

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Pada tubuh manusia, tulang dan sendi merupakan bagian yang penting agar manusia dapat bergerak secara normal. Namun dengan bertambahnya usia dan semakin tua umur seseorang maka semakin berkurang juga kemampuan dari tulang dan sendi tersebut untuk bergerak karena kondisi tulang dan sendi yang semakin rapuh. Salah satu penyakit yang dapat menyerang tulang dan sendi adalah osteoarthritis (OA). OA merupakan penyakit sendi kronis yang dapat menyerang sendi secara keseluruhan yang melibatkan kartilago, lapisan sendi, ligamen, dan tulang bagian dalam (1).

Osteoarthritis (OA) merupakan suatu penyakit yang banyak menyebabkan kelumpuhan di negara berkembang. Dunia mengestimasi sekitar 9,6% pria dan 18,0% wanita dengan umur >60 tahun mengalami gejala OA. Sekitar 80% pasien yang mengalami OA mengalami keterbatasan dalam bergerak dan sebesar 25% pasien tidak dapat melakukan aktivitas sehari-hari. Data dari *World Health Organization* (WHO) juga menunjukkan bahwa peringkat OA meningkat sebagai penyebab utama disabilitas dan morbiditas dari peringkat 12 menjadi 6 antara tahun 2002 – 2007. Peningkatan harapan hidup dan populasi yang menua diperkirakan akan menjadikan OA penyebab utama kecacatan keempat pada tahun 2020 (1).

Satu pengobatan terhadap penyakit OA yaitu dengan terapi farmakologi yang merupakan alternatif atau sebagai penunjang terapi-terapi lain, yang terdiri atas obat analgesik dan *Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs* (NSAIDs). Namun terapi ini memberikan efek farmakologi yang tidak cukup efektif serta adanya efek samping berupa kerusakan tulang rawan (2). Dilakukan operasi pengganti sendi untuk penderita dengan OA yang berat dan tidak respons dalam pengobatan terapi (3). Sebagai contoh pada hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Marlina (2017), pada pasien osteoarthritis derajat IV memiliki ketidakseimbangan antara sitokin pro-inflamasi dan sitokin anti-inflamasi yang dapat memicu terjadinya kerusakan kartilago, mengerasnya sinovium, dan fibrosis. Pada kondisi fibrosis, sitokin tersebut dapat memicu terbentuknya jaringan fibrin dan menghambat pergerakan sendi. Hingga saat ini belum ada pengobatan intervensi untuk fibrosis tersebut, tindakan terakhir yaitu prosedur operasi, baik itu operasi sendi lutut maupun penggantian sendi lutut total (4).

Saat ini berbagai jenis sel punca sedang dikembangkan untuk dimanfaatkan sebagai salah satu sumber alternatif terapi sel, terutama pada beberapa penyakit degeneratif. Potensi sel punca mesenkim bersifat multipoten, yaitu dapat berdiferensiasi menjadi beberapa tipe sel, seperti osteosit, kondrosit, adiposit. Sel punca adalah sel generik yang belum terspesialisasi yang dapat memperbanyak diri dan dapat berdiferensiasi menjadi sel yang lebih spesifik pada jaringan yang ada didalam tubuh (5).

Secara garis besar sel punca dapat berasal dari embrio atau dari fetus dan dari jaringan/organ dewasa yang disebut sel punca dewasa/sel mesenkim. Sel punca embrionik merupakan sel pluripoten (mampu berdiferensiasi menjadi berbagai tipe sel) yang sangat prospektif untuk terapi berbasis sel dimasa mendatang. Namun demikian pemanfaatan sel ini masih terkendala karena dalam UU No. 36 tahun 2009 tentang kesehatan, penggunaan sel punca embrionik tidak diizinkan terkait isu etika karena berasal dari embrio yang merupakan hasil fertilisasi sel telur oleh spermatozoa (6), sehingga jenis *Mesenchymal Stem Cells* (MSC) yang merupakan sel punca dewasalah yang paling banyak diteliti sebagai dasar terapi untuk manusia, salah satunya untuk terapi osteoarthritis (OA). MSC bersifat multipoten, dimana sel ini dapat berubah menjadi lebih dari 1 tipe sel berbeda, namun tidak semua tipe sel. MSC dapat membuat tipe-tipe sel yang dapat ditemukan pada jaringan kerangka, contohnya otot, tulang, lemak, dan kartilago. MSC biasanya diambil dari sumsum tulang atau jaringan lemak seseorang, atau juga dapat diisolasi dari tali pusar (7). Sumber sel punca terbaik adalah yang berasal dari lokasi terdekat dengan target terapi. Pada penyakit OA lutut, tentunya jaringan sinovium adalah salah satu sumber sel punca terbaik.

Sel punca menyediakan lingkungan mikro dengan berbagai faktor pertumbuhan, sitokin, dan kemokin yang secara luas dapat didefinisikan sebagai sekretom sel punca. Pada kondisi *in vitro*, molekul-molekul ini dapat ditelusuri dari medium terkondisi atau disebut juga *Conditioned Medium* (CM) dari kultur sel. CM pada saat ini dapat dijadikan sebagai bahan pengobatan alternatif pada penyakit regeneratif dan telah berhasil diaplikasikan pada beberapa penyakit (8). Salah satu faktor pertumbuhan yang dapat membantu sel MSC berdeferensiasi yaitu *Insulin-like Growth Factor-1* (IGF-1) (9). *Insulin-like growth factor 1* (IGF-1) terdiri atas 70 polipeptida asam amino tunggal yang memiliki kemiripan 50% dengan insulin (10). IGF-1 memiliki efek besar pada resorpsi tulang dan anabolisme tulang, dimana pemberiannya memberikan efek positif pada penyakit osteoarthritis dan untuk penyembuhan patah tulang (11). Sehingga penelitian terdahulu selalu menggunakan *growth factor* dalam mengembangkan terapi sel punca mesenkim terhadap subjek penyakit.

Pada penyakit Osteoarthritis (OA) terjadi degradasi terhadap *Extracelullar Matrix* (ECM) yang terdiri atas sejumlah molekul seperti kolagen, agrekan, dan protein non-kolagen yang berguna dalam membantu menjaga kondisi tulang rawan agar tetap sehat oleh enzim *Matrix Metalloproteinase* (MMP) khususnya MMP13 yang memiliki peran penting dalam destruksi kartilago karena merupakan penentu kecepatan degradasi kolagen dalam ECM (12). *Matrix metalloproteinase 13* (MMP13) adalah enzim utama yang mendegradasi tulang rawan. Dibandingkan dengan MMP lain, ekspresi MMP13 lebih terbatas pada jaringan ikat saja (13). Kondisi ini dapat memicu pelepasan bermacam marker pro-inflamasi, salah satunya yaitu RANTES (*Regulated Upon Activation, Normal T-Cell Expressed, And Secreted*) atau disebut juga CCL5 yang merupakan sitokin jenis kemokin, dimana RANTES dapat mengaktifkan fungsi kondrosit yang berhubungan dengan peradangan sendi karena bersifat kemotaksis (14).

Berdasarkan penjabaran diatas peneliti tertarik untuk meneliti pengaruh dari *Conditioned Medium* (CM) yang diinduksi *Insulin-like Growth Factor-1* sebagai terapi yang berpotensi digunakan pada pasien penderita osteoarthritis dengan mengamati efektivitas CM dari SMMSC yang diinduksi IGF-1 terhadap matriks degradasi (MMP13) dan marker pro-inflamasi (RANTES) pada OA menggunakan metode ELISA.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dijabarkan, maka terdapat rumusan masalah dari penelitian ini, yaitu:

1. Apakah pemberian *Conditioned Medium Synovial Membrane Mesenchymal Stem Cell* (CM-SMMSC) yang diinduksi IGF-1 efektif terhadap matriks degradasi (MMP13) pada sel model OA?
2. Apakah pemberian *Conditioned Medium Synovial Membrane Mesenchymal Stem Cell* (CM-SMMSC) yang diinduksi IGF-1 efektif terhadap protein pro-inflamasi (RANTES) pada sel model OA?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan pada rumusan masalah diatas maka tujuan dari penelitian ini yaitu:

1. Mengetahui pengaruh pemberian CM-SMMSC+IGF-1 terhadap matriks degradasi (MMP13) pada sel model OA.
2. Mengetahui pengaruh pemberian CM-SMMSC+IGF-1 terhadap protein pro-inflamasi (RANTES) pada sel model OA.





**UJI *CONDITIONED MEDIUM* SYNOVIAL MEMBRANE
MESENCHYMAL STEM CELL (CM-SMMSC) DAN IGF-1
TERHADAP PENYAKIT OSTEOARTRITIS
SKRIPSI SARJANA FARMASI**

Oleh

SYARIFAH FADHLIRA HADDELINE

No. BP: 1511014016



PERNYATAAN ORISINILITAS DAN PENYERAHAN HAK CIPTA

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Syarifah Fadhlira Haddeline

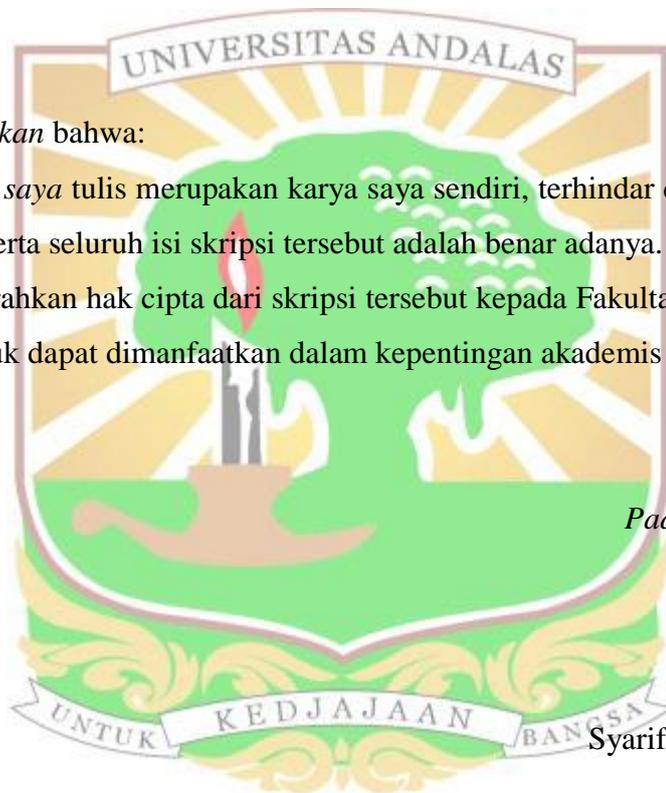
No. BP : 1511014016

Judul Skripsi : Uji *Conditioned Medium Synovial Membrane Mesenchymal Stem Cell* (CM-SMMS) dan IGF-1 Terhadap Penyakit Osteoarthritis

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. *Skripsi yang saya tulis merupakan karya saya sendiri, terhindar dari unsur plagiarisme dan data beserta seluruh isi skripsi tersebut adalah benar adanya.*
2. *Saya menyerahkan hak cipta dari skripsi tersebut kepada Fakultas Farmasi Universitas Andalas untuk dapat dimanfaatkan dalam kepentingan akademis*

Padang, 23 Januari 2020



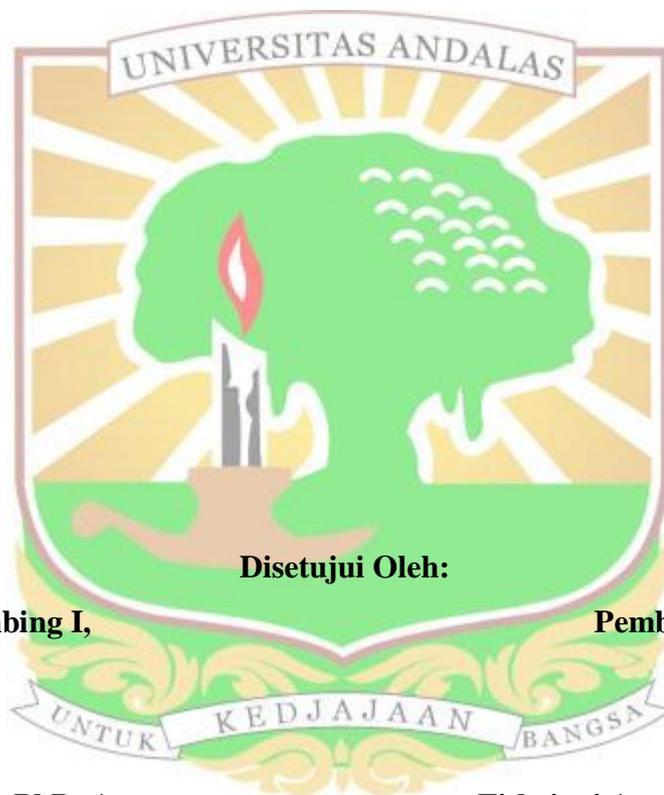
Syarifah Fadhlira Haddeline

Skripsi ini Diajukan sebagai Salah Satu Syarat untuk Menempuh Ujian Sarjana

Farmasi pada Fakultas Farmasi

Universitas Andalas

Padang



Disetujui Oleh:

Pembimbing I,

Pembimbing II,

Prof. Marlina, PhD, Apt.
NIP. 19620311 198901 2001

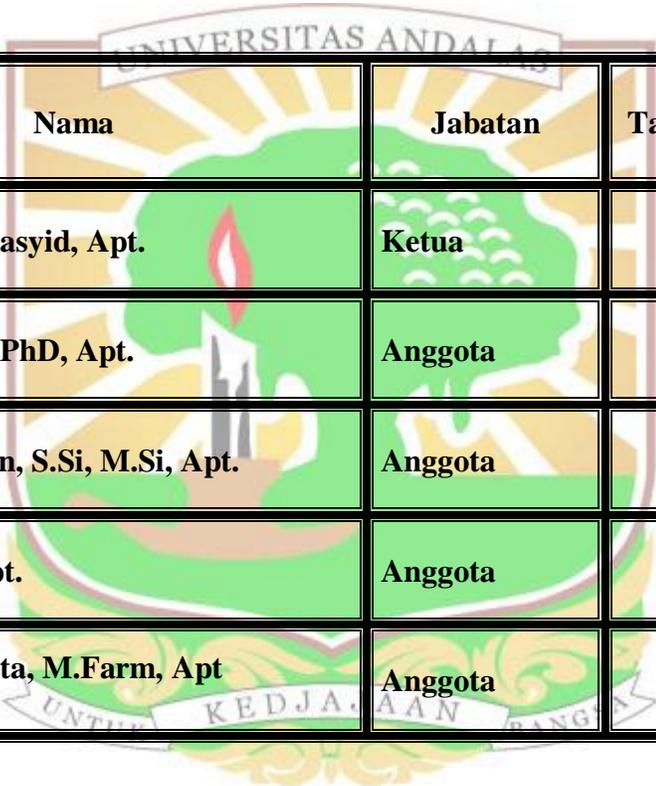
Fithriani Armin, S.Si, M.Si, Apt.
NIP. 19761114 200604 2 002

Skripsi Ini Telah Dipertahankan Pada Seminar Hasil Penelitian

Fakultas Farmasi Universitas Andalas

Padang

Pada Tanggal : 23 Januari 2020



No	Nama	Jabatan	Tanda Tangan
1	Dr. Roslinda Rasyid, Apt.	Ketua	
2	Prof. Marlina, PhD, Apt.	Anggota	
3	Fithriani Armin, S.Si, M.Si, Apt.	Anggota	
4	Dr. Rustini, Apt.	Anggota	
5	Dian Ayu Juwita, M.Farm, Apt	Anggota	

**UJI *CONDITIONED MEDIUM* SYNOVIAL MEMBRANE MESENCHYMAL
STEM CELL (CM-SMMSC) DAN IGF-1 TERHADAP PENYAKIT
OSTEOARTRITIS**

ABSTRAK

Osteoarthritis (OA) merupakan penyakit yang banyak menyebabkan kelumpuhan di negara berkembang termasuk di Indonesia. Sel punca mesenkimal/Mesenchymal Stem Cell (MSC) adalah sel somatik yang mampu berdiferensiasi dan berkontribusi pada regenerasi jaringan mesenkimal seperti tulang, kartilago, otot, ligamen, tendon, dan adiposa. Jaringan sinovium merupakan salah satu sumber sel punca mesenkimal terbaik untuk terapi OA karena dekat dengan target terapi yaitu bagian sendi. Medium terkondisi/*Conditioned Medium* (CM) merupakan media pertumbuhan sel yang dikoleksi saat pergantian medium sel, CM mengandung sekretom sel yang dibutuhkan untuk terapi OA. Penelitian ini bertujuan untuk melihat kemampuan CM dari MSC yang diambil dari membran sinovial dengan penambahan IGF-1 (15% dan 30%) dalam menurunkan konsentrasi protein degradasi dan pro-inflamasi yang terdapat pada model OA (sel CHON002 yang diinduksi IL1 β). CM dan sel CHON002 dikoleksi dari kultur sel dan dibuat menjadi 6 sampel berbeda (CHON002, IL1 β -CHON002, IL1 β -CHON002 + CM-SMMSC 15%, IL1 β -CHON002 + CM-SMMSC 30%, IL1 β -CHON002 + CM-(IGF1-SMMSC) 15%, IL1 β -CHON002 + CM-(IGF1-SMMSC) 30%). Sampel diuji menggunakan ELISA *kits* RANTES dan MMP13. Hasil ELISA dibaca dengan spektrofotometer *UV-Vis* dan data diolah menggunakan kurva kalibrasi. Hasil uji didapatkan bahwa CM dengan IGF-1 30% mampu menurunkan konsentrasi protein degradasi MMP13 dari konsentrasi model OA sebesar 12,80 ng/ml menjadi 8,06 ng/ml. Sedangkan CM dengan IGF-1 15% mampu menurunkan konsentrasi protein pro-inflamasi (RANTES) dari konsentrasi model OA sebesar 390,53 pg/ml menjadi 156,14 pg/ml. Dari penelitian ini disimpulkan bahwa CM dari MSC membran sinovial yang diinduksi IGF-1 efektif dalam menurunkan konsentrasi protein degradasi MMP13 dan protein pro-inflamasi RANTES penyebab inflamasi pada OA.

Kata kunci : Osteoarthritis, *Synovial Membrane Mesenchymal Stem Cell* (SMMSC), *Conditioned Medium*, MMP13, RANTES, ELISA

THE STUDY OF CONDITIONED MEDIUM OF SYNOVIAL MEMBRANE MESENCHYMAL STEM CELL (CM-SMMSC) AND IGF-1 ON OSTEOARTHRITIS DISEASE

ABSTRACT

Osteoarthritis (OA) is a disease that often causes paralysis in developing countries, including in Indonesia. Mesenchymal Stem Cells (MSC) are somatic cells that are able to differentiate and contribute to the regeneration of mesenchymal tissue such as bone, cartilage, muscle, ligament, tendon, and adipose. Synovial tissue is one of the best sources of mesenchyme stem cells for OA therapy because it is close to the therapeutic target, which is the joint. Conditioned medium (CM) is a cell growth medium that is collected at the change of cell medium, CM contains cell secretions needed for OA therapy. This study aims to look at the ability of CM from MSC taken from the synovial membrane with the addition of IGF-1 (15% and 30%) in reducing the concentration of degradation and pro-inflammatory proteins found in the OA model (CHON002 cells induced by IL1 β). CM and CHON002 cells were collected from cell culture and made into 6 different samples (CHON002, IL1 β -CHON002, IL1 β -CHON002 + CM-SMMSC 15%, IL1 β -CHON002 + CM-SMMSC 30%, IL1 β -CHON002 + CM-(IGF1-15% SMMSC) 15%, IL1 β -CHON002 + CM-(IGF1-SMMSC) 30%). Samples were tested using ELISA kits RANTES and MMP13. ELISA results were read by UV-Vis spectrophotometer and then the data was processed using calibration curve. The test results showed that CM with IGF-1 30% was able to reduce the concentration of MMP13 degradation protein from the OA model concentration of 12.80 ng / ml to 8.06 ng / ml. CM with 15% IGF-1 was able to reduce the concentration of pro-inflammatory proteins (RANTES) from the OA model concentration of 390.53 pg / ml to 156.14 pg / ml. From this study it was concluded that CM of MSC from synovial membrane induced with IGF-1 was effective in reducing the concentration of MMP13 degradation protein and RANTES pro-inflammatory protein that causes inflammation in OA.

Keywords : Osteoarthritis (OA), Synovial Membrane Mesenchymal Stem Cell (SMMSC), Conditioned Medium, MMP13, RANTES, ELISA