

PENELITIAN TESIS

**Karakterisasi Komposit *Freeze Dried Human Amnion Membrane* Dan
*Human Adipose Tissue Derived Stromal Cells***



Oleh:

Yusuf Rizal, dr

012115653011

PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN KLINIK JENJANG MAGISTER

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS AIRLANGGA

SURABAYA

2022

PENELITIAN TESIS

**Karakterisasi Komposit *Freeze Dried Human Amnion Membrane* Dan
*Human Adipose Tissue Derived Stromal Cells***



Oleh:

Yusuf Rizal, dr

012115653011

PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN KLINIK JENJANG MAGISTER

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA**

2022

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Yusuf Rizal, dr.
NIM : 012115653011
Prodi bidang minat : Ilmu Orthopaedi dan Traumatologi
Angkatan : 2017
Jenjang : Magister

Menyatakan bahwa bagian atau keseluruhan isi tesis saya yang berjudul :

**“Karakterisasi Komposit Freeze Dried Human Amnion Membrane Dan Human
Adipose Tissue Derived Stromal Cells “**

Adalah hasil karya saya sendiri dan semua sumber baik yang dikutip maupun yang dirujuk telah saya nyatakan dengan benar. Apabila ditemukan bukti pernyataan saya tidak benar, maka saya bersedia menerima sanksi yang telah ditetapkan. Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Nama : Yusuf Rizal, dr.
NIM : 012115653011
Tanggal : 15 Agustus 2022
Tanda tangan :



LEMBAR PENGESAHAN

PENELITIAN TESIS INI TELAH DISETUJUI
PADA TANGGAL, AGUSTUS 2022

Oleh:

Pembimbing Ketua



Dr. Heri Suroto, dr., Sp.OT (K)

NIP. 196306171989021005

Pembimbing Kedua

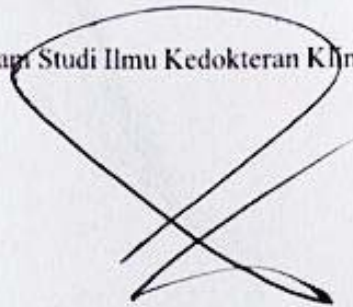


Dr. Mouli Edward, dr., M.Kes., SpOT (K)

NIP. 197105092009041001

Mengetahui,

Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Klinik Jenjang Magister



Prof. Dr. Irwanto, dr., Sp.A(K)

NIP. 19650227 199003 1 010

KATA PENGANTAR

Pertama-tama saya panjatkan puji dan syukur ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat, taufik, hidayah dan karunia-Nya yang dilimpahkan kepada saya sehingga saya dapat menyelesaikan studi yang berjudul “KARAKTERISASI KOMPOSIT *FREEZE DRIED HUMAN AMNION MEMBRANE* DAN *HUMAN ADIPOSE TISSUE DERIVED STROMAL CELLS*” sebagai tugas thesis.

Ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya dan penghargaan yang setinggi-tingginya saya sampaikan kepada Dr. Heri Suroto, dr., Sp.OT(K) dan Fani Deapsari, S.Farm., M.Farm selaku pembimbing yang telah membimbing saya selama mengerjakan penelitian ini.

Saya sadari bahwa studi ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu kritik dan saran sangat saya harapkan. Semoga penelitian ini dapat berguna bagi diri saya, pembaca, dan pihak-pihak lainnya.

Surabaya, 1 Agustus 2022

Yusuf Rizal, dr

ABSTRAK

Pendahuluan: Terapi dari cedera *rotator cuff* bervariasi, terapi operatif dengan augmentasi *human adipose tissue derived stromal cells* (hADSC) digadang mampu membantu penyembuhan jaringan. Namun agar *mesenchymal stem cells* (MSC) dapat mencapai ke target lokasi dengan baik, penanaman / *seeding* dari hADSC ke scaffold menjadi salah satu solusi. Terdapat beberapa pilihan *scaffold*. *Freeze-dried Human Amnion Membrane* (FdHAM) dari manusia merupakan salah satu alternatif yang sering digunakan karena, salah satu alasannya, jarang mengakibatkan inflamasi dan alergi.

Tujuan : Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah sifat dari komposit hADSC dan FdHAM ideal sebagai karier MSC.

Metode: Penelitian ini merupakan penelitian laboratoris eksperimental *in vitro post-test only design* dimana dilakukan analisis terhadap komposit hADSC dan FdHAM. Dilakukan evaluasi diameter pori untuk FdHAM, evaluasi viabilitas sel dan CD105 untuk hADSC, dan evaluasi morfologi sel komposit, komponen penyusun, evaluasi sitotoksitas, dan densitas sel untuk komposit FdHAM dan hADSC.

Hasil : Analisis morfologi menunjukkan kluster hADSC dengan distribusi homogen pada FdHAM. Uji viabilitas menunjukkan bahwa sel hADSC secara dominan masih hidup dengan presentase rata-rata 69,3%. Evaluasi Konsentrasi sel rata-rata ada di $1.533 \times 10^6/\text{mL}$. Diameter pori FdHAM rata-rata adalah $1.90 \pm 0.30 \mu\text{M}$. Didapati juga bahwa komposit ini tidak bersifat sitotoksik terhadap FdHAM

Diskusi: *Scaffold* yang ideal harus memiliki stabilitas struktural yang baik, porositas yang cukup untuk menampung sel, serta tidak beracun/biokompatibel terhadap MSC. *Scaffold* memainkan peran penting dalam rekayasa jaringan dengan menentukan *template* untuk regenerasi jaringan dan bekerja sebagai lingkungan matriks ekstraseluler sintetik untuk regenerasi jaringan. Dibandingkan dengan literatur yang tersedia, karakteristik komposit FdHAM dan hADSC sangat ideal dan berpotensi digunakan sebagai produk akhir untuk digunakan pada manusia.

Kesimpulan : Struktur dari komposit FdHAM dan hADSC memiliki sifat dasar yang ideal dan cocok untuk digunakan sebagai karier dari hADSC atau sebagai bahan *soft tissue engineering*

Kata Kunci : Freeze dried human amniotic membrane, human adipose-derived stromal cells, Mesenchymal Stem Cell (MSC), *amnion membrane, composite*

ABSTRACT

Introduction: Freeze-dried human amniotic membrane (FdHAM) and human adipose-derived stromal cells (hADSC) have been widely explored in soft tissue engineering as a separate component. In this study, the construct of FdHAM and hADSC was investigated. This study aims to determine whether the properties of the amniotic membrane composite with MSC are ideal as MSC carriers.

Methods: This research is an experimental laboratory research in vitro post-test only design where the analysis of the FdHAM and hADSC composites is carried out. Evaluation of cell viability and CD105 for hADSC, evaluation of pore diameter for amniotic membrane and evaluation of composite cell morphology, constituent components, evaluation of cytotoxicity, and cell density were carried out.

Results: Morphology analysis showed clusters of hADSC with homogenous distribution on FdHAM. The viability test showed that the hADSCs were still dominantly alive with an average percentage of 69.3%. The mean cell concentration was $1,533 \times 10^6/\text{ml}$. The average FdHAM pore diameter was found to be $1.90 \pm 0.30 \mu\text{M}$. The cytotoxicity test showed that FdHAM as a nontoxic substance with good cell survivability after exposure to FdHAM.

Discussion: Ideal scaffolds should have a good structural stability, enough porosity to accommodate the cells, and also non-toxic/ biocompatible toward the stem cells. Scaffolds play an important role in tissue engineering by defining templates for tissue regeneration and by serving as a synthetic extracellular matrix environment for tissue regeneration. In comparison to the available literature, the characteristic of the FdHAM and hADSC composite is ideal and may potentially be used as an end-product for use in humans.

Conclusions: The structure of FdHAM and hADSC has excellent basic properties and is suitable for use as carriers of hADSC or in soft tissue engineering.

Keywords: Freeze dried human amniotic membrane, human adipose-derived stromal cells.

DAFTAR ISI

HALAMAN PERNYATAN ORISINALITAS.....	iii
LEMBAR PENGESAHAN.....	iv
HALAMAN PENETAPAN PANITIA PENGUJI	v
KATA PENGANTAR.....	v
ABSTRAK.....	vi
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR SINGKATAN.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.3.1 Tujuan Umum	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.4.1 Manfaat Teoritis	4
1.4.2 Manfaat Praktis	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1. Amnion Membran	5
2.2. Mesenchymal stem cell	8
2.3. Tissue Engineering.....	12
BAB III KERANGKA KONSEP	15
3.1 Kerangka Konsep Penelitian	15

BAB IV METODE PENELITIAN	17
4.1 Desain Penelitian	17
4.2 Tempat dan Waktu Penelitian	17
4.3 Bahan Penelitian	17
4.4 Besar sampel	17
4.4 Variabel Penelitian	17
4.5 Definisi Operasional Variabel	18
4.6 Pelaksanaan Penelitian	19
4.6.1 Pembuatan Komposit Mesenchymal Stem Cell dan Freeze-Dried Human Amnion Membrane	19
4.6.2 Uji Karakteristik Komposit	21
4.7 Kerangka Operasional	23
4.8 Pengolahan dan Analisa Data	23
4.9 Ethical Clearance	23
BAB V HASIL PENELITIAN	24
5.1 Morfologi Sel Komposit	24
5.2 Diameter Pori	29
5.3 Komponen Penyusun Komposit	30
5.4 Evaluasi Sitotoksitas	31
5.5 Evaluasi Viabilitas Sel	32
BAB VI DISKUSI	34
BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN	38
7.1 Kesimpulan	38
7.2 Saran	38

<i>DAFTAR PUSTAKA</i>	39
<i>LAMPIRAN</i>	43

DAFTAR SINGKATAN

AFSCs	:	<i>Amniotic fluid-derived stem cells</i>
ASCs	:	<i>Adult stem cells</i>
EDS	:	<i>Energy Dispersive X-Ray Spectroscopy</i>
ESCs	:	<i>Embryonic stem cells</i>
FdHAM	:	<i>Freeze-Dried Human Amnion Membrane</i>
FDA	:	<i>Food and Drug Administration</i>
GMP	:	<i>Good manufacturing practice</i>
hADSC	:	<i>Human Adipose-Derived Stromal Cells</i>
HAM	:	<i>Human Amniotic Membrane</i>
iPSCs	:	<i>Induced pluripotent stem cells</i>
MSC	:	<i>Mesenchymal Stem Cell</i>
PBS	:	<i>Phosphate buffer saline</i>
PSCs	:	<i>Pluripotent stem cells</i>
TE	:	<i>Tissue Engineering</i>
TIMP	:	<i>Tissue Inhibitor Metalloproteinase</i>
SEM	:	<i>Scanning Electron Microscope</i>

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2 1 Anatomi amnion membran	5
Gambar 2.2 Karakterisasi dari hADSC yang mampu berdiferensiasi menjadi beberapa variasi sel	7
Gambar 2.3 Histologi jenis dari hADSC dengan lapisan epitel (A) dan yang telah dilakukan denudasi dari lapisan epitel (B).....	8
Gambar 2.4 Contoh kemampuan diferensiasi dari mesenchymal stem cell	11
Gambar 2.5 Diagram konsep triad tissue engineering	13
Gambar 3.1 Kerangka Konsep Penelitian.....	15
Gambar 4.1 Kerangka Operasional Penelitian	23

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Berbagai macam jenis potensi diferensiasi sel pada manusia	10
Tabel 5.1 Analisis Diameter Pori	30
Tabel 5.2 Komposisi Komposit.....	30
Tabel 5.3 Densitas optikal dari amnion (kontrol) dibanding amnion dengan MSC32	
Tabel 5.4 Hasil analisis viabilitas sel pada ketiga sampel.....	33