



Perbedaan Proliferasi Sel Punca Jenis Bone Marrow dan Jenis Wharton's Jelly

Muhammad Arif ¹, Hirowati Ali ², Yusticia Katar ³

¹ Profesi Dokter, Fakultas Kedokteran Universitas Andalas, Padang

² Bagian Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Andalas, Padang

³ Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas, Padang

ABSTRACT

Latar Belakang. Sel punca adalah jenis sel yang dapat berproliferasi dan berdiferensiasi menjadi jenis sel lain yang terdapat pada tubuh manusia. Berkat kemampuannya ini sel punca diharapkan menjadi pilihan terapi regeneratif dalam pelayanan kesehatan. Berbagai macam sumber sel punca di dalam tubuh manusia telah banyak ditemukan, salah satunya sel punca mesenkimal yang berasal dari *bone marrow* dan *Wharton's jelly*.

Metode. Penelitian yang dilakukan menggunakan desain true experimental dengan studi *in vitro*. Penelitian dilakukan di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Andalas Padang. Sampel penelitian adalah sel punca mesenkimal jenis *bone marrow* dan sel punca mesenkimal jenis *Wharton's jelly*.

Hasil. Hasil dari penelitian didapatkan perbedaan gambaran serta hasil hitung proliferasi antara *bone marrow* dan *Wharton's jelly*. Data akhir dari hasil hitung proliferasi didapatkan *Wharton's jelly* lebih banyak dari pada *bone marrow*.

Kesimpulan. Sumber sel yang berbeda serta umur jaringan tersebut ketika diisolasi memberikan pengaruh terhadap hasil proliferasi sel punca.

Kata kunci. Sel punca mesenkimal, *bone marrow*, *Wharton's jelly*

Background. Stem cells are a type of cell that can proliferate and differentiate into other types of cells found in the human body. Because this ability, it is hoped that stem cells will become an option for regenerative therapy in health services. Various sources of stem cells in the human body have been found, one of which is mesenchymal stem cells derived from bone marrow and Wharton's jelly

Objective. Knowing the difference in the proliferation count results of 2 stem cells with different sources, the bone marrow and Wharton's jelly.

Method. The research was conducted using a true experimental design with *in vitro* studies. The research was conducted at the Biomedical Laboratory of the Faculty of Medicine, Andalas University, Padang. Research sample are mesenchymal stem cells of the bone marrow type and mesenchymal stem cells of Wharton's jelly type.

Result. The results of the study showed differences in the view and differences in the results of the proliferation count between bone marrow and Wharton's jelly. The final data from the proliferation count results showed that Wharton's jelly was more than bone marrow.

Conclusion. Different cell sources and the age of the tissue when isolated have an effect on the results of stem cell proliferation.

Keywords. Mesenchymal stem cells, bone marrow, Wharton's jelly

Apa yang sudah diketahui tentang topik ini?

Bone marrow dan *Wharton's jelly* memiliki antigen permukaan dan morfologi yang sama.

Apa yang ditambahkan pada studi ini?

Perbedaan kecepatan proliferasi antara 2 jenis sel punca mesenkimal yang berbeda.

CORRESPONDING AUTHOR

Phone: -

E-mail: bntrrtnb@gmail.com

ARTICLE INFORMATION

Received: January 22nd, 2021

Accepted: March 18th, 2022

Available online: May 18th, 2022

Pendahuluan

Ilmu kedokteran regeneratif akan menjadi suatu bentuk pelayanan kesehatan dimasa depan. Salah satu yang berkembang saat ini adalah bioteknologi sel punca. Walau sel punca belum menjadi terapi standar, dimasa depan terapi sel punca dianggap batas akhir dari terapi penyakit.¹

Dalam suatu penelitian mengenai jumlah uji klinis dari sel punca memakai WHO *International Clinical Trials Registry Platform* dan *ClinicalTrials.gov* sebelum 1 Januari 2013, didapatkan 4749 uji klinis mengenai sel punca. Dari keseluruhan data uji klinis mengenai penyakit yang banyak diterapi, penyakit kardiovaskular menempati urutan pertama, penyakit neurologis di urutan kedua, diikuti dengan kanker dan penyakit lainnya. Mekanisme penyakit yang mendapat terapi terbanyak ialah cedera dan penyakit degeneratif, iskemia, dan penyakit akibat efek samping radioterapi serta kemoterapi. Tipe sel punca yang digunakan paling banyak ialah hematopoietik dan mesenkimal. Sumber sel punca paling banyak digunakan ialah *bone marrow*, darah tepi, serta tali pusat. Kenaikan jumlah uji klinis tersebut meningkat pesat sejak 2006 setelah digunakannya *Mesenchymal Stem Cells* (MSC).²

Mesenchymal Stem Cells adalah jenis sel stroma dengan ekspresi antigen permukaan spesifik CD105(+)/CD90(+)/CD73(+), CD34(-)/CD45(-)/CD11b(-) dan memiliki sifat diferensiasi multipotensial (osteogenik, kondrogenik, dan adipogenik). *Mesenchymal Stem Cells* dapat dibagi menjadi dua, MSC dewasa dan MSC janin / perinatal. Yang berasal dari jaringan dewasa ialah sumsum tulang (BM-MSC) dan jaringan adiposa (AD-MSC), dan dari jaringan janin / perinatal adalah sel-sel yang diperoleh dari embrio / janin itu sendiri dan sel-sel yang diperoleh dari jaringan ekstra-embriionik atau dikenal sebagai *birth associated tissues*, seperti tali pusat, sel punca mesenkimal *Wharton's jelly* dan membran amnion.³

Selama beberapa tahun, MSC telah dianggap sebagai pilihan terapi dalam pengobatan regeneratif. Meskipun dalam beberapa tahun terakhir beberapa jaringan telah digambarkan sebagai sumber potensial bagi MSC, sumsum tulang manusia tetap menjadi salah satu yang paling banyak diteliti serta menjadi jaringan yang paling banyak digunakan untuk mendapatkan populasi sel punca mesenkimal. Meskipun sumber

utama untuk MSC adalah sumsum tulang, tetapi baru-baru ini *Wharton's jelly* telah diakui sebagai sumber yang sangat baik untuk isolasi MSC.^{4 5}

Kemampuan proliferasi terjadi saat siklus sel berulang tanpa hambatan, sehingga dapat terbentuk sel baru. Siklus sel menandakan adanya pertumbuhan sel yang berlangsung selama kultur sel dan sejalan dengan waktu. Sel punca memiliki kemampuan proliferasi agar dapat membentuk sel baru baik sel punca itu sendiri maupun sel yang nantinya akan terdiferensiasi, sehingga pembentukan suatu jaringan baru dapat terjadi.

Kemampuan sel punca untuk berproliferasi lebih banyak menandakan salah satu sifat sel punca yaitu *self-renewal* menjadi lebih baik, sehingga sel tersebut dapat menghasilkan sel serupa lebih banyak yang siap untuk berdiferensiasi.⁶ Penelitian ini membandingkan perbedaan proliferasi dua jenis sel punca yaitu *bone marrow* dan *Wharton's jelly*.

Metode

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah *true experimental* dengan studi *in vitro*. Sampel dari penelitian ini adalah sel punca mesenkimal jenis *bone marrow* dan sel punca mesenkimal jenis *Wharton's jelly* yang berhasil ditumbuhkan di Laboratorium Kultur Sel Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Andalas. Teknik pengambilan sampel berdasarkan metode *in vitro* kultur sel. Sel punca mesenkimal *bone marrow* dan sel punca mesenkimal *Wharton's jelly* masing-masing ditumbuhkan di dalam 6 *wells plate* kemudian diinkubasi hingga konfluens 80 %. Pada masing-masing *wells* terdapat 10^5 sel/mL.

Dalam proses penelitian dilakukan *cell thawing*, penanaman sel, penghitungan sel, serta uji proliferasi dengan menggunakan mikroskop *inverted*.

Data yang diperoleh dari uji proliferasi diolah menggunakan *independent sample T-test* untuk membandingkan 2 sampel yang tidak saling berhubungan dengan nilai $p < 0.05$ dianggap signifikan. Hasil yang diperoleh akan menentukan sel punca mana yang memiliki kemampuan proliferasi lebih banyak.

Hasil

Penelitian dilakukan menggunakan 2 jenis sel punca mesenkimal dengan sumber berbeda yang masing-masing terdiri atas 9 sumuran. Dilakukan

uji proliferasi untuk 24 jam pada 3 sumuran pertama, 48 jam untuk 3 sumuran kedua, dan 72 jam untuk 3 sumuran ketiga.

1. Hasil Uji Proliferasi

Tabel 1. Hasil hitung jumlah proliferasi sel punca jenis *bone marrow*

| Waktu | Bone Marrow (Jumlah sel/mL) | | |
|--------|-----------------------------|---------|---------|
| | 1 | 2 | 3 |
| 24 jam | 98.000 | 100.000 | 105.000 |
| 48 jam | 110.000 | 115.000 | 125.000 |
| 72 jam | 130.000 | 145.000 | 160.000 |

Tabel 2. Hasil hitung jumlah proliferasi sel punca jenis *Wharton's jelly*

| Waktu | Wharton's Jelly (Jumlah sel/mL) | | |
|--------|---------------------------------|---------|---------|
| | 1 | 2 | 3 |
| 24 jam | 110.000 | 115.000 | 130.000 |
| 48 jam | 140.000 | 150.000 | 155.000 |
| 72 jam | 160.000 | 170.000 | 175.000 |

Dari uji proliferasi menggunakan hemositometer didapatkan hasil hitung dari sel punca mesenkimal *bone marrow* dan *Wharton's jelly*. Hasil hitung kedua jenis sel menunjukkan terdapat kenaikan jumlah sel yang berbanding lurus dengan waktu. Terdapat hasil hitung yang berbeda di setiap sumuran dari kedua jenis sel yang diuji.

2. Analisis Data

Tabel 3. Hasil uji statistik proliferasi 2 jenis sel punca dalam 24 jam

| Jenis Sel | Mean | SD | SE | P value |
|-----------|--------|---------|--------|---------|
| BM | 101000 | 3605.5 | 2081.6 | 0.053 |
| WJ | 118333 | 10408.3 | 6009.2 | |

Pada uji homogenitas menggunakan uji Lavene menghasilkan nilai $p = 0.118$ sehingga tidak terdapat perbedaan varian dan dianggap homogen ($p > 0.05$). Selanjutnya dilakukan analisis statistik untuk sel punca dalam 24 jam. Ditemukan nilai p uji T ialah 0.053 ($p > 0.05$). Nilai ini menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara hasil hitung proliferasi sel punca jenis *bone marrow* maupun *Wharton's jelly* pada 24 jam.

Tabel 4. Hasil uji statistik proliferasi 2 jenis sel punca dalam 48 jam

| Jenis Sel | Mean | SD | SE | P value |
|-----------|--------|--------|--------|---------|
| BM | 116667 | 7637.6 | 4409.5 | 0.007 |
| WJ | 148333 | 7637.6 | 4409.5 | |

Uji homogenitas menggunakan uji Lavene pada kelompok sel 48 jam mendapatkan nilai $p = 1$, tidak terdapat perbedaan varian dan dianggap homogen ($p > 0.05$). Hasil untuk uji T adalah 0.007, sehingga terdapat perbedaan signifikan antara hasil hitung proliferasi sel punca jenis *bone marrow* dan *Wharton's jelly* dalam waktu 48 jam.

Tabel 5. Hasil uji statistik proliferasi 2 jenis sel punca dalam 72 jam

| Jenis Sel | Mean | SD | SE | P value |
|-----------|--------|--------|--------|---------|
| BM | 145000 | 15000 | 8660.2 | 0.074 |
| WJ | 168333 | 7637.6 | 4409.5 | |

Pada hari ke 3 didapatkan uji Lavene mendapatkan nilai $p = 0.456$ sehingga dianggap homogen ($p > 0.05$). Pada hasil menggunakan uji T didapatkan nilai p ialah 0.074 menunjukkan tidak terdapat perbedaan signifikan hasil hitung proliferasi antara sel punca jenis *bone marrow* dan *Wharton's jelly* dalam waktu 72 jam.

Pembahasan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan terhadap 2 jenis MSC di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Andalas, didapatkan hasil dimana terdapat perbedaan hasil proliferasi yang signifikan pada 48 jam, serta perbedaan yang tidak signifikan pada 24 jam dan 72 jam antara *Bone Marrow MSC* dan *Wharton's Jelly MSC*. Dari data hasil hitung sel diketahui bahwa WJ MSC lebih cepat dalam melakukan proliferasi dibandingkan dengan BM MSC.

Perbedaan yang tidak signifikan terjadi pada 24 jam pertama kultur namun nilai p yang diberikan mendekati signifikan, pada durasi tersebut terjadi fase *lag* dalam kultur sel dimana kedua jenis sel mengalami pelekatan pada substrat, melakukan penyebaran sel, dan persiapan sel untuk memasuki siklus, serta inisiasi untuk peningkatan jumlah sel. Dalam 48 jam kultur memasuki fase *log* dimana sel sudah mengalami pertumbuhan dan pembelahan yang cepat, kemampuan proliferasi dari kedua sel terlihat dan mendapatkan perbedaan hasil yang

signifikan antara keduanya. Pada 72 jam mendapatkan hasil yang tidak signifikan, *Wharton's jelly* yang lebih cepat dan menghasilkan sel lebih banyak mengalami perlambatan pertumbuhan akibat memasuki fase *plateau* yang terjadi saat sel menuju konfluens yaitu dimana densitas sel tinggi dan permukaan substrat untuk pertumbuhan sel sudah terpakai, sedangkan *bone marrow* masih dapat tumbuh pada substratnya.⁷

Hasil komparasi lain dengan 2 sel MSC yang berbeda sumber oleh Hass, et al yaitu antara *bone marrow* MSC dan *umbilical cord* MSC menunjukkan hasil yang sesuai. Kedua sel tersebut sama-sama mewakili *adult tissue* MSC dan MSC yang bersumber dari *birth associated tissues*, dimana *umbilical cord* MSC memiliki kapasitas proliferasi yang lebih tinggi sehingga membelah lebih cepat. Populasi yang dihasilkan oleh MSC dari *birth associated tissues* lebih banyak dibanding dengan *bone marrow* dalam waktu yang sama.⁸

Pada penelitian, densitas sel yang dipakai pada awal adalah sama yaitu 1×10^5 sel/mL. Digunakan pasasi yang sama antara kedua sel, yaitu P5. Untuk faktor *plastic surface quality* juga tidak ada perbedaan karena menggunakan jenis *flask* yang sama saat dilakukan kultur. Sehingga faktor densitas awal, *passage number*, dan *plastic surface quality* tidak mempengaruhi hasil dari proliferasi antara 2 jenis sel tersebut karena tidak ada perbedaan.

Selanjutnya terdapat faktor medium kultur dan suplemen yang juga mempengaruhi proliferasi MSC. Penelitian menggunakan medium kultur yang sama yaitu alpha MEM yang disinyalir sebagai medium kultur paling sesuai untuk isolasi dan ekspansi dari MSC.⁹ Untuk serum digunakan 10% Fetal Bovine Serum (FBS) pada kedua jenis sel yang diteliti. Kedua faktor ini juga tidak mempengaruhi perbedaan proliferasi baik BM maupun WJ MSC dalam penelitian.

Faktor yang berbeda dari 2 jenis sel MSC ini ialah sumber sel itu sendiri. *Bone marrow* MSC berasal dari sumsum tulang belakang orang dewasa dan *Wharton's Jelly* MSC berasal dari jaringan ekstraembrionik. Selain itu umur donor juga dapat berperan dalam mempengaruhi hasil proliferasi tersebut. *Bone marrow* MSC yang berasal dari orang dewasa lebih lambat dalam melakukan proliferasi dibandingkan hasil yang diberikan oleh WJ MSC. *Wharton's Jelly* MSC sendiri yang berasal dari jaringan

ekstraembrionik termasuk *birth associated tissues* sehingga termasuk jaringan yg terbentuk bersama fetal. Jaringan ini sangat muda dalam hal umur dibandingkan dengan jaringan dewasa milik BM MSC, sehingga kedua faktor sumber sel dan umur donor atau umur jaringan memberikan pengaruh terhadap hasil penelitian.

Pengaruh faktor tersebut sesuai dengan penelitian yang dilakukan Choudhery, et al yang membandingkan proliferasi sel punca dari jaringan adiposa (jaringan dewasa) dengan sel punca dari jaringan tali pusat. Dari penelitian tersebut didapatkan jaringan tali pusat lebih cepat dalam berproliferasi.¹⁰ Serta penelitian oleh Alves, et al mengenai karakteristik MSC memiliki kaitan dengan umur donor sehingga menghasilkan fenotip molekular yang berbeda, kemampuan proliferasi dan juga kemampuan diferensiasi yang berbeda pula.¹¹

Pada gambaran proliferasi ditemukan MSC berbentuk sel fibroblas yang tipis dan panjang. Pertambahan jumlah sel tersebut sejalan dengan pertambahan waktu, dan sel yang dihasilkan berbentuk sama. Proses yang terjadi menunjukkan aktivitas pembelahan simetris yang bertujuan membentuk sel yang serupa dengan sel induk.¹² Tidak ada perbedaan gambaran morfologi sel antara BM MSC dan WJ MSC secara mikroskopis, hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Talebian, et al dimana morfologi dan marker kedua sel sama.¹³ Namun pada hitung hasil proliferasi menurut jumlah sel yang dihasilkan, *Wharton's jelly* lebih banyak daripada *bone marrow*.

Dalam kondisi kultur, proliferasi dari MSC sangat tidak konsisten akibatnya potensi yang diberikan kadang tinggi dan terkadang rendah serta sangat mempengaruhi aplikasinya dalam ilmu kedokteran regeneratif. Penelitian tentang potensi terapi MSC masih dalam tahap awal dan membutuhkan banyak riset sebelum digunakan secara rutin sebagai terapi sel, Dan saat sekarang ini masih diperdebatkan mengenai bagaimana caranya potensi self renewal, diferensiasi, migrasi dan imunomodulasi MSC dapat dikendalikan.⁹

Simpulan

Berdasarkan penelitian ini didapatkan kesimpulan bahwa terdapat perbedaan secara kuantitatif pada hasil proliferasi antara jenis sel MSC *bone marrow* dan *Wharton's jelly*, perbedaan hasil secara statistik signifikan pada 48 jam,

sedangkan pada 24 jam serta 72 jam perbedaan yang didapat tidak signifikan. Sumber sel yang berbeda serta umur jaringan tersebut ketika diisolasi memberikan pengaruh terhadap hasil proliferasi.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada seluruh pihak yang turut membantu dalam menyelesaikan penelitian ini.

Daftar Pustaka

1. Alwi I. Perkembangan Terapi Sel Punca (Stem Cell) Pada Penyakit Jantung: Masa Kini dan Masa Depan. *Medica Hosp J Clin Med.* 2013;1(2):72.
2. Li MD, Atkins H, Bubela T. The global landscape of stem cell clinical trials. *Regen Med.* 2014;9(1):30.
3. Marino L, Castaldi MA, Rosamilio R, Ragni E, Vitolo R, Fulgione C, et al. Mesenchymal Stem Cells from the Wharton's Jelly of the Human Umbilical Cord: Biological Properties and Therapeutic Potential. *Int J Stem Cells.* 2019;12(2):219.
4. Barreto-Durán E, Mejía-Cruz CC, Leal-García E, Pérez-Núñez R, Rodríguez-Pardo VM. Impact of donor characteristics on the quality of bone marrow as a source of mesenchymal stromal cells. *Am J Stem Cells.* 2018;7(5):114–5.
5. Khatami SM, Zahri S, Maleki M, Hamidi K. Stem cell isolation from human Wharton's jelly: A study of their differentiation ability into lens fiber cells. *Cell J.* 2014;15(4):364.
6. Halim D. *Stem Cell – Dasar Teori & Aplikasi Klinis.* Erlangga; 2010: 4–125.
7. Assanga I. Cell growth curves for different cell lines and their relationship with biological activities. *Int J Biotechnol Mol Biol Res.* 2013;4(4):60–70.
8. Hass R, Kasper C, Böhm S, Jacobs R. Different populations and sources of human mesenchymal stem cells (MSC): A comparison of adult and neonatal tissue-derived MSC. *Cell Commun Signal [Internet].* 2011;9(1):12.
9. Sisakhtnezhad S, Alimoradi E, Akrami H. External factors influencing mesenchymal stem cell fate in vitro. *Eur J Cell Biol.* 2017;96(1):1–80.
10. Choudhery MS, Badowski M, Muise A, Harris DT. Comparison of human mesenchymal stem cells derived from adipose and cord tissue. *Cytotherapy.* 2013;15(3):330–43.
11. Alves H, van Ginkel J, Groen N, Hulsman M, Mentink A, Reinders M, et al. A mesenchymal stromal cell gene signature for donor age. *PLoS One.* 2012;7(8).
12. Bongso A, Lee EH. *Stem cells: From bench to bedside.* World Scientific. 2005: 1–10.
13. Talebian N, Parivar K, Kafami L, Marzban M, Shirmohammadi M, Joghataei MT. Comparative Analysis of Mesenchymal Stem Cells Isolated from Human Bone Marrow and Wharton's Jelly. *Anat Sci J.* 2013;10(2):73–8.