

**RINGKASAN
HIBAH KOMPETITIF PENELITIAN
UNTUK PUBLIKASI INTERNASIONAL BATCH III**



Judul Penelitian:

**Diferensiasi Kardiomyosit dan Sel Endotel Asal
Sel Punca Mesenkimal Tali Pusat *Macaca fascicularis***

Ketua Peneliti:

Prof. drh. Dondin Sajuthi, MST, Ph.D

Anggota Peneliti:

Dr. drh. Diah Iskandriati

Uus Saepuloh, S.Si, M.Biomed

Silmi Mariya, S.Si

J. Koudy Williams, DVM

Dibiayai oleh

**Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional
sesuai dengan Surat Perjanjian Pelaksanaan Hibah Kompetitif Penelitian
Untuk Publikasi Internasional Nomor: 688/SP2H/PP/DP2M/X/2009, tanggal
26 Oktober 2009**

**Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat
Institut Pertanian Bogor
Desember 2009**

Ringkasan Penelitian

Diferensiasi Kardiomyosit dan Sel Endotel Asal Sel Punca Mesenkimal Tali Pusat *Macaca fascicularis*

Dondin Sajuthi, Diah Iskandriati,
Uus Saepuloh, Silmi Mariya, Kouidy Williams

Pusat Studi Satwa Primata
Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat
Institut Pertanian Bogor

Terapi sel punca merupakan pengobatan yang sangat potensial karena diketahui sel-sel jantung dan sel pembuluh darah mempunyai kemampuan untuk bergenerasi. Sampai saat ini belum ada laporan kematian pada penderita yang memperoleh terapi sel punca. Pengobatan sel punca terhadap penderita iskemik kronik dan akut, mampu meningkatkan fungsi dan perfusi myocardial pada ventrikel kiri jantung dan memperbaiki sel pembuluh darah yang rusak.

Penggunaan sel punca merupakan hal yang sangat menguntungkan bagi ilmu pengetahuan, bagaimana organisme dapat berkembang dari satu sel dan bagaimana sel yang sehat dapat mengganti kerusakan sel pada makhluk hidup. Sel punca mempunyai dua karakteristik penting, yang membedakan mereka dari jenis sel lainnya. Pertama, sel punca belum terspesialisasi dan mampu melakukan pembelahan dalam waktu yang lama. Kedua, dalam kondisi fisiologi tertentu, sel punca dapat diinduksi menjadi sel dengan fungsi khusus misalnya sel jantung yang berdetak atau sel pankreas yang menghasilkan insulin. (Lanza et al, 2006)

Pada jaringan dewasa, seperti sumsum tulang belakang, otot dan otak, menghasilkan populasi sel punca dewasa yang bergenerasi menggantikan sel yang kehilangan bentuk normalnya akibat luka atau penyakit. Dalam perkembangan *stem cell based therapeutic* untuk perbaikan jaringan, seleksi jenis sel punca yang akan digunakan sangat penting, sel punca dewasa dapat dipertimbangkan sebagai sumber paling menjanjikan dalam perbaikan jaringan (Gafni et al, 2004) Sel punca dewasa yang berasal dari hewan atau pun

manusia sekarang ini lebih banyak digunakan, dibandingkan dengan sel punca embrionik. Sel tersebut dapat dimanfaatkan dalam bidang riset biomedika, pengembangan obat dan pengujian toksisitas, kloning reproduksi serta pengobatan yang dapat ditinjau dari segi keilmuan maupun etika.

Tali pusat merupakan salah satu sumber sel punca dewasa, dimana dari tali pusat tersebut dapat diperoleh *haematopoietic stem cells* dan *Mesenchymal stem cells* (MSCs) (Koch TG et al., 2007). Tali pusat merupakan limbah dari suatu proses kelahiran, tali pusat terdiri dari dua arteri, satu vena yang dikelilingi oleh *connective tissue* dipermukaannya yang disebut sebagai Wharton's Jelly. Mesenchymal stem cell (MSCs) dapat diperoleh dari Wharton's jelly dengan mendisagregrasi ikatan antar sel menggunakan enzim. (Seshareddy in Mather JP, 2008)

Penelitian tahap pertama difokuskan pada isolasi dan ekspansi kultur sel punca mesenkimal Wharton's jelly tali pusat *M. fascicularis*. Tali pusat dikoleksi melalui operasi sesar dan Wharton's jelly dipisahkan dari pembuluh darah vena dan arteri, sel punca mesenkimal Wharton's jelly diisolasi menggunakan teknik enzimatik dengan menginkubasi wharton's jelly dalam collagenase tipe I dan hyaluronidase selama 1 jam pada suhu 37°C, jaringan yang belum terdisagregasi selanjutnya diinkubasi menggunakan trypsin selama 30 menit pada suhu 37°C. Sentrifugasi dilakukan untuk memperoleh pelet sel punca mesenkimal. Sel punca mesenkimal dikultur dalam media penumbuh dan diekspansi untuk menghasilkan sediaan sel kultur yang banyak untuk kepentingan uji imunositokimia dan Polymerase chain reaction (PCR). Uji imunositokimia dilakukan terhadap penanda antigen permukaan sel punca mesenkimal CD 73 dan CD 105, dengan tahapan awal penghambatan ikatan non spesifik, tahapan selanjutnya penambahan antibodi pertama dengan waktu inkubasi 1 jam pada suhu 37°C, setelah melalui proses pencucian antibodi kedua berlabel fluorokrom ditambahkan dengan inkubasi 1 jam pada suhu 37°C. Hasil uji diamati menggunakan mikroskop fluoresens, Uji PCR dilakukan dengan mengekstraksi mRNA sel punca mesenkimal menggunakan kit RNeasy (Qiagen, USA), dilanjutkan dengan reverse transcriptase PCR dengan mengacu pada metode kit Superscript (Invitrogen, USA), selanjutnya dilakukan amplifikasi PCR terhadap marker sel punca mesenkimal CD44, CD73, CD90 dan CD 105.

Sel punca mesenkimal Wharton's jelly *Macaca fascicularis* dapat di isolasi dan ditumbuhkan secara *in Vitro*, tumbuh menempel pada substrat plastik, dengan morfologi *fibroblast like* , bulat dengan sedikit memanjang. Kultur sel punca mesenkimal ini dapat disubkultur sampai subkultur ke enam.

Sel punca mesenkimal dari jaringan ini positif terhadap penanda antigen permukaan sel punca mesenkimal yaitu CD 73 dan CD 105 dan mengekspresikan gen penanda untuk sel punca mesenkimal yaitu CD 44, CD 73, CD 90 dan CD105 dan tidak mengekspresikan penanda sel punca hematopoietik CD34 dan CD45. Hasil kultur ini dapat digunakan sebagai model pengobatan regeneratif untuk penyakit manusia pada satwa primata.