

DAFTAR ISI

JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
DAFTAR ISI.....	iii
DAFTAR TABEL	v
DAFTAR GAMBAR.....	vi
DAFTAR LAMPIRAN	viii
DAFTAR SINGKATAN.....	ix
PERNYATAAN PROMOVENDUS	x
KATA PENGANTAR.....	xi
ABSTRAK	xiv
ABSTRACT	xv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	5
C. Tujuan Penelitian	7
D. Manfaat Penelitian	9
E. Keaslian Penelitian.....	9
BAB II TINJAUAN PUSTAKA DAN LANDASAN TEORI.....	11
A. Tinjauan Pustaka	11
1. MSC dan produk sekretom	11
2. Respons MSC terhadap kondisi hipoksia	13
3. Faktor pertumbuhan neurotropik	17
4. Hewan coba model penyakit degenerasi jaringan saraf	19
5. Neurogenesis pada hippocampus	20
6. Memori dan memori spasial.....	24
7. Morris <i>Water Maze</i> (MWM).....	26
8. <i>Y-Maze</i>	27
B. Landasan Teori.....	28
C. Kerangka Teori	29
D. Kerangka Konsep	30
E. Hipotesis	30
BAB III METODE PENELITIAN	33
A. Jenis dan Rancangan Penelitian	33
B. Identifikasi Variabel.....	33
C. Subjek Penelitian	33
D. Definisi Operasional	36
E. Cara Kerja	37
1. Isolasi MSC.....	37
2. Subkultur dan memperbanyak jumlah sel.....	38
3. Karakterisasi MSC	38
4. Optimasi kondisi hipoksia pada MSC dengan menggunakan <i>hypoxic chamber</i>	38

5.	Pengukuran kadar BDNF, NGF, dan VEGF pada produk sekretom MSC pasca perlakuan hipoksia dengan metode ELISA	40
6.	Pembuatan model degenerasi hippocampus	45
7.	Injeksi produk sekretom.....	45
8.	Uji Morris <i>Water Maze</i> (MWM).....	46
9.	Uji <i>Y-Maze</i> (<i>spontaneous alternation</i>).....	48
10.	Pengorbanan hewan coba dan pengambilan jaringan	49
11.	Pembuatan homogenat jaringan hippocampus.....	49
12.	Pengukuran kadar protein pada jaringan hippocampus	50
13.	Pengukuran kadar BDNF pada jaringan hippocampus.....	50
14.	Pembuatan preparat histologis hippocampus	53
15.	Pewarnaan biru toluidin	54
16.	Penghitungan jumlah sel piramidal hippocampus	54
F.	Analisis dan Penyajian Data	59
G.	Etika Penelitian	59
H.	Alur Penelitian	59
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		61
A.	Penelitian Tahap 1	61
1.	Hasil	61
2.	Pembahasan.....	68
B.	Penelitian Tahap 2.....	72
1.	Hasil	72
2.	Pembahasan.....	82
C.	Keterbatasan Penelitian.....	86
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN		87
A.	Kesimpulan	87
B.	Saran	88
KEPUSTAKAAN		128
LAMPIRAN.....		141

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Definisi operasional penelitian tahap 1	36
Tabel 2. Definisi operasional penelitian tahap 2	37
Tabel 3. Perbandingan komposisi glukosa dan asam amino antara DMEM F-12 dan MEM Alpha	39
Tabel 4. Data karakterisasi MSC sebelum diinkubasi dalam kondisi hipoksia	61
Tabel 5. Rasio kadar BDNF dan VEGF	68

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Diagram skematik pengaruh hipoksia jangka pendek dan jangka panjang pada MSC.....	17
Gambar 2.	Skema sel punca saraf dan diferensiasinya pada gyrus dentatus dan zona subventrikular 1 otak dewasa	21
Gambar 3.	Skema sel punca saraf dan diferensiasinya pada gyrus dentatus dan zona subventrikular 2 otak dewasa	22
Gambar 4.	Neurogenesis dewasa pada zona subventrikular di daerah ventrikel lateral dan bulbus olfaktorius	23
Gambar 5.	Neurogenesis dewasa pada gyrus dentatus hippocampus	24
Gambar 6.	Kerangka teori penelitian	29
Gambar 7.	Kerangka konsep penelitian	30
Gambar 8.	Jadwal penelitian tahap 2 (perlakuan pada hewan coba)	35
Gambar 9.	Pembuatan rangkaian larutan standar untuk pengukuran kadar BDNF	41
Gambar 10.	Pembuatan rangkaian larutan standar untuk pengukuran kadar VEGF dan NGF	43
Gambar 11.	Konsep uji Morris <i>Water Maze</i>	47
Gambar 12.	Konsep uji <i>Y-Maze (spontaneous alternation)</i>	49
Gambar 13.	Pembuatan rangkaian larutan standar untuk pengukuran kadar BDNF dalam jaringan hippocampus	51
Gambar 14.	Penghitungan volume hippocampus menggunakan <i>grid</i> di atas gambaran potongan hippocampus	57
Gambar 15.	Penghitungan sel piramidal dengan disektor fisik	58
Gambar 16.	Alur penelitian tahap 1	59
Gambar 17.	Alur penelitian tahap 2	60
Gambar 18.	Foto mikroskopik MSC setelah inkubasi 48 – 96 jam dalam kondisi normoksia dan hipoksia	62
Gambar 19.	Foto mikroskopik MSC setelah inkubasi 48 – 96 jam dalam kondisi normoksia dan hipoksia	63
Gambar 20.	Gambaran <i>clump</i> pada kultur MSC (a) dan perbesarannya (b) pada kondisi hipoksia 1% setelah inkubasi 72 jam dan 96 jam	63
Gambar 21.	Grafik perhitungan jumlah MSC (a) dan histogram pertambahan jumlah MSC (b) setelah inkubasi selama 48, 72, dan 96 jam dalam kondisi normoksia dan hipoksia (10%, 5%, dan 1%)	64
Gambar 22.	Histogram perbandingan kadar BDNF (a) dan VEGF (b) dalam produk sekretom MSC setelah inkubasi 48, 72 dan 96 jam dalam kondisi normoksia dan hipoksia (10%, 5%, dan 1%)	67
Gambar 23.	Histogram berat badan hewan coba sejak mendapatkan injeksi TMT atau NaCl 0,9% (hari ke-1)	73
Gambar 24.	Grafik hasil uji penyelamatan diri Morris <i>water maze</i>	75
Gambar 25.	<i>Boxplot and whisker</i> hasil uji persistensi memori Morris <i>water maze</i>	76
Gambar 26.	Histogram hasil uji <i>Y-Maze (spontaneous alternation)</i>	78
Gambar 27.	Grafik kadar BDNF per mg protein dalam jaringan hippocampus	80

Gambar 28. Histogram hasil perhitungan volume hippocampus (a) dan jumlah sel
piramidal area CA1 dan CA2-CA3 (b)81

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Persetujuan etik penelitian.....	141
Lampiran 2.	Analisis statistik jumlah MSC	143
Lampiran 3.	Analisis statistik kadar BDNF dan VEGF dalam produk sekretom MSC	146
Lampiran 4.	Analisis statistik berat badan hewan coba	149
Lampiran 5.	Analisis statistik uji penyelamatan diri Morris <i>Water Maze</i>	151
Lampiran 6.	Analisis statistik uji persistensi memori Morris <i>Water Maze</i>	165
Lampiran 7.	Analisis statistik uji sensorimotor Morris <i>Water Maze</i>	166
Lampiran 8.	Analisis statistik uji <i>Y-Maze</i>	169
Lampiran 9.	Analisis statistik kadar BDNF dalam hippocampus	171
Lampiran 10.	Analisis statistik volume hippocampus	172
Lampiran 11.	Analisis statistik jumlah sel piramidal.....	173

DAFTAR SINGKATAN

AMPA	=	<i>α-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid</i>
Astro	=	<i>astrocyte</i>
BDNF	=	<i>brain derived neurotrophic factor</i>
BEC	=	<i>blood vessel endothelial cell</i>
bFGF	=	<i>basic fibroblast growth factor</i>
BM	=	<i>basement membrane</i>
CA	=	<i>cornu ammonis</i>
CA1	=	<i>cornu ammonis 1</i>
CA2	=	<i>cornu ammonis 2</i>
CA3	=	<i>cornu ammonis 3</i>
CD	=	<i>cluster of differentiation</i>
DMEM-F12	=	<i>Dulbecco's: Nutrient Mixture F-12</i>
ELISA	=	<i>enzyme-linked immunosorbent assay</i>
FBS	=	<i>fetal bovine serum</i>
GD	=	<i>gyrus dentatus</i>
GDNF	=	<i>glial cell-derived neurotrophic factor</i>
GFP	=	<i>green fluorescent protein</i>
GPx	=	<i>glutathione peroxidase</i>
GSH	=	<i>glutathione</i>
HRP	=	<i>horseradish peroxidase</i>
ISCT	=	<i>International Society for Cellular Therapy</i>
LNGFR	=	<i>low affinity nerve growth factor receptor</i>
MEM	=	<i>Modified Eagle Medium</i>
MSC	=	<i>mesenchymal stem cell</i>
MWM	=	<i>Morris Water Maze</i>
NGF	=	<i>nerve growth factor</i>
NMDA	=	<i>N-methyl-D-aspartic acid/N-methyl-D-aspartate</i>
NO	=	<i>nitric oxide</i>
NSC	=	<i>neural stem cell</i>
NT	=	<i>neurotrophin</i>
PPCA3	=	<i>performant path CA3</i>
ROS	=	<i>reactive oxygen species</i>
SDF-1	=	<i>stromal cell-derived factor-1</i>
SOD	=	<i>superoxide dismutase</i>
SA	=	<i>spontaneous alternation</i>
TA	=	<i>total arm entries</i>
TGN	=	<i>trans-Golgi network</i>
TMB	=	<i>tetramethylbenzidine</i>
TMT	=	<i>trimethyltin chloride, (CH₃)₃SnCl</i>
TrkB	=	<i>tropomyosin receptor kinase B</i>
VEGF	=	<i>vascular endothelial growth factor</i>