

KULTUR *STEM CELL* SEBAGAI TERAPI SEL PENYAKIT DIABETES MELITUS (DM)

Romdah Romansyah, S.Pd, M.Pd.,
FKIP, Universitas Galuh Ciamis, Jawa Barat

Abstrak

Kultur *stem cell* dalam terapi sel penyakit diabetes mellitus, merupakan salah satu upaya di dalam penanganan diabetes mellitus dengan penggunaan *cell replacement therapy*. Transplantasi menggunakan *stem cells* memberikan harapan bagi kesembuhan permanen dari penderita diabetes mellitus terutama akibat kerusakan sel beta pankreas. Tahapan yang harus dilakukan dalam proses diferensiasi *stem cells* menjadi sel beta pankreas meliputi tahap perubahan *stem cells* menjadi sel penyusun struktur pulau Langerhans (tahap *islet neogenesis*), dan tahap perubahan sel islet menjadi sel beta pankreas (*beta cells neogenesis*). Pengujian di laboratorium meliputi analisis kemampuan sel beta pankreas, uji kemampuan ekspresi gen insulin, uji imunologis serta manfaat dan efisiensi hasil terapi.

Abstract

Culturing stem cells in cell therapy of diabetes mellitus is an effort in the management of diabetes mellitus with use of cell replacement therapy. Transplant using stem cells give hope for a permanent cure of diabetes mellitus is mainly due to destruction of pancreatic beta cells. Steps that must be done in the process of differentiation of stem cells into pancreatic beta cells includes the step change stem cells into cells making up the structure of the islets of Langerhans (isletneogenesis stage), and the phase of the cell changes so isletmen pancreatic beta cells (beta cells neogenesis). Laboratory testing includes analysis of the ability of pancreatic beta cells, testing the ability of insulin gene expression, immunological tests and the benefits and efficiency of therapeutic outcomes.

Pendahuluan

Penanggulangan Diabetes Mellitus dilakukan dengan pemberian insulin harian ataupun transplantasi organ. Namun, ketersediaan insulin yang tidak dapat diperoleh dengan mudah, ketersediaan organ yang didonorkan dan tingkat kesesuaian organ terhadap resipien, serta efek samping yang ditimbulkan akibat penggunaan *immunosuppresan* menjadi kendala yang sering dihadapi (Burns *et al.* 2004, Sameer *et al.* 2006). Alternatif lain yang dapat dilakukan dalam penanganan diabetes mellitus adalah penggunaan *cell*

replacement therapy atau terapi berbasis sel dengan cara hanya menggantikan sel-sel yang rusak dengan sel-sel baru, yaitu mentransplantasikan sel-sel beta pankreas pada pasien. Untuk memenuhi kebutuhan tersebut maka digunakanlah *stem cells* sebagai alternatif sumber sel (Brolen *et al.* 2005, Sameer *et al.* 2006).

Berdasarkan sumbernya *stem cells* dapat dikelompokkan menjadi 2 kelompok utama, yaitu embrionik (*embryonic stem cells*, ESC) dan nonembrionik (*adult stem cells*, ASC). *Embryonic stem cells* adalah *stem cells* yang diperoleh atau diisolasi dari embrio.

Sedangkan ASC atau yang juga dikenal sebagai *mesenchymal stem cells* (MSC) ataupun *multipotent adult progenitor cells* (MAPC), adalah sel yang ditemukan di berbagai jaringan tubuh yang memiliki fungsi untuk menjaga keseimbangan dan memperbaiki jaringan tubuh. *Adult stem cells* dapat diisolasi dari sumsum tulang, otak, hati, kulit, lemak, otot, dan darah (Davila *et al.* 2004).

Penelitian mengenai *stem cells* sudah dimulai sejak permulaan abad ini. Pertama kalinya dilakukan untuk menanamkan sel telur *in vitro* adalah pada tahun 1878. Sepuluh tahun kemudian Edward dan Bavister berhasil memfertilisasikan sel telur manusia *in vitro*. Pada tahun 1981, Evans dan Kaufmann menemukan kondisi kultur yang sesuai untuk sel induk embrional (*embryonic stem cells*) manusia sehingga untuk pertama kalinya sel induk embrional berhasil dikultur. Sejak saat itulah terapi berbasis sel (*cell-based therapy*) dikembangkan (Winslow, 2001).

Stem cells (SC) merupakan sel yang belum berdiferensiasi yang dapat diarahkan untuk membentuk berbagai tipe sel tubuh (Czyz *et al.*, 2003), seperti sel syaraf (Bouhon *et al.*, 2005; Zhang *et al.*, 2006), sel pankreas (Roche *et al.*, 2005), sel jantung (Kanno *et al.*, 2004; Guo *et al.*, 2006; Hong *et al.*, 2007), sel ginjal (Kim dan Dressler, 2005), otot, sel darah, sel tulang dan sebagainya (Boheler *et al.*, 2002).

Potensi *stem cells* yang dapat

berproliferasi dan berdiferensiasi menjadi sel apapun yang membentuk tubuh dalam jumlah banyak menyebabkan *stem cells* dipandang lebih bernilai untuk digunakan dalam transplantasi sel. Salah satu penyakit pada hewan percobaan yang telah dapat disembuhkan dengan transplantasi *stem cells* adalah diabetes melitus (Sameer *et al.*, 2005).

Perumusan Masalah

1. Bagaimana teknik kultur stem cell untuk terapi penyakit Diabetes Mellitus ?
2. Bagaimana aplikasi kultur *stem cells* dalam terapi sel untuk penyakit Diabetes Mellitus ?
3. Bagaimana etika dalam penggunaan *stem cells therapy* terapa sel penyakit Diabetes mellitus ?

Tujuan

1. Mengetahui teknik kultur stem cell untuk terapi penyakit Diabetes Mellitus.
2. Mengetahui aplikasi kultur *stem cells* dalam terapi sel penyakit Diabetes Mellitus.
3. Mengetahui etika dalam penggunaan *stem cells therapy*.

Pembahasan

Diabetes Melitus (DM) merupakan kelompok penyakit metabolik yang ditandai dengan keadaan *hiperglikemia* (Powers, 2001). Diabetes Mellitus bisa disebabkan oleh destruksi sel beta pankreas karena proses

autoimun atau idiopatik yang umumnya menjurus ke defisiensi insulin absolut, resistensi insulin, defek genetik fungsi sel beta, defek genetik kerja insulin, penyakit eksokrin pankreas, endokrinopati, pengaruh obat atau zat kimia, infeksi, dan sindrom genetik lain (Purnamasari dan Bambang, 2011).

Berdasarkan tipenya, diabetes dapat dikelompokkan menjadi 2 tipe utama, yaitu diabetes tipe 1 dan tipe 2. Diabetes tipe 1 juga dikenal sebagai *Insulin Dependent Diabetes Mellitus* (IDDM). Penyakit tipe ini disebabkan karena adanya kegagalan sistem imun dalam tubuh sehingga sistem imun tubuh mengenali sel beta. Diabetes tipe ini ditangani dengan penambahan insulin (*exogenous insulin*) secara berkala untuk memenuhi kebutuhan tubuh akan insulin ataupun dengan melakukan transplantasi sel beta pankreas maupun pankreas secara utuh sehingga tubuh kembali menghasilkan insulin (Dugi, 2006). Sedangkan pada diabetes tipe 2 atau disebut juga dengan *Non Independent Diabetes Mellitus* (NIDDM), umumnya terjadi karena berkurangnya sensitivitas reseptor insulin pada sel-sel tubuh. Pengobatan yang dilakukan pada diabetes tipe 2 ini adalah menstimulasi sel beta pankreas sehingga menghasilkan lebih banyak insulin.

Secara umum *stem cells* memiliki karakteristik morfologi berupa inti sel (nukleus) yang besar bila dilihat dari perbandingan antara nukleus dengan

sitoplasmanya. Selain itu *stem cells* juga memiliki kecenderungan untuk tumbuh membentuk koloni berlapis yang kompak (*compact multilayered colonies*). Karakteristik lain yang dimiliki oleh *stem cells* adalah fase G1 yang pendek pada siklus selnya, serta memiliki aktivitas telomerase yang tinggi, dan ukuran telomere yang lebih panjang bila dibandingkan dengan sel-sel pada umumnya (Bhat *et al.* 2004).

Penggunaan *embryonic stem cells* telah banyak diteliti dan terbukti Upaya untuk meningkatkan efektivitas dan keamanan transplantasi *embryonic stem cells* atau jenis *stem cells* yang lainnya, perlu dilakukan induksi diferensiasi *stem cells* menjadi sel beta pankreas terlebih dahulu di laboratorium. Tahapan yang harus dilakukan dalam proses diferensiasi *stem cells* menjadi sel beta pankreas meliputi tahap perubahan *stem cells* menjadi sel penyusun struktur pulau Langerhans (tahap *islet neogenesis*), membutuhkan waktu ± 40 hari dan tahap perubahan sel islet menjadi sel beta pankreas (*beta cells neogenesis*), membutuhkan waktu ± 4 hari (Halim *et al.*, 2010).

Teknik kultur stem cell untuk terapi penyakit Diabetes Mellitus.

Adapun tahapan diferensiasi *embryonic stem cells* menjadi sel beta pankreas teknik kultur stem cell adalah sebagai berikut :

1. Isolasi *Inner Cell Mass*

Embryonic stem cells diperoleh dengan mengisolasi *inner cell mass* (ICM) dari embrio pada fase blastosis. Blastosis adalah suatu tahapan pada perkembangan embrionik pada saat embrio mencapai pertumbuhan pada hari ke 4 setelah terjadinya pembuahan. Pada saat tersebut embrio mengalami kompaksi dan sel-sel pada bagian paling luar akan mensekresikan suatu cairan. Dominasi cairan tersebut akan mendesak sel-sel yang berada pada bagian dalam sehingga terkumpul pada satu sisi dan menghasilkan suatu rongga yang berisi cairan yang disebut dengan blastosol. Sel-sel yang mengelilingi pada bagian paling luar dinamakan *trophectoderm*. Sedangkan sel-sel yang terkumpul pada bagian tengah disebut dengan *inner cell mass* (ICM) (Nagy *et al.* 2003).

Langkah pertama sebelum dilakukan isolasi ICM, *zona pelucida* yang membungkus blastosis harus dihilangkan terlebih dahulu. *Zona pellucida* adalah lapisan glikoprotein yang membungkus embrio, yang berfungsi untuk menjaga kesatuan embrio saat embrio belum mengalami kompaksi (*pre-compacted*). Pada *in vivo*, *zona pellucida* akan lisis akibat enzim tripsin yang dihasilkan oleh sel-sel *trophectoderm*, yang disebut dengan stripsin (Budhiarko *et al.* 2008).

Pengisolasian ICM dari blastosis dapat dilakukan dengan

metode *immunosurgery*, *microsurgery* ataupun enzimatik (Nagy *et al.*, 2003). Umumnya metode yang banyak digunakan adalah metode *immunosurgery*. Prinsip dasar dalam metode *immunosurgery* adalah pengisolasian ICM dengan cara melisiskan sel-sel *trophectoderm* yang ada di sekeliling ICM. Pelisisan sel-sel *trophectoderm* dilakukan dengan bantuan antibodi dan komplemen. Antibodi akan berikatan dengan sel-sel *trophectoderm* (antigen) sehingga terbentuk kompleks antigen-antibodi. Kemudian dengan penambahan komplemen akan terjadi lisis pada sel-sel *trophectoderm* akibat adanya aktivasi *cascade complement* yang menyebabkan terjadinya *membrane attack complex* (Nagy *et al.*, 2003) sehingga diperoleh ICM sebagai hasil akhir. Pada *microsurgery*, ICM diperoleh dengan melakukan pembedahan mikro terhadap blastosis.

Isolasi ICM dilakukan dengan menggunakan metode *immunosurgery*. Blastosis diinkubasi dalam DMEM yang mengandung *rabbit anti-mouse serum* (Sigma, USA) 25% selama 90 menit, kemudian dicuci dalam DMEM tanpa serum dan diinkubasi kembali dalam DMEM yang mengandung *guinea pig complement* (Sigma, USA) 25% selama 90 menit. Proses isolasi ICM kemudian dilanjutkan dengan melakukan pemipetan berulang dan pencucian untuk menghilangkan sel-sel trofoblas yang masih melekat. ICM yang diperoleh

kemudian dikultur dalam medium kultur ESC.

2. Kultur *Embryonic Stem Cell*

Inner cell mass yang diperoleh kemudian dikultur dengan tetap mempertahankan sifat *undifferentiated* yang dimilikinya (Pour *et al.* 2004). Pada umumnya ESC dikultur dalam *Dulbecco's Modified Eagle's Medium* (DMEM) (Sigma, USA) yang mengandung *Fetal Bovine Serum* (FBS) 10-20% (Sigma, USA), β -*mercaptoethanol* 0,1 mM (Sigma, USA), *nonessential amino acids* 1% (Sigma, USA), *penicillin-streptomycin* 5 μ l/ml (Sigma, USA), dan *Leukimia inhibitory factor* (LIF) 20 ng/ml. Kultur ICM dilakukan pada petri 4-well (Nunc, Denmark) yang sebelumnya telah dilapisi dengan gelatin 0,1% (SIGMA, USA). Penggantian medium kultur dilakukan setiap 48 jam (Roach dan McNeish, 2002).

Penambahan LIF dalam medium kultur berfungsi untuk mempertahankan sifat *undifferentiated* ESC. *Leukimia inhibitory factor* akan berikatan dengan kompleks reseptor heterodimer (*heterodimeric receptor complex*) yang terdiri dari LIF *receptor* (LIFR) dan reseptor gp 130. Ikatan tersebut akan mengaktifkan faktor transkripsi *Janus-associated tyrosine kinases* (JAK) yang melekat pada reseptor LIF dan gp 130 sehingga mengalami fosforilasi. JAK yang terfosforilasi akan mengikat *signal*

transducer and activator of transcription 3 (STAT3). Ikatan yang terbentuk antara STAT3 dan JAK menyebabkan STAT3 terfosforilasi dan memiliki kecenderungan untuk membentuk dimer. STAT3 dalam bentuk dimer tersebut kemudian akan bertranslokasi ke dalam nukleus dan mengaktifkan gen-gen yang terkait dalam kemampuan *self-renewal* ESC (Burdon *et al.* 2002).

3. Karakteristik *Embryonic Stem Cells*

Embryonic stem cells memiliki karakteristik sebagai berikut berasal dari embrio yang belum melekat pada dinding rahim (*preimplantation*); dapat berproliferasi tanpa berdiferensiasi dalam waktu yang panjang; dapat berkembang menjadi berbagai sel yang berasal dari 3 lapis germinal (endoderm, mesoderm, dan ektoderm) (Kitiyant *et al.* 2000). Molekul penanda yang dapat digunakan dalam mendeteksi keadaan *undifferentiated* pada ESC antara lain adanya *Stage Specific Embryonic Antigen* (SSEA), *Octamer-4* (*Oct4*), dan *Nanog*. *Stage specific embryonic antigen* adalah glikoprotein spesifik yang diekspresikan pada awal perkembangan embrionik dan *stem cells* yang belum berdiferensiasi (*undifferentiated stem cells*). Sedangkan *Oct4* dan *Nanog* adalah faktor transkripsi yang berperan dalam menjaga ESC pada fase *undifferentiated* (Hoffman dan Carpenter 2005.)

4. Diferensiasi *Embryonic Stem Cells* Menjadi Sel Beta Pankreas

Stem cells yang bersifat

pluripoten telah menjadi alternatif sumber sel dalam *cell replacement therapy*. Pada penggunaannya, *stem cells* terlebih dahulu diarahkan sehingga membentuk sel beta pankreas. Beberapa metode yang telah dilakukan dalam diferensiasi *stem cells* menjadi sel beta pankreas antara lain, melalui modifikasi genetik sehingga *stem cells* akan mengekspresikan *pancreas specific promotor* atau melalui diferensiasi spontan yang diikuti seleksi, penggunaan *growth factors* (seperti *activin*, *fibroblast growth factor*, *retinoic acid*, dan *transforming growth factor*) (Shi *et al.* 2005)

Embryonic stem cells terlebih dahulu dicuci dengan DPBS sebanyak 2 kali dan diinkubasi dengan DPBS yang mengandung trypsin EDTA 0.25% selama 3 menit pada suhu 37°C, lalu ditambahkan medium kultur yang mengandung FBS 15%. Populasi sel kemudian dihomogenkan menggunakan pipet hingga menjadi sel-sel tunggal atau *cluster-cluster* kecil. Sel lalu dikultur pada cawan petri yang telah dilapisi dengan gelatin (Sigma, USA) 0.1% dan dikultur selama 48 jam dalam medium kultur yang mengandung serum. Setelah 48 jam sel kemudian dicuci dengan medium kultur tanpa serum dan dikultur selama 14 hari dalam medium pengarah seperti penggunaan *growth factors*, *extracellular matrix* atau *conditioned medium*.

5. Analisa Sel Beta Pankreas

Sel beta pankreas yang terbentuk dari hasil pengarah ESC dapat diidentifikasi dari adanya warna merah yang dihasilkan pada pewarnaan *dithizone*, ataupun dari pewarnaan imunohistokimia serta analisa menggunakan ELISA untuk melihat adanya insulin yang dihasilkan (Shiroi *et al.* 2002, Lin *et al.* 2006, Vaca *et al.* 2006). Selain itu dapat juga dilakukan analisa terhadap *Connecting-peptide* (C-peptide), yaitu suatu peptida yang dihasilkan dari proses sintesis insulin (Rajagopal *et al.* 2003).

6. Kemampuan Ekspresi Gen Insulin

Adanya ekspresi gen insulin pada sel beta pankreas yang dihasilkan dari pengarah ESC dapat dibuktikan dengan cara deteksi mRNA dari insulin 1 dan insulin 2 dengan metode *Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR). Kedua gen tersebut merupakan gen yang menghasilkan hormon insulin pada sel beta pankreas. Setelah dilakukan kultur selama 14 hari, sel kemudian dicuci dengan DPBS dan diinkubasi dengan 1 ml *Trizol* (Invitrogen) selama 5 menit. Seluruh supernatan kemudian dipindahkan ke dalam tabung berukuran 2 ml dan ke dalamnya ditambahkan kloroform sebanyak 200 µl. Kemudian dihomogenkan dan diinkubasi selama 10 menit pada suhu ruang. Larutan kemudian disentrifus dengan kecepatan 12000 g selama 15 menit pada suhu 4°C.

Supernatan berupa cairan bening dipindahkan ke dalam *tube* baru berukuran 1.5 ml dan ditambahkan dengan isoprophil alkohol (isopropanol) sebanyak 500 μ l, dicampur hingga homogen dan diinkubasi selama 10 menit pada suhu ruang.

Larutan kemudian disentrifus dengan kecepatan 12000g selama 10 menit pada suhu 4°C. Supernatan kemudian dibuang dan pada pelet yang diperoleh ditambahkan etanol DEPCdH₂O sebanyak 1 ml, divortex hingga homogen dan disentrifus dengan kecepatan 7500g selama 5 menit pada suhu 4°C. Supernatan kemudian dibuang dan RNA dikeringkan selama 15-20 menit pada suhu ruang. Pada RNA yang telah kering ditambahkan *RNAse free water* 30 μ l dan siap digunakan atau disimpan pada suhu -80°C hingga dilakukan RT-PCR.

Reaksi *reverse transcription* dilakukan menggunakan *Transcriptor* (Roche) dan reaksi PCR dilakukan menggunakan *Go Tag Green Mastermix* (Promega, USA). Primer yang digunakan adalah b-actin (kontrol), proinsulin 1 dan proinsulin 2. Total campuran pada reaksi awal transkripsi adalah 13 μ l yang terdiri dari *Anchored-oligo* (dT) primer 1 μ l, total RNA 7 μ l, dan *water-PCR grade* 7 μ l. Campuran kemudian dihomogenkan lalu diinkubasi pada suhu 65°C selama 10 min. Setelah itu campuran langsung didinginkan dalam es dan ditambahkan

dengan *Transcriptor buffer* 4 μ l, *RNAse inhibitor* 0.5 μ l, *Deoxynucleotide* 2 μ l, dan *Transcriptase* 0.5 μ l hingga volume total campuran menjadi 20 μ l. Campuran kemudian dihomogenkan dan dimasukkan ke dalam mesin PCR (*GeneAmp PCR System 9600*) serta diinkubasi pada suhu 50°C selama 60 menit diikuti dengan pemanasan pada suhu 85°C selama 5 menit. cDNA yang dihasilkan kemudian langsung digunakan sebagai cetakan atau *template* pada reaksi PCR atau disimpan pada suhu -80°C. Pada reaksi PCR, total campuran terdiri dari *Go tag green mastermix* 12.5 μ l, primer *sense* 1.25 μ l, primer *antisense* 1.25 μ l, DNA *template* 5 μ l, dan *Nuclease-free water* 5 μ l sehingga total volume yang diperoleh menjadi 25 μ l. Campuran tersebut kemudian dihomogenkan lalu dimasukkan dalam mesin PCR. Reaksi PCR dilakukan sebanyak 35 siklus dengan suhu denaturasi awal 95°C selama 2 menit, suhu *denaturation* 95°C selama 45 detik, suhu *annealing* (b-actin dan insulin 1: 62°C dan insulin 2: 64°C) selama 45 detik, suhu *extension* 72°C selama 1 min dan *final extension* 72°C selama 5 menit. Produk PCR kemudian dianalisa menggunakan gel agarose dengan konsentrasi agarose 2.5% yang mengandung *Ethidium Bromide* (EtBr) 1.25 μ l/ml. Produk PCR yang dianalisa dalam setiap proses elektroforesis adalah 10 μ l pada sampel dan 4 μ l pada kontrol. Elektroforesis dilakukan

pada voltase 95 volt selama 60 menit menggunakan *gel electrophoresis system* (Bio Rad). Hasil elektroforesis kemudian dibaca menggunakan Gbox XT.

Aplikasi Transplantasi *Stem Cells* untuk Pasien Penderita Diabetes Mellitus

Keberadaan sel pengganti sel beta pankreas yang telah rusak merupakan suatu keharusan untuk memberikan kesembuhan yang bersifat permanen pada penderita diabetes melitus. Terapi yang dilakukan saat ini yaitu injeksi insulin, hanyalah bersifat simptomatik dan sementara. Terapi transplantasi sel awalnya menggunakan metode allotransplantasi antara kadaver sebagai donor dan pasien DM. Namun, hal ini berdampak adanya resiko rejeksi imunologis. Selain itu, ketersediaan kadaver sebagai donor yang sesuai juga sangat terbatas dan tidak berimbang dengan jumlah penderita DM. Sehingga banyak penderita yang tidak dapat melakukan terapi transplantasi sel beta pankreas hingga akhir hidupnya. Transplantasi menggunakan *stem cells* memberikan harapan baru bagi kesembuhan permanen dari penderita DM (White *et al.*, 2001). Penggunaan *stem cells* untuk mengobati penyakit dikenal sebagai *cell based therapy*. Prinsip terapi adalah dengan melakukan transplantasi *stem cells* pada organ yang rusak. Ada beberapa alasan penggunaan

stem cell dalam *cell based therapy*:

- 1) *stem cell* dapat diperoleh dari pasien sendiri, artinya transplantasi dapat bersifat autolog sehingga menghindari potensi rejeksi. Berbeda dengan transplantasi organ yang membutuhkan organ donor yang harus match, transplantasi *stem cells* dapat dilakukan tanpa organ donor yang sesuai.
- 2) Mempunyai kemampuan untuk berproliferasi yang besar sehingga dapat diperoleh sel dalam jumlah besar dari sumber yang terbatas. Pada luka bakar yang luas jaringan kulit yang tersisa tidak cukup untuk menutupi lesi luka bakar tersebut. Hal ini dapat diatasi dengan menggunakan terapi *stem cell*.
- 3) Mudah dimanipulasi untuk mengganti gen yang sudah tidak berfungsi lagi melalui metoda transfer gen.
- 4) Mempunyai kemampuan untuk bermigrasi ke jaringan target misalnya ke otak.
- 5) Mempunyai kemampuan untuk berintegrasi dengan jaringan host dan berinteraksi dengan jaringan sekitarnya

Keuntungan penggunaan transplantasi *stem cells* untuk mengobati penyakit adalah:

- a. Tidak perlu adanya kecocokan donor

b. Transplantasi autologous lebih baik untuk digunakan untuk mencegah terjadinya reaksi penolakan jaringan dapat digunakan metoda *somatic cell nuclear transfer* atau terapi kloning. *Therapeutic cloning* atau disebut *Somatic Cell Nuclear* bertujuan untuk menghindari resiko penolakan atau rejeksi.

Pada tahun 1977, transplantasi sel islet manusia pertama dilakukan, lebih dari 750 pasien menerima transplantasi sel islet. Namun, pada tahun 2000 kurang dari 10% dari resipien telah mencapai ketidaktergantungan insulin selama lebih dari setahun. Sejak tahun 1999-2007, klinis transplantasi islet mulai didirikan sehingga terjadi penurunan hipoglikemia berat dan tingkat keberhasilan 70% dalam pencapaian ketidaktergantungan insulin bertahan selama 2 tahun atau lebih dalam 50% dari orang-orang mencapai kemandirian insulin, atau 35% dari semua islet dari resipien sendiri (Alejandro *et al.*, 2008).

Etika Penggunaan *Stem Cells Therapy* dalam terapi sel penyakit Diabetes mellitus.

Berkembangnya penggunaan *stem cell* dalam upaya untuk mengobati penyakit pada manusia akan mengakibatkan timbulnya masalah dalam hal etik. Hal utama terkait dengan masalah etik adalah sumber *stem cell* tersebut. Berbagai masalah etika yang perlu dipikirkan adalah

1. Apakah penelitian embrio manusia secara moral dapat dipertanggung jawabkan?
2. Apakah penelitian embrio yang menyebabkan kematian embrio merupakan pelanggaran terhadap hak azasi manusia (HAM) dan berkurangnya penghormatan terhadap makhluk hidup?
3. Apakah penyalahgunaan dapat diketahui dan dikendalikan?
4. Apakah penggunaan embrio sisa proses bayi tabung pada penelitian diperbolehkan?
5. Apakah penelitian khusus membuat embrio untuk digunakan diperbolehkan?

Isu bioetika utama dalam penggunaan *stem cell* adalah penggunaan *embryonic stem cells* terutama tentang sumber sel tersebut yaitu embrio. Sumber embrio adalah hasil abortus, zigot sisa IVF dan hasil pengklonan. Perdebatan yang cukup ramai adalah mengenai status moral embrio, apakah embrio harus diperlakukan sebagai manusia atau sebagai sesuatu yang berpotensi untuk menjadi manusia atau sebagai jaringan hidup tubuh lainnya. Lebih jauh lagi apakah embrio yang berkembang dianggap sebagai makhluk hidup (Tadjudin, 2006).

Proses membuat dan mematikan embrio dianggap menyalahi etika karena kehidupan telah dimulai sesaat setelah fertilisasi terjadi dan embrio juga sudah memiliki status sebagai manusia. Dalam

proses pemanenan *stem cell* embrio terjadi kerusakan pada embrio dan menyebabkan embrio tersebut mati. Adanya anggapan bahwa embrio berstatus sama dengan manusia menyebabkan hal tersebut tidak dapat diterima (Saniei dan de Vries, 2008).

Pendapat lain menyatakan bahwa embrio tidak memerlukan perhatian khusus dari sisi moral (Fischbach dan Fischbach, 2004). Aborsi yang dilakukan pada tingkat sel sangat diperlukan ketika faktor keselamatan organ dan individu sangat urgensi. Embrio dari tahap blastosis belum memiliki sel-sel saraf jadi belum ada kemampuan untuk mendeteksi dan legal digunakan untuk tujuan kesehatan. Perdebatan tentang etika juga terjadi pada *stem cell* yang diambil dari tali pusar orang lain.

Pada dasarnya secanggih apapun dan semaju apapun teknologi yang dikembangkan manusia, ada teknologi yang manusia belum bisa dan hanya Tuhan yang Maha Sempurna. Hal ini tergantung kita menyikapinya, bagaimana etika yang telah diajarkan kepada masing-masing keyakinan, karena hanya Tuhan yang bisa menciptakan sempurna seperti manusia harapkan.

Kesimpulan

Berdasarkan pembahasan di atas maka dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Penggunaan *stem cells* untuk mengobati penyakit dikenal sebagai *cell based therapy*, merupakan

transplantasi *stem cells* pada organ yang rusak. *Stem cells* yang digunakan dapat berasal dari *embryonic stem cells* (ESC), *mesenchymal stem cells* (MSCs), dari sumsum tulang dan *pancreatic stem cell* dari donor allogenik.

2. Transplantasi menggunakan *stem cells* memberikan harapan bagi kesembuhan permanen dari penderita diabetes melitus terutama bagi penderita diabetes melitus akibat kerusakan sel beta pankreas.
3. Tahapan yang harus dilakukan dalam proses diferensiasi *stem cells* menjadi sel beta pankreas meliputi tahap perubahan *stem cells* menjadi sel penyusun struktur pulau Langerhans (tahap *islet neogenesis*), membutuhkan waktu ± 40 hari dan tahap perubahan sel islet menjadi sel beta pankreas (*beta cells neogenesis*), membutuhkan waktu ± 4 hari. Sebelum ditransplantasikan ke pasien harus dilakukan pengujian di laboratorium terlebih dahulu meliputi analisis kemampuan sel beta pankreas, uji kemampuan ekspresi gen insulin, uji imunologis serta manfaat dan efisiensi hasil terapi.
4. Penggunaan *stem cell* dalam upaya untuk mengobati penyakit pada manusia menimbulkan masalah dalam hal etika, hal ini terkait dengan masalah etik adalah sumber *stem cell* tersebut terutama penggunaan *embryonic stem cell therapy*.

DAFTAR REFERENSI

- Alejandro R, Barton FB, Hering BJ, Wease S; Collaborative Islet Transplant Registry Investigators. 2008. 2008 Update from the Collaborative Islet Transplant Registry. *Transplantation*. 86: 1783-1788.
- Bhat GM, Bhat MA, Kour K. 2004. Stem cells: Present status and future prospect, *Journal of Indian Academy of Clinical Medicine* 5: 149-156.
- Boheler KR, J Czyz, D Tweedie, HT Yng, SV Anisimov and AM Wobus. 2002. Differentiation of pluripotent embryonic stem cells into cardiomyocytes. *Circ. Res.* 91: 189-201.
- Bouhon I.A, H.Kato, S. Chandran, and N.D Allen. 2005. Neural differentiation of mouse embryonic stem cells in chemically defined medium. *Brain Research Bulletin*. 68: 62-75.
- Brolen GKC, Heins N, Edsbadge J, Semb H. 2005. Signals from the embryonic mouse pancreas induce differentiation of human embryonic stem cells into insulin-producing β -cell-like cells. *Diabetes* 54: 2867-2874.
- Czyz J, C. Wiese, A. Rolletschek, p. Blyszczuk, M. Cross, and A.M Wobus. 2003. Potential of embryonic and adult stem cells in vitro. *Biol.Chem.* 384: 1391-1409.
- Dugi K. 2006. Diabetes mellitus. *Science in Scholl*: 61-65. Li L, Xie T. 2005. Stem cell niche: Structure and function. *Annual Reviews Cell Development Biology* 21: 605-31.
- Fischbach, G.D., R.L.Fischbach. 2004. Stem cells: Science, policy, and ethics. *The Journal of Clinical Investigation*. 114:1364-1370.
- Guo X.M, Y.S Zhao, H.X Chang, C Y Wang, E. Ling-Ling, X.A Zhang, C.M Duan, L.Z Dong, H Jiang, J Li, Y Song and X Yang. 2006. Creation engineered cardiac tissue in vitro from mouse embryonic stem cells. *Circulation*. 113: 2229-2237.
- Halim D, Harry M, Ferry S, Arief B, Tono D dan Boejamin S. 2010. Stem Cell: Dasar Teori dan Aplikasi Klinis. Penerbit Erlangga. Hal 105-110.
- Hong S, J.K kang, C.J Bae, E.S Ryu, S.H Lee, J.H Lee. 2007. Development of efficient cardiac differentiation method of mouse embryonic stem cells. *Key Engineering Materials*. 342: 25-28.
- Kanno S, P.K.M Kim, K Sallam, J Lei, TR Billiar, and LL Shears. 2004. Nitric oxide facilitates cardiomyogenesis in mouse embryonic stem cells. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 101: 12277-12281.
- Kim D, GR Dressler. 2005. Nephrogenic factors promote differentiation of mouse embryonic stem cells into renal epithelia. *J.Am. Soc.Nephrol.* 16: 3527-3534.
- Lecher A and Habener JF. 2003. Stem/progenitor cells derived from adult tissue: Potential for the treatment of

Diabetes Mellitus. *American Journal of Physiology, Endocrinology and Metabolism*. 254: 259-266.

Nagy A, Gertsenstein M, Vintersten K, Behringer R. 2003. *Manipulating the Mouse Embryo: A laboratory manual* 3rd. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.

Oliver-Krasinski JM and Stoffers DA. 2008. On the origin of β cell. *Genes & Development* 22: 1998-2021.

Purnamasari E dan Bambang P. 2011. Diabetes Mellitus dengan Penyulit Kronis. *Majalah Kesehatan Pharma Medika*. 3: 276-281.

Purwati, Fedik A.R, S. Wibisono, Anas P, Eric H, Helen S, dan Deya K. 2012. Transplantasi autologus bone marrow mesenchymal stem cell dan allogenic pancreatic stem cell untuk perbaikan sel beta pankreas pada eksperimental diabete melitus. *Prosiding InSINas*. 1-7.

Rasouli M, Ahmad Z, Omar AR, Allaudin ZN. 2011. Engineering an L-cell line that expresses insulin under the control of the glucagon-like peptide-1 promoter for diabetes treatment. *BMC Biotechnol*.

Roche E, P Sepulcre, JA Reig, A Santana, B Soria. 2005. Ectodermal commitment of insulin-producing cells derived from mouse embryonic stem cells. *The FASEB Journal*. 19: 1341-1343.

Saniei, M., R. de Vries. 2008. Monotheistic religion perspectives on embryonic stem cell research. *Eubios Journal of Asian and International Bioethics*. 18:46-52.

Skottman H, Hovatta O. 2006. Culture conditions for human embryonic stem cells. *Reproduction*, 132: 691-698.

Tadjudin MK. 2006. Aspek bioetika penelitian stem cell. *Cermin Dunia Kedokteran*. 153: 9-12.