jangka waktu yang panjang, dikarenakan terjadi perbaikan sensitivitas insulin dan perbaikan toleransi glukosa dalam 12 bulan setelah tindakan operasi tetapi tidak didapatkan tanda terjadinya penurunan inflamasi pada jaringan adiposa akibat tindakan itu sendiri (Hagman *et al.*, 2017). Salah satu terapi terobosan adalah omentoplasti. Omentoplasti adalah tindakan prosedur pembedahan dengan menempelkan omentum pada organ tertentu. Omentum merupakan *visceral adipose tissue* (VAT) yang berperan dalam menyimpan lemak, regenerasi jaringan dan membatasi proses inflamasi (Meza-Perez and Randall, 2017). Terapi *adjuvant* merupakan terapi tambahan untuk mengatasi kurang efektifnya penurunan faktor inflamasi yang bertujuan

untuk memperbaiki sensitifitas insulin setelah dilakukannya pembedahan *bariatric*. Terapi adjuvant ini bertujuan untuk menekan reseptor inflamasi karena meningkatnya adiponektin dan sel  $\beta$  langerhans pankreas. (Ullah, Subbarao and Rho, 2015). Omentum memiliki sifat yang sama dengan *Mesenchymal Stem Cells* (MSCs) dalam penyembuhan jaringan yang rusak dan pengaturan imun (Shah *et al.*, 2012). *Mesenchymal Stem Cells* (MSCs) berperan dalam pertumbuhan dan perkembangan serta dapat memperbaiki dan memelihara sel maupun jaringan baik di otak, tulang, otot, saraf, darah, kulit, dan beberapa organ lainnya sehingga membuat MSCs merupakan terapi adjuvant yang memiliki peran dalam pengobatan regeneratif. (Kalra & Tomas, 2014). dan *mesenchymal stem cells* (MSCs) yang dapat berdiferensiasi menjadi sel epitel paru, hepatosit, neuron, dan sel islet pankreas (Di Nicola, 2019). Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah untuk membandingkan keefektifan dari omentoplasti dan MSCs sebagai terapi adjuvant setelah pembedahan *bariatric* dalam upaya penyembuhan pasien obesitas dengan DM yang akan memperbaiki resistensi dari insulin sehingga mengurangi proses inflamasi. Berdasarkan hal tersebut diatas mengenai peningkatan yang terjadi pada obesitas serta DM2 yang menyebabkan beberapa komplikasi serta minimnya *sleeve gastrectomy* dalam mengatasi penurunan sitokin pro-inflamasi maka ini menjadi dasar dilakukan penelitian mengenai “Pengaruh

Omentoplasti Pankreas dan *Mesenchymal Stem Cells* Terhadap Kadar IL-1 $\beta$  dan Indeks Resistensi Insulin.”.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka rumusan masalah penelitian ini yaitu: “Apakah omentoplasti pankreas dan MSCs berpengaruh terhadap kadar IL-1 $\beta$  dan Indeks resistensi insulin pada tikus obesitas yang dilakukan *sleeve gastrectomy*?”.

## 1.3 Tujuan Penelitian

### 1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui pengaruh omentoplasti pankreas dan MSCs terhadap kadar IL-1 $\beta$  dan Indeks resistensi insulin pada tikus obesitas yang dilakukan *sleeve gastrectomy*.

### 1.3.2 Tujuan Khusus

1.3.2.1. Mengetahui perbedaan kadar IL-1 $\beta$  pada tikus obesitas kelompok kontrol, kelompok *sleeve gastrectomy*, kelompok *sleeve gastrectomy* dengan omentoplasti pankreas, dan kelompok *sleeve gastrectomy* dengan injeksi *mesenchymal stem cells*.

1.3.2.2. Mengetahui perbedaan indeks resistensi insulin pada tikus obesitas kelompok kontrol, kelompok *sleeve gastrectomy*,

kelompok *sleeve gastrectomy* dengan omentoplasti pankreas, dan kelompok *sleeve gastrectomy* dengan injeksi MSCs.

## **1.4 Manfaat Penelitian**

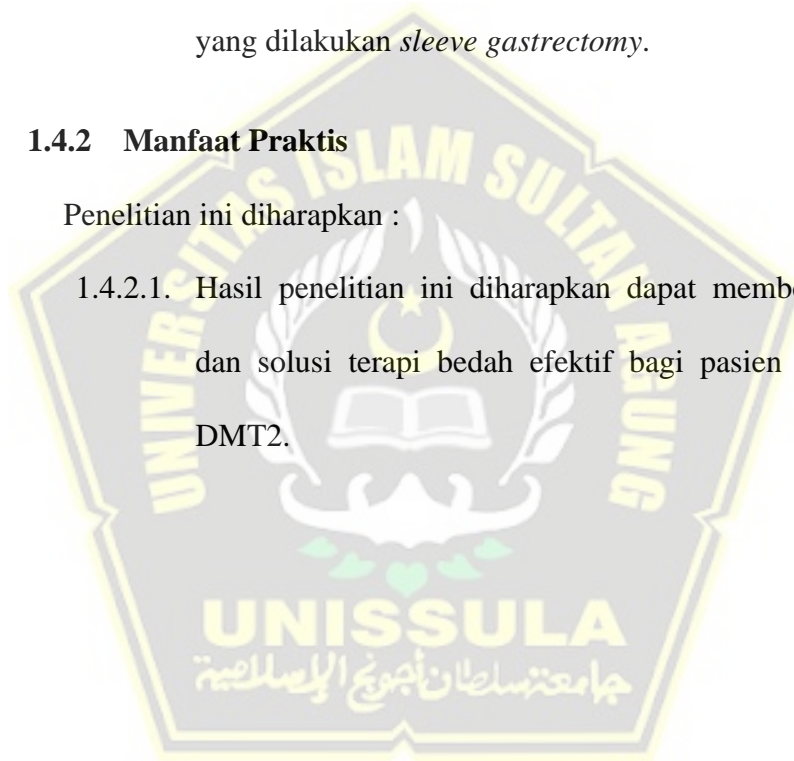
### **1.4.1 Manfaat Teoritis**

1.4.1.1. Memberikan ilmu pengetahuan mengenai hasil omentoplasti pankreas dan *mesenchymal stem cells* berpengaruh terhadap kadar IL-1 $\beta$  dan Indeks resistensi insulin pada tikus obesitas yang dilakukan *sleeve gastrectomy*.

### **1.4.2 Manfaat Praktis**

Penelitian ini diharapkan :

1.4.2.1. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dan solusi terapi bedah efektif bagi pasien obesitas dengan DMT2.



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Kadar IL-1 $\beta$

Beberapa mediator inflamasi seperti IL-1 $\beta$ , IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ , dan Interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) menjadi pemicu utama yang menyebabkan resistensi insulin (Rehman *et al.*, 2017) Interleukin-1 adalah sitokin polipeptida yang dihasilkan pada proses inflamasi dengan spektrum aktivitas imunologik luas. Beberapa penelitian menunjukkan peranan IL-1 sebagai mediator inflamasi penyakit dengan onset akut dan kronik. IL-1 juga berperan mengontrol limfosit, sedangkan peran IL-1 dalam proses peradangan secara umum bersifat tidak spesifik. Kelompok IL-1 (IL-1 gene family) terdiri dari 3 jenis yaitu IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , dan IL-1 reseptor antagonis (IL-1Ra). Interleukin-1 $\alpha$  dan IL-1 $\beta$  bersifat agonis menimbulkan reaksi radang atau disebut sitokin proinflamasi. Interleukin-1 reseptor antagonis bersifat menghambat efek biologis IL-1 atau disebut sitokin anti inflamasi. Peningkatan produksi IL-1 oleh sel mononuklear sudah dikemukakan pada beberapa kondisi patologis seperti kolitis dan kanker kolorektal. Interleukin-1 juga merupakan mediator penting dalam proses keganasan (Akagi, 1999). Interleukin (IL) berfungsi sebagai mediator leukosit, dan beberapa jenis interleukin memiliki efek yang berbeda-beda, terdapat beberapa jenis IL, dari IL-1 hingga IL-20. Urutan



pertama pada kelompok sitokin yang bekerja dalam respon imun adalah IL-1 $\beta$ , dimana IL-1 $\beta$  memiliki peran penting dalam proses memperkuat pengaktifan Th oleh sel penyaji antigen (*Antigen Presenting Cell = APC*). Peningkatan sitokin tersebut mengakibatkan menurunnya kerja insulin pada organ otot dan hati yang menjadi organ target (Di Domenico *et al.*, 2019).

## 2.2 Indeks Resistensi Insulin

Terjadinya resistensi insulin melalui proses inflamasi, inflamasi pada sel adipose dan penurunan kadar oksigen yang menjadikannya hipoksia sel adipose, dimana sel adipose akan menghasilkan adipokin yang berperan penting dalam patofisiologi obesitas. Selain itu kelebihan *intake* makanan pada orang obesitas dapat mengakibatkan peningkatan senyawa reactive oxygen species (ROS) sehingga mengakibatkan stress oksidatif. (O'Rourke, 2020). Hipoksia pada sel *adipose* mengakibatkan stress pada *reticulum endoplasma* (RE). RE memiliki fungsi untuk mensintesis protein dan lemak. Interaksi antara stress RE dan stress oksidatif mengakibatkan peningkatan apoptosis pada adiposit. Selanjutnya apoptosis pada adiposit ini mengakibatkan infiltrasi pada sel inflamatori seperti Makrofag, sel NK, limfosit B dan Limfosit T serta eosinofil. Makrofag akan menghasilkan sitokin pro inflamasi seperti TNF, IL-1 $\beta$ , IL-6 dan ROS yang dapat menurunkan sensitivitas insulin. (Duque and Descoteaux, 2014). Interleukin (IL) berfungsi sebagai mediator leukosit, dan beberapa jenis interleukin

memiliki efek yang berbeda-beda, terdapat beberapa jenis IL, dari IL-1 hingga IL-20. Urutan pertama pada kelompok sitokin yang bekerja dalam respon imun adalah IL-1  $\beta$ , dimana IL-1  $\beta$  memiliki peran penting dalam proses memperkuat pengaktifan Th oleh sel penyaji antigen (Antigen Presenting Cell = APC). Peningkatan sitokin tersebut mengakibatkan menurunnya kerja insulin pada organ otot dan hati yang menjadi organ target (Di Domenico *et al.*, 2019).

### 2.3 Obesitas

Menurut WHO dalam Pencegahan dan Pengendalian Penyakit Tidak Menular (P2PTM) Kemenkes RI (2018) obesitas merupakan penumpukan lemak yang berlebihan akibat ketidakseimbangan asupan energi (*energy intake*) dengan energi yang digunakan (*energy expenditure*) dalam waktu lama. RISKESDAS juga menyatakan bahwa banyaknya berat badan lebih dan penderita obesitas pada dewasa >18 tahun di Indonesia mengalami peningkatan dari tahun 2013 yaitu 14.8 menjadi 21.8 pada tahun 2018. Obesitas sentral pada usia  $\geq 15$  tahun juga mengalami peningkatan dari 26.6 pada tahun 2013 menjadi 31.0 pada tahun 2018 (Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, 2018). Pada tahun 2016 tercatat 1,9 milyar orang dewasa berusia lebih dari 18 tahun yang termasuk dalam golongan overweight dan yang mengalami obesitas sebanyak 650 juta. (*Diabetes*, 2020).

### 2.3.1 Definisi dan kategori Obesitas

Obesitas menurut *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) (2016) adalah berat badan yang lebih tinggi dari berat badan yang dianggap sehat untuk tinggi badan tertentu. Indeks Massa Tubuh (IMT) atau BMI, digunakan sebagai alat skrining untuk kelebihan berat badan atau obesitas. Pembagiannya berdasarkan perhitungan pembagian antara kilogram berat badan dibagi dengan tinggi badan dalam meter kuadrat (Sugondo, 2016) .

Berdasarkan Kemenkes RI (2019), mengenai batasan IMT untuk menilai status gizi penduduk dewasa (> 18 tahun), yaitu:

Tabel 2.1 Kategori IMT berdasarkan Kemenkes RI 2019

<b>Kategori</b>	<b>IMT (kg/m<sup>2</sup>)</b>
<b>Kurus</b>	<18,5
<b>Normal</b>	≥ 18,5 – <25
<b>BB berlebih</b>	≥25 – <27
<b>Obesitas</b>	≥ 27

Berikut adalah kategori obesitas yang dilihat berdasarkan IMT dan lingkar pinggang pada risiko terjadinya penyakit (Nguyen *et al.*, 2020).

Tabel 2.2. Kategori IMT dan risiko penyakit relatif berdasarkan Berat Badan dan Lingkar Pinggang (Nguyen et al., 2020)

		Risiko Relatif Penyakit Berdasarkan Lingkar Pinggang (DMT2, Hipertensi, Penyakit Kardiovaskuler)		
	IMT (kg/m <sup>2</sup> )	Kelas obesitas	Laki-laki ≤ 102 cm (≤40 in)	Laki-laki > 102 cm (>40 in)
			Perempuan ≤ 88 cm (≤35 in)	Perempuan > 88 cm (>35 in)
<i>Underweight</i>	<18,5	-	-	-
Normal	18,5 – 24,9	-	-	-
<i>Overweight</i>	25,0 – 29,9	-	Meningkat	Tinggi
Obesitas	30,0 – 34,9	I	Tinggi	Sangat Tinggi
Obesitas	35,0 – 39,9	II	Sangat Tinggi	Sangat Tinggi
Obesitas Ekstrem	≥ 40	III	Sangat Tinggi Sekali	Sangat Tinggi Sekali

### 2.3.2 Etiologi Obesitas

Akibat penambahan lemak dalam suatu sel dalam tubuh menyebabkan terjadinya peningkatan sel jaringan lemak sehingga dapat menyebabkan obesitas (Lestari & Helmiyanti, 2018). Sedangkan WHO juga mengeluarkan pernyataan bahwa obesitas merupakan ketidaknormalan tubuh ketika terjadi peningkatan kadar lemak berlebih dan ketika berlanjut dapat mengakibatkan pengaruh terhadap tubuh.

### 2.3.3 Patofisiologi Obesitas

Obesitas yang ditandai dengan penumpukan lemak berlebih ini berikatan erat dengan ketidakseimbangan asupan energi dengan energi yang dikeluarkan seseorang. Sistem homeostasis yang mengontrol regulasi energi ini terjadi terutama pada otak manusia. Hipotalamus adalah bagian dari otak yang menjadi pusat integrasi nafsu makan dan regulasi berat badan. Pengaturan ini melalui 2 grup neuron yaitu jalur anabolik yang bertugas untuk merangsang asupan makan, mengurangi pengeluaran energi dan meningkatkan berat badan di atur oleh Neuropeptida Y, Orexin A, Orexin B, *Agouti Related Peptides* (AGRP) dan *Melanine Concentrating Hormones* (MCH) sedangkan jalur katabolik yang memiliki tugas untuk mengurangi asupan makanan dan aktivasi reseptor serotonin di atur oleh *Pro-opiomelanokortin* (POMC), *Cocaine and Amphetamine Related Transcripts* (CART), *Corticotrophin Releasing Hormone* (CRH), *Prolactin Releasing Peptide* (PrRP),  $\alpha$ -*Melanocyte Stimulating Hormone* ( $\alpha$ -MSH) 5-Hidroksi Tritamin (5-HT) dan *Serotonine and Leptin Reseptor* (LEPR).

Leptin merupakan adipokin terpenting dalam tubuh yang berperan dalam regulasi berat tubuh normal yang memediasi komunikasi antara jaringan adiposa, usus, dan otak dalam mengatur

asupan makanan. (Sherwood, 2018; Nguyen *et al.*, 2020). Selama makan organ usus akan mengeluarkan hormon peptide yang akan mengirimkan sinyal kenyang secara neurosensorik ke pusat kenyang di otak. Hormone peptide ini dapat berupa grelin yang akan memberikan sinyal lapar, *Cholecystinin* (CCK) yang akan memberikan sinyal kenyang, PYY yang akan memberikan sinyal kenyang. Jaringan lemak akan mengirimkan sinyal kenyang ke otak melalui peptida Leptin dan juga akan menyebabkan lemak terpecah sehingga dapat digunakan sebagai energi. (Hastuti, 2017). Apabila terdapat jaringan lemak yang meningkat, adiposit akan menghasilkan leptin dalam jumlah yang banyak dan bersirkulasi melalui darah menuju otak serta sawar darah otak. Selanjutnya leptin akan menempati reseptornya pada beberapa tempat di hipotalamus terutama neuron di nukleus paraventricular dan neuron *pro-opiomelanocortin* (POMC) di nukleus arkuata. Apabila terjadi kerusakan pada reseptor leptin di hipotalamus dapat menyebabkan seseorang menjadi hiperfagia berat dan berujung obesitas parah (Guyton and Hall, 2011).

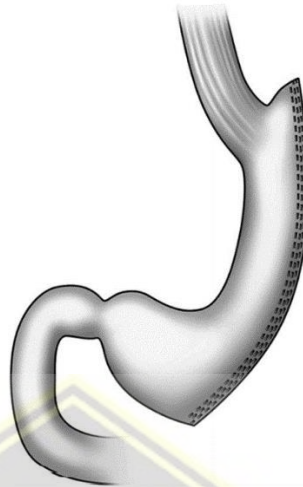
Terdapat dua jenis jaringan adiposa, di antaranya yaitu *White Adipose Tissue* (WAT) dan *Brown Adipose Tissue* (BAT). Dalam hal ini, WAT berperan dalam pelepasan zat bioaktif yang dihasilkan oleh adipokin, yaitu IL-1  $\beta$ , *Tumour Necrosis Factor* (TNF- $\alpha$ ), dan IL-6

sedangkan *Brown Adipose Tissue* (BAT) berperan dalam fungsi termoregulasi. Peningkatan dari WAT pada pasien obesitas karena peradangan pada jaringan adiposa menjadi salah satu faktor terjadinya resistensi insulin (McArdle *et al.*, 2013). Obesitas juga dapat terjadi dikarenakan adanya mutase pada beberapa gen seperti MC4R, ADRB3, BDNF dan PC1. Alel hipomorfik dari gen gen tersebut dapat menyebabkan obesitas pada hewan coba berupa tikus pada penelitian yang dilakukan oleh *genome-wide association studies* (GWASs) (Schwartz *et al.*, 2017). Faktor genetik juga ikut berperan dalam pengaturan asupan makanan dan pengeluaran energi pada pasien obesitas dan DM (Sherwood, 2018).

#### 2.4 Sleeve Gastrectomy

Sleeve gastrectomy merupakan salah satu teknik pembedahan *bariatric* yang digunakan untuk terapi bagi pasien obesitas yang terbukti lebih aman, efisien dan memiliki *survival rate* yang tinggi. Prosedur pembedahan ini berupa pengangkatan sebagian *gaster* pada kurvatura mayor dengan mengurangi sebagian volume *gaster* dan menyebabkan penurunan berat badan. Mortalitas dan morbiditas dari prosedur *sleeve gastrectomy* lebih rendah dibandingkan dengan prosedur *bariatric* lain yang lebih kompleks. Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa terdapat keberhasilan

memperbaiki diabetes melalui pembedahan *sleeve gastrectomy* (Nguyen *et al.*, 2020).



Gambar 2 1 Sleeve Gastrectomy (SG) ( The ASMBS Textbook of Bariatric Surgery Tahun 2020)

#### **2.4.1 Indikasi Pembedahan pada Obesitas dengan DMT2**

Prinsip dasarnya penanggulangan obesitas adalah intervensi gaya hidup dan terapi medik seperti obat-obatan dan operasi *bariatric* bila diperlukan. Perubahan gaya hidup lebih ditekankan pada modifikasi perilaku makanan dan aktivitas fisik. (masrur2018)

#### **2.4.2 Efek Sleeve Gastrectomy**

Prosedur ini menyebabkan perubahan kebiasaan dan tingkah laku dari sebelumnya diakibatkan karena adanya perbedaan baik secara anatomi dan fisiologi organ sebelumnya. Prosedur sleeve



gastrectomy dilakukan dengan cara memotong sebagian besar gaster yang akan mengurangi atau menghambat distensi gaster dan menyebabkan peningkatan rasa kenyang pada pasien (Kheirvari *et al.*, 2020) Pengangkatan fundus gaster ini juga menyebabkan penurunan ghrelin yang dapat menghambat sekresi insulin dan menurunkan hormon adiponectin yang meningkatkan sensitivitas insulin.

Peningkatan pro-inflammasi dan penurunan anti-inflamasi seperti adiponektin pada keadaan obesitas akan mengalami perubahan setelah dilakukan pembedahan *bariatric*. Peningkatan adiponectin akan berhubungan dengan perbaikan sensitivitas insulin yang dapat kita ukur dengan menggunakan HOMA-IR, selain itu juga akan terjadi penurunan IL-1 $\beta$  yang diduga berhubungan dengan penurunan pelekatan monosit dengan sel endotel. Hormon leptin juga akan menurun setelah pembedahan *bariatric* (Morton, 2020).

#### **2.4.3 Kontraindikasi dari Sleeve Gastrectomy**

Selama ini belum ditemukan kontraindikasi yang sangat kuat pada prosedur pembedahan *bariatric*. Yang harus diperhatikan adalah penyakit yang menyertai seperti penyakit gagal jantung yang berat, penyakit paru paru yang berat, pasien dengan kanker aktif atau sedang menjalani terapi kanker, sirosis hepar dengan hipertensi portal dan

ketergantungan terhadap obat-obatan dan alkohol. Penundaan akan dilakukan apabila pasien mengalami ulkus peptikus hingga terapi yang diberikan selesai. Selain itu juga jika pasien memiliki kontraindikasi yang tidak bisa diperbaiki dengan anestesi umum dan koagulopati lebih baik dihindarkan dari tindakan pembedahan ini (Morton, 2020).

#### **2.4.4 Komplikasi Operasi *Sleeve Gastrectomy***

Pada operasi *sleeve gastrectomy* jarang ditemukan adanya komplikasi yang serius setelah dilakukannya operasi *sleeve gastrectomy* selama beberapa minggu hingga beberapa bulan akan muncul gejala ringan seperti disfagia, salivasi, dan muntah.

Apabila ditemui gejala berat berupa terjadi kebocoran maka komplikasi tersebut tergolong sebagai komplikasi yang akut dimana akan ditemukan pada bagian bawah *gastroesophageal junction* di sepanjang garis staples. Apabila terjadi kebocoran dapat dilakukan penanganan berupa pemasangan stent esofagogastrik untuk menutup perforasi, laparoskopi diagnostik dengan drainase, drainase perkutan dengan stent endoskopik ataupun inserti pada tabung-T (*T-tube*) untuk mengontrol fistula, apabila tidak ditangan akan menimbulkan takikardia, demam sejak dini, dan takipnea. (Nguyen *et al.*, 2020).

#### **2.4.5 Tindakan Post Operasi Sleeve Gastrectomy**

Setelah hari pertama atau kedua paska operasi, pasien dibolehkan rawat jalan dengan diberikan obat anti nyeri untuk beberapa hari dan PPIs selama 6 – 8 minggu. Sebelum pulang juga pasien akan diberikan terapi dan pemeriksaan pada saluran pencernaannya salah satunya adalah *X-ray* untuk melihat apakah terjadi kebocoran yang mengakibatkan komplikasi pada pasien. (Nguyen *et al.*, 2015).

#### **2.5 Omentoplasti**

Omentoplasti adalah tindakan prosedur pembedahan dengan menempelkan omentum pada organ tertentu. Dilakukan dengan transplantasi pulau Langerhans ke dalam *omental pouch*. (Di Nicola, 2019). Omentum merupakan jaringan yang bersumber dari berbagai macam faktor haemostatis, faktor pertumbuhan dan neurotropik, mediator inflamasi serta pluripotent stem sel sehingga omentum banyak digunakan dibidang pembedahan (Di Nicola, 2019). omentum terdiri dari 2 jenis yaitu omentum minor dan omentum mayor. Omentum merupakan suatu jaringan adipose visceral yang berperan dalam regenerasi jaringan dan menekan suatu inflamasi. Omentum akan bermigrasi ke organ yang mengalami inflamasi dan membungkus dinding organ tersebut agar proses inflamasi tidak menyebar maka sering disebut sebagai '*policeman of the abdomen*' (Drake, 2012) Terapi

omentoplasti dapat dijadikan *alternative* terapi insulin yang mengalami resisten karena pada omentum terdapat *milky spot* yang mempunyai peran terhadap sistem imun. (Meza-Perz and Randall, 2017).

## 2.6 Mesenchymal Stem Cell

Terapi tambahan lainnya untuk memperbaiki resistensi insulin pada pasien obesitas adalah *MSCs* (*Mesenchymal Stroma Cells*). *MSCs* merupakan *adult stem cell* yang memiliki potensi memperbarui diri dan berdiferensiasi menjadi kondroblast, adipositas, osteoblast, dan myosit secara *in vitro*. *MSCs* memiliki peran dalam mengatur respon imun seperti meregulasi proliferasi sel T, menjaga keseimbangan aktivitas sel Th1 dan Th2, menghambat fungsi dan proliferasi sel NK (*Natural killer*), mencegah maturasi dan proliferasi DC (*Dendritic Cells*), serta meningkatkan proliferasi *Treg* dengan mensekresi IL-10. Akibat kemampuannya dalam memodulasi respon imun, terapi *MSCs* diketahui dapat menyembuhkan berbagai penyakit akibat inflamasi termasuk diabetes. Mekanisme terapi *MSCs* selain sebagai immunomodulator yaitu memiliki fungsi parakrin, angiogenic, dan memiliki efek *anti-oxidative*. Isolasi *MSCs* dapat diambil dari berbagai jaringan seperti jaringan adipose, tulang kompak, pulpa gigi, gusi, otot skeletal, islets, plasenta, dan lain-lain. Potensi diferensiasi *MSCs* bergantung pada usia pendonor, lamanya waktu kultur sel, jenis jaringan asal, dan densitas sel (Ullah, Subbarao and Rho, 2015).

## 2.7 Pengaruh Omentoplasty dan Mesenchymal Stem Cells pada Peningkatan IL 1- $\beta$ dan Indeks Resistensi Insulin

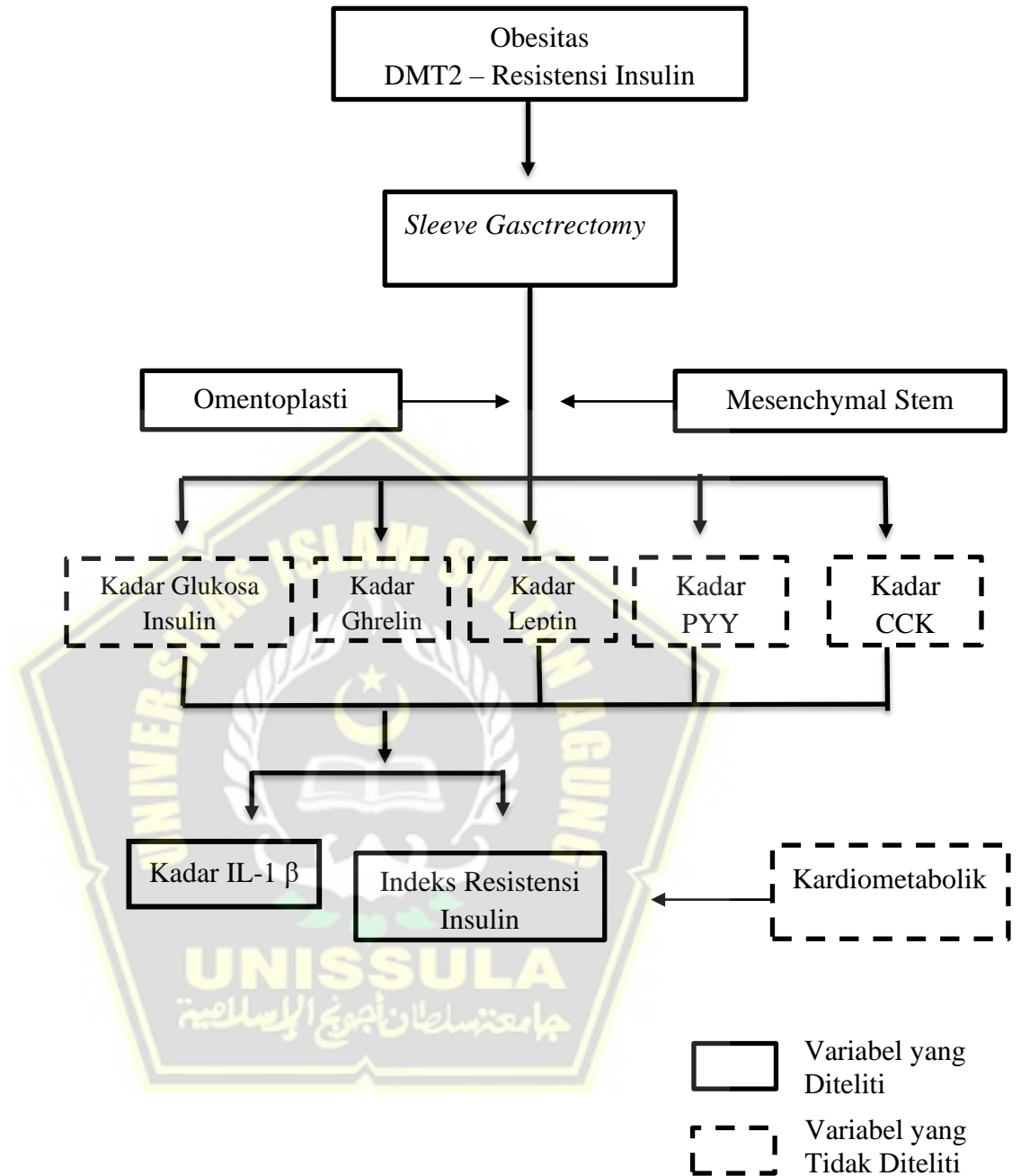
Pada individu yang mengalami obesitas sering ditemui adanya resistensi insulin dan inflamasi kronik sehingga terjadi peningkatan dari mediator pro-inflamasi seperti IL-1 $\beta$ . Dimana peningkatan tersebut terjadi *White Adipose Tissue* (WAT) yang akan melepaskan sitokin pro-inflamasi seperti IL-1 $\beta$ . (Maxson & Mitchell, 2016; Rodrigues et al., 2017) Pada sel adiposa yang mengalami hipertrofi akan mengurangi kemampuan *uptake* glukosa yang di stimulasi oleh insulin (Thiriet, 2018).

Pada penelitian sebelumnya peningkatan sitokin pro-inflamasi berhubungan dengan pasien diabetes melitus (DM) dan juga BMI yang tinggi. (Maxson & Mitchell, 2016; Rodrigues *et al.*, 2017). Apabila BMI tinggi maka dapat digolongkan sebagai obesitas dimana angka berat badan yang terbilang tinggi. Untuk mendapatkan berat badan yang ideal maka perlu dilakukan usaha penurunan berat badan. Usaha yang dapat dilakukan untuk penurunan berat badan salah satunya adalah dengan melakukan pembedahan *bariatric* salah satunya yaitu *sleeve gastrectomy*. Dari pembedahan *bariatric* tersebut didapatkan penurunan mediator inflamasi sebagai hasilnya (Morton, 2020). Namun Pada penelitian sebelumnya diketahui bahwa penurunan inflamasi secara signifikan pada jaringan adiposa walaupun disertai dengan perbaikan

toleransi terhadap glukosa dalam kurun waktu 12 bulan setelah pembedahan (Hagman *et al.*, 2017).

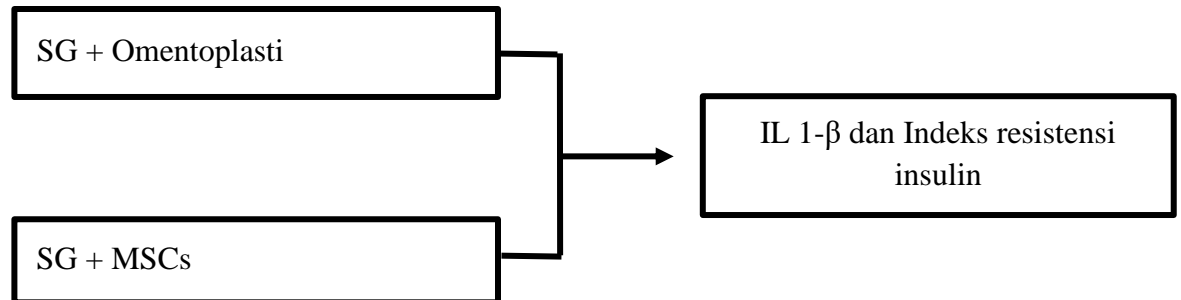
Omentoplasti merupakan prosedur pembedahan yang dilakukan pada penelitian terdahulu untuk mengatasi organ yang mengalami cedera dengan meletakkan jaringan adiposa khusus ke pankreas pada rongga peritoneum yang memiliki efek peningkatan anti inflamasi sehingga dapat menyembuhkan suatu jaringan seperti sifat yang dimiliki MSCs. pemanfaatan kemampuan omentum juga untuk regenerasi dan memperbaiki jaringan (Di Nicola, 2019). *Mesenchymal stem cells* (MSCs) berasal dari mesodermal yang merupakan *adult stem cell* (ASCs) yang memiliki kemampuan berdiferensiasi menjadi berbagai jenis jaringan tubuh. *Mesenchymal stem cells* (MSCs) juga sudah diketahui dapat berdiferensiasi menjadi sel islet pankreas dan dapat menjadi terapi yang aman (Qi *et al.*, 2019). Maka dari itu, setelah dilakukannya intervensi omentoplasti pankreas dan terapi *Mesenchymal stem cells* (MSCs) diharapkan dapat menurunkan kadar sitokin pro-inflamasi seperti IL-1  $\beta$ , resistensi insulin, dan perbaikan pada pasien diabetes mellitus DMT2 dengan obesitas yang mana kadarnya masih tinggi walaupun sudah dilakukan *sleeve gastrectomy*.

## 2.8 Kerangka Teori



Gambar 2 2 Kerangka Teori

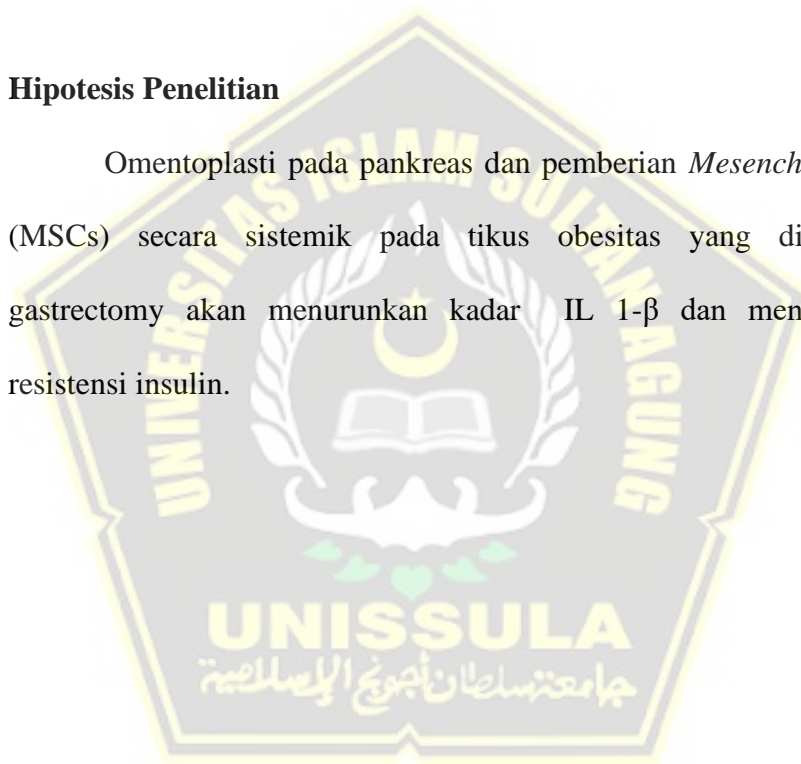
## 2.9 Kerangka Konsep



Gambar 2 3 Kerangka Konsep

## 2.10 Hipotesis Penelitian

Omentoplasti pada pankreas dan pemberian *Mesenchymal Stem Cells* (MSCs) secara sistemik pada tikus obesitas yang dilakukan *Sleeve gastrectomy* akan menurunkan kadar IL 1- $\beta$  dan menurunkan Indeks resistensi insulin.



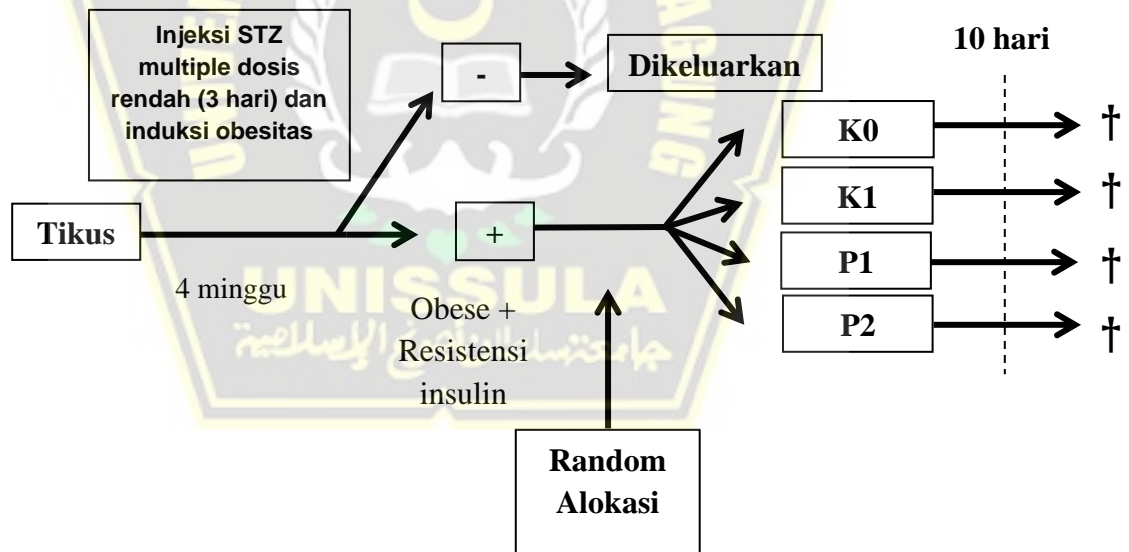


## BAB III

### METODOLOGI PENELITIAN

#### 3.1 Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian.

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental dengan menggunakan pendekatan *post test control only group design*. yang menggunakan binatang percobaan sebagai objek penelitian. Kelompok penelitian dibagi menjadi 4, yaitu kelompok kontrol negatif (K0), kelompok kontrol positif (K1), kelompok perlakuan 1 (P1), dan kelompok perlakuan 2 (P2). Berikut adalah skema rancangan penelitiannya.



Gambar 3 1 Rancangan Penelitian

**Keterangan :**

(-) : Kriteria Eksklusi

(+) : kriteria inklusi

K0 : Kelompok kontrol negatif (Sham)

K1 : Kelompok kontrol positif dengan perlakuan tikus obesitas yang *sleeve gastrectomy*

P1 : Kelompok perlakuan 1, tikus obesitas yang dilakukan *sleeve gastrectomy* dan omentoplasti.

P2 : Kelompok perlakuan 2, tikus obese yang dilakukan *sleeve gastrectomy* dan MSCs dosis  $1 \times 10^6$  sel secara intraperitoneal.

† : Terminasi

Keempat kelompok akan diukur kadar IL-1 $\beta$ , dan Indeks resistensi insulin pasca perlakuan kemudian tikus diterminasi di akhir penelitian.

## **3.2 Variabel dan Definisi Operasional**

### **3.2.1 Variabel Penelitian**

#### **3.2.1.1 Variabel Bebas**

Omentoplasti pankreas dan MSCs.

#### **3.2.1.2 Variable Tergantung**

Indeks Resistensi Insulin dan Kadar IL-1 $\beta$ .

## **3.3 Definisi Operasional**

### **3.3.1 Omentoplasti Pankreas**

Merupakan suatu tindakan pembedahan untuk menempelkan seluruh omentum mayor pada pankreas tikus yang dilakukan pada penelitian hari ke-29.

Skala data : Nominal.

### 3.3.2 MSCs

Merupakan *Stem cells* yang berasal dari *umbilical cord* tikus yang diperoleh dari *Stem Cell and Cancer Research* (SCCR) Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang yang sudah memenuhi syarat *Anti-Rat CD29 Alexa Fluor 647*, *Anti-Rat CD90 PerCP*, *Anti-Rat CD45 FITC*, dan *Anti-Rat CD31 PE*, Media Basal Diferensiasi Adipogenik, Media Basal Diferensiasi Osteogenik *MesenCult*. Diinjeksikan secara intraperitoneal pada tikus dengan dosis  $1 \times 10^6$  sel pada penelitian hari ke-29.

Skala data : Nominal.

### 3.3.3 Kadar IL- 1 $\beta$

Merupakan kadar Interleukin-1 $\beta$  sitokin polipeptida yang dihasilkan pada proses inflamasi yang diperoleh dari mRNA later jaringan pankreas diukur menggunakan (qRT-PCR) dalam satuan *fold change* pada penelitian hari ke-40.

Skala data: Rasio.

### 3.3.4 Indeks Resistensi Insulin

Merupakan indeks yang dihitung dengan HOMA-IR (*Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance*), Indeks resistensi insulin yang diperoleh dari kadar Glukosa Darah

Puasa(GDP) (mg/dl) kemudian dikali kadar insulin Puasa dibagi dengan Konstanta 405 pada penelitian hari ke-40.

Skala data: Rasio.

### **3.4 Populasi dan Sampel**

#### **3.4.1 Populasi Penelitian**

Populasi penelitian ini berupa hewan coba yaitu tikus putih galur wistar berkelamin jantan yang mengalami obesitas dan dipelihara di LPPT (Lembaga Penelitian dan Pengujian Terpadu) Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

#### **3.4.2 Sampel Penelitian**

Sampel yang digunakan yaitu hewan coba tikus putih galur wistar (*Rattus norvegicus*) jantan yang memiliki beberapa kriteria yaitu sebagai berikut.

##### **3.4.2.1 Kriteria Inklusi**

1. Tikus Wistar jantan berusia 2 minggu dengan berat badan 150-200 gram.
2. Sehat Penampilan Luar yaitu :
  - a. Gerak aktif.
  - b. Tidak terluka.
  - c. Tidak adanya kecacatan.
  - d. Makan dan minum dengan normal.

3. Belum pernah digunakan pada penelitian sebelumnya.
4. Tikus dengan indkes Lee > 0,3.
5. Tikus dengan DMT2 setelah injeksi Streptozocin.

#### 3.4.2.2 Kriteria Eksklusi

1. Tikus tampak sakit selama penelitian.
2. Tikus dengan obesitas dengan indeks Lee > 0,3 dan tidak mencapai status Diabetes Melitus Tipe 2 setelah dilakukan pemberian injeksi Streptozocin.

#### 3.4.2.3 Kriteria Drop Out

1. Tikus yang mati pada saat penelitian.

#### 3.4.3 Besar Sampel

Sesuai dengan ketentuan perhitungan besar sampel menggunakan rumus Frederer sebagai berikut:

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

$$(4-1) (n-1) \geq 15$$

$$3n-5 \geq 15$$

$$3n \geq 18$$

$$n \geq 6$$

t = Banyak kelompok perlakuan

n = Jumlah sampel minimal per kelompok

Setelah dilakukan perhitungan, dibutuhkan 6 sampel per kelompok sehingga minimal jumlah sampel yaitu sebanyak 24 ekor tikus.

#### **3.4.4 Cara Pengambilan Sampel**

Cara pengambilan sampel yaitu menggunakan metode *simple random sampling*. Sebelum dilakukan pembagian kelompok dan percobaan, tikus dilakukan adaptasi selama 1 minggu dan diberi pakan berupa diet standar untuk tikus dewasa dengan kandungan zat gizi makro disesuaikan dengan pakan *Teklad Global 14% Protein Rodent Maintenance Diet 2014S* dari Harlan<sup>TM</sup> Laboratories (2014) dan diberi minum secara *ad libitum*. Setelah tikus selesai diadaptasi, 24 ekor tikus dibagi ke dalam 4 kelompok secara acak, yaitu sebanyak 6 ekor tikus pada kelompok kontrol 1 (K0), sebanyak 6 tikus pada kelompok kontrol 2 (K1), sebanyak 6 tikus pada kelompok perlakuan 1 (P1) dan sebanyak 6 tikus pada kelompok perlakuan 2 (P2).

### **3.5 Instrumen dan Bahan Penelitian**

#### **3.5.1 Instrumen Penelitian**

1. Kandang tikus.
2. Spuit 1 cc dan jarum 27G.
3. Sarung tangan steril.
4. Kassa steril.

5. Doek steril.
6. Klem.
7. Timbangan berat badan.
8. Lampu operasi.
9. Linen steril.
10. Nampan kecil.
11. Set bedah *sleeve gastrectomy* dan omentoplasti pankreas.
12. Set alat pemeriksaan IL-1 $\beta$ , glukosa darah, dan juga insulin.
13. Benang jahit polyglycolic acid 4.0 dan polypropylene 3.0.

### **3.5.2 Bahan penelitian**

1. Tikus putih galur wistar berusia 6-8 minggu dengan berat 150-200 gram. sebanyak 24 ekor.
2. Makanan tikus.
3. Ketamin.
4. Infus NaCl 0,9 %
5. Povidone iodine.
6. Alkohol 70 %.
7. Injeksi Streptozotocin.

## 3.6 Cara Penelitian

### 3.6.1 Penggemukan Tikus

1. Semua tikus penelitian diberi diet tinggi kalori dan tinggi lemak dalam bentuk bubuk selama 25 hari yang terdiri dari *comfeed pars* 60 %, terigu 27,8 %, lemak babi 10 %, kolestrol 2 %, asam folat 0,2 %, dan fruktosa 2 ml/ekor/hari (Marques *et al.*, 2016).

### 3.6.2 Induksi Diabetes Melitus Tipe 2

1. Seluruh tikus diinjeksi Streptozocin (STZ) intravena (pembuluh darah ekor) dengan dosis 45 mg/kg BB selama 3 hari berturut – turut dengan spuit 1 cc, serta diberikan minum larutan sukrosa 30 % secara ad libitum.
2. Setelah disuntikkan streptozocin selama 3 hari, ukur glukosa darah puasa yang dilakukan 4 – 6 jam setelah tikus puasa (diambil dari pembuluh darah ekor / vena lateralis) dan timbang berat badan tikus dan diukur tingkat obesitas dengan indeks Lee untuk melihat dari kondisi obesitas. Tikus dinyatakan diabetes bila nilai *cut-off* HOMA-IR lebih dari sama dengan 2 selain itu kadar glukosa darah puasa >126 mg/dL (Firdaus, Marliyati and Roosita, 2016).



### 3.6.3 Teknik Isolasi MSCs dari *Umbilical Cord*

Seluruh proses dilakukan di dalam *biosafety cabinet class 2* untuk isolasi, dengan menggunakan peralatan yang steril dan dikerjakan dengan teknik sterilitas yang tinggi.

1. Tali pusar dikumpulkan dan disimpan dalam wadah steril yang mengandung NaCl 0,9%. Jika tidak diproses secara langsung, maka simpanlah pada suhu 4°C sampai proses isolasi (12 – 24 jam). Jika segera dilakukan isolasi pada saat pengambilan tali pusar, maka tidak perlu disimpan pada suhu 4°C.
2. Dengan menggunakan pinset, letakkan tali pusar ke petri dish, cuci tali pusar sampai bersih dengan PBS.
3. Potong tali pusar dengan pisau steril menjadi 3-5 cm.
4. Buang pembuluh darah yang ada pada potongan tali pusar.
5. Kemudian pindahkan potongan 3-5 cm umbilical ke cawan petri yang bersih.
6. Tiap potongan tali pusar dihancurkan dengan gunting mata tajam atau bisturi menjadi potongan-potongan kecil 1 mm.
7. Dengan menggunakan pinset, hasil potongan kecil tali pusar ditempatkan pada cawan kultur jaringan 60 mm dengan susunan titik-titik yang tersebar rata pada permukaan cawan kultur jaringan.

8. Bersihkan medium komplit ( $\alpha$ -MEM yang ditambahkan dengan *fungizon*, *penstrep*, dan *Fetal Bovine Serum* (FBS)) sebanyak 2-3 ml.
9. Inkubasi dalam *incubator* dengan suhu 37°C dan 5% CO<sub>2</sub>.
10. Amati tiap 24 jam, untuk melihat ada sel yang keluar dari *spot* penanaman *explan* (kira-kira 14 hari akan muncul sel dari *explan*).
11. Ganti medium tiap 24-72 jam (2-3 hari) sekali dengan cara membuang separuh medium dengan menggunakan *micropipette* diganti dengan *fresh* medium komplit sebanyak yang dibuang.
12. Medium komplit ditambahkan menjadi 5 ml setelah sel muncul dari *explan*.
13. Setelah 24-72 jam (2-3 hari) dari munculnya sel *explan*, sel yang mengapung dipindahkan ke cawan petri jaringan yang baru.
14. Ambil semua medium dan masukkan ke *conical tube* 15 ml.
15. Sentrifugasi 2000 rpm selama 10 menit.
16. Buang *supernatant*.
17. Resuspensi pellet dengan medium komplit.

#### 3.6.4 Kultur Sel Punca

1. Tanam ke cawan petri jaringan.
2. Inkubasi 37°C dan 5% CO<sub>2</sub>.
3. Ganti setengah medium tiap 2-3 hari sekali sampai sel konfluens 80 %.

#### 3.6.5 Proses Pewarnaan Sel

1. Pewarnaan sel dilakukan menggunakan panen sel ketiga yang dipindahkan ke *coverslip*.
2. Bersihkan wadah medium dengan menggunakan PBS (*Phospat Buffer Saline*) 1 ml dan tripsin 1 ml untuk memisahkan medium dengan sel.
3. Inkubasi pada suhu 37°C selama 3 menit.
4. Lihat dan amati menggunakan mikroskop untuk memastikan sel sudah lepas.
5. Jika sudah lepas, ambil tripsin dan PBS menggunakan micropipette.
6. Kemudian ganti dengan medium komplet.

#### 3.6.6 Proses Perhitungan Sel

1. Siapkan 10µl sel dan dimasukkan ke *cryotube*.
2. Menambahkan triptofan blue 90µl ke dalam *cryotube*.

3. Pipetkan 10 $\mu$ L di bilik hitung yang sudah ditutup dengan *deck glass*.
4. Lihat dengan menggunakan mikroskop inverted pada 4 bilik hitung.
5. Hitung jumlah sel dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\frac{\sum n}{4} \times 10^4 \times \text{Pengenceran}$$

### 3.6.7 Operasi Sleeve Gastrectomy

1. Tikus dipuaskan selama 10 jam sebelum dilakukan operasi.
2. Dilakukan injeksi ketamin dengan dosis 0,5 mg/kg BB secara intramuscular.
3. Bulu bagian perut dibersihkan dengan menggunakan pencukur rambut sampai tampak kulit tikus.
4. Dilakukan aseptis dan antisepsis daerah operasi.
5. Dilakukan insisi transversal subcosta sinistra mulai dari *processus xyphoideus* sampai ke lateral abdomen.
6. Perdalam lapis demi lapis cutis, subcutis, musculus sampai peritoneum dan cavum intraperitoneal.
7. Identifikasi gaster, lakukan parsial gastrectomi sepanjang *curvatura mayor* dengan klem terlebih dahulu untuk meminimalisir perdarahan.

8. Jahit gaster dengan *polyglycolic acid* 4.0.
9. Bersihkan cavum abdomen dengan NaCl 0,9 %.
10. Jahit luka operasi dengan *polypropilene* 3.0.

### **3.6.8 Operasi Omentoplasti pada Pankreas**

1. Sebelum dilakukan operasi tikus dipuasakan selama 10 jam.
2. Dilakukan injeksi ketamin dengan dosis 0,5 mg/kg BB secara intramuscular.
3. Bulu bagian perut dibersihkan dengan menggunakan pencukur rambut sampai tampak kulit tikus.
4. Dilakukan asepsis dan antisepsis daerah operasi.
5. Dilakukan insisi *transversal subcosta sinistra* mulai dari *processus xyphoideus* sampai ke lateral abdomen.
6. Perdalam lapis demi lapis cutis, subcutis, musculus sampai peritoneum dan cavum intraperitoneal.
7. Identifikasi omentum dan lakukan penjahitan omentum ke pankreas dengan *polyglycolic acid* 4.0.
8. Bersihkan cavum abdomen dengan NaCl 0,9 %.
9. Jahit luka operasi dengan *polypropilene* 3.0.

### **3.6.9 Operasi Sleeve Gastrectomy dan Injeksi MSCs**

1. Sebelum dilakukan operasi tikus dipuasakan selama 10 jam.

2. Injeksi ketamin dengan dosis 0,5 mg/kg BB secara intramuscular pada tikus.
3. Bulu bagian perut dibersihkan dengan menggunakan pencukur rambut sampai tampak kulit tikus.
4. Dilakukan asepsis dan antisepsis daerah operasi.
5. Dilakukan insisi *transversal subcosta sinistra* mulai dari processus xyphoideus sampai ke lateral abdomen.
6. Perdalam lapis demi lapis cutis, subcutis, musculus sampai peritoneum dan cavum intraperitoneal.
7. Identifikasi gaster, lakukan parsial gastrectomi sepanjang *curvatura mayor* dengan klem terlebih dahulu untuk meminimalisir perdarahan.
8. Jahit gaster dengan polyg licolic acid 4.0.
9. Bersihkan *cavum abdomen* dengan NaCl 0,9 %.
10. Jahit luka operasi dengan polypropilene 3.0.
11. Injeksi *Mesenchymal Stem Cells* dengan dosis 1 x 10<sup>6</sup> sel secara intraperitoneal.

#### **3.6.10 Prosedur Perawatan Pasca Operasi**

1. Setelah dilakukan operasi taruh tikus pada kandang hangat dan tutupi dengan selimut untuk mencegah hipotermia.

2. Ganti balut luka operasi 3 hari dan bersihkan dengan NaCl dan berikan gentamycin salep.

### 3.6.11 Cara Pengumpulan Data

#### 3.6.11.1 Pengukuran Kadar IL-1 $\beta$ Pasca Perlakuan dengan qRT-PCR

1. Lakukan ekstraksi RNA yang dimulai dengan tahap pengambilan sampel pankreas dari RNA later dan ditimbang, lalu dipotong hingga kecil dan halus serta dimasukkan ke tabung yang berisi 1 ml Tri Reagen (*Sigma-Aldrich, MO, USA*).
2. Selanjutnya potongan organ dihaluskan dengan *micropastle* dan ditambahkan 0,5 ml *Tri Reagen (Sigma-Aldrich, MO, USA)*, lalu diinkubasi pada suhu ruangan selama 5 menit.
3. Tambahkan 0,2 ml *chloroform* dan *divortex* hingga larutan menjadi putih susu, lalu inkubasi pada suhu ruang selama 2 – 3 menit dan dilanjut sentrifugasi selama 15 menit pada 15.000 rpm pada suhu 4°C hingga larutan tabung memiliki 3 lapisan.
4. Sebanyak 0,6 ml larutan pada lapisan paling atas dipindahkan ke tabung sentrifus baru dan ditambah isopropanolol dengan volume yang sama dari lapisan paling atas yang diambil.

5. Tabung *ependorf* digoyangkan hingga muncul benang-benang putih dan disentrifugasi selama 10 menit pada 15.000 rpm pada suhu 4°C.
6. Buang supernatan hingga terlihat pelet berwarna putih di dasar tabung.
7. Setelah kering, tambah 100 ml etanol 70% dalam larutan DEPC (Diethyl pyrocarbonat), lalu bolak-balikkan berulang kali dan disentrifugasi kembali pada 15.000 rpm selama 5 menit pada suhu 4°C.
8. Supernatan dibuang dan ditambahkan DEPC sebanyak 30-50 µL. Campuran diinkubasi selama 10 menit pada suhu 55°C, lalu didapatkan total RNA solution dan disimpan pada suhu -80°C.
9. RNA dikuantifikasi dengan *fluorometer Quantus* (Promega, Madison, WI, USA) dengan cara membuat *TE buffer* 1x dengan menambahkan 1ml 20X TE buffer dengan 19 ml *Nuclease Free Water, Mix* dengan *vorteks/spindown* dan kemudian disimpan pada suhu ruang.
10. Siapkan larutan kerja dengan *High standard calibration* (10 – 500 ng/ul) dan *Low standard calibration* (0,1 – 10 ng/ul). Pada standar tinggi ditambahkan 10µl Quantifluor RNA dye



dengan 3990  $\mu$ l 1X TE *buffer*, *mix* dengan *vorteks/spindown*, sedangkan standar rendah ditambahkan 2 $\mu$ l Quantifluor RNA dye dengan 3998  $\mu$ l 1X TE *buffer*, *mix* dengan *vorteks/spindown*, dan simpan di es/suhu  $-20^{\circ}\text{C}$  untuk penyimpanan jangka panjang. Selain itu juga disiapkan blank dengan menambahkan 200  $\mu$ l larutan kerja Quantifluor RNA dye ke dalam 0,5 ml Tube PCR.

11. Siapkan sampel *standard* RNA tinggi dengan menambahkan 5 $\mu$ l RNA *standard* dengan 200  $\mu$ l larutan Quantifluor RNA dalam 0,5 ml *Tube PCR*, *mix* dengan *vortex*, inkubasi dalam keadaan gelap selama 5 menit, dan ukur nilai standar.
12. Untuk low standard calibration, buat 10 ng standard dengan mengencerkan 10  $\mu$ l RNA standard dengan 990  $\mu$ l 1X TE Buffer, *mix* dengan *vortex*, ambil 10  $\mu$ l dari larutan RNA diatas dan tambah dengan 200  $\mu$ l Quantifluor RNA dye dalam 0,5 ml tube, *mix* dengan *vortex*, inkubasi dalam keadaan gelap selama 5 menit, ukur nilai standar.
13. Pengukuran sampel RNA dilakukan dengan menambahkan 1-20  $\mu$ l sampel RNA dalam 200  $\mu$ l Quantifluor RNA dye dalam 0,5 ml *PCR tube mix* dengan *vortex*, inkubasi dalam

keadaan gelap selama 5 menit ukur konsentrasi sampel. Hasil kuantifikasi dihitung untuk dijadikan 3000 ng.

14. Sintesis cDNA dengan cara menambahkan reagen RNA template/sampel, *Random nonamers* -or- *3' Antisense specific primer provided by user*, *Oligo (dT) 23 primer*, *Deoxynucleotide mix* (dTNP), dan *water PCR reagent/nuclease free water/sterile ddH<sub>2</sub>O* ke dalam tabung mikrosentrifuge 200/500  $\mu$ L.

15. Resuspensi perlahan dan sentrifugasi singkat dengan spinner, lalu masukkan tube ke *thermal cycler* (PCR) dan inkubasi dengan suhu 70°C selama 10 menit. Lalu ambil tube, taruh pada *freezing block* dan tambahkan beberapa komponen seperti *10X buffer for eAMV-RT*, *RNase inhibitor*, *enhanced avian RT*, dan *water PCR reagent/nuclease free water/sterile ddH<sub>2</sub>O*.

16. Kemudian masukkan *tube* ke *thermal cycler* (PCR) dan inkubasi pada suhu 45-50°C selama 30 menit. Keluarkan *tube* dan sampel siap dianalisis atau disimpan pada suhu -20°C.

17. Mengevaluasi ekspresi kadar IL-1 $\beta$  menggunakan *real-time polymerase chain reaction* (qRT-PCR) dengan Kappa SYBR

Fast Master Mix 2x (KAPA Biosystem, KK4600, Massachusetts USA).

16. Buatlah campuran dari 2  $\mu\text{L}$  *cDNA sampel*, 10  $\mu\text{L}$  *SYBR Fast master mix universal*, primer *forward* dan *reverse* masing-masing 0,6  $\mu\text{L}$ , dan 6,8  $\mu\text{L}$  *PCR water* atau buatlah sampai volume total sebanyak 20  $\mu\text{L}$ .

17. Campuran tersebut dimasukkan ke dalam mesin qPCR *Illumina's Eco Real-Time PCR System* dengan program amplifikasi 40 siklus, yaitu:

- i. Denaturasi awal pada suhu 95°C selama 5 menit.
- ii. Denaturasi pada suhu 95°C selama 1 menit.
- iii. Annealing disesuaikan dengan gen target selama 1 menit.
- iv. Elongasi pada suhu 72°C selama 1 menit. Sinyal *fluorescence* diukur selama amplifikasi dan hasil diperoleh berupa nilai *cycle of threshold (CT)* pada setiap sampel yang diperiksa.

18. Hasil dari pemeriksaan qRT-PCR berupa *cycle of threshold (CT)* yang merupakan jumlah *siklus* saat *fluorescence* dari sampel melampaui *background* dari *fluorescence* (telah terjadi amplifikasi melampaui ambang batas).

19. Ekspresi relatif mRNA dihitung menggunakan rumus berikut.

$$2^{-\Delta\Delta CT}. \Delta\Delta CT = (CT \text{ gen sampel yang diperiksa} - CT \text{ housekeeping gen sampel}) - (CT \text{ gen yang diperiksa kalibrator} - CT \text{ housekeeping gen kalibrator}).$$

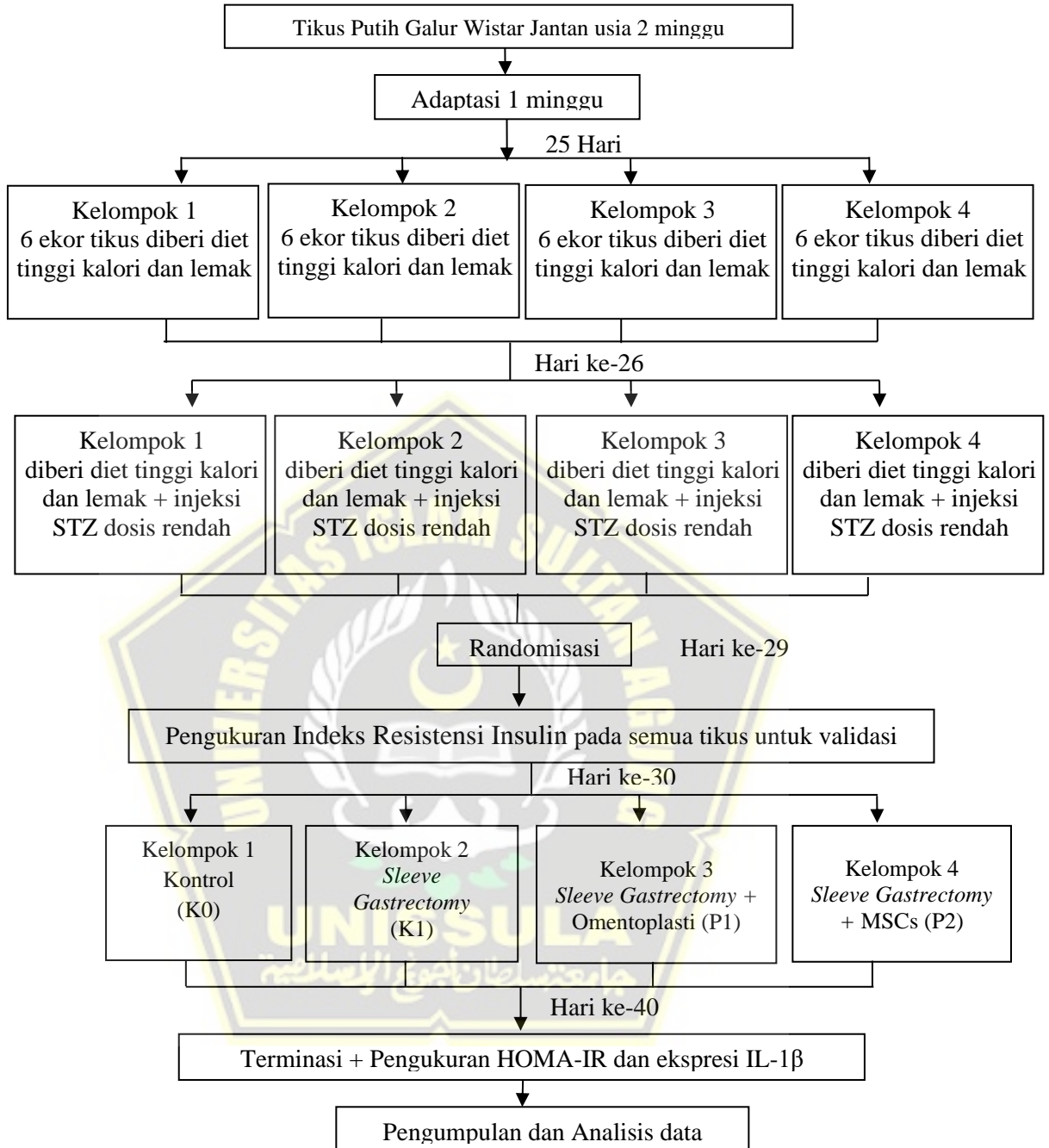
20. Hasil yang didapatkan pada pemeriksaan ini yaitu dalam satuan *fold change*.

### 3.6.11.2 Pengukuran Kadar Glukosa dan Indeks Resistensi Insulin Pasca Perlakuan (HOMA-IR)

1. Mengukur kadar glukosa darah puasa dan insulin serum yang dengan *kit* glukosa dan insulin yang diambil dari pembuluh darah ekor/vena lateralis pada tikus.
2. Prosedur kerja *kit* glukosa dan insulin dilakukan mengikuti standar yang sudah disiapkan pada instruksi yang tersedia di dalam *kit*.
3. Hitung data dengan memasukkannya pada rumus HOMA-IR.

$$\text{HOMA-IR} = \frac{\text{Gula darah puasa } \left(\frac{\text{mg}}{\text{dl}}\right) \times \text{Insulin puasa } \left(\frac{\mu\text{U}}{\text{ml}}\right)}{405}$$

### 3.7 Alur Penelitian



**Gambar 3 2 Alur Penelitian**

### **3.8 Tempat dan Waktu Penelitian**

#### **3.8.1 Tempat Penelitian**

Perawatan, perlakuan, dan tindakan pembedahan terhadap hewan coba serta pengukuran kadar glukosa dan Indeks resistensi insulin pasca perlakuan Indeks Resistensi Insulin dilakukan di Laboratorium Pangan dan Gizi PAU UGM Yogyakarta. Pemeriksaan kadar IL-1  $\beta$  dilakukan di Laboratorium *Stem Cell and Cancer Research* (SCCR), Gedung IBL Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

#### **3.8.2 Waktu Penelitian**

Penelitian ini akan dilakukan pada bulan September – November 2021. Dengan pemeliharaan hewan percobaan.

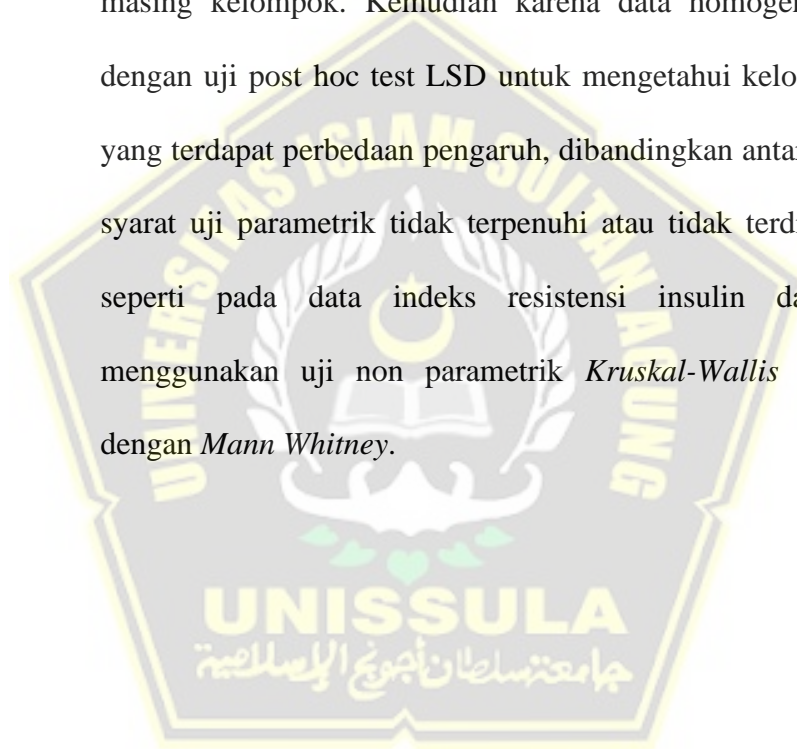
### **3.9 Analisis Hasil**

Analisis data hasil penelitian yang sudah terkumpul akan dilakukan olah data menggunakan program komputer *Statistical Product and Service Solutions* (SPSS) Ver. 20.0 for Windows. Analisis data meliputi analisis deskriptif dan menggunakan uji hipotesis.

Untuk analisis deskriptif tikus diukur berat badan dan panjang nasonalnya serta diukur dengan indeks Lee untuk melihat dari kondisi

obesitas. Tikus dinyatakan diabetes bila nilai *cut-off* HOMA-IR lebih dari sama dengan 2 selain itu kadar glukosa darah puasa  $>126$  mg/dL.

Untuk membuktikan hipotesis pada penelitian ini menggunakan uji parametrik dan non parametrik. Untuk kadar IL-1  $\beta$  menggunakan uji normalitas data sebagai syarat uji parametri menggunakan uji normalitas *Shapiro-Wilk*. Jika data terdistribusi normal, kadar IL-1  $\beta$  menggunakan uji *One Way Anova* antar masing-masing kelompok. Kemudian karena data homogen maka dilanjutkan dengan uji post hoc test LSD untuk mengetahui kelompok mana saja yang terdapat perbedaan pengaruh, dibandingkan antar kelompok. Jika syarat uji parametrik tidak terpenuhi atau tidak terdistribusi normal, seperti pada data indeks resistensi insulin data akan diuji menggunakan uji non parametrik *Kruskal-Wallis* dan dilanjutkan dengan *Mann Whitney*.



## **BAB IV**

### **HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN**

#### **4.1. Hasil Penelitian**

Penelitian “Pengaruh Omentoplasti dan MSCs Terhadap Kadar IL-1 $\beta$ , dan Indeks Resistensi Insulin” yang telah dilakukan di Laboratorium Pangan dan Gizi PAU UGM Yogyakarta dan di Laboratorium *Stem Cell and Cancer Research (SCCR)* Gedung IBL Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang. Penelitian ini dilakukan selama 47 hari menggunakan 24 tikus jantan galur wistar obesitas berusia 2 minggu yang diadaptasi selama seminggu. Kemudian, diberi diet tinggi lemak, kalori, dan injeksi STZ selama 3 hari berturut-turut hingga hari ke-28. Satu tikus diukur berat badan dan panjang naso-anal pada hari ke-29 kemudian untuk hasilnya dihitung dengan rumus indeks Lee untuk konfirmasi obesitas dan tikus diambil sampel darah untuk dilakukan pemeriksaan tikus dibagi menjadi 4 kelompok.

Setelah itu tikus diterminasi dan data kadar IL-1 $\beta$  didapatkan dari organ pankreas tikus kemudian potongan organ dihaluskan dan diberi larutan yang sesuai dengan prosedur qRT-PCR. Selain itu dilakukan pengambilan sampel darah vena orbita tikus kemudian diukur parameter kadar glukosa puasa (GDP) dan kadar insulin puasa kemudian dimasukkan kedalam rumus HOMA-IR untuk mendapatkan nilai indeks resistensi insulin kemudian dilakukan analisis kerja menggunakan program SPSS.



## 4.1.1 Analisis Deskriptif

### 4.1.1.1 Konfirmasi Tikus

Semua tikus diukur berat badan dan panjang nasonalnya serta diukur dengan indeks Lee untuk melihat dari kondisi obesitas pada hari ke-29. Tikus diambil sampel darah vena orbita tikus kemudian diukur parameter kadar glukosa puasa (GDP) dan kadar insulin puasa kemudian dimasukan kedalam rumus HOMA-IR. Tikus terkonfirmasi obesitas dan DMT2 dengan hasil sebagai berikut.

Tabel 4.1 Hasil Konfirmasi Kondisi Obesitas dan DMT2

Kondisi	Parameter	Hasil
Obesitas	Berat Badan (gram)	260
	Panjang (cm)	19,75
	Indeks Lee (>300)	323,16
DM T2	GDP (mg/dl)	259
	Insulin (U/ml)	132,79
	Nilai <i>Cut-off</i> HOMA-IR	84,92

Terlihat pada tabel tikus penelitian terkonfirmasi obesitas pada indeks Lee memiliki nilai >300. Pada nilai *cut-off* HOMA-IR didapatkan 84,92 yang bahwa tikus dalam keadaan DMT2 karena melebihi nilai *cut-off* yaitu  $\geq 2$  (Lee *et al.*, 2016).

### 4.1.1.2 Deskriptif Data

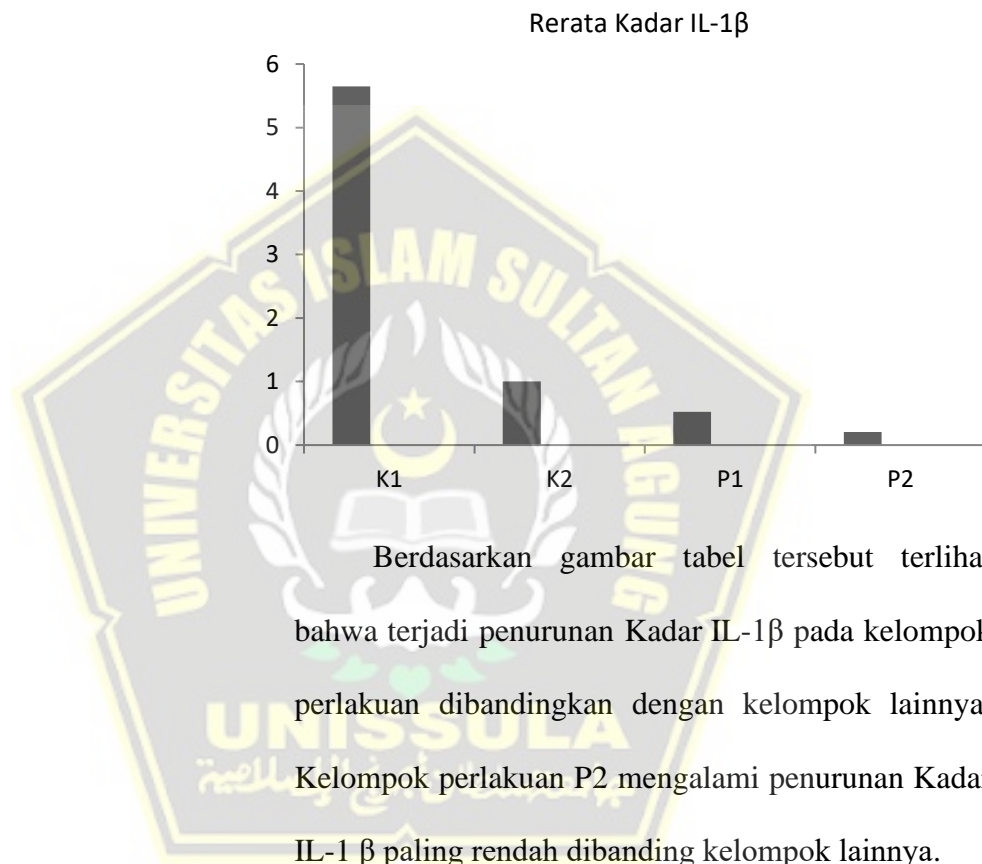
#### 4.1.1.1.1 Kadar IL-1 $\beta$

Pada masing-masing kelompok didapatkan data rerata Kadar IL-1 $\beta$  seperti pada tabel dan grafik berikut.

Tabel 4.2 Hasil Rerata dan Standart Deviasi Kadar IL-1  $\beta$

	Rerata $\pm$ SD	Median
K1	5,65 $\pm$ 2,76	5,240
K2	1,004 $\pm$ 0,04	1,004
P1	0,526 $\pm$ 0,35	0,506
P2	0,208 $\pm$ 0,22	0,137

Gambar 4.1 Rerata Kadar IL-1 $\beta$



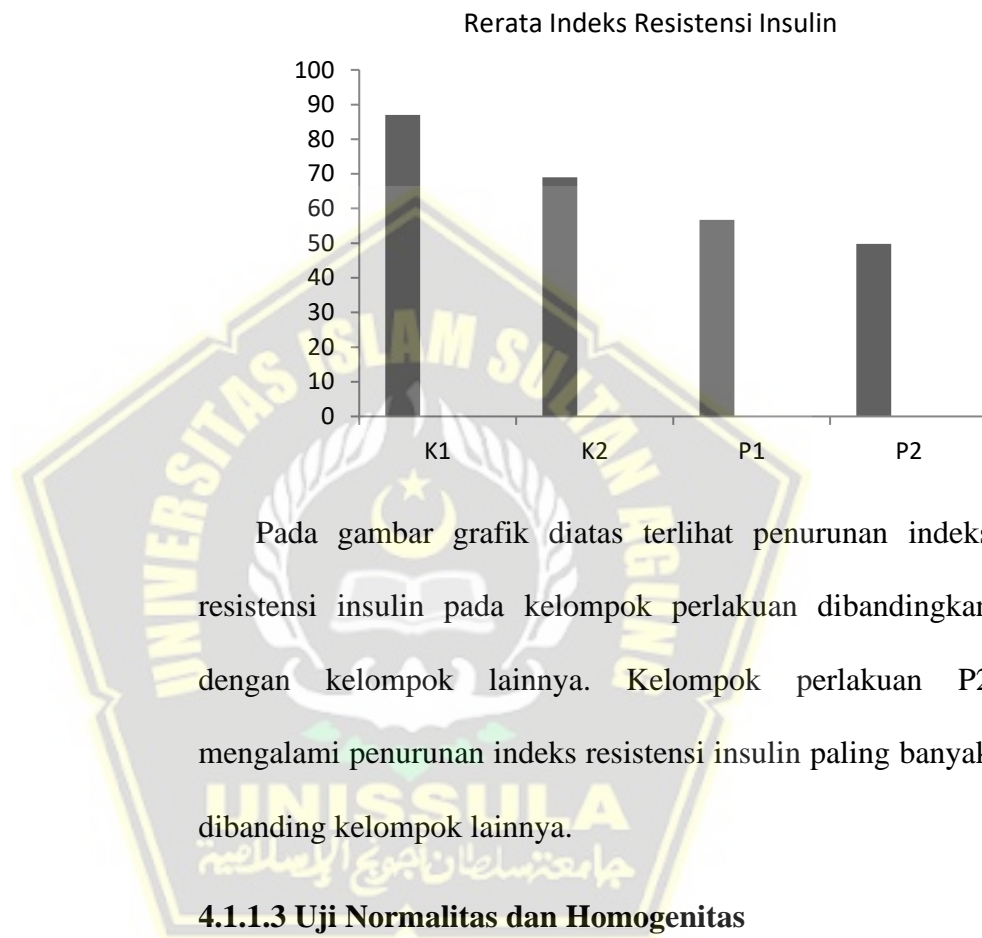
#### 4.1.1.1.2 Indeks Resistensi Insulin

Pada setiap kelompok didapatkan data rerata Indeks Resistensi Insulin seperti pada tabel dan grafik berikut.

Tabel 4.3 Hasil Rerata Indeks Resistensi Insulin

	Rerata ± SD	Median
K1	87,01 ± 0,44	87,07
K2	69,01 ± 2,05	68,13
P1	56,76 ± 6,40	54,57
P2	49,82 ± 1,07	49,72

Gambar 4.2 Rerata Indeks Resistensi Insulin



#### 4.1.1.3 Uji Normalitas dan Homogenitas

##### 4.1.1.3.1 Kadar IL-1 $\beta$

Selanjutnya akan dilakukan analisis dengan data yang akan didapatkan menggunakan uji normalitas *Shapiro-Wilk*. Berikut adalah hasil uji normalitas kadar IL-1 $\beta$ .

Tabel 4.4 Hasil Uji Normalitas Kadar IL-1 $\beta$

	Kelompok	Uji Normalitas
		Nilai <i>P</i>
Kadar IL-1 $\beta$	K1	0,302*
	K2	0,941*
	P1	0,711*
	P2	0,303*

Berdasarkan tabel diatas dapat dilihat bahwa kadar IL-1 $\beta$  pada semua kelompok memiliki signifikasi nilai  $P > 0,05$ . Sehingga dapat disimpulkan bahwa data kadar IL-1 $\beta$  berdistribusi normal. Kemudian hasil uji homogenitas kadar IL-1 $\beta$  dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 4.5 Hasil Uji Homogenitas Kadar IL-1 $\beta$

	Kelompok	Uji Homogenitas
		Nilai <i>P</i>
Kadar IL-1 $\beta$	K1	0,149*
	K2	
	P1	
	P2	

Berdasarkan tabel tersebut dapat dilihat bahwa data kadar IL-1 $\beta$  bersifat homogen yang ditunjukkan dengan signifikasi nilai  $P > 0,05$ . Dari hasil tersebut, maka data kadar IL-1 $\beta$  dapat dilanjutkan dengan uji parametrik *One Way Anova* LSD.

#### 4.1.1.3.2 Indeks Resistensi Insulin

Dengan pemberlakuan yang sama dengan data

yang didapatkan menggunakan uji normalitas *Shapiro-Wilk*. Berikut adalah hasil Indeks Resistensi Insulin.

Tabel 4.6 Hasil Uji Normalitas Indeks Resistensi Insulin

	Kelompok	<u>Uji Normalitas</u>
		Nilai <i>P</i>
Indeks Resistensi Insulin	K1	0,651*
	K2	0,164*
	P1	0,001
	P2	0,896*

Berdasarkan tabel diatas dapat dilihat bahwa data indeks resistensi insulin pada kelompok P1 tidak berdistribusi normal karena memiliki signifikasi nilai  $P < 0,05$  sedangkan kelompok lainnya berdistribusi normal dengan nilai  $P > 0,05$ . Oleh karena itu, dilakukan transformasi data indeks resistensi insulin dengan Log 10. Hasil transformasi data dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 4.7 Hasil Uji Normalitas Indeks Resistensi Insulin Setelah Transformasi Data

	Kelompok	<u>Uji Normalitas</u>
		Nilai <i>P</i>
Indeks Resistensi Insulin	K1	0,655*
	K2	0,175*
	P1	0,002
	P2	0,885*

Setelah dilakukan transformasi pada data indeks resistensi insulin, hasil data pada kelompok P1 tetap tidak berdistribusi normal dengan nilai  $P=0,002$  ( $P>0,05$ ).

Tabel 4.8 Hasil Uji Homogenitas Indeks Resistensi Insulin.

	Kelompok	<u>Uji Homogenitas</u>
		Nilai $P$
Indeks Resistensi Insulin	K1	0,027
	K2	
	P1	
	P2	

Dari tabel diatas didapatkan hasil uji homogenitas data Indeks resistensi insulin tidak homogen karena signifikasi nilai  $P<0,05$ .

Dari analisis tersebut menunjukkan bahwa data indeks resistensi insulin tidak memenuhi syarat uji parametrik karena data tidak normal dan tidak homogen sehingga akan dilanjutkan dengan analisis uji non parametrik yaitu *Kruskal-Wallis* untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan pada keempat kelompok.

#### 4.1.2 Analisis Bivariat

##### 4.1.2.1 Kadar IL-1 $\beta$

Pada variabel kadar IL-1 $\beta$  dikarenakan data yang

didapatkan terdistribus normal dan homogen, maka dalam hal ini dapat diuji menggunakan uji parametrik *One Way Anova*.

Tabel 4.9 Hasil Uji beda Jumlah IL-1 $\beta$  dengan *One way Anova*.

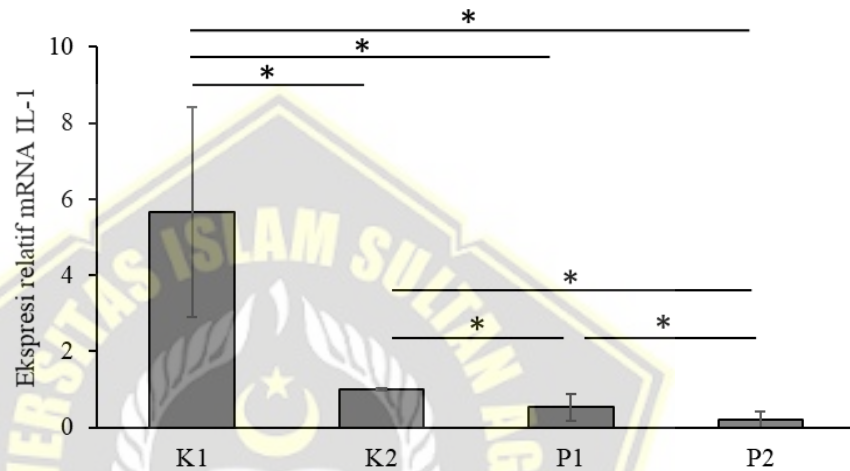
Kelompok	Mean $\pm$ SD	<i>P</i>
K1	5,65 $\pm$ 2,76	0,000*
K2	1,004 $\pm$ 0,04	
P1	0,526 $\pm$ 0,35	
P2	0,208 $\pm$ 0,22	

Dari hasil uji parametrik *One Way Anova* menunjukkan data yang signifikan pada kadar IL-1 $\beta$  yang berarti terdapat perbedaan antar kelompok ditunjukkan dengan nilai  $P = 0,000 (P < 0,05)$ .

Kemudian, dilanjutkan dengan uji post hoc LSD untuk mengetahui kelompok mana saja yang memiliki perbedaan signifikan. Pada variabel kadar IL-1 $\beta$  data yang didapatkan terdistribus normal dan homogen, maka dalam hal ini data tetap dapat diuji menggunakan uji parametric *One Way Anova* dengan pilihan uji post hoc LSD. Hasil post hoc LSD dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 4.10 Hasil Uji Post Hoc LSD Kadar IL-1 $\beta$  Pada Tiap Kelompok.

Kelompok		Nilai <i>P</i> Uji Post Hoc
K1	K2	0.000*
	P1	0.000*
	P2	0.000*
K2	P1	0.049*
	P2	0.030*
P1	P2	0.042*



Gambar 4 .3Hasil Uji Post Hoc LSD Kadar IL-1 $\beta$  Pada Tiap Kelompok.

Berdasarkan tabel tersebut hasil uji beda Post Hoc LSD menunjukkan nilai *P* yang signifikan. Sehingga didapatkan perbedaan yang bermakna pada semua kelompok nilai *P* nya ( $P < 0,05$ ).

#### 4.1.2.2 Indeks Resistensi Insulin

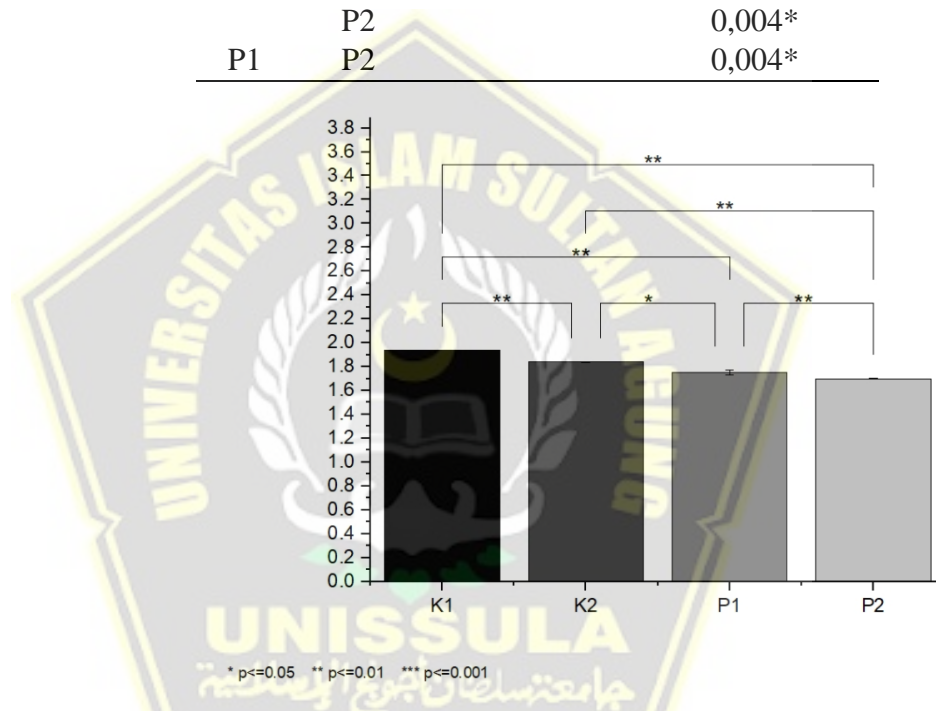
Data indeks resistensi insulin yang tidak normal dan tidak homogen dilanjutkan dengan uji non parametrik *Kruskal-Wallis* kemudian dilanjut dengan uji *Mann*



*Whitney U* untuk mengetahui perbedaan signifikan antar kelompok. Hasil analisis data dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 4.11 Hasil Uji Kruskal Wallis dan Uji Mann Whitney U Data Indeks Resistensi Insulin

Kelompok		Uji <i>Kruskal Wallis</i>	Uji <i>Mann Whitney U</i>
		Nilai <i>P</i>	Nilai <i>P</i>
K1	K2	0,000*	0,004*
	P1		0,004*
	P2		0,004*
K2	P1		0,025*
	P2		0,004*
P1	P2		0,004*



Gambar 4.4 Hasil Uji *Kruskal-Wallis* dan Uji *Mann Whitney U* Data Indeks Resistensi Insulin.

Dari hasil tersebut, pada uji *Kruskal-Wallis* terdapat nilai  $P = 0,000$  ( $P < 0,05$ ) pada keseluruhan kelompok. Sehingga analisis data tersebut menunjukkan adanya perbedaan indeks resistensi insulin pada semua kelompok.

Selanjutnya dilakukan uji dengan *Mann Whitney U* dan didapatkan hasil yaitu  $P < 0,05$  pada semua kelompok. Dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna pada semua kelompok.

#### 4.2. Pembahasan

Penelitian ini memiliki tujuan mengetahui pengaruh omentoplasti pankreas dan MSCs terhadap kadar IL-1 $\beta$  dan Indeks resistensi insulin pada tikus obesitas yang dilakukan *sleeve gastrectomy*. Penelitian ini menggunakan model hewan coba tikus putih Wistar (*Rattus norvegicus*) jantan berusia 2 minggu sejumlah 24 ekor yang dibagi menjadi 4 kelompok dengan masing-masing 1 kelompok terdiri dari 6 ekor. Penelitian dilakukan selama 40 hari. Tikus diadaptasi dan diberikan diit sesuai dengan penelitian sebelumnya. Pada penelitian tikus diberi perlakuan dan dibagi menjadi 4 kelompok, yaitu kelompok 1 diberi perlakuan laparotomi/ Sham (K1), kelompok 2 dilakukan *sleeve gastrectomy* (K2), kelompok 3 dilakukan *sleeve gastrectomy* post tindakan omentoplasti (P1) serta kelompok 4 dilakukan *sleeve gastrectomy* post injeksi MSCs (P2).

Pada penelitian ini didapatkan penurunan kadar IL-1 $\beta$ . Obesitas terjadi akibat peningkatan akumulasi asam lemak yang menyebabkan terjadi proses inflamasi. Proses inflamasi tidak terlepas dari adanya peran sitokin. Salah satu sitokin pro-inflamasi yang sangat berperan dalam proses inflamasi yang menyebabkan resistensi insulin adalah IL-1 $\beta$  (McArdle et al., 2013). Urutan

pertama pada kelompok sitokin yang bekerja dalam respon imun adalah IL-1 $\beta$ , dimana IL-1  $\beta$  memiliki peran penting dalam proses memperkuat pengaktifan Th oleh sel penyaji antigen (*Antigen Presenting Cell* = APC). (Di Domenico *et al.*, 2019). Sitokin pro-inflamasi memiliki peran dalam menginduksi terjadinya resistensi insulin. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya bahwa terjadi perbaikan resistensi insulin pada tikus dengan DMT2 yang diberi terapi *Adipose tissue-derived Stem Cells* (ASCS) (Wang *et al.*, 2018).

Peningkatan lipid adiposit pada pasien obesitas dapat menurunkan sensitivitas insulin dengan sel targetnya dan menyebabkan resistensi insulin (Qi *et al.*, 2019). Dampaknya pada hepar adalah insulin tidak mampu menekan glukoneogenesis dan bermanifestasi sebagai hiperglikemia. Selain itu, dampak pada jaringan adiposa adalah terdapat gangguan transport glukosa dan inhibisi lipolisis (Peng *et al.*, 2018).

Kadar lemak yang tinggi pada obesitas dapat membuat tubuh berada dalam kondisi inflamasi kronik. Hal tersebut dikarenakan tingginya kadar sitokin pro inflamasi seperti kadar IL-1 $\beta$  yang disekresi oleh adipokin. Kadar IL-1 $\beta$  juga dapat mengaktifasi jalur NF-kB (*Nuclear Factor-kappaB*) dan JNK (*C-Jun Terminal Kinase*). Tingginya aktivasi JNK akan menurunkan sensitivitas insulin terhadap reseptornya dan membuat tubuh berada dalam kondisi DMT2 (Tateya *et al.*, 2013). Untuk mengatasi kondisi obesitas dengan DMT2 dapat digunakan suatu metode operasi *bariatric*

*sleeve gastrectomy*.

Namun pada penelitian Hagman et al. (2017), kadar sitokin khususnya sitokin pro-inflamasi IL-1 $\beta$  tidak mengalami penurunan pasca satu bulan maupun pasca 12 bulan operasi *bariatric* sehingga dalam hal ini diperlukan suatu terapi post operasi sebagai terapi adjuvant untuk dapat menurunkan kadar IL-1 $\beta$  (Hagman et al., 2017). Terapi post operasi yang dipilih pada penelitian ini adalah omentoplasti dan MSCs.

Hasil pada penelitian ini membuktikan teori bahwa MSCs dapat mengatasi inflamasi dengan menekan proses inflamasi dibanding omentoplasti dan sesuai pada penelitian sebelumnya setelah dilakukan injeksi MSCs terjadi penurunan mediator pro-inflamasi seperti IL-1 $\beta$  (Hu et al., 2015).

Hasil juga menunjukkan adanya penurunan kadar IL-1 $\beta$  pada kelompok perlakuan omentoplasti post tindakan *sleeve gastrectomy* sehingga sesuai dengan teori bahwa omentum memiliki sel stroma omentum yang dapat menurunkan sitokin pro-inflamasi seperti IL-1 $\beta$  dan terdapat struktur khas yang bernama milky spots yang dapat meningkatkan respon anti-inflamasi sehingga menurunkan terjadinya inflamasi (Meza-Perez dan Randall, 2017). *Milky spot* terdiri dari sel makrofag, limfosit T, limfosit B, sel stroma, dan *fibroblast*. Berdasarkan penelitian sebelumnya membuktikan bahwa *limfosit B1* akan terakumulasi di *milky spot* pada omentum dan mensekresikan sitokin anti-inflamasi yaitu IL-10 yang

tinggi (Liu et al., 2021; Ramona SigitPrakoeswa, 2020). Kadar IL-10 yang tinggi dapat menggeser polarisasi dan sitokin pro-inflamasi yang dihasilkan juga menurun (Uchibori et al., 2017).

Selain itu, omentoplasti yang dilakukan pada tikus pasca *sleeve gastrectomy* berpengaruh terhadap penurunan nilai Indeks resistensi insulin. Penurunan faktor inflamasi oleh omentum dan perbaikan sel yang dapat dilakukan omentum dapat menurunkan nilai Indeks resistensi insulin, menyebabkan perbaikan resistensi insulin (Berman *et al.*, 2016) Omentum memiliki sifat imunologi salah satunya oleh VAT-Tregs yang akan mengekspresikan sitokin anti inflamasi seperti IL-10 dalam jumlah banyak sehingga dapat meringankan keadaan resistensi insulin (Meza-Perez and Rendall, 2017) Potensi diferensiasi MSCs bergantung pada usia pendonor, lamanya waktu kultur sel, jenis jaringan asal, dan densitas sel (Ullah, Subbarao and Rho, 2015). Penurunan nilai Indeks resistensi insulin berarti terdapat perbaikan resistensi insulin pada kelompok perlakuan. Sesuai dengan teori bahwa MSCs dapat memperbaiki kerusakan sel. Dalam kasus resistensi insulin, MSCs dapat memperbaiki kerusakan sel beta pankreas dan meningkatkan sensitivitas insulin terhadap reseptornya (Wang *et al.*, 2018).

Pada penelitian masih memiliki keterbatasan yaitu **Pertama** tidak dilakukannya pengujian terhadap kadar IL-10 sesudah dilakukan omentoplasti dan pemberian MSCs paska *sleeve gastrectomy* pada tikus. Sehingga nilai perbaikan inflamasi tidak terlihat secara berkala pada kadar IL-10. **Kedua** Pada tikus yang dilakukan omentoplasti dan MSCs paska *sleeve gastrectomy* tidak dilakukan adanya pemeriksaan histopatologi terhadap sel beta pankreas untuk melihat adanya perbaikan resistensi insulin. Sehingga perbaikan yang terlihat langsung di jaringan pada sel beta pankreas oleh MSCs dan omentoplasti tidak dapat dinilai.



## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 5.1 Kesimpulan

5.1.1 Kadar IL-1 $\beta$  mengalami penurunan pada kelompok pemberian MSCs pasca operasi *sleeve gastrectomy*, penurunan tersebut lebih rendah daripada kelompok perlakuan lainnya.

5.1.2 Indeks resistensi insulin mengalami penurunan pada kelompok pemberian MSCs pasca operasi *sleeve gastrectomy*, penurunan tersebut lebih rendah daripada kelompok perlakuan lainnya.

#### 5.2 Saran

5.2.1 Sebaiknya dilakukan pengujian terhadap kadar IL-10 setelah dilakukan omentoplasti dan pemberian MSCs pasca *sleeve gastrectomy* untuk mengetahui perbaikan inflamasi pada tikus yang dilakukan Omentoplasti dan diinjeksikan MSCs pasca prosedur *sleeve gastrectomy*.

5.2.2 Sebaiknya dilakukan pemeriksaan sel beta pankreas untuk mengetahui perbaikan indeks resistensi insulin pada tikus yang dilakukan Omentoplasti dan diinjeksikan MSCs pasca prosedur *sleeve gastrectomy*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Badan Litbang Kemenkes RI (2013) 'Riset Kesehatan Dasar (National Health Survey)', *Ministry of Health Republic of Indonesia*, (1), pp. 1–303. doi: 10.1007/s13398-014-0173-7.2.
- Badan Litbang Kemenkes RI (2019) 'Hasil Utama Riset Kesehatan Dasar', *Kementrian Kesehatan Republik Indonesia*, pp. 1–100. doi: 1 Desember 2013.
- Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan (2018) *RISKESDAS, Kementerian Kesehatan Republik Indonesia*.
- Biobaku, F. *et al.* (2020) 'Bariatric surgery: Remission of inflammation, cardiometabolic benefits, and common adverse effects', *Journal of the Endocrine Society*, 4(9), pp. 1–17. doi: 10.1210/jendso/bvaa049.
- Bray, G. A. *et al.* (2018) 'The Science of Obesity Management: An Endocrine Society Scientific Statement', *Endocrine Reviews*, 39(2), pp. 79–132. doi: 10.1210/er.2017-00253.
- Diabetes* (2020) *World Health Organization*.
- Di Domenico, M. *et al.* (2019) 'The Role of Oxidative Stress and Hormones in Controlling Obesity', *Frontiers in Endocrinology*, 10. doi: 10.3389/fendo.2019.00540.
- Ferrante, A. W. (2013) 'Obesity-induced inflammation: A metabolic dialogue in the language of inflammation', *Journal of Internal Medicine*, 262(4), pp. 408–414. doi: 10.1111/j.1365-2796.2007.01852.x.
- Firdaus, Marliyati, S. A. and Roosita, K. (2016) 'MODEL TIKUS DIABETES YANG DIINDUKSI STREPTOZOTOCIN- SUKROSA UNTUK PENDEKATAN PENELITIAN DIABETES Streptozotocin , Sucrose- Induce Diabetic Male Rats Model for Research', *Jurnal MKMI*, 12(1), pp. 29–34.
- Guyton and Hall, J. E. (2011) *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. 11th edn. Edited by R. Grulioiw and L. Stingelin. Amerika Serikat: Saunders Elsevier.
- Hagman, D. K. *et al.* (2017) 'The Short-term and Long-term Effects of Bariatric/Metabolic Surgery on Subcutaneous Adipose Tissue Inflammation in Humans', *HHS Public Access*, pp. 12–22. doi: 10.1016/j.metabol.2017.01.030.
- Hastuti, P. (2017) *Genetika Obesitas*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Kementrian Kesehatan RI (2017) 'Panduan Pelaksanaan Gerakan Nusantara Tekan Angka Obesitas (GENTAS)', p. 32.



- Kheirvari, M. *et al.* (2020) ‘The advantages and disadvantages of sleeve gastrectomy; clinical laboratory to bedside review’, *Heliyon*, 6(2), p. e03496. doi: 10.1016/j.heliyon.2020.e03496.
- Koca, T. T. (2017) ‘Does obesity cause chronic inflammation? The association between complete blood parameters with body mass index and fasting glucose’, *Pakistan Journal of Medical Sciences*, 33(1). doi: 10.12669/pjms.331.11532.
- Marques, C. *et al.* (2016) ‘High-fat diet-induced obesity Rat model: a comparison between Wistar and Sprague-Dawley Rat’, *Adipocyte*, 5(1), pp. 11–21. doi: 10.1080/21623945.2015.1061723.
- Masrul, M. (2018) ‘Epidemi obesitas dan dampaknya terhadap status kesehatan masyarakat serta sosial ekonomi bangsa’, *Majalah Kedokteran Andalas*, 41(3), p. 152. doi: 10.25077/mka.v41.i3.p152-162.2018.
- Maxson & Mitchell (2016) ‘Viruses exploit the tissue physiology of the host to spread in vivo’, *Physiology & behavior*, 176(1), pp. 139–148. doi: 10.1016/j.physbeh.2017.03.040.
- McArdle, M. A. *et al.* (2013) ‘Mechanisms of obesity-induced inflammation and insulin resistance: Insights into the emerging role of nutritional strategies’, *Frontiers in Endocrinology*, 4(MAY), pp. 1–23. doi: 10.3389/fendo.2013.00052.
- Mechanick, J. I. *et al.* (2019) ‘Clinical Practice Guidelines for the Perioperative Nutrition, Metabolic, and Nonsurgical Support of Patients Undergoing Bariatric Procedures - 2019 Update: Cosponsored By American Association of Clinical Endocrinologists/American College of Endocrinology, the Obesity Society, American Society for Metabolic & Bariatric Surgery, Obesity Medicine Association, and American Society of Anesthesiologists - Executive Summary’, *Endocrine practice : official journal of the American College of Endocrinology and the American Association of Clinical Endocrinologists*, 25(12), pp. 1346–1359. doi: 10.4158/GL-2019-0406.
- Meza-Perez, S. and Randall, T. D. (2017) ‘Immunological Functions of the Omentum’, *Trends in Immunology*, 38(7), pp. 526–536. doi: 10.1016/j.it.2017.03.002.
- Morton, J. M. (2020) *The ASMBS Textbook of Bariatric Surgery, The ASMBS Textbook of Bariatric Surgery*. doi: 10.1007/978-3-030-27021-6.
- Nguyen, N. T. *et al.* (2015) *The ASMBS Textbook of Bariatric Surgery Vol.1, The ASMBS Textbook of Bariatric Surgery*. doi: 10.1007/978-3-030-27021-6.
- Nguyen, N. T. *et al.* (2020) *The ASMBS Textbook of Bariatric Surgery, The ASMBS Textbook of Bariatric Surgery*. doi: 10.1007/978-3-030-27021-6.

- Di Nicola, V. (2019) ‘Omentum a powerful biological source in regenerative surgery’, *Regenerative Therapy*, 11, pp. 182–191. doi: 10.1016/j.reth.2019.07.008.
- O’Rourke, R. W. (2020) ‘The Pathophysiology of Obesity and Obesity-Related Disease’, in *The ASMBS Textbook of Bariatric Surgery*. Cham: Springer International Publishing, pp. 15–36. doi: 10.1007/978-3-030-27021-6\_2.
- Obesitas* (2018) *Kementerian Kesehatan Republik Indonesia*.
- Obesity and Overweight* (2020) *WHO*.
- Qi, Y. *et al.* (2019) ‘Applicability of adipose-derived mesenchymal stem cells in treatment of patients with type 2 diabetes’, *Stem Cell Research and Therapy*, 10(1), pp. 1–13. doi: 10.1186/s13287-019-1362-2.
- Rehman, K. *et al.* (2017) ‘Role of interleukin-6 in development of insulin resistance and type 2 diabetes mellitus’, *Critical Reviews in Eukaryotic Gene Expression*, 27(3), pp. 229–236. doi: 10.1615/CritRevEukaryotGeneExpr.2017019712.
- Rodrigues, K. F. *et al.* (2017) ‘IL-6, TNF- $\alpha$ , and IL-10 levels/ polymorphisms and their association with type 2 diabetes mellitus and obesity in Brazilian individuals’, *Archives of Endocrinology and Metabolism*, 61(5), pp. 438–446. doi: 10.1590/2359-39970000000254.
- Schwartz, M. W. *et al.* (2017) ‘Obesity Pathogenesis: An Endocrine Society Scientific Statement’, *Endocrine Reviews*, 38(4), pp. 267–296. doi: 10.1210/er.2017-00111.
- Shah, S. *et al.* (2012) ‘Cellular basis of tissue regeneration by omentum’, *PLoS ONE*, 7(6), pp. 1–11. doi: 10.1371/journal.pone.0038368.
- Sherwood, L. (2013) *Fisiologi Manusia : Dari Sel ke Sistem*. 8th edn. Edited by S. Alexander, A. Glubka, and L. Crosby. Kanada: Brooks/Cole Cengage Learning.
- Sherwood, L. (2018) *Fisiologi Manusia : Dari Sel ke Sistem*. 9th edn, *Penerbit Buku Kedokteran EGC*. 9th edn.
- Sudoyo, A. W. *et al.* (2009) *Ilmu Penyakit Dalam Jilid 3*.
- Thiriet, M. (2018) ‘Hyperlipidemias and Obesity.’, *Vasculopathies: Behavioral, Chemical, Environmental, and Genetic Factors*, pp. 331–548. doi: 10.1007/978-3-319-89315-0\_5.
- Ullah, I., Subbarao, R. B. and Rho, G. J. (2015) ‘Human mesenchymal stem cells - Current trends and future prospective’, *Bioscience Reports*, 35. doi: 10.1042/BSR20150025.