

DAFTAR ISI

PERNYATAAN BEBAS PLAGIASI.....	i
PRAKATA.....	ii
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR TABEL.....	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR SINGKATAN	xi
INTISARI.....	xiv
ABSTRACT.....	xv
PENDAHULUAN	1
1. Latar Belakang	1
2. Perumusan Masalah	4
3. Tujuan Penelitian.....	5
4. Manfaat Penelitian	5
5. Keaslian Penelitian.....	5
TINJAUAN PUSTAKA	8
1. Tinjauan Pustaka	8
1.1. Peran Insulin dalam Homeostasis Glukosa	8
1.2. Diabetes Mellitus Tipe 2 dan Resistensi Insulin	10
1.3. <i>Interleukin 6</i>	11
1.4. Pengobatan Resistensi Insulin pada Diabetes Mellitus Tipe 2.....	12
1.5. MSC, UC-MSC, dan HUVEC MSC	13
1.6. Terapi MSC dan Sekretom MSC pada Diabetes Mellitus Tipe 2.....	14

1.7.	<i>Cell Line C2C12</i>	17
1.8.	<i>Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)</i>	18
2.	Kerangka Teori.....	20
3.	Kerangka Konsep.....	21
4.	Hipotesis.....	21
METODOLOGI PENELITIAN.....		22
1.	Jenis dan Desain Penelitian.....	22
2.	Subjek Penelitian.....	22
3.	Variabel Penelitian	23
3.1.	Variabel Penelitian	24
3.2.	Definisi Operasional.....	24
4.	Alat dan Bahan.....	26
4.1.	Alat Penelitian.....	26
4.2.	Bahan Penelitian.....	27
5.	Alur Penelitian	29
6.	Cara Kerja	29
6.1.	Persiapan <i>Cell Line C2C12</i>	29
6.2.	Uji Sitotoksisitas Sekretom HUVEC MSC.....	34
6.3.	Induksi Resistensi Insulin pada <i>Cell Line C2C12 Myotube</i> dengan Asam Palmitat	36
6.4.	Intervensi Sekretom HUVEC MSC pada Sel <i>C2C12 Myotube</i> Resistensi Insulin	37
6.5.	Uji Konsumsi Glukosa pada <i>Cell Line C2C12 Myotube</i> untuk Konfirmasi Model Resistensi Insulin.....	43
6.6.	Pemeriksaan Ekspresi mRNA IL-6 pada <i>Cell Line C2C12 Myotube</i>	47
7.	Analisis Data	53

7.1.	Analisis Data Hasil Uji Sitotoksisitas Sekretom HUVEC MSC pada <i>Cell Line C2C12 Myotube</i>	53
7.2.	Analisis Data Hasil Uji Konsumsi Glukosa pada <i>Cell Line C2C12 Myotube</i>	54
7.3.	Analisis Data Hasil Uji Ekspresi mRNA IL-6 dan β -actin pada <i>Cell Line C2C12 Myotube</i> dengan RT-PCR	55
HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....		57
1.	Hasil Penelitian	57
1.1.	Hasil Kultur dan Diferensiasi <i>Cell Line C2C12 Myoblast</i> menjadi <i>Myotube</i>	57
1.2.	Hasil Uji Sitotoksisitas Sekretom HUVEC MSC pada <i>Cell Line C2C12 Myotube</i>	58
1.3.	Model Resistensi Insulin pada <i>C2C12 Myotube</i> dengan Induksi Asam Palmitat	60
1.4.	Hasil Uji Ekspresi mRNA IL-6 pada <i>C2C12 Myotube</i>	64
2.	Pembahasan.....	67
3.	Keterbatasan Penelitian.....	85
KESIMPULAN DAN SARAN.....		86
1.	Kesimpulan	86
2.	Saran.....	86
DAFTAR PUSTAKA		87
LAMPIRAN.....		94
1.	Lampiran 1. <i>Ethical Clearance</i>	94
2.	Lampiran 2. Surat Ijin Penelitian	95
3.	Lampiran 3. Data varian dan sekuens <i>Interleukin 6</i> serta primer <i>Interleukin 6</i>	96
3.1.	Varian dan sekuens <i>Interleukin 6</i>	96
3.2.	Hasil BLAST NCBI pada primer <i>Interleukin 6</i>	96

3.3.	Hasil BLAST primer3plus pada primer <i>Interleukin 6</i>	97
4.	Lampiran 4. Data Absorbansi <i>Elisa reader</i> pada Uji Sitotoksitas Sekretom HUVEC MSC terhadap <i>Cell Line C2C12 Myotube</i>	98
5.	Lampiran 5. Data Absorbansi <i>Elisa reader</i> pada Uji Konsumsi Glukosa <i>Cell Line C2C12 Myotube</i>	98
6.	Lampiran 6. Data Absorbansi pada Pengukuran Konsentrasi dan Kemurnian Ekstrak RNA menggunakan Nanodrop	99
7.	Lampiran 7. Data Densitas <i>Band</i> mRNA IL-6 dan β -actin	99
8.	Lampiran 8. Uji Statistik Pengujian Parameter Penelitian.....	99
8.1.	Uji Statistik Data Viabilitas Sel Sekretom HUVEC MSC pada C2C12 <i>Myotube</i>	100
8.2.	Uji Statistik Data Konsumsi Glukosa pada C2C12 <i>Myotube</i>	100
8.3.	Uji Statistik Data Ekspresi mRNA IL-6 pada C2C12 <i>Myotube</i>	101
9.	Lampiran 9. Dokumentasi Penelitian	102
9.1.	Foto <i>gel</i> elektroforesis ulangan 1	103
9.2.	Foto <i>gel</i> elektroforesis ulangan 2	103
9.3.	Foto <i>gel</i> elektroforesis ulangan 3	104
9.4.	Dokumentasi kegiatan	105

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Penelitian Terdahulu Mengenai Terapi Sel Punca Mesenkimal terhadap Resistensi Insulin	6
Tabel 2. Bukti Kebaruan Penelitian	7
Tabel 3. Variabel, Definisi Operasional, dan Skala dalam Penelitian	24
Tabel 4. Spesifikasi volume dan konsentrasi reagen pada masing-masing kelompok <i>running</i> PCR	52
Tabel 5. Hasil Uji Sitotoksitas Sekretom HUVEC MSC pada <i>cell line</i> C2C12 <i>Myotube</i>	59
Tabel 6. Rata-Rata Kadar Glukosa Media <i>Cell Line</i> C2C12 <i>Myotube</i>	61
Tabel 7. Ekspresi mRNA IL-6 pada <i>Cell Line</i> C2C12 <i>Myotube</i>	64

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Jalur pensinyalan insulin via PI3K Akt dalam mekanisme <i>glucose uptake</i> melalui translokasi GLUT 4.....	9
Gambar 2. Mekanisme resistensi insulin yang dimediasi oleh asam palmitat.....	11
Gambar 3. Kerangka Teori	20
Gambar 4. Kerangka Konsep	21
Gambar 5. Alur Penelitian.....	29
Gambar 6. Peta tanam <i>cell line C2C12 myoblast</i> dalam <i>microplate 96 well</i> untuk uji sitotoksitas	34
Gambar 7. Peta tanam <i>cell line C2C12 myoblast</i> dalam <i>microplate 96 well</i> untuk intervensi	34
Gambar 8. <i>Mapping plate 96 well</i> uji sitotoksitas sekretom HUVEC MSC	35
Gambar 9. <i>Mapping plate</i> induksi resistensi insulin <i>cell line C2C12 myotube</i>	37
Gambar 10. <i>Mapping plate 96 well</i> untuk perlakuan <i>cell line C2C12 myotube</i> ...	41
Gambar 11. <i>Mapping plate 96 well</i> untuk pemberian insulin pada uji konsumsi glukosa <i>cell line C2C12 myotube</i>	45
Gambar 12. <i>Mapping plate 96 well</i> untuk pembacaan absorbansi pada uji konsumsi glukosa <i>cell line C2C12 myotube</i>	46
Gambar 13. Diferensiasi <i>C2C12 myoblast</i> menjadi <i>C2C12 myotube</i>	57
Gambar 14. Grafik Rata-Rata Viabilitas <i>Cell Line C2C12 Myotube</i> Pasca Paparan Sekretom HUVEC MSC dengan Konsentrasi Serial ($1,2 \times 10^5$ sampai dengan $3,0 \times 10^7$ partikel/mL)	60
Gambar 15. Grafik rata-rata kadar glukosa media <i>cell line C2C12 myotube</i>	61
Gambar 16. Grafik Rata-Rata Ekspresi mRNA IL-6 pada <i>Cell Line C2C12 Myotube</i>	65
Gambar 17. Karakterisasi protein terlarut dan <i>extracellular vesicle</i> dari sekretom HUVEC MSC	77
Gambar 18. Presumsi mekanisme sekretom HUVEC MSC dalam menurunkan ekspresi mRNA IL-6.	79
Gambar 19. Surat persetujuan dari komite etik untuk penelitian payung yang menaungi penelitian skripsi	94

Gambar 20. Surat izin penelitian.....	95
Gambar 21. Hasil BLAST NCBI dari pada primer IL-6.....	97
Gambar 22. Hasil BLAST primer3plus pada primer IL-6	97
Gambar 23. Dokumentasi hasil elektroforesis ulangan 1.....	103
Gambar 24. Dokumentasi hasil elektroforesis ulangan 2.....	104
Gambar 25. Dokumentasi hasil elektroforesis ulangan 3.....	105
Gambar 26. Dokumentasi peneliti melakukan aktivitas dalam laboratorium	106
Gambar 27. Dokumentasi kultur sel	106
Gambar 28. Dokumentasi PCR <i>microtube</i> dalam mesin PCR.....	107
Gambar 29. Dokumentasi pengaturan mesin PCR.....	107
Gambar 30. Dokumentasi pemasangan mesin elektroforesis	107