

**PENGARUH *ADVANCED ADIPOSE-DERIVED STEM CELL PROTEIN*  
*EXTRACT* TERHADAP PERBAIKAN DEPOSISI KOLAGEN PADA  
KULTUR FIBROBLAS TUA**

**(Penelitian *in vitro*)**

**TESIS**

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



Oleh :

**Erlina Pricilla Sitorus**

S201302001

**PROGRAM STUDI ILMU KESEHATAN KULIT DAN KELAMIN  
PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-1  
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS NEGERI SEBELAS MARET**

**2018**

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kami panjatkan kehadirat Tuhan Yang Maha Esa yang telah memampukan penulis dalam menyelesaikan seluruh rangkaian penyusunan tesis yang berjudul : “**Pengaruh *Advanced Adipose-derived Stem Cell Protein Extract* terhadap Perbaikan Deposisi Kolagen Pada Kultur Fibroblas Tua**” sebagai salah satu persyaratan untuk memperoleh keahlian dalam bidang Pendidikan Dokter Spesialis Kulit dan Kelamin di Departemen Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret.

Tidak ada satupun karya tulis dapat terselesaikan seorang diri tanpa bantuan dari orang lain. Dalam penyelesaian tesis ini, baik ketika penulis melakukan penelitian maupun saat penulis menyusun setiap kata demi kata dalam penyusunan proposal dan hasil penelitian, ada banyak pihak yang Tuhan telah kirimkan untuk membantu, memberikan dorongan dan masukan kepada penulis. Oleh karena itu, pada kesempatan ini, ijinilah penulis menyampaikan rasa terima kasih dan penghargaan setinggi-tingginya kepada :

1. Yang terhormat DR. dr. Indah Julianto, SpKK (K), selaku pembimbing utama penulis juga pembimbing akademis yang dengan penuh kesabaran telah mendidik, banyak membimbing, memberikan saran, semangat, koreksi, waktu dan perhatian kepada penulis selama proses penyusunan tesis ini juga selama penulis menjalani Program Pendidikan Dokter Spesialis Kulit dan Kelamin.
2. Yang terhormat Prof. DR. dr. Harijono Kariosentono, SpKK (K), sebagai Ketua Program Studi Bagian Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta dan juga sebagai pembimbing kedua penulis, yang telah mendidik dan banyak membantu penulis selama menjalani pendidikan, dan dengan penuh kesabaran membimbing, memberikan saran, koreksi, waktu dan perhatian kepada penulis selama penyusunan tesis ini, dan juga selama penulis menjalani Program Pendidikan Dokter Spesialis Kulit dan Kelamin.
3. Yang terhormat DR. dr. Moerbono Mochtar, SpKK (K) dan DR. dr. Prasetyadi Mawardi, SpKK selaku tim penguji tesis ini. Terima kasih penulis haturkan telah meluangkan waktu untuk mengoreksi, memberikan kritik yang membangun, bimbingan ilmu dan motivasi terhadap tesis ini. Dan penulis juga haturkan terima

kasih telah banyak memberikan ilmunya, kritik yang membangun, dukungan dan motivasi selama penulis menjalani stase sesuai subdivisinya dalam Program Pendidikan Dokter Spesialis Kulit dan Kelamin.

4. Yang terhormat DR. dr. Muhammad Arief Tq selaku pembimbing Metodologi Penelitian yang telah banyak membantu penulis dalam mengoreksi dan pengolahan statistik selama proses penyusunan tesis ini.
5. Yang terhormat dr. Brian Wasita, Sp.PA, PhD selaku konsultan Patologi Anatomi yang telah banyak membantu dalam pemeriksaan imunositokimia dan patologi anatomi selama penyusunan tesis ini.
6. Yang terhormat Bapak Rektor Universitas Sebelas Maret Surakarta, Prof. DR. Ravik Kardisi, M.S yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk mengikuti Program Pendidikan Dokter Spesialis Kulit dan Kelamin di Bagian Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta.
7. Yang terhormat Bapak Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta Prof. DR. dr. Hartono, M.Si yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk mengikuti Program Pendidikan Dokter Spesialis Kulit dan Kelamin di Bagian Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta.
8. Yang terhormat Kepala Bagian Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta/RSUD Dr. Moewardi Surakarta, dr. Nugrohoaji Dharmawan, M.Kes, SpKK, yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk mengikuti program pendidikan dokter spesialis di bidang Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta, serta terima kasih untuk bimbingan kepada penulis selama menjalani pendidikan.
9. Yang terhormat Sekretaris Program Studi Bagian Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta, dr. Endra Yustin E. S, M.Sc, SpKK, terima kasih untuk semua bimbingan, motivasi dan kritik yang membangun kepada penulis selama menjalani pendidikan dan terima kasih telah berkenan meluangkan waktu untuk menjadi Moderator untuk tesis ini.

10. Yang terhormat dr. Muh. Eko Irawanto, SpKK, dr. Arie Kusumawardani, SpKK, dr. Nurrachmat Muliato, M.Sc, SpKK, dr. Suci Widhiati, M.Sc, SpKK, dr. Triasari Oktavriana, M.Sc, SpKK, dr. Ammarilis Murastami, SpKK, dan dr. Kusuma Dewi, M.Sc, SpKK selaku pembimbing stase dan konsulen sesuai masing-masing subvisinya, penulis mengucapkan terima kasih banyak atas bimbingan ilmu, motivasi, kritik yang membangun selama menjalani pendidikan.
11. Yang terhormat seluruh staf, supporting staf, perawat bagian Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin dan RSUD Dr. Moewardi Surakarta atas bantuan dan kerjasama yang baik selama ini.
12. Yang tercinta Ayahanda Alm. Galung Sitorus, ST atas segala doa, cinta, kasih sayang, perhatian, motivasi, perjuangan dan pengorbanan dalam membesarkan dan mendidik kami serta semua yang diberikan hingga Papa menutup mata. Keinginan Papa sudah terwujud, dan akan terus melakukan, meraih yang terbaik seperti yang Papa pesankan semasa hidup kepada penulis. Semoga Papa selalu tenang dan senantiasa mendoakan kami semua.
13. Yang tercinta Ibunda Nurbinsa Manurung atas segala doa, cinta, kasih sayang, perhatian, motivasi, perjuangan, pengorbanan serta semangat yang tiada habisnya, menggantikan posisi Papa untuk kami. Terima kasih telah mewujudkan impian penulis dengan segala kerja keras Mama, juga telah mengajarkan kami untuk selalu jadi anak-anak yang mandiri dan terus bekerja keras. Kiranya Tuhan Yesus selalu menjaga, memberikan kesehatan, kebahagiaan dan segala yang terbaik untuk Mama.
14. Yang tercinta Ayahanda mertua Santun Lumban Tobing, SE dan Ibunda mertua Netty Variaty Sinaga, S.Pd atas segala dukungan doa dan motivasinya kepada penulis. Kiranya Tuhan Yesus selalu memberi kesehatan, kebahagiaan dan berkah-NYA.
15. Yang tercinta suamiku dr. Wadhe Omara Soaloon Lumban Tobing, terima kasih untuk cinta, kasih sayang, perhatian, pengorbanan yang senantiasa diberikan. Semangat dan selalu berserah pada Tuhan Yesus dalam penyelesaian tesis dan pendidikan spesialisnya. Kiranya Tuhan Yesus selalu menuntun untuk semua persiapan.

16. Yang terkasih seluruh keluarga besar penulis, terima kasih atas segala doa dan dukungan kepada penulis terutama dalam menyelesaikan pendidikan spesialis.
17. Yang terkasih seluruh teman-teman sejawat dan seperjuangan Program Pendidikan Dokter Spesialis Kulit dan Kelamin, terima kasih yang sebesar-besarnya selama menjalani pendidikan ini telah banyak membantu, saling memotivasi dan mendukung. Kiranya Allah senantiasa memberikan yang terbaik terutama dalam penyelesaian pendidikannya.

Penulis menyadari bahwa tesis ini masih memiliki banyak kekurangan. Oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun demi kesempurnaan tesis ini. Kiranya tesis ini dapat memberikan manfaat bagi kita semua. Pada kesempatan ini, perkenankanlah penulis untuk menyampaikan permohonan maaf yang setulus-tulusnya atas segala kesalahan atau kekhilafan yang telah penulis lakukan selama menjalani masa pendidikan dan selama proses penyusunan tesis.

Dan akhir kata, dengan penuh kerendahan hati, penulis panjatkan doa kepada Tuhan Yang Maha Esa, agar kiranya berkenan untuk memberkati dan melindungi kita semua. Amin.

Surakarta, Januari 2018

Penulis

Erlina Pricilla Sitorus

## ABSTRAK

### **Pendahuluan**

Faktor sekresi dari sel punca telah banyak diteliti karena memiliki manfaat dapat memperbaiki kerusakan jaringan maupun organ, dan dijumpai pada media kultur sel punca sehingga disebut sebagai media terkondisi. *Advanced adipose-derived stem cell protein extract* (AAPE) adalah media terkondisi dari *adipose derived stem cell* (ADSC) mengandung sejumlah *growth factor* yang disekresikan ADSC, memiliki manfaat untuk pengobatan masalah kulit seperti kerutan pada wajah serta perbaikan luka. AAPE dapat merangsang sintesis kolagen dan migrasi sel fibroblas sehingga dapat digunakan untuk memperbaiki kerutan wajah dan merangsang penyembuhan luka.

### **Metode**

Penelitian *in vitro* ini menggunakan sampel kelompok fibroblas yang di kultur dari tali pusat, diperoleh dari seorang pendonor wanita usia 30 tahun dengan riwayat seksio sesaria pertama kali. Ada 3 kelompok subyek penelitian yaitu satu adalah fibroblas normal tanpa paparan UVB sebagai kontrol, dua perlakuan fibroblas dipapar sinar UVB 30 menit dosis 100 mJ/cm<sup>2</sup>, ditambah AAPE dan hanya basal media. Semua kelompok di evaluasi 48 jam dan dilakukan pemeriksaan deposisi kolagen dengan pengecatan imunositokimia antibodi kolagen 1, selanjutnya hasil dibaca menggunakan software *Image-J*.

### **Hasil**

Terdapat perbedaan signifikan pada peningkatan deposisi kolagen antara kelompok kontrol, basal media dan AAPE (+). Peningkatan deposisi kolagen terbukti signifikan pada kelompok fibroblas tua yang diberi penambahan AAPE dibandingkan pada kelompok yang tanpa penambahan AAPE/hanya basal media dan kelompok kontrol, dan didapatkan nilai  $p < 0,001$ .

### **Kesimpulan**

AAPE dapat memperbaiki fungsi fibroblas tua yang ditandai dengan peningkatan deposisi kolagen melalui kultur fibroblas tua.

***Kata kunci : AAPE, deposisi kolagen, fibroblas tua***

## ABSTRACT

### Introduction

The secretory factors of stem cell has been investigated because of their efficacy can repair the tissue damage and organ, also can found in cultured medium of stem cell, and called with conditioned medium. Advanced Adipose- derived Stem Cell Protein Extract (AAPE) is a conditioned medium of adipose derived stem cell (ADSC) contained several growth factors which secreted by their stem cell source. These conditioned medium had benefit for skin problem such as wrinkles and wound repair. AAPE can induce the collagen synthesis in dermis and fibroblast migration so can used to repair the wrinkles and stimulate the wound healing.

### Methods

An *in vitro* study was conducted by using fibroblast sample that from amnion cultured of 30 year old woman who underwent caesarian for the first time and willing to donor. The were 3 study groups, normal fibroblast or without UV exposure as control, second and third are the treatment groups contains each fibroblast that had exposed with UVB light for 30 minutes and  $100 \text{ mJ/cm}^2$  in dose, then divided in two groups that treated with AAPE and only basal media/without AAPE. All groups were evaluated in 48 hours and did assessed the collagen deposition by immunochemistry staining using collagen antibody type 1, then the results were analyzed by *Image-J* software.

### Results

There were significant differences in the increased of collagen deposition between control group and study groups. UVB exposed fibroblast added with AAPE had the greatest amount of collagen deposition than control and only basal media groups, with *p* value 0.001.

### Conclusion

AAPE can repair the senescent fibroblast function by increasing the collagen deposition of senescent fibroblast cultured.

**Key word :** *AAPE, collagen deposition, senescent fibroblast*

**DAFTAR GAMBAR**

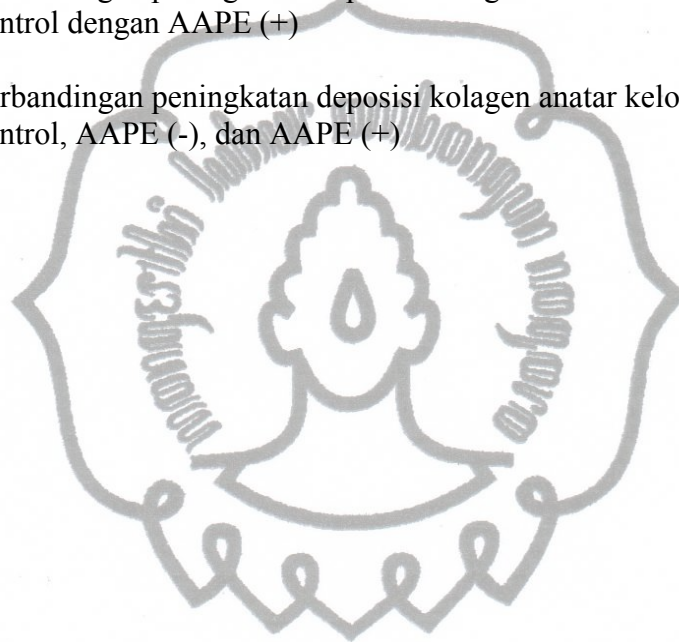
	<b>Halaman</b>
<b>Gambar 1</b> Penampang sel fibroblas .....	13
<b>Gambar 2</b> Gambaran histologi fibroblas dan kolagen dengan pengecatan Hematoksilin-Eosin .....	13
<b>Gambar 3</b> Kerangka teori .....	24
<b>Gambar 4</b> Kerangka berpikir .....	25
<b>Gambar 5</b> Alur penelitian .....	35





**DAFTAR DIAGRAM**

	<b>Halaman</b>
<b>Diagram 1.</b> Perbandingan peningkatan deposisi kolagen antara kelompok kontrol, AAPE (+), AAPE (-)	61
<b>Diagram 2.</b> Perbandingan peningkatan deposisi kolagen antara kelompok kontrol dengan AAPE (-)	61
<b>Diagram 3.</b> Perbandingan peningkatan deposisi kolagen antara kelompok kontrol dengan AAPE (+)	62
<b>Diagram 4.</b> Perbandingan peningkatan deposisi kolagen anatar kelompok kontrol, AAPE (-), dan AAPE (+)	62



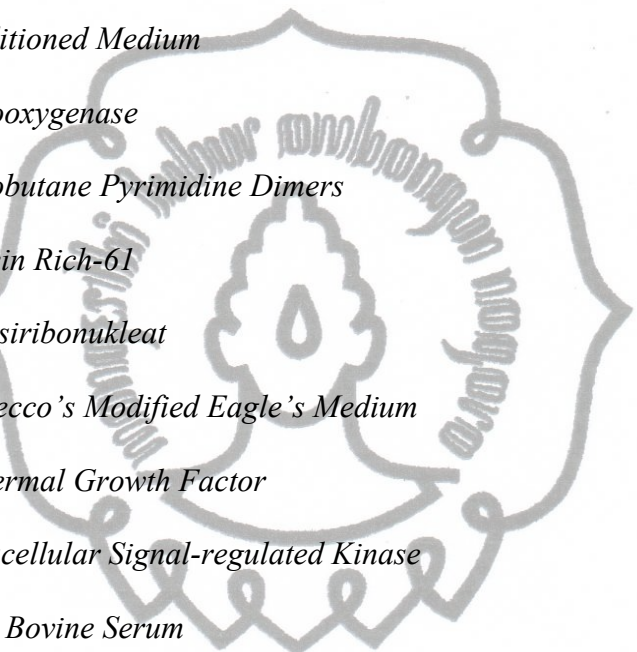
**DAFTAR LAMPIRAN**

<b>LAMPIRAN 1</b>	Foto kelompok penelitian .....	49
<b>LAMPIRAN 2</b>	Data Penelitian Hasil Analisa dengan <i>Image-J</i> .....	51
<b>LAMPIRAN 3</b>	Hasil pengolahan data dengan SPSS.....	53
<b>LAMPIRAN 4</b>	Gambaran deposisi kolagen dengan software <i>Image-J</i> .....	56
<b>LAMPIRAN 5</b>	Diagram Hasil Penelitian .....	61
<b>LAMPIRAN 6</b>	Perlakuan sel fibroblas dalam <i>safety cabinet</i> dengan UVB .	63
<b>LAMPIRAN 7</b>	Bukti Pengajuan Kelaikan Etik .....	64
<b>LAMPIRAN 8</b>	Kelaikan Etik .....	65
<b>LAMPIRAN 9</b>	Permohonan Izin Penelitian .....	66
<b>LAMPIRAN 10</b>	Lembar Informed Consent Pasien .....	67
<b>LAMPIRAN 11</b>	Lembar Identifikasi Kelayakan Sampel .....	71
<b>LAMPIRAN 12</b>	Hasil Pemeriksaan Laboratorium Pasien .....	72
<b>LAMPIRAN 13</b>	Perjanjian Kerjasama Penelitian .....	73
<b>LAMPIRAN 14</b>	Biodata Mahasiswa .....	74

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
Judul .....	i
Lembar Pengesahan .....	ii
Pernyataan Keaslian dan Persyaratan Publikasi .....	iii
Kata Pengantar .....	iv
Abstrak .....	viii
Daftar Isi .....	x
Daftar Singkatan .....	xii
Daftar Gambar .....	xiv
Daftar Diagram .....	xv
Daftar Lampiran .....	xvi
 <b>BAB I PENDAHULUAN</b> .....	 1
A. Latar Belakang .....	1
B. Keaslian Penelitian .....	3
C. Rumusan Masalah .....	5
D. Tujuan Penelitian .....	5
E. Manfaat Penelitian .....	6
 <b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	 7
A. Sel Punca Mesenkimal Lemak .....	7
B. Media Terkondisi Sel Punca Mesenkimal Lemak .....	9
C. Fibroblas Tua .....	12
D. Kolagen .....	15
E. Penuaan Kulit .....	18
F. Efek AAPE terhadap penuaan kulit .....	22
G. Kerangka Teori .....	24
H. Kerangka Berpikir .....	25
I. Hipotesis .....	26

<b>BAB III METODELOGI PENELITIAN</b> .....	27
A. Rancangan Penelitian .....	27
B. Tempat dan Waktu Penelitian .....	27
C. Sampel Penelitian .....	27
D. Kriteria Penelitian .....	27
E. Variabel Penelitian .....	28
F. Alat dan Bahan Penelitian .....	28
G. Definisi Operasional .....	29
H. Prosedur Penelitian .....	30
I. Kelaikan Etik .....	34
J. Alur Penelitian .....	35
<b>BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN</b> .....	36
A. Hasil Penelitian .....	36
B. Pembahasan .....	41
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN</b> .....	43
Daftar Pustaka .....	44
Lampiran 1 .....	49
Lampiran 2 .....	51
Lampiran 3 .....	53
Lampiran 4 .....	56
Lampiran 5 .....	61
Lampiran 6 .....	63
Lampiran 7 .....	64
Lampiran 8 .....	65
Lampiran 9 .....	66
Lampiran 10 .....	67
Lampiran 11 .....	71
Lampiran 12 .....	72
Lampiran 13 .....	73
Lampiran 14 .....	76

**DAFTAR SINGKATAN**

AAPE	: <i>Advanced Adipose-derived stem cell Protein Extract</i>
ADSC	: <i>Adipose-derived stem cell</i>
AP	: <i>Activator protein</i>
ASC	: <i>Adult Stem Cell</i>
CM	: <i>Conditioned Medium</i>
COX	: <i>Cyclooxygenase</i>
CPD	: <i>Cyclobutane Pyrimidine Dimers</i>
CYR61	: <i>Cystein Rich-61</i>
DNA	: <i>Deoksiribonukleat</i>
DMEM	: <i>Dulbecco's Modified Eagle's Medium</i>
EGF	: <i>Epidermal Growth Factor</i>
ERK	: <i>Extracellular Signal-regulated Kinase</i>
FBS	: <i>Fetal Bovine Serum</i>
FGF-2	: <i>Fibroblast Growth Factor-2</i>
GF	: <i>Growth Factor</i>
HE	: <i>Hematoxylline-Eosin</i>
HGF	: <i>Hepatocyte Growth Factor</i>
IGF	: <i>Insulin-like Growth Factor</i>
IL	: <i>Interleukin</i>
JNK	: <i>c-Jun-N-terminal kinase</i>
MAPK	: <i>Mitogen-activated Protein Kinase</i>
MSC	: <i>Mesenchymal stem cell</i>

- MT : *Masson-Trichome*
- NF- $\kappa$  $\beta$  : *Nuclear Factor-  $\kappa$  $\beta$*
- PBS : *Phospat Buffer Saline*
- PDGF : *Platelet-derived growth factor*
- PEGF : *Pigment Epithelium Growth Factor*
- ROS : *Reactive Oxygen Species*
- SVF : *Stromal Vascular Friction*
- TIMP : *Tissue Inhibitor of Metalloproteinase*
- TGF : *Transforming Growth Factor*
- UVB : *Ultraviolet B*
- VEGF : *Vascular Endothelial Growth Factor*

