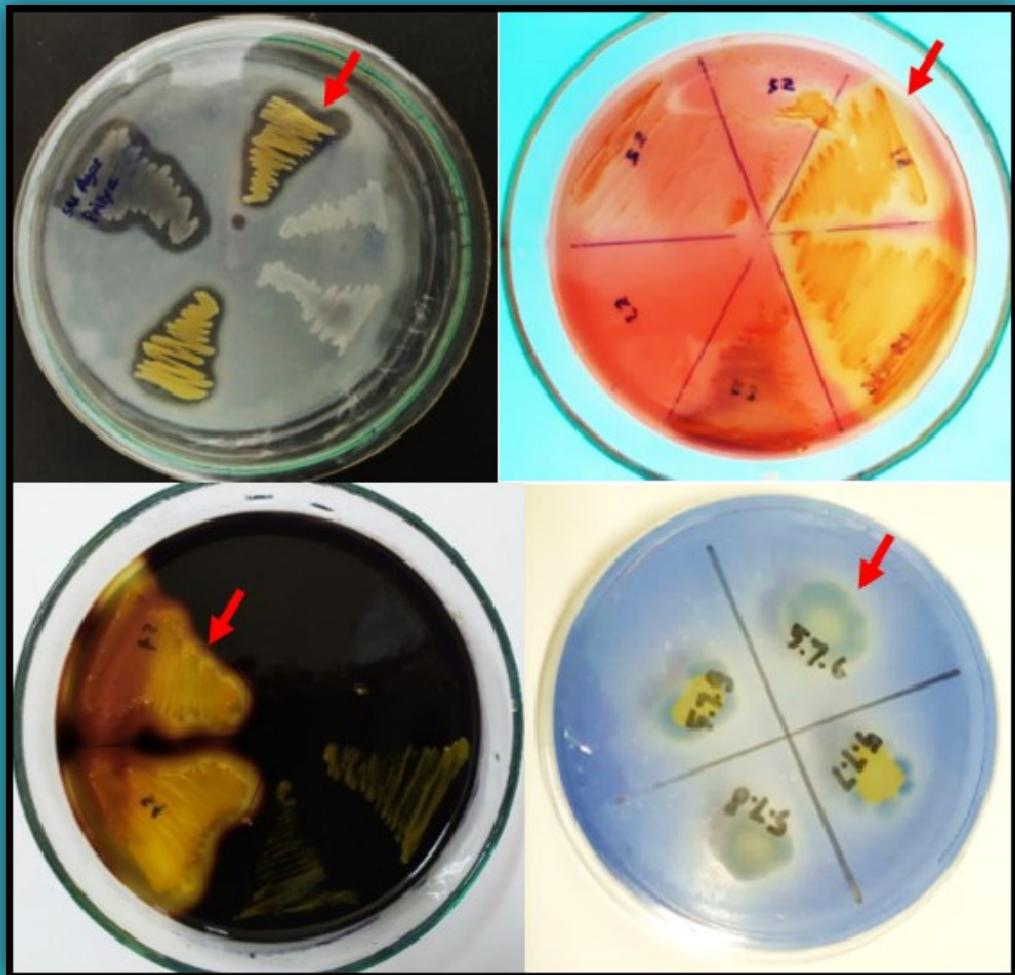


# Berita Biologi

Jurnal Ilmu-ilmu Hayati



# BERITA BIOLOGI

Vol. 19 No. 2 Agustus 2020

Terakreditasi Berdasarkan Keputusan Direktur Jendral Penguanan Riset dan  
Pengembangan, Kemenristekdikti RI  
No. 21/E/KPT/2018

---

## Tim Redaksi (*Editorial Team*)

Andria Agusta (Pemimpin Redaksi, *Editor in Chief*)  
(Kimia Bahan Alam, Pusat Penelitian Kimia - LIPI)

Kusumadewi Sri Yulita (Redaksi Pelaksana, *Managing Editor*)  
(Sistematika Molekuler Tumbuhan, Pusat Penelitian Biologi - LIPI)

Gono Semiadi  
(Mammalogi, Pusat Penelitian Biologi - LIPI)

Atit Kanti  
(Mikrobiologi, Pusat Penelitian Biologi - LIPI)

Siti Sundari  
(Ekologi Lingkungan, Pusat Penelitian Biologi - LIPI)

Arif Nurkanto  
(Mikrobiologi, Pusat Penelitian Biologi - LIPI)

Kartika Dewi  
(Taksonomi Nematoda, Pusat Penelitian Biologi - LIPI)

Dwi Setyo Rini  
(Biologi Molekuler Tumbuhan, Pusat Penelitian Biologi - LIPI)

## Desain dan Layout (*Design and Layout*)

Liana Astuti

## Kesekretariatan (*Secretary*)

Nira Ariasari, Budiarjo

## Alamat (*Address*)

Pusat Penelitian Biologi-LIPI  
Kompleks Cibinong Science Center (CSC-LIPI)  
Jalan Raya Jakarta-Bogor KM 46,  
Cibinong 16911, Bogor-Indonesia  
Telepon (021) 8765066 - 8765067  
Faksimili (021) 8765059  
Email: berita.biologi@mail.lipi.go.id  
jurnalberitabiologi@yahoo.co.id  
jurnalberitabiologi@gmail.com

---

Keterangan foto cover depan: Seleksi bakteri pada media selektif, sesuai dengan halaman 151

(Notes of cover picture): (Bacterial selection on selective medium, as in page 151)



# Berita Biologi

Jurnal Ilmu-ilmu Hayati

P-ISSN 0126-1754  
E-ISSN 2337-8751  
Terakreditasi Peringkat 2  
21/E/KPT/2018  
Volume 19 Nomor 2, Agustus 2020

|                |         |       |                |                     |                |
|----------------|---------|-------|----------------|---------------------|----------------|
| Berita Biologi | Vol. 19 | No. 2 | Hlm. 127 – 230 | Bogor, Agustus 2020 | ISSN 0126-1754 |
|----------------|---------|-------|----------------|---------------------|----------------|

Ucapan terima kasih kepada  
Mitra Bebestari nomor ini  
19(2) – Agustus 2020

Dr. Haryono, M.Si.  
(Ekologi dan Budidaya ikan, Pusat Penelitian Biologi-LIPI)

Dr. Nisa Rachmania Mubarik  
Mikrobiologi, Departemen Biologi, FMIPA, IPB

Tri Haryoko, S.Pt., M.Si.  
(Pusat Penelitian Biologi-LIPI)

Ir. Eka Sugiyarta, MS.  
(Genetika dan Pemuliaan, Pusat Penelitian Perkebunan Gula Indonesia)

Indra Bachtiar, Ph.D.  
(Stem Cell & Cancer Institute, Kalbe Farma Tbk.)

Eka Fatmawati Tihurua S.Si., M.Si.  
(Anatomi/Histologi Tumbuhan, Pusat Penelitian Biologi-LIPI)

Dr. Djunijanti Peggie  
(Sistematika dan konservasi kupu-kupu, Pusat Penelitian Biologi-LIPI)

Kartika Dyah Palupi S. Farm.  
(Fitokimia, Pusat Penelitian Kimia-LIPI)

Dr. Yuzammi  
Taksonomi Tumbuhan, PKT Kebun Raya Bogor, LIPI

Dr. Nurainas  
(Taksonomi Tumbuhan, FMIPA-Universitas Andalas)

Aninda Retno Utami Wibowo, S.Si.  
(Taksonomi Tumbuhan, BKT Kebun Raya “Eka Karya” Bali – LIPI)

Dr. Laode Alhamd  
(Ekologi Tumbuhan, Pusat Penelitian Biologi-LIPI)

Dr. Ir. Praptiwi, M.Agr.  
(Fitokimia, Pusat Penelitian Kimia– LIPI)

Dr. Sc. Agr. Agung Karuniawan, Ir., Msc. Agr.  
(Pemuliaan Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Padjadjaran)

Dr. Sudarmadi Purnama  
(Pemuliaan dan Genetika Tanaman, Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Jawa Timur)



# PENGARUH MEDIA TERKONDISI SEL PUNCA MESENSIMAL TERHADAP EKSPRESI GEN TRANSCRIPTION FACTOR 7-LIKE 2 (TCF7L2) TIKUS MODEL DIABETES MELITUS TIPE 2

[Effect of Mesenchymal Stem Cell-Conditioned Medium on Transcription Factor 7-Like 2 (TCF7L2) Gene Expression in Type 2 Diabetic Rat Models]

Stefani Santi Widhiastuti<sup>1\*</sup>, Bernadia Branitamahisi<sup>2</sup>, Nor Sri Inayati<sup>3</sup>, Ida Ayu Preharsini<sup>4</sup>, Demas Bayu Handika<sup>2</sup>, Ahmad Hamim Sadewa<sup>5</sup>, Abdurrahman Laqif<sup>6</sup>, Sofia Mubarika Haryana<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Fakultas Teknobiologi, Universitas Atma Jaya Yogyakarta, Jl. Babarsari No.44 Yogyakarta

<sup>2</sup>Magister Bioteknologi, Universitas Gadjah Mada, Jl. Teknika Utara, Pogung Kidul, Sinduadi, Mlati, Sleman, Yogyakarta

<sup>3</sup>Fakultas Kedokteran, Universitas Jenderal Soedirman, Jl. Dr. Gumbreg No.1, Mersi, Purwokerto Timur, Banyumas, Jawa Tengah

<sup>4</sup>Fakultas Farmasi, STIKes Panti Waluya Malang, Jl. Julius Usman No.62, Malang, Indonesia

<sup>5</sup>Fakultas Kedokteran, Kesehatan Masyarakat dan Keperawatan, Universitas Gadjah Mada, Jl. Farmako, Sekip Utara, Depok, Sleman, Yogyakarta

<sup>6</sup>Fakultas Kedokteran, Universitas Sebelas Maret, Jl. Kolonel Sutarto, Jebres, Surakarta, Jawa Tengah

email: stefani.santi@uajy.ac.id

## ABSTRACT

Diabetes mellitus type 2 is the most common type of diabetes. This study was conducted to determine the effect of Mesenchymal Stem Cell-Conditioned Medium (MSC-CM) in Homeostatic Model Assessment of  $\beta$ -cell function (HOMA- $\beta$ ) value, normal Langerhans cells, and Transcription Factor 7-Like 2 (TCF7L2) gene expression in type 2 diabetic rats model. As many as 27 male Sprague Dawley rats were divided into 3 study research groups: normal control (9 normal rats), diabetic control (9 type 2 diabetic rats, induced by 60 mg/kg BW Streptozotocin and 120 mg/kg BW Nicotinamide i.p.), and treatment (9 type 2 diabetic rats treatment with 0.1 ml/200g BW MSC-CM i.p.). On day 30 after therapy, the expression of TCF7L2 gene was performed with real time-quantitative PCR (RT-qPCR). The HOMA- $\beta$  values were calculated based on Fasting Insulins (FINS) levels and Fasting Blood Glucose (FBG) levels. Based on results, MSC-CM increases the HOMA- $\beta$  value and amount of normal Langerhans cells of treatment group that indicates amelioration effect of MSC-CM, but there was no significant difference in TCF7L2 gene expression level between diabetic control and treatment group.

**Keywords:** Conditioned medium, Diabetes mellitus, HOMA- $\beta$ , TCF7L2

## ABSTRAK

Diabetes mellitus tipe 2 adalah jenis diabetes yang paling sering terjadi. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh Media Terkondisi Sel Punca Mesensimal (MT-SPM) dalam *Homeostatic Model Assessment of  $\beta$ -cell function* (HOMA- $\beta$ ), sel normal Langerhans, dan ekspresi gen *Transcription Factor 7-Like 2* (TCF7L2) pada tikus model diabetes mellitus tipe 2. Sebanyak 27 tikus Sprague Dawley jantan dibagi menjadi 3 kelompok penelitian: kontrol normal (9 tikus normal), kontrol diabetes (9 tikus tipe 2 diabetes, diinduksi oleh 60 mg/kgBB Streptozotocin + 120 mg/kgBB Nicotinamide i.p.), dan pengobatan (9 jenis 2 perawatan tikus diabetes dengan 0,1 ml/200g BW MSC-CM i.p.). Pada hari ke 30 setelah terapi, ekspresi gen TCF7L2 diukur dengan *real time-quantitative PCR* (RT-qPCR). Nilai HOMA- $\beta$  dihitung berdasarkan level *Fasting Insulins* (FINS) dan level *Fasting Blood Glucose* (FBG). Hasil penelitian menunjukkan MT-SPM meningkatkan nilai HOMA- $\beta$  dan jumlah sel normal Langerhans dari kelompok perlakuan yang menunjukkan efek perbaikan dari MT-SPM, tetapi tidak ada perbedaan yang signifikan dalam tingkat ekspresi gen TCF7L2 antara kontrol diabetes dan kelompok perlakuan.

**Kata kunci:** Diabetes melitus, Media terkondisi, HOMA- $\beta$ , TCF7L2

## PENDAHULUAN

Diabetes melitus (DM) merupakan penyakit endokrin yang paling sering terjadi di dunia. WHO memprediksi kenaikan jumlah penyandang DM di Indonesia dari 8,4 juta pada tahun 2000 menjadi sekitar 21,3 juta pada tahun 2030. Laporan tersebut menunjukkan adanya peningkatan jumlah pasien DM sebanyak 2-3 kali lipat pada tahun 2035 (Perkeni, 2015). Hampir 95 % pasien DM mengalami DM tipe

2 (Xi dan Bu, 2014). Tanpa adanya kontrol yang ketat, beberapa komplikasi dapat terjadi meliputi retinopati, nefropati, dan neuropati.

Terapi DM tipe 2 dengan obat antidiabetik oral, terapi sensitifikasi dan suplai insulin eksogen (Piya et al., 2010; Hatzivramidis et al., 2013) masih memiliki keterbatasan. Misalnya penggunaan insulin eksogen pada pasien dapat menyebabkan episode hipoglikemia. Terapi dengan transplantasi pankreas

\*Kontributor Utama

\*Diterima: 5 Februari 2020 - Diperbaiki: 7 Mei 2020 - Disetujui: 30 Juli 2020

juga memiliki keterbatasan antara lain membutuhkan tindakan pembedahan mayor, sedikitnya jumlah donor, penolakan dari tubuh terhadap jaringan transplant, maupun komplikasi yang dapat terjadi setelah transplantasi (Azarpira *et al.*, 2015). Oleh karenanya dicari alternatif terapi lain menggunakan pengobatan regeneratif.

Pengobatan regeneratif mencakup penggunaan biomaterial, *growth factor* dan sel punca (Tatullo *et al.*, 2015). Sel punca mesensimal merupakan salah satu jenis sel punca yang mampu memproduksi protein dan sitokin untuk perbaikan jaringan, zat imunomodulator yang dapat menekan inflamasi karena luka maupun karena penolakan oleh tubuh (Azarpira *et al.*, 2015; Lozito *et al.*, 2009), serta memiliki sifat pro-angiogenik sehingga berpotensi untuk terapi, termasuk terapi penyakit diabetes (Xi dan Bu, 2014).

Para peneliti menyimpulkan bahwa SPM dari sumsum tulang dapat menurunkan kadar glukosa darah dan C-peptida. Kong *et al.* (2014) menggunakan SPM yang diderivatisasi dari sumsum tulang untuk terapi pada 18 pasien DM tipe 2 secara intravena. Si *et al.* (2012) dalam penelitiannya membuktikan bahwa pemberian SPM dapat memperbaiki kondisi hiperglikemia pada tikus DM tipe 2. Meskipun sel punca memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai terapi DM, namun proses diferensiasinya dalam tubuh belum terkontrol dengan maksimal, sehingga perlu dicari metode aplikasi yang lebih aman.

Sel punca mesensimal yang diisolasi dari selaput amnion dikarakterisasi dan dibiakkan dengan teknik tiga dimensi. Biakan tiga dimensi tersebut kemudian diberi media tumbuh bebas serum dan disimpan dalam *chamber* yang dikondisikan hipoksia dengan konsentrasi O<sub>2</sub> 2%, CO<sub>2</sub> 5%, dan Nitrogen 93% selama 24 jam. SPM mensekresikan metabolit bioaktif pada media kultur yang dikenal sebagai media terkondisi sel punca mesensimal (MT-SPM). MT-SPM memiliki efek serupa dengan SPM (Laqif, 2015).

Media terkondisi sel punca mesensimal mengandung *growth factor* (GF) pro-angiogenik, sitokin, dan kemokin. *Growth factor* yang terkandung dalam MT-SPM adalah *Fibroblast Growth Factor 2/Basic Fibroblast Growth Factor*

(FGF-2/bFGF), *Vascular Endothelial Derived Growth Factor* (VEGF), *Angiotensin II* (AngII), *Insulin-Like Growth Factor 1* (IGF-1), *Epidermal Growth Factor* (EGF), *Angiopoietin* (ANPT), *Endothelin-1* (ET-1), *Interleukins 7* (IL-7), *Interleukins 12* (IL-12), *Fibroblast Growth Factor 4* (FGF-4), *N-Terminal Propeptide Of Procollagen Type I*, *Glutathione S-Transferase P1* (GSTP-1), *Human Activin-B*, dan *Leukemia Inhibitory Factor* (LIF). Sitokin, kemokin dan *growth factor* yang disekresikan memberikan efek parakrin bagi sel-sel lain melalui efek tropik, *anti scar*, imunomodulator, kemoatraktan dan angiogenesis, sehingga dapat meregenerasi jaringan yang rusak tanpa fusi maupun diferensiasi menjadi sel spesifik (Meirelles *et al.*, 2009; Laqif, 2015).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh MT-SPM terhadap nilai HOMA-β, histopatologi pankreas, dan tingkat ekspresi gen TCF7L2 pada tikus model DM tipe 2, sehingga dapat diketahui mekanismenya dalam memperbaiki kondisi hiperglikemia dan gangguan sekresi insulin. Pemberian MT-SPM yang mengandung sitokin, kemokin, dan GF dalam penelitian ini diharapkan mampu memperbaiki kondisi hiperglikemik hewan model DM Tipe 2 melalui perbaikan jaringan pankreas yang rusak oleh induksi Streptozotocin. Perbaikan kondisi hiperglikemik pada tikus model DM Tipe 2 salah satunya terjadi melalui *Wnt Signaling Pathway*, dilihat dari perubahan ekspresi gen *Transcription Factor 7-Like 2* (TCF7L2). Gen TCF7L2 berperan menjaga homeostasis insulin dan glukosa darah.

## BAHAN DAN CARA KERJA

### Bahan

Tikus *Rattus norvegicus* jantan (sehat, galur *Sprague-Dawley* usia 7-8 minggu dengan berat badan 150-200 gram) sebanyak 27 ekor, pakan (AIN-93M DIET 02960397 MP Biomedicals), *Streptozotocin* (Sigma-Aldrich), *Trisodium citrate* (Sigma-Aldrich), *HCl* (Sigma-Aldrich), *Nicotinamide* (Sigma-Aldrich), *Normal Saline 0.9 %* (Sigma-Aldrich), MT-SPM (Laqif, 2015), Primer gen TCF7L2 (NM\_001191052.1, Integrated DNA Technologies), Primer standar internal *β-Actin* (NM\_031144.3, Integrated DNA Technologies),

*Glucose GOD FS\** (DiaSys), *Rat Insulin ELISA Kit* (Fine Test-Wuhan Fine Biological Technology Co.), *FavorPrepTM Tissue Total RNA Mini Kit* (Favorgen Biotech Corp.),  $\beta$ -*Mercaptoethanol* (Sigma-Aldrich), *ReverTra Ace® qPCR RT Master Mix with gDNA Remover* (TOYOBO), *THUNDERBIRD® SYBR® qPCR Mix* (TOYOBO), bahan pengecatan Hematoxylin Eosin.

### Pemeliharaan dan pembuatan hewan model

Dua puluh tujuh ekor tikus jantan diaklimatisasi selama 3 hari, kemudian dibagi menjadi 3 kelompok secara acak, yaitu kontrol normal, kontrol diabetes, dan perlakuan. Selanjutnya 18 tikus diinjeksi dosis tunggal STZ 60 mg/kg BB dan NA 120 mg/kg BB (i.p.), sedangkan 9 tikus tidak diinjeksi dan digunakan sebagai kelompok kontrol normal. Tikus yang diinjeksi STZ dan NA kemudian diukur kadar glukosa darah puasa (*Fasting Blood Glucose*). Dinyatakan DM apabila FBG  $\geq$  238 mg/dL (Ghasemi *et al.*, 2014). Tikus yang telah mengalami DM kemudian dibagi menjadi 2 kelompok (kontrol diabetes dan perlakuan) yang masing-masing terdiri dari 9 tikus. Pada kelompok perlakuan, tikus yang telah DM diberi terapi MT-SPM 0,1 cc//200 g BB (i.p.) tiap 3 hari sekali selama 30 hari. Setelah 30 hari, dilakukan dekapitasi tikus dengan cara dislokasi leher sebelum pengambilan organ.

Pemberian doses 0,1 cc/200 g BB (i.p) ditentukan berdasarkan hasil *preliminary study* yang dilakukan sebelumnya. Pada *preliminary study* dilakukan pemberian dosis 0,05 cc; 0,1 cc; dan 0,3 cc tiap 200 g BB (i.p) hewan model DM. Dari hasil *preliminary study* tersebut, dosis 0,05 cc/200 g BB (i.p) belum menunjukkan perubahan yang berarti pada FBG hewan model DM. Pemberian dosis MT-SPM 0,1 cc/200 g BB (i.p) menunjukkan perbaikan FBG hewan model DM kembali ke level normal. Pemberian dosis 0,3 cc/200 g BB (i.p) tidak menunjukkan hasil yang berbeda dari dosis 0,1 cc/200 g BB (i.p), sehingga dalam penelitian ini digunakan dosis 0,1 cc/200 g Bb (i.p).

Berdasarkan Ghasemi *et al.* (2014), STZ menginduksi DM dengan cara menyebabkan kematian sel  $\beta$ -pankreas melalui alkilasi DNA dan peningkatan stress oksidatif. Pankreas berada di dalam rongga peritoneal hewan model. Induksi STZ

dan pemberian MT-SPM dipilih melalui rute intraperitoneal selain karena merupakan rute terpendek menuju organ pankreas, juga mengingat volume MT-SPM yang disuntikkan sedikit sehingga diharapkan dapat langsung menuju organ sasaran. Rute intraperitoneal ini juga digunakan pada *preliminary study*. Jika melewati jalur penyuntikan lain seperti intravena, dikhawatirkan dosis MT-SPM yang sampai ke pankreas tidak sesuai yang diharapkan.

### Koleksi dan penanganan sampel

Sampel jaringan pankreas dan ileum diambil dengan pembedahan sederhana. Pankreas disimpan dalam wadah yang berisi *Buffer Neutral Formalin* (BNF) 10 % dan segera dikirim ke Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran UGM untuk dibuat preparat dan diuji histopatologi. Ileum dimasukkan dalam *tube effendorf* dalam wadah es untuk selanjutnya disimpan dalam freezer -80 °C.

### Analisis perhitungan sekresi insulin

Sekresi insulin dihitung menggunakan *homeostasis model assessment as an index of pancreatic  $\beta$  cell function (HOMA- $\beta$ )* dengan rumus: HOMA-  $\beta$  index = (20 x FINS [unit/L] / FBG [mmol/L] - 3,5 (Sunita *et al.*, 2015)

Keterangan :

FBG : *Fasting Blood Glucose* (kadar glukosa puasa)

FINS : *Fasting Insulin Serum* (kadar serum insulin)

### Pembuatan preparat histopatologis pankreas

Pembuatan preparat histopatologis jaringan pankreas dilakukan berdasarkan protokol Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran UGM. Preparat yang sudah jadi digunakan untuk pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (H&E). Penampakan jaringan pankreas diamati menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x.

### Pengujian ekspresi gen TCF7L2 pada Ileum dengan RT-qPCR

Tiap 100 mg jaringan ileum diisolasi RNanya menggunakan *FavorPrepTM Tissue Total RNA Purification Mini Kit* (Favorgen). Sebanyak 500 ng/ $\mu$ l dari RNA total digunakan untuk sintesis cDNA menggunakan *ReverTra® Ace qPCR RT Mastermix*

**Tabel 1.** Sekuens primer TCF7L2 (*accesion no.* NM\_001191052.1 *Integrated DNA Technologies*, 2017) dan standar internal  $\beta$ -Actin (*accesion no.* NM\_031144.3 *Integrated DNA Technologies*, 2017) [*Primer sequences of TCF7L2 (accesion no. NM\_001191052.1 Integrated DNA Technologies, 2017) and internal standard  $\beta$ -Actin (accesion no. NM\_031144.3 Integrated DNA Technologies, 2017)*]

| Primer<br>( <i>Primer</i> )      | Sekuens<br>( <i>Sequences</i> )              | Panjang Produk<br>( <i>Product Length</i> ) |
|----------------------------------|--|---|
| <i>TCF7L2 (forward)</i>          | 5'- AGA CAA GCC CTC AAG GAT GC -3' (20 BASA) | 235 BP                                      |
| <i>TCF7L2 (reverse)</i>          | 5'- GCG ACA GCG GGT AAT ATG GA -3' (20 BASA) | 235 BP                                      |
| $\beta$ - <i>Actin (forward)</i> | 5'- CCT CTA TGC CAA CAC AGT GC -3' (20 BASA) | 205 BP                                      |
| $\beta$ - <i>Actin (reverse)</i> | 5'- CCT GCT TGC TGA TCC ACA TC -3' (20 BASA) | 205 BP                                      |

with *gDNA Remover* (TOYOBO). RT-qPCR dilakukan dengan mesin *Real Time-qPCR* tipe CX-96 (Bio-Rad). Kit yang digunakan adalah *THUNDERBIRD® SYBR® qPCR Mix*. Sesuai protokol dari TOYOBO, *running* RT-qPCR terdiri dari *pre-denaturation* pada suhu 95 °C selama 60 detik, *denaturation* pada suhu 95 °C selama 15 detik, *annealing* pada suhu 60,4 °C selama 30 detik, dan *extension step* pada suhu 72 °C selama 40 detik, diulang sebanyak 40 siklus. Level ekspresi gen TCF7L2 dinormalkan dengan  $\beta$ -*actin* yang digunakan sebagai kontrol internal.

#### Analisis kualitatif hasil RT-qPCR dengan elektroforesis gel

Konfirmasi produk hasil amplifikasi dilakukan dengan elektroforesis gel (agarose 2 %). Pemisahan sampel dengan elektroforesis dilakukan selama 30 menit, kemudian dicek kesesuaian ukuran pita sampel dengan standard di bawah lampu UV.

#### Analisis kuantitatif hasil RT-qPCR dengan metode LIVAK

Analisis data dilakukan dengan *software* Biorad CFX managerTM untuk memeroleh nilai *quantification cycle* (Cq), *quantification curve* dan *melting curve*. Perubahan ekspresi gen TCF7L2 pada sampel dilakukan dengan membandingkan nilai Cq sampel yang mengandung gen target dengan nilai Cq kontrol atau kalibrator. Nilai Cq semua kelompok sebelumnya dinormalisasi terlebih dahulu dengan menggunakan *housekeeping gene* ( $\beta$ -*actin*) dengan menggunakan rumus Livak (Livak and Schmittgen, 2001).

## HASIL

### Nilai HOMA- $\beta$ dan histopatologi pankreas

Rerata nilai HOMA- $\beta$ , diurutkan dari yang paling rendah adalah kelompok kontrol diabetes (0,61%), perlakuan (16,43%), dan kontrol normal (27,85%). Uji *Independent Sample T-Test* menunjukkan perbedaan bermakna antara kelompok kontrol normal dengan kontrol diabetes ( $p = 0,001$ ) dan antara kelompok kontrol diabetes dan perlakuan ( $p = 0,017$ ). Sedangkan antara kelompok kontrol normal dan perlakuan tidak menunjukkan perbedaan bermakna ( $p = 0,434$ ).

Kelompok kontrol normal memiliki bentuk islet bulat telur, sel normal Langerhans lebih banyak daripada kelompok kontrol diabetes, batas sel jelas, dan bentuk sel bulat. Kelompok diabetes yang diinduksi dengan STZ dan NA, ukuran islet kecil, bentuk islet tidak beraturan, sel normal Langerhans sedikit, dan batas sel tidak jelas. Islet Langerhans pada kelompok perlakuan memiliki ukuran, bentuk, dan sel normal Langerhans yang hampir sama dengan kelompok kontrol normal.

### Pengujian ekspresi gen TCF7L2

Analisa kualitatif dilakukan dengan elektroforesis gel. Hasil elektroforesis gel diperoleh pita spesifik untuk TCF7L2 dan  $\beta$ -*actin*. Ukuran produk hasil amplifikasi primer TCF7L2 adalah 235 BP, sedangkan untuk  $\beta$ -*actin* adalah 205 BP.

Analisa kuantitatif dilakukan dengan *Real Time-qPCR*. Hasil perhitungan *fold change*, terjadi peningkatan (*upregulated*) ekspresi gen TCF7L2 sebesar 2,16 kali pada kelompok kontrol diabetes dibandingkan dengan kelompok kontrol normal. Sedangkan pada kelompok perlakuan ekspresi gen

**Tabel 2.** Pengaruh MT-SPM terhadap Nilai HOMA- $\beta$  dan pada Tikus Model DM Tipe 2 (*Effect of MSC-CM on HOMA- $\beta$  Values in Type 2 Diabetic Rat Models*)

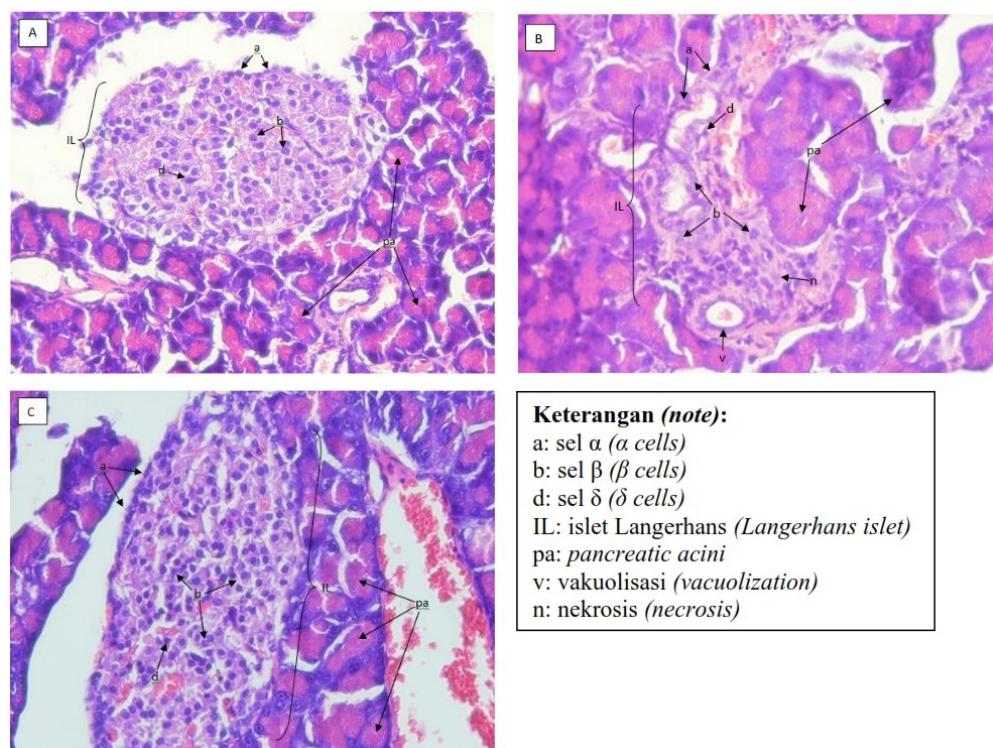
| Parameter<br>(Parameter)                             | Kontrol Normal<br>(Normal control) | Kontrol Diabetes<br>(Diabetic control) | Perlakuan<br>(Treatment) | P value                                  |
|--|------------------------------------|--|--------------------------|--|
| Nilai HOMA- $\beta$ (%)<br>(HOMA- $\beta$ (%) value) | $27,85 \pm 17,49$                  | $0,61 \pm 0,19$                        | $16,43 \pm 6,03$         | 0,434 <sup>b</sup><br>0,017 <sup>c</sup> |
|  |                                    |  |                          | 0,001 <sup>a</sup>                       |

Nilai yang tertera pada tabel 2 adalah rata-rata  $\pm$  S.E.M., n = 9, uji statistik dilakukan dengan *Independent Sample T-Test*. Huruf a, b, dan c pada p<sup>(a,b,c)</sup> adalah: (The values listed in table 2 are mean of  $\pm$  S.E.M., n = 9, the statistical test is performed by *Independent Sample T-Test*. The letters a, b, and c in p<sup>(a,b,c)</sup> are:)

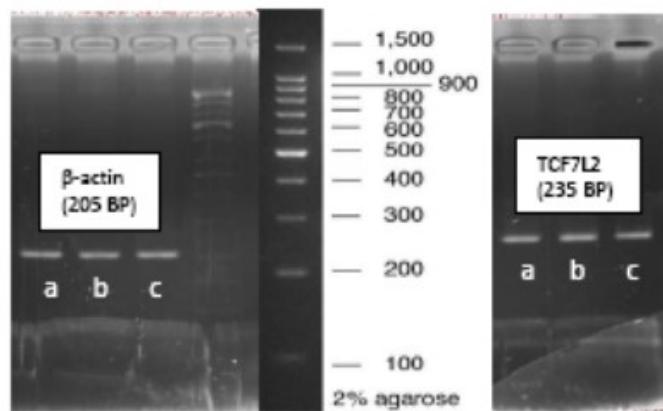
a: nilai signifikansi antara kelompok kontrol normal dan diabetes (a: significance value between the normal control and diabetic control group)

b: nilai signifikansi antara kelompok kontrol normal dan perlakuan (b: significance value between the normal control and treatment group)

c: nilai signifikansi antara kelompok kontrol diabetes dan perlakuan (c: significance value between the diabetic control and treatment group)



**Gambar 1.** Gambaran histopatologi pankreas yang diwarnai dengan HE, diamati menggunakan mikroskop elektron dengan perbesaran 400x pada kelompok kontrol normal (A), kontrol diabetes (B), dan perlakuan (C). Pada kontrol diabetes (B), jumlah sel  $\alpha$ ,  $\beta$ , dan  $\delta$  lebih sedikit dibandingkan kontrol normal (A) dan perlakuan (C). [Histopathological images of the pancreas stained with HE observed using an electron microscope with 400x magnification in the normal control (A), diabetic control (B), and treatment group (C). In diabetic control group (B), the number of cells  $\alpha$ ,  $\beta$ , and  $\delta$  are less compare to normal control group (A) and treatment group (C)]



**Gambar 2.** Hasil uji kualitatif dengan elektroforesis gel agarose (2 %). Pita (a) merupakan hasil amplifikasi pada suhu  $60,4^{\circ}\text{C}$ , (b) pita hasil amplifikasi pada suhu  $60,8^{\circ}\text{C}$ , dan (c) pita hasil amplifikasi pada suhu  $61^{\circ}\text{C}$ . (*Qualitative test results with agarose gel electrophoresis (2%). Band (a) was amplified at  $60.4^{\circ}\text{C}$ , band (b) was amplified at  $60.8^{\circ}\text{C}$ , and band (c) was amplified at  $61^{\circ}\text{C}$* )

**Tabel 3.** Ekspresi Relatif TCF7L2 antara Kelompok Kontrol Normal, Kontrol Diabetes, dan Perlakuan (*Relative expression of TCF7L2 between the Normal Control, Diabetic Control, and Treatment Group*)

| Kelompok (Group)                    | $\Delta\text{Cq}$ TCF7L2 (Mean $\pm$ S.E.M) | $\Delta\Delta\text{Cq}$ TCF7L2 | Fold Change ( $2^{-\Delta\text{Cq}}$ )(-1/FC) | P value            |
|-------------------------------------|---|--------------------------------|---|--------------------|
| Kontrol Normal (Normal Control)     | $9,15 \pm 0,22$                             | 0                              | 1   | 0,002 <sup>a</sup> |
| Kontrol Diabetes (Diabetic Control) | $10,26 \pm 0,22$                            | -1,11                          | 2,16  | 0,003 <sup>b</sup> |
| Perlakuan (Treatment)               | $9,12 \pm 0,24$                             | -1,13                          | 2,19  | 0,939 <sup>c</sup> |

Nilai yang tertera pada tabel 3 adalah rata-rata  $\pm$  S.E.M., n = 9, uji statistik dilakukan dengan *Independent Sample T-Test*. Huruf a, b, dan c pada p<sup>(a, b, c)</sup> adalah: (*The values listed in table 3 are mean of  $\pm$  S.E.M., n = 9, the statistical test is performed by Independent Sample T-Test. The letters a, b, and c in p<sup>(a, b, c)</sup> are:*)

- a: nilai signifikansi antara kelompok kontrol normal dan diabetes (*a: significance value between the normal control and diabetic control group*)
- b: nilai signifikansi antara kelompok kontrol normal dan perlakuan (*b: significance value between the normal control and treatment group*)
- c: nilai signifikansi antara kelompok kontrol diabetes dan perlakuan (*c: significance value between the diabetic control and treatment group*)

TCF7L2 meningkat (*upregulated*) sebesar 2,19 kali dibandingkan dengan kelompok kontrol normal.

## PEMBAHASAN

### Nilai HOMA- $\beta$

Nilai HOMA- $\beta$  menunjukkan sekresi insulin pada suatu individu. Nilai ini dipengaruhi oleh *Fasting Blood Glucose* (FBG) dan *Fasting Insulin Serum* (FINS). Berdasarkan Ciampelli *et al.*, (2005), HOMA- $\beta$  normal apabila nilainya  $>107\%$ . Pada penelitian ini, nilai HOMA- $\beta$  kurang dari 107%. Hal ini disebabkan karena nilai FINS yang

terlalu kecil, sehingga menyebabkan nilai HOMA- $\beta$  juga menjadi kecil dan tidak sesuai yang dipersyaratkan. Namun jika ditinjau dari rerata nilai HOMA- $\beta$ , diurutkan dari yang paling rendah berturut-turut adalah kelompok kontrol diabetes (0,61%), perlakuan (16,43%), dan kontrol normal (27,85%).

Hal ini sesuai dengan yang diungkapkan oleh Reaven (2009) yang menyebutkan bahwa pada individu yang mengalami diabetes, HOMA- $\beta$ -nya lebih rendah dari pada individu sehat. Pada individu yang mengalami diabetes mellitus tipe 2, terjadi

gangguan pada sekresi insulinnya sehingga nilai FINS rendah. Gangguan sekresi insulin menyebabkan peningkatan kadar glukosa darah sehingga nilai FBG juga menjadi tinggi.

Uji *Independent Sample T-Test* menunjukkan perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol normal dengan kontrol diabetes ( $p = 0,001$ ) dan antara kelompok kontrol diabetes dan perlakuan ( $p = 0,017$ ). Sedangkan antara kelompok kontrol normal dan perlakuan tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna ( $p = 0,434$ ). Pada kelompok perlakuan terjadi perbaikan kondisi hiperglikemik karena pemberian MT-SPM. MT-SPM memicu perbaikan sel  $\beta$  pankreas dan meningkatkan sekresi insulinnya, sehingga nilai FINS meningkat.

*Growth factor* yang berperan dalam perbaikan sel  $\beta$  pankreas antara lain FGF, EGF dan VEGF (Clifford *et al.*, 2008; Gomes *et al.*, 2014; Aiello dan Wong, 2000). Sedangkan GF yang berperan dalam homeostasis glukosa menurut Owen (2015) adalah FGF21 dengan meningkatkan kandungan insulin dan sekresi insulin yang distimulasi glukosa, menghambat sekresi glukagon di islet, dan menjaga tikus model dari pankreatitis. Dengan turunnya nilai FBG dan meningkatnya nilai FINS, menyebabkan nilai HOMA- $\beta$  pada kelompok perlakuan menjadi lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol diabetes.

### Histopatologi pankreas

Histopatologi pankreas menggambarkan kondisi islet pankreas hewan model. Pada kelompok kontrol diabetes yang diinduksi dengan STZ dan NA, islet pankreas mengalami kerusakan yang ditunjukkan dari ukuran islet kecil, sel normal Langerhans sedikit, batas sel tidak jelas yang disebabkan karena sel bertumpuk atau berhimpitan, serta bentuk sel tidak beraturan. Pada kelompok diabetes juga terjadi vakuolisasi yang menunjukkan terjadinya degenerasi vakuola. Hal ini terjadi karena efek STZ mendestruksi sel  $\beta$  secara selektif melalui metilasi DNA sel  $\beta$ , peningkatan *stress oxidative* yang menghasilkan radikal bebas, serta peningkatan *Nitric oxide* yang semuanya mengakibatkan nekrosis sel  $\beta$  (Ghasemi *et al.*, 2014).

Kelompok perlakuan juga diinduksi dengan STZ dan NA sehingga seharusnya mengalami hal yang serupa dengan kelompok kontrol diabetes. Namun gambaran histopatologis kelenjar pankreasnya menunjukkan adanya perbaikan kondisi morfologis sehingga profilnya hampir sama dengan kelompok kontrol normal. Islet Langerhans kelompok perlakuan berbentuk *egg-shaped* dengan sel normal Langerhans yang lebih banyak daripada kelompok kontrol diabetes, batas sel jelas, dan bentuk selnya bulat.

Pemberian MT-SPM pada kelompok perlakuan dapat memperbaiki kondisi sel Langerhans pada kelenjar pankreas yang telah mengalami kerusakan. Peningkatan jumlah sel normal Langerhans pada kelompok perlakuan kemungkinan disebabkan oleh pengaruh FGF, EGF, TGF $\beta$ -1, dan VEGF yang terdapat dalam MT-SPM. Keempat *growth factor* tersebut memiliki peran penting dalam angiogenesis sel  $\beta$  pankreas (Clifford *et al.*, 2008; Gomez *et al.*, 2014; Aiello dan Wong, 2000).

### Ekspresi gen TCF7L2

Gen TCF7L2 merupakan gen penanda diabetes yang ekspresinya diregulasi melalui jalur *WNT signalling pathway*. Gen ini berperan mengaktifkan ekspresi gen proglukagon di sel intestinal sehingga dapat mengekspresikan GLP-1 yang berperan dalam regulasi sekresi insulin. Selain itu gen TCF7L2 juga mengaktifkan ekspresi gen *Insulin Receptor-1 (IRS-1)* yang merupakan gen penting dalam penghantaran sinyal insulin (Tong *et al.*, 2009 dan Sahrani *et al.*, 2014). Ekspresi gen TCF7L2 diuji secara kualitatif dengan elektroforesis gel dan kuantitatif dengan RT-qPCR.

Hasil elektroforesis gel diperoleh pita spesifik untuk TCF7L2 dan  $\beta$ -actin. Ukuran produk hasil amplifikasi primer TCF7L2 adalah 235 BP, sedangkan untuk  $\beta$ -actin adalah 205 BP. Hasil elektrofresis ini sesuai dengan puncak yang muncul pada pengukuran ekspresi gen TCF7L2 menggunakan RT-qPCR dimana diperoleh puncak tunggal pada grafik hasil RT-qPCR.

Analisa kuantitatif dengan RT-qPCR menunjukkan peningkatan (*upregulated*) ekspresi gen TCF7L2 sebesar 2,16 kali pada kelompok

kontrol diabetes dibandingkan dengan kelompok kontrol normal. Sedangkan pada kelompok perlakuan ekspresi gen TCF7L2 meningkat (*upregulated*) sebesar 2,19 kali dibandingkan dengan kelompok kontrol normal. Peningkatan ekspresi gen TCF7L2 pada kelompok perlakuan sedikit lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol diabetes, meskipun perbedaannya tidak signifikan apabila diuji secara statistik.

Hasil berbeda diungkapkan oleh Shu *et al.* (2008), dimana pada penelitiannya *silencing* TCF7L2 akan meningkatkan apoptosis sel  $\beta$  dan menurunkan proliferasi sel  $\beta$ , sehingga menyebabkan penurunan sekresi insulin yang drastis pada islet manusia dan tikus, sedangkan overekspresi dari gen melindungi islet dari apoptosis dan meningkatkan sekresi insulin. Hal ini juga didukung oleh Jin *et al.* (2008) dalam tulisannya yang menyatakan bahwa diabetes disebabkan oleh penurunan ekspresi gen TCF7L2. Penelitian lain oleh Shu *et al.* (2009) juga menyebutkan bahwa meskipun terjadi peningkatan mRNA TCF7L2 pada tikus DM, namun protein TCF7L2 yang terekspresi menurun jumlahnya. Sejalan dengan penurunan ekspresi protein TCF7L2, maka reseptor GLP-1 (GLP-1R) dan reseptor GIP (GIPR) juga menurun pada islet pasien DM. Akhirnya, stimulasi sekresi insulin oleh glukosa, GLP-1, dan GIP pada pasien DM menjadi terganggu.

Perbedaan hasil pada penelitian ini diduga karena subjek penelitian berada pada masa kompensasi DM pada saat dikorbankan, dilihat dari ekspresi gen TCF7L2 yang sama-sama meningkat pada kelompok perlakuan dan kontrol sakit dibandingkan dengan kontrol sehat, namun dengan jumlah sekresi insulin puasa yang jauh berbeda. Tikus model yang dibuat DM tipe 2 seperti pada penelitian ini, kondisinya tidak sama persis bila dibandingkan dengan manusia yang mengalami DM tipe 2 secara alami. Pada tikus model DM tipe 2 ini, resistensi insulin terjadi bersamaan dengan kerusakan pankreas oleh STZ. Sedangkan pada manusia, kerusakan sel  $\beta$  pankreas terjadi setelah resistensi insulin dalam jangka waktu lama.

Seperti yang diungkapkan oleh Qinna *et al.* (2015) dan Cerf (2013), tikus diabetes akan

mengalami hiperglikemia, sehingga tubuhnya akan mengkompensasi dengan memproduksi insulin dalam jumlah yang lebih banyak untuk menjaga homeostatis glukosa dalam darah tetap normal. Namun, hiperglikemia sendiri juga dapat menyebabkan disfungsi sel  $\beta$  pankreas, mengurangi jumlah sel  $\beta$  pankreas, dan pada akhirnya menyebabkan defisiensi insulin. Pada tikus model yang diinduksi DM tipe 2 dengan STZ dan NA, akan terjadi kerusakan pada DNA sel  $\beta$  pankreas melalui jalur metilasi DNA sel  $\beta$ , peningkatan stress oksidatif, dan peningkatan produksi *Nitric Oxide* (NO) yang menghasilkan radikal bebas. Semuanya mengakibatkan kematian sebagian besar sel  $\beta$  pankreas (Ghasemi *et al.*, 2014).

Kematian sel  $\beta$  pankreas pada kelompok kontrol diabetes dan perlakuan menyebabkan sejumlah sel  $\beta$  penghasil insulin menurun, mengakibatkan sekresi insulin endogen juga menurun. Dengan asupan makanan terus menerus namun tidak diimbangi dengan jumlah insulin yang diproduksi, berakibat meningkatnya kadar glukosa dalam darah. Meskipun demikian, sinyal untuk mengkompensasi kadar glukosa dalam darah tersebut terus terjadi sehingga ekspresi gen TCF7L2 pada kelompok kontrol diabetes dan perlakuan sama-sama meningkat dibandingkan kelompok kontrol normal.

Jika dianalisa lebih lanjut, meskipun ekspresi gen TCF7L2 pada kelompok kontrol diabetes dan perlakuan tidak berbeda signifikan, namun HOMA- $\beta$ , jumlah sel normal Langerhans dan ekspresi gen TCF7L2 pada kelompok perlakuan mengalami peningkatan dibandingkan dengan kelompok kontrol sakit. Hal ini membuktikan bahwa GF dalam MT-SPM memperbaiki kondisi hiperglikemik pada kelompok perlakuan.

Pada kelompok kontrol diabetes, sel  $\beta$  banyak yang mengalami nekrosis. Meskipun TCF7L2 terus menerus diekspresikan, namun tidak banyak insulin yang dapat disekresikan. Sedangkan pada kelompok perlakuan, kemungkinan sel  $\beta$  sudah mengalami regenerasi dan proliferasi karena terapi dari MT-SPM sehingga saat ekspresi TCF7L2 meningkat, maka sekresi insulin juga meningkat, menyebabkan FBG turun mendekati nilai normal dan nilai HOMA- $\beta$  meningkat. Untuk memastikan

hasil penelitian, maka pada penelitian selanjutnya dapat diukur kadar GLP-1 apakah juga meningkat seperti TCF7L2 dalam penelitian ini, sehingga dapat diketahui apakah benar tikus model benar berada pada masa kompensasi.

Ekspresi gen TCF7L2 pada kelompok perlakuan lebih tinggi daripada kelompok kontrol diabetes kemungkinan disebabkan oleh pengaruh GF dalam MT-SPM. Salah satu GF yang berperan penting dalam ekspresi TCF7L2 adalah *Transforming Growth Factor β-1* (TGFβ-1). Seperti yang diungkapkan oleh Clifford *et al.* (2008) dalam penelitiannya, TGFβ1 diketahui berperan dalam pengaturan proliferasi dan migrasi sel. TGFβ-1 merupakan hormon yang berperan dalam *Wnt Signalling Pathway*. TGFβ-1 meregulasi β-catenin dengan mempengaruhi status fosforilasinya. β-catenin diketahui melakukan dua peran, mengatur proliferasi sel ketika berada dalam nukleus dan adhesi sel pada permukaan sel, keduanya merupakan kunci proses angiogenesis.

TGFβ1 meregulasi VEGF pada beberapa tipe sel melalui *Smad Protein Signaling*. Stimulasi TGFβ-1 menyebabkan fosforilasi Smad2 dan asosiasinya dengan Smad4. Selanjutnya terjadi peningkatan fosforilasi GSK3β-Ser-9 dan mengakibatkan penurunan fosforilasi (hipofosforilasi) β-catenin. β-catenin yang tidak terfosforilasi menjadi stabil dan memungkinkan tertranslokasi ke nukleus dan bergabung dengan TCF, memicu aktivasi gen target WNT yaitu TCF7L2 sehingga ekspresinya meningkat. TGFβ-1 juga meningkatkan ekspresi dari VEGF dengan cara meningkatkan asosiasi β-catenin dengan promoter VEGF. Clifford *et al.* (2008) mengungkapkan VEGF berfungsi sebagai protein signaling baik untuk vaskulogenesis maupun angiogenesis. VEGF berperan dalam proliferasi dan regenerasi sel dengan membantu pembentukan pembuluh darah baru dari pembuluh darah lama sehingga *supply* nutrisi untuk pembentukan sel baru tercukupi.

## KESIMPULAN

Tidak terdapat peningkatan ekspresi gen TCF7L2 yang bermakna pada tikus model DM tipe 2 yang diberi MT-SPM, namun pemberian MT-

SPM dapat meningkatkan nilai HOMA-β secara bermakna pada tikus model DM tipe 2. Pemberian MT-SPM juga dapat memperbaiki kerusakan pada sel islet Langerhans dilihat dari perbaikan morfologi dan peningkatan jumlah sel normal islet Langerhans. Berdasarkan hasil penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa MT-SPM yang mengandung sekretum SPM dapat digunakan sebagai agen pengobatan regeneratif DM tipe 2.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Lembaga Pengelola Dana Pendidikan (LPDP), Kementerian Keuangan Republik Indonesia melalui program beasiswa bantuan tesis yang telah mendanai penelitian ini, segenap civitas akademika Program Studi Bioteknologi UGM, dan semua pihak yang telah membantu terlaksananya penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aiello, L.P. and Wong, J., 2000. Role of vascular endothelial growth factor in diabetic vascular complications. *Kidney International*, 58, pp. S113–S119.
- Azapira, N., Kaviani, M., Salehi, S., 2015. The role of mesenchymal stem cells in diabetes mellitus. *International Journal of Stem cell Research & Therapy*, 2(2), pp.1–5.
- Cerf, M.E., 2013. Beta cell dynamics: beta cell replenishment, beta cell compensation and diabetes. *Springer*, 44, pp. 303–311.
- Ciampelli, M., Leoni, F., Cucinelli, F., Mancuso, S., Panunzi, S. and De Gaetano, A., 2005. Assessment of insulin sensitivity from measurements in the fasting state and during an oral glucose tolerance test in polycystic ovary syndrome and menopausal patients. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 90 (1), pp. 398–406.
- Clifford, R.L., Deacon, K. and Knox, A.J., 2008. Novel regulation of vascular endothelial growth factor-a (vegf-a) by transforming growth factor, requirement for smads, β-catenin, and GSK3β. *Journal of Biological Chemistry*, 283(51), pp.35337–35353.
- Ghasemi, A., Khalifi, S. and Jedi, S., 2014. Streptozotocin-nicotinamide-induced rat model of type 2 diabetes (review). *Acta Physiologica Hungarica*, 101(4), pp.408–420.
- Gomez, K.B., Rodrigues, K.F. and Fernandes, A.P., 2014, The role of transforming growth factor-beta in diabetic nephropathy. *Journal of Medical Genetics*, 14, pp.1–6.
- Hatzivramidis, D.T., Karatzas, T.M. and Chrousos, G.P., 2013. Pancreatic islet cell transplantation: an update. *Annals of Biomedical Engineering*, 41, pp.469–476.
- Jin, T., Fantus, G.I. and Sun, J., 2008. Wnt and beyond Wnt: multiple mechanisms control the transcriptional property of beta-catenin. *Cellular Signaling*, 20, pp.1697–1704.
- Kong, D., Zhuang, X., Wang, D., Qu, H., Jiang, Y., Li, X., Wu, W., Xiao, J., Liu, X., Liu, J., Li, A., Wang, J., Dou,

- A., Wang, Y., Sun, J., Lv, H., Zhang, G., Zhang, X., Chen, S., Ni, Y. and Zheng, C., 2014. Umbilical cord mesenchymal stem cell transfusion ameliorated hyperglycemia in patients with type 2 diabetes mellitus. *Clinical Laboratory*, 60(12), pp.1969–1976.
- Laqif, A., 2015. Kajian Terapi Media Terkondisi Sel Puncak Mesensimal (MT-SPM) Selaput Amnion pada Kasus Kegagalan Ovarium Prematur (Penelitian pada Hewan Coba Tikus Sprague-Dawley). *Disertasi*. Fakultas Kedokteran. Universitas Gadjah Mada. Darah Istimewa Yogyakarta. Indonesia.
- Livak, K.J. and Schimtgen, 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative pcr and the 2<sup>-ddct</sup> method. *Methods*, 25, pp.402–408.
- Lozito, T.P., Taboas, J.M., Kuo, C.K. and Tuan, R.S., 2009. Mesenchymal stem cell modification of endothelial matrix regulates their vascular differentiation. *Journal of Cellular Biochemistry*, 107, pp.706–713.
- Meirelles, L.D., Fontes, A.M., Covas, D.T. and Caplan, A.I., 2009. Mechanisms involved in the therapeutic properties of mesenchymal stem cells. *Cytokine Growth Factor Reviews*, 20, pp.419–427.
- Owen, B.M., Mangelsdorf, D.J. and Kliwer, S.A., 2015. Tissue-specific actions of the metabolic hormones FGF15/19 and FGF21. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 26(1), pp.22–29.
- Piya M.K., Tahranı A.A. and Barnett A.H., 2010. Emerging treatment options for type 2 diabetes. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 70, pp.631–664.
- Qinna, N. and Badwan, A., 2015. Impact of streptozotocin on altering normal glucose homeostasis during insulin testing in diabetic rats compared to normoglycemic rats. *Dove Press Journal*, 9, pp.2516–2525.
- Reaven, G.M., 2009. HOMA-beta in the UKPDS and ADOPT. Is the natural history of type 2 diabetes characterised by a progressive and inexorable loss of insulin secretory function? Maybe? Maybe not?. *Diabetes and Vascular Disease Research*, 6(2), pp.133–138.
- Sahrani, W.A., Astuti, I. and Sadewa, A.H., 2014. Polymorphism of transcription factor 7-like 2 gene and HOMA-β level of individuals with and without type 2 diabetes mellitus family history. *Indonesian Journal of Biotechnology*, 19(2), pp.176–183.
- Shu, L., Sauter, N.S., Schulthess, F.T., Matveyenko, A.V., Oberholzer, J. and Maedler, K., 2008. Transcription factor 7-like 2 regulates β-cell survival and function in human pancreatic islets. *Diabetes*, 57, pp.645–653.
- Shu, L., Matveyenko, A.V., Kerr-Conte, J., Cho, J.H. and McIntosh, C.H., 2009. Decreased TCF7L2 protein levels in type 2 diabetes mellitus correlate with downregulation of GIP-1 and GLP-1 receptors and impaired beta-cell function. *Human Molecular Genetics*, 18, pp.2388–2399.
- Si, Y., Zhao, Y., Hao, H., Liu, J., Guo, Y., Mu, Y., Shen, J., Cheng, Y., Fu, X. and Han, W., 2012. Infusion of mesenchymal stem cells ameliorates hyperglycemia in type 2 diabetic rats: identification of a novel role in improving insulin sensitivity. *Diabetes*, 61, pp.1616–1625.
- Soelistijo, S.A., Novida, H., Rudijanto, A., Soewondo, P., Suastika, K., Manaf, A., Sanusi, H., Lindarto, D., Shahab, A., Pramono, B., Langi, Y.A., Purnamasari, D., Soetedjo, N.N., Saraswati, M.R., Dwipayana, M.P., Yuwono, A., Sasiarini, L., Sugiantoro, Sucipto, K.W. dan Zufry, H., 2015. Konsensus Pengelolaan dan Pencegahan Diabetes Melitus Tipe 2 di Indonesia. *PB PERKENI*, pp.1–93.
- Sunita, R., Sadewa, A.H., dan Farmawati, A., 2015. Lower HOMA-β values are detected among individuals with variant of E23K polymorphism of potassium inwardly-rectifying channel, subfamily, J member 11(KCNJ11) gene. *Egyptian Journal of Medical Human Genetics*, 16, pp.227–231.
- Tatullo, M., Marelli, M. and Paduano, F., 2015. The regenerative medicine in oral and maxillofacial surgery: the most important innovations in the clinical application of mesenchymal stem cells. *International Journal of Medical Sciences*, 12(1), pp.72–77.
- Toda, A., Okabe, M., Yoshida, T. and Nikaido, T., 2007. The potential of amniotic membrane/amnion-derived cells for regeneration of various tissues. *Journal of Pharmacological Sciences*, 105, pp.215–228.
- Tong, Y., Lin, Y., Zhang, Y., Yang, J., Liu, H. and Zhang, B., 2009. Association between tcf7l2 gene polymorphisms and susceptibility to type 2 diabetes mellitus: a large human genome epidemiology (huge) review and meta-analysis. *BMC Medical Genetics*, 10(15), pp.1–25.
- Xi, Y. and Bu, S., 2014. Stem cells therapy in diabetes mellitus. *Journal of Stem Cell Research and Therapy*, 4(5), pp.199.

# Pedoman Penulisan Naskah Berita Biologi

**Berita Biologi** adalah jurnal yang menerbitkan artikel kemajuan penelitian di bidang biologi dan ilmu-ilmu terkait di Indonesia. Berita Biologi memuat karya tulis ilmiah asli berupa makalah hasil penelitian, komunikasi pendek dan tinjauan kembali yang belum pernah diterbitkan atau tidak sedang dikirim ke media lain. Masalah yang diliput harus menampilkan aspek atau informasi baru.

## Tipe naskah

### 1. Makalah lengkap hasil penelitian (*original paper*)

Naskah merupakan hasil penelitian sendiri yang mengangkat topik yang *up to date*. Tidak lebih dari 15 halaman termasuk tabel dan gambar. Pencantuman lampiran seperlunya, namun redaksi berhak mengurangi atau meniadakan lampiran.

### 2. Komunikasi pendek (*short communication*)

Komunikasi pendek merupakan makalah hasil penelitian yang ingin dipublikasikan secara cepat karena hasil temuan yang menarik, spesifik dan atau baru, agar dapat segera diketahui oleh umum. Hasil dan pembahasan dapat digabung.

### 3. Tinjauan kembali (*review*)

Tinjauan kembali merupakan rangkuman tinjauan ilmiah yang sistematis-kritis secara ringkas namun mendalam terhadap topik penelitian tertentu. Hal yang ditinjau meliputi segala sesuatu yang relevan terhadap topik tinjauan yang memberikan gambaran '*state of the art*', meliputi temuan awal, kemajuan hingga issue terkini, termasuk perdebatan dan kesenjangan yang ada dalam topik yang dibahas. Tinjauan ulang ini harus merangkum minimal 30 artikel.

## Struktur naskah

### 1. Bahasa

Bahasa yang digunakan adalah Bahasa Indonesia atau Inggris yang baik dan benar.

### 2. Judul

Judul diberikan dalam bahasa Indonesia dan Inggris. Judul ditulis dalam huruf tegak kecuali untuk nama ilmiah yang menggunakan bahasa latin, Judul harus singkat, jelas dan mencerminkan isi naskah dengan diikuti oleh nama serta alamat surat menyurat penulis dan alamat email. Nama penulis untuk korespondensi diberi tanda amplop cetak atas (*superscript*). Jika penulis lebih dari satu orang bagi pejabat fungsional penelitian, pengembangan agar menentukan status sebagai kontributor utama melalui penandaan simbol dan keterangan sebagai kontributor utama dicatatkan kaki di halaman pertama artikel.

### 3. Abstrak

Abstrak dibuat dalam dua bahasa, bahasa Indonesia dan Inggris. Abstrak memuat secara singkat tentang latar belakang, tujuan, metode, hasil yang signifikan, kesimpulan dan implikasi hasil penelitian. Abstrak berisi maksimum 200 kata, spasi tunggal. Di bawah abstrak dicantumkan kata kunci yang terdiri atas maksimum enam kata, dimana kata pertama adalah yang terpenting. Abstrak dalam Bahasa Inggris merupakan terjemahan dari Bahasa Indonesia. Editor berhak untuk mengedit abstrak demi alasan kejelasan isi abstrak.

### 4. Pendahuluan

Pendahuluan berisi latar belakang, permasalahan dan tujuan penelitian. Perlu disebutkan juga studi terdahulu yang pernah dilakukan terkait dengan penelitian yang dilakukan.

### 5. Bahan dan cara kerja

Bahan dan cara kerja berisi informasi mengenai metode yang digunakan dalam penelitian. Pada bagian ini boleh dibuat sub-judul yang sesuai dengan tahapan penelitian. Metoda harus dipaparkan dengan jelas sesuai dengan standar topik penelitian dan dapat diulang oleh peneliti lain. Apabila metoda yang digunakan adalah metoda yang sudah baku cukup ditulis sitasinya dan apabila ada modifikasi maka harus dituliskan dengan jelas bagian mana dan hal apa yang dimodifikasi.

### 6. Hasil

Hasil memuat data ataupun informasi utama yang diperoleh berdasarkan metoda yang digunakan. Apabila ingin mengacu pada suatu tabel/ grafik/diagram atau gambar, maka hasil yang terdapat pada bagian tersebut dapat diuraikan dengan jelas dengan tidak menggunakan kalimat 'Lihat Tabel 1'. Apabila menggunakan nilai rata-rata maka harus menyertakan pula standar deviasinya.

### 7. Pembahasan

Pembahasan bukan merupakan pengulangan dari hasil. Pembahasan mengungkap alasan didapatkannya hasil dan arti atau makna dari hasil yang didapat tersebut. Bila memungkinkan, hasil penelitian ini dapat dibandingkan dengan studi terdahulu.

### 8. Kesimpulan

Kesimpulan berisi infomasi yang menyimpulkan hasil penelitian, sesuai dengan tujuan penelitian, implikasi dari hasil penelitian dan penelitian berikutnya yang bisa dilakukan.

### 9. Ucapan terima kasih

Bagian ini berisi ucapan terima kasih kepada suatu instansi jika penelitian ini didanai atau didukungan oleh instansi tersebut, ataupun kepada pihak yang membantu langsung penelitian atau penulisan artikel ini.

### 10. Daftar pustaka

Tidak diperkenankan untuk mensitis artikel yang tidak melalui proses *peer review*. Apabila harus menyitir dari "laporan" atau "komunikasi personal" dituliskan '*unpublished*' dan tidak perlu ditampilkan di daftar pustaka. Daftar pustaka harus berisi informasi yang *up to date* yang sebagian besar berasal dari *original papers* dan penulisan terbitan berkala ilmiah (nama jurnal) tidak disingkat.

## Format naskah

1. Naskah diketik dengan menggunakan program Microsoft Word, huruf New Times Roman ukuran 12, spasi ganda kecuali Abstrak spasi tunggal. Batas kiri-kanan atas-bawah masing-masing 2,5 cm. Maksimum isi naskah 15 halaman termasuk ilustrasi dan tabel.

2. Penulisan bilangan pecahan dengan koma mengikuti bahasa yang ditulis menggunakan dua angka desimal di belakang koma. Apabila menggunakan Bahasa Indonesia, angka desimal ditulis dengan menggunakan koma (,) dan ditulis dengan menggunakan titik (.) bila menggunakan bahasa Inggris. Contoh: Panjang buku adalah 2,5 cm. Length of the book is 2.5 cm. Penulisan angka 1-9 ditulis dalam kata kecuali bila bilangan satuan ukur, sedangkan angka 10 dan seterusnya ditulis dengan angka. Contoh lima orang siswa, panjang buku 5 cm.

3. Penulisan satuan mengikuti aturan *international system of units*.

4. Nama takson dan kategori taksonomi ditulis dengan merujuk kepada aturan standar yang diajui. Untuk tumbuhan menggunakan *International Code of Botanical Nomenclature* (ICBN), untuk hewan menggunakan *International Code of Zoological Nomenclature* (ICZN), untuk jamur *International Code of Nomenclature for Algae, Fungi and Plant* (ICAFP), *International Code of Nomenclature of Bacteria* (ICNB), dan untuk organisme yang lain merujuk pada kesepakatan Internasional. Penulisan nama takson lengkap dengan nama author hanya dilakukan pada bagian deskripsi takson, misalnya pada naskah taksonomi. Penulisan nama takson untuk bidang lainnya tidak perlu menggunakan nama author.

5. Tata nama di bidang genetika dan kimia merujuk kepada aturan baku terbaru yang berlaku.

6. Untuk range angka menggunakan en dash (-), contohnya pp.1565–1569, jumlah anakan berkisar 7–8 ekor. Untuk penggabungan kata menggunakan hyphen (-), contohnya: masing-masing.

7. Ilustrasi dapat berupa foto (hitam putih atau berwarna) atau gambar tangan (*line drawing*).

8. Tabel

Tabel diberi judul yang singkat dan jelas, spasi tunggal dalam bahasa Indonesia dan Inggris, sehingga Tabel dapat berdiri sendiri. Tabel diberi nomor urut sesuai dengan keterangan dalam teks. Keterangan Tabel diletakkan di bawah Tabel. Tabel tidak dibuat tertutup dengan garis vertikal, hanya menggunakan garis horizontal yang memisahkan judul dan batas bawah.

8. Gambar  
Gambar bisa berupa foto, grafik, diagram dan peta. Judul gambar ditulis secara singkat dan jelas, spasi tunggal. Keterangan yang menyertai gambar harus dapat berdiri sendiri, ditulis dalam bahasa Indonesia dan Inggris. Gambar dikirim dalam bentuk .jpeg dengan resolusi minimal 300 dpi, untuk *line drawing* minimal 600dpi.
9. Daftar Pustaka  
Situs dalam naskah adalah nama penulis dan tahun. Bila penulis lebih dari satu menggunakan kata ‘dan’ atau *et al.* Contoh: (Kramer, 1983), (Hamzah dan Yusuf, 1995), (Premachandra *et al.*, 1992). Bila naskah ditulis dalam bahasa Inggris yang menggunakan sitasi 2 orang penulis maka digunakan kata ‘and’. Contoh: (Hamzah and Yusuf, 1995). Jika sitasi beruntun maka dimulai dari tahun yang paling tua, jika tahun sama maka dari nama penulis sesuai urutan abjad. Contoh: (Anderson, 2000; Agusta *et al.*, 2005; Danar, 2005). Penulisan daftar pustaka, sebagai berikut:
  - a. **Jurnal**  
Nama jurnal ditulis lengkap.  
Agusta, A., Maehara, S., Ōhashi, K., Simanjuntak, P. and Shibuya, H., 2005. Stereoselective oxidation at C-4 of flavans by the endophytic fungus *Diaporthe* sp. isolated from a tea plant. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 53(12), pp.1565–1569.
  - b. **Buku**  
Anderson, R.C. 2000. *Nematode Parasites of Vertebrates, Their Development and Transmission*. 2nd ed. CABI Publishing. New York. pp. 650.
  - c. **Prosiding atau hasil Simposium/Seminar/Lokakarya.**  
Kurata, H., El-Samad, H., Yi, T.M., Khammash, M. and Doyle, J., 2001. Feedback Regulation of the Heat Shock Response in *Escherichia coli*. *Proceedings of the 40th IEEE Conference on Decision and Control*. Orlando, USA pp. 837–842.
  - d. **Makalah sebagai bagian dari buku**  
Sausan, D., 2014. Keanekaragaman Jamur di Hutan Kabungolor, Tau Lumbis Kabupaten Nunukan, Kalimantan Utara. Dalam: Irham, M. & Dewi, K. eds. *Keanekaragaman Hayati di Beranda Negeri*. pp. 47–58. PT. Eaststar Adhi Citra. Jakarta.
  - e. **Thesis, skripsi dan disertasi**  
Sundari, S., 2012. Soil Respiration and Dissolved Organic Carbon Efflux in Tropical Peatlands. *Dissertation*. Graduate School of Agriculture. Hokkaido University. Sapporo. Japan.
  - f. **Artikel online.**  
Artikel yang diunduh secara online ditulis dengan mengikuti format yang berlaku untuk jurnal, buku ataupun thesis dengan dilengkapi alamat situs dan waktu mengunduh. Tidak diperkenankan untuk menseptisasi artikel yang tidak melalui proses peer review misalnya laporan perjalanan maupun artikel dari laman web yang tidak bisa dipertangung jawabkan kebenarannya seperti wikipedia.  
Himman, L.M., 2002. A Moral Change: Business Ethics After Enron. San Diego University Publication. <http://ethics.sandiego.edu/LMH/oped/Enron/index.asp>. (accessed 27 Januari 2008) bila naskah ditulis dalam bahasa inggris atau (diakses 27 Januari 2008) bila naskah ditulis dalam bahasa indonesia

#### **Formulir persetujuan hak alih terbit dan keaslian naskah**

Setiap penulis yang mengajukan naskahnya ke redaksi Berita Biologi akan diminta untuk menandatangani lembar persetujuan yang berisi hak alih terbit naskah termasuk hak untuk memperbaiknya melalui artikel dalam berbagai bentuk kepada penerbit Berita Biologi. Sedangkan penulis tetap berhak untuk menyebarluaskan edisi cetak dan elektronik untuk kepentingan penelitian dan pendidikan. Formulir itu juga berisi pernyataan keaslian naskah yang menyebutkan bahwa naskah adalah hasil penelitian asli, belum pernah dan tidak sedang diterbitkan di tempat lain serta bebas dari konflik kepentingan.

#### **Penelitian yang melibatkan hewan dan manusia**

Setiap naskah yang penelitiannya melibatkan hewan (terutama mamalia) dan manusia sebagai obyek percobaan/penelitian, wajib menyertakan ‘ethical clearance approval’ yang dikeluarkan oleh badan atau pihak berwenang.

#### **Lembar ilustrasi sampul**

Gambar ilustrasi yang terdapat di sampul jurnal Berita Biologi berasal dari salah satu naskah yang dipublikasi pada edisi tersebut. Oleh karena itu, setiap naskah yang ada ilustrasinya diharapkan dapat mengirimkan ilustrasi atau foto dengan kualitas gambar yang baik dengan disertai keterangan singkat ilustrasi atau foto dan nama pembuat ilustrasi atau pembuat foto.

#### **Proofs**

Naskah proofs akan dikirim ke penulis dan penulis diwajibkan untuk membaca dan memeriksa kembali isi naskah dengan teliti. Naskah proofs harus dikirim kembali ke redaksi dalam waktu tiga hari kerja.

#### **Pengiriman naskah**

Naskah dikirim secara online ke website berita biologi: [http://e-journal.biologi.lipi.go.id/index.php/berita\\_biologi](http://e-journal.biologi.lipi.go.id/index.php/berita_biologi)

#### **Alamat kontak**

Redaksi Jurnal Berita Biologi, Pusat Penelitian Biologi-LIPI  
Cibinong Science Centre, Jl. Raya Bogor Km. 46 Cibinong 16911  
Telp: +61-21-8765067, Fax: +62-21-87907612, 8765063, 8765066,  
Email: [berita.biologi@mail.lipi.go.id](mailto:berita.biologi@mail.lipi.go.id)  
[jurnalberitabiologi@yahoo.co.id](mailto:jurnalberitabiologi@yahoo.co.id) atau  
[jurnalberitabiologi@gmail.com](mailto:jurnalberitabiologi@gmail.com)

## BERITA BIOLOGI

Vol. 19(2)

### **Isi (Content)**

Agustus 2020

P-ISSN 0126-1754  
E-ISSN 2337-8751

#### **MAKALAH HASIL RISET (ORIGINAL PAPERS)**

|   |           |
|---|-----------|
| HUBUNGAN PANJANG-BOBOT DAN FAKTOR KONDISI IKAN NILEM ( <i>Osteochilus vittatus</i> VALENCIENNES, 1842) DI PERAIRAN WADUK BENANGA, KALIMANTAN TIMUR<br>[Length-Weight Relationship and Condition Factors of Bonylip Barb ( <i>Osteochilus vittatus</i> Valenciennes, 1842) in Benanga Water Reservoir, East Kalimantan]<br><i>Jusmaldi, Nova Hariani, dan Nikmahtulhaniah Ayu Wulandari</i> .....  | 127 – 139 |
| PENGARUH MEDIA TERKONDISI SEL PUNCA MESENSIMAL TERHADAP EKSPRESI GEN TRANSCRIPTION FACTOR 7-LIKE 2 (TCF7L2) TIKUS MODEL DIABETES MELITUS TIPE 2<br>[Effect of Mesenchymal Stem Cell-Conditioned Medium on Transcription Factor 7-Like 2 (TCF7L2) Gene Expression in Type 2 Diabetic Rat Models]<br><i>Stefani Santi Widhiastuti, Bernadia Brantamahisi, Nor Sri Inayati, Ida Ayu Preharsini, Demas Bayu Handika, Ahmad Hamim Sadewa, Abdurahman Laqif, dan Sofia Mubarika Haryana</i> ..... | 141 – 150 |
| ISOLASI DAN UJI KOMPATIBILITAS BAKTERI HIDROLITIK DARI TANAH TEMPAT PEMROSESAN AKHIR TALANGAGUNG, KABUPATEN MALANG<br>[Isolation and Compatibility Test of Hydrolytic Bacteria From Talangagung Landfill, Malang Regency]<br><i>Prilya Dewi Fitriasari, Nanda Amalia, dan Susiyanti Farkhiyah</i> .....   | 151 – 156 |
| CHROMOSOME COUNT ON YOUNG ANther OF BANANA MALE BUD USING EZYMATIC MACERATION AND DAPI STAINING IN SLIDE PREPARATION<br>[Penghitungan Jumlah Kromosom Pisang dari Jaringan Anther Muda Menggunakan Metode Maserasi Enzimatik dan Pewarnaan DAPI Pada Persiapan Preparat Mikroskop]<br><i>Fajarudin Ahmad and Yuyu Suryasari Poerba</i> .....  | 157 – 163 |
| RESPONSIFITAS VARIETAS UNGGUL BARU TEBU MASAK AWAL TERHADAP PEMUPUKAN<br>[Responsiveness of New Superior Clones/Varieties of Early Maturity Sugarcane to Fertilization]<br><i>Mala Murianingrum, Djumali, Prima Diarini Riajaya dan Bambang Heliyanto</i> .....   | 165 – 176 |
| <i>Rafflesia pricei</i> MEIJER (RAFFLESIACEAE): A NEW LOCALITY IN BORNEO<br>[ <i>Rafflesia pricei</i> Meijer (Rafflesiaceae): Lokasi Baru di Borneo]<br><i>Dewi Lestari, Ridha Mahyuni and Rajif Iryadi</i> .....   | 177 – 184 |
| VEGETASI POHON DAN PERSEBARANNYA DI TAMAN WISATA ALAM GUNUNG TUNAK DAN HUTAN KERAMAT, MANDALIKA, LOMBOK TENGAH, PROVINSI NUSA TENGGARA BARAT<br>[Vegetation of Trees and Its Distribution In Mount Tunak Nature Tourism Park and Keramat Forests, Mandalika, Central Lombok, West Nusa Tenggara Province]<br><i>Muhammad Mansur</i> .....   | 185 – 195 |
| JUMLAH, UJI VIABILITAS DAN DAYA KECAMBAH POLEN 31 AKSESI PISANG ( <i>Musa sp.</i> ) KOLEKSI KEBUN PLASMA NUTFAH PISANG LIPI<br>[Pollen Amounts, Assessment of Viability and Germination of 31 Banana ( <i>Musa sp.</i> ) Accessions From LIPI Germplasm Collection]<br><i>Erwin Fajar Hasrianda, Ahmad Zaelani dan Yuyu Suryasari Poerba</i> .....  | 197 – 206 |
| THE DIVERSITY OF BUTTERFLY IN AIR DINGIN LANDFILLS, BALAI GADANG, PADANG CITY<br>[Diversitas Kupu-Kupu di Tempat Pembuangan Akhir (TPA) Air Dingin, Balai Gadang, Kota Padang]<br><i>Leila Muhehni and Hendra Anwar</i> .....   | 207 – 214 |
| <b><u>KOMUNIKASI PENDEK (SHORT COMMUNICATION)</u></b>   |           |
| EFEK AROMATERAPI MINYAK ATSIRI MAWAR ( <i>Rosa damascena</i> MILL.) DAN KULIT JERUK LIMAU ( <i>Citrus ambycarpa</i> ) TERHADAP JUMLAH MIKROBA UDARA RUANGAN BERPENDINGIN<br>[The Effect of Essential Oils Aromatherapy of <i>Rosa damascena</i> Mill. and Leather of <i>Citrus ambycarpa</i> Against Total Air Microbes on Air Conditioned Rooms]<br><i>Oom Komala, Novi Fajar Utami dan Siti Mariyam Rosdiana</i> .....  | 215 – 222 |
| AKTIVITAS ANTIBAKTERI AIR PERASAN DANREBUSAN DAUN CALINCING ( <i>Oxalis corniculata</i> L.) TERHADAP <i>Streptococcus mutans</i> [Antibacterial Activities of Juice And Decoction of Calincing ( <i>Oxalis corniculata</i> L.) Leaves Against <i>Streptococcus mutans</i> ]<br><i>Ni Luh Arisa Prahastuti Winastri, Handa Muliasari dan Ernin Hidayati dan Muhsinul Ihsan</i> .....   | 223 – 230 |