

ABSTRAK

DETEKSI Fc RIIA PADA *STEM CELL* YANG DIISOLASI DARI *UMBILICAL CORD BLOOD*

Lucia Leonie L. S, Hp, 2009. Pembimbing 1 : Caroline Tan Sardjono, dr, Ph.D

Pembimbing 2 : Rimonta F Gunanegara, dr, SpOG

Stem cell saat ini telah menjadi salah satu kandidat *cell based therapy* dalam dunia medis terutama dalam terapi pengobatan penyakit autoimun yang melibatkan baik *autoantibody* maupun antibody terhadap jaringan. Interaksi antara antibody dengan reseptor nya selama ini belum pernah dilaporkan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendeteksi ekspresi Fc RIIA pada *Hematopoietic Stem Cell* yang diisolasi dari *umbilical cord blood*. Penelitian ini menggunakan metode *laboratory experimental*. Setelah diisolasi dan diamplifikasi dengan RT-PCR pada gel agarosa 2,5% hasil yang ada menunjukkan *band* yang diharapkan yaitu antara 300-600 bp. Kesimpulannya, *Hematopoietic Stem Cell* yang diisolasi dari *umbilical cord blood* mengekspresikan Fc RIIA

Kata kunci : *Hematopoietic Stem Cell, umbilical cord blood*, ekspresi Fc RIIA, RT-PCR

ABSTRACT

DETECTION Fc RIIA in STEM CELL ISOLATED FROM UMBILICAL CORD BLOOD

Lucia Leonie Levita S, Hp, 2009. *First Tutor* : Caroline Tan Sardjono, dr, Ph.D

Second Tutor : Rimonta F Gunanegara, dr, SpOG

Stem cell has being a candidate of cell based therapies especially the therapy for autoimmune diseases including autoantibody and its receptor has never been reported yet so far. The aim of this research is detecting Fc RIIA expression to the Hematopoietic Stem Cell which isolated from umbilical cord blood. This research was laboratory experimental. After being isolated and amplified with RT- PCR to the agarose gel 2,5 %, the result showed the band between 300 and 600 bp ,it means electrophoresis gel agarose showed the expected band. The conclusion is Fc RIIA expression to the Hematopoietic Stem Cell which isolated from umbilical cord blood.

Key words : Hematopoietic Stem Cell, umbilical cord blood, Fc RIIA expression, RT- PCR

DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR PERSETUJUAN.....	ii
LEMBAR PERNYATAAN.....	iii
ABSTRAK.....	iv
<i>ABSTRACT</i>	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Identifikasi Masalah.....	2
1.3 Maksud dan Tujuan.....	2
1.4 Manfaat Penelitian.....	2
1.5 Kerangka Penelitian dan Hipotesis Penelitian.....	3
1.6 Metode penelitian.....	4
1.7 Lokasi dan waktu penelitian.....	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 <i>Stem Cell</i>	5
2.1.1 Sejarah Pemanfaatan <i>Stem Cell</i>	5
2.1.2 Definisi dan Pembagian <i>Stem Cell</i>	6
2.1.3 Fungsi <i>Stem Cell</i>	9
2.2 <i>Stem Cell Markers</i>	10

2.2.1 <i>Embryonic Stem Cell Markers</i>	10
2.2.2 <i>Hematopoietic Stem cell markers</i>	11
2.3 <i>Umbilical Cord Blood</i>	13
2.3.1 Karakteristik dari <i>cord blood cells</i>	14
2.4 <i>Polymerase Chain Reaction (PCR)</i>	15
2.4.1 Tahapan dari PCR.....	16
2.4.2 RT-PCR.....	21
2.5 <i>Fc Receptor</i>	21
2.5.1 Fungsi dari <i>Fc receptor</i>	23
2.5.2 <i>Fc gamma receptor (Fc γ receptor)</i>	24
2.5.3 Mekanisme sinyal dari <i>Fc receptor</i>	29
2.6 <i>Isolasi Mononuclear Cell (MNC) dengan Ficoll Paque TM PLUS</i>	33
2.7. <i>Flowcytometry</i>	34
2.7.1 Definisi <i>Flowcytometry</i>	34
2.7.2 <i>Gating</i>	37
2.7.3 Analisis Data.....	38
2.8. <i>Magnetic Activated Cell Sorting (MACS)</i>	38
BAB III BAHAN,ALAT, DAN METODE	40
3.1 Objek Penelitian.....	40
3.2 Metode penelitian.....	40
3.3. Alat dan Bahan.....	41
3.3.1 Bahan.....	41
3.3.2 Alat.....	45
3.4 Cara Kerja.....	46
3.4.1 <i>Thawing Hematopoietic Stem Cell</i>	46
3.4.2. Separasi MACS.....	47
3.4.3 Isolasi mRNA.....	48
3.4.4. <i>Flowcytometry Assay</i>	49
3.4.5 RT-PCR.....	49
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	52

4.1 Isolasi MNC.....	52
4.2 <i>Stem cell selection</i>	53
4.3 Isolasi mRNA.....	54
4.4 <i>One step</i> RT PCR.....	55
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	60
5.1 Kesimpulan.....	60
5.2 Saran.....	60
DAFTAR PUSTAKA.....	61
LAMPIRAN.....	64
RIWAYAT HIDUP.....	67

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Pembagian <i>Fc Receptor</i>	25
Tabel 2.2 Karakteristik <i>Fc R II</i>	27
Tabel 3.1 Primer yang digunakan.....	43
Tabel 3.2 Master Mix <i>one step</i> RT-PCR dengan primer <i>actin</i> dan <i>Fc RIIA</i>	50
Tabel 3.3 Program <i>one step</i> RT-PCR <i>actin</i> dan <i>Fc RIIA</i>	50

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 <i>Embryonic Stem Cell</i>	7
Gambar 2.2 <i>Adult Stem cell</i>	8
Gambar 2.3 <i>Embryonic Stem Cell Markers</i>	11
Gambar 2.4 <i>Hematopoietic Stem Cell Markers</i>	12
Gambar 2.5 <i>Umbilical cord</i>	14
Gambar 2.6 Tahapan dari PCR.....	18
Gambar 2.7 Amplifikasi gen pada sekuensing.....	19
Gambar 2.8 Pemisahan molekul dengan elektroforesis.....	20
Gambar 2.9 <i>Fc receptor</i>	23
Gambar 2.10 Struktur <i>immunoglobulin</i>	24
Gambar 2.11 Mekanisme sinyal <i>Fc receptor</i>	31
Gambar 2.12 <i>Activating and Inhibitory Fc Receptors</i>	32
Gambar 2.13 Isolasi <i>mononuclear cell</i>	33
Gambar 2.14 <i>Flowcytometry</i>	34
Gambar 2.15 <i>Fluidics System</i>	35
Gambar 2.16 <i>Optical System</i>	36
Gambar 2.17 <i>Gating</i>	37

Gambar 2.18 <i>Magnetic Activated Cell Sorting</i>	39
Gambar 4.1 Isolasi MNC.....	52
Gambar 4.2 Presentase sel CD 34+ sebelum dan sesudah MACS.....	53
Gambar 4.3 Visualisasi hasil RT PCR pada gel agarosa 2,5 %.....	55
Gambar 4.4 Cek kontaminan mRNA dengan PCR.....	56
Gambar 4.5 struktur <i>aktin</i>	58

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Elektroforesis.....	64
Thermal cycle Eppendorf.....	64
Mikropipet BioRad.....	64
Timbangan Precisa XT 1200C.....	65
Gel documentation tools G-Box (Syngene) dengan <i>software</i> Genesnap.....	65
Vortexer BioRad BR 2000.....	65
Mikroskop Zeiss.....	66