

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
PRASYARAT GELAR.....	ii
LEMBAR PENGESAHAN .....	iii
PERNYATAAN PENELITIAN KARYA AKHIR .....	iv
PENYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS .....	v
KATA PENGANTAR .....	vi
ABSTRAK .....	ix
<i>ABSTRACT</i> .....	x
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR GAMBAR .....	xiv
DAFTAR TABEL.....	xvi
DAFTAR SINGKATAN .....	xvii
BAB 1 PENDAHULUAN .....	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	3
1.3. Tujuan Penelitian.....	3
1.3.1. Tujuan Umum.....	3
1.3.2. Tujuan Khusus .....	3
1.4. Manfaat Penelitian.....	4
1.4.1. Manfaat Teoritis .....	4
1.4.2. Manfaat Praktis.....	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA .....	5
2.1. Sel Punca ( <i>Stem Cells</i> ).....	5
2.1.1. Sel Punca dalam Bidang Kardiovaskular .....	7
2.1.2. Sel Punca Hematopoietik CD34+ .....	9
2.2. Pemrograman Ulang Epigenetik .....	11
2.3. Pemrograman Ulang Langsung .....	13
2.4. Pemrograman Ulang dengan <i>Micro RNA (miRNA)</i> .....	16
2.5. <i>Micro RNA (miRNA)</i> .....	17

2.5.1. <i>Micro RNA-1 (miRNA-1)</i> .....	20
2.5.2. Hubungan <i>Micro RNA-1 (miRNA-1)</i> dengan Faktor Transkripsi <i>Histone Diactylase (HDAC4)</i> .....	23
2.6. Medium Diferensiasi Kardiomyosit .....	25
2.7. Efisiensi Sel CD34+ menjadi Kardiomyosit .....	26
<b>BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS</b> .....	<b>28</b>
3.1. Kerangka Konseptual.....	28
3.2. Penjelasan Kerangka Konseptual .....	29
3.3. Hipotesis Penelitian .....	30
<b>BAB 4 METODE PENELITIAN</b> .....	<b>31</b>
4.1. Rancangan Penelitian.....	31
4.2. Waktu dan Tempat Penelitian.....	32
4.3. Sampel Penelitian .....	32
4.4. Besar Sampel .....	32
4.5. Variabel Penelitian.....	32
4.5.1. Variabel Bebas.....	32
4.5.2. Variabel Eksperimental .....	32
4.5.3. Variabel Perantara .....	32
4.5.4. Variabel Tergantung .....	32
4.6. Definisi Operasional .....	33
4.7. Instrumen dan Bahan Penelitian .....	35
4.7.1. Instrumen Penelitian .....	35
4.7.2. Bahan Penelitian .....	35
4.8. Prosedur Penelitian .....	36
4.8.1. Pengumpulan Sampel .....	36
4.8.2. Isolasi Sel CD34+ dengan Teknik Magnetic Beads .....	36
4.8.3. Ekspansi Sel CD34+ .....	38
4.8.4. Medium Diferensiasi Kardiomyosit .....	38
4.8.5. Memasukkan miRNA-1 ke Sel CD34+ dengan Gymnosis .....	39
4.8.6. Pengukuran Perubahan Intra Seluler .....	40
4.8.7. Identifikasi Kardiomyosit dengan Cardiac Troponin (cTn) .....	43
4.9. Pengumpulan, Pengolahan dan Analisis Data .....	43

4.9.1. Pengumpulan Data.....	43
4.9.2. Pengolahan Data .....	44
4.9.3. Analisis Data.....	44
4.10. Kelaikan Etik .....	44
4.11. Alur Penelitian.....	45
<b>BAB 5 HASIL PENELITIAN .....</b>	<b>46</b>
5.1 Isolasi, Identifikasi, Kultur dan Ekspansi Sel CD34+ .....	46
5.2 Transfeksi Mikro RNA-1.....	49
5.3 Validasi Pemeriksaan RT-qPCR .....	50
5.3.1 Validasi Pemeriksaan RT-qPCR sel CD34+ .....	50
5.3.2 Validasi Pemeriksaan RT-qPCR gen $\beta$ -actin.....	51
5.4 Hasil Pemeriksaan RT-qPCR Gen HDAC4 Sel CD34+ .....	53
5.5 Hasil Analisis Ekspresi <i>Cardiac</i> Troponin.....	54
5.6 Efisiensi Pemrograman Langsung Sel CD34+ menjadi Kardiomyosit .....	56
<b>BAB 6 PEMBAHASAN .....</b>	<b>58</b>
6.1 Isolasi Sel CD34+ .....	58
6.2 Transfeksi miRNA-1 pada Sel CD34+ .....	59
6.3 Pengaruh Transfeksi miRNA-1 pada Ekspresi Gen HDAC4.....	61
6.4 Hubungan Ekspresi Gen HDAC4 dengan Ekspresi <i>Cardiac</i> Troponin .....	62
6.5 Efisiensi Perograman Langsung Sel CD34+ menjadi Kardiomyosit .....	63
<b>BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>66</b>
7.1 Kesimpulan.....	66
7.2 Saran .....	66
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>xviii</b>
<b>LAMPIRAN 1 .....</b>	<b>xxvi</b>
<b>LAMPIRAN 2.....</b>	<b>xxx</b>
<b>LAMPIRAN 3.....</b>	<b>xxxii</b>

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.	Klasifikasi sel punca berdasarkan potensi diferensiasinya.....	6
Gambar 2.2.	Jenis Sel Punca yang dapat Digunakan dalam Proses Perbaikan Kardiomiosit .....	8
Gambar 2.3.	Diagram Proses Diferensiasi dari sel punca pluripoten ke kardiomiosit. ....	8
Gambar 2.4.	Lanskap Epigenetik Waddington .....	11
Gambar 2.5.	Perbedaan antara pemrograman ulang dan transdiferensiasi.....	14
Gambar 2.6.	Teknik transdiferensiasi secara in vitro dan in vivo .....	15
Gambar 2.7.	Biogenesis miRNA .....	19
Gambar 2.8.	Micro RNA mengarahkan perilaku dan diferensiasi sel.....	22
Gambar 2.9.	Ekspresi spesifik cluster <i>miRNA-1</i> dan <i>miRNA-133</i> dari jaringan otot yang diregulasi oleh SRF dan faktor transkripsi miogenik MyoD. ....	24
Gambar 3.1.	Kerangka Konseptual .....	28
Gambar 4.1.	Skema Penelitian .....	31
Gambar 4.2.	Alur Penelitian.....	45
Gambar 5.1	A. Hasil sentrifugasi menggunakan metode gradien <i>Ficoll</i> B. Alat berbasis <i>magnetic beads</i> C. Isolasi Sel CD34+ dengan <i>EasySep Magnet</i> .....	46
Gambar 5.2	A. Ekspresi CD34+ pada sel isolasi dengan Imunohistokimia B. Ekspresi CD34+ pada sel isolasi dengan Imunofluoresens .....	47
Gambar 5.3	Pengamatan kultur sel CD34+ (P1 dan P2) menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x .....	48
Gambar 5.4	Pengamatan Sel CD34+P1 dan P2 5 hari pasca transfeksi <i>miRNA-1</i> dan penanaman di mediun diferensiasi kardiomiosit dengan menggunakan mikroskop cahaya perbesaran 400x .....	49
Gambar 5.5	A. <i>Amplification curve</i> gen HDAC4 B. <i>Melt curve</i> gen HDAC4 .....	51
Gambar 5.6	A. <i>Amplification curve</i> gen $\beta$ -actin B. <i>Melt curve</i> gen $\beta$ -actin .....	52

Gambar 5.7	Ekspresi Relatif Gen HDAC4 .....	54
Gambar 5.8	Sel dengan ekspresi <i>cardiac</i> troponin positif .....	55
Gambar 5.9	Grafik nilai median prosentase <i>cardiac</i> troponin positif P1 dan P2 ( <i>Mann-Whitney U test</i> ) .....	56

**DAFTAR TABEL**

Tabel 4.1. Definisi Operasional Variabel.....	33
Tabel 5.1 Nilai Ct gen HDAC4 Kelompok P1 dan P2 sel CD34+ .....	53
Tabel 5.2 Nilai Ct gen $\beta$ -actin Kelompok P1 dan P2 Sel CD34+ .....	53
Tabel 5.3 Nilai Ekspresi Relatif Gen HDAC4.....	53
Tabel 5.4 Jumlah Sel <i>Cardiac Troponin</i> Positif pada P1 dan P2 .....	56
Tabel 5.5 Efisiensi Hasil Pemrograman Langsung Sel CD34+ menjadi Kardiomiosit .....	57

**DAFTAR SINGKATAN**

DNA	: <i>Deoxyribo Nucleic Acid</i>
RNA	: <i>Ribo Nucleic Acid</i>
miRNA	: <i>Micro RNA</i>
iPSC	: <i>Induced Pluripotent Stem Cells</i>
PBMC	: <i>Peripheral Blood Mononuclear Cells</i>
ESC	: <i>Embryonic Stem Cell</i>
CD34	: <i>Cluster of Differentiation 34</i>
cTn	: <i>Cardiac Troponin</i>
ESC-CM	: <i>Embryonic Stem Cell Derived Cardiomyocyte</i>
SCD-CM	: <i>Stem-Cell Derived Cardiomyocytes</i>
SCD-CSC	: <i>Stem Cell-Derived Cardiac Support Cells</i>
BMC	: <i>Bone Marrow-Derived Cell</i>
CSC	: <i>Cardiac Stem Cell</i>
MEF	: <i>Mouse Embryonic Fibroblast</i>
Oct4	: <i>Octamer-binding transcription factor 4</i>
Sox-2	: <i>Sex determining region Y-box 2</i>
Klf4	: <i>Kruppel-like factor 4</i>
Pax4	: <i>Paired box 4</i>
GABA	: <i>Gamma-Aminobutyric Acid</i>
DNMT	: <i>DNA Metiltransferase</i>
5adC	: <i>5-aza-2'-deoxycytidine</i>
HDAC	: <i>Histone deacetylase</i>
GMT	: <i>Gata4, Mef2c, Tbx5</i>
SRF	: <i>Serum Response Factor</i>
PCR	: <i>Polymerase Chain Reaction</i>