

**HASIL PENELITIAN**

**KARAKTERISASI *PHENOTYPE* SEL PUNCA BERDASARKAN  
EKSPRESI *P63*, *CD105*, DAN *OCT4* PADA KULTUR SEL PUNCA *NICHE*  
LIMBUS  
(*STUDY IN VITRO*)**



Oleh:

**MUHAMMAD VALERI AL-HAKIIM**

**DEPARTEMEN / SMF ILMU KESEHATAN MATA  
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA -  
RSU Dr. SOETOMO  
SURABAYA  
2015**

**HASIL PENELITIAN**

**KARAKTERISASI *PHENOTYPE* SEL PUNCA BERDASARKAN  
EKSPRESI *P63*, *CD105*, DAN *OCT4* PADA KULTUR SEL PUNCA *NICHE*  
LIMBUS  
(*STUDY IN VITRO*)**

Oleh:

**MUHAMMAD VALERI AL-HAKIIM**

**DEPARTEMEN / SMF ILMU KESEHATAN MATA  
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA -  
RSU Dr. SOETOMO  
SURABAYA  
2015**

**KARAKTERISASI *PHENOTYPE* SEL PUNCA BERDASARKAN  
EKSPRESI *P63*, *CD105*, DAN *OCT4* PADA KULTUR SEL PUNCA *NICHE*  
LIMBUS  
(*STUDY IN VITRO*)**

**LAPORAN PENELITIAN**

**Diajukan sebagai syarat untuk memperoleh gelar Spesialis Mata (SpM)  
Program Studi Ilmu Kesehatan Mata  
Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga**

Oleh:

**MUHAMMAD VALERI AL-HAKIIM**

**DEPARTEMEN / SMF ILMU KESEHATAN MATA  
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA -  
RSU Dr. SOETOMO  
SURABAYA  
2015**

**LEMBAR PENGESAHAN**

Mengesahkan laporan hasil penelitian yang berjudul :  
**KARAKTERISASI *PHENOTYPE* SEL PUNCA BERDASARKAN  
EKSPRESI *P63, CD105, DAN OCT4* PADA KULTUR SEL PUNCA *NICHE*  
LIMBUS  
(*STUDY IN VITRO*)**

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Spesialis Mata (SpM)

Program Studi Ilmu Kesehatan Mata  
Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga

Hasil Penelitian ini telah disetujui

9 Januari 2015

**Pembimbing I**

**Pembimbing II**

**Evelyn Komaratih, dr., SpM (K)**  
NIP. 19680110 199703 2 003

**Prof. Dr. Fedik A. Rantam, drh**  
NIP. 1959100 319870 1 001

**Konsultan Statistik**

**Dr. Hari Basuki Notobroto., dr., M.Kes**  
NIP. 19650625 199203 1 002

**Mengetahui,  
Koordinator Program Studi PPDS Ilmu Kesehatan Mata**

**Evelyn Komaratih, dr., SpM (K)**  
NIP. 19680110 199703 2 003

## **PERNYATAAN TENTANG ORISINALITAS**

Yang bertanda tangan di bawah ini, saya:

Nama : Muhammad Valeri Al-Hakiim

NIM : 010980133

Program Studi : Ilmu Kesehatan Mata

Angkatan : 2010

Jenjang : PPDS-I

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan kegiatan plagiat dalam penulisan hasil penelitian saya berjudul:

**KARAKTERISASI *PHENOTYPE* SEL PUNCA BERDASARKAN  
EKSPRESI *P63, CD105, DAN OCT4* PADA KULTUR SEL PUNCA  
*NICHE LIMBUS*  
(*STUDY IN VITRO*)**

Apabila suatu saat nanti terbukti saya melakukan tindakan plagiat, maka saya akan menerima sanksi yang telah ditetapkan.

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sebenar - benarnya.

Surabaya, 9 Januari 2015

(Muhammad Valeri Al-Hakiim)

## UCAPAN TERIMA KASIH

Dengan telah diselesaikannya hasil penelitian ini, maka kami mengucapkan terimakasih kepada yang terhormat:

1. **Evelyn Komaratih,dr.,SpM(K)** sebagai pembimbing yang telah banyak memberikan bimbingan, arahan, semangat, dan bahan kepustakaan yang sangat bermanfaat untuk penyusunan hasil penelitian ini dan juga sebagai Koordinator Program Studi Departemen Ilmu Kesehatan Mata Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / RSUD Dr. Soetomo Surabaya yang telah menjadwalkan pementasan hasil penelitian ini
2. **Prof Fedik A. Rantam, drh, M.Kes, PhD** sebagai pembimbing yang telah banyak memberikan bimbingan, arahan yang sangat bermanfaat untuk penyusunan hasil penelitian ini.
3. **Dr. Hari Basuki Notobroto, dr, M.Kes** sebagai konsultan penelitian dan statistika yang banyak memberikan bimbingan dan arahan dalam penyelesaian hasil penelitian ini.
4. **Eddyanto,dr.,SpM(K)** sebagai koordinator penelitian yang telah memberikan dorongan, bimbingan, dan saran dalam penyelesaian usulan penelitian ini.
5. **Djiwatmo, dr., SpM (K)**, sebagai Kepala Departemen Ilmu Kesehatan Mata FK UNAIR/RSU Dr. Soetomo Surabaya yang telah memberikan kesempatan ditampilkannya hasil penelitian ini
6. **Helen S.KM** di *Institute of Tropical Disease* Universitas Airlangga yang banyak membantu dalam memberi informasi tentang hewan coba.
7. **Eryk Hendrianto S.Si** di laboratorium kandang hewan coba *Institute of Tropical Disease* Universitas Airlangga yang banyak membantu dalam memberi informasi tentang hewan coba.
8. **Deya Karsari, drh M.Si** di *Institute of Tropical Disease* Universitas Airlangga yang banyak membantu dalam memberi informasi tentang hewan coba.
9. **Seluruh Guru Besar dan Staf Pengajar** Departemen Ilmu Kesehatan Mata FK UNAIR/RSU Dr. Soetomo Surabaya yang telah memberikan bantuan, motivasi dan saran dalam penyusunan hasil penelitian ini.
10. **Indra Ihsan U, dr., Fardian Yedasukma, dr., M. Zidny Fahmi, dr. Dyah Kusuma Arnovita, dr.** yang telah membantu jalannya penelitian ini
11. **Para teman sejawat PPDS I** Departemen Ilmu Kesehatan Mata FK UNAIR/RSU Dr. Soetomo Surabaya yang telah memberikan bantuan, semangat dan dorongan dalam penyusunan hasil penelitian ini.
12. **Bapak/Ibu moderator dan sekretaris sidang** yang telah memimpin dan membantu jalannya pementasan hasil penelitian ini.
13. **Tim audio visual** yang telah membantu kelancaran pementasan hasil penelitian

## RINGKASAN

### KARAKTERISASI *PHENOTYPE* SEL PUNCA BERDASARKAN EKSPRESI *P63*, *CD105*, DAN *OCT4* PADA KULTUR SEL PUNCA *NICHE* LIMBUS (*STUDY IN VITRO*)

Muhammad Valeri Al-Hakiim, Evelyn Komaratih, Fedik A. Rantam

Sel punca limbus sampai saat ini adalah salah satu terapi yang dapat digunakan pada kelainan kornea karena adanya defisiensi sel punca limbus. Terjadinya suatu kerusakan pada permukaan bola mata yang meliputi kornea sampai konjungtiva merupakan salah satu penyebab perubahan pada tajam penglihatan mata, bahkan dapat menyebabkan kebutaan. Bila kerusakan yang terjadi pada kornea menjadi luas sehingga mengenai limbus, dapat menyebabkan terjadinya defisiensi sel punca limbus. Untuk dapat digolongkan sebagai sel punca, suatu sel harus memiliki sejumlah karakteristik, yang antara lain: belum berdiferensiasi ( *undifferentiated* ), mampu memperbanyak diri sendiri ( *self renewal* ), dan dapat berdiferensiasi menjadi lebih dari satu jenis sel atau yang disebut ( *multipoten/pluripoten* ).

Sel punca biasanya membatasi terhadap *niche*, yaitu suatu lokasi yang spesifik pada suatu organ dimana di dukung oleh lingkungan mikro dan mempertahankan sel punca dan mampu memberi perlindungan. meskipun begitu sel punca yang terdapat pada *niche* diketahui berada di limbus, dimana terkait dengan kurangnya penanda spesifik pasti dari sel punca *niche* limbus.

Penelitian terdahulu telah membuktikan bahwa sel punca limbus dapat dibedakan dengan sel punca epitel kornea, yaitu meliputi penanda seperti *p63*. *p63* merupakan salah satu penanda putatif dari defisiensi sel punca limbus. Tujuan penelitian ini adalah untuk membuktikan karakterisasi dari penanda *p63* dengan melihat sifat sel tersebut pluripoten atau multipoten pada beberapa *passage* yang berbeda, dengan mencoba membandingkan karakterisasi tersebut dengan penanda yang lain yaitu *CD105* sebagai salah satu penanda penting dari sel mesenkimal, dan *Oct4* sebagai salah satu penanda penting dari sel embrional.

Dilakukan kultur sel punca mesenkimal yang dieksplor dari limbus kelinci putih New Zealand. Sel punca yang telah dikultur ditanamkan pada *disc glass*, dan difiksasi pada *early passage*, yaitu pada *passage 4* dan *late passage* yaitu *passage 8*. Pada hari ke 4 dilakukan pewarnaan imunositokimia dan pemeriksaan ekspresi *p63*, *CD105*, dan *Oct4* menggunakan mikroskop fluoresein Olympus, dan dilakukan juga pada hari ke 12 yaitu pada *passage 8*.

Uji statistik pengamatan sel punca limbus dengan ekspresi *p63* didapatkan terdapat perbedaan jumlah sel pada *early passage* dan *late passage*, yang berarti sel punca lebih ke arah sifat multipoten dibanding pluripoten yang sesuai dengan sifat sel mesenkimal. Sedangkan *CD105* yang merupakan penanda Mesenkimal didapatkan jumlah yang banyak di *early passage* dibanding *late passage*, lebih ke sifat multipoten. Begitu juga dengan *Oct4* merupakan penanda embryonal didapatkan sel punca yang terekspresi pada *early passage* daripada *late passage* yang menunjukkan sifat pluripoten.

## SUMMARY

### **CHARACTERIZATION PHENOTYPE OF STEM CELLS WITH EXPRESSION OF P63, CD105, OCT4 AND STEM CELLS IN CULTURE NICHE LIMBAL (STUDY IN VITRO)**

Muhammad Al-Hakiim Valeri, Evelyn Komaratih, Fedik A. Rantam

Limbus stem cells to date is one of the therapies that can be used in corneal abnormalities due to the limbus stem cell deficiency. Occurrence of damage to the surface of the eyeball that covers the cornea until the conjunctiva is one of the causes of changes in visual acuity eye, can even lead to blindness. If damage to the corneal limbus be extensive so on, can cause the limbus stem cell deficiency. To be classified as a stem cell, a cell must have a number of characteristics, which include: undifferentiated (undifferentiated), is able to reproduce themselves (self-renewal), and can differentiate into more than one type of cell or the so-called (multipotent / pluripotent) .

Stem cells usually limit to the niche, which is a specific location on an organ which is supported by the microenvironment and maintain stem cells and is able to provide protection. despite that stem cells contained in the niche known to be in the limbus, where related to the lack of specific markers of stem cell niche definitely limbus.

Past research has shown that stem cells can be differentiated limbus with corneal epithelial stem cells, which includes markers such as p63. p63 is a putative marker of limbus stem cell deficiency. The purpose of this study is to prove the characterization of p63 pendanda by looking at the nature of the pluripotent cells or multipotent on several different passage, to try to compare the characterization with other markers, namely CD105 as one of the important markers of mesenchymal cells, and Oct4 as a marker importance of embryonic cells.

Do mesenchymal stem cell culture are explored from the limbus New Zealand white rabbits. Stem cells that have been cultured disc embedded in glass, and fixed at early passage, namely the passage 4 and late passage that passage 8, On day 4 immunocytochemistry staining and examination of the expression of p63, CD105, and Oct4 using fluorescein microscope Olympus, and performed also on day 12 is the passage 8.

Statistical test observations limbus stem cells with p63 expression obtained are differences in the number of cells at early passage and late passage, which means the stem cells more towards multipotent nature than in accordance with the nature of pluripotent mesenchymal cells. While CD105 which is a marker of Mesenchymal obtained significant amounts in early passage than late passage, more to the nature of multipotent. Likewise with a marker Oct4 embryonal stem cells obtained were expressed in early rather than late passage passage that indicates the nature of pluripotent