

## ABSTRAK

### DETEKSI Fc RIIb PADA *STEM CELL* YANG DIISOLASI DARI DARAH TEPI

Esther Hintono, 2008      Pembimbing I : Caroline Tan Sardjono, dr., Ph.D  
Pembimbing II : Ernawati Arifin Giri Rachman, Ph.D

*Stem cell* saat ini banyak menjadi sorotan para peneliti karena potensinya untuk dijadikan pengobatan pada beberapa penyakit degeneratif atau keganasan dengan metode *cell based therapy*. Pengobatan dengan *stem cell* ini mulai terlihat hasilnya, namun sedikit sekali yang telah dilakukan untuk mengetahui daya imunogenisitas *stem cell*. *Stem cell* juga mulai digunakan untuk pengobatan penyakit autoimun. Tujuan utama dari penelitian ini adalah untuk mengetahui *stem cell* yang diisolasi dari darah tepi mempunyai Fc RIIb. Sampel yang digunakan adalah mRNA hasil isolasi dengan metode *GenElute Direct* dari sel mononuklear darah tepi (*Peripheral Blood Mononuclear Cell*). Pemisahan sel CD34+ dilakukan dengan metode *Magnetic-Activated Cell Separation* (MACS) dan kemurniaannya dikonfirmasi dengan metode *flow cytometry*. Untuk mengamplifikasikan mRNA dengan primer Fc RIIb, RT-PCR dilakukan dalam 40 siklus dengan *reverse transcription* 50°C selama 30 menit, *pre PCR* 94°C selama 10 menit, denaturasi 94°C selama 40 detik, *annealing* 60°C selama 40 detik, *elongasi* 72°C selama 60 detik, *post polymerization* 72°C selama 5 menit. Analisis dengan elektroforesis *gel agarosa* 2,5% menunjukkan pita berukuran 541 bp yang mengindikasikan *stem cell* yang diisolasi dari darah tepi mempunyai Fc RIIb.

Kata Kunci : *Stem cell*, Fc RIIb

## **ABSTRACT**

### ***DETECTION OF Fc RIIb IN STEM CELL ISOLATED FROM PERIPHERAL BLOOD***

Esther Hintono, 2008

*Supervisor I* : Caroline Tan Sardjono, dr., Ph.D

*Supervisor II* : Ernawati Arifin Giri Rachman, Ph.D

*Currently, stem cell is a gazing object for the observer due to its potential to become one of the medical treatments of couples of degenerative diseases through cell based therapy method. The result of stem cell treatment is starting to be obvious, but too little things have been done in order to identify the immunogenicity rule of stem cell. It also starts using stem cell for autoimmune disease. The main objective of this research is to find out that isolated peripheral blood stem cell has Fc RIIb. Sample that is used is from mRNA which is the result of isolation by GenElute Direct method from the peripheral blood mononuclear cell. Separation of CD34+ cell is done by Magnetic-Activated Cell Separation (MACS) and its purity is confirmed through flow cytometry. For the amplification of mRNA with primer Fc RIIb, RT-PCR is performed in 40 cycle with reverse transcription 50°C for 30 minutes, pre PCR 94°C for 10 minutes, denaturation 94°C for 40 seconds, annealing 60°C for 40 seconds, elongation 72°C for 60 seconds, and post polymerization 72°C or 5 minutes. Analysis with electrophoresis agarosa gel 2.5% proves that 541 bp band which indicates peripheral blood stem cell is having Fc RIIb.*

*Keyword: Stem cell, Fc RIIb*

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
<b>JUDUL</b> .....	i
<b>LEMBAR PERSETUJUAN</b> .....	ii
<b>SURAT PERNYATAAN</b> .....	iii
<b>ABSTRAK</b> .....	iv
<b>ABSTRACT</b> .....	v
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	vi
<b>DAFTAR ISI</b> .....	viii
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	x
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xi

### **BAB I PENDAHULUAN**

1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Identifikasi Masalah.....	2
1.3. Maksud dan Tujuan.....	2
1.4. Manfaat Penelitian.....	2
1.5. Metode Penelitian.....	2
1.6. Waktu dan Lokasi Penelitian.....	3

### **BAB II TINJAUAN PUSTAKA**

2.1. <i>Stem Cell</i> .....	4
2.2. <i>Hematopoietic StemCcell Markers</i> .....	9
2.3. <i>Fc Receptor</i> .....	11
2.4. <i>Apheresis</i> .....	13
2.5. <i>Magnetic Activated Cell Separation (MACS)</i> .....	14
2.6. <i>Flow Cytometry</i> .....	17
2.7. <i>Polymerase Chain Reaction (PCR)</i> .....	18
2.8. <i>Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)</i> ..	22

### **BAB III ALAT, BAHAN DAN METODE PENELITIAN**

3.1. Objek Penelitian.....	23
3.2. Metode Penelitian.....	23
3.3. Alat dan Bahan.....	23
3.4. Cara Kerja.....	26

### **BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN**

4.1. Isolasi <i>Mononuclear Cell</i> (MNC).....	32
4.2. Separasi Sel Mononuklear CD34+ ( <i>Stem Cell</i> ) dengan Metode <i>Magnetic-Activated Cell Separation</i> (MACS).....	32
4.3. Konfirmasi Kemurnian dengan <i>Flow Cytometry</i> .....	33
4.4. Isolasi mRNA dengan <i>GenElute Direct</i> .....	34
4.5. RT-PCR dengan Menggunakan Primer Fc RIIb dan Primer - actin.....	34

### **BAB V KESIMPULAN DAN SARAN**

5.1. Kesimpulan.....	38
5.2. Saran.....	38

### **DAFTAR PUSTAKA.....**

39

### **LAMPIRAN.....**

42

### **RIWAYAT HIDUP.....**

44

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.	<i>Stem Cell</i> .....	4
Gambar 2.2.	<i>Stem Cell</i> Berdasarkan Kemampuan Diferensiasi.....	5
Gambar 2.3.	<i>Embryonic Stem Cell</i> .....	6
Gambar 2.4.	Sumber <i>Adult Stem Cell</i> dan Jaringan Hasil Diferensiasi.....	7
Gambar 2.5.	<i>Adult Stem Cell</i> .....	8
Gambar 2.6.	<i>Hematopoietic Stem Cell Markers</i> .....	11
Gambar 2.7.	Gambar Skematik Immunoglobulin.....	12
Gambar 2.8.	Tahap-tahap dalam MACS.....	16
Gambar 2.9.	Gambar Skematik <i>Flow Cytometry</i> .....	18
Gambar 2.10.	Tahapan PCR.....	21
Gambar 3.1	Diagram Penelitian Langkah Kerja.....	30
Gambar 4.1	Diagram Penelitian dengan Hasil <i>Flow Cytometry</i> .....	32

## DAFTAR TABEL

Tabel 3.1. Primer yang Digunakan.....	25
Tabel 3.2. Volume Masing-masing Reagen untuk Membuat <i>Master Mix</i> .....	28
Tabel 3.3. Program RT-PCT dengan Primer Fc RIIb dan Primer <i>-actin</i> .....	29