

Bidang Ilmu :
Kesehatan, penyakit tropis, gizi dan obat-obatan

Laporan Hasil Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi Tahun Anggaran 2012



Transplantasi Alogenik Sel Punca Sumsum Tulang
Untuk Perbaikan Folikulogenesis dan Hasil Fertilisasi pada
Tikus Model Kegagalan Ovarium dengan Pemberian Cisplatin

Dr. Hendy Hendarto, dr, SpOG(K)
Prof. Suhatno, dr, SpOG(K)
Prof. Dr. Fedik A. Rantam, drh

Dibiayai oleh DIPA Universitas Airlangga sesuai dengan
Surat Keputusan Rektor Tentang Kegiatan Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi
Tahun Anggaran 2012 Nomor: 2613/H3/KR/2012, Tanggal 9 Maret 2012

**UNIVERSITAS AIRLANGGA
2012**

HALAMAN PEGESAHAN

1. JUDUL : Transplantasi Alogenik Sel Punca Sumsum Tulang Untuk Perbaikan Folikulogenesis dan Hasil Fertilisasi pada Tikus Model Kegagalan Ovarium dengan Pemberian Cisplatin

2. Ketua Peneliti

- a. Nama lengkap : Dr. Hendy Hendarto, dr. SpOG(K)
- b. Jenis kelamin : Laki-laki
- c. NIP : 19610817 198802 1002
- d. Pangkat / Golongan : IVB / Pembina
- e. Jabatan Fungsional : Dosen Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga
- f. Bidang Keahlian : Dokter Spesialis Obstetri dan Ginekologi
- g. Fakultas : Kedokteran
- h. PerguruanTinggi : UniversitasAirlangga

Tim Peneliti

No	NAMA PENELITI	BIDANG KEAHLIAN	FAKULTAS/ JURUSAN	PERGURUAN TINGGI
1	Prof. Suhatno, dr, SpOG(K)	Dokter Obstetri Ginekologi/ Onkologi	Fakultas Kedokteran	Universitas Airlangga
2	Prof. Dr. Fedik A. Rantam, drh	Dokter Hewan / Kultur jaringan	Lab Stem Cell / Lembaga Peny .Tropis	Universitas Airlangga


3. Pendanaan dan jangka waktu penelitian

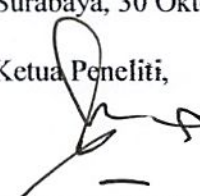
- a. Jangka waktu penelitian yang diusulkan : 1 tahun
- b. Biaya yang diusulkan : Rp 100.000.000,-
- c. Biaya yang disetujui tahun ini : Rp 60.000.000,-

Surabaya, 30 Oktober 2012

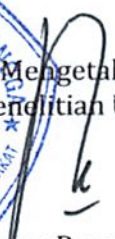
Mengetahui,
Dekan Fakultas Kedokteran Unair

Ketua Peneliti,


Prof. Dr. AgungPranoto, drMKes, SpPD K-EMD
FINASIM
NIP. 19560104 198312 1 001


Dr. Hendy Hendarto, dr.SpOG(K)
NIP. 19610817 198802 1 002

Mengetahui,
Ketua Lembaga Penelitian Universitas Airlangga


Dr. Djoko Agus Purwanto, MSi Apt.
NIP. 19590805 198701 1 001

RINGKASAN**Transplantasi Alogenik Sel Punca Sumsum Tulang Untuk Perbaikan Folikulogenesis dan Hasil Fertilisasi pada Tikus Model Kegagalan Ovarium dengan Pemberian Cisplatin**

Infertilitas merupakan salah satu konsekuensi kemoterapi pada wanita penderita kanker akibat efek sitotoksik yang menyebabkan kerusakan folikel akut, folikulogenesis abnormal sehingga terjadi kegagalan ovarium. Beberapa teknologi telah digunakan untuk mengatasi infertilitas tersebut, namun hasilnya masih belum memuaskan. Saat ini telah dicoba terapi sel punca untuk mengatasi akibat kemoterapi, namun data masih sedikit dan memberikan hasil yang kontroversi. Inilah yang kami angkat sebagai masalah pada penelitian kami, yaitu *transplantasi alogenik sel punca sumsum tulang untuk perbaikan folikulogenesis pada kegagalan ovarium akibat pengobatan kanker dengan kemoterapi masih diperdebatkan*.

Terdapat 2 faktor pertumbuhan, Growth Differentiation Factor-9 (GDF-9) dan Stem Cell Factor (SCF), yang penting untuk interaksi oosit-sel granulosa menjadi berubah sehingga mengganggu perkembangan folikel. Pada penelitian ini akan dievaluasi apakah transplantasi sel punca sumsum tulang (TSPST) mempunyai peran pada perbaikan folikulogenesis dengan memeriksa ekspresi GDF-9 dan SCF serta hitung perkembangan folikel pada tikus model kegagalan ovarium dengan pemberian cisplatin.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium pada hewan coba, melibatkan 48 ekor tikus dibagi menjadi 3 kelompok: kontrol, cisplatin dan cisplatin+TSPST. Kegagalan ovarium dibuat dengan cara pemberian injeksi cisplatin dosis 5 mg/kg BB selama 1 minggu. TST 2×10^7 sel disuntikkan melalui pembuluh darah ekor setelah pemberian cisplatin. Sumsum tulang diisolasi dari tulang femur tikus usia 6-12 minggu dan ditandai dengan CD44(+), CD45(-), CD105(+).

Hasil penelitian ini didapatkan ekspresi GDF-9 (15.91 ± 0.69) dan SCF (20.26 ± 1.14) pada kelompok cisplatin+TSPST lebih tinggi dari pada kelompok cisplatin saja (5.33 ± 1.76) dan (12.27 ± 2.88) dan kelompok kontrol (14.53 ± 1.42) dan (20.22 ± 2.14) ($p=0.000$).

Pada kelompok cispaltin+TSPST jumlah folikel primordial (5.31 ± 1.30), primer (4.37 ± 0.88), sekunder (3.62 ± 0.71) dan folikel de graaf (2.75 ± 0.85) lebih tinggi dari kelompok cisplatin saja (4.31 ± 1.19), (3.81 ± 1.22), (2.87 ± 0.95) dan (0.37 ± 0.69), tapi lebih rendah dari kelompok kontrol (6.12 ± 1.20), (4.93 ± 1.61), (4.25 ± 0.77) dan (5.81 ± 1.37) ($p=0.000$). Pengecatan label PKH tampak positif pada kelompok cisplatin+TSPST, sedangkan pada kelompok cisplatin saja hasilnya negatif.

Kesimpulan pada penelitian ini adalah pada tikus model kegagalan ovarium, transplantasi alogenetik sel punca sumsum tulang akan memperbaiki folikulogenesis. Masih diperlukan penelitian lanjutan.

ABSTRAK**Transplantasi Alogenik Sel Punca Sumsum Tulang Untuk Perbaikan Folikulogenesis dan Hasil Fertilisasi pada Tikus Model Kegagalan Ovarium dengan Pemberian Cisplatin**

Hendy Hendarto, Suhatno, Fedik A Rantam
Universitas Airlangga Surabaya Indonesia

Pendahuluan: Infertilitas merupakan salah satu konsekuensi kemoterapi pada wanita penderita kanker akibat efek sitotoksik yang menyebabkan kerusakan folikel akut, folikulogenesis abnormal sehingga terjadi kegagalan ovarium. Terdapat 2 faktor pertumbuhan, Growth Differentiation Factor-9 (GDF-9) dan Stem Cell Factor (SCF), yang penting untuk interaksi oosit-sel granulosa menjadi berubah sehingga mengganggu perkembangan folikel. Pada penelitian ini akan dievaluasi apakah transplantasi sel punca sumsum tulang (TSPST) mempunyai peran pada perbaikan folikulogenesis dengan memeriksa ekspresi GDF-9 dan SCF serta perkembangan folikel dengan menganalisis jumlah folikel primordial, primer, sekunder dan folikel de graaf pada tikus model kegagalan ovarium dengan pemberian cisplatin.

Materi dan Metode: 48 ekor tikus dibagi menjadi 3 kelompok: kontrol, cisplatin dan cisplatin+TSPST. Kegagalan ovarium dibuat dengan cara pemberian injeksi cisplatin dosis 5 mg/kg BB selama 1 minggu. TST 2×10^7 sel disuntikkan melalui pembuluh darah ekor setelah pemberian cisplatin. Sumsum tulang diisolasi dari tulang femur tikus usia 6-12 minggu dan ditandai dengan CD44(+), CD45(-), CD105(+). Pemeriksaan imunohistokimia dikerjakan setelah TSPST untuk memeriksa GDF-9, SCF dan perkembangan folikel. Hasil ke 3 kelompok diatas dibandingkan dengan menggunakan tes Anova.

Hasil: Ekspresi GDF-9 (15.91 ± 0.69) dan SCF (20.26 ± 1.14) pada kelompok cisplatin+TSPST lebih tinggi dari pada kelompok cisplatin saja (5.33 ± 1.76) dan (12.27 ± 2.88) dan kelompok kontrol (14.53 ± 1.42) dan (20.22 ± 2.14) ($p=0.000$). Pada kelompok cisplatin+TSPST jumlah folikel primordial (5.31 ± 1.30), primer (4.37 ± 0.88), sekunder (3.62 ± 0.71) dan folikel de graaf (2.75 ± 0.85) lebih tinggi dari kelompok cisplatin saja (4.31 ± 1.19), (3.81 ± 1.22), (2.87 ± 0.95) dan (0.37 ± 0.69), tapi lebih rendah dari kelompok kontrol (6.12 ± 1.20), (4.93 ± 1.61), (4.25 ± 0.77) dan (5.81 ± 1.37) ($p=0.000$). Pengecatan label PKH tampak positif pada kelompok cisplatin+TSPST, sedangkan pada kelompok cisplatin saja hasilnya negatif.

Kesimpulan: Pada tikus model kegagalan ovarium, transplantasi alogenik sel punca sumsum tulang akan memperbaiki folikulogenesis. Masih diperlukan penelitian lanjutan.

Bantuan : Riset Unggulan Perguruan Tinggi Universitas Airlangga 2012

Kata kunci : bone marrow, GDF-9, SCF, follicle, ovarian failure

ABSTRACT**Allogeneic transplantation of bone marrow stem cell on folliculogenesis improvement and fertilization result of cisplatin-induced ovarian failure in rat**

Hendarto H, Suhatno, Rantam FA
University of Airlangga Surabaya Indonesia

Introduction: Infertility is one of the consequence of chemotherapy in cancer patients due to its cytotoxic effect that induces acute follicular damage, abnormal folliculogenesis leading to ovarian failure. Two crucial growth factors in abnormal folliculogenesis namely Growth Differentiation Factor-9 (GDF-9) and Stem Cell Factor (SCF), which act on the oocyte-granulosa cell interaction, will be disrupted and in turn it will affect follicular development. In this study we try to evaluate whether bone marrow transplantation (BMT) has a role on oocyte-granulosa cell interaction by analyzing GDF-9 and SCF expressions and also follicular development by analyzing primordial, primary, secondary and graafian follicles of experimental cisplatin-induced ovarian failure in rat.

Design: Animal laboratory experimental study

Materials and Methods: Forty eight rats (*rattus novergicus* strain wistar) were divided into three groups : control, cisplatin and cisplatin+BMT. Ovarian failure was induced by administration of intraperitoneal cisplatin dose 5 mg/kg body weight for 1 week. BMT 2×10^7 cell was injected through rat tail vein after cisplatin administration. Bone marrow was isolated from rat femur 6-12 weeks of age and characterized by CD44(+), CD45(-), CD105(+). Immunohistochemistry examinations for ovarian GDF-9, SCF and follicle development evaluation were performed after 2 weeks of BMT injection. All three groups datas were compared using the Anova test.

Results: The expressions of GDF-9 (15.91 ± 0.69) and SCF (20.26 ± 1.14) in cisplatin+BMT group were higher than those in cisplatin group: (5.33 ± 1.76) and (12.27 ± 2.88) and control group: (14.53 ± 1.42) and ($20.22 \pm 2,14$) ($p=0.000$).

In cisplatin+BMT group the number of primordial (5.31 ± 1.30), primary (4.37 ± 0.88), secondary (3.62 ± 0.71) and graafian follicles (2.75 ± 0.85) were higher than those in cisplatin group: (4.31 ± 1.19), (3.81 ± 1.22), (2.87 ± 0.95) and (0.37 ± 0.69); but were lower than those in control group (6.12 ± 1.20), (4.93 ± 1.61), (4.25 ± 0.77) and (5.81 ± 1.37) ($p=0.000$).

Positive PKH labeling was seen in cisplatin+BMT group, while negative result in cisplatin group.

Conclusion: On cisplatin-induced ovarian failure in rat, bone marrow transplantation may improve oocyte-granulosa cell interaction and follicular development. Further study is needed.

Support: *Riset Unggulan Perguruan Tinggi Universitas Airlangga 2012*

Key words: *bone marrow, GDF-9, SCF, follicle, ovarian failure*

PRAKATA

Assalamualaikum wr wb

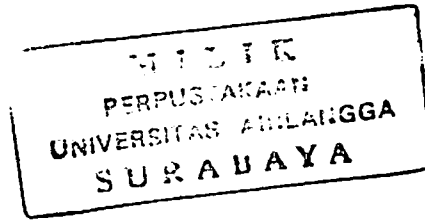
Dengan mengucap Alhamdulillah dan puji syukur kehadirat Allah Yang Maha Esa, penelitian dengan judul “Transplantasi Alogenic Sel Punca Sumsum Tulang Untuk Perbaikan Folikulogenesis dan Hasil Fertilisasi pada Tikus Model Kegagalan Ovarium dengan Pemberian Cisplatin” telah dapat diselesaikan. Banyak hal yang bisa dipetik hikmah pada penelitian ini, selain berguna untuk penderita infertilitas akibat kemoterapi, ternyata pembuatan disain penelitian, penulisan artikel dan diskusi dengan teman dan guru banyak membawa manfaat. Kami sampaikan terimakasih pada semua pihak yang membantu jalannya penelitian ini dan tentunya kepada Rektor Universitas Airlangga atas ijinnya menerima penelitian ini sebagai penelitian unggulan perguruan tinggi.

Kami memohon maaf atas segala salah dan khilaf dan semoga kita semua senantiasa semangat untuk meneliti dan menulis.

Selamat berkarya.

Penulis

DAFTAR ISI



	Halaman
LEMBAR IDENTITAS DAN PENGESAHAN	i
RINGKASAN	ii
ABSTRAK	iii
PRAKATA	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
BAB I. PENDAHULUAN	1
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	3
BAB III. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	7
BAB IV. METODE PENELITIAN	8
BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN	16
BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN	24
DAFTAR PUSTAKA	25
LAMPIRAN.....	27

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel5.1 : Perbedaan jumlah folikel pada kelompok kontrol, Cisplatin dan Cisplatin+TSPST	21

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 5.1: Karakterisasi sel punca sumsum tulang, CD 44 + (1), CD 45- (2), CD 104 + (3)	16
Gambar 5.2: Ekspresi GDF-9 pada kelompok kontrol (1), perlakuan cisplatin (2) dan perlakuan cisplatin + TSPST (3).	17
Gambar 5.3: Skor total ekspresi GDF-9, Kelompok kontrol: 14.53 ± 1.42 , perlakuan cisplatin : 5.33 ± 1.76 dan perlakuan cisplatin +TSPST : 15.91 ± 0.69	17
Gambar 5.4: Ekspresi SCF pada kelompok kontrol (1), perlakuan cisplatin (2) dan perlakuan cisplatin + TSPST (Sel Punca Sumsum Tulang) (3)	19
Gambar 5.5: Skor total ekspresi SCF, kelompok kontrol : 20.22 ± 2.14 , perlakuan cisplatin : 12.27 ± 2.88 dan perlakuan cisplatin +TSPST : 20.26 ± 1.14	20
Gambar 5.6: Hasil pewarnaan / PKH labelling, Kelompok cisplatin (1a) dan (1b) tidak ada pewarnaan, kelompok cisplatin+TSPST (2a) dan (2b) terlihat pewarnaan PKH	23

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran1 : Personalia tenaga peneliti 27

BAB I PENDAHULUAN

PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

Infertilitas merupakan salah satu konsekuensi kemoterapi pada wanita penderita kanker akibat efek sitotoksik yang menyebabkan kerusakan folikel akut, folikulogenesis abnormal sehingga terjadi kegagalan ovarium. Beberapa teknologi telah digunakan untuk mengatasi infertilitas tersebut, diantaranya adalah menggunakan teknologi Fertilisasi In Vitro. Hasil fertilisasi in vitro yang dilakukan setelah kemoterapi pada penderita kanker masih belum memuaskan, tampak dari jumlah dan kualitas oosit dan embrio yang didapat lebih rendah dibandingkan kalau dilakukan sebelum kemoterapi (Dolmans, 2005). Efek toksik kemoterapi akan menyebabkan kerusakan ireversibel folikel primordial terutama pada membran sel granulosa dan oosit sehingga terjadi kegagalan ovarium (Huser, 2008). Selain fertilisasi in vitro, berbagai cara dilakukan untuk mengatasi akibat kemoterapi antara lain preservasi krio jaringan ovarium, oosit dan embrio walaupun belum memberi hasil yang optimal. Saat ini telah dicoba terapi sel punca untuk mengatasi akibat kemoterapi, namun data masih sedikit dan memberikan hasil yang kontroversi. Inilah yang kami angkat sebagai masalah pada penelitian kami, yaitu *transplantasi alogenik sel punca sumsum tulang untuk perbaikan folikulogenesis dan hasil fertilisasi pada kegagalan ovarium akibat pengobatan kanker dengan kemoterapi masih diperdebatkan.*

Angka harapan hidup penderita kanker saat ini meningkat dengan adanya diagnosis dan terapi yang akurat, namun penggunaan kemoterapi akan memberikan efek samping berupa gangguan folikulogenesis dan kegagalan ovarium. Sampai saat ini dipercaya dogma bahwa tidak ada pertumbuhan oosit baru pasca persalinan, karena itu gangguan folikulogenesis dan kegagalan ovarium akibat kemoterapi diduga permanen sehingga akan memberikan konsekuensi penurunan kualitas hidup karena terjadi infertilitas ((Lee, 2007; Roux, 2010). Pada gangguan folikulogenesis dan kegagalan ovarium dua faktor pertumbuhan penting, yaitu *Growth Differentiation Factor-9* (GDF-9) dan *Stem Cell Factor* (SCF) yang berperan pada interaksi oosit dan sel granulosa, akan terganggu. Bila dilakukan fertilisasi in vitro, gangguan tersebut akan mempengaruhi maturasi oosit dalam berbagai bentuk, yaitu pada *Germinal Vesicle* (GV), *Germinal Vesicle Break Down* (GVBD), metafase I dan II serta kualitas embrio.

Sel punca sumsum tulang mesenkim, yang mempunyai kemampuan meregenerasi dirinya sendiri dan berdiferensiasi menjadi sel jaringan lain, telah dicoba penggunaannya untuk terapi regenerasi berbagai macam penyakit. Transplantasi intravena sel punca akan *homing* dan berdiferensiasi menjadi sel progenitor untuk berkembang menjadi sel target. Aktivitas sel punca sumsum tulang dapat diperiksa dengan melihat ekspresi CD45 dan CD105 (Goussetis, 2005).

Penelitian yang akan dilakukan ini mencoba menjawab masalah diatas dalam 2 tahap selama 2 tahun. Pada tahun 1 dilakukan transplantasi sel punca sumsum tulang mesenkim dengan tujuan untuk mengatasi keadaan akibat kemoterapi cisplatin, melalui kemampuan sel punca untuk memperbaiki lingkungan sekitar oosit sehingga akan memperbaiki proses folikulogenesis berupa perubahan ekspresi GDF-9, SCF dan hitung folikel. Penelitian tahun 2 akan dibuktikan bahwa transplantasi sel punca sumsum tulang mesenkim akan memperbaiki hasil fertilisasi in vitro melalui kemampuan diferensiasi sel punca untuk memperbaiki lingkungan sel somatik sehingga akan meningkatkan maturasi oosit dan kualitas embrio. Karena hambatan etika, penelitian ini akan dikerjakan pada hewan coba tikus model kegagalan ovarium.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

Penanganan kanker yang terdiri dari operasi, radiasi dan kemoterapi ternyata dapat menyebabkan keadaan yang merugikan yaitu gangguan pada fungsi ovarium sehingga berakibat terjadi menopause dini dan infertilitas. Pemberian kemoterapi baik secara tunggal maupun kombinasi akan merusak sel granulosa dan oosit folikel yang sedang tumbuh dan akan menyebabkan terjadi kegagalan ovarium (Stroud, 2009). Kegagalan ovarium adalah hilangnya fungsi ovarium yang disebabkan akibat langsung pada ovarium, yang bila terjadi pada wanita usia dibawah 40 tahun disebut sebagai kegagalan ovarium prematur (*Premature Ovarian Failure*)(Goswani, 2005). Terdapat 2 kondisi yang berhubungan dengan munculnya keluhan akibat kegagalan ovarium yaitu anovulasi dan hipoestrogen, keluhan tersebut dapat berupa gangguan haid, infertilitas dan keluhan akibat hipoestrogen, yaitu : hot-flushes, berdebar-debar, vagina kering serta risiko keluhan jangka panjang yaitu osteoporosis (Shapiro, 2001; Goswani, 2005). Sebenarnya penyebab kegagalan ovarium diatas bisa bermacam-macam, antara lain : akibat kelainan genetik, penyakit auto imun, faktor lingkungan dan penyebab iatrogenik. Penyebab iatrogenik yang sering terjadi berupa tindakan pembedahan dan terapi radiasi atau kemoterapi. Stroud menyebutkan bahwa angka kejadian kegagalan ovarium pada penderita yang mengalami pengobatan kanker berkisar 8%, sedangkan bila dengan pengobatan kemoterapi kejadian kegagalan ovarium meningkat menjadi 30% (Stroud, 2009)

Kemoterapi adalah pengobatan terhadap penyakit menggunakan bahan kimia dengan cara mematikan sel yang membelah dengan cepat, satu diantaranya adalah sel kanker. Beberapa jenis kemoterapi yang dikenal saat ini adalah *alkylating agent*, *anti-metabolites*, *plant alkaloids* dan *terpenoids* serta *anti neoplastics*. Cisplatin adalah obat kemoterapi berbasis platinum yang dipakai untuk mengobati berbagai macam kanker salah satunya yaitu kanker ovarium. Cisplatin bekerja di DNA pada basa guanin untuk menyebabkan gangguan pada proses mitosis sehingga berpengaruh negatif pada pembelahan sel. Pada pengobatan kanker ovarium dengan menggunakan Cisplatin kombinasi bisa diberikan dalam bentuk intra vena ataupun dalam bentuk intra peritoneum (Armstrong, 2006). Pemberian Cisplatin ternyata menyebabkan penurunan fungsi ovarium yang tampak dari

adanya penurunan kadar estradiol disertai dengan peningkatan kadar FSH. Selain itu pemberian Cisplatin akan menyebabkan penurunan jumlah total folikel, terutama folikel antral sehingga maturasi folikel terhambat. (Atsuhiko, 1998)

Folikel ovarium adalah unit fungsional reproduksi wanita, terdiri dari oosit, sel granulosa dan sel teka. Proses tumbuh dan maturasi oosit di dalam lingkungan sel granulosa dan teka untuk menjadi sel telur matang yang siap untuk fertilisasi disebut folikulogenesis (Rajkovic, 2006). Folikulogenesis melibatkan kerja sama erat antara ketiga sel diatas dan mencakup banyak proses antara lain: proliferasi sel granulosa, meiosis oosit, steroidogenesis sel teka dan lain-lain (Knight PG, 2006). Didalam folikel, komunikasi parakrin antara oosit dan sel granulosa yang mengelilinginya merupakan sesuatu yang sangat penting untuk perkembangan dan fungsi reproduksi. Terdapat hubungan interdependensi antara sel granulosa dan oosit, yaitu : oosit tidak dapat tumbuh pada kultur isolasi dari sel granulosa (Briggs, 1999).

Oosit memproduksi *Growth Differentiation Factor-9* (GDF-9) yang menstimulasi pertumbuhan dan perkembangan sel granulosa, sedangkan sel granulosa memproduksi Kit Ligand atau disebut juga *Stem Cell Factor* (SCF) yang berfungsi untuk menstimuli proliferasi dan maturasi oosit (Thomas FH, 2006).

Aktivitas GDF-9 dan SCF akan terganggu pada beberapa keadaan pada gangguan folikulogenesis sehingga berakibat terjadi infertilitas. Filho memeriksa semua jaringan ovarium dengan menggunakan metode *In situ hybridization* mendapatkan hasil bahwa ekspresi GDF-9 terdapat terbatas hanya pada oosit. Didapatkan juga hasil bahwa kadar sinyal GDF-9 menurun pada oosit pasien dengan *Polycystic Ovary* (PCO) dibanding pasien normal tanpa PCO. Pada PCO sudah diketahui terdapat gangguan folikulogenesis, maka berarti bahwa terdapat perbedaan proses folikulogenesis pada kedua kelompok tersebut berdasarkan kadar sinyal GDF-9 (Filho, 2001). Pada penelitian kami sebelumnya yang dilakukan pada penderita endometriosis dengan infertilitas didapatkan kadar GDF-9 zalir folikel lebih rendah dibandingkan pada pasien non endometriosis. Didaptkan pula hasil bahwa makin berat stadium endometriosis kadar GDF-9 semakin rendah sehingga terjadi gangguan folikulogenesis dan berakibat terjadi infertilitas (Hendarto, 2007). Pada penelitian kami sebelumnya yang dilakukan pada hewan coba mencit model endometriosis juga mendapatkan hasil ekspresi Kit Ligand atau SCF pada jaringan ovarium lebih rendah dibandingkan kontrol,

dimana keadaan ini menunjukkan adanya gangguan folikulogenesis pada endometriosis (Jimmy, 2009).

Pada kegagalan ovarium akibat pemberian kemoterapi akan terjadi kerusakan pada sel granulosa dan oosit yang selanjutnya akan terjadi gangguan folikulogenesis. Pada penelitian kami sebelumnya pada tahun 2010 yang belum dipublikasikan didapatkan bahwa terjadi penurunan ekspresi SCF dan GDF-9 pada mencit model kegagalan ovarium dibandingkan kontrol. Mencit model kegagalan ovarium dibuat dengan cara menyuntikkan Cisplatin intraperitoneal dan ditunggu 1 minggu untuk mendapatkan kondisi kegagalan ovarium tersebut.

Hasil pengobatan untuk mengatasi kegagalan ovarium dengan infertilitas akibat kemoterapi masih belum memuaskan. Selain fertilisasi *in vitro*, berbagai cara dilakukan untuk mengatasi akibat kemoterapi antara lain preservasi krio jaringan ovarium, oosit dan embrio, namun sampai saat ini belum memberikan angka keberhasilan yang tinggi. Saat ini telah dicoba terapi sel punca untuk mengatasi akibat kemoterapi, tetapi data masih sedikit dan kontroversi yaitu ada yang gagal membuktikannya. Sel punca merupakan sel yang belum berdiferensiasi dan mempunyai potensi untuk dapat berdiferensiasi menjadi jenis sel lain. Kemampuan tersebut membuat sel punca dimungkinkan menjadi sistem perbaikan tubuh dengan menyediakan sel-sel baru selama organisme bersangkutan hidup. Sel punca dibedakan menjadi 2 berdasarkan asalnya yaitu: 1) Sel punca embrio (*embryonic stem cells*) dan 2) Sel punca dewasa (*adult stem cells*). Sel punca dewasa mempunyai dua karakteristik, pertama : sel tersebut dapat berproliferasi untuk periode yang panjang untuk memperbarui diri. Kedua, sel tersebut dapat berdiferensiasi untuk menghasilkan sel-sel khusus yang mempunyai karakteristik morfologi dan fungsi yang spesial. Salah satu jenis sel punca dewasa adalah sel punca sumsum tulang mesenkim yang telah banyak dicoba untuk aplikasi klinis untuk terapi regenerasi (Bongso, 2005; Romeu, 2007; Rantam, 2009)

Penggunaan sel punca sumsum tulang untuk memperbaiki fertilitas telah dicoba oleh Lee dkk. di *the Vincent Center for Reproductive Biology and Center for Regenerative Medicine, Massachusetts General Hospital/Harvard Medical School, Boston* (2007). Dilakukan transplantasi sel punca sumsum tulang dengan diberi label warna pada hewan coba mencit model kegagalan ovarium prematur dengan menggunakan sitostatika Busulfan dan siklofosamid. Hasilnya adalah

setelah transplantasi sel punca sumsum tulang didapatkan perbaikan fertilitas mencit, namun semua hasil fertilisasinya berasal dari resipien bukan dari donor. Hasil tersebut menunjukkan bahwa transplantasi sel punca sumsum tulang akan mengaktivasi *germline* resipien, bukan membuat oosit baru yang berasal dari donor, walau ada penelitian lain yang membantah tapi tanpa disertai bukti (Lee, 2007).

Pada penelitian yang kami kerjakan ini dilakukan pada hewan coba tikus *wild type* model kegagalan ovarium, dimana pada penelitian sebelumnya telah kami buktikan pada hewan coba mencit (Belum dipublikasikan). Dilakukan transplantasi alogenik sel punca sumsum tulang mesenkim melalui vena ekor mencit dan selanjutnya dilakukan evaluasi pada proses folikulogenesis dan hasil fertilisasi in vitro. Transplantasi alogenik dilakukan untuk menghindari masalah etika seperti bila dilakukan transplantasi *xeno*. Proses folikulogenesis dievaluasi pada ekspresi SCF, GDF-9 dan hitung folikel, sedangkan hasil fertilisasi in vitro dievaluasi pada maturasi oosi dan viabilitas embrio. Aktivitas sel punca sumsum tulang ditunjukkan dengan adanya ekspresi CD45 dan CD105. Penelitian ini dilakukan dua tahap selama dua tahun.

BAB III

TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

III.1 TUJUAN UMUM :

Mempelajari pengaruh transplantasi alogenetik sel punca sumsum tulang pada perbaikan folikulogenesis dan hasil fertilisasi pada tikus model kegagalan ovarium

III.2 TUJUAN KHUSUS :

1. Membuktikan perbedaan ekspresi GDF-9 dan SCF di ovarium tikus model kegagalan ovarium antara yang dilakukan transplantasi alogenetik sel punca sumsum tulang dan yang tidak dilakukan.
2. Membuktikan perbedaan hitung perkembangan folikel ovarium (folikel primordial, primer, sekunder, tersier dan korpus luteum) tikus model kegagalan ovarium antara yang dilakukan transplantasi alogenetik sel punca sumsum tulang dengan yang tidak dilakukan.

III.3 MANFAAT PENELITIAN :

1. Memberi wawasan baru untuk terapi alternatif pada kegagalan ovarium akibat kemoterapi pada pasien kanker.
2. Menambah informasi ilmiah tentang kegunaan sel punca sumsum tulang terhadap proses folikulogenesis, maturasi oosit dan viabilitas embrio hasil fertilisasi in vitro, termasuk diketahuinya beberapa target molekul yang dimodulasi oleh sel punca sumsum tulang.

BAB IV**METODE PENELITIAN****IV.1 Desain Penelitian :**

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan desain random secara buta ganda.

IV.2 Unit eksperimen :

Unit eksperimen pada penelitian ini adalah tikus coba unit hewan coba laboratorium. model kegagalan ovarium.

Tahun I :

Dibuat tikus model kegagalan ovarium dengan cara sampel tikus A disuntik Cisplatin 5mg/kg intraperitoneum, 1 minggu kemudian diberi perlakuan transplantasi sel punca susmsum tulang mesenkim 2×10^7 sel melalui pembuluh darah vena ekor. Sampel tikus B disuntik Cisplatin 5mg/kg intraperitonum, 1 minggu kemudian disuntik plasebo melalui pembuluh darah vena ekor.

Tahun II :

Pada ke dua kelompok, tikus A dan tikus B setelah dilakukan transplantasi sel punca sumsum tulang mesenkim dan suntikan plasebo, dilakukan stimulasi ovarium dengan PMSG dan hCG dan selanjutnya dilakukan fertilisasi invitro.

IV.3 Replikasi :

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

$t = 2$, maka didapatkan hasil sebagai berikut :

$$(n-1)(2-1) \geq 15$$

$$n \geq 16$$

Jadi besar sampel pada masing-masing kelompok adalah 16 ekor tikus

Pada penelitian ini akan dilakukan beberapa pengamatan, yaitu :

Tahun I	Tahun II
<ol style="list-style-type: none"> 1. Ekspresi GDF-9 2. Ekspresi SCF 3. Hitung folikel 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Maturasi oosit 2. Viabilitas embrio

IV.4 Kriteria subyek penelitian :

Kriteria inklusi :

1. Tikus betina
2. Usia 8 minggu
3. Belum pernah kawin (dara)
4. Berat badan tikus 200-300 gram
5. Sehat : bulu halus, mata bersinar, tidak pincang, tidak didapatkan bekas luka

Kriteria eksklusi : Tikus pernah dipakai untuk penelitian lain.

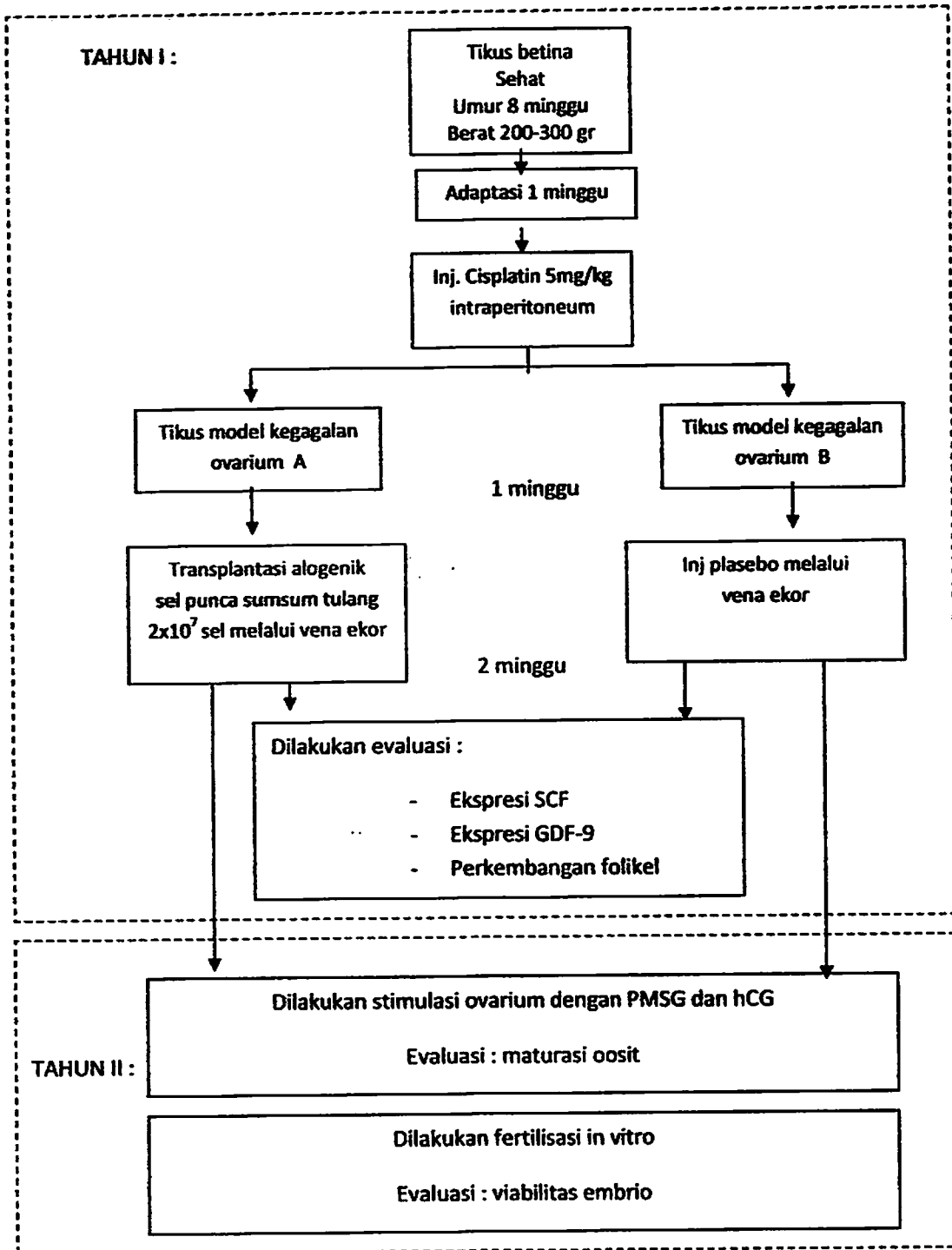
Kriteria putus uji :

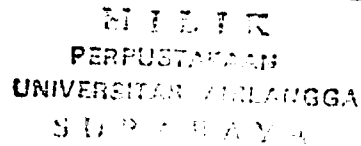
Mati, sakit atau terjepit kandang setelah adaptasi 1 minggu atau setelah mendapat suntikan Cisplatin dan sel punca sumsum tulang mesenkim.

IV.5 Variabel, capaian dan luaran penelitian :

Variabel	Tahun I	Tahun II
Variabel bebas	Sel punca sumsum tulang	Sel punca sumsum tulang mesenkim
Variabel tergantung	<ol style="list-style-type: none"> 1. Ekspresi GDF-9 2. Ekspresi SCF 3. Hitung folikel 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Maturasi oosit 2. Viabilitas embrio
Capaian penelitian	Terapi sel punca memperbaiki gangguan folikulogenesis	Terapi sel punca memperbaiki hasil fertilisasi in vitro
Luaran penelitian	Publikasi nasional dan internasional	Publikasi nasional dan Internasional

VI.6 Kerangka Operasional





Tahun I :

Membuat tikus model kegagalan ovarium :

Seluruh hewan coba yang digunakan diambil dari Unit Hewan Coba Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Tikus disuntik sitostatika Cispatin dengan dosis konversi 5 mg/kg BB, penyuntikan dilakukan secara intraperitoneum dengan perlahan selama 60 detik. Jarum suntik disuntikkan posisi 45° dari perut tikus. Pada hari ke 7 pasca penyuntikan diharapkan telah menjadi tikus model kegagalan ovarium, kondisi ini telah terbukti pada penelitian sebelumnya (Feri dkk., 2010)

Isolasi sel punca sumsum tulang : (Fedik AR dkk., 2009)

- Dengan menggunakan anestesi lokal, dilakukan koleksi aspirat sumsum tulang yang berasal dari tulang tibia tikus dan selanjutnya ditaruh pada tabung Heparin 15 mL yang berisi α -MEM 3 mL. Tabung dan sediaan disimpan dalam es sebelum nanti diproses.
- Setiap aspirat ditransfer kedalam tabung blue cap 15 mL dan didilusi dengan PBS
- Setiap tabung dicuci dengan 2 kali dengan PBS 5 mL
- Campurkan dan lapisi setiap aspirat dengan Ficoll
- Dilakukan sentrifugasi 1600 rpm selama 15 menit
- Koleksi 'buffy coat' yang terletak pada Ficoll-PBS dengan pipet Pasteur dan letakkan sel pada tabung 15 ml
- Dilakukan dilusi setiap sampel dengan PBS, campur sebanyak 3-5 kali
- Sentrifugasi 1600 rpm selama 10 menit
- Aspirasi supernatan dan resuspensi sel dengan dengan CCM 6 mL
- Letakkan sel pada plate 5 atau 10 cm²
- Inkubasi sel pada suhu 37°C dengan kelembaban 5% CO₂ selama 24 jam
- Setelah 24 jam tambahkan PBS 2 mL pada kultur, cuci 2 kali
- Ditambahkan CCM 10 mL, dilakukan inkubasi pada suhu 37°C dengan kelembaban 5% CO₂ selama 5-10 hari
- Dilakukan pemeriksaan setiap hari dengan mikroskop elektron
- Setiap 3 hari cuci sel dengan PBS 5 atau 10 ml dan tambahkan CCM 10 mL

Dilanjutkan sampai sel antara 60-80% confluent

Ekspresi GDF-9 dan SCF :

Ekspresi GDF-9 dan SCF diukur pada sediaan yang dicat imunohistokimia yang diambil dari jaringan ovarium tikus. Cara menghitung ekspresi tersebut dengan cara persentase perlapangan pandang dengan mikroskop pembesaran 400x, kemudian dinilai skor, luas 0-25% lapang pandang nilai skor 1; 25%-50% nilai skor 2; 51%-75% nilai skor 3; 76%-100% nilai skor 4. Skor ekspresi GDF-9 dan SCF dilihat pada 10 lapang pandang kemudian dijumlahkan dan dirata-rata.

Tahap II :**Stimulasi ovarium dengan PMSG dan hCG :**

Tikus model kegagalan ovarium disuntik PMSG 5 IU, 48 jam kemudian disuntik hCG 5 IU dan tikus langsung di kumpulkan dengan mencit pejantan vasektomi. Setelah 17 jam dilakukan pemeriksaan vaginal plug, jika positif dilakukan pembilasan. Uterus dipreparir dan tuba falopii diangkat dilakukan pembilasan dengan PBS. Tuba falopii diletakkan di cawan petri untuk dilakukan panen (flushing) sel telur dibawah mikroskop inverted dengan merobek kantong fertilisasi.

Pewarnaan Aceto Orcein 1% :**Bahan :**

1. Orcein 1,0 g
2. Acetic Acid 45 g
3. Glycerin 20 ml
4. DW 60 ml
5. Acetic acid 20 ml
6. Ethanol absolut 3.0 bag
7. Acetic acid 1,0 bag

Acetic acid dipanaskan dalam baker glass dengan bunsen selama 20 detik dan ditambahkan orcein 1% dicampur secara merata. Setelah dingin ditambahkan 55 ml distilled water (DW). Dilakukan filtrasi dan disimpan di tempat gelap.

Pewarnaan :

Sel telur yang telah dipanen diletakkan di obyek glass, ditutup dengan cover glass, difiksasi acetic acid. Meneteskan larutan pewarna Arceto Orcein 1% dengan spuit, dibiarkan selama 1 menit. Dengan cara yang sama media pewarna diganti dengan media penghilang warna Arceto gliserol. Selanjutnya cover glass ditutup dengan parafin dan diamati dibawah mikroskop inverted

Fertilisasi In Vitro

Sel telur yang sudah dikoleksi dicuci dengan medium PBS 3 kali, kemudian dicuci dengan medium M16 sebanyak 3 kali. Selanjutnya sel telur dipindahkan didalam medium M16 drop. Spermatozoa yang sudah dipreparasi dimasukkan kedalam medium drop yang berisi sel telur dengan dosis 200. 000. Selanjutnya diinkubasi dalam inkubator CO₂ 5 % selama 24 jam. Kemudian diamati jumlah zigot yang terbentuk.

Kultur Embrio In Vitro

Zigot hasil fertilisasi in vitro dicuci dengan Medium M16 untuk menghilangkan sisa spermatozoa yang mati dan rontok sel granulosa. Kemudian zigot yang dipindahkan dalam medium drop M 16 dandikultur dalam inkubator CO₂ 5 % selama 4 hari sampai embrio berkembang menjadi tahap blastosis.

Pemeriksaan Viabilitas Embrio dengan Immunoflorescen

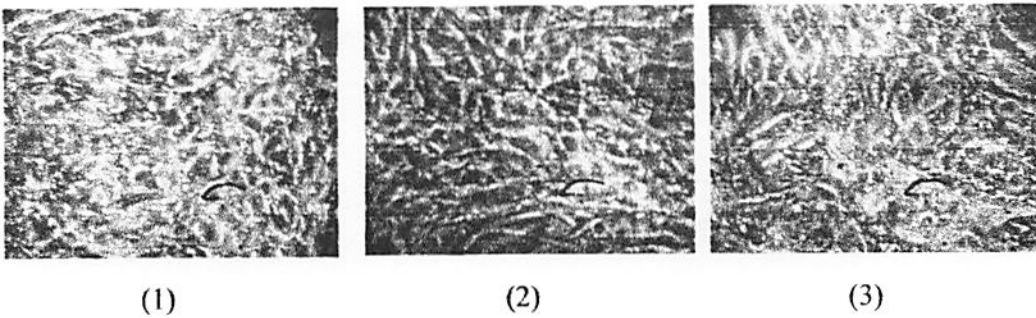
Embrio tahap blastosis yang dihasilkan sebagian diperiksa viabilitasnya dengan teknik immunoflorescen. Blastosis dikultur dalam larutan Hoechst dan propidium iodine di dalam inkubator CO₂ selama 30 menit. Kemudian blastosis dipindahkan ke obyek gelas dengan pipet mulut modifikasi. Selanjutnya diperiksa di bawah mikroskop flouresen dan diamati blastosis yang hidup dan mati. Blastosis yang mati dibawah mikroskop fluorezen akan tampak berwarna merah sedangkan blastosis hidup akan tampak berwarna hijau.

BAB V

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini sudah dilaksanakan sejak bulan Maret 2012 di Kandang Hewan Coba dan Laboratorium Patologi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya. Dua minggu setelah pemberian transplantasi sel punca sumsum tulang (SPST) hewan coba mencit dikorbankan dan selanjutnya dilakukan evaluasi pada jaringan ovarium.

Sel punca sumsum tulang diisolasi dari tulang femur tikus usia 6-12 minggu dan ditandai dengan CD44(+), CD45(-), CD105(+).



Gambar 5.1 : Karakterisasi sel punca sumsum tulang, CD 44 + (1), CD 45 - (2) , CD 104 + (3)

V.1 Ekspresi GDF-9

Hasil pemeriksaan imunohistokimia untuk ekspresi GDF-9 pada kelompok kontrol, perlakuan cisplatin dan perlakuan cisplatin + transplantasi SPST adalah sebagai berikut : 14.53 ± 1.42 ; 5.33 ± 1.76 dan 15.91 ± 0.69 , terdapat perbedaan bermakna pada ketiga kelompok diatas ($p=0,00$).

Hasil diatas sesuai dengan gambar pewarnaan imunohistokimia yang ditandai dengan warna coklat pada sel yang mengekspresikan GDF-9. Pada pemberian cisplatin didapatkan penurunan ekspresi GDF-9 dan pada pemberian transplantasi SPST terjadi peningkatan ekspresi GDF-9

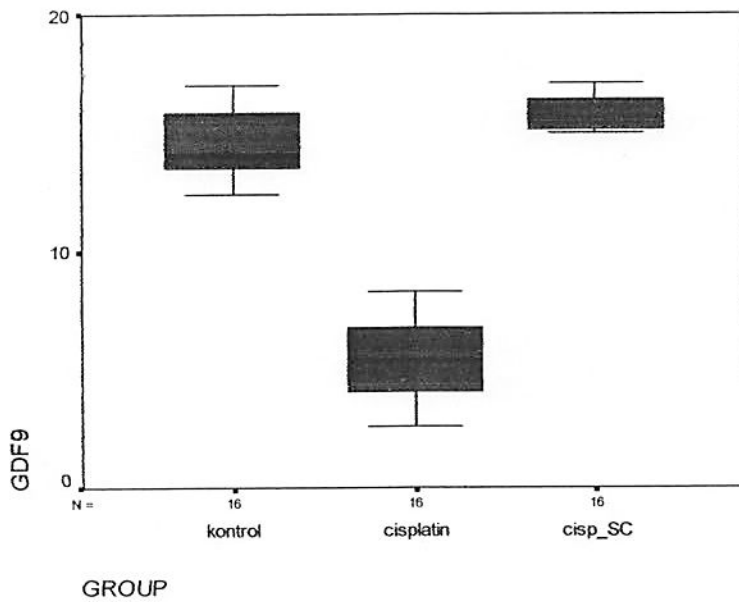


(1)

(2)

(3)

Gambar 5.2 : Ekspresi GDF-9 pada kelompok kontrol (1), perlakuan cisplatin (2) dan perlakuan cisplatin + SPST (3). Magnifikasi 400 x



Gambar 5.3 : Skor total ekspresi GDF-9, Kelompok kontrol : 14.53 ± 1.42 , Cisplatin : 5.33 ± 1.76 dan Cisplatin+TSPST : 15.91 ± 0.69

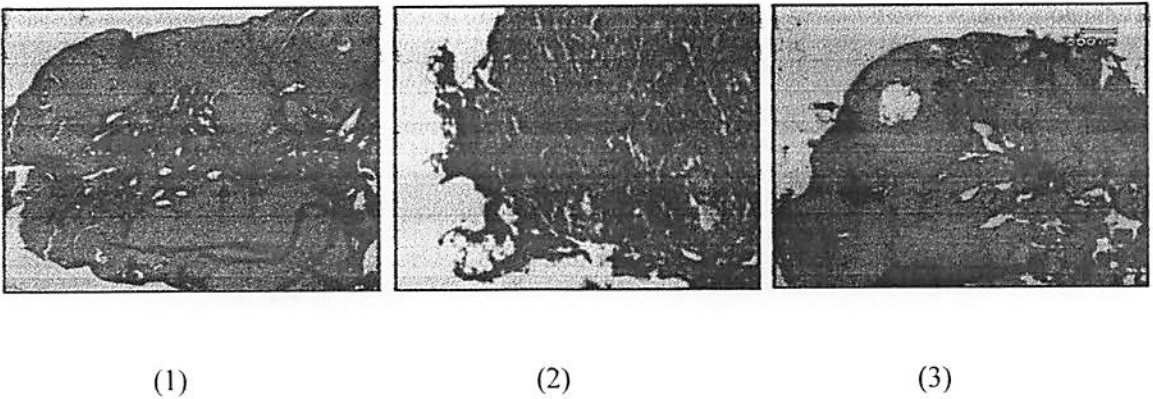
GDF-9 adalah faktor pertumbuhan berasal dari famili TGF- β yang diproduksi oleh oosit. Filho pada tahun 2001 menyatakan bahwa GDF-9 merupakan faktor krusial pada folikulogenesis dan fertilitas, dan terbukti ekspresi GDF-9 menurun pada wanita dengan ovarium polikistik yang ditunjukkan adanya gangguan pada pertumbuhan dan diferensiasi oosit (Filho *et al.*, 2001). Pada penelitian kami ini menghasilkan data bahwa ekspresi GDF-9 lebih rendah pada kelompok cisplatin dibandingkan dengan kelompok kontrol, yang berarti bahwa telah terjadi gangguan folikulogenesis karena gangguan produksi GDF-9 yang diduga karena terjadi apoptosis pada oosit akibat pemberian kemoterapi cisplatin .

Seperti yang terjadi pada sel granulosa, pemberian secara intraperitoneum akan membuat cisplatin difusi aktif maupun pasif masuk kedalam oosit di folikel ovarium. Didalam oosit cisplatin berikatan pada DNA dan non DNA, sehingga menyebabkan terjadi kerusakan dan ruptur mitokondria (Turkyilmaz *et al.*, 2008) yang pada gilirannya akan mengaktivasi caspase sehingga terjadi apoptosis oosit.

Pada kelompok 3 dengan pemberian transplantasi SPST terjadi peningkatan ekspresi GDF-9 (15.91 ± 0.69) dibandingkan dengan kelompok cisplatin (5.33 ± 1.76). Hasil ini menunjukkan bahwa SPST telah memberikan efek terapi yang diduga berupa penghentian laju apoptosis, kemungkinan melalui perbaikan rasio protein pro dan anti apoptosis sehingga meningkatkan ekspresi GDF-9. Diduga juga SPST yang berasal dari lokasi ekstragonad ini telah melepas sel germ progenitor ke sirkulasi dan selanjutnya "homing" menuju ovarium dan *engraft* sebagai oosit baru didalam folikel, namun bisa juga terjadi mekanisme transformasi untuk memperbaiki lingkungan mikro di folikel ovarium (Johnson, 2007). Pada penelitian kami ini terbukti bahwa transplantasi SPST memperbaiki gangguan folikulogenesis akibat pemberian cisplatin melalui peningkatan produksi GDF-9. Hal menarik pada hasil ini adalah peningkatan ekspresi GDF-9 pada kelompok yang mendapat transplantasi SPST lebih tinggi dari kelompok kontrol. Untuk itu perlu dikaji lagi pada penelitian berikutnya yaitu dosis SPST yang ditransplantasikan perlu disesuaikan agar didapatkan keseimbangan baru.

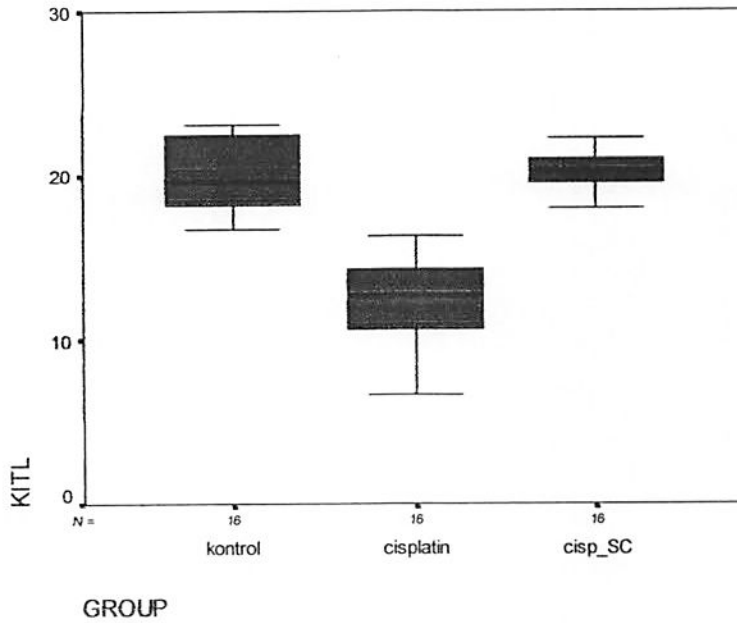
V.2 Ekspresi SCF

Pada penelitian ini didapatkan hasil pemeriksaan imunohistokimia untuk ekspresi SCF pada kelompok kontrol, perlakuan cisplatin dan perlakuan cisplatin + transplantasi SPST adalah sebagai berikut : 20.22 ± 2.14 ; 12.27 ± 2.88 dan 20.26 ± 1.14 . terdapat perbedaan bermakna pada ketiga kelompok diatas ($p=0,001$). Hasil ini sesuai dengan gambar pewarnaan imunohistokimia yang ditandai dengan warna coklat pada sel yang mengekspresikan SCF. Pada pemberian cisplatin didapatkan penurunan ekspresi SCF dan pada pemberian transplantasi SPST akan terjadi peningkatan ekspresi SCF (Gambar 4)



Gambar 5.4. Ekspresi SCF pada kelompok kontrol (1), perlakuan cisplatin (2) dan perlakuan cisplatin + SPST (Sel Punca Sumsum Tulang) (3). Magnifikasi 400 x

Cisplatin adalah salah satu jenis obat kemoterapi golongan agen alkilating dari senyawa platinum yang digunakan untuk pengobatan kanker ovarium, payudara dan kandung kemih. Setelah diberikan, cisplatin akan berdifusi masuk sel yang selanjutnya mengikat DNA sehingga mencegah transkripsi dan replikasi DNA. Ikatan cis-DDP (*Diammine Dichloro Platinum*) pada g(*genomic*)DNA yang terdapat pada inti bertanggung jawab pada mekanisme tersebut dan selanjutnya akan memicu kematian sel/apoptosis (Turkyilmaz *et al.*, 2008). Pada penelitian ini pemberian cisplatin intraperitoneum akan menyebabkan kerusakan DNA dan terjadi apoptosis sel granulosa sehingga akan mengganggu produksinya yaitu ekspresi SCF.



Gambar 5.5 : Skor total ekspresi SCF, kelompok kontrol : 20.22 ± 2.14 , Cisplatin : 12.27 ± 2.88 dan Cisplatin+TSPST : 20.26 ± 1.14

Keadaan ini terbukti dengan didapat hasil ekspresi SCF yang rendah pada kelompok 2 yang diberi cisplatin (12.27 ± 2.88) dibandingkan dengan kelompok kontrol (20.12 ± 1.14)

Pada kelompok 3 yang mendapat transplantasi SPST didapatkan hasil ekspresi SCF (20.26 ± 1.14) tidak berbeda dengan kelompok kontrol (20.22 ± 2.14). Hasil ini menunjukkan bahwa transplantasi SPST yang dilakukan setelah pemberian cisplatin akan memperbaiki ekspresi SCF, yang ditunjukkan ekspresi SCF yang lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok yang diberi cisplatin (12.27 ± 2.88).

V.3 Hitung perkembangan folikel ovarium

Folikel adalah unit fungsional organ reproduksi wanita yang terdiri dari 3 sel, yaitu sel granulosa, teka dan oosit. Folikulogenesis adalah proses tumbuh kembang folikel yang melibatkan komunikasi endokrin dan molekuler antara ke 3 sel tersebut dengan hasil akhir adalah oosit matur yang siap di fertilisasi. Proses tumbuh kembang ini ditandai dengan adanya gambaran folikel primordial, primer, sekunder, de Graaf dan

korpus luteum. Pada penelitian ini pada kelompok yang diberi cisplatin didapatkan jumlah folikel primordial, primer, sekunder, dan de Graaf yang lebih rendah ($4,31 \pm 1,19$); ($3,81 \pm 1,22$); ($2,87 \pm 0,45$); ($0,37 \pm 0,69$) dan dibanding kan kelompok kontrol ($6,12 \pm 1,20$); ($4,93 \pm 1,61$); ($4,25 \pm 0,77$); dan ($5,81 \pm 1,37$)

Tabel 5.1 : Perbedaan jumlah folikel pada kelompok kontrol, Cisplatin dan Cisplatin+TSPST

Kelompok	Folikel primordial	Folikel primer	Folikel sekunder	Folikel de Graaf
Kontrol	$6,12 \pm 1,20$	$4,93 \pm 1,61$	$4,25 \pm 0,77$	$5,81 \pm 1,37$
P1 (Cisplatin)	$4,31 \pm 1,19$	$3,87 \pm 1,2$	$2,87 \pm 0,45$	$0,37 \pm 0,69$
P2 (Cisplatin +TSPST)	$5,31 \pm 1,30$	$4,37 \pm 0,8$	$3,62 \pm 0,71$	$2,75 \pm 0,85$

Hasil penelitian kami ini menunjukkan bahwa pemberian cisplatin intra peritoneum mengganggu pertumbuhan dan diferensiasi folikel dengan cara merusak membran sel granulosa dan osit pada folikel ovarium. Keadaan ini dibuktikan dengan berkurangnya hitung folikel primordial, primer, sekunder, dan de Graaf.

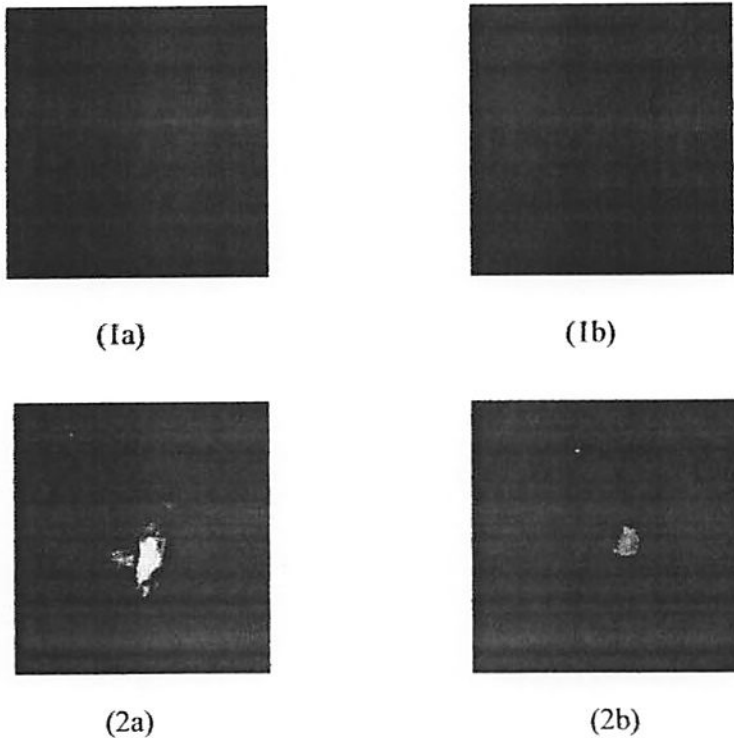
Hasil ini menunjukkan bahwa transplantasi SPST memberikan efek terapi berupa perbaikan gangguan folikulogenesis akibat pemberian cisplatin. Seperti pada diskusi sebelumnya SPST yang di tansplantasikan melalui pembuluh vena ekor mencit akan berjalan menuju ovarium dan selanjutnya sel germ progenitor akan melakukan perbaikan pada folikel yang rusak. Selain itu SPST akan memperbaiki komunikasi molekuler pada folikel ovarium dengan cara meningkatkan produksi GDF-9 dan SCF, sehingga dapat mengatasi gangguan folikulogenesis akibat pemberian cisplatin. Pada tahun 2007 Lee pada penelitiannya menyatakan bahwa transplantasi SPST akan

mengaktivasi oogenesis secara langsung maupun tidak langsung. Secara langsung SPST akan mengaktivasi siklus sel yang terhambat dan secara tidak langsung akan menstimulasi lingkungan micro (*niche*) sel yang rusak (Lee *et al.*, 2007).

Selain itu terlihat pada hasil ini bahwa kecuali pada folikel sekunder, hitung semua folikel pada kelompok yang mendapat transplantasi SPST lebih tinggi dari kelompok kontrol. Bila dihubungkan dengan ekspresi GDF-9 pada kelompok yang mendapat transplantasi SPST lebih tinggi dari kontrol, maka perlu kajian lagi tentang dosis SPST pada penelitian berikutnya.

Berdasarkan hasil penelitian kami ini dapat dijelaskan bahwa SPST akan “homing” menuju folikel ovarium yang rusak akibat pemberian cisplatin dan selanjutnya akan menormalkan lingkungan sel somatik disekitar oosit, sehingga akan memperbaiki komunikasi molekuler antara sel granulosa dan oosit. Regenerasi sel granulosa akan memperbaiki produksi SCF yang berfungsi untuk proliferasi dan maturasi oosit. Selain karena ada regenerasi sel, oosit juga akan dipicu kembali untuk memproduksi GDF-9 yang berperan penting untuk proliferasi sel granulosa. Selanjutnya folikulogenesis mulai berjalan normal kembali, yang tergambar dengan terjadinya proses tumbuh kembang dan bertambahnya jumlah folikel primordial, primer, sekunder, de Graaf dan korpus luteum.

Pada penelitian ini juga dilakukan pewarnaan / label PKH pada sel punca sumsum tulang yang diinjeksikan melalui pembuluh darah di ekor tikus. Selanjutnya dilakukan evaluasi hasil pewarnaan PKH pada kelompok cisplatin dan cisplatin+TSPTS



Gambar 5.6 : Hasil pewarnaan / PKH labelling, Kelompok cisplatin (1a) dan (1b) tidak ada pewarnaan, kelompok cisplatin+TSPST (2a) dan (2b) terlihat pewarnaan PKH

Hasil pewarnaan PKH menunjukkan bahwa sel punca sumsum tulang yang diinjeksikan melalui pembuluh darah ekor tikus pada kelompok cisplatin+TSPST telah sampai di jaringan ovarium. Selanjutnya sel punca sumsum tulang bereaksi di jaringan ovarium untuk memberi perubahan pada lingkungan mikro di ovarium. Perubahan pada lingkungan mikro berupa peningkatan ekspresi GDF-9 dan SCF sehingga terjadi interaksi antara sel granulosa dan oosit. Interaksi tersebut menyebabkan perubahan pada hitung perkembangan folikel primordial, primer, sekunder dan de Graaf dan pada gilirannya akan memperbaiki folikulogenesis.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

VI.1 Kesimpulan :

1. Terdapat perbedaan ekspresi GDF-9 dan SCF di ovarium tikus model kegagalan ovarium antara yang dilakukan transplantasi alogenik sel puncak sumsum tulang dan yang tidak dilakukan.
2. Terdapat perbedaan hitung perkembangan folikel ovarium (folikel primordial, primer, sekunder, tersier dan korpus luteum) tikus model kegagalan ovarium antara yang dilakukan transplantasi alogenik sel puncak sumsum tulang dengan yang tidak dilakukan.

Kami simpulkan bahwa pada hewan coba mencit model kegagalan ovarium akibat pemberian kemoterapi cisplatin, transplantasi sel punca sumsum tulang akan memperbaiki gangguan folikulogenesis yang ditandai dengan meningkatnya ekspresi GDF-9, SCF dan bertambahnya hitung perkembangan jenis folikel.

VI.2 Saran :

1. Setelah dibuktikan bahwa transplantasi alogenik sel punca sumsum tulang dapat memperbaiki folikulogenesis pada tikus model kegagalan ovarium, maka diperlukan penelitian lanjutan berupa melakukan fertilisasi in vitro pada tikus tersebut untuk mengetahui angka kehamilannya.
2. Diperlukan penelitian lanjutan lain yaitu penentuan dosis transplantasi yang tepat guna mendapatkan keseimbangan interaksi antara sel granulosa dan oosit. Selain itu perlu diketahui mekanisme yang tepat terjadinya regenerasi sel somatik dan gonad baru.

DAFTAR PUSTAKA

- Absolom K, Eiser C, Turner L, Ledger W, Ross R, Davies H, Coleman R, Hancock B, Snowden J, Greenfield D, 2008. Ovarian failure following cancer treatment: current management and quality of life, *Human Reproduction* Vol.23, No.11 pp. 2506–2512
- Armstrong DK, Bundy B, Wenzel L, Huang HQ, Baergen R, Lele S, Copeland LJ, Walker JL, Burger RA, 2006. Intraperitoneal Cisplatin and Paclitaxel in Ovarian Cancer, *N Engl J Med*;354:34–43.
- Atsuhiko S, 1998. Cisplatin-induced ovarian toxicity in rats. An experimental analysis, *J Kurume Medical Ass*, 61: 220–226
- Bleyer WA. 1990. The impact of childhood cancer on the United States and the world. *CA Cancer J Clin*;40:355–67
- Bongso A, Lee EH, 2005. Stem Cells: Their definition, Classification and Source, in *Stem Cells from bench to bedside*, Singapore : World Scientific Publishing Co, pp 1–13
- Briggs D, Miller D, Gosden R, 1999. Molecular biology of female gametogenesis. In (Fauser BCJM, Rutherford AJ, Strauss JF, Steirteghem AV, eds). *Molecular biology in reproductive Medicine*, 1st ed. New York: Parthenon, pp 251–270.
- Dolmans MM, Demylle D, Madrid BM, Donnez J, 2005. Efficacy of in vitro fertilization after chemotherapy, *Fertility and Sterility*_ Vol. 83, No. 4, 897–901
- Filho FLT, Baracat EC, Lee TH, Suh CS, Matsui M, Chang J, Shimasaki S, Erickson GF, 2001. Aberrant expression of Growth Differentiation Factor-9 in oocytes of Polycystic Ovary Syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 87(3): 1337–1344.
- Goswami D, Conway GS. 2005. Premature ovarian failure, *Human Reproduction Update*, Vol.11, No.4 pp. 391–410
- Hendarto H, 2007. Profil TNF- α , GDF-9 dan Hyaluronan pada gangguan folikulogenesis sebagai gambaran penurunan kualitas oosit pasien infertil dengan endometriosis. Disertasi, Universitas Airlangga, Surabaya
- Hendarto, 2009. Potensi Terapi Sel Punca (*Stem cell*) : Sekilas info populer, *Majalah Alumni Obgin Surabaya*, pp.2–4
- Huser M, Crhal, Ventruba P, Hudecek R., Zakova J., Smardova L, Kral Z. Jarkovsky J., 2008. Prevention of ovarian function damage by a GnRH analogue during chemotherapy in Hodgkin lymphoma patients, *Human Reproduction* Vol.23, No.4 pp. 863–868
- Jimmy YA, Hendarto H, Widjiati, 2009. Khasiat Curcumin terhadap perubahan ekspresi TNF- α , Kit-Ligand, GDF-9 dan Pentraxin-3 sebagai gambaran perbaikan

folikulogenesis pada mencit model endometriosis, Laporan penelitian Hibah strategis Nasional, Universitas Airlangga.

Knight PG, Glister C, 2006. TGF- β superfamily members and ovarian follicle development, Review. Reproduction online, www.reproduction-online.org

Lee HJ, Selesniemi K, Niikura Y, Niikura T, Klein R, Dombkowski DM., Tilly JL. 2007. Bone Marrow Transplantation Generates Immature Oocytes and Rescues Long-Term Fertility in a Preclinical Mouse Model of Chemotherapy-Induced Premature Ovarian Failure, J Clin Oncol 25:3198-3204

Rajkovic A, Pangas SA, Matzuk MM, 2006. Follicular Development: Mouse, sheep and human models. In (Neill JD) Knobil and Neill's Physiology of Reproduction, 3rd ed. AP, pp 383-424

Rantam FA, Ferdiansyah, Nasronudin, Purwati, 2009. Isolation and culture of stem cells from human bone marrow, In Stem Cell exploration, Methods of isolation and culture, 1st edition, Surabaya: Airlangg University Press, pp. 11-25.

Romeu M, Simon C, Pellicer A, 2007. Adult stem cells in the human ovary: hope or fiction?, in Stem Cells inhuman reproduction, basic science andtherapeutic potential, United Kingdon :Informa healthcare, pp. 79-92

Roux C, Amiot C, Agnani G, Aubard Y, Rohrlich PS, Piver P, 2010. Live birth after ovarian tissue autograft in a patient with sickle cell disease treated by allogeneic bone marrow transplantation, Fertil Steril, 93,7: 2413-15

Shapiro CL, Manola J, Leboff M, 2001. Ovarian failure after adjuvant chemotherapy is associated with rapid bone loss in women with early-stage breast cancer, J Clin Oncol 19:3306-3311

Stroud JS, Mutch D, Rader J, Powell M, Thaker P H, Grigsby P W, 2009. Effects of cancer treatment on ovarian function, Fertil Steril;92:417-27.

Thomas FH, Vanderhyden BC, 2006. Oocyte-granulosa cell interactions during mouse follicular development: Regulation of kit ligand expression and its role in oocyte growth, Review. Reprod Biol Endocrinol 4: 1-8.

Xu M, Barrett S L, Farrell EW, Kondapalli LA., Kieseewetter SE., Shea LD. Woodruff TK. 2009. In vitro grown human ovarian follicles from cancer patients support oocyte Growth Human Reproduction, Vol.24, No.10 pp. 2531-2540

LAMPIRAN**PERSONALIA TENAGA PENELITI****Ketua Peneliti :**

Nama lengkap dan Gelar
Dr. Hendy Hendarto, dr., SpOG(K)

Tempat, Tanggal Lahir
Surabaya, 17 Agustus 1961

Pendidikan

No.	Macam Pendidikan	Tempat	Tahun Dari/Sampai	Bidang Spesialis	Titel /Ijazah
1.	Kedokteran Umum	FKUnair Surabaya	1987	-	dr
2.	Dokter Spesialis	FKUnair Surabaya	1995	Spesialis Obstetri Ginekologi	SpOG
3.	Konsultan	Kolegium Obgin	2001	Fertilitas Endokrinologi Reproduksi	KFER
4.	Doktor	FKUnair Surabaya	2007	Kedokteran (Endometriosis Infertility)	Dr

Pengalaman profesional dan kedudukan saat ini

No.	Institusi/Organisasi	Jabatan	Periode Kerja
1.	Staf Medik di Divisi Fertilitas Endokrinologi Reproduksi SMF/Dept Obstetri Ginekologi RSUD Dr.Sutomo/ Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga	Koordinator Penelitian & Pengembangan Ilmu	2007-sekarang
2.	Himpunan Fertilitas Endokrinologi Reproduksi Indonesia (HIFERI)	Bidang Penelitian	2007-sekarang
3	Tim Bayi Tabung / Fertilisasi invitro RSUD Dr Soetomo Surabaya	Sekretaris / anggota tim	2006-sekarang

Pengalaman Penelitian (Research Grant)

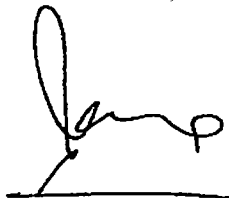
No.	Tahun	Judul Penelitian	Peran	Keterangan (Research Grant)
1	2	3	4	5
1.	2007	Profil TNF α , GDF-9 dan Hyaluronan pada gangguan folikulogenesis sebagai gambaran penurunan kualitas oosit pasien endometriosis yang infertil	Ketua Peneliti	Risbin Iptekdok (Badan Litbangkes DepKes RI & <i>Eijkman Institute of Biomolecular-Indonesia</i>)
2.	2007	Hubungan antara kadar TNF α zalir peritoneum dan GDF-9 zalir folikel pasien endometriosis yang infertil	Peneliti	Medical Research Unit FK-UNAIR
3.	2008	Profil Kit-Ligand, GDF-9 dan Pentraxin-3 pada gangguan folikulogenesis pasien endometriosis yang infertil	Ketua Peneliti	Risbin Iptekdok (Badan Litbangkes DepKes RI & <i>Eijkman Institute of BiomolecularIndonesia</i>)
4	2009	Khasiat Curcumin terhadap perubahan ekspresi VEGF, GDF-9, Haluronan untuk perbaikan terapi dan hasil fertilisasi pada endometriosis. Studi eksperimental pada model endometriosis	Ketua Peneliti	Hibah Penelitian Strategis Nasional Universitas Airlangga 2009
5	2010	Pengaruh suplementasi kurkumin terhadap maturasi oosit dan viabilitas embrio hasil fertilisasi in vitro pada model endometriosis	Ketua Peneliti	Hibah Penelitian Strategis Nasional Universitas Airlangga 2010

Daftar Publikasi Yang Relevan Dengan Proposal Penelitian

No	Tahun	Judul	Keterangan
1.	2006	Endometriosis dan Fertilisasi invitro	Pertemuan Ilmiah Tahunan POGI 2006
2.	2007	Management of endometriosis: An evidence based view	Surabaya Obstetri Ginekologi Update 2007
3.	2007	Immunobiology of endometriosis: Towards understanding why it can occur and what is the consequences on female fertility	Seminar Imunologi Reproduksi Manusia 2007
4	2008	The Profile of follicular fluid GDF-9 in infertility patient with endometriosis	World Congress on Endometriosis Melbourne Australia 2008
5	2009	Potensi terapi sel punca	Majalah Alumni Obgin Surabaya 2009
6	2010	Aplikasi sel punca di bidang obstetri & Ginekologi	Seminar Stem Cell Surabaya 2010

Surabaya, 1 Oktober 2012

Ketua Peneliti,



Dr. Hendy Hendarto, dr., SpOG(K)

NIP. 140207243

Anggota PenelitiNama lengkap dan Gelar

Prof. Suhatno, dr., SpOG(K)

Tempat, Tanggal Lahir

Solo, 7 Agustus 1945

Pendidikan

No.	Macam Pendidikan	Tempat	Tahun Dari/Sampai	Bidang Spesialis	Titel /Ijazah
1.	Kedokteran Umum	FKUnair Surabaya	1970	-	dr
2.	Dokter Spesialis	FKUnair Surabaya	1976	Spesialis Obstetri Ginekologi	SpOG
3.	Konsultan	Kolegium Obgin	2000	Onkologi ginekologi	KOnk

Pengalaman kerja dalam penelitian dan pengalaman profesional serta kedudukan saat ini : Pengalaman profesional dan kedudukan saat ini

No.	Institusi/Organisasi	Jabatan	Periode Kerja
1.	Divisi Onkologi SMF/Dept Obstetri Ginekologi RSUD Dr.Sutomo/ Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga	Ketua Divisi	Saat ini
2.	Himpunan Onkologi Ginekologi Indonesia (HOGI)	Anggota	Saat ini
3.	Tim Paliatif RSUD Dr Soetomo Surabaya	Wakil Ketua	Saat ini
4.	Kelompok Studi Penyakit Trophoblas Gestasional	Anggota	Saat ini
5.	International Society of Gynecological Oncology	Anggota	Saat ini
6.	International Asosiasi Study of Pain	Anggota	Saat ini

Pengalaman Penelitian

No.	Tahun	Judul Penelitian	Peran	Keterangan (Research Grant)
1	2	3	4	5
1.	2007	Perbandingan Hasil Pemakaian Ondansetron Dosis Tunggal Dengan Kombinasi Metoclopramide - Piridoxin HCL Untuk Mencegah Muntah Pada Pengobatan Sitostatika Kanker Serviks.	Ketua Peneliti	—

Daftar Publikasi Yang Relevan Dengan Proposal Penelitian

No	Tahun	Judul	Keterangan
1.	1992	Pengobatan Cervical Intraepithelial Neoplasia Dan Carcinoma Cervicis Uteri	Majalah Obstetri Ginekologi Vol2, No 3, Nop 1992
2.	1993	Pilihan Pengobatan Pada Carcinoma Cervix Stadium Awal	Majalah Obstetri Ginekologi Vol 3, No 2, Nop 1993
3.	1993	Palliative Care In Cervical Cancer	Majalah Obstetri Ginekologi Vol 3, No 3, Nop 1993
4.	1995	Nyeri Kanker Pada Penderita Kanker Leher Rahim di Poliklinik Onkologi Kandungan RSUD Dr. Soetomo Surabaya	Majalah Paliatif Kanker Vo. 1 No. 2, Mei 1995

5.	1996	Adenokarsinoma Servisis Uteri Di RSUD Dr. Soetomo Surabaya Tahun 1986 – 1993	Majalah Obstetri Ginekologi Vol 5, No 3, Nop 1996
6.	1997	Efek DHA-S Untuk Pematangan Serviks Primigravida	Majalah Obstetri Ginekologi Vol6, No 2, Nop 1997
7	2002	Memilih Cara Kematian dapat membawa rasa kenyamanan (Perawatan Paliatif Menyiapkan Mereka untuk Babak Berikutnya), Kelompok Perawatan Paliatif dan Bebas Nyeri	Majalah Paliatif Vol. 4, No. 1, hal 17 – 20, Oktober 2002
8	2003	Sebuah Doa untuk Kematian (Bagaimana Perawatan Hospice Memudahkan Proses Kematian), Kelompok Perawatan Paliatif dan Bebas Nyeri	Majalah Paliatif Vol. 5, No. 1, hal 26 – 32, Oktober 2003
9	2003	Perubahan KadarBeta Endorfin Plasma Pada Pengobatan Nyeri Kanker Leher Rahim,	Majalah Obstetri Ginekologi Vol11 No 1, Nop 2003

Surabaya, 1 Oktober 2012

Anggota Peneliti,

Prof. H Suhatno, dr., SpOG(K)

NIP. 130 355 348

Anggota Peneliti

Nama lengkap dan Gelar
Prof. Dr. Fedik Abdul Rantam, drh

Tempat, Tanggal Lahir
Lamongan, 3 Oktobe 1960

Pendidikan

No	Education	University	Years		Fields	Certificate
1	Sarjana Kedokteran Hewan	Airlangga University	1979	1984	General	Diplom of Veterinary med.
2.	Dokter Hewan	Airlangga University	1984	1985	General	Doctor Vet Med.
3	Doktor (S3)	Instute of Virology and Immunology, Freie Universitaet-Berlin	1992	1997	Virology Molecular & Immunology	Doctor (Magna Cumlaud)
NONFORMAL EDUCATION						
4	Postdoctoral	Robert-Koch Institut, Berlin, Jerman	2000	2000	Genetic engeneering in Infectious Disease	Certificate
5	Postdoctoral	SEPRL-Georgia USA	2008	2008	Molecular Biology/Molecular Virology	Certificate
6	Quality Assurance	P4UA-Unair	2004	2004	Academic Auditor	Certificate
7	Tissue Culture	Gadjah Mada University	1988	1988	Animal Tissue Cultur	Certificate
8	Training	Airlangga	1989	1989	Academic Applied	Certificate

		University			Approach	
9	Course of Molecular Virology	Gajah Mada University	1997	1997	Molecular of Dengue Virus (DHF)	Certificate
9	Training for Trainer	Airlangga University	2008	2008	Academic Certification	Certificate

Pengalaman profesional dan kedudukan saat ini

No.	Institusi/Organisasi	Jabatan	Periode Kerja
1.	Lab. Stem Cell, Lembaga Penyakit Tropis -Universitas Airlangga	Kepala	Saat ini
2.	Tissue Culture Study group and Devision of DHF molecular,. Tropical Disease Center Airlangga university	Ketua	1990- saat ini
3	Indonesia Assosiety of Microbiology, Surabaya	Ketua	2005-saat ini
4	Research Ethical at Airlangga University 2003 - Now	Sekretaris	2003-saat ini
5	Komisi obat hewan Direktorat jendral Departemen	Anggota	2006-saat ini

Pengalaman Penelitian (Research Grant)

No	Year	Title	Founding	Position & Output
1	1992	Molecular epidemiological of Borna disease virus by patients psychiatric disorder in Europa and USA	WHO	Member, Robert Koch Institut, Berlin Jerman.

				Determine of transmisi model virus.
2	1995/1996	Detection of Bornavirus from PBMCs Patients.psychiatric disorder in Europa with nested-PCR	WHO	member, Robert Koch Institut, Berlin Jerman. To find of silent infection
3	1995	Isolation of Bornavirus from PBMCs infection human in West Europa	WHO	Member,Virus isolation of Borna first isolation in the World, Robert Koch Institut, Berlin Jerman
4	1997/1998	Culturing Dengue virus from DHF patients in Surabaya	JICA	chairman, isolation of virus for vaccine material
5	1999	Dynamic transmission of DHF in Surabaya	JICA	Member, to find model distribution of Dengue virus
6	1999/2002	Establish Model of E protein recombinant dengue virus and <i>baculovirus</i> as vaccine clon subunit Indonesia isolate	Research and Technology Ministerium, RI	Chairman, vaccine model of dengue virus
7	1999/2001	Isolation and characterization of imunogenic protein dengue virus as vaccine subunit.	Research competitive, General Director of High education, RI	Specific immunogenic protein
8	2000	Bispecific of monoclonal Antibody as diagnostic of dengue virus infection	Science and technology in medicine	Member, Kit diagnostic
9	2001/2002	Development of cocktail vaccine base on immunogenic protein composition of structural protein (E-C-PrM) Dengue virus Indonesia isolate	Research competitive, General Director of High education, RI	Member, exploration of protein immunogenic as candidate vaccine.

10	2000,	Bivalen Monoclonal antibody production <i>dengue virus</i> Surabaya isolate	Basic Research competitive, General Director of High education, RI	Member, Monoclonal antibody bivalen
11	2003	Characterization of F protein ND virus natural isolate as material diagnostic	Basic Research competitive, General Director of High education, RI	Member, to find of material protein for vaccine subunit candidate
12	2003	Establish of peptide epitope specific anomaly antigen mucosa as monoclonal antibody RAU	Basic Research competitive, General Director of High education, RI	Member, to find peptide specific RAU
13	2003	Receptor expression dengue virus in endothelial cell inoculated dengue virus Indonesia isolate	Basic Research competitive, General Director of High education, RI	Ditemukan reseptor spesifik DHF
14	2003-2006	Epidemiologi molekuler dan karakterisasi strain geografik virus Dengue di Indonesia	Research competitive on postgraduate program, General Director of High education, RI	Anggota, menentukan subtype dan variasi genetik virus Dengue
15	2003	Characterization and clone N protein of rabies virus as vaccine materials	Research competitive, General Director of High education, RI	Member, Exploration of molecular for vaccine development
16	2002-2004	Goat ZP protein characterization as vaccine contraception.	Research competitive, General Director of High education, RI	Member, immunogenic protein exploration immunogenicas contraception
17	2004-2005	Molecular epidemiology of Avian influenza and mapping molecular for early warning system (EWS) AI	Research competitive, General Director	Chairman, model early warning system AI in

		in Indonesia.	of High education, RI	Indonesia
18	2005/2006	Vaccination Model of Avian Influenza in chicken, fowl water, and swine	Agriculture Department, RI	Chairman, to find effectivity of AI vaccination
19	2007	Characterization of N1 protein of AIV	Collaboration of department microbiology and Makmal biologic, UPM, malaysia	Model diagnostic of AIV.
20	2008-2009	Molecular Epidemiology of avian Influenza in Indonesia	Collaboration Unair and Hongkong University	Member, to find distribution of AIV dan recombinant variant
21	2008-2009	E protein recombinant of dengue virus conventional and new variant for clone subunit vaccine	Research and technology Ministerium, RI	Chairman, Clone subunit vaccine
22	2009	Stem cell for tendon fracture tretamant	Research competitive, Higher education of National Education Department	Member, Progenitor cells
23	2009	Hematopoitic stem cells development for artherosclerosis treatment	Research competitive, Higher education of National Education Department	Member, Progenitor cells, treatment for artherosclerosis
24	2009	Molecular Epidemiology of Newcastle Disease Circulating in Commercial Poultry a Cross Indonesia.	SPERL-USA/Unair	Research Manager, Research Collaborative, Original virus for vaccine development

Daftar Publikasi Yang Relevan Dengan Proposal Penelitian

No	Titel	Year	position	Journal
1	The intranuclear joest-degen inclusion body is the site of transcription of borna disease virus (BDV)in neurons and astrocytes	1994	Co-author	Clinical neuropathol. 13: 249
2	Borna disease virus infections in cattle and their epidemiological implication	1995	Co-author	Jahrestagung der Gesellschaft foer Virologie, Giessen, Germany
3	Erstisolierung von humanen Bornavirus aus blutzellen psychiatrischer Patienten,	1996	Co-author	Jahrestagung der Gesellschaft foer Virologie, Jena, Germany
4	Isolation of human borna disease virus	1996	Co-author	Xth International congress of Virology, Jerusalem, Israel
5	First isolates of infectious human borna disease virus from patients with mood disorders	1996	Co-author	Mol. Psychiatry, I: 200-212.
6	Borna Virus and cell cultur: isolation of infectious animal and human Borna virus and their charactrization	1997	Author	Berlin Diss. Jour. 2032
7	Antigenic relationship and molecular characterization of two proteins specific of Borna disease virus .	(2003)	Author	J. Ind. trop. Dis.Vol. 14. No. 1
8	Neurobiologycal of Borna disease virus infected astrocyte cells,	1999	Author	Journ. of Vet. Med. Vol. 11: 109 –115
9	Immun respons and molecu kinetic molecu of H-isolat of virus Borna in Kelinci.	2004	Author	Vet. Med. Jour., 20: 81-87.

10	Intranuclear localization of P24 and P40 of Borna disease virus (BDV) in oligodendrites cells defined by antibodies and their pathogenic potential.	2003	Author	J. Ind. trop. Dis.Vol. 17: 54-57
11	P24 and P40 squence characterization of human Borna virus infection	2004	Author	Vet. Med. Jour. 19: 30-35
12	Characterization of 39/40 kDa of Borna virus infected Cells.	1998	Author	Journ. of Ind. Trop. Disease. Vol. 6: 45 – 51
13	Challenge of dengue virus by <i>Macaca fascicularis</i> immunized with E protein rekombinant.	. (2002)	Author	Vet.Med. Jour.. Vol. 18. No. 3
14	Characterization of protein receptor DHF specific on endothelial cell infected dengue virus Indonesia isolate	(2003)	Author	J. Ind. Trop. Dis.Vol 14. No. 3
15	Characterization of protein envelope (E) protein of Dengue virus isolate	(2000)	Author	Indonesia. Jour. of Biol. Sci.. 5: 79 – 84.
16	The clinical secondary immune response pattern Dengue virus infection in East Java and Jakarta Indonesia.	2003	Co-Author	Asia pacific congress Medical Virology, Dec.
17	Characterization of envelop (E) protein of Dengue virus Indonesia isolate.	(2000)	Author	J. Biolog. Res. Vol. 5

18	Humoral and cellular immune response to white mouse (<i>rattus-rattus</i>) which has been immunization with E virus dengue Protein	(2001)	Author	Vet.Med. Jour.. Vol. 17. No.2
19	Profil IgM and IgG on mice Balb/C immunized with E Protein rekombinan virus Dengue and Baculovirus.,	(2002)	Author	Int. Congress., Santiago, Chili
20	Expression of interleukin-6 with <i>Escherichia coli</i> . system	(2001)	Author	Vet.Med. Jour.. Vol.17 No. 3
21	Isolation and characterization of E virus Dengue protein isolated from area of Surabaya to be used as diagnostic kit.	(2002)	Co-Author	J. Penel. Medika Eksakta Vol. 3 No. 1
22	Early Study of laboratorious test to inactive vaccine of <i>Salmonella pullorum</i> by measurement of antibodies titers on post vaccinated	(2001)	Co-Author	J. Penel. Med. Eksakta Vol. 2. No. 1
23	65 kDa specific oral mucosa mucus on RAS induce immune response systemic.	(2003)	Co-Author	J. Ind. trop. Dis. Vol. 14 No.2
24	protein receptor characterization dengue virus in endothelial cells of aorta rabbit infected dengue virus Indonesia isolate.	2004	Co-Author	Vet.Med. Jour.. Vol. 18 No.1
25	Expression of specific receptor DHF in endothelial cell infected Dengue virus. Indonesia isolate	2004	Author	National Seminar on Basic research, director general high education, Jakarta
26	Immunization E protein recombinant in macaca fascicularis induce resistance to Dengue virus challenge.	2002	Author	J. Biol. Research 18: 87-93.

27	Pathogenesis model of dengue virus infected cells culture. International	1999	Author	Seminar on Tropical disease at TDC-Airlangga University, Surabaya in collaboration with JSPS Japan.
28	Detection of dengue virus by polymerase chain reaction (<i>gmomic typing</i>).	1999	Author	Seminar in Collaboration with JSPS. Japan.
29	Hibridisation limfoblast with sel myeloma cells of mice (<i>mus musculus</i>) for monoclonal antibody Dengue (DEN-1) virus.	2001	Author	Vet.Med. Jour. 18: 52-57.
30	Protein characterization of Dengue virus (DEN-3) Surabaya isolate	1999	Co-Author	Journ. of Indonesia Tropical Disease. Vol 5. pp 35 –40.
31	Humoral and cellular respons immune on mice (Balb/C) were immunized E protein recombinant dengue virus and baculovirus	2001	Author	National seminar of PMKI. Airlangga University, Surabaya
32	Protein E is once alternative as an candidate vaccine clone subunit againt Dengue virus Indonesia isolate.	1999	Author	International Seminar on DHF at TDC Unair collabotaion with JICA
34	Characterization DHF specific receptors endothelial cells infected Indonesian isolate	2004	Author	International Biotechnology Congress, Denpasar, Bali.
35	Immunization of macaca fascicularis with E protein recombinant induce resistance to Dengue virus challenge	2005	Co-Author	Congres Pediatric, Beijing, China
36	Could interleukin-10 level be used Dengue virus infection cases	2005	Co-Author	Kongres Pediatric, Santiago, Chilli

37	Dengue Virus Vaccine development	2008	Author	Seminar Nasional Hasil-hasil penelitian ilmu hayati, Unibraw.
38	Dengue virus vaccine development base on their pathogenesis	2008	Author	Seminar hasil penelitian UNEJ-Jember
39	Dengue virus vaccine development base on their pathogenesis	2008	Author	PERMI-Universitas Jend Soedirman. Purwokerto
40	Diagnostic of dengue virus using multiplex RT-PCR and cell culture	2008	Author	Seminar on update of tropical disease infection- Unair
41	Mengenal virus AI dan kejadian saat ini	2004	Author	Seminar Nasional, FKH-Unair
42	Early detection of Avian Influenza (AI) in chicken using in vitro and in vivo.	2004	Author	PERMI, Semarang
43	Global Epidemiology of Avian Influenza Disease (AI)	2006	Author	PIT-PERMI di Solo
44	Virus Avian Influenza (AI) ,laboratorium and morbidity	2006	Author	Regional Government, Banyuwangi
45	Avian Influenza Disease and eradication strategic.	2006	Author	Regional Government, Jember
46	Epidemiologi dan Strategi penanggulangan penyakit AI di Jawa Timur	2007	Author	PEMROV-Jawa Timur
47	Avian Influenza Vaccination Suing Homolog Subtype	2007	Author	International Meeting AI-USA-Indonesia, Dirjen Peternakan, Deptan
48	Model vaksinasi penyakit Avian Influenza pada unggas	2006	Author	Meeting Nasional, Avian Influenza, Surabaya

49	Global epidemiologi di Dunia dan di Indonesia	2006	Author	Seminar Nasional, PERMI, UNS-Solo
50	Respon imun selular penyakit Avian Influenza pada unggas	2007	Author	Seminar Nasional PERMI, Unlam, Banjarmasin
51	TLRs, CD14 expression on pheriperal blood mononuclears cell of avian infected H5N1 subtypes aas signaling model of immunopathogenicity of avian influenza disease	2008	Auhor	Seminar nasional PERMI, Universitas Jend Soedirman, Purwokerto
52	Perkembangan AI saat ini dan penanggulangannya.	2008	Author	Cluster Seminar, Universitas Gajah Mada, Yogyakarta.
53	Stem Cells and Exploration	2008	Author	Recent advances in the treatment diabetes mellitus, Joint symposium SDU XIII-MERCU 3.

Surabaya, 1 Oktober 2012

Anggota Peneliti,

Prof. Dr. Fedik Abdul Rantam, drh

NIP. 131 653 434



UNIVERSITAS AIRLANGGA
LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT
Kampus C Mulyorejo Surabaya 60115 Telp (031)5995246, 5995247, 5995248. Fax.(031)5962066
Website: <http://lppm.unair.ac.id> Email: infolemit@unair.ac.id

BERITA ACARA SERAH TERIMA
LAPORAN AKHIR DAN LAPORAN PENGGUNAAN DANA 100%
PELAKSANAAN PENELITIAN UNGGULAN PERGURUAN TINGGI
TAHUN ANGGARAN 2012

Pada hari ini Rabu tanggal Tiga Puluh Satu bulan Oktober tahun Dua Ribu Dua Belas bertempat di Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Airlangga diadakan serah terima Laporan Akhir dan Laporan Penggunaan Dana 100% Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi tahun 2012, sesuai dengan S.K Rektor nomor : 2613/H3/KR/2012, tanggal Sembilan Maret tahun dua ribu dua belas atas nama :

1. Nama : Dr. Hendy Hendarto, dr.SpOG(K)
Judul Kegiatan : Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi, dengan judul :
Transplantasi Alogenetik Sel Punca Sumsum Tulang Untuk Perbaikan Folikulogenesis dan Hasil Fertilisasi pada Tikus Model Kegagalan Ovarium dengan Pemberian Cisplatin

Disebut sebagai pihak pertama

2. Nama : Dr. Djoko Agus Purwanto, Apt, M.Si
Jabatan : Ketua LPPM Unair

Disebut sebagai pihak kedua

Pihak pertama telah menyerahkan laporan akhir dan laporan penggunaan dana 100% kegiatan Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi Tahun Anggaran 2012 kepada pihak kedua masing-masing rangkap 10 (sepuluh)

Demikian berita acara ini dibuat dengan sebenarnya.

Pihak Kedua,
Ketua LPPM Unair,

Dr. Djoko Agus Purwanto, Apt.,MSi
NIP. 19590805 198701 1 001

Surabaya, 31 Oktober 2012
Pihak Pertama,
Ketua pelaksana,

Dr. Hendy Hendarto, dr.SpOG(K)
NIP. 19610817 198802 1 002