



**ANALISIS GEN BIOMARKER KONDRogenesis KOLAGEN
TIPE II *ADIPOSE MESENCHYMAL STEM CELL* PADA
SCAFFOLD NANOFIBER PHA/*SILK* DENGAN BERBAGAI
RASIO**

SKRIPSI

HANAN

2010211008

UNIVERSITAS PEMBANGUNAN NASIONAL "VETERAN" JAKARTA

FAKULTAS KEDOKTERAN

PROGRAM STUDI KEDOKTERAN PROGRAM SARJANA

2024



ANALISIS GEN BIOMARKER KONDRogenesis KOLAGEN TIPE
II *ADIPOSE MESENCHYMAL STEM CELL* PADA *SCAFFOLD*
NANOFIBER PHA/*SILK* DENGAN BERBAGAI RASIO

SKRIPSI

Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk
Memperoleh Gelar Sarjana

HANAN

2010211008

UNIVERSITAS PEMBANGUNAN NASIONAL "VETERAN" JAKARTA

FAKULTAS KEDOKTERAN

PROGRAM STUDI KEDOKTERAN PROGRAM SARJANA

2024

LEMBAR PENGESAHAN

Skripsi diajukan oleh:

Nama : Hanan

NIM : 2010211008

Program Studi : Kedokteran Program Sarjana

Judul Skripsi : Analisis Gen Biomarker Kondrogenesis Kolagen Tipe II *Adipose Mesenchymal Stem Cell* Pada *Scaffold* Nanofiber PHA/Silk Dengan Berbagai *Ratio*.

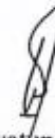
Telah berhasil dipertahankan di hadapan Tim Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran pada Program Studi Kedokteran Program Sarjana, Fakultas Kedokteran, Universitas Pembangunan Nasional "Veteran" Jakarta.



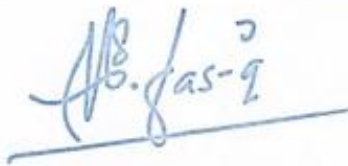
Dra. Cut Fauziah,
M.Biomed
Penguji



Andri Pramesyanti
Pramono, S.Si., M.Biomed.,
Ph.D
Pembimbing 1



Dr. Uswatun Hasanah, S.Si,
M.Biomed
Pembimbing 2



Dr. dr. H. Taufiq Fredrik Pasiak, Mkes.,
M.Pd.I
Dekan Fakultas Kedokteran



dr. Mila Citrawati, M.Biomed., Sp.KKLP
Ketua Program Studi Kedokteran
Program Sarjana

Ditetapkan di : Jakarta

Tanggal ujian : 10 Januari 2024

PERNYATAAN ORISINALITAS

Skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri dan semua sumber yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan benar.

Nama : Hanan

NIM : 2010211008

Tanggal : 17 Januari 2024

Bilamana dikemudian hari ditemukan ketidaksesuaian dengan pernyataan saya, maka saya bersedia dituntut dan diproses sesuai dengan ketentuan yang berlaku.

Jakarta, 17 Januari 2024

Yang menyatakan,

A 10,000 Rupiah revenue stamp (Meterai Pajak) with a signature over it. The stamp features the Garuda Pancasila emblem and the text "10000", "METERAI PAJAK", and "4EALX055738508".

Hanan

PAKTA INTEGRITAS

Nama : Hanan

NIM : 2010211008

Menyatakan dengan sesungguhnya, bahwa Tanda Tangan (Digital atau Basah) yang ada dalam naskah ini adalah benar keasliannya dan adanya persetujuan dari yang bersangkutan. Apabila di kemudian hari terbukti pernyataan saya tidak benar, maka saya bersedia menerima sanksi akademik.

Jakarta, 17 Januari 2024

Yang menyatakan,



Hanan

PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI SKRIPSI UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai civitas akademik Universitas Pembangunan Nasional “Veteran” Jakarta, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Hanan
NIM : 2010211008
Fakultas : Kedokteran
Program Studi : Kedokteran Program Sarjana

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Pembangunan Nasional “Veteran” Jakarta. Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul:

**“ANALISIS GEN BIOMARKER KONDRogenesis KOLAGEN TIPE II
ADIPOSE MESENCHYMAL STEM CELL PADA SCAFFOLD NANOFIBER
PHA/SILK DENGAN BERBAGAI RASIO”**

Beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti ini Universitas Pembangunan Nasional “Veteran” Jakarta berhak menyimpan, mengalih media/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat, dan mempublikasikan skripsi saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Jakarta, 17 Januari 2024

Yang menyatakan,



The image shows a 10,000 Rupiah revenue stamp (Meterai Tempel) with a signature and the name Hanan. The stamp includes the Garuda Pancasila logo, the number 10000, and the alphanumeric code 4045BALX055738513.

Hanan

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS PEMBANGUNAN NASIONAL “VETERAN” JAKARTA**

Skripsi, Januari 2024

Hanan, NIM. 2010211008

**ANALISIS GEN BIOMARKER KON드로GENESIS KOLAGEN TIPE II
ADIPOSE MESENCHYMAL STEM CELL PADA SCAFFOLD NANOFIBER
PHA/SILK DENGAN BERBAGAI RASIO**

(xvi + 73 halaman, 17 tabel, 6 bagan, 8 lampiran)

ABSTRAK

Tujuan

Kerusakan tulang rawan akibat obesitas, usia, genetik, atau cedera menyebabkan tulang rawan tipis dan rusak secara permanen. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi *adipose mesenchymal stem cells* (ADSCs) dalam regenerasi jaringan dalam jalur kondrogenik sebelum digunakan untuk terapi pada kondisi defisiensi tulang rawan untuk meminimalkan risiko operatif.

Metode

ADSCs diekstraksi dari jaringan adiposa pasien melalui proses *liposuction*. Lipoaspirat diolah dan sel punca diisolasi kemudian dikultur selama 21 hari. Kombinasi *scaffold* nanofiber biomaterial dari *Polyhydroxyalkanoates* (PHA)/*silk* dengan rasio PHA/*Silk* 3:1 dan 0:4. Setelah 21 hari, potensi kondrogenesis dievaluasi dengan menganalisis ekspresi gen biomarker kondrogenesis kolagen tipe II menggunakan *real time* PCR.

Hasil

Hasil *fold change* kontrol positif adalah 1, ADSCs + *scaffold* nanofiber PHA/*Silk* 3:1 menunjukkan *fold change* sebesar 0.01, ADSCs + *scaffold* nanofiber PHA/*Silk* 0:4 menunjukkan *fold change* sebesar 7.57, dan hasil *fold change* kontrol negatif adalah 0.91.

Kesimpulan

Penurunan ekspresi gen pada kontrol negatif disebabkan oleh kurangnya sinyal spesifik dari medium DMEM + FBS yang tidak dirancang untuk diferensiasi kondrogenik, penurunan ekspresi gen pada ADSCs + *scaffold* PHA/*Silk* 3:1, diperkirakan akibat sifat hidrofobik PHA P(3HB-co-3HHx) yang mengurangi penyerapan protein serum, menurunkan adhesi sel, dan menghambat sel untuk proliferasi, pada ADSCs + *scaffold* nanofiber PHA/*Silk* 0:4 peningkatan ekspresi gen terjadi karena *silk* menghasilkan produk degradasi yang tidak toksik, sel dikultur pada medium yang didesain khusus untuk jalur kondrogenik serta peran penting *scaffold silk* dengan sifat hidrofiliknya yang memfasilitasi adhesi sel, kemampuan interaksi elektrostatis, kehalusan permukaan, dan banyaknya ikatan hidrogen.

Kata Kunci: ADSCs, Kondrogenesis, Kolagen Tipe II, *Scaffold* PHA/*Silk*
FACULTY OF MEDICINE

UNIVERSITY PEMBANGUNAN NASIONAL “VETERAN” JAKARTA

Undergraduate Thesis, January 2024

Hanan, NIM. 2010211008

ANALYSIS OF CHONDROGENESIS BIOMARKER GENES COLLAGEN TYPE II IN ADIPOSE MESENCHYMAL STEM CELLS ON PHA/SILK NANOFIBER SCAFFOLD WITH VARIOUS RATIOS

(xvi + 73 pages, 17 table, 6 chart, 8 appendices)

ABSTRACT

Objective

Damage to cartilage due to obesity, age, genetics, or injury leads to thinning and permanent damage of the cartilage. This research aims to determine the potential of adipose mesenchymal stem cells (ADSCs) in tissue regeneration, particularly in the chondrogenic pathway before their use in therapy for cartilage-deficient conditions to minimize operative risk.

Method

ADSCs were extracted from patient adipose tissue through a liposuction process. Lipoaspirate was processed, stem cells were isolated, and then cultured for 21 days. A combination of nanofiber biomaterial scaffold from Polyhydroxyalkanoates (PHA)/silk with a PHA/Silk ratio of 3:1 and 0:4 was used. After 21 days, chondrogenic potential was evaluated by analyzing the gene expression of chondrogenesis biomarkers, type II collagen, using real-time PCR.

Result

The fold change result for the positive control was 1. ADSCs + scaffold nanofiber PHA/Silk 3:1 showed a fold change of 0.01, ADSCs + scaffold nanofiber PHA/Silk 0:4 exhibited a fold change of 7.57, and the fold change for the negative control was 0.91.

Conclusion

Decrease in gene expression in the negative control was due to the lack of specific signals from the DMEM + FBS medium, which was not designed for chondrogenic differentiation. The reduced gene expression in ADSCs + scaffold PHA/Silk 3:1 was presumed to result from the hydrophobic nature of PHA P(3HB-co-3HHx), reducing serum protein absorption, cell adhesion, and inhibiting cell proliferation. In ADSCs + scaffold nanofiber PHA/Silk 0:4, the increased gene expression occurred because silk produced non-toxic degradation products, cells were cultured in a medium specifically designed for the chondrogenic pathway, and the significant role of the hydrophilic scaffold silk facilitated cell adhesion, electrostatic interaction ability, surface smoothness, and numerous hydrogen bonds.

Keywords: ADSCs, Chondrogenesis, Collagen Type II, PHA/Silk Scaffold

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT karena atas rahmat dan karunia-Nya, penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul "Analisis Gen Biomarker Kondrogenesis Kolagen Tipe II *Adipose Mesenchymal Stem Cell* Pada *Scaffold* Nanofiber PHA/*Silk* Dengan Berbagai Rasio". Penulisan skripsi ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Kedokteran pada program S1 Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Pembangunan Nasional "Veteran" Jakarta.

Penulis menyadari bahwa tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, akan sulit untuk menyelesaikan skripsi ini. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Kedua orang tua saya, Khadijah S.Psi dan Ir. Fahmi Askar, serta saudara kandung saya Muhammad, Muadz, dan Halla atas doa, dukungan, dan motivasi sehingga peneliti dapat menyelesaikan skripsi dengan baik
2. Dr. dr. Taufiq Fredrik Pasiak, M.Kes, M.Pd.I selaku Dekan Fakultas Kedokteran UPN "Veteran" Jakarta dan Tim Community Research Program UPN "Veteran" Jakarta karena telah menyediakan sarana dan fasilitas yang memungkinkan penulis untuk menyelesaikan penyusunan skripsi.
3. Ibu Andri Pramesyanti Pramono, S.Si., M.Biomed., Ph.D, selaku dosen pembimbing utama yang telah memberikan arahan, bimbingan dan inspirasi selama penulisan skripsi.
4. Ibu Dr. Uswatun Hasanah, S.Si, M.Biomed selaku pembimbing kedua yang telah meluangkan waktu, memberikan masukan, dan saran yang berarti kepada penulis untuk mengoptimalkan penyusunan skripsi.
5. Rekan-rekan sejawat satu departemen, yaitu Regina, Andrea, dan Vhokiya atas kerjasama, dukungan, dan motivasi selama proses penulisan skripsi,
6. Sahabat penulis selama menempuh studi S1 Kedokteran, yaitu Nadia, Putri Choirun, Azza, Putri Amalia, Vyona, Sarah, Andin, dan Karimani, yang telah menjadi pendamping, memberikan dukungan, semangat, serta bantuan selama proses pendidikan di FK UPN "Veteran" Jakarta, termasuk dalam penyusunan skripsi ini.

Akhir kata, saya berharap Tuhan Yang Maha Esa memberikan limpahan kebaikan kepada semua pihak yang telah membantu. Semoga skripsi ini membawa manfaat bagi pengembangan ilmu.

Jakarta, 17 Januari 2024

Hanan

DAFTAR ISI

ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Perumusan Masalah	4
I.3 Tujuan Penelitian	4
I.3.1 Tujuan Umum.....	4
I.3.2 Tujuan Khusus.....	4
I.4 Manfaat Penelitian	5
I.4.1 Manfaat Teoritis	5
I.4.2 Manfaat Praktis	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
II.1 Landasan Teori.....	6
II.1.1 <i>Stem Cell</i>	6
II.1.2 <i>Adipose Mesenchymal Stem Cell</i>	8
II.1.3 Kondrogenesis.....	10
II.1.4 Gen Biomarker.....	15
II.1.5 Kolagen Tipe II	16
II.1.6 Rekayasa Jaringan dan <i>Scaffold</i>	17
II.1.7 Nanofiber	21
II.1.8 PHA.....	21
II.1.9 <i>Silk</i>	23
II.2 Kerangka Teori	24
II.3 Kerangka Konsep	25
II.4 Hipotesis	25
II.5 Penelitian Terkait	26
BAB III METODE PENELITIAN	28
III.1 Jenis Penelitian.....	28
III.2 Lokasi dan Waktu Penelitian	28
III.3 Subjek Penelitian.....	28
III.3.1 Populasi Penelitian	28
III.3.2 Sampel Penelitian	28

III.4 Kriteria Inklusi dan Eksklusi.....	29
III.4.1 Kriteria Inklusi.....	29
III.4.2 Kriteria Eksklusi.....	29
III.5 Besar Sampel.....	29
III.6 Teknik Pengambilan Sampel Penelitian.....	30
III.7 Identifikasi Variabel Penelitian.....	30
III.7.1 Variabeln Dependen.....	30
III.7.2 Variabel Independen.....	30
III.8 Definisi Operasional Variabel.....	30
III.9 Alat dan Bahan Penelitian.....	31
III.9.1 Alat Penelitian.....	31
III.9.2 Bahan Penelitian.....	32
III.10 Cara Kerja.....	33
III.11 Analisis Data.....	42
III.12 Alur Penelitian.....	43
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	45
IV.1 Hasil Penelitian.....	45
IV.1.1 Hasil Analisis RNA.....	47
IV.1.2 Perhitungan Kuantitatif <i>Real-Time</i> PCR.....	49
IV.2 Analisis Data.....	51
IV.2.1 Uji Normalitas RT-qPCR Gen Kolagen Tipe II.....	51
IV.2.2 Uji Homogenitas RT-qPCR Gen Kolagen Tipe II.....	52
IV.2.3 <i>Kruskal Wallis</i> RT-qPCR Gen Kolagen Tipe II.....	53
IV.2.4 Uji Tukey Post Hoc Test.....	53
IV.3 Pembahasan.....	54
IV.3.1 Hasil Analisis RNA.....	55
IV.3.2 Perhitungan Kuantitatif <i>Real-Time</i> PCR Gen Kolagen Tipe II.....	56
IV.4 Keterbatasan Penelitian.....	61
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	62
V.1 Kesimpulan.....	62
V.2 Saran.....	62
DAFTAR PUSTAKA.....	63

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Fungsi Lima Tipe Kolagen Paling Umum	17
Tabel 2. Perbandingan Biomaterial Natural dan Sintetis	19
Tabel 3. Penelitian Terkait.....	26
Tabel 4. Definisi Operasional	30
Tabel 5. Bahan Pembuatan Medium DMEM + FBS 10%	37
Tabel 6. Bahan Pembuatan Medium StemPro <i>Chondrogenesis</i>	37
Tabel 7. Desain Primer.....	41
Tabel 8. Ilustrasi Desain Eksperimental.....	41
Tabel 9. Hasil Uji <i>Water Contact Angle Scaffold</i>	46
Tabel 10. Hasil Uji Kekasaran <i>Scaffold</i>	46
Tabel 11. Hasil Spektrofotometri	47
Tabel 12. Perhitungan Larutan Pembentuk cDNA	48
Tabel 13. Hasil CT Kolagen Tipe II.....	49
Tabel 14. Uji Normalitas RT-qPCR Gen Kolagen Tipe II	52
Tabel 15. Uji Homogenitas RT-qPCR Gen Kolagen Tipe II.....	52
Tabel 16. Uji Kruskal-Wallis RT-qPCR Gen Kolagen Tipe II.....	53
Tabel 17. Uji Tukey Post Hoc Test	54

DAFTAR BAGAN

Bagan 1. Kerangka Teori	25
Bagan 2. Kerangka Konsep.....	25
Bagan 3. Alur Penelitian	44
Bagan 4. Rasio mRNA Relatif	50
Bagan 5. Amplifikasi Gen Kolagen Tipe II	51
Bagan 6. Amplifikasi Gen GAPDH	51

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Klasifikasi <i>Stem Cell</i>	8
Gambar 2. Proses Pengolahan <i>Stem Cell</i> Untuk Keperluan Terapeutik.....	9
Gambar 3. Faktor Yang Mempengaruhi Kondensasi Mesenkimal	11
Gambar 4. <i>Endochondral Ossification</i>	14
Gambar 5. Matriks Ekstraseluler Kartilago Sendi	15
Gambar 6. Skema Trias Rekayasa Jaringan	18
Gambar 7. <i>Scaffold</i> Sebagai Komponen Rekayasa Genetik	21
Gambar 8. Interaksi TGF- β dan Reseptor TGF- β	58
Gambar 9. Perbandingan <i>Water Angle</i> dan Kekasaran <i>Scaffold</i>	60

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Riwayat Hidup Penulis	72
Lampiran 2. Surat Permohonan Ethical Clearance	73
Lampiran 3. Surat Keterangan Pengganti Etik Sampel Penelitian	74
Lampiran 4. Surat Izin Penelitian	75
Lampiran 5. Surat Pembebasan Persetujuan Etik Penelitian	78
Lampiran 6. Hasil Output SPSS RT-qPCR	79
Lampiran 7. Dokumentasi Penelitian.....	82
Lampiran 8. Hasil Uji Turnitin.....	88

DAFTAR SINGKATAN

ASC	: <i>Adult Stem Cells</i>
ASCs	: <i>Adipose-derived Stromal/Stem Cells</i>
CT	: <i>Cycle Threshold</i>
cDNA	: <i>Complementary DNA</i>
DMEM	: <i>Dulbecco's Modified Eagle's Medium</i>
ECM	: <i>Extracellular Matrix</i>
EO	: <i>Endochordial Ossification</i>
FBS	: <i>Fetal Bovine Serum</i>
GAPDH	: <i>Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase</i>
hUC-MSCs	: <i>Human Umbilical Cord Derived Mesenchymal Stem Cells</i>
ICM	: <i>Inner Cell Mass</i>
MSCs	: <i>Mesenchymal Stem Cells</i>
OA	: <i>Osteoarthritis</i>
PHA	: <i>Polyhidroksialkanoat</i>
PRP	: <i>Platelet-rich Plasma</i>
T _m	: <i>Temperature Melting</i>