

**Efek Terapi Rat Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell (RBM-MSC) pada Sel Endotel Tikus Putih yang diinduksi Carbon Black terhadap Jumlah Sel Hofbauer****Therapeutic Effect Rat Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell (RBM-MSC) at the White Rat Endothelial Cells Induced Carbon Black to Total Hofbauer Cells****Bodhi Agustono<sup>1</sup>, Sri Pantja Madyawati<sup>2</sup>, Rimayanti<sup>2</sup>, Widjiati<sup>2</sup>**<sup>1</sup>Program Studi Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Kampus Banyuwangi,<sup>2</sup>Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga

Jl. Wijaya Kusuma No. 113 Banyuwangi 68425, Indonesia

Kampus C. Jl. Mulyorejo Surabaya 60115

Tlp. 0315992785 Fax. 0315591530

e-mail : bodiagustono.drh@gmail.com

**Abstract**

The aim of this research was to prove efficacy of *Rat Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell* (RBM-MSC) could reduce the number of Hofbauer cells of mice induced by *carbon black*. This research was a experimental laboratory, with six groups of treatment and eight times repetitions using female mice (*Rattus norvegicus*). The study started by fertilization of female mice following by induction with *carbon black* doses 532 mg/m3. In treatment's group P1.3 and P2.3 treated with RBM-MSC doses  $1 \times 10^6$  cells/ 0,1 ml intravenously. Following steps were observation and examination of total Hofbauer cell from mice placenta.

The results of carbon black induction on 6-11 and 6-17 days of gestation showed different the number of Hofbauer cell between control groups (P1.2 and P2.2) and treatment groups (P1.1 and P2.1). Mean while in comparation between treated group with induction *carbon black* (P1.1 and P2.1) with treated group with RBM-MSC following induction of carbon black (P1.3 and P2.3) did not show significant difference. In summary, RBM-MSC treatment in mice on 6-11 and 6-17 day of gestation , have not supress the number of hofbauer cell because of short time for RBM-MSC to perform optimal.

**Keywords:** *Carbon black*, Hofbauer cell, *Rat Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell* (RBM-MSC)

**Pendahuluan**

*Partikulat Matter* (PM) adalah salah satu parameter polutan di udara. Unsur partikulat ini dapat mempengaruhi kesehatan manusia sebagai reseptor terutama menyebabkan gangguan pada sistem respirasi. Berbagai ukuran partikulat yang dapat masuk ke dalam

sistem respirasi yakni ukuran 5 - 10  $\mu\text{m}$  akan mudah tersaring secara fisik oleh rambut-rambut halus dalam rongga hidung, ukuran 2 - 5  $\mu\text{m}$  akan terendapkan di alveoli, ukuran < 2  $\mu\text{m}$  akan mudah masuk ke dalam saluran respirasi. Salah satu PM yang mencemari udara mempunyai komponen yaitu *Soot* atau

jelaga yang diketahui bersifat sitotoksik dan teratogenik serta menyebabkan terjadinya inflamasi pada sistem pernafasan dan kardiovaskular. PM juga dapat melewati barrier plasenta sehingga dapat mempengaruhi perkembangan janin (Dejmek *et al.*, 1999; Dewi, 2009; Garza *et al.*, 2008)

*Carbon black* merupakan salah satu PM yang mengkontaminasi lingkungan dengan warna kehitaman. Kontaminasi lingkungan yang berwarna kehitaman dapat juga disebabkan karena hasil pembakaran bahan bakar atau jelaga yang tidak sempurna. (Dewi, 2009; Wampler, 2005).

Efek yang ditimbulkan oleh polutan tergantung dari besarnya induksi dan lama waktu induksi yang dapat mempengaruhi kesehatan maternal perinatal (Dachlan *et al.*, 2011). Masuknya induksi partikulat termasuk *carbon black* akan dikenali oleh sel makrofag dalam tubuh terutama pada plasenta, jika *carbon black* mengalami translokasi ke dalam sirkulasi darah. Sel makrofag akan memproduksi sitokin TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6, IL-8, IFN- $\alpha$  dan iNOS untuk memicu sel T dan Neutrofil serta memicu stress oksidatif pada sel endotel dan fibroblas (Elder *et al.*, 2005). Pada plasenta terdapat sel makrofag yang secara khusus berperan dalam *barrier* plasenta, sel makrofag plasenta disebut sel Hofbauer yang memiliki aktifitas fagositosis seperti sel makrofag pada umumnya dalam merespon adanya benda asing maupun respon inflamasi (Mouzon and Guerre-Millo, 2006).

Selama dekade terakhir penggunaan sel punca dalam peningobatan penyakit telah meningkat pesat. Penyakit yang dimaksud antara lain, penyakit yang sudah tidak mungkin lagi diobati baik secara konservatif maupun operatif, penyakit degeneratif dan trauma. Dalam bidang farmakologi para peneliti juga menggunakan sel punca untuk menguji obat-obat baru. Tentu saja penggunaan sel punca dalam bidang penelitian dan

pengobatan penyakit ini tidak terlepas dari potensi nilai bisnis yang akan diraih manakala sel punca ini sudah dapat digunakan untuk mengobati penyakit-penyakit atau kelainan-kelainan pada manusia (Jusuf, 2008).

Pemanfaatan *Rat Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell* (RBM-MSC) untuk terapi digunakan sebagai alat pembawa transgen ataupun sel ke dalam tubuh karena *stem cell* ini mempunyai kemampuan mengekspresikan gen atau sel tertentu dalam tubuh. RBM-MSC mempunyai sifat *self renewing*, sehingga pemberian terapi tidak perlu dilakukan berulang-ulang. Selain itu sifat *hematopoietic stem cell* juga dapat berdifferensiasi menjadi bermacam-macam sel, sehingga sel tersebut dapat menetap diberbagai macam sel dan memperbaiki sel yang mengalami kerusakan melalui proses pembelahan sel (Jamur *et al.*, 2001). Pada kasus teratogenik, pemberian RBM-MSC dapat menekan terjadinya inflamasi, apoptosis dan cacat kongenital (Lee *et al.*, 2007).

Oleh karena pemanfaatan RBM-MSC untuk terapi kasus teratogenik perlu kajian secara biomolekuler reproduksi untuk mengungkap mekanisme gangguan pada plasentasi selama kebuntingan sebagai dasar pembuktian kajian secara ilmiah.

## Materi dan Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan Pola Faktorial. Sebanyak 48 ekor tikus betina bunting dibagi menjadi enam kelompok perlakuan. Perlakuan  $P_1$ . Kelompok-1 (tanpa dipapar *carbon black* pada umur kebuntingan 6-11 hari),  $P_1$ . Kelompok-2 (dipapar *carbon black* pada umur kebuntingan 6-11 hari dosis 532 mg/m<sup>3</sup> selama 4 jam),  $P_1$ . Kelompok-3 (dipapar *carbon black* pada umur kebuntingan 6-11 hari dosis 532 mg/m<sup>3</sup> selama 4 jam + RBMMSC 1x10<sup>6</sup>/0,1 ml I.V),  $P_2$ . Kelompok-1 (tanpa dipapar *carbon*

*black* pada umur kebuntingan 6-17 hari), P<sub>2</sub>.Kelompok-2 (dipapar *carbon black* pada umur kebuntingan 6-17 hari dosis 532 mg/m<sup>3</sup> selama 4 jam), P<sub>2</sub>.Kelompok-3 (dipapar *carbon black* pada umur kebuntingan 6-17 hari dosis 532 mg/m<sup>3</sup> selama 4 jam + RBMMSC 1x10<sup>6</sup>/0,1 ml I.V).

## Hasil dan Pembahasan

### Jumlah Sel Hofbauer

Pengaruh terapi *Rat Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell* (RBM-MSC) pada tikus putih yang di induksi *carbon black* terhadap jumlah sel Hofbauer pada tiap perlakuan berdasarkan lama induksi pada periode kebuntingan (6-11 hari; 6-17 hari) dengan pewarnaan Hemaktoxylin dan Eosin (HE). Analisis data jumlah sel Hofbauer diuji menggunakan *One-Way ANOVA*, didapatkan hasil yang tidak berbeda nyata ( $p > 0,05$ ), kemudian dilanjutkan uji Duncan.

Jumlah sel Hofbauer yang terlihat pada tabel 1 Rerata dan Simpangan Baku Jumlah Sel Hofbauer pada Plasenta Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Dipapar *Carbon Black*, kedua perlakuan yang di terapi pada umur kebuntingan minggu ke-2 dan minggu ke-3 mengindikasikan bahwa dalam pemberian terapi RBM-MSC yang dilakukan sekali dengan dosis 1x10<sup>6</sup> sel/ 0,1 ml pada hari ke-11 dan ke-17 yang kemudian sehari berikutnya dilakukan euthanasia dan pembedahan kurang memberikan efek yang signifikan dalam menghambat maturasi monosit/sel Hofbauer serta menekan fungsi dari M1 yang memiliki sifat pro-inflamasi.

Tabel 1. Rerata dan Simpangan Baku Jumlah Sel Hofbauer pada Plasenta Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Dipapar *Carbon Black*.

Perlakuan	$\Sigma$ Sel Hofbauer $X \pm SD$
P1.1	7.38 <sup>b</sup> ± 1.061
P1.2	5.38 <sup>a</sup> ± 1.302
P1.3	7.00 <sup>b</sup> ± 1.690
P2.1	12.75 <sup>c</sup> ± 1.488
P2.2	4.25 <sup>a</sup> ± 1.035
P2.3	11.63 <sup>c</sup> ± 1.061

Superskrip dengan notasi yang berbeda dalam kolom yang sama menandakan terdapat perbedaan yang signifikan ( $p < 0,05$ ).

- P1.1 : Umur kebuntingan 6-11 hari, tanpa paparan *carbon black*.
- P1.2 : Umur kebuntingan 6-11 hari, dosis paparan *carbon balck* 532 mg/m<sup>3</sup>.
- P1.3 : Umur kebuntingan 6-11 hari, paparan *carbon black* + RBM-MSC 10<sup>6</sup>/0,1ml.
- P2.1 : Umur kebuntingan 6-17 hari, tanpa paparan *carbon black*.
- P2.2 : Umur kebuntingan 6-17 hari, dosis paparan *carbon black* 532 mg/m<sup>3</sup>.
- P2.3 : Umur kebuntingan 6-17 hari, paparan *carbon black* + RBM-MSC 10<sup>6</sup>/0,1ml.

Pada beberapa studi pemberian terapi RBM-MSC dalam menghambat aktifitas sel Hofbauer (M1) yang pro-inflamasi, dilakukan dengan pemberian dosis dari RBM-MSC sebanyak 2 x 10<sup>6</sup> sel RBM-MSC yang kemudian dilakukan pembedahan dan preparasi pada hari ke 14 pasca terapi RBM-MSC. RBM-MSC diketahui mampu mensekresi PGE2 yang merupakan salah satu derivat dari asam arachidonic yang dihasilkan melalui proses sintesis prostaglandin di dalam RBM-MSC,

yang dalam proses sintesisnya melalui jalur NFkB dan aktifitas dari beberapa substrat COX2 (Kalinski, 2012). PGE2 memiliki sifat immunosupresan dengan menekan fungsi sel Hofbauer (M1) yang proinflamasi, tetapi disisi lain mampu meningkatkan fungsi sel Hofbauer yang anti inflamasi dengan memproduksi dan meriliskan interleukin 10 (IL-10). Komunikasi antar sel antara RBM-MSC dan sel Hofbauer diperankan oleh EP2 dan EP4 yang menerima sinyal dari RBM-MSC melalui PGE2. IL-10 berperan dalam penghambatan netrofil menuju jaringan cedera dan mencegah kerusakan oksidatif (Bartosh *et al*, 2013).

### **Daftar Pustaka**

- Bartosh, T.J., J.H. Ylöstalo., N. Bazhanov. J. Kuhlman, and D. J. Prockop. 2013. Dynamic Compaction Of Human Mesenchymal Stem/ Precursor Cells (Msc) Into Spheres Self-Activates Caspase- Dependent Il1 Signaling To Enhance Secretion Of Modulators Of Inflammation And Immunity (Pge2, Tsg6 And Stc1). Texas A & M Health Science Center College of Medicine. Institute for Regenerative Medicine at Scott & White.
- Dachlan, E.G., Widjiati dan S. Budi. 2011. Pengaruh Induksi Partikulat Jelaga Terhadap Peningkatan Lipid Perodsidase, Kejadian Apoptosis Plasenta dan luaran Kebuntingan Pada Mekanisme Molekular Gangguan Kebuntingan Tikus (Ratus norvegicus). Universitas Airlangga. Surabaya. 22-32.
- Dejmek, J., S.G. Selevan, I. Benes, I. Solansky and R.J. Sram. 1999. Fetal growth and maternal exposure to PM during pregnancy. Environmental Health Perspectives 107 960: 475-80.
- Devries, C., J.A. Escobedo, H. Ueno, K. Houck, N. Ferrara and L.T. Wiliams. 1992. The fms-like tyrosine kinase, a receptor for vascular endotelial growth factor. J. Science, 225 (5047) : 989-991.
- Dewi, N. 2009. Karakteristik kimia induksi partikulat terespirasi. Program Studi Teknik Lingkungan, Fakultas Teknik Sipil dan Lingkungan Institut Teknologi Bandung.
- Elder, A., R. Gelein., J. N. Finkelstein., K. E. Driscoll., J. Harkema and G. Oberdorster. 2005. Effects of Subchronically Inhaled Carbon Black in Three Species. Toxicological Sciences 88(2): 614–629.
- Garza, K.M., K.F. Soto and L.E. Murr. 2008. Cytotoxicity and reactive oxygen spesies generation from aggregated carbon and carbonaceous nanoparticulate materials. International Journal of Nanomedicine 3 (1): 83-94.
- Jamur, M.C., A.C.G. Grodzki, A.N. Moreno, L.F.C. deMello, M.V.D. Pastor, E.H. Berenstein, R.F.P. Siraganian and C. Oliver. 2001. Identification and isolation of rat bone marrow-derivet mast cells using the mast cell-spesific monoclonal antibody AA4. J of Histochemistry and Cytochemistry 49920 : 219-228.
- Jusuf, A.A. 2008. Aspek Dasar Sel Punca Embrionik(Embryonic Stem Cells) dan Potensi Pengembangannya. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Kalinski, P. 2012. Regulation Of Immune Responses By Prostaglandin E2. Department of Surgery. University of Pittsburgh. Hillman Cancer Center. Pittsburgh.

- Lee, H.J., K. Selesmiami, Y. Niikura, T. Niikura, R. Klein, D.M. Dombkowski and J.L. Tilly. 2007. Bone marrow transplantation generates immature oocytes and rescues long term fertility in a preclinical mouse model of chemotherapy induced premature ovarian failure. 25(22): 3198-3204.
- Martin, P. and S. J. Leibovich. 2005. "Inflammatory cells during wound repair: the good, the bad and the ugly." *Trends Cell Biol* 15(11): 599-607.
- Mouzon S. H., and M. Guerre-Milo. 2006. The Placenta Cytokine Network and Inflammatory Signals. *Placenta* 27:794-798.
- Wampler, W.A. 2005. The Carbon Aggregate: Understanding the "Fugitive Emision"