

**PENGARUH MEDIA TERKONDISI SEL PUNCA MESENKIMAL
(ADIPOSA DAN *WHARTON'S JELLY*) TERHADAP PENCEGAHAN
PEMBENTUKAN SKAR HIPERTROFI PADA KULIT TIKUS**

TESIS

Disusun untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai gelar
Dokter Spesialis Kulit dan Kelamin



Oleh

Gita Hening Bunga
S201302002

PROGRAM STUDI ILMU KESEHATAN KULIT DAN KELAMIN
PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS I
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS SEBELAS MARET SURAKARTA
2018

LEMBAR PENGESAHAN

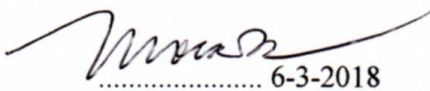
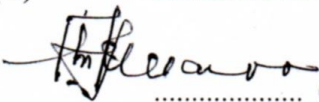
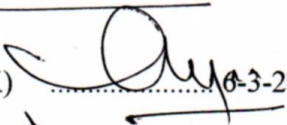

PENGARUH MEDIA TERKONDISI SEL PUNCA MESENKIMAL (ADIPOSA DAN *WHARTON'S JELLY*) TERHADAP PENCEGAHAN PEMBENTUKAN SKAR HIPERTROFIK PADA KULIT TIKUS JANTAN GALUR SWISS

Oleh


Gita Hening Bunga

NIM S201302002

Telah berhasil dipertahankan di hadapan dewan penguji
dan dinyatakan telah memenuhi syarat pada tanggal 6 Maret 2018

Pembimbing/Penguji	Nama	Tanda Tangan	Tanggal
Pembimbing I	DR.Dr.Moerbono Mochtar,SpKK(K) NIP. 19490219 197903 1 002		6-3-2018
Pembimbing II	DR.Dr.Indah Julianto,SpKK(K) NIP. 19480801 197610 2 001		6-3-2018
Penguji I	Prof.Dr.dr.Harijono Kariosentono,SpKK(K) NIP. 19461207 197412 1 001		6-3-2018
Penguji II	Dr.dr. Prasetyadi Mawardi, SpKK NIP. 19611210 199003 1 005		6-3-2018

Ketua Program Studi
Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin
Universitas Sebelas Maret


Prof.DR.Dr. Harijono Kariosentono, SpKK(K)
NIP. 19461207 197412 1 001

PERNYATAAN KEASLIAN DAN PERSYARATAN PUBLIKASI

Saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa:

1. Tesis yang berjudul “Pengaruh Media Terkondisi Sel Punca Mesenkimal (Adiposa dan *Wharton's Jelly*) Terhadap Pencegahan Pembentukan Skar Hipertrofik Pada Kulit Tikus Galur Swiss” ini adalah karya penelitian saya sendiri dan tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan orang lain untuk memperoleh gelar akademik, serta tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali yang tertulis dengan acuan yang disebutkan sumbernya, baik dalam naskah karangan dan daftar pustaka. Apabila ternyata di dalam naskah tesis ini dapat dibuktikan terdapat unsur plagiasi, maka saya bersedia menerima sanksi, baik tesis beserta gelar magister saya dibatalkan serta diproses sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku.
2. Publikasi sebagian atau keseluruhan isi tesis pada jurnal atau forum ilmiah harus menyertakan tim promotor sebagai author dan PPs UNS sebagai institusinya. Apabila saya melakukan pelanggaran dari ketentuan publikasi ini, maka saya bersedia mendapatkan sanksi akademik yang berlaku

Surakarta,.....

Gita Hening Bunga

S201302002

ABSTRAK

Latar Belakang

Penyembuhan luka dapat menyebabkan timbulnya skar hipertrofi. Terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi pembentukan skar tersebut. Media terkondisi sel punca jaringan adiposa (ADSC-CM) dan media terkondisi sel punca jaringan Wharton Jelly (WJSC-CM) mengandung beberapa faktor pertumbuhan yang diperkirakan berperan dalam pencegahan pembentukan skar hipertrofi.

Tujuan

Mengetahui pengaruh injeksi ADSC-CM dan injeksi WJSC-CM terhadap pencegahan pembentukan skar hipertrofi pada kulit tikus

Metode Penelitian

Penelitian eksperimental dengan tikus dilakukan di *Animal House* Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Gajah Mada (FK UGM). Sampel sebanyak 24 tikus dibagi menjadi 4 kelompok yaitu kelompok I diberikan injeksi media *Dulbecco's Modified Eagle Medium* (DMEM) 0,2 ml perilesi, kelompok II diberikan injeksi ADSC-CM 0,2 ml perilesi, kelompok III diberikan injeksi WJSC-CM 0,2 ml perilesi, dan kelompok IV tidak diberi perlakuan. Sebelum injeksi pada punggung tikus dibuat luka dengan biopsi *punch* 1 cm. Pengukuran diameter luka dilakukan pada hari ke 0, 14, 21 dan 28. Pada hari ke 28 dilakukan biopsi ulang pada area bekas luka, dan jaringan dilakukan pemeriksaan histopatologi dengan pewarnaan *hematoxyllin eosin* di Laboratorium Patologi Anatomi FK UGM untuk menilai *Scar Elevation Index* (SEI).

Hasil

Uji *one way analysis of variance* (ANOVA) pengukuran diameter luka hari ke 0 dan 21 tidak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($p > 0.05$). Uji Man Whitney pada hari ke 14 menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antara kelompok I dengan II dan kelompok I dengan III ($p < 0.05$). Hasil serupa juga didapatkan pada uji t hari ke 28. Uji ANOVA dari pengukuran SEI tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan antar kelompok ($p > 0.05$). Dari interpretasi SEI didapatkan pada kelompok I skar hipertrofi yang terbentuk sebanyak 83,33%, kelompok II 66,67%, kelompok III 50% dan kelompok IV 100%. Data tersebut menunjukkan pemberian WJSC-CM menunjukkan prosentase skar hipertrofi yang paling rendah dibanding ADSC-CM, DMEM maupun tanpa perlakuan, meskipun secara statistika tidak signifikan.

Kesimpulan

Injeksi WJSC-CM memiliki potensi lebih besar dalam mencegah pembentukan skar hipertrofi dibandingkan ADSC-CM. Diperkirakan hal tersebut berhubungan dengan kadar bFGF yang lebih tinggi, serta TGF β 1 yang lebih rendah pada media WJSC-CM

Kata kunci: ADSC-CM, skar hipertrofi, scar elevation index, WJSC-CM

ABSTRACT

Introduction

The wound healing process can cause the emergence of hypertrophic scar. There are several factors that influence the formation of the scar. Adipose derived stem cells conditioned medium (ADSC-CM) and Wharton Jelly's stem cell conditioned medium (WJSC-CM) contain several growth factors that are thought to play a role in hypertrophic scar prevention, such as basic fibroblast growth factor (bFGF) and hepatocyte growth factor (HGF)

Objective

Knowing the effect of ADSC-CM injection and WJSC-CM injection on the prevention of hypertrophic scar formation on mice skin.

Research methods

Experimental research with mice was conducted at Animal House of Pharmacology Department Faculty Of Medicine Gajah Mada University. The samples were 24 mice divided into 4 treatment groups, group I was given Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) injection 0.2 ml perilesion, Group II was injected with ADSC-CM 0.2 ml perilesion, Group III given WJSC-CM 0.2 ml of perilesion, and group IV not given any injection. Before the injection is done, the wound is made on the back of the mice with a 1 cm punch biopsy. The measurement of wound diameter was done on day 0, 14, 21 and 28. On the 28th day, re-biopsy was done on the scar area, the tissue taken was histopathology examination with hematoxylin eosin staining in Pathology Anatomy Laboratory of Gajah Mada University to assess the Scar Elevation Index (SEI)

Results

One way analysis of variance (ANOVA) measurement of wound diameter days 0 and 21 shows no significant differences ($p > 0.05$) were found. Whitney Man's test on day 14 showed significance difference ($p < 0.05$) in comparison of group I with II and group I with III. Similar results were also obtained on the 28th day t test. ANOVA assay from SEI measurements showed no significant differences between groups ($P > 0.05$). From the SEI interpretation, it was found that in group I hypertrophic scar formed as much as 83,33%, group II 66,67%, group III 50% and group IV 100%. The data showed that WJSC-CM showed the lowest percentage of hypertrophic scar formation compared to ADSC-CM, DMEM or without treatment, although statistically the difference was not significant.

Conclusion

WJSC-CM injection has a greater potential in preventing the formation of post-wound hypertrophy scarring than ADSC-CM. It is thought to be related to higher bFGF levels, as well as lower TGF β 1 in WJSC-CM media

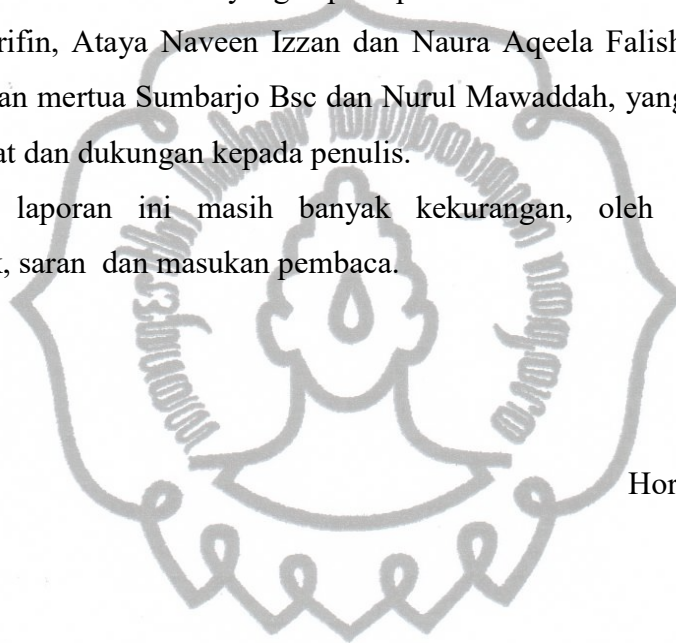
Keywords: *ADSC-CM, hypertrophy scar, scar elevation index, WJSC-CM*

KATA PENGANTAR

Puji syukur kami panjatkan kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis dengan judul ‘Pengaruh Media Terkondisi Sel Punca Mesenkimal (Adiposa dan *Wharton's Jelly*) Terhadap Pencegahan Pembentukan Skar Hipertrofi Pada Kulit Tikus’. Laporan penelitian ini dibuat sebagai tugas akhir dalam menempuh Program Pendidikan Dokter Spesialis Kulit dan Kelamin Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta. Penulis berharap laporan ini dapat memberi kontribusi yang bermanfaat bagi program studi Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin. Atas bantuan bimbingan dari berbagai pihak, peneliti ingin menyampaikan rasa terima kasih kepada:

1. Prof.Dr.dr. Ravik Karsidi, MS selaku Rektor Universitas Sebelas Maret Surakarta.
2. Prof.Dr. dr. Hartono M. Si selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta.
3. Prof.Dr.dr. Harijono Kariosentono, Sp.KK(K) selaku Ketua Program Studi Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta dan juga penguji I yang telah memberikan bimbingan, saran dan masukan dalam penyelesaian tesis
4. dr. Endra Yustin ES, MSc, Sp.KK Msc selaku sekretaris program studi Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta.
5. dr. Nugrohoaji Dharmawan Sp.KK M.Kes. selaku Kepala Bagian Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta.
6. Dr.dr. Moerbono Mochtar Sp.KK(K) selaku pembimbing I yang telah meluangkan waktu, memberikan bimbingan, saran dan masukan dalam penyelesaian tesis.
7. Dr.dr. Indah Julianto Sp.KK(K) sebagai pembimbing II yang telah meluangkan waktu, memberikan bimbingan, saran dan masukan dalam penyelesaian tesis.
8. Dr.dr. Prasetyadi Mawardi, SpKK selaku penguji II yang telah memberikan bimbingan, saran dan masukan dalam penyelesaian tesis.
9. dr. Novan Adi Setyawan, SpPA atas bantuan dan bimbingannya dalam menyelesaikan tesis.
10. Seluruh staf pengajar bagian kulit dan kelamin RSUD Dr. Moewardi Surakarta atas masukan dan saran kepada penulis.
11. Seluruh *supporting* staf bagian kulit dan kelamin RSUD Dr. Moewardi Surakarta.

12. Seluruh staf Laboratorium Dermama Bioteknologi Surakarta, staf Animal House Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Gajah Mada Yogyakarta, dan staf bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Gajah Mada Yogyakarta.
 13. Teman teman PPDS Kulit dan Kelamin atas segala motivasi, semangat dan doa kepada peneliti.
 14. Orangtua tercinta Alm. Drh. Slamet Riyadi Sabrawi, MKes dan Dr.drh. Gesit Tjahyowati, MVSc yang selalu memberikan doa, semangat dan dukungan baik moral maupun material serta kasih sayang kepada penulis.
 15. dr. Ahyar Arifin, Ataya Naveen Izzan dan Naura Aqeela Falisha selaku suami dan anak-anak, dan mertua Sumbarjo Bsc dan Nurul Mawaddah, yang selalu memberikan doa, semangat dan dukungan kepada penulis.
- Penulis menyadari laporan ini masih banyak kekurangan, oleh karena itu penulis mengharapkan kritik, saran dan masukan pembaca.



Hormat kami

Gita Hening Bunga

DAFTAR ISI

Halaman Judul.....	i
Lembar Pengesahan.....	ii
Pernyataan Keaslian dan Persyaratan Publikasi.....	iii
Kata Pengantar.....	iv
Abstrak.....	vi
Daftar Isi.....	viii
Daftar Gambar.....	xi
Daftar Tabel.....	xii
Daftar Grafik.....	xiii
Daftar Lampiran.....	xiv
Daftar Singkatan.....	xv
BAB I Pendahuluan.....	1
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Rumusan Masalah.....	4
C. Tujuan Penelitian.....	4
D. Manfaat Penelitian.....	5
BAB II Tinjauan Pustaka.....	6
A. Kajian Teori.....	6
1. Penyembuhan Luka.....	6
a. Fase Inflamasi.....	6
b. Fase Proliferasi.....	7
c. Fase <i>Remodelling</i>	7
2. Pembentukan Jaringan Parut/Jaringan Skar Hipertrofi	8
a. Hemostasis Terganggu.....	9
b. Inflamasi Berlebihan.....	9
c. Re-epitelisasi Memanjang.....	10
d. Deposisi Matriks Ekstra Seluler.....	10
e. Neovaskularisasi Meningkat.....	11
f. Perubahan Remodelling Matriks Ekstr Seluler.....	11
g. Apoptosis Fibroblas Berkurang.....	11
3. Pengukuran Jaringan Skar Hipertrofi.....	12
4. Sel Punca Jaringan Mesenkim/Mesenchymal Stem Cell (MSC).....	13

5. Media Terkondisi Sel Punca Jaringan Mesenkimal.....	13
a. Media Terkondisi Sel Punca Jaringan Adiposa (ADSC-CM).....	14
b. Media Terkondisi Sel Punca Jaringan Wharton Jelly (WJSC-CM).....	15
6. Peran MSC Terhadap Pencegahan Pembentukan Skar.....	17
a. <i>Basic Fibroblast Growth Factor</i> (bFGF).....	17
b. <i>Hepatocyte Growth Factor</i> (HGF).....	18
7. Peran ADSC-CM Terhadap Pencegahan Pembentukan Skar.....	19
8. Peran WJSC-CM Terhadap Pencegahan Pembentukan Skar.....	20
B. Kerangka Pikir.....	22
C. Hipotesis.....	23
BAB III Metode Penelitian.....	24
A. Tempat dan Waktu Penelitian.....	24
B. Rancangan Penelitian.....	24
C. Populasi dan Sampel.....	24
D. Kriteria Inklusi dan Eksklusi.....	24
E. Definisi Operasional Variabel.....	25
a. Variabel Bebas.....	25
b. Variabel Terikat.....	26
F. Intervensi dan Instrumentasi.....	26
1. Alat Penelitian.....	26
2. Bahan Penelitian.....	27
3. Cara Penelitian.....	27
a. Pembuatan ADSC-CM.....	27
b. Pembuatan WJSC-CM.....	28
c. Pemeriksaan Growth Factor dalam ADSC-CM dan WJSC-CM.....	28
d. Pembagian Kelompok Hewan Uji.....	29
e. Prosedur Pembuatan Luka.....	29
f. Perlakuan Penelitian.....	29
g. Pengukuran Hasil Uji.....	30
h. Pemeriksaan Histopatologi.....	30
G. Kelaikan Etik Penelitian.....	30

H. Alur Penelitian.....	31
I. Analisa Hasil Penelitian.....	32
J. Jadwal Penelitian.....	32
BAB IV. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	33
A. Hasil Penelitian.....	33
B. Pembahasan.....	38
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	43
A. Kesimpulan.....	43
B. Saran.....	44
Daftar Pustaka.....	45
Lampiran	53



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Ethical Clearance.Penelitian	53
Lampiran 2. Surat Pengantar Penelitian.....	54
Lampiran 3. Surat Ijin Penelitian.....	55
Lampiran 4. Hasil Pembacaan Histopatologi.....	56
Lampiran 4. Pengukuran Diameter Luka Hari ke (H) 0, 14, 21, 28.....	60
Lampiran 5. Hasil SPSS.....	61
Lampiran 6. Curriculum Vitae.....	70



DAFTAR TABEL

Tabel 1. Hasil Laporan Identifikasi <i>Growth Factor</i> ADSC-CM dan WJSC-CM oleh Laboratorium Terpadu FKUI.....	30
Tabel 2. Uji Oneway ANOVA Pengukuran SEL.....	37



DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Perbedaan Proses Penyembuhan Luka Normal dengan Pembentukan Skar Berlebihan.....	10
Gambar 2. Metode Pengukuran Scar Elevation Index (SEI).....	13
Gambar 3. Skema Isolasi Sel Punca Adiposa dari Processed Lipoaspirate.....	15
Gambar 4. Sel Punca Mesenkimal dari Jaringan Wharton Jelly.....	16
Gambar 5. Kerangka Pikir.....	23
Gambar 6. Alur Penelitian.....	33
Gambar 7. Pengukuran Diameter Luka Hari ke 0, 14, 21 & 28.....	32
Gambar 8. Gambaran Histopatologi Pengukuran Scar Elevation Index.....	36



DAFTAR GRAFIK

Grafik 1. Pengukuran Diameter Luka Hari ke 0, 14, 21, 28.....35

Grafik 2. Prosentase Skar Hipertrofi dan Skar Eutrofi Masing-Masing Kelompok.....38



DAFTAR SINGKATAN



ADSC	<i>Adipose-derived Stem Cell</i>
ADSC-CM	<i>Adipose-derived Stem Cell Conditioned Medium</i>
bFGF	<i>basic Fibroblast Growth Factor</i>
DMEM	<i>Dulbecco Minimal Essential Medium</i>
ELISA	<i>Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay</i>
EGF	<i>Epidermal Growth Factor</i>
FBS	<i>Fetal Bovine Serum</i>
FGF	<i>Fibroblast Growth Factor</i>
HGF	<i>Hepatocyte Growth Factor</i>
IFN	<i>Interferon</i>
IGF	<i>Insulin-like Growth Factor</i>
IL	<i>Interleukin</i>
KGF	<i>Keratinocyte Growth Factor</i>
MES	<i>Matriks Ekstra Seluler</i>
MMP	<i>Matriks Metaloproteinase</i>
MSC	<i>Mesenchymal Stem Cell</i>
PAI	<i>Plasminogen Activator Inhibitor</i>
PDGF	<i>Platelet Derived Growth Factor</i>
PBS	<i>Phosphat Buffer Saline</i>
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
SEI	<i>Scar Elevation Index</i>
SMAD	<i>Small Mother Against Decopentaplegic</i>
TGF	<i>Transforming Growth Factor</i>
TIMP	<i>Tissue Inhibitor of Matrix Metalloproteinase</i>

TNF	<i>Tumor Necrosis Factor</i>
UCB-MSC	<i>Umbilical Cord Blood-Mesenchymal Stem Cell</i>
VEGF	<i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>
WJSC	<i>Wharton Jelly Stem Cell</i>
WJSC-CM	<i>Wharton Jelly Stem Cell-Conditioned Medium</i>

