



STEM CELL

MESENCHYMAL, HEMATOPOETIK,
DAN MODEL APLIKASI

Edisi Kedua

Oleh

Fedik A. Rantam
Ferdiansyah
Purwati



Dr. SOETOMO

STEM CELL

MESENCHYMAL, HEMATOPOETIK,
DAN MODEL APLIKASI

Edisi Kedua

Oleh:

Prof. Dr. Fedik Abdul Rantam, drh.
Dr. Ferdiansyah, dr., SpOT(K)
Dr. Purwati, dr., SpPD., FINASIM



Airlangga University Press



© 2014 Airlangga University Press

AUP 600/31.538/08.14 (0.520)

Dilarang mengutip dan atau memperbanyak tanpa izin tertulis dari
Penerbit sebagian atau seluruhnya
dalam bentuk apapun, baik cetak, fotoprint, mikrofilm dan sebagainya.

Edisi kedua

Cetakan pertama — 2014

Penerbit:

Airlangga University Press (AUP)
Kampus C UNAIR, Mulyorejo Surabaya 60115
Telp. (031) 5992246, 5992247 Fax. (031) 5992248
E-mail: aup.unair@gmail.com

Dicetak oleh:

Pusat Penerbitan dan Percetakan Unair
(PNB 037/10.14-B5E)

Perpustakaan Nasional: Katalog Dalam Terbitan (KDT)

Stem Cell : *Mesenchymal*, hematopoetik, dan model
aplikasi edisi kedua / Ed. Fedik Abdul Rantam ... [et
al.]. -- Surabaya: Airlangga University Press (AUP),
2014.

xxviii, 280 hlm.; 15,8 x 23 cm.

Termasuk bibliografi

ISBN 978-602-7924-69-7

1. Stem Cell.

I. Judul.

616.02774

14 15 16 17 18 / 9 8 7 6 5 4 3 2 1

ANGGOTA IKAPI: 001 / JTI / 95

KONTRIBUTOR PENULIS BUKU

v

Prof. Dr. Fedik Abdul Rantam, Drh.

Lab. Virologi dan Imunologi, Dep. Mikrobiologi, FKH., Lab. *Stem Cell, Institute of Tropical Disease (ITD).*, *Regenerative Medicine & Stem Cell Center* RSUD.
Dr. Soetomo/FK Universitas Airlangga Surabaya.

Dr. Ferdiansyah, dr., SpOT(K)

Dep. Ortopedi, RSUD. Dr. Soetomo/FK, *Regenerative Medicine Stem Cell Center*, Bank Jaringan, RSUD. Dr. Soetomo/FK – Universitas Airlangga
Surabaya

Dr. Purwati, dr., SpPD, FINASM

Devisi Tropik Infeksi, Dep. Penyakit Dalam, RSUD Dr. Soetomo/FK, *Regenerative Medicine Stem Cell Center* RSUD. Dr. Soetomo/FK, *Stem Cell, Institute of Tropical Disease (ITD)* – Universitas Airlangga Surabaya

Prof. Dr. Med. Puruhito, dr., SpJTKV(K)

Dep. Bedah Jantung Thorak dan Kardiovaskular, RSUD. Dr. Soetomo/FK
Universitas Airlangga

Dr. Heri Suroto, dr., SpOT(K)

Dep. Ortopedi, RSUD. Dr. Soetomo/FK, *Regenerative Medicine Stem Cell Center*, Bank Jaringan, RSUD. Dr. Soetomo/FK – Universitas Airlangga
Surabaya

Dr. Dwikora Novembri Utomo, dr., SpOT(K)

Dep. Ortopedi, RSUD. Dr. Soetomo/FK, *Regenerative Medicine Stem Cell Center*, Bank Jaringan, RSUD. Dr. Soetomo/FK – Universitas Airlangga
Surabaya

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

Dep. Obstetrik dan Genikologi, RSUD. Dr. Soetomo/FK Universitas Airlangga

Bab 8	
MESENCHYMAL STEM CELL (MSCs) DAN APLIKASINYA PADA REKAYASA JARINGAN TENDON	121
Pendahuluan.....	121
<i>Freeze dried Allograft Tendon</i> sebagai <i>Scaffold</i>	125
Komposit <i>Freeze dried Tendon Allograft</i> dan MSCs.....	127
Efikasi Penggunaan Komposit <i>Freeze Dried Tendon Allograft</i> dan MSCs dalam Rekonstruksi Defek Tendon Fleksor pada Hewan Coba.....	130
Bibliografi.....	134
Bab 9	
STEM CELL DAN REGENERASI OTAK	139
Pendahuluan.....	139
Neurogenesis.....	139
Aplikasi <i>Stem Cell</i> pada Neurogenesis.....	141
Pendekatan Eksogen.....	142
Pendekatan Endogen.....	142
Simpulan.....	143
Bibliografi.....	143
Bab 10	
TRANSPLANTASI STEM CELL SUMSUM TULANG UNTUK PERBAIKAN FOLIKULOGENESIS PADA MENCIT MODEL KEGAGALAN OVARIUM DENGAN PEMBERIAN KEMOTERAPI	145
Pendahuluan.....	145
Materi Dan Metode.....	146
Membuat Mencit Model Kegagalan Ovarium.....	147
Isolasi <i>Stem Cell</i> Sumsum Tulang.....	147
Transplantasi <i>Stem Cell</i> Sumsum Tulang (SPST).....	147
Hasil Penelitian dan Diskusi.....	148
Ekspresi SCF.....	148
Ekspresi GDF-9.....	150
Hitung Folikel Ovarium.....	152
Daftar Pustaka.....	153

TRANSPLANTASI *STEM CELL* SUMSUM TULANG UNTUK PERBAIKAN FOLIKULOGENESIS PADA MENCIT MODEL KEGAGALAN OVARIUM DENGAN PEMBERIAN KEMOTERAPI

Hendy Hendarto^a, M Ferri Komarhadi^a, Widjiati^b, Suhatno^a, Fedik A Rantam^c

^a Dept/SMF. Obstetri Ginekologi Fakultas Kedokteran

^b Lab. Fertilisasi *in vitro* Fakultas Kedokteran Hewan

^c Lab. Stem cell Lembaga Penyakit Tropis

Universitas Airlangga

PENDAHULUAN

Keberhasilan fertilisasi *in vitro* yang dilakukan pada penderita penyakit kanker setelah mendapat kemoterapi ternyata menurun secara bermakna, tampak dari berbagai hasil, yaitu: tidak didapatkan pertumbuhan folikel, tidak didapatkan oosit saat *ovum picked-up* dan jumlah *embryo* dengan kualitas bagus didapatkan lebih rendah dibandingkan kalau dilakukan sebelum kemoterapi (Doimans *et al.*, 2005). Efek toksik kemoterapi diduga akan menyebabkan kerusakan ireversibel folikel primordial terutama pada membran sel granulosa dan oosit sehingga terjadi kegagalan ovarium (Absolom *et al.*, 2008) (Huser *et al.*, 2008). Selain fertilisasi *in vitro*, berbagai cara dilakukan untuk mengatasi infertilitas akibat kemoterapi antara lain preservasi krio jaringan ovarium, oosit dan *embryo*. Berbagai cara tersebut belum dapat terbukti menunjukkan angka keberhasilan yang tinggi. Saat ini telah dicoba terapi *stem cell* untuk mengatasi kegagalan ovarium akibat kemoterapi, namun data masih sedikit dan hasilnya tidak konsisten, diduga antara lain disebabkan belum terungkapnya mekanisme perbaikan yang terjadi dengan pemberian *stem cell* tersebut. Hal ini yang diangkat sebagai masalah pada penelitian kami, yaitu *bagaimanakah peran transplantasi stem cell sumsum tulang mesenkim terhadap perbaikan gangguan folikulogenesis pada kegagalan ovarium akibat pemberian kemoterapi?*

Angka harapan hidup penderita kanker saat ini meningkat dengan adanya diagnosis dan terapi yang adekuat dengan pembedahan, radioterapi

dan kemoterapi. Penggunaan kemoterapi pada wanita penderita kanker usia reproduksi akan memberikan efek samping yang merugikan berupa gangguan folikulogenesis dan kegagalan ovarium. Sampai saat ini dipercaya dogma bahwa tidak ada pertumbuhan oosit baru pascapersalinan, karena itu gangguan folikulogenesis dan kegagalan ovarium akibat kemoterapi diduga permanen sehingga akan memberikan konsekuensi penurunan kualitas hidup karena terjadi infertilitas (Lee *et al.*, 2007; Roux *et al.*, 2010; Stroud *et al.*, 2009). Pada gangguan folikulogenesis dan kegagalan ovarium, terdapat dua faktor pertumbuhan penting, yaitu *Stem cell Factor* (SCF) dan *Growth Differentiation Factor-9* (GDF-9) yang berperan pada interaksi sel granulosa dan oosit akan terganggu, serta akan mempengaruhi pertumbuhan dan jumlah folikel, dari folikel primordial, primer, sekunder, dan folikel de graaf. Bila dilakukan fertilisasi *in vitro*, gangguan tersebut akan mempengaruhi maturasi oosit sehingga berakibat kegagalan dalam fertilisasi. Penelitian kami sebelumnya membuktikan bahwa akibat inflamasi lokal yang terjadi di rongga peritoneum pada penyakit endometriosis akan menyebabkan terjadi gangguan folikulogenesis yang ditandai dengan penurunan ekspresi SCF dan GDF-9 (Hendarto *et al.*, 2007, 2009). Walaupun penyebabnya berbeda namun diduga mekanisme gangguan folikulogenesis akibat pemberian kemoterapi mirip dengan akibat inflamasi pada endometriosis.

Stem cell 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 *stem cell* akan *homing* dan berdiferensiasi menjadi sel progenitor untuk berkembang menjadi sel target atau diduga *stem cell* tersebut akan memperbaiki lingkungan mikro untuk mengaktifkan *stem cell* setempat. Berdasarkan penelitiannya pada tahun 2007 Lee *et al.* menyatakan bahwa transplantasi sumsum tulang terbukti mampu memperbaiki fertilitas mencit transgenik dan terbukti pula bahwa setelah dilakukan fertilisasi silang semua keturunannya berasal dari oosit resipien (Lee *et al.*, 2007).

Penelitian kami saat ini bertujuan untuk membuktikan pengaruh transplantasi *stem cell* sumsum tulang terhadap ekspresi SCF, GDF-9 dan hitung folikel ovarium sebagai gambaran perbaikan folikulogenesis pada mencit model kegagalan ovarium dengan pemberian obat kemoterapi cisplatin.

MATERI DAN METODE

Empat puluh delapan ekor mencit yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi dengan ciri yang homogen dari segi usia maupun berat badan rata-rata, dibagi



menjadi tiga kelompok. Kelompok pertama adalah kelompok kontrol (P0) yang diberikan suntikan NaCl 0,9% intraperitoneum, kelompok kedua (P1) adalah kelompok mencit model kegagalan ovarium dengan pemberian cisplatin 5 mg/kgbb intraperitoneum selama 1 minggu, dan kelompok ketiga (P2) adalah kelompok mencit model kegagalan ovarium yang setelah diberi cisplatin kemudian mendapat transplantasi *stem cell* sumsum tulang (SPST) selama 2 minggu.

Membuat Mencit Model Kegagalan Ovarium

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

Isolasi Stem Cell Sumsum Tulang

Melakukan koleksi aspirat sumsum tulang yang berasal dari tulang krista iliaka donor manusia dengan anestesi lokal, selanjutnya ditempatkan pada tabung Heparin 15 mL yang berisi α -MEM 3 mL. Tabung dan sediaan disimpan dalam es sebelum dilakukan proses selanjutnya. Setiap aspirat ditransfer kedalam tabung *blue cap* 15 mL dan didilusi dengan PBS. Tabung dicuci dengan 2 kali dengan PBS 5 mL. Mencampurkan dan melapisi setiap aspirat dengan Ficoll, selanjutnya melakukan sentrifugasi 1600 rpm selama 15 menit. Melakukan koleksi '*buffy coat*' yang terletak pada Ficoll-PBS dengan pipet Pasteur dan letakkan sel pada tabung 15 mL, selanjutnya melakukan dilusi setiap sampel dengan PBS, campur sebanyak 3–5 kali. Sentrifugasi 1600 rpm selama 10 menit dan diteruskan dengan aspirasi supernatan dan resuspensi sel dengan CCM 6 mL. Meletakkan sel pada plate 5 atau 10 cm², dilanjutkan dengan inkubasi sel pada suhu 37° C dengan kelembaban 5% CO₂ selama 24 jam, setelah itu menambahkan PBS 2 mL pada kultur, cuci 2 kali. Menambahkan CCM 10 mL, dan melakukan inkubasi pada suhu 37° C dengan kelembaban 5% CO₂ selama 5–10 hari. Melakukan pemeriksaan setiap hari dengan mikroskop elektron dan setiap 3 hari cuci sel dengan PBS 5 atau 10 ml dan menambahkan CCM 10 mL sampai sel antara 60–80% confluent (Rantam *et al.*, 2009).

Transplantasi Stem Cell Sumsum Tulang (SPST)

SPST sebanyak 2×10^7 sel diinjeksikan satu kali pada resipien melalui pembuluh darah vena ekor mencit setelah 1 minggu pemberian cisplatin intrapetitoneum.

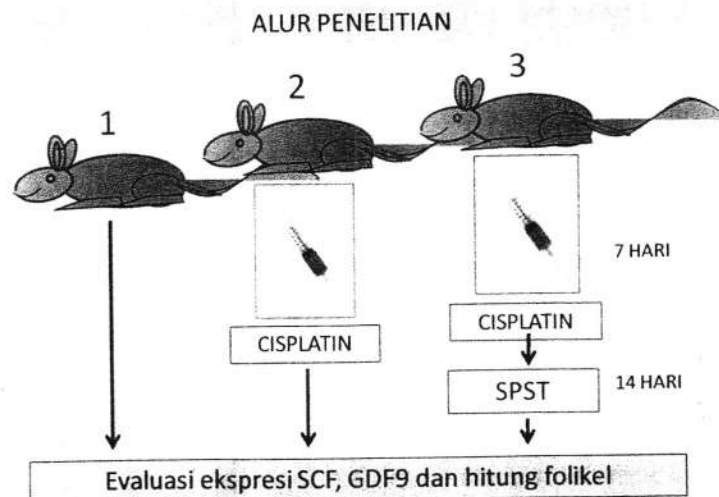
Dua minggu kemudian dilakukan evaluasi ekspresi SCF, GDF-9 dengan metode imunohistokimia dan hitung folikel primordial, primer, sekunder, de Graaf dan korpus luteum dengan metode pengecatan eosin pada 3 kelompok mencit di atas.

HASIL PENELITIAN DAN DISKUSI

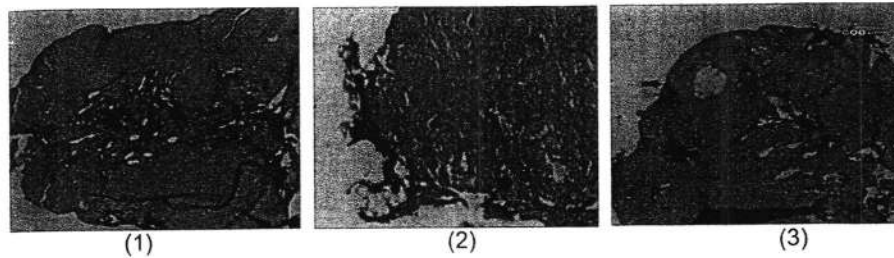
Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei sampai Juli 2010 di Kandang Hewan Coba dan Laboratorium Patologi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya. Dua minggu setelah pemberian transplantasi SPST hewan coba mencit dikorbkan dan selanjutnya dilakukan evaluasi pada jaringan ovarium.

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: 10.90 ± 2.0 ; 7.54 ± 2.46 dan 10.00 ± 0.00 . Terdapat perbedaan bermakna pada ketiga kelompok di atas ($p=0,001$). Hasil ini sesuai dengan gambar pewarnaan imunohistokimia yang ditandai dengan warna coklat pada sel yang mengekspresikan SCF. Pada pemberian cisplatin



Gambar 10.1 Alur penelitian, SCF: Stemcell Factor, GDF-9: Growth Differentiated Factor-9, SPST: Stem cell Sumsum Tulang



Gambar 10.2 Ekspresi SCF pada kelompok kontrol (1), perlakuan cisplatin (2) dan perlakuan cisplatin + SPST (*Stem cell Sumsum Tulang*) (3). Magnifikasi 400 x

didapatkan penurunan ekspresi SCF dan pada pemberian transplantasi SPST akan terjadi peningkatan ekspresi SCF (Gambar 10.2).

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. Keadaan ini terbukti dengan didapat hasil ekspresi SCF yang rendah pada kelompok 2 yang diberi cisplatin (7.54 ± 2.46) dibandingkan dengan kelompok kontrol (10.90 ± 2.0) (Tabel 10.1).

Pada kelompok 3 yang mendapat transplantasi SPST didapatkan hasil ekspresi SCF (10.00 ± 0.00) tidak berbeda dengan kelompok kontrol (10.90 ± 2.0).

Tabel 10.1 Perbedaan ekspresi SCF antara kelompok kontrol, cisplatin dan cisplatin + SPST

Kelompok	Ekspresi SCF
Kontrol	10.90 ± 2.0
Cisplatin	7.54 ± 2.46
Cisplati + SPST	10.00 ± 0.00

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 (7.54 ± 2.46).

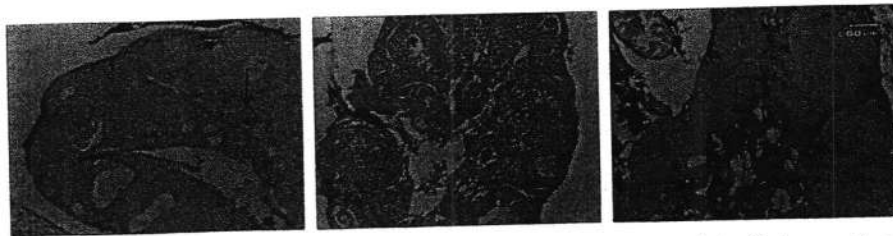
Sel granulosa ovarium memproduksi SCF yang berfungsi penting untuk pertumbuhan oosit. Melalui interaksi antara SCF dan GDF-9 yang berasal dari oosit pada proses folikulogenesis akan menghasilkan oosit matur yang siap difertilisasi (Thomas & Vanderhyden, 2006). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa transplantasi SPST akan meningkatkan ekspresi SCF di sel granulosa, yang berarti SPST yang ditransplantasikan melalui pembuluh darah ekor mencit akan "homing" menuju ke sel granulosa ovarium yang telah dirusak oleh cisplatin. Hasil ini memperlihatkan bahwa SPST berpotensi memperbaiki lingkungan di ovarium, antara lain regenerasi sel granulosa yang terbukti dengan peningkatan ekspresi SCF. Mekanisme ini perlu dikaji lebih lanjut dalam penelitian berikutnya.

Ekspresi GDF-9

Hasil pemeriksaan imunohistokimia untuk ekspresi GDF-9 pada kelompok kontrol, perlakuan cisplatin dan perlakuan cisplatin + transplantasi SPST adalah sebagai berikut: 9.54 ± 3.50 ; 1.54 ± 2.46 dan 13.33 ± 2.50 , terdapat perbedaan bermakna pada ketiga kelompok di atas ($p=0,00$).

Hasil di atas 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 (Gambar 10.3)

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



Gambar 10.3 Ekspresi GDF-9 pada kelompok kontrol (1), perlakuan cisplatin (2) dan perlakuan cisplatin + SPST (3). Magnifikasi 400 x

Tabel 10.2 Perbedaan ekspresi GDF9 antara kelompok kontrol, cisplatin dan cisplatin + SPST

Kelompok	Ekspresi GDF-9
Kontrol	9.54 ± 3.50
Cisplatin	1.54 ± 2.46
Cisplatin + SPST	13.33 ± 2.50

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 (Tabel 10.2).

Seperti yang terjadi pada sel granulosa, pemberian secara intraperitoneum akan membuat cisplatin difusi aktif maupun pasif masuk ke dalam oosit di folikel ovarium. Di dalam 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 (13.33 ± 2.50) dibandingkan dengan kelompok cisplatin (1.54 ± 2.46). 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 di dalam 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.

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 (Rajkovic *et al.*, 2006). 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, de Graaf dan korpus luteum yang lebih rendah ($1,81 \pm 0,75$); ($1,54 \pm 0,52$); ($1,18 \pm 0,40$); ($0,18 \pm 0,40$) dan (0) dibanding kan kelompok kontrol ($4,54 \pm 1,03$); ($3,54 \pm 1,12$); ($4,72 \pm 1,19$); ($3,18 \pm 0,87$) dan ($4,63 \pm 1,36$). (Tabel 10.3)

Sebagaimana kita ketahui fase pertama folikulogenesis atau fase preantral ditandai dengan pertumbuhan dan diferensiasi oosit, tampak dengan gambaran bentuk folikel primordial, primer dan sekunder. Fase kedua disebut fase antral ditandai dengan peningkatan pesat ukuran folikel, berupa gambaran folikel de Graaf dan setelah ovulasi menjadi bentuk korpus luteum (Zeleznik, 2004).

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, de Graaf dan korpus luteum. Temuan menarik adalah tidak didapatkan korpus luteum pada kelompok yang diberi cisplatin, ini menunjukkan juga bahwa pada kelompok yang diberi cisplatin folikelnya tidak berovulasi. Kondisi demikian memberi gambaran bahwa cisplatin intraperitoneum akan menyebabkan gangguan folikulogenesis, sehingga akan menghasilkan penurunan kualitas oosit atau tidak berovulasi.

Dengan dilakukan transplantasi SPST terlihat bahwa jumlah folikel primordial, primer, sekunder, de Graaf dan korpus luteum lebih tinggi ($5,66 \pm 0,50$); ($3,66 \pm 0,50$); ($3,33 \pm 0,50$); ($4,66 \pm 1,32$) dan ($5,66 \pm 1,32$) dibandingkan dengan yang diberi cisplatin saja ($1,81 \pm 0,75$); ($1,54 \pm 0,52$); ($1,18 \pm 0,40$); ($0,18 \pm 0,40$) dan (0).

Hasil ini menunjukkan bahwa transplantasi SPST memberikan efek terapi berupa perbaikan gangguan folikulogenesis akibat pemberian cisplatin. Seperti

Tabel 10.3 Perbedaan jumlah folikel pada kelompok kontrol, P1 dan P2

Kelompok	Folikel primordial	Folikel primer	Folikel sekunder	Folikel de Graaf	Korpus Luteum
Kontrol	$4,54 \pm 1,03$	$3,54 \pm 1,12$	$4,72 \pm 1,19$	$3,18 \pm 0,87$	$4,63 \pm 1,36$
P1 (Cisplatin)	$1,81 \pm 0,75$	$1,54 \pm 0,52$	$1,18 \pm 0,40$	$0,18 \pm 0,40$	0
P2 (Cisplatin +SPST)	$5,66 \pm 0,50$	$3,66 \pm 0,50$	$3,33 \pm 0,50$	$4,66 \pm 1,32$	$5,66 \pm 1,32$

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 SCF dan GDF-9, sehingga dapat mengatasi gangguan folikulogenesis akibat pemberian cisplatin. Pada tahun 2007 Lee pada penelitiannya menyatakan bahwa transplantasi SPST akan mengaktifasi oogenesis secara langsung maupun tidak langsung. Secara langsung SPST akan mengaktifasi 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 tranplantasi 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.

Kami simpulkan bahwa pada hewan coba mencit model kegagalan ovarium akibat pemberian kemoterapi cisplatin, transplantasi SPST akan memperbaiki gangguan folikulogenesis yang ditandai dengan meningkatnya ekspresi SCF, GDF-9 dan bertambahnya hitung jenis folikel. Tentunya kajian lebih detil pada penelitian selanjutnya sangat diperlukan, antara lain pada dosis transplantasi SPST yang tepat, mekanisme hambatan laju apoptosis sel granulosa dan oosit serta rincian detil 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, *Hum. Reprod.* 23(11): 2506–2512.

- Dolmans MM, Demylle D, Madrid BM & Donnez J, 2005. Efficacy of *in vitro* fertilization after chemotherapy, *Fertil. Steril.* 83(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: 1337–1344.
- 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 H, Jimmy YA, 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.
- 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. *Hum. Reprod.* 23(4): 863–868.
- Johnson J, 2007. Stem cell support of ovary fuction and fertility. In (Simon C & pellicer A) Stem cell in Human Reproduction: Basic Science and Therapeutic Potential. *Informa Healthcare*, pp. 21–44.
- Komarhadi MF, Hendarto H, Widjiati, & Suhatno, 2010. Ekspresi Kit Ligand dan jumlah folikel sebagai gambaran gangguan folikulogenesis pada tikus (*rattus novergicus*) strain wistar yang mendapat cisplatin. Laporan penelitian. Departemen/SMF Obstetri dan Ginekologi FK Unair/RSUD Dr. Soetomo Surabaya.
- 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: 198–3204.
- 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: Airlangga University Press, pp. 11–25.

- 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: 2413.
- Stroud JS, Mutch D, Rader J, Powell M, Thaker PH, & Grigsby PW, 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.
- Turkyilmaz C, Bulent O, Mahmut TO, Tolga A, Cem B, Ybrahim SS, & Saim O, 2008. Effect of Paclitaxel and Cisplatin on ovarian reserves in Rats. *Erciyes Tıp Dergisi* (erciyes Medical Journal), 30(1): pp 449-498
- Zelevnik AJ, 2004. The physiology of follicle selection. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 2(31): 1-7.