

**PENGARUH OMENTOPLASTI PANKREAS DAN MSCs TERHADAP
KADAR TNF- α DAN INDEKS RESISTENSI INSULIN**
**Studi Eksperimental pada Tikus Obesitas yang Dilakukan *Sleeve
Gastrectomy***

Skripsi

untuk memenuhi sebagian persyaratan
mencapai gelar sarjana kedokteran



Oleh:

Namira Latifah Sa'adah

30101800124

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG
SEMARANG**

2022

SKRIPSI

**PENGARUH OMENTOPLASTI PANKREAS DAN MSCs TERHADAP KADAR TNF- α
DAN INDEKS RESISTENSI INSULIN**

Studi Eksperimental pada Tikus Obesitas yang Dilakukan *Sleeve Gastrectomy*

Yang dipersiapkan dan disusun oleh
Namira Latifah Sa'adah
30101800124

Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji
pada tanggal, 31 Januari 2022
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

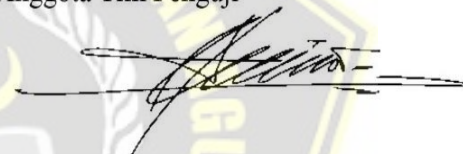
Susunan Tim Penguji

Pembimbing I



dr. R. Vito Mahendra E, M.Si.Med,Sp.B

Anggota Tim Penguji



Assoc Prof. Dr. dr. Agung Putra, M.Si.Med

Pembimbing II



dr. Arini Dewi Antari, M.Biomed



dr. Durrotul Djannah, Sp.S

Semarang, 31 Januari 2022

Fakultas Kedokteran

Universitas Islam Sultan Agung

Dekan,



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

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan dibawah ini,

Nama : Namira Latifah Sa'adah

NIM : 30101800124

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi berjudul :

**“PENGARUH OMENTOPLASTI PANKREAS DAN MSCs TERHADAP
KADAR TNF- α 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, Februari 2022
Yang menyatakan,



Namira Latifah Sa'adah

PRAKATA

Assalamualaikum Wr. Wb.

Dengan memanjatkan puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala limpahan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Skripsi ini yang berjudul “Pengaruh Omentoplasti Pankreas dan MSCs Terhadap Kadar TNF- α dan Indeks Resistensi Insulin Studi Eksperimental pada Tikus Obesitas yang Dilakukan *Sleeve Gastrectomy*” disusun untuk memenuhi persyaratan dalam mencapai gelar sarjana kedokteran di Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung.

Selesainya penyusunan skripsi ini tidak lepas dari dukungan dan bantuan berbagai pihak. Dalam kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih sebesar-besarnya kepada:

1. Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, S.H., Sp.KF., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
2. dr. R. Vito Mahendra Ekasaputra, Sp.B., M.Si.Med. dan dr. Arini Dewi Antari, M.Biomed selaku Dosen Pembimbing I dan Dosen Pembimbing II yang telah sabar dan penuh kesanggupan meluangkan waktu dan tenaga untuk memberikan bimbingan, saran dan dorongan sehingga penyusunan skripsi ini dapat selesai.
3. Assoc Prof. Dr. dr. Agung Putra, M.Si.Med dan dr. Durrotul Djannah, Sp.S selaku Dosen Penguji yang telah meluangkan waktu untuk menguji dan memberikan masukan dalam perbaikan skripsi ini kepada penulis

4. Orang tua saya Bapak Sartana dan Ibu Diah Triwulan Sari, serta saudari saya Rachma Aulia Satriatresnani yang telah memberikan kasih sayang, fasilitas, materi, dukungan dan doa yang tiada henti.
5. Mas Ariq, Mbak Nurul dan Mbak Syifa yang telah memberi ilmu dan bantuan dalam proses penyelesaian penelitian ini.
6. Fatma, Dery, Ibra, Gibran, Rara, Wulan, Risya, Sarah, Savira, Azmi, Dewi, Rania, Idy, Ghaita dan Naufal yang selalu memberikan semangat dan dukungan kepada penulis.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, penulis mengharapkan saran dan kritik. Akhir kata penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi masyarakat, civitas akademika FK UNISSULA dan menjadi salah satu sumbangan dunia ilmiah dan kedokteran.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Semarang, Januari 2022

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
SURAT PERNYATAAN	iii
PRAKATA.....	iv
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR SINGKATAN	ix
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
INTISARI	xv
BAB I.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.3.1 Tujuan Umum.....	3
1.3.2 Tujuan Khusus	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
1.4.1 Manfaat Teoritis.....	4
1.4.2 Manfaat Praktis	4
BAB II.....	6
2.1 TNF- α	6
2.2 Resistensi Insulin.....	7
2.3 <i>Sleeve Gastrectomy</i>	9
2.3.1 Prosedur Pembedahan	10
2.3.2 Indikasi dan Kontraindikasi Pembedahan.....	11
2.3.3 Efek Pembedahan.....	12
2.4 Omentoplasti.....	14
2.5 <i>Mesenchymal Stem Cells (MSCs)</i>	16

2.6 Pengaruh Omentoplasti dan MSCs terhadap TNF- α dan Indeks Resistensi Insulin pada Obesitas dengan <i>Sleeve Gastrectomy</i>	18
2.7 Kerangka Teori.....	21
2.8 Kerangka Konsep	21
2.9 Hipotesis.....	21
BAB III	22
3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian.....	22
3.2 Variabel Penelitian Dan Definisi Operasional	23
3.2.1 Variabel Penelitian.....	23
3.2.2 Definisi Operasional	23
3.3 Populasi dan Sampel Penelitian.....	24
3.3.1 Populasi.....	24
3.3.2 Sampel.....	24
3.3.3 Besar Sampel	25
3.3.4 Pemilihan Sampel	25
3.4 Instrumen dan Bahan Penelitian.....	26
3.4.1 Instrumen Penelitian	26
3.4.2 Bahan Penelitian	26
3.5 Cara Penelitian.....	27
3.5.1 Penggemukan Tikus.....	27
3.5.2 Induksi DM Tipe 2.....	27
3.5.3 Teknik Isolasi MSCs.....	28
3.5.4 Kultur Sel Punca	29
3.5.5 Proses Pemanenan Sel.....	29
3.5.6 Proses Penghitungan Sel	30
3.5.7 Operasi <i>Sleeve Gastrectomy</i>	30
3.5.8 Operasi Omentoplasti pada Pankreas.....	31
3.5.9 Operasi <i>Sleeve Gastrectomy</i> dan Injeksi MSCs.....	31
3.5.10 Prosedur Perawatan Post Operasi	32
3.5.11 Cara Pengumpulan Data.....	32
3.6 Alur Penelitian.....	38

3.7 Tempat dan Waktu Penelitian	38
3.7.1 Tempat Penelitian	38
3.7.2 Waktu Penelitian.....	39
3.8 Analisis Hasil.....	39
BAB IV	40
4.1 Hasil Penelitian.....	40
4.1.1. Analisis Deskriptif	41
4.1.2. Analisis Bivariat.....	46
4.2 Pembahasan	49
BAB V	53
5.1 Kesimpulan.....	53
5.2 Saran	53
DAFTAR PUSTAKA	55
LAMPIRAN.....	60



DAFTAR SINGKATAN

5-HT	: <i>5-Hidroxytryptamine</i>
AD-MSCs	: <i>Adipose Derived Mesenchymal Stem Cells</i>
ADRB3	: <i>Adrenoceptor Beta 3</i>
AGRP	: <i>Agouti Related Peptides</i>
AKT	: <i>Protein Kinase B</i>
ASC	: <i>Adult Stem Cell</i>
ATM	: <i>Adipose Tissue Macrophages</i>
BDNF	: <i>Brain-Derived Neurotrophic Factor</i>
CART	: <i>Cocaine and Amphetamine Related Transcripts</i>
CCK	: <i>Cholecystokinin</i>
CCR1	: <i>C-C Motif Chemokine Receptor 1</i>
CCR2	: <i>C-C Motif Chemokine Receptor 2</i>
CD4+	: <i>Cluster of Differentiation 4</i>
CD5+	: <i>Cluster of Differentiation 5</i>
CD8+	: <i>Cluster of Differentiation 8</i>
CRH	: <i>Corticotrophin Releasing Hormone</i>
DEPC	: <i>Diethyl pyrocarbonat</i>
DM	: <i>Diabetes Melitus</i>
DMT2	: <i>Diabetes Melitus Tipe 2</i>
ESCs	: <i>Embryonal Stem Cell</i>
FBS	: <i>Fetal Bovine Serum</i>
GE	: <i>Gastroesofageal</i>
GLP-1	: <i>Glucagon Like Peptide-1</i>
GLUT4	: <i>Glucose Transporter Type 4</i>
GWASs	: <i>Genome-wide Association Studies</i>
HOMA-IR	: <i>Hemeostatic Model Assessment of Insulin Resistance</i>
IFN- γ	: <i>Interferon Gamma</i>
IKKc	: <i>IκB Kinase Complex</i>
IL-10	: <i>Interleukin 10</i>

IL-6	: <i>Interleukin 6</i>
ILC2	: <i>Innate Lymphoid Cells 2</i>
IMT	: Indeks Massa Tubuh
IR	: <i>Insulin Receptor</i>
IRS-1	: <i>Insulin Receptor Substrate-1</i>
JNK	: <i>c-Jun N-terminal kinase</i>
KEMENKES	: Kementerian Kesehatan
LEPR	: <i>Leptin Reseptor</i>
MAPK	: <i>Mitogen-Activated Protein Kinase</i>
MC4R	: <i>Melanocortin Receptor Type 4</i>
MCH	: <i>Melanine Concentrating Hormones</i>
MCP-1	: <i>Monocyte Chemoattractant Protein-1</i>
MS	: <i>Milky Spots</i>
MSCs	: <i>Mesenchymal Stem Cells</i>
NF- κ B	: <i>Nuclear Factor-kappaB</i>
NK	: <i>Natural Killer</i>
NKT	: <i>Natural Killer T</i>
NO	: <i>Nitric Oxide</i>
NPY	: Neuropeptida Y
PAI-1	: <i>Plasminogen Activator Inhibitor-1</i>
PBS	: <i>Phosphate Buffered Saline</i>
PI3K	: <i>Phosphatidylinositol 3-kinase</i>
PKC	: <i>Protein Kinase C</i>
POMC	: <i>Pro-opiomelanokortin</i>
PrRP	: <i>Prolactin Releasing Peptide</i>
PYY	: <i>Peptide YY</i>
qRT-PCR	: <i>quantitative Real Time Polymerase Chain Reaction</i>
RCT	: <i>Randomized Controlled Trial</i>
RE	: Retikulo Endoplasma
RISKESDAS	: Riset Kesehatan Dasar
RNA	: <i>Ribonucleic Acid</i>

ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
RYGB	: <i>Roux en Y Gastric Bypass</i>
SCCR	: <i>Stem Cell and Cancer Research</i>
SG	: <i>Sleeve Gastrectomy</i>
SOCS	: <i>Suppressor of Cytokine Signaling</i>
STZ	: <i>Streptozosin</i>
TNF- α	: <i>Tumor Necrosis Factor - α</i>
UPR	: <i>Unfolded Protein Response</i>
VAT	: <i>Visceral Adipose Tissue</i>
VAT-Tregs	: <i>VAT-associated Regulatory T Cells</i>
VCAM-1	: <i>Vascular Cell Adhesion Molecule-1</i>
WAT	: <i>White Adipose Tissue</i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>
α -MSH	: <i>α-Melanocyte Stimulating Hormone</i>



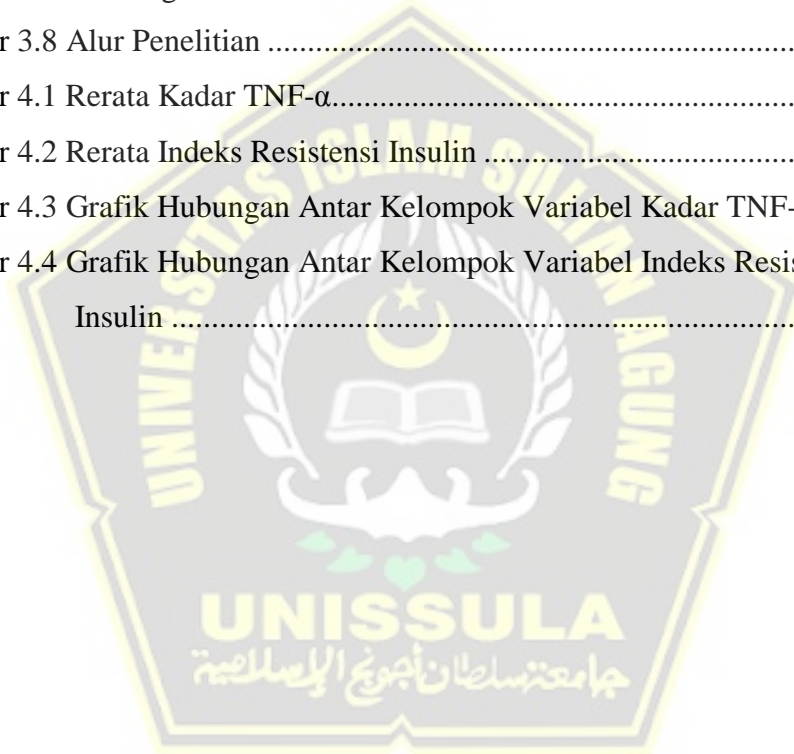
DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Hasil Pemeriksaan Tikus Untuk Konfirmasi Sampel Penelitian	41
Tabel 4.2 Rerata Kadar TNF- α	42
Tabel 4.3 Rerata Indeks Resistensi Insulin	43
Tabel 4.4 Hasil Uji Normalitas Kadar TNF- α	44
Tabel 4.5 Hasil Uji Homogenitas Kadar TNF- α	44
Tabel 4.6 Hasil Uji Normalitas Indeks Resistensi Insulin	45
Tabel 4.7 Hasil Uji Normalitas Indeks Resistensi Insulin Sesudah Transformasi.....	45
Tabel 4.8 Hasil Uji Homogenitas Indeks Resistensi Insulin.....	46
Tabel 4.9 Hasil Uji One Way ANOVA Kadar TNF- α	46
Tabel 4.10 Hasil Uji Post Hoc Tamhane's Kadar TNF- α	47
Tabel 4.11 Hasil Uji Kruskal Wallis dan Uji Mann Whitney Indeks Resistensi Insulin	48



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Resistensi Insulin yang Disebabkan oleh Inflamasi (Wu and Ballantyne, 2017)	8
Gambar 2.2 Sleeve Gastrectomy (SG) (Chousleb et al., 2020)	10
Gambar 2.3 Struktur Omental Glomeruli dan MS (Di Nicola, 2019).....	15
Gambar 2.4 Efek AD-MS terhadap DM Tipe 2 (Qi et al., 2019).....	17
Gambar 2.5 Kerangka Teori.....	21
Gambar 2.6 Kerangka Konsep	21
Gambar 3.7 Rancangan Penelitian	22
Gambar 3.8 Alur Penelitian	38
Gambar 4.1 Rerata Kadar TNF- α	42
Gambar 4.2 Rerata Indeks Resistensi Insulin	43
Gambar 4.3 Grafik Hubungan Antar Kelompok Variabel Kadar TNF- α	47
Gambar 4.4 Grafik Hubungan Antar Kelompok Variabel Indeks Resistensi Insulin	48



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Penelitian.....	60
Lampiran 2. Hasil Uji Deskriptif, Normalitas dan Homogenitas Data Kadar TNF- α dan Indeks Resistensi Insulin.....	61
Lampiran 3. Hasil Uji One Way ANOVA dan Uji Post Hoc Tamhane's pada Data Kadar TNF- α	68
Lampiran 4. Hasil Uji Kruskal Wallis dan Mann Whitney pada data Indeks Resistensi Insulin	69
Lampiran 5. Ethical Clearence.....	73
Lampiran 6. Surat Keterangan Selesai Penelitian di Laboratorium SCCR.....	74
Lampiran 7. Surat Pengantar Ujian Hasil Penelitian Skripsi	75
Lampiran 8. Dokumentasi Penelitian.....	77



INTISARI

Keadaan obesitas akibat akumulasi lemak berlebih akan menyebabkan terjadinya inflamasi kronik. Inflamasi terjadi akibat kematian sel adiposa yang mengalami pembesaran ini akan meningkatkan ekspresi mediator inflamasi seperti TNF- α . Tingginya kadar TNF- α akan mengganggu pensinyalan insulin di organ target dan menyebabkan resistensi insulin. Kondisi ini dapat diperbaiki dengan operasi bariatrik dengan *sleeve gastrectomy* (SG) dan pemberian terapi adjuvan dengan omentoplasti pankreas dan injeksi MSCs. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh omentoplasti pankreas dan MSCs terhadap kadar TNF- α dan indeks resistensi insulin pada tikus obesitas yang dilakukan SG.

Penelitian eksperimental dengan rancangan *post-test only group design* ini menggunakan 24 ekor tikus jantan galur wistar yang dibagi menjadi 4 kelompok yaitu kelompok sham dan kelompok SG sebagai kelompok kontrol, kelompok SG-omentoplasti pankreas dan kelompok SG-MSCs sebagai kelompok perlakuan. Selanjutnya dinilai kadar TNF- α dan indeks resistensi insulin.

Hasil penelitian ini menunjukkan kelompok perlakuan SG-MSCs secara signifikan ($p < 0,05$) menurunkan kadar TNF- α dari pada kelompok lainnya. Kelompok perlakuan SG-omentoplasti pankreas dapat menurunkan rerata kadar TNF- α namun tidak signifikan. Pemberian omentoplasti pankreas dan MSCs setelah SG menunjukkan hasil yang signifikan ($p < 0,05$) terhadap penurunan indeks resistensi insulin (HOMA-IR). Pemberian MSCs setelah SG lebih signifikan menurunkan kadar TNF- α dan indeks resistensi insulin dibandingkan dengan pemberian omentoplasti pankreas.

Kesimpulan dari penelitian ini yaitu didapatkan pengaruh omentoplasti pankreas dan MSCs terhadap kadar TNF- α dan indeks resistensi insulin pada tikus obesitas yang dilakukan *sleeve gastrectomy*.

Kata kunci: Omentoplasti Pankreas, MSCs, TNF- α , Indeks Resistensi Insulin

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Obesitas yang terjadi akibat tidak seimbangnya asupan dengan penggunaan kalori sehari-hari akan berhubungan erat dengan keadaan inflamasi kronik derajat rendah (Koca, 2017). Inflamasi akibat apoptosis sel adiposa ini akan mengeluarkan mediator pro-inflamasi seperti *tumor necrosis factor* (TNF- α) (O'Rourke, 2020). TNF- α akan mengganggu pensinyalan insulin hingga menyebabkan resistensi insulin. Resistensi insulin adalah gangguan metabolisme glukosa yang ditandai dengan peningkatan kadar insulin di sirkulasi yang dapat memicu diabetes melitus tipe 2 (DMT2) (Petersen and Shulman, 2018; Soelistijo *et al.*, 2019). Obesitas dapat diterapi dengan *Sleeve Gastrectomy* (SG) untuk menurunkan berat badan namun tidak secara langsung menurunkan inflamasi sistemik dan sensitivitas insulin (Hagman *et al.*, 2017).

Obesitas merupakan penyebab gangguan kesehatan kronis peringkat ke-3 di seluruh dunia. Menurut WHO, pada tahun 2016 sekitar 13% atau 650 juta orang dari populasi individu dewasa di dunia mengalami obesitas (*Obesity and Overweight*, 2020). Obesitas di Indonesia sendiri masih belum terkendali sesuai dengan data RISKESDAS tahun 2018 yang mengalami peningkatan menjadi 21,8%. Data tersebut berkorelasi dengan prevalensi DM penduduk usia ≥ 15 tahun yang meningkat menjadi 8,5% atau sekitar

20,4 juta orang (Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, 2018). Kebiasaan hidup yang menyukai makanan cepat saji, tinggi gula dan lemak serta rendahnya aktivitas fisik merupakan faktor pendukung terjadinya obesitas dan DM2. Dampak dari DM bukan hanya komplikasi, tetapi juga kualitas kegiatan dan biaya kesehatan yang cukup besar (Soelistijo *et al.*, 2019).

Terjadinya hipoksia dan peningkatan stress oksidatif akibat hipertrofi sel akan menyebabkan inflamasi hingga apoptosis dari sel adiposa (O'Rourke, 2020). Peningkatan TNF- α sebagai marker inflamasi akan memperburuk kerja insulin di organ target dan dalam jangka panjang akan menyebabkan resistensi insulin (McArdle *et al.*, 2013; Di Domenico *et al.*, 2019). Resistensi insulin diukur menggunakan *homeostatic model assessment of insulin resistance* (HOMA-IR) dengan menilai kadar glukosa darah dan kadar plasma insulin (Mirzaalian *et al.*, 2019). Saat ini, operasi bariatrik seperti SG sering digunakan pada obesitas dengan indeks massa tubuh (IMT) lebih dari 35 kg/m² (Bray *et al.*, 2018). Prosedur ini akan mempengaruhi nafsu makan pasien dan meningkatkan adiponektin akibat pembuangan fundus dan korpus gaster (Funes *et al.*, 2020; Kheirvari *et al.*, 2020). Hagman dkk (2017) membuktikan perbaikan sensitivitas insulin dan penurunan inflamasi sistemik muncul dalam 12 bulan setelah SG tanpa diikuti penurunan TNF- α di jaringan adiposa (Hagman *et al.*, 2017). Keadaan ini mendasari perlunya terapi adjuvan untuk mempercepat penurunan inflamasi di tubuh pasien.

Terapi yang dapat digunakan adalah penempelan omentum atau omentoplasti dan injeksi *mesenchymal stem cells* (MSCs). Omentum adalah *visceral adipose tissue* (VAT) yang memiliki respon imunologi dengan meningkatkan mediator anti-inflamasi sehingga dapat meringankan inflamasi dan menurunkan resistensi insulin (Meza-Perez and Randall, 2017; Di Nicola, 2019). Penelitian oleh Dimas dkk (2021) membuktikan bahwa omentoplasti pankreas dapat meningkatkan ekspresi insulin dan menurunkan mediator inflamasi pada tikus DMT2 (Dimas *et al.*, 2021). MSCs adalah sel progenitor dewasa multipoten yang dapat memodulasi respon imun (Fan *et al.*, 2020). Menurut Qi dkk (2019) setelah injeksi *adipose-derived* MSCs (AD-MSCs) didapatkan penurunan signifikan TNF- α pada tikus dengan DMT2 (Qi *et al.*, 2019). Omentoplasti dan injeksi MSCs dapat meningkatkan mediator anti-inflamasi sehingga keduanya berpotensi menjadi terapi adjuvan pada obesitas yang dilakukan SG. Dengan ini, peneliti ingin meneliti “Pengaruh Omentoplasti Pankreas dan MSCs Terhadap Kadar TNF- α dan Indeks Resistensi Insulin”.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah penelitian ini yaitu: “Apakah omentoplasti pankreas dan MSCs berpengaruh terhadap kadar TNF- α 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 TNF- α dan indeks resistensi insulin pada tikus obesitas yang dilakukan *sleeve gastrectomy*.

1.3.2 Tujuan Khusus

1.3.2.1. Mengetahui pengaruh kadar TNF- α pada tikus obesitas kelompok kontrol, kelompok *sleeve gastrectomy*, kelompok *sleeve gastrectomy* dan omentoplasti pankreas dan kelompok *sleeve gastrectomy* dengan injeksi MSCs.

1.3.2.2. Mengetahui pengaruh indeks resistensi insulin pada tikus obesitas kelompok kontrol, kelompok *sleeve gastrectomy*, kelompok *sleeve gastrectomy* dan omentoplasti pankreas dan kelompok *sleeve gastrectomy* dengan injeksi MSCs.

1.3.2.3. Mengetahui perbedaan pemberian omentoplasti pankreas dan MSCs terhadap kadar TNF- α dan indeks resistensi insulin pada tikus obesitas yang dilakukan *sleeve gastrectomy*.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

Sebagai pengembangan ilmu pengetahuan dan bahan kajian untuk penelitian selanjutnya mengenai omentoplasti pankreas dan MSCs terhadap kadar TNF- α dan indeks resistensi insulin.

1.4.2 Manfaat Praktis

- 1.4.2.1. Menambahkan wawasan dan informasi ilmiah mengenai pengaruh omentoplasti pankreas dan MSCs terhadap kadar TNF- α dan indeks resistensi insulin.
- 1.4.2.2. Menemukan terapi adjuvan pada pembedahan *sleeve gastrectomy* di pasien obesitas sebelum diterapkan pada manusia.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 TNF- α

TNF- α merupakan salah satu sitokin yang diproduksi oleh tubuh. Sitokin merupakan protein kecil dengan berat molekul yang rendah dan masa hidup yang rendah. Protein ini berfungsi untuk membawa sinyal dalam komunikasi antar sel. Komunikasi ini terjadi pada keadaan seperti inflamasi, infeksi, trauma bahkan dalam respons imun spesifik maupun non-spesifik.

TNF- α atau sering disebut sebagai TNF merupakan mediator inflamasi baik lokal maupun sistemik. TNF akan memunculkan efek biologisnya apabila berikatan dengan reseptornya yaitu TNF-R1 atau TNF-R2. Sitokin ini diproduksi utama oleh makrofag yang teraktivasi tetapi dapat juga oleh sel lain seperti limfosit, fibroblas dan keratinosit sebagai respon terhadap infeksi, peradangan dan stres lingkungan. Jaringan yang rusak juga dapat melepas berbagai mediator inflamasi seperti TNF- α (Baratawidjaja and Rengganis, 2018).

Sitokin proinflamasi seperti TNF- α dapat mengaktivasi dari *c-Jun N-terminal kinase* (JNK) yang akan membatasi aktivitas AKT dan menghambat pensinyalan insulin. Sitokin ini akan meningkat pada jaringan dan serum pasien DM tipe 2 (Liu *et al.*, 2017).

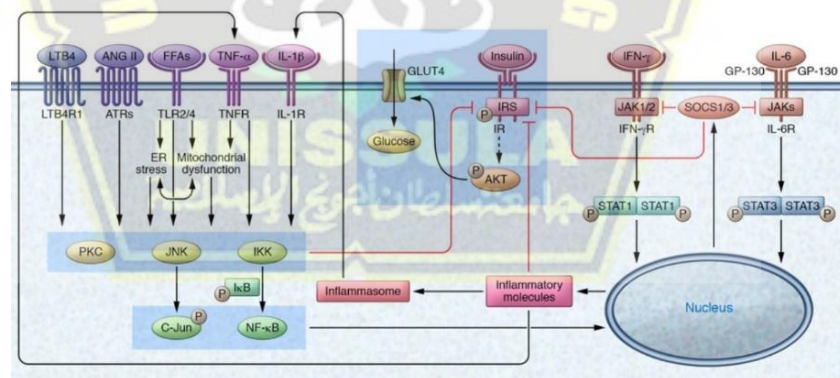
2.2 Resistensi Insulin

Resistensi insulin adalah penurunan respon sensitivitas sel terhadap insulin dari keadaan normal. Keadaan ini meliputi gangguan pada jalur persinyalan insulin secara spesifik. Pada kadar insulin plasma normal, sel target tidak dapat meningkatkan respon penurunan glukosa sehingga memerlukan peningkatan kadar insulin untuk mengimbangi. Peningkatan kadar insulin plasma puasa dan DM tipe 2 merupakan salah satu akibatnya. Resistensi insulin di otot skeletal dapat dilacak pada persinyalan insulin awal seperti IR (*insulin receptor*), IRS-1 (*insulin receptor substrate-1*) dan jalur PI3K/AKT (*Phosphatidylinositol 3 kinase/protein kinase B*). Resistensi insulin di hepar bersifat selektif dimana insulin hanya resisten pada mekanisme terhadap glukosa bukan lemak. Mekanisme terhadap glukosa yang dimaksud yaitu penekanan glukoneogenesis dan glikogenolisis serta aktivasi pembentukan glikogen. Resistensi insulin pada jaringan adiposa ditandai dengan gangguan pada transpor glukosa dan penghambatan lipolisis (Petersen and Shulman, 2018).

Pada keadaan obesitas, tubuh akan mengalami inflamasi secara kronik dan mempengaruhi sensitivitas insulin. Resistensi insulin yang terjadi karena reaksi inflamasi dapat melalui berbagai jalur seperti aktivasi *protein kinase C* (PKC), JNK, dan IKK/*Nuclear Factor-kappaB* (NF- κ B). Jalur IKK/NF- κ B sering diaktifkan oleh TNF- α , IL-1 β , asam lemak dan angiotensin 2. Jalur ini akan meningkatkan fosforilasi serin dari IRS-1 atau IR dan menyebabkan gangguan fosforilasi tirosin, gangguan pensinyalan

insulin dan ekspresi *nitric oxide* (NO). Jalur JNK yang merupakan bagian dari keluarga MAPK (*mitogen-activated protein kinase*) dapat diaktifkan oleh TNF- α , IL-1 β , asam lemak saturasi, LTB4 dan angiotensin 2. JNK akan menginduksi dari fosforilasi serin dan treonin IR dan mengganggu interaksi IR dan IRS-1.

PKC akan meningkatkan fosforilasi dari serin dan treonin pada IR atau IRS-1. Resistensi insulin dapat juga disebabkan oleh regulasi dari protein *suppressor of cytokine signaling* (SOCS) pada jalur JAK/STAT. JAK/STAT sering diaktifasi oleh IFN- γ yang akan menyebabkan fosforilasi tirosin dan mengaktifasi STAT1. Pada keadaan obesitas akan terjadi ekspresi berlebih dari SOCS1 dan SOCS3 yang dapat menurunkan sintesis glikogen yang diinduksi insulin dan mengganggu pensinyalan IR dan IRS (Wu and Ballantyne, 2017).



Gambar 2.1 Resistensi Insulin yang Disebabkan oleh Inflamasi (Wu and Ballantyne, 2017)

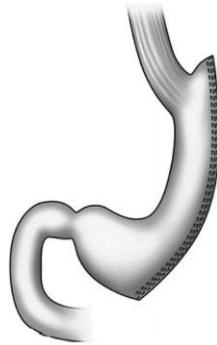
Resistensi insulin dapat diketahui menggunakan berbagai macam alat, salah satunya yaitu *homeostasis model assessment of IR* (HOMA-IR) (Horáková *et al.*, 2019). Perhitungan HOMA-IR menggunakan rumus

plasma insulin puasa ($\mu\text{m/ml}$) dikalikan dengan plasma glukosa puasa (mg/dl) dibagi dengan konstanta 405 (Mirzaalian *et al.*, 2019). Rumus lain yang dapat digunakan adalah plasma insulin puasa ($\mu\text{U/mL}$) dikalikan dengan plasma glukosa puasa (mmol/L) dibagi dengan konstanta 22,5 (Goyal *et al.*, 2014). Penentuan nilai batas untuk HOMA-IR berbeda tergantung pada jenis kelamin, ras, usia, penyakit dan komplikasinya walaupun menurut WHO sering diartikan dengan nilai yang lebih besar dari persentil 75 untuk non-diabetes (Tang *et al.*, 2015).

Menurut penelitian oleh Lee dkk (2016) pada 2.649 subjek di Hongkong, usia 25-74 tahun didapatkan nilai batas untuk DM tipe 2 pada non-DM adalah $\geq 2,0$ dan batas normal adalah $< 1,4$ (Lee *et al.*, 2016). Menurut penelitian oleh Horáková dkk (2019) pada 3.539 subjek paruh baya di Czech didapatkan nilai batas untuk resiko DM tipe 2 adalah 3,63 dan batas normal adalah $< 1,82$ (Horáková *et al.*, 2019).

2.3 Sleeve Gastrectomy

Sleeve gastrectomy merupakan salah satu teknik pembedahan bariatrik yang digunakan sebagai terapi pasien obesitas yang aman, efisien dan memiliki *survival rate* yang tinggi. Teknik ini dilakukan dengan memotong sebagian besar dari gaster sehingga dapat menekan nafsu makan akibat perubahan anatomi dari organ. Teknik SG ini adalah teknik yang lebih tidak invasif dibandingkan dengan tehnik pembedahan bariatrik lain seperti RYGB (Zundel *et al.*, 2020).



Gambar 2.2 *Sleeve Gastrectomy* (SG) (Chousleb *et al.*, 2020)

2.3.1 Prosedur Pembedahan

Tindakan pembedahan ini dimulai dengan memotong cabang kecil dari arkade gastroepiploik dan pintu *lesser sac*. Kemudian, diseksi tepat di tepi kurvatura mayor dan membagi kedua cabang arteri gastroepiploik sampai pembuluh gaster pendek. Omentum ditarik secara lateral dan terus memosisikan ulang instrumen secara superior agar pembuluh darah terlihat dengan jelas sehingga menghindari pendarahan. Sisa dari ligamentum gastrokolik tanpa melakukan transeksi pembuluh gastroepiploik ini dipotong ke distal hingga 2 cm proksimal pilorus. Tujuan pemotongan omentum tepat di tepi kurvatura mayor adalah untuk meminimalkan jumlah lemak yang menempel di gaster sehingga mudah untuk dikeluarkan di akhir tindakan. Gaster kemudian diangkat untuk memperlihatkan aspek posteriornya dan membebaskan semua perlekatan pada kurvatura minor. Perlu diwaspadai keberadaan cabang arteri gaster kiri saat memisahkan perlekatan ini. Jika cabang arteri ini terpotong maka suplai darah ke lengan gaster akan terganggu. Bagian lain yang perlu

diperhatikan adalah arteri dan vena limpa di sepanjang tepi superior pankreas.

Pembelahan gaster dimulai di 4 cm proksimal pilorus sehingga mempertahankan mekanisme pengosongan gaster dari antrum. Sebelum pembuatan *sleeve*, digunakan bougie 34–40 Fr untuk memandu stapel dan mempertahankan lumen gaster yang memadai. Bougie harus ditempatkan sebelum stapel dan mengarahkannya sampai pylorus. Perhatikan agar tidak membelah gaster terlalu dekat dengan incisura angularis untuk menghindari kerutan atau stenosis. Potong gaster bagian fundus mendekati gastroesofageal (GE) *junction* tanpa mengorbankan esofagus. Garis stapel diperkuat pada bagian GE *junction* dan di bawah garis stapel di antrum. Hal ini dilakukan menggunakan delapan jahitan *through-and-through* dengan benang 3-0 monofilamen yang dapat diserap.

Sisa gaster diangkat melalui salah satu port. Integritas dari garis stapel diuji dengan pemberian 50–100 ml *methylene blue* dalam larutan garam (Zundel *et al.*, 2020).

2.3.2 Indikasi dan Kontraindikasi Pembedahan

Minimnya terapi medikamentosa yang dapat mengontrol inflamasi kronik dan sindrom metabolik seperti resistensi insulin atau DM tipe 2 akibat obesitas ini menyebabkan pembedahan bariatrik menjadi pilihan terapi selanjutnya. Pembedahan bariatrik yang digunakan untuk terapi obesitas dan penyakit komorbid lain yang berhubungan dengan obesitas ini harus mendapatkan pernyataan bahwa pasien menerima resiko dari

tindakan, terinformasikan dengan baik dan dapat mendapatkan pengobatan setelah tindakan. Pasien yang memiliki kemungkinan keberhasilan rendah pada terapi non-bedah boleh dipertimbangkan untuk mendapatkan tindakan bedah. Selain itu, kandidat yang paling berpotensi adalah pasien obesitas dengan IMT yang melebihi dari 40 kg/m^2 atau diantara $35 - 40 \text{ kg/m}^2$ dengan faktor resiko komorbid yang tinggi atau kondisi fisik yang membatasi kehidupan sehari-hari sehingga menyebabkan obesitas.

Tindakan pembedahan bariatrik tidak memiliki kontraindikasi absolut yang perlu dihindari. Ada beberapa kontraindikasi yang perlu diperhatikan 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. Pada pasien dengan ulkus peptikus juga harus ditunda tindakan pembedahannya sampai terapinya diselesaikan. Pasien yang menderita kontraindikasi terhadap anestesi umum dan koagulopati yang tidak bisa diperbaiki lebih baik menghindari tindakan pembedahan ini (DuCoin *et al.*, 2020).

2.3.3 Efek Pembedahan

Pembedahan bariatrik melakukan perubahan secara anatomi organ saluran cerna yang akan memberikan dampak pada perubahan fisiologi organ tersebut dan perubahan kebiasaan atau tingkah laku dari pasien. SG yang memotong sebagian besar gaster akan mengurangi atau menghambat distensi gaster dan meningkatkan rasa kenyang pada pasien (Kheirvari

et al., 2020). Restriksi kalori yang terjadi mencapai 200-300 kkal/hari. Pemoangan fundus dan korpus gaster pada tindakan SG akan mempercepat jalan makanan kedalam jejunum sehingga akan meningkatkan kontak makanan dengan permukaan apikal sel L diantara sel epitel usus. Kontak diantara keduanya akan meningkatkan stimulasi *Glucagon Like Peptide* (GLP-1) yang dapat meningkatkan sekresi insulin. Pengangkatan fundus gaster menyebabkan penurunan ghrelin yang dapat menghambat sekresi insulin dan menekan hormon adiponektin.

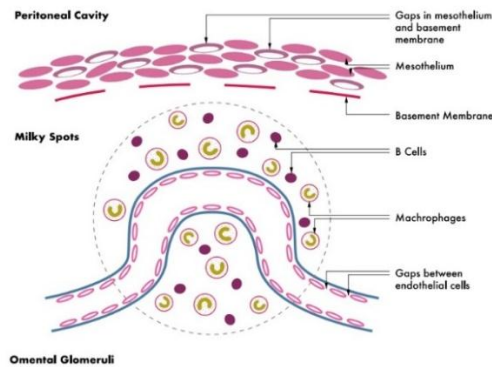
Peningkatan pro-inflammasi dan penurunan anti-inflamasi seperti adiponektin pada keadaan obesitas akan mengalami perubahan setelah dilakukan pembedahan bariatrik. Peningkatan adiponektin akan berhubungan dengan perbaikan sensitivitas insulin yang dapat kita ukur dengan menggunakan HOMA-IR, selain itu juga akan terjadi penurunan TNF- α yang diduga berhubungan dengan penurunan pelekatan monosit dengan sel endotel. Hormon leptin juga akan menurun setelah pembedahan bariatrik (Funes *et al.*, 2020).

Pada penelitian sebelumnya oleh Halperin dkk, Courcoulas dkk dan Schauer dkk didapatkan hasil penurunan berat badan yang lebih baik dan konsumsi obat DM tipe 2 lebih sedikit setelah pengamatan 5 tahun pasca tindakan RYGB dibandingkan dengan SG, namun dalam penelitian selama 3 tahun lainnya didapatkan hasil yang tidak jauh berbeda diantara kedua tindakan tersebut (Pucci and Batterham, 2019). Pada penelitian lain yang dilakukan oleh Hagman dkk (2017) tidak didapatkan penurunan yang

spesifik pada inflamasi jaringan adiposa setelah dilakukan tindakan pembedahan bariatrik yang dihitung melalui analisis ekspresi gen dan flowsitometri kuantitatif dan karakteristik dari leukosit jaringan adiposa walaupun didapatkan perbaikan pada homeostasis glukosa pada minggu ke 4 setelah tindakan. Penelitian ini juga menyampaikan bahwa pada 12 bulan setelah tindakan tidak didapatkan penurunan inflamasi pada jaringan adiposa meskipun didapatkan penurunan inflamasi sistemik, peningkatan sensitivitas insulin dan peningkatan toleransi tubuh terhadap glukosa. Perbaikan secara sistemik yang terjadi setelah berbulan-bulan ini diduga tidak menjadi manfaat langsung dari tindakan pembedahan bariatrik tersebut (Hagman *et al.*, 2017).

2.4 Omentoplasti

Omentoplasti adalah tindakan pembedahan dengan menempelkan omentum pada organ tertentu. Omentum merupakan jaringan adiposa datar yang besar di tutupi oleh peritoneum viseral. Jaringan stroma omentum terdiri dari sel adiposa omentum, fibroblast, perisit, dan leukosit. Omentum tidak hanya sebagai tempat penyimpanan lemak tetapi juga dapat memberikan respon imunologi lokal. Bagian dari omentum yang memiliki fungsi imunologi adalah unit agregasi jaringan limfoid yang disebut sebagai *milky spots* (MS). MS berada disekitar omental glomeruli yang berada dibawah mesotelium.



Gambar 2.3 Struktur Omental Glomeruli dan MS (Di Nicola, 2019)

Omentum memiliki kandungan limfosit B dan T yang banyak pada pembuluh peri-arteriolarnya. MS merupakan tempat pembentukan predominan $CD5^+$ limfosit B dan juga menampung $CD4^+$ dan $CD8^+$ sel T yang bersirkulasi meskipun dalam frekuensi yang rendah. Jaringan ini juga memiliki *VAT-associated $CD4^+$ regulatory T cells* (VAT-Tregs) yang dapat mengekspresikan reseptor kemokin CCR1 dan CCR2 untuk produksi sitokin anti-inflamasi IL-10. Sifat imunologi omentum dapat teraktivasi oleh paparan terhadap faktor inflamasi ataupun benda asing, ditandai dengan peningkatan sel punca dan faktor pertumbuhan angiogenik. Oleh karena itu, omentum akan meningkatkan kapasitas regeneratif dan jalur anti-inflamasi pada jaringan yang rusak (Meza-Perez and Randall, 2017; Di Nicola, 2019).

Pada penelitian sebelumnya, omentum sudah terbukti dapat sebagai tempat transplantasi dari sel islet pankreas sebagai upaya perbaikan insulin. Omentum dapat memberikan perdarahan yang baik sehingga menghasilkan revaskularisasi yang baik daripada tempat lain di tubuh. Omentum juga berhubungan langsung dengan porta hepatic sehingga dapat memberikan

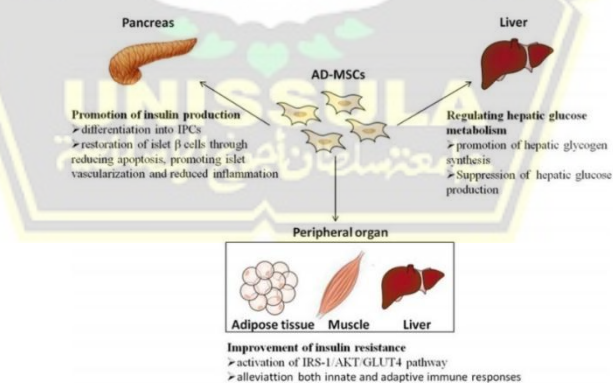
jalur fisiologis yang baik untuk insulin yang dihasilkan sel pankreas tersebut. Perkembangan yang baik dari sel β pankreas ini memberikan perbaikan insulin sebesar 10^6 per sel-nya (Bartholomeus *et al.*, 2013; Di Nicola, 2019). Penelitian oleh Wang dkk. (2019) membuktikan adanya penurunan ekspresi TNF- α secara lambat pada tikus dengan induksi sepsis dan *omentectomy* dibandingkan dengan tikus yang hanya diinduksi sepsis (Wang *et al.*, 2019).

2.5 *Mesenchymal Stem Cells* (MSCs)

Pengobatan diabetes dapat dilakukan dengan berbagai macam cara seperti terapi insulin, eksternal hipoglikemik agen lain dan juga dapat menggunakan transplantasi dari sel islet pankreas atau pankreas itu sendiri. Pendekatan terapi menggunakan transplantasi sendiri jarang digunakan karena keterbatasan dari donor dan sulitnya pelaksanaan terapi tersebut. Stem sel yang mempunyai kemampuan untuk berkembang, regenerasi dan diferensiasi secara spesifik ini dapat memberikan potensi untuk terapi diabetes melitus. Stem sel sendiri dibagi menjadi 2 tipe berdasarkan asalnya yaitu *embryonal stem cell* (ESCs) dan *adult stem cell* (ASCs). ASCs seperti hematopoetik stem sel dapat berdegenerasi menjadi sel darah sedangkan *mesenchymal stem cell* (MSCs) dapat berdegenerasi menjadi lemak, tulang dan tulang rawan.

ASCs dapat berdegenerasi dan memperbaiki atau menggantikan jaringan yang mengalami kerusakan bersamaan dengan pembentukan saraf dan jaringan ototnya. Stem sel dapat digunakan untuk terapi dengan melalui

berbagai mekanisme. Pertama, stem sel akan mengalami homing dan kemudian akan bermigrasi ke jaringan yang mengalami kerusakan akibat kemoatraktan yang dimediasi oleh reseptor kemokin. Stem sel tersebut akan bertransmigrasi ke titik cedera melalui *vascular cell adhesion molecule-1* (VCAM-1) dan reseptor sinyal protein G berpasangan. Sel punca tersebut akan berdiferensiasi menjadi sel tertentu dan dapat mengeluarkan faktor pertumbuhan yang dapat berpotensi mempengaruhi proses fisiologi secara lokal maupun sistemik. MSCs sudah diketahui dapat meningkatkan fungsi sel islet pankreas dan mengontrol resistensi insulin pada DM tipe 2 (Peng *et al.*, 2018). Mekanisme lainnya yaitu melalui parakrinisasi atau keadaan dimana MSCs mensekresi molekul seperti anti-inflamasi (IL-10 dan TGF) dan pro-regenerasi (VEGF dan PDGF). Kemampuan ini akan memicu aktivitas regenerasi jaringan tubuh yang cedera seperti aktivitas imunoregulasi dan aktivitas (Putra, 2019).



Gambar 2.4 Efek AD-MSC terhadap DM Tipe 2 (Qi *et al.*, 2019)

Menurut Qi dkk (2019) setelah injeksi *adipose-derived* MSCs (AD-MSCs) didapatkan penurunan yang signifikan dari TNF- α pada tikus yang menderita DM tipe 2 dan meningkatkan ekspresi dari IR. Mekanisme

perbaikan resistensi insulin oleh MSCs adalah dengan peningkatan GLUT4 dan protein p-Akt serta mempolarisasi makrofag pro-inflamasi menjadi anti-inflamasi melalui produksi agen immunosupresif (Qi *et al.*, 2019).

2.6 Pengaruh Omentoplasti dan MSCs terhadap TNF- α dan Indeks Resistensi Insulin pada Obesitas dengan *Sleeve Gastrectomy*

White adipose tissue (WAT) yang terdapat di subkutan dan abdomen merupakan jaringan yang menyimpan trigliserid dan meregulasi lemak apabila diperlukan sebagai energi. WAT juga memiliki fungsi untuk regulasi homeostasis dengan menghasilkan leptin, adiponektin, resistin, TNF- α , IL-6, *monocyte chemoattractant protein-1* (MCP-1) dan lain-lain. TNF- α , IL-6, MCP-1, visfatin dan *plasminogen activator inhibitor-1* (PAI-1) yang dihasilkan adiposit ini akan mengaktifkan sel imun tubuh. Obesitas dan peningkatan masukan makronutrisi seperti gula dan lemak dapat menimbulkan inflamasi yang akan meningkatkan pembentukan stres oksidatif di hepar dan otot skeletal. Peningkatan masukan yang berlebihan akan berakibat pada pembesaran sel adiposit. Sel adiposa yang mengalami hipertrofi akan mengalami penurunan kemampuan ambilan glukosa yang di stimulasi oleh insulin (Thiriet, 2018).

Sel adiposit yang membesar melebihi 100 mikro akan mengalami gangguan difusi oksigen dan berakibat pada hipoksia selular. Kejadian itu akan memicu terjadinya respon stres retikulo endoplasma (RE). RE yang bertugas untuk mengatur respon seluler termasuk hipoksia, suhu, racun dan nutrisi ini akan mengalami gangguan dan mengaktifasi *unfolded protein*

response (UPR) yang bertugas untuk menurunkan regulasi ekspresi dan metabolisme protein sel. UPR nantinya akan mengaktifkan MAPK JNK dan p38 dan mempengaruhi mediator sinyal insulin seperti IRS-1 yang dapat menyebabkan resistensi insulin. Jika keadaan ini terus berlanjut maka RE tidak bisa bekerja dengan baik dan UPR akan mengaktifkan sistem apoptosis.

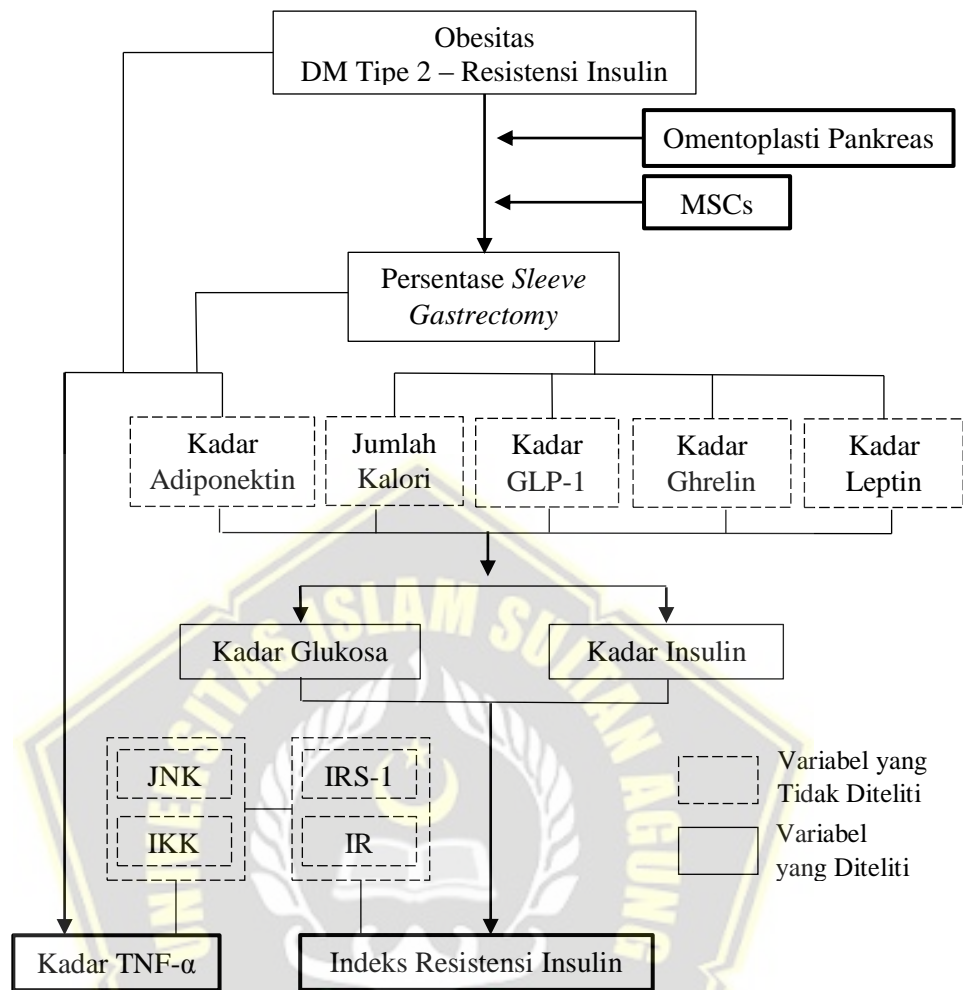
Peningkatan nutrisi yang berlebih pada individu dengan obesitas juga akan meningkatkan pembentukan dari ROS. Pembentukan ROS akan berujung pada reaksi antara stress pada RE dan stress oksidatif yang akan meningkatkan dari apoptosis sel tersebut. Adiposit yang telah mengalami apoptosis itu akan menyebabkan respon inflamasi steril dan mengaktivasi dari sel imun seperti makrofag, sel T, sel B, sel NK dan eosinofil sehingga menyebabkan inflamasi kronik. *Adipose tissue macrophages* (ATM) akan mengelilingi sel adiposit yang apoptosis dan akan menghasilkan beberapa sitokin seperti TNF- α , IL-10, IL-6, IL-8 dan IL-1 β (O'Rourke, 2020). Aktivasi ATM ini melibatkan sitokin MCP-1 yang akan merekrut monosit dari sirkulasi ke jaringan. Monosit akan berdiferensiasi menjadi makrofag-1 pro-inflamasi jika terpapar sitokin pro-inflamasi seperti TNF. Efek proinflamasi dari TNF- α salah satunya dengan teraktivasinya jalur NF- κ B dan JNK. Aktivasi NF- κ B akan meningkatkan IKKc (*I κ B kinase complex*) dan berakibat pada akumulasi dan polarisasi M1 di jaringan adiposa visceral dan hepar (Wu and Ballantyne, 2017). Peningkatan aktivasi JNK akan menginduksi transkripsi pro-inflamasi dan fosforilasi IRS-1 (Petersen and

Shulman, 2018). Semakin tinggi tingkat inflamasi yang terjadi pada individu obesitas akan semakin menurunkan sensitivitas insulin (Koca, 2017).

Terapi pada pasien dengan obesitas salah satunya adalah pembedahan bariatrik dengan indikasi tertentu. Hasil dari pembedahan bariatrik yaitu didapatkan penurunan mediator inflamasi (Funes *et al.*, 2020). Pada penelitian sebelumnya diketahui bahwa didapatkan penurunan inflamasi secara sistemik namun tidak terjadi penurunan inflamasi pada jaringan adiposa walaupun disertai dengan perbaikan toleransi terhadap glukosa dalam kurun waktu 12 bulan setelah pembedahan (Hagman *et al.*, 2017).

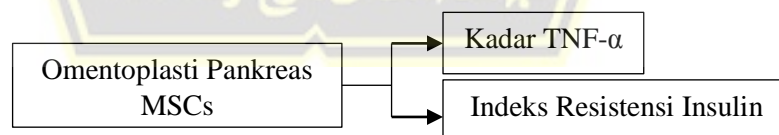
Omentoplasti adalah tindakan pembedahan yang akan meletakkan omentum pada organ tertentu. Kemampuan imunologi lokal dari omentum untuk regenerasi dan peningkatan anti-inflamasi berupa IL-10 diharapkan dapat menekan inflamasi kronik pada pasien obesitas dengan resistensi insulin (Di Nicola, 2019). MSCs adalah jaringan yang berasal dari mesodermal dan memiliki kemampuan berdiferensiasi menjadi berbagai jenis jaringan tubuh yang mengalami kerusakan. MSCs akan melepaskan faktor parakrin terlarut yang mengatur proliferasi, imunomodulasi dan respon anti-inflamasi melalui berbagai macam jalur seperti p38, MAPK dan jalur reseptor TNF. MSCs juga sudah diketahui dapat meningkatkan fungsi sel islet pankreas dan mengontrol resistensi insulin pada DM tipe 2 (Peng *et al.*, 2018; Qi *et al.*, 2019).

2.7 Kerangka Teori



Gambar 2.5 Kerangka Teori

2.8 Kerangka Konsep



Gambar 2.6 Kerangka Konsep

2.9 Hipotesis

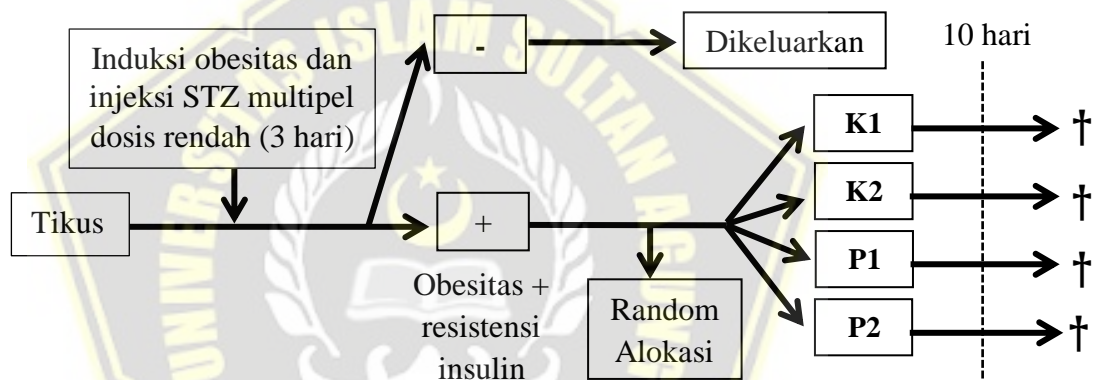
Pemberian omentoplasti pankreas dan MSCs menurunkan kadar TNF- α dan indeks resistensi insulin pada tikus obesitas yang dilakukan *sleeve gastrectomy*.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan *post-test only group design*. Pembagian kelompok penelitian yaitu kelompok kontrol 1 (K1), kelompok kontrol 2 (K2), kelompok perlakuan 1 (P1), kelompok perlakuan 2 (P2). Skema rancangan penelitian adalah sebagai berikut:



Gambar 3.7 Rancangan Penelitian

Keterangan:

(-) : Kriteria Eksklusi

(+) : Kriteria Inklusi

K1 : Kelompok kontrol 1, tikus obesitas yang dilakukan laparotomi (Sham)

K2 : Kelompok kontrol 2, tikus obesitas yang dilakukan laparotomi *sleeve gastrectomy*

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

P2 : Kelompok perlakuan 2, tikus obesitas yang dilakukan laparotomi *sleeve gastrectomy* dan pemberian MSCs dosis 1×10^6 sel secara intraperitoneal

† : Terminasi

STZ : Streptozosin

3.2 Variabel Penelitian Dan Definisi Operasional

3.2.1 Variabel Penelitian

3.2.1.1 Variabel Bebas

Omentoplasti Pankreas dan MSCs

3.2.1.2 Variabel Tergantung

Kadar TNF- α dan Indeks Resistensi Insulin

3.2.2 Definisi Operasional

3.2.2.1 Omentoplasti Pankreas

Suatu tindakan pembedahan yang menempelkan seluruh omentum mayor pada pankreas tikus. Perlakuan dilakukan pada hari ke-30 penelitian.

Skala data: Nominal

3.2.2.2 MSCs

MSCs (*Mesenchymal Stem Cells*) diperoleh dari *Stem Cell and Cancer Research* (SCCR) Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang dengan berbagai syarat seperti Anti-Rat CD90 PerCP, Anti-Rat CD45 FITC, Anti-Rat CD31 PE, Anti-Rat CD29 Alexa Fluor 647, Media Basal Diferensiasi Adipogenik dan Media Basal Diferensiasi Osteogenik MesenCult. MSCs yang didapat dari isolasi *umbilical cord* tikus, diinjeksikan secara intraperitoneal dengan dosis 1×10^6 sel pada tikus di hari penelitian ke-30.

Skala data: Rasio

3.2.2.3 Kadar TNF- α

Pengukuran kadar TNF- α dihitung pada hari penelitian ke-40 dari RNA jaringan pankreas, menggunakan *Real Time Polymerase Chain Reaction* (qRT-PCR) dalam satuan *fold change*.

Skala data: Rasio

3.2.2.4 Indeks Resistensi insulin

Indeks resistensi insulin didapat dari perhitungan HOMA-IR (*Hemeostatic Model Assessment of Insulin Resistance*) pada hari penelitian ke-40. Perhitungan HOMA-IR menggunakan kadar plasma insulin puasa ($\mu\text{m/ml}$) dikalikan dengan kadar plasma glukosa puasa (mg/dl) dibagi dengan konstanta 405 (Mirzaalian *et al.*, 2019).

Skala data: Rasio

3.3 Populasi dan Sampel Penelitian

3.3.1 Populasi

Populasi penelitian berupa tikus putih jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*) yang didapatkan dari LPPT (Lembaga Penelitian dan Pengujian Terpadu) UGM Yogyakarta.

3.3.2 Sampel

Sampel penelitian menggunakan tikus jantan galur wistar obesitas yang dilakukan SG. Tikus yang digunakan adalah tikus yang termasuk dalam kriteria inklusi dan kriteria eksklusi.

3.3.2.1. Kriteria Inklusi:

1. Tikus wistar jantan dan sehat berusia rata-rata 2 minggu dengan berat badan 150 – 200gram.
2. Tikus dengan DM tipe 2 setelah diinduksi injeksi streptozocin (STZ).
3. Tikus dengan indeks Lee > 300.

3.3.2.2. Kriteria Eksklusi:

Tikus tidak aktif atau tampak sakit.

3.3.2.3. Kriteria Dropout:

Tikus mati saat penelitian berlangsung.

3.3.3 Besar Sampel

Besar sampel ditentukan menggunakan rumus Federer:

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

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

$$3n \geq 18$$

$$n \geq 6$$

t = banyak kelompok perlakuan

n = jumlah sampel minimal per-kelompok

Berdasarkan perhitungan dibutuhkan minimal total sampel sebanyak 24 ekor tikus dengan sampel perkelompok adalah 6 sampel.

3.3.4 Pemilihan Sampel

Sampel diambil dengan cara *simple random sampling*. Sebelum digunakan untuk penelitian, 24 ekor tikus wistar diadaptasi terlebih dahulu selama 1 minggu. Tikus diberi diet standar untuk tikus dewasa dengan zat gizi makro sesuai dengan pakan *Teklad Global* 14%

Protein Rodent Maintenance Diet 2014S dari *HarlanTM Laboratories* (2014) dan diberi minum secara berlebih. Selanjutnya tikus dibagi secara acak menjadi 4 kelompok penelitian, masing masing kelompok terdiri dari 6 ekor.

3.4 Instrumen dan Bahan Penelitian

3.4.1 Instrumen Penelitian

1. Set bedah *sleeve gastrectomy* dan omentoplasti pankreas
2. Set alat pemeriksaan TNF- α dan Insulin
3. Set alat pemeriksaan qReal-Time PCR
4. Timbangan berat badan untuk tikus
5. Kassa steril
6. Doek steril
7. Lampu operasi
8. Klem
9. Sarung tangan steril
10. Benang jahit *polyglycolic acid* 4.0 dan *polypropylene* 3.0
11. S spuit 1 cc dan jarum 27G
12. Nampan steril
13. Linen steril

3.4.2 Bahan Penelitian

1. NaCl 0.9%
2. Povidon-iodin
3. Alkohol 70%

4. Ketamin
5. Streptozosin
6. Makanan tikus
7. Set bahan untuk analisis dan pembuatan model
8. Set bahan untuk isolasi sel punca mesenkimal

3.5 Cara Penelitian

3.5.1 Penggemukan Tikus

Tikus diberikan diet tinggi kalori dan tinggi lemak yang berisi comfeed pars 60%, terigu 27,8%, kolesterol 2%, asam kolat 0,2%, lemak babi 10% dan fruktosa 2 ml/ekor/hari (Marques et al., 2016). Pemberian diet dilakukan selama 4 minggu dan diet diberikan dalam bentuk bubuk. Tikus dinyatakan obesitas apabila indeks Lee didapatkan > 300 sesuai dengan rumus (Lee *et al.*, 2011):

$$\left[\text{berat badan (gram)}^{\frac{1}{3}} \div \text{panjang nasoanal (cm)} \right] \times 10^3$$

3.5.2 Induksi DM Tipe 2

Seluruh tikus diinjeksi STZ intravena melalui pembuluh darah ekor dengan dosis 45 mg/kgBB selama 3 hari berturut-turut menggunakan spuit 1 cc, serta dibiarkan minum larutan sukrosa 30% secara berlebih. Penilaian glukosa darah puasa dilakukan pada 4-6 jam setelah tikus puasa dari pembuluh darah ekor atau vena lateralis. Pengukuran berat-badan tikus dilakukan 5 hari setelah penyuntikan STZ terakhir. Tikus disebut diabetes jika kadar glukosa darah puasa >126 mg/dl dan HOMA-IR ≥ 2 (Firdaus *et al.*, 2016; Lee *et al.*, 2016).

3.5.3 Teknik Isolasi MSCs

Semua proses dilakukan dalam *biosafety cabinet class 2* dengan peralatan steril dan teknik sterilitas yang tinggi.

1. Kumpulkan tali pusar dan simpan dalam wadah steril yang berisi NaCl 0,9%. Jika tidak digunakan langsung maka disimpan di suhu 4°C sampai proses isolasi (11-24jam). Jika isolasi dilakukan segera saat pengambilan maka tidak perlu disimpan.
2. Meletakkan tali pusat ke petri dish menggunakan pinset lalu cuci tali pusat sampai bersih dengan PBS (*Phosphate buffered saline*).
3. Potong tali pusat menggunakan pisau yang steril menjadi 3-5cm.
4. Buang pembuluh darah di potongan tali pusat.
5. Pindahkan tali pusat ke cawan petri bersih.
6. Tiap potongan tali pusat dihancurkan dengan bisturi/ gunting menjadi 1 mm.
7. Potongan kecil tali pusat ditempatkan di cawan kultur jaringan 60mm dengan tersebar rata menggunakan pinset.
8. Bersihkan medium lengkap (α MEM yang ditambah fungizone, penstrep serta FBS/*fetal bovine serum*) sejumlah 2-3ml.
9. Inkubasi di suhu 37°C dan 5% CO₂.
10. Amati setiap 24 jam dan lihat sel yang keluar dari spot penanaman explant (selama 14 hari).

11. Ganti medium setiap 2-3 hari sekali dengan membuang setengah medium menggunakan mikropipet dan ganti dengan medium lengkap segar sebanyak yang dibuang.
12. Setelah sel keluar dari explant tambahkan medium lengkap menjadi 5ml.
13. Setelah 24-72 jam, sel yang mengapung dipindahkan ke cawan petri jaringan baru dengan mengambil semua medium dan dimasukkan ke *conical tube* 15 ml lalu di sentrifugasi 1000 rpm selama 10 menit, setelah itu dibuang supernatan dan resuspensi pelet dengan medium lengkap.

3.5.4 Kultur Sel Punca

1. Hasil isolasi sel ditanamkan ke cawan petri jaringan.
2. Inkubasi pada suhu 37°C dan 5% CO₂.
3. Ganti separuh medium tiap 2-3 hari sekali hingga sel konfluens mencapai 80%.

3.5.5 Proses Pemanenan Sel

1. Panen sel menggunakan panen sel ketiga yang dipindahkan ke *coverslip*.
2. Bersihkan tempat medium menggunakan PBS 1 ml dan tripsin 1 ml agar medium dan sel terpisah.
3. Lakukan inkubasi selama 3 menit pada suhu 37°C.
4. Lihat di mikroskop untuk memastikan sel sudah terlepas.

5. Ambil tripsin serta PBS menggunakan mikropipet kemudian ganti menggunakan medium lengkap.

3.5.6 Proses Penghitungan Sel

1. Siapkan 10 μ l sel dan letakkan pada *cryotube*.
2. Menambahkan *tryptophan blue* 90 μ l ke *cryotube*.
3. Pipetkan 10 μ l di bilik hitung yang ditutup menggunakan *deck glass*.
4. Lihat pada empat bilik hitung menggunakan mikroskop *inverted*.
5. Hitung jumlah sel dengan menggunakan rumus:

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

3.5.7 Operasi *Sleeve Gastrectomy*

1. Tikus dipuasakan selama 10 jam sebelum dilakukan operasi.
2. Injeksi ketamin dengan dosis 0,5 mg/kgBB secara intramuskular.
3. Bersihkan bulu bagian perut sampai kulit tikus terlihat.
4. Lakukan aseptis dan antiseptis pada daerah operasi.
5. Lakukan insisi transversal subcostal sinistra mulai dari processus xiphoides sampai ke lateral abdomen.
6. Perdalam lapis demi lapis kutis, subkutis, muskulus sampai peritoneum dan kavum intraperitoneal.
7. Identifikasi gaster lalu lakukan parsial gastrektomi sepanjang kurvatura mayor dengan klem terlebih dahulu untuk meminimalisir perdarahan
8. Jahit gaster menggunakan *polyglycolic acid* 4.0.

9. Bersihkan kavum abdomen menggunakan NaCl 0,9 %.
10. Jahit luka operasi menggunakan *polypropylene* 3.0.

3.5.8 Operasi Omentoplasti pada Pankreas

1. Tikus dipuasakan selama 10 jam sebelum dilakukan operasi.
2. Injeksikan ketamin dengan dosis 0,5 mg/kgBB secara intramuskular.
3. Bersihkan bulu bagian perut menggunakan pencukur rambut sampai tampak kulit tikus.
4. Lakukan asepsis dan antisepsis daerah operasi.
5. Lakukan insisi transversal subcostal sinistra mulai dari processus xiphoideus sampai ke lateral abdomen.
6. Perdalam lapis demi lapis kutis, subkutis, muskulus sampai peritoneum dan kavum intraperitoneal.
7. Identifikasi omentum dan lakukan penjahitan seluruh omentum mayor ke pankreas dengan *polyglycolic acid* 4.0.
8. Bersihkan kavum abdomen dengan NaCl 0,9%.
9. Jahit luka operasi dengan *polypropylene* 3.0.

3.5.9 Operasi Sleeve Gastrectomy dan Injeksi MSCs

1. Tikus dipuasakan selama 10 jam sebelum dilakukan operasi.
2. Injeksi ketamin dengan dosis 0,5 mg/kgBB secara intramuskular.
3. Bersihkan bulu bagian perut sampai kulit tikus terlihat.
4. Lakukan asepsis dan antisepsis pada daerah operasi.

5. Lakukan insisi transversal subcostal sinistra mulai dari processus xyphoideus sampai ke lateral abdomen.
6. Perdalam lapis demi lapis kutis, subkutis, muskulus sampai peritoneum dan kavum intraperitoneal.
7. Identifikasi gaster lalu lakukan parsial gastrektomi sepanjang kurvatura mayor dengan klem terlebih dahulu untuk meminimalisir perdarahan.
8. Jahit gaster menggunakan *polyglycolic acid* 4.0.
9. Bersihkan kavum abdomen menggunakan NaCl 0,9 %.
10. Jahit luka operasi menggunakan *polypropylene* 3.0.
11. Injeksikan MSCs dengan dosis 1×10^6 secara intraperitoneal.

3.5.10 Prosedur Perawatan Post Operasi

1. Setelah dilakukan operasi letakkan tikus pada kandang hangat dan selimuti untuk mencegah hipotermia.
2. Ganti balut luka operasi selama 3 hari, bersihkan dengan NaCl dan berikan salep gentamisin.

3.5.11 Cara Pengumpulan Data

3.5.11.1 Terminasi Sampel

1. Tikus dibius menggunakan campuran anestesi ketamin 80 – 100 mg/kg dan xylazin 5-10 mg/kg secara intramuskular.
2. Monitor refleks akral, frekuensi nafas dan jantung. Apabila tidak ada refleks maka tikus sudah benar benar mati.

3. Letakkan pada posisi terlentang dengan empat tungkai terfiksasi ke lateral.
4. Ambil jaringan pankreas dari dalam perut.

3.5.11.2 Pengukuran Kadar TNF- α

1. Ekstraksi RNA diambil menggunakan sampel pankreas yang ditimbang dan dipotong kecil dan halus.
2. Masukkan ke tabung berisi 1 ml Tri Reagen (Sigma-Aldrich, MO, USA).
3. Potongan organ ditumbuk menggunakan *micropastle* dan ditambah 0,5 ml Tri Reagen (Sigma-Aldrich, MO, USA) kemudian inkubasi 5 menit dalam suhu ruangan.
4. Berikan 0,2 ml kloroform dan divortex sampai larutan menjadi putih susu, kemudian inkubasi selama 2 – 3 menit dalam suhu ruang.
5. Sentrifugasi selama 15 menit pada 15.000 rpm pada suhu 4°C hingga larutan tabung memiliki 3 lapisan.
6. Pindahkan larutan pada lapisan paling atas sebanyak 0,6 ml ke tabung sentrifus baru, tambahkan isopropanolol dengan volume yang sama.
7. Goyangkan tabung *ependorf* hingga muncul benang benang putih dan sentrifugasi selama 10 menit pada 15.000 rpm di suhu 4°C.
8. Buang supernatan hingga terlihat pelet putih pada dasar tabung.

9. Setelah kering, beri 100 ml etanol 70% ke dalam larutan DEPC (*Diethyl pyrocarbonat*), lalu bolak-balikkan berulang kali dan sentrifugasi selama 5 menit pada 15.000 rpm di suhu 4°C.
10. Buang supernatan dan tambahkan DEPC sebanyak 30-50 µL.
11. Inkubasi campuran selama 10 menit pada suhu 55°C dan didapatkan total RNA *solution* lalu simpan pada suhu -80°C.
12. RNA dikuantifikasi menggunakan fluorometer Quantus (Promega, Madison, WI, USA) dengan pembuatan TE buffer 1x dengan menambahkan 1 ml 20X TE buffer dengan 19 ml *Nuclease Free Water*, campur dengan vorteks/*spindown* dan disimpan pada suhu ruang.
13. Siapkan larutan kerja dengan *High standard calibration* (10 – 500 ng/ul) dan *Low standard calibration* (0,1 – 10 ng/ul). Pada standar tinggi tambahkan 10µl *Quantifluor RNA dye* dengan 3990 µl 1X TE buffer, campur dengan vorteks/*spindown*, sedangkan pada standar rendah ditambahkan 2µl *Quantifluor RNA dye* dengan 3998 µl 1X TE buffer, campur dengan vorteks/*spindown*, dan simpan di es/ suhu -20°C untuk penyimpanan jangka panjang. Siapkan juga blank dengan menambahkan 200 µl larutan kerja *Quantifluor RNA dye* ke dalam 0,5 ml tabung PCR.
14. Siapkan sampel RNA standar tinggi dengan menambahkan 5µl RNA standar dengan 200 µl larutan Quantifluor RNA dalam 0,5

ml tabung PCR, campur dengan vortex, lalu inkubasi dalam keadaan gelap selama 5 menit, dan ukur nilai standar.

15. Sampel standar rendah menggunakan 10 ng standard dengan mengencerkan 10 µl RNA standard dengan 990 µl 1X TE Buffer, campur dengan vortex, ambil 10 µl dari larutan RNA diatas dan tambah dengan 200 µl *Quantifluor RNA dye* dalam tabung 0,5 ml, campur dengan vortex, lalu inkubasi dalam keadaan gelap selama 5 menit dan ukur nilai standar.
16. Pengukuran sampel RNA dilakukan dengan menambahkan 1-20 µl sampel RNA dalam 200 µl *Quantifluor RNA dye* dalam 0,5 ml tabung PCR, campur dengan vortex, lalu inkubasi dalam keadaan gelap selama 5 menit ukur konsentrasi sampel. Hasil kuantifikasi dihitung untuk dijadikan 3000 ng.
17. Sintesis cDNA dengan 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 ddH₂O* ke dalam tabung mikrosentrifus 200/500 µL.
18. Resuspensi perlahan dan sentrifugasi singkat dengan spinner, lalu masukkan tube ke *thermal cyler* (PCR) dan inkubasi selama 10 menit pada suhu 70°C. Lalu ambil tabung, taruh pada *freezing block*, tambahkan beberapa komponen seperti 10X buffer for

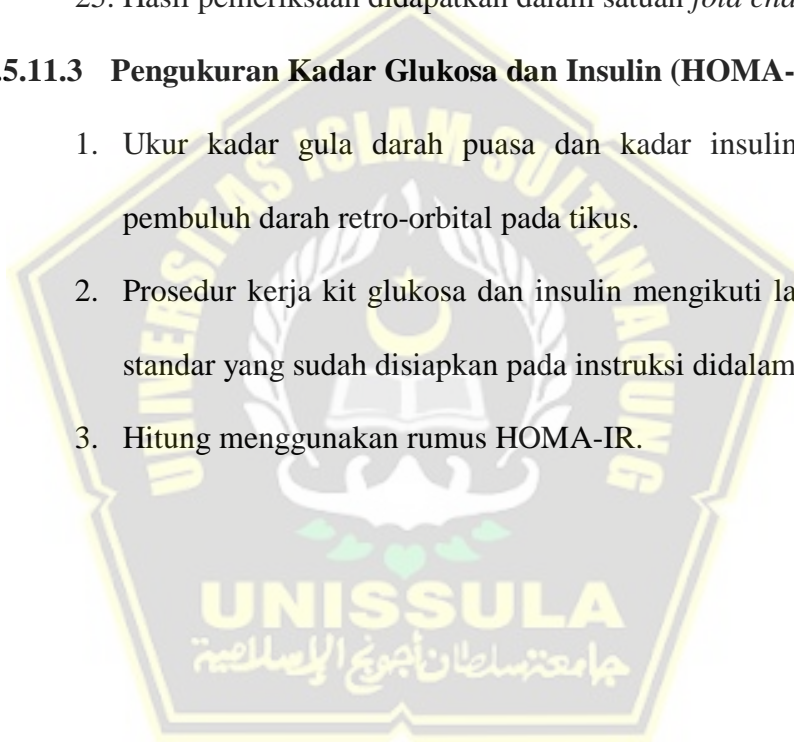
eAMV-RT, RNase inhibitor, *enhanced avian* RT, dan *water PCR reagent/nuclease free water/sterile* ddH₂O.

19. Masukkan tabung ke *thermal cycler* (PCR) dan inkubasi selama 30 menit pada suhu 45-50°C. Keluarkan tabung dan sampel siap dianalisis atau disimpan pada suhu -20°C.
20. Mengevaluasi ekspresi kadar TNF- α menggunakan *real-time polymerase chain reaction* (qRT-PCR) dengan Kappa SYBR Fast Master Mix 2x (KAPA Biosystem, KK4600, Massachusetts USA).
21. Buat campuran 2 μ L cDNA sampel, 10 μ L SYBR *Fast master mix universal*, *primer forward* dan *reverse* TNF- α masing-masing 0,6 μ L, dan 6,8 μ L PCR *water* atau buatlah sampai volume total sebanyak 20 μ L.
22. Campuran dimasukkan ke dalam mesin qPCR *Illumina's Eco Real-Time PCR System* dengan program amplifikasi 40 siklus, yaitu:
 - i. Denaturasi 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

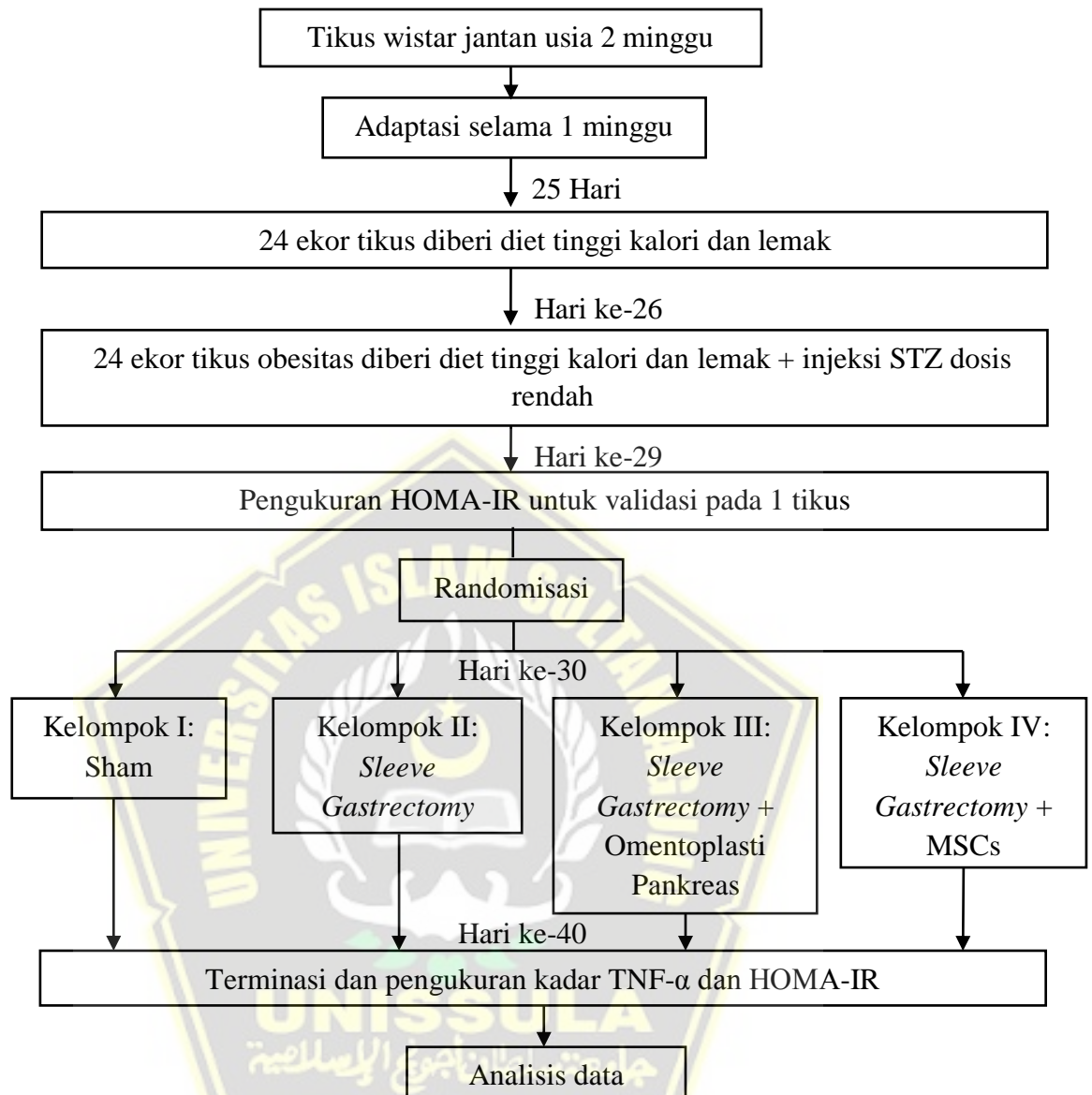
23. Hasil diperoleh berupa nilai *cycle of threshold* (CT) yang merupakan jumlah siklus saat *fluorescence* dari sampel melampaui *background* pada setiap sampel yang diperiksa.
24. Ekspresi relatif mRNA dihitung menggunakan rumus:
$$2^{-\Delta\Delta CT}$$
$$\Delta\Delta CT = (CT \text{ gen sampel yang diperiksa} - CT \text{ housekeeping gen sampel}) - (CT \text{ gen yang diperiksa kalibrator} - CT \text{ housekeeping gen kalibrator})$$
25. Hasil pemeriksaan didapatkan dalam satuan *fold change*.

3.5.11.3 Pengukuran Kadar Glukosa dan Insulin (HOMA-IR)

1. Ukur kadar gula darah puasa dan kadar insulin serum dari pembuluh darah retro-orbital pada tikus.
2. Prosedur kerja kit glukosa dan insulin mengikuti langkah sesuai standar yang sudah disiapkan pada instruksi didalam kit.
3. Hitung menggunakan rumus HOMA-IR.



3.6 Alur Penelitian



Gambar 3.8 Alur Penelitian

3.7 Tempat dan Waktu Penelitian

3.7.1 Tempat Penelitian

Adaptasi, perawatan, perlakuan, tindakan dan pengukuran kadar glukosa dan indeks resistensi insulin dilakukan di Laboratorium Pangan dan Gizi PAU UGM Yogyakarta. Terminasi

hewan coba dan pemeriksaan kadar TNF- α dilaksanakan di Laboratorium *Stem Cell and Cancer Research* (SCCR) Gedung *Integrated Biomedical Laboratory* (IBL) Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

3.7.2 Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Agustus - Oktober 2021.

3.8 Analisis Hasil

Data hasil penelitian dianalisis dalam beberapa tahap menggunakan *Statistical Product and Service Solutions* (SPSS) for Windows. Untuk mengetahui normalitas data dilakukan uji normalitas menggunakan uji *Shapiro-Wik* karena subjek <50. Uji homogenitas dinilai dari tabel *Test of Homogeneity of Variance*. Uji data kadar TNF- α menggunakan uji parametrik *One Way ANOVA* dilanjutkan uji Post Hoc Tamhane's karena data berdistribusi normal dan tidak homogen. Uji data indeks resistensi insulin menggunakan uji non parametrik *Kruskal Wallis* kemudian uji *Mann-Whitney* karena data berdistribusi tidak normal dan tidak homogen.

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

Penelitian “Pengaruh Omentoplasti dan MSCs terhadap Kadar TNF- α dan Indeks Resistensi Insulin” telah dilakukan di Laboratorium Pangan dan Gizi PAU UGM Yogyakarta dan Laboratorium *Stem Cell and Cancer Research* (SCCR) Gedung *Integrated Biomedical Laboratory* (IBL) Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang. Penelitian dilaksanakan menggunakan 24 ekor tikus wistar obesitas yang telah dibagi menjadi 4 kelompok yaitu kelompok kontrol sham (K1), kelompok kontrol SG (K2), kelompok perlakuan SG dan omentoplasti pankreas (P1) dan kelompok perlakuan SG dan MSCs (P2) selama total 40 hari. Pada hari ke-29 dilakukan pemeriksaan pada satu ekor tikus untuk mengkonfirmasi keadaan obesitas dengan menggunakan indeks Lee dan keadaan DM tipe 2 dengan GDP dan insulin puasa kemudian dihitung dengan rumus HOMA-IR. MSCs yang diberikan pada tikus penelitian ini telah dilakukan proses isolasi dari *umbilical cord* tikus dan dikultur serta dilakukan validasi sel dengan Anti-Rat CD90 PerCP, Anti-Rat CD45 FITC, Anti-Rat CD31 PE, Anti-Rat CD29 Alexa Fluor 647, Media Basal Diferensiasi Adipogenik dan Media Basal Diferensiasi Osteogenik MesenCult.

Setelah ditentukan kelompok penelitian, tikus diberikan perlakuan dan perawatan selama 10 hari (hari ke-31 hingga hari ke-40). Pada hari ke-40

dilakukan pengambilan sampel darah dari pembuluh darah retro-orbita untuk pemeriksaan indeks resistensi insulin menggunakan GDP dan kadar insulin puasa dan dihitung dengan rumus HOMA-IR yang dilakukan di Laboratorium Pangan dan Gizi PAU UGM Yogyakarta. Kemudian tikus di terminasi dan diambil sampel jaringan organ pankreas untuk pemeriksaan kadar TNF- α menggunakan alat qRT-PCR di Laboratorium SCCR Gedung IBL UNISSULA Semarang. Data yang didapat kemudian dianalisis dengan SPSS.

4.1.1. Analisis Deskriptif

4.1.1.1 Konfirmasi Tikus Penelitian

Tabel 4.1 Hasil Pemeriksaan Tikus Untuk Konfirmasi Sampel

Parameter	Hasil
Berat Tikus (gram)	260
Panjang Tikus (cm)	19,75
Indeks Lee (>300)	323,16
Gula Darah Puasa (mg/dl)	259,00
Insulin (U/ml)	132,79
Nilai <i>Cut Off</i> HOMA-IR	84,92

Hasil pada tabel menunjukkan indeks Lee > 300 sehingga dapat diartikan dengan tikus sudah memasuki keadaan obesitas. Nilai *cut off* didapatkan hasil 84,92 sehingga dapat diartikan bahwa tikus sudah memasuki keadaan resistensi insulin dengan kondisi DM tipe 2 karena nilai *cut off* ≥ 2 (Lee *et al.*, 2016).

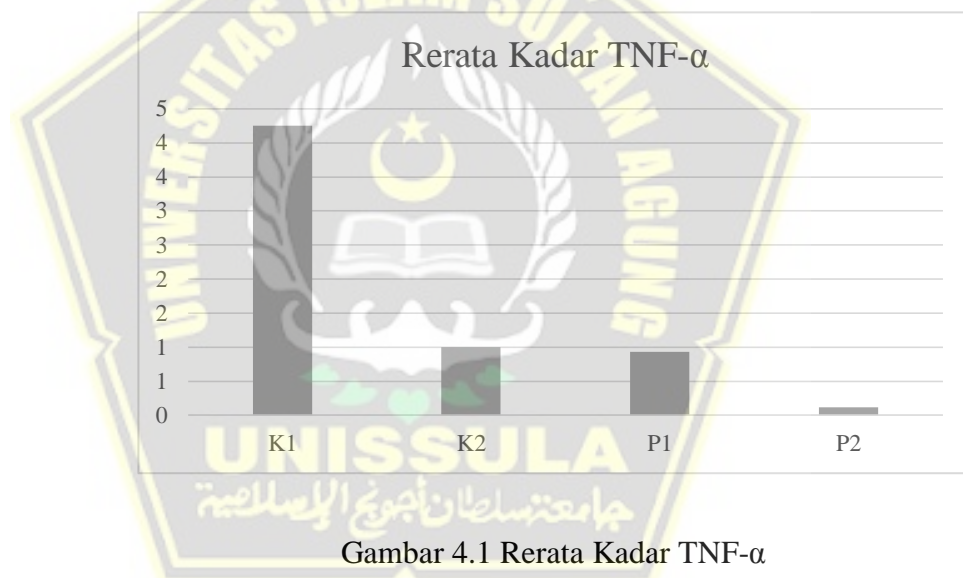
4.1.1.2 Deskriptif Data

4.1.1.2.1 Kadar TNF- α

Data yang diperoleh kemudian diolah untuk melihat rerata kadar TNF- α pada setiap kelompok penelitian seperti pada tabel 4.2.

Tabel 4.2 Rerata Kadar TNF- α

Kelompok	Mean \pm Std	Median (%)
K1	5,90 \pm 5,16	4,25
K2	1,003 \pm 0,002	1,0035
P1	0,81 \pm 0,50	0,93
P2	0,13 \pm 0,07	0,12



Gambar 4.1 Rerata Kadar TNF- α

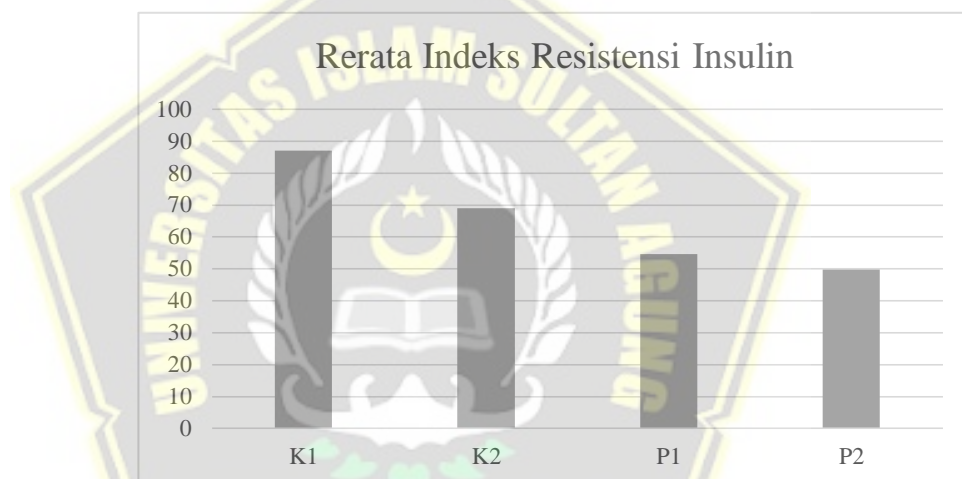
Grafik diatas menunjukkan terjadi penurunan kadar TNF- α pada kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol. Kadar TNF- α kelompok perlakuan P2 lebih rendah dibandingkan kelompok lainnya.

4.1.1.2.2 Indeks Resistensi Insulin

Data yang diperoleh kemudian diolah untuk melihat rerata indeks resistensi insulin pada masing masing kelompok penelitian seperti pada tabel 4.3.

Tabel 4.3 Rerata Indeks Resistensi Insulin

Kelompok	Mean \pm Std	Median (%)
K1	87,0167 \pm 0,43757	87,075
K2	69,01 \pm 2,05402	69
P1	56,7617 \pm 6,40132	54,57
P2	49,8233 \pm 1,07303	49,725



Gambar 4.2 Rerata Indeks Resistensi Insulin

Berdasarkan gambar dan grafik, dapat diketahui adanya penurunan indeks resistensi insulin pada kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol. Hasil indeks resistensi insulin paling rendah ditunjukkan pada kelompok P2.

4.1.1.3 Distribusi Data

4.1.1.3.1 Kadar TNF- α

Data kadar TNF- α kemudian dilakukan uji normalitas menggunakan Shapiro-Wilk. Hasil uji normalitas dapat dilihat pada tabel 4.4.

Tabel 4.4 Hasil Uji Normalitas Kadar TNF- α

Kelompok	Uji Normalitas
	Sig.
K1	0,055*
K2	0,961*
P1	0,816*
P2	0,294*

Berdasarkan tabel diatas, data kadar TNF- α berdistribusi normal ($p > 0,05$). Data hasil uji normalitas ini dilanjutkan dengan uji homogenitas dan hasilnya seperti yang ditunjukkan pada tabel berikut:

Tabel 4.5 Hasil Uji Homogenitas Kadar TNF- α

Kelompok	Uji Homogenitas
	Sig.
K1	0,005
K2	
P1	
P2	

Berdasarkan tabel dapat disimpulkan bahwa data kadar TNF- α adalah tidak homogen ($p < 0,05$). Uji normalitas dan uji homogenitas kadar TNF- α menunjukkan hasil distribusi data normal dan tidak homogen sehingga dapat dilanjutkan dengan uji parametrik One-way ANOVA.

4.1.1.3.2 Indeks Resistensi Insulin

Data indeks resistensi insulin kemudian dilakukan uji normalitas menggunakan Shapiro-Wilk. Hasil uji normalitas dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 4.6 Hasil Uji Normalitas Indeks Resistensi Insulin

Kelompok	Uji Normalitas
	Sig.
K1	0,651*
K2	0,164*
P1	0,001
P2	0,896*

Berdasarkan tabel dapat disimpulkan bahwa data indeks resistensi insulin berdistribusi normal ($p > 0,05$) pada tiga kelompok sedangkan berdistribusi tidak normal ($p < 0,05$) pada satu kelompok yaitu kelompok P1. Data yang tidak berdistribusi normal ini perlu dilakukan transformasi menggunakan Log10. Hasil transformasi dapat dilihat pada tabel 4.7.

Tabel 4.7 Hasil Uji Normalitas Indeks Resistensi Insulin Sesudah Transformasi

Kelompok	Uji Normalitas
	Sig.
K1	0,655*
K2	0,176*
P1	0,002
P2	0,885*

Hasil transformasi data indeks resistensi insulin menunjukkan bahwa data tetap tidak berdistribusi secara normal ($p < 0,05$) pada kelompok P1. Data ini kemudian diolah

menggunakan uji homogenitas, hasil ditunjukkan pada tabel berikut:

Tabel 4.8 Hasil Uji Homogenitas Indeks Resistensi Insulin

Kelompok	Uji Homogenitas
	Sig.
K1	0,027
K2	
P1	
P2	

Berdasarkan tabel, hasil uji homogenitas menunjukkan bahwa data indeks resistensi insulin tidak homogen ($p < 0,05$).

Uji normalitas dan uji homogenitas indeks resistensi insulin menunjukkan hasil distribusi data tidak normal dan tidak homogen maka harus dilanjutkan menggunakan uji non-parametrik Kruskal Wallis.

4.1.2. Analisis Bivariat

4.1.2.1 Kadar TNF- α

Data kadar TNF- α kemudian dilanjutkan dengan uji parametrik One Way ANOVA untuk mengetahui perbedaan antar kelompok. Hasil uji ANOVA dapat dilihat pada tabel 4.9.

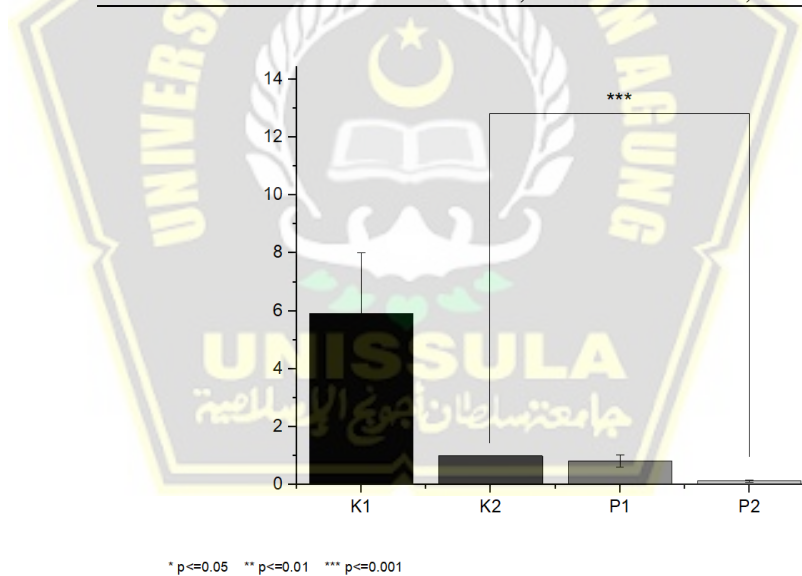
Tabel 4.9 Hasil Uji One Way ANOVA Kadar TNF- α

Kelompok	Mean	Sig.
K1	5,90 \pm 5,16	0,004*
K2	1,003 \pm 0,002	
P1	0,81 \pm 0,50	
P2	0,13 \pm 0,07	

Berdasarkan tabel tersebut, didapatkan nilai $p = 0,004$, menunjukkan nilai $p < 0,05$ sehingga dapat diartikan terdapat perbedaan yang bermakna pada kelompok penelitian. Kelompok yang memiliki perbedaan dapat diketahui dengan uji Post Hoc Tamhane's. Hasil uji beda kadar TNF- α dapat dilihat pada tabel 4.10.

Tabel 4.10 Hasil Uji Post Hoc Tamhane's Kadar TNF- α

Kelompok Uji	Mean Diff.	Sig.
K1 vs K2	4,89650	0,344
K1 vs P1	5,08833	0,312
K1 vs P2	5,77000	0,222
K2 vs P1	0,19183	0,950
K2 vs P2	0,87350	0,000*
P1 vs P2	0,68167	0,117



Gambar 4.3 Grafik Hubungan Antar Kelompok Variabel Kadar TNF- α

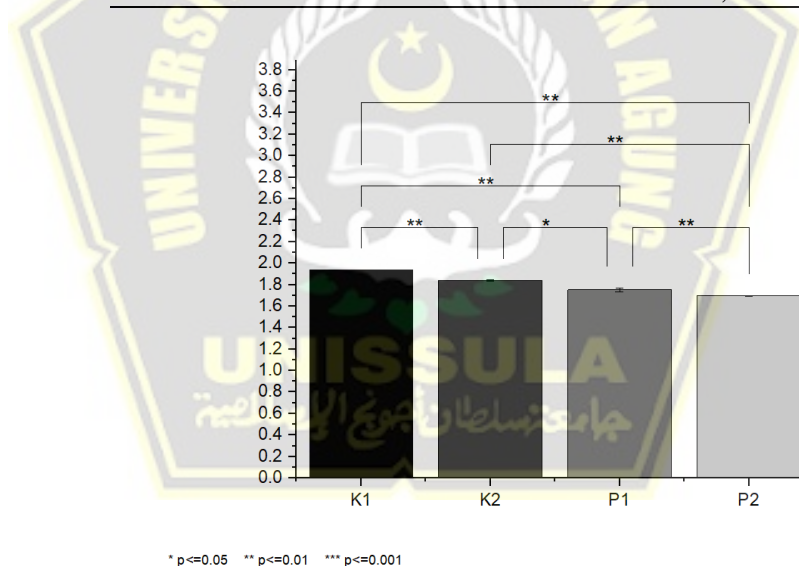
Hasil Uji Post Hoc Tamhane's didapatkan nilai $p < 0,05$ pada kelompok K2 dengan P2 sehingga dapat diartikan pada kelompok tersebut didapatkan perbedaan yang bermakna.

4.1.2.2 Indeks Resistensi Insulin

Data indeks resistensi insulin didapatkan distribusi data tidak normal dan tidak homogen sehingga untuk mengetahui adanya perbedaan antar kelompok di uji dengan uji non parametrik Kruskal Wallis.

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

Kelompok Uji	Uji Kruskal Wallis	Uji Mann Whitney
	Sig.	Sig.
K1 vs K2		0,004*
K1 vs P1		0,004*
K1 vs P2		0,004*
K2 vs P1	0,000*	0,025*
K2 vs P2		0,004*
P1 vs P2		0,004*



Gambar 4.3 Grafik Hubungan Antar Kelompok Variabel Indeks Resistensi Insulin

Berdasarkan tabel 4.11 dapat dilihat hasil uji Kruskal Wallis dan uji Mann Whitney. Hasil uji Kruskal Wallis didapatkan nilai $p = 0,000$ menunjukkan bahwa nilai $p < 0,05$ sehingga disimpulkan

terdapat perbedaan yang bermakna pada masing-masing kelompok penelitian.

Untuk mengetahui kelompok yang memiliki perbedaan signifikan dilakukan uji beda Mann-Whitney. Hasil uji beda Mann-Whitney menunjukkan nilai $p < 0,05$ pada seluruh kelompok sehingga dapat diartikan bahwa seluruh kelompok kontrol dan kelompok perlakuan memiliki perbedaan yang bermakna.

4.2 Pembahasan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh omentoplasti pankreas dan MSCs terhadap kadar TNF- α dan indeks resistensi insulin. Penelitian menggunakan model hewan coba 24 ekor tikus wistar yang telah terkonfirmasi mengalami obesitas dan DM tipe 2. Hewan coba kemudian dibagi menjadi empat kelompok perlakuan berbeda yaitu K1 dengan perlakuan sham, K2 dengan perlakuan SG, P1 dengan perlakuan SG dan omentoplasti pankreas serta P2 dengan perlakuan SG dan MSCs. Penelitian ini menunjukkan adanya penurunan rerata kadar TNF- α dan indeks resistensi insulin pada kelompok kontrol SG dan kelompok perlakuan dibandingkan kelompok kontrol sham. Penurunan kadar TNF- α dan indeks resistensi insulin diduga akibat perubahan efek metabolik gaster setelah operasi bariatrik. Penelitian sebelumnya menunjukkan penurunan inflamasi sistemik, peningkatan sensitivitas insulin dan peningkatan toleransi tubuh terhadap glukosa dalam 12 bulan setelah SG namun perbaikan secara sistemik yang

ini diduga tidak menjadi manfaat langsung dari tindakan pembedahan bariatik tersebut (Hagman *et al.*, 2017). Sehingga diperlukan terapi adjuvan untuk mempercepat penurunan kadar TNF- α dan perbaikan indeks resistensi insulin.

Hasil penelitian menunjukkan penurunan kadar TNF- α yang signifikan pada kelompok perlakuan. Keadaan ini sesuai dengan teori bahwa MSCs dapat menurunkan inflamasi tubuh yang ditandai dengan penurunan mediator inflamasi seperti TNF- α dan IL-6 (Qi *et al.*, 2019). Pada penelitian ini didapati peningkatan mediator inflamasi akibat kondisi obesitas. Kondisi obesitas akan menyebabkan kematian dari sel adiposa tubuh akibat pelebaran diameter sel dan hipoksia sel sehingga menyebabkan aktivasi dari sel imun. (O'Rourke, 2020). MSCs memiliki kemampuan untuk menghambat dari maturasi sel dendritik sehingga akan menurunkan ekspresi TNF- α . Selain itu, MSCs akan mempolarisasi makrofag pro-inflamasi (M1) menjadi anti-inflamasi (M2) yang akan melepaskan sitokin anti inflamasi seperti IL-10 dalam konsentrasi tinggi dan membantu meredakan inflamasi (Putra, 2019).

Rerata indeks resistensi insulin juga didapatkan menurun pada kelompok perlakuan dibandingkan kelompok kontrol. Penurunan ini sebagai tanda munculnya perbaikan sensitivitas tubuh terhadap insulin. Pada keadaan tubuh yang mengalami resistensi insulin hingga DM tipe 2 terjadi gangguan pada pensinyalan insulin yang berakibat pada penurunan sensitivitas insulin (Petersen and Shulman, 2018). Gangguan ini dapat terjadi melalui jalur

IKK/NF- κ B dan jalur JNK yang diaktifkan oleh TNF- α . Aktivasi jalur ini akan menyebabkan peningkatan fosforilasi serin yang diperantarai IKK pada IRS-1 atau IR, menekan ekspresi molekul GLUT4 dan menyebabkan fosforilasi serin dan treonin IRS-1 (Wu and Ballantyne, 2017). Sesuai dengan teori, MSCs akan meningkatkan ekspresi IR dan GLUT4 pada tubuh sehingga terjadi perbaikan pada pensinyalan dan sensitivitas insulin (Qi *et al.*, 2019). Penelitian sebelumnya oleh Kim dkk (2021) menunjukkan adanya perbaikan ekspresi GLUT4 dan penurunan fosforilasi IRS-1 pada pemberian *umbilical cord* MSCs pada sel otot tikus menyebabkan perbaikan dari resistensi insulin (Kim *et al.*, 2021). Penelitian lain oleh Wang dkk (2018) menunjukkan adanya perbaikan dari sel β pankreas dan penurunan ekspresi TNF- α sehingga terjadi perbaikan keadaan resistensi insulin pada tikus dengan DM tipe 2 yang diberi terapi *Adipose tissue-derived Stem Cells* (ASCs) (Wang *et al.*, 2018).

Pada penelitian ini omentoplasti pankreas pada kelompok perlakuan diketahui menurunkan kadar TNF- α namun tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan kelompok kontrol dan menurunkan indeks resistensi insulin pada kelompok perlakuan secara signifikan dibanding kelompok kontrol. Hasil ini membuktikan teori bahwa omentum memiliki sifat imunologi salah satunya oleh VAT-Tregs yang akan mengekspresikan sitokin anti-inflamasi seperti IL-10 dalam jumlah banyak sehingga dapat membantu meredakan inflamasi tubuh dan meringankan keadaan resistensi insulin (Meza-Perez and Randall, 2017). Perbaikan yang dihasilkan

omentum terhadap kadar TNF- α dan indeks resistensi insulin tidak sebaik perbaikan yang ditunjukkan oleh pemberian MSCs karena respon imunologi omentum yang bersifat lokal. Populasi Tregs, sel *innate lymphoid cells* (ILC2), sel *Natural Killer T* (NKT) dan makrofag di omentum dan *milky spots* (MS) ini yang bertugas menimbulkan respon imunologi (Meza-Perez and Randall, 2017). MSCs menunjukkan perbaikan yang lebih baik akibat kemampuan homing dan parakrin-nya. Homing MSCs adalah kemampuan MSCs untuk migrasi menuju area yang mengalami inflamasi akibat stimulasi dari molekul sel radang seperti TNF- α . Selain itu, MSCs memiliki kemampuan parakrinisasi dengan mengeluarkan molekul komunikator seperti anti-inflamasi dan pro-regenerasi (Putra, 2019). Mekanisme inilah yang dapat mendasari dari percepatan perbaikan kadar TNF- α dan indeks resistensi insulin pada pemberian MSCs.

Keterbatasan dari penelitian ini yaitu tidak dinilainya kadar mediator inflamasi lain seperti IL-6 terhadap pengaruh omentoplasti pankreas dan injeksi MSCs. Penelitian ini juga tidak menilai pengaruh omentoplasti pankreas dan MSCs terhadap ekspresi atau jumlah IR yang memiliki pengaruh langsung terhadap sensitivitas insulin. Keterbatasan lain penelitian ini adalah tidak dilakukannya pengamatan secara berkala dalam jangka panjang terhadap penurunan kadar TNF- α dan perbaikan indeks resistensi insulin.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

- 5.1.1 Omentoplasti pankreas dan injeksi MSCs dapat menurunkan kadar TNF- α pada tikus obesitas yang dilakukan *sleeve gastrectomy* dibandingkan kelompok kontrol.
- 5.1.2 Omentoplasti pankreas dan injeksi MSCs dapat menurunkan indeks resistensi insulin pada tikus obesitas yang dilakukan *sleeve gastrectomy* dibandingkan kelompok kontrol.
- 5.1.3 Injeksi MSCs memberikan penurunan lebih besar terhadap kadar TNF- α dan indeks resistensi insulin pada tikus obesitas yang dilakukan *sleeve gastrectomy* dibandingkan dengan omentoplasti pankreas.

5.2 Saran

- 5.2.1 Penelitian lanjutan terhadap mediator inflamasi lain seperti IL-6 dapat dilakukan untuk mengetahui pengaruh omentoplasti pankreas dan MSCs pada tikus obesitas yang dilakukan *sleeve gastrectomy*.
- 5.2.2 Penelitian lanjutan terhadap variabel IR dapat diteliti untuk mengetahui pengaruh omentoplasti pankreas dan MSCs terhadap indeks resistensi insulin secara lebih mendetail.
- 5.2.3 Penelitian mengenai omentoplasti pankreas dan injeksi MSCs terhadap tikus obesitas yang dilakukan *sleeve gastrectomy* dapat dilakukan pengamatan secara berkala atau dalam jangka waktu yang lebih panjang

untuk mengetahui tren atau perbaikan yang timbul pada kadar TNF- α dan indeks resistensi insulin.



DAFTAR PUSTAKA

- Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan (2018) *RISKESDAS, Kementerian Kesehatan Republik Indonesia*. Available at: <https://kesmas.kemkes.go.id/konten/105/0/020417-hasil-risikesdas-2018> (Accessed: 2 September 2021).
- Baratawidjaja, K. G., Rengganis, I. (2018) *Imunologi Dasar*. 12th edn. Jakarta: Badan Penerbit FKUI.
- Bartholomeus, K., Jacobs-Tulleneers-Thevissen, D., Shouyue, S., Suenens, K., In't Veld, P. A., Pipeleers-Marichal, M., Pipeleers, D. G., Hellemans, K. (2013) 'Omentum Is Better Site Than Kidney Capsule for Growth, Differentiation, and Vascularization of Immature Porcine β -Cell Implants in Immunodeficient Rats', *Transplantation*, 96(12), pp. 1026–1033. doi: 10.1097/TP.0b013e3182a6ee41.
- Bray, G. A., Heisel, W. E., Afshin, A., Jensen, M. D., Dietz, W. H., Long, M., Kushner, R. F., Daniels, S. R., Wadden, T. A., Tsai, A. G., Hu, F. B., Jakicic, J. M., Ryan, D. H., Wolfe, B. M., Inge, T. H. (2018) 'The Science of Obesity Management: An Endocrine Society Scientific Statement', *Endocrine Reviews*, 39(2), pp. 79–132. doi: 10.1210/er.2017-00253.
- Chousleb, E., Rodriguez, J. A., O'Leary, J. P. (2020) 'History of the Development of Metabolic/Bariatric Surgery', in *The ASMBS Textbook of Bariatric Surgery*. Cham: Springer International Publishing, pp. 37–46. doi: 10.1007/978-3-030-27021-6_3.
- Dimas, E., Mughni, A., Wiryawan, C., Mahendra, V., Riwanto, I. (2021) 'Sleeve gastrectomy and pancreas omentoplasty improved \hat{I}^2 cell insulin expression and interleukin- \hat{I}^2 serum level in non-obese diabetes mellitus rat', *Bali Medical Journal*, 10(1), pp. 460–466. doi: 10.15562/bmj.v10i1.2258.
- Di Domenico, M., Pinto, F., Quagliuolo, L., Contaldo, M., Settembre, G., Romano, A., Coppola, M., Ferati, K., Bexheti-Ferati, A., Sciarra, A., Nicoletti, G. F., Ferraro, G. A., Boccellino, M. (2019) 'The Role of Oxidative Stress and Hormones in Controlling Obesity', *Frontiers in Endocrinology*, 10. doi: 10.3389/fendo.2019.00540.
- DuCoin, C., Moore, R. L., Provost, D. A. (2020) 'Indications and Contraindications for Bariatric Surgery', in *The ASMBS Textbook of Bariatric Surgery*. Cham: Springer International Publishing, pp. 77–81. doi: 10.1007/978-3-030-27021-6_6.
- Fan, X.-L., Zhang, Y., Li, X., Fu, Q.-L. (2020) 'Mechanisms underlying the protective effects of mesenchymal stem cell-based therapy', *Cellular and Molecular Life Sciences*, 77(14), pp. 2771–2794. doi: 10.1007/s00018-020-03454-6.

- Firdaus, F., Rimbawan, R., Marliyati, S. A., Roosita, K. (2016) 'MODEL TIKUS DIABETES YANG DIINDUKSI STREPTOZOTOCIN-SUKROSA UNTUK PENDEKATAN PENELITIAN DIABETES MELITUS GESTASIONAL', *Jurnal Media Kesehatan Masyarakat Indonesia*, 12(1), pp. 29–34. Available at: <https://journal.unhas.ac.id/index.php/mkmi/article/view/550%0A>.
- Funes, D. R., Lo Menzo, E., Szomstein, S., Rosenthal, R. J. (2020) 'Physiological Mechanisms of Bariatric Procedures', in *The ASMBS Textbook of Bariatric Surgery*. Cham: Springer International Publishing, pp. 61–76. doi: 10.1007/978-3-030-27021-6_5.
- Goyal, G., Panag, K. M. S., Kaur, N. (2014) 'Correlation of insulin resistance by various methods with fasting insulin in obese', *International Journal of Applied and Basic Medical Research*, 4(3), p. 41. doi: 10.4103/2229-516X.140733.
- Hagman, D. K., Larson, I., Kuzma, J. N., Cromer, G., Makar, K., Rubinow, K. B., Foster-Schubert, K. E., van Yserloo, B., Billing, P. S., Landerholm, R. W., Crouthamel, M., Flum, D. R., Cummings, D. E., Kratz, M. (2017) 'The short-term and long-term effects of bariatric/metabolic surgery on subcutaneous adipose tissue inflammation in humans', *Metabolism*, 70, pp. 12–22. doi: 10.1016/j.metabol.2017.01.030.
- Horáková, D., Štěpánek, Ladislav, Janout, V., Janoutová, J., Pastucha, D., Kollárová, H., Petráková, A., Štěpánek, Lubomír, Husár, R., Martiník, K. (2019) 'Optimal Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance (HOMA-IR) Cut-Offs: A Cross-Sectional Study in the Czech Population', *Medicina*, 55(5), p. 158. doi: 10.3390/medicina55050158.
- Kheirvari, M., Dadkhah Nikroo, N., Jaafarinejad, H., Farsimadan, M., Eshghjoo, S., Hosseini, S., Anbara, T. (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.
- Kim, K.-S., Choi, Y. K., Kim, M. J., Hwang, J. W., Min, K., Jung, S. Y., Kim, S.-K., Choi, Y.-S., Cho, Y.-W. (2021) 'Umbilical Cord-Mesenchymal Stem Cell-Conditioned Medium Improves Insulin Resistance in C2C12 Cell', *Diabetes & Metabolism Journal*, 45(2), pp. 260–269. doi: 10.4093/dmj.2019.0191.
- 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.
- Lee, C. H., Shih, A. Z. L., Woo, Y. C., Fong, C. H. Y., Leung, O. Y., Janus, E., Cheung, B. M. Y., Lam, K. S. L. (2016) 'Optimal Cut-Offs of Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance (HOMA-IR) to Identify

- Dysglycemia and Type 2 Diabetes Mellitus: A 15-Year Prospective Study in Chinese', *PLOS ONE*. Edited by C. Hu, 11(9), p. e0163424. doi: 10.1371/journal.pone.0163424.
- Lee, S.-I., Kim, J.-W., Lee, Y.-K., Yang, S.-H., Lee, I.-A., Suh, J.-W., Kim, S.-D. (2011) 'Anti-obesity Effect of *Monascus pilosus* Mycelial Extract in High Fat Diet-induced Obese Rats', *Journal of Applied Biological Chemistry*, 54(3), pp. 197–205. doi: 10.3839/jabc.2011.033.
- Liu, Y., Wang, X., Zhao, Y., Zhao, P., Wang, L., Zhai, Q., Zhang, X., Tian, W., Xiang, X., Li, T. (2017) 'Upregulation of Tumor Necrosis Factor- α - Induced Protein 8-Like 2 mRNA Is Negatively Correlated with Serum Concentrations of Tumor Necrosis Factor- α and Interleukin 6 in Type 2 Diabetes Mellitus', *Journal of Diabetes Research*, 2017, pp. 1–10. doi: 10.1155/2017/4802319.
- Marques, C., Meireles, M., Norberto, S., Leite, J., Freitas, J., Pestana, D., Faria, A., Calhau, C. (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.
- McArdle, M. A., Finucane, O. M., Connaughton, R. M., McMorrow, A. M., Roche, H. M. (2013) 'Mechanisms of Obesity-Induced Inflammation and Insulin Resistance: Insights into the Emerging Role of Nutritional Strategies', *Frontiers in Endocrinology*, 4. doi: 10.3389/fendo.2013.00052.
- Meza-Perez, S., 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.
- Mirzaalian, Y., Nourian, M., Gholamalizadeh, M., Doaei, S., Hatami, M., Hassanzadeh, A., Askari, G., Farahi, R. (2019) 'The association of quantitative insulin sensitivity indices (HOMA-IR and QUICKI) with anthropometric and cardiometabolic indicators in adolescents', *Archives of Medical Science - Atherosclerotic Diseases*, 4(1), pp. 32–37. doi: 10.5114/amsad.2019.84411.
- 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.
- Obesity and Overweight* (2020) WHO. Available at: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight> (Accessed: 21 November 2020).
- Peng, B.-Y., Dubey, N. K., Mishra, V. K., Tsai, F.-C., Dubey, R., Deng, W.-P.,

- Wei, H.-J. (2018) 'Addressing Stem Cell Therapeutic Approaches in Pathobiology of Diabetes and Its Complications', *Journal of Diabetes Research*, 2018, pp. 1–16. doi: 10.1155/2018/7806435.
- Petersen, M. C., Shulman, G. I. (2018) 'Mechanisms of Insulin Action and Insulin Resistance', *Physiological Reviews*, 98(4), pp. 2133–2223. doi: 10.1152/physrev.00063.2017.
- Pucci, A., Batterham, R. L. (2019) 'Mechanisms underlying the weight loss effects of RYGB and SG: similar, yet different', *Journal of Endocrinological Investigation*, 42(2), pp. 117–128. doi: 10.1007/s40618-018-0892-2.
- Putra, A. (2019) *Basic Molecular Stem Cell*. Edited by A. Soebandrio and Y. Kusnadi. Semarang: Unissula Press.
- Qi, Y., Ma, J., Li, S., Liu, W. (2019) 'Applicability of adipose-derived mesenchymal stem cells in treatment of patients with type 2 diabetes', *Stem Cell Research & Therapy*, 10(1), p. 274. doi: 10.1186/s13287-019-1362-2.
- Soelistijo, S. A., Lindarto, D., Decroli, E., Permana, H., Sucipto, K. W., Kusnadi, Y., Budiman, Ikhsan, M. R., Sasiarini, L., Sanusi, H. (2019) *Pedoman Pengelolaan dan Pencegahan Diabetes Melitus Tipe 2 Dewasa di Indonesia*. PB PERKENI.
- Tang, Q., Li, X., Song, P., Xu, L. (2015) 'Optimal cut-off values for the homeostasis model assessment of insulin resistance (HOMA-IR) and pre-diabetes screening: Developments in research and prospects for the future', *Drug discoveries & therapeutics*, pp. 380–385. doi: 10.5582/ddt.2015.01207.
- 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.
- Wang, A. W., Cauvi, D. M., Hawisher, D., Reyes, T., Coimbra, R., Bickler, S., De Maio, A. (2019) 'The Contribution of the Omentum to the Outcome From Sepsis: An Experimental Animal Study', *Shock*, 52(6), pp. 604–611. doi: 10.1097/SHK.0000000000001311.
- Wang, M., Song, L., Strange, C., Dong, X., Wang, H. (2018) 'Therapeutic Effects of Adipose Stem Cells from Diabetic Mice for the Treatment of Type 2 Diabetes', *Molecular Therapy*, 26(8), pp. 1921–1930. doi: 10.1016/j.ymthe.2018.06.013.
- Wu, H., Ballantyne, C. M. (2017) 'Skeletal muscle inflammation and insulin resistance in obesity', *Journal of Clinical Investigation*, 127(1), pp. 43–54. doi: 10.1172/JCI88880.
- Zundel, N., Hernandez R., J. D., Gagner, M. (2020) 'Laparoscopic Sleeve Gastrectomy: Technique and Outcomes', in *The ASMBS Textbook of*

Bariatric Surgery. Cham: Springer International Publishing, pp. 149–159.
doi: 10.1007/978-3-030-27021-6_13.

