

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. LATAR BELAKANG

Sel punca merupakan sel yang mempunyai karakteristik unik yaitu memiliki kemampuan memperbaharui diri melalui proses proliferasi sel dan tetap memiliki sifat pluripotensi.¹ Dalam kultur *stem cell* memerlukan *growth factor* (GF) yang biasanya diperoleh dari *fetal bovine serum* (FBS).^{2,3} Pada aplikasi klinis, kultur *mesenchymal stem cell* (MSC) harus menghindari penggunaan bahan dari hewan seperti FBS dan *fetal calf serum* (FCS), karena serum hewan mengandung N-glycolylneuraminic acid (Neu5GC) xenoantigen yang dapat memicu respon imun pada pasien,⁴ dan bakteri yang dapat menyebabkan ensefalopati spongiform sapi atau penyakit Creutzfeldt-Jakob. Karena itu, aplikasi klinis pada pasien harus menggunakan material yang *xeno-free*. Sayangnya ketersediaan material yang *xeno-free* sangat mahal. *Platelet Rich Plasma* (PRP) mudah diperoleh, kaya akan *growth factor* yang diperlukan dalam pertumbuhan sel sehingga memungkinkan PRP potensial dalam menggantikan FBS, selain harganya murah. Penggunaan PRP memungkinkan MSC untuk menghindari imunologi xenogenic, prion dan transmisi virus karena menggunakan darah pasien sendiri. Aplikasi klinik menggunakan MSCs dengan medium FBS terpapar Neu5GC menunjukkan respon imun yang lebih berat seperti reaksi anafilaksis.

Spees dkk, mengungkapkan bahwa setiap sel MSC manusia yang dibiakkan dalam 20% *fetal calf serum* (FCS) mengandung 36-104 pg xenoantigen internal. Selanjutnya dalam setiap 100 juta sel MSCs manusia terdapat 7 sampai 30 mg Neu5GC.⁴ Injeksi BMSC yang dibiakkan dalam medium yang diberikan suplemen FBS pada manusia, ternyata berakibat reaksi imun seperti arthus bahkan hingga aritmia. Pada penelitian lain yang menggunakan kultur MSC manusia dalam FBS dari 2000 pasien tidak menemukan efek samping akut ataupun intoksikasi setelah pemberian sel tersebut secara intravena namun komplikasi kronik terjadi setelah pengamatan jangka panjang.⁵

PRP merupakan komponen darah (plasma) dengan konsentrasi trombosit di atas nilai normal. PRP biasanya berisi 3-5 kali konsentrasi kadar trombosit yang normal. *Growth factor* yang terdapat dalam PRP antara lain *Platelet Derived Growth Factor* (PDGF), *Transforming Growth Factor Beta* (TGF- β), *Basic Fibroblast Growth Factor* (bFGF), *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF), *Epidermal Growth Factor* (EGF), *Insulin-like Growth Factor* (IGF).⁶ PRP mudah diperoleh, tidak ada resiko donor, memiliki sifat imunogenitas yang lebih rendah karena berasal dari darah pasien sendiri dan kaya akan *growth factor* yang diperlukan untuk pertumbuhan sel sehingga PRP potensial sebagai pengganti FBS. Pembelahan sel dan pertumbuhan sel merupakan proliferasi sel, mekanisme dan pengaturan proliferasi sel didasari oleh adanya siklus sel. Untuk menjalankan proses tersebut, proliferasi sel membutuhkan

growth factor yang bisa diperoleh dari PRP. Aktifitas proliferasi dapat dianalisis menggunakan marker Ki-67. Proliferasi sel dapat dilihat menggunakan pengecatan imunohistokimia Ki-67. Indeks Ki-67 akan mengekspresikan sel yang berproliferasi pada fase G1,S,G2,M kecuali fase G0 pada siklus sel.

Berdasarkan hal tersebut maka penelitian yang ini akan melihat efek *platelet rich plasma* (PRP) terhadap proliferasi dan ekspresi Ki67 *Wharton jelly umbilical cord mesenchymal stem cells*.

1.2. RUMUSAN MASALAH

Adakah perbedaan efek *Platelet Rich Plasma* PRP terhadap proliferasi dan ekspresi Ki67 *wharton jelly umbilical cord* MSC ?

1.3. TUJUAN PENELITIAN

1.3.1. Tujuan Umum

Untuk mengetahui efek PRP terhadap proliferasi dan ekspresi Ki67 *wharton jelly umbilical cord* MSC

1.3.2. Tujuan Khusus

1.3.2.1. Untuk mengetahui proliferasi dan ekspresi Ki67 *Wharton jelly umbilical cord* MSC yang diberi FBS

1.3.2.2. Untuk mengetahui proliferasi dan ekspresi Ki67 *wharton jelly umbilical cord* MSC yang diberi PRP dosis 5 µg/mL, 10 µg/mL dan 15 µg/mL

1.3.2.3. Untuk membedakan proliferasi dan ekspresi Ki67 *wharton jelly umbilical cord* MSC dalam PRP dosis 5 µg/mL, 10 µg/mL dan 15 µg/mL di banding dengan control

1.4. MANFAAT PENELITIAN

1.4.1. Manfaat Teoritis

Untuk mendapatkan data ilmiah yang dapat digunakan sebagai bahan acuan untuk memberikan informasi yang tepat, sekaligus membuktikan bahwa PRP lebih efektif terhadap proliferasi dan ekspresi Ki67 dibandingkan dengan kontrol.

1.4.2. Manfaat Praktis

Dapat bermanfaat dalam pemilihan sumber serum yang baik untuk penelitian ataupun sebagai landasan aplikasi klinis pada manusia misalnya menjadi media kultur sel punca, memperbaiki kolagen kulit.

1.5. ORIGINALITAS PENELITIAN

Nama Peneliti dan Tahun Penelitian	Judul	Metode Penelitian	Hasil Penelitian
Rita Lahirin, 2011	Serum Darah Tali Pusat Manusia Dapat Meningkatkan Proliferasi Fibroblas Pada Tikus (Galur Sel Nih3t3)	Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium, dengan menggunakan rancangan <i>pre</i> dan <i>post test control group design</i> . Dalam penelitian ini dilakukan pemeriksaan pada galur fibroblas	Hasil penelitian ini menyimpulkan bahwa hUCBS meningkatkan proliferasi fibroblas pada tikus (galur sel NIH3T3) lebih banyak dibandingkan FBS secara bermakna dan konsentrasi serum menentukan proliferasi fibroblas yaitu semakin tinggi kosentrasi serum,

	Lebih Banyak Dari Pada Serum Fetus Sapi	NIH3T3 sebagai sampel, yang menjadi 5 (lima) kelompok, masing-masing kelompok berjumlah 9s ediaan, yaitu kelompok kontrol (DMEM), kelompok DMEM + FBS 10%, kelompok DMEM + hUCBS 5%, kelompok DMEM +hUCBS 10%, dan kelompok DMEM + hUCBS 20%.	semakin tinggi proliferasi fibroblas disamping itu terbukti total protein pada hUCBS lebih tinggi dibanding FBS dimana hal ini diduga berhubungan dengan peningkatan proliferasi fibroblas.
Des Suryani, Jeanne A. Pawitan, Jinia Lilianty, Reza Y. Purwoko, Isabella K. Liem, Lia Damayanti, 2013	Comparison of fetal bovine serum and platelet-rich plasma on human lipoaspirate-derived mesenchymal stem cell proliferation	<i>SPL dikultur dalam DMEM 5% PRP, DMEM/10% PRP dan MesenCult®. Sesudah kultur primer menjadi konfluens, sel dipanen menggunakan TrypLE Select, dan ditabur kembali (sekitar 20.000 sel hidup) pada wadah baru, dalam medium yang sama dengan sebelumnya. Pasase dilakukan sampai pasase-5, dengan enam replikasi. Population doubling time (PDT) dari ketiga kelompok dianalisis menggunakan uji Kruskal Wallis.</i>	SPL menunjukkan kecepatan proliferasi yang berbeda saat dikultur dalam DMEM/5% PRP, DMEM/10% PRP dan MesenCult®. PDT ketiga kelompok pada pasase 1-5 menunjukkan perbedaan bermakna ($p < 0,05$), dengan urutan PDT terendah pada kultur dengan medium DMEM/10% PRP.
I Gde Adi Widiastana, Dwikora Novembri Utomo 2013	The Effect Of Platelet Rich Plasma On Mesenchymal Stem Cells (Mscs) Diferentiati	Eksperimental murni dengan rancangan penelitian Rancangan Acak Kelompok (RAK). Darah yang diambil dari kelinci diproses menjadi PRP. MSC yang dikultur	Kelompok yang diberi tambahan 5 % PRP memiliki peningkatan yang signifikan jumlah chondroblast dibandingkan dengan kelompok yang tanpa diberi PRP ($p = 0,033$).

on Chondrobla st	Into dari bone marrow kelinci dibagi menjadi 3 kelompok. Perlakuan pertama, MSC ditambahkan <i>Complete Culture Medium (CCM)</i> ditambah dengan <i>Condrosit Differentiation Medium (CDM)</i> tanpa PRP sebagai kontrol. Perlakuan kedua, MSC ditambahkan CMM+CDM+5% PRP dan pada medium ketiga MSC ditambahkan CMM+CDM+10% PRP. Setelah dilakukan kultur dan penggantian media secara berkala, maka dilakukan <i>harvesting</i> pada hari ke-21.	Hasil yang sama juga terjadi pada kelompok yang diberi tambahan 10 % PRP dibandingkan dengan kelompok tanpa penambahan PRP ($p =$ 0.028) . Tidak ada perbedaan yang signifikan antara keduanta dan jumlah kelompok chondroblast ketiga ($p = 0.203$) .
------------------------	--	---
