

PENGUJIAN TINGKAT EKSPRESI GEN *CDKN2A* TERHADAP PENUAAN SEL PADA HUMAN UMBILICAL CORD MESENCHYMAL STEM CELLS (hUCMSC) DAN HUMAN BONE MARROW MESENCHYMAL STEM CELLS (hBMSC)

Elory Leonard

14/366867/BI/9308

INTISARI

Human mesenchymal stem cells (hMSC) merupakan sel manusia yang memiliki kemampuan untuk memperbaharui dirinya sendiri dan memiliki beragam potensi untuk berdiferensiasi menjadi banyak jenis sel yang berbeda dalam tubuh seperti adiposit, kondrosit dan osteoblas. Terdapat beberapa jenis hMSC diantaranya adalah *human umbilical cord mesenchymal stem cells* (hUCMSC) yang diisolasi dari tali pusat manusia dan *human bone marrow mesenchymal stem cells* (hBMSC) yang diisolasi dari sumsum tulang manusia. Kejadian penuaan sel (*cellular senescence*) adalah hilangnya kemampuan replikasi secara keseluruhan serta bersifat ireversibel yang terjadi pada sel somatik. Dalam kultur jangka panjang hMSC untuk aplikasi terapi klinis, diketahui bahwa faktor endogen dan eksogen secara terus-menerus merusak dan bertindak sebagai cekaman (*stress*) terhadap sel sehingga menyebabkan hMSC memberhentikan siklus selnya secara permanen dan menurunkan kualitas kultur hMSC menurun. Gen *CDKN2A* memiliki peranan penting dalam mekanisme proliferasi sel serta terkait dengan kejadian penuaan sel, menunjukkan potensi masa depan dalam mendeteksi penuaan sel pada kultur hMSC manusia. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk menguji tingkat ekspresi gen *CDKN2A* terkait penuaan sel serta perbedaan ekspresinya pada hUCMSC dan hBMSC seiring lamanya masa kultur. Tahapan metode meliputi kultur kedua jenis hMSC, karakterisasi hMSC dengan metode *fluorescence-activated cell sorting* (FACS), perhitungan profil pertumbuhan kultur hMSC, isolasi total RNA, sintesis cDNA, pengujian ekspresi gen secara kualitatif dengan elektroforesis serta secara kuantitatif menggunakan qPCR untuk menganalisis tingkat ekspresi gen. Berdasarkan penelitian diketahui bahwa ekspresi gen *CDKN2A* pada hUCMSC dan hBMSC mengalami peningkatan melalui perlakuan lama masa kultur serta menunjukkan hubungan akumulasinya yang berbanding lurus terhadap penuaan sel. Selain itu, ekspresi gen *CDKN2A* oleh hBMSC diketahui lebih banyak terakumulasi selama jangka waktu kultur sehingga menunjukkan tingkat penuaan sel yang lebih tinggi dibandingkan hUCMSC.

Kata kunci : ekspresi gen, gen *CDKN2A*, *human umbilical cord mesenchymal stem cells*, *human bone marrow mesenchymal stem cells*, penuaan sel

**ASSESSMENT TO LEVEL OF CDKN2A GENE'S EXPRESSION TOWARDS
CELLULAR SENESCENCE OF HUMAN UMBILICAL CORD
MESENCHYMAL STEM CELLS (hUCMSC) AND HUMAN BONE
MARROW MESENCHYMAL STEM CELLS (hBMSC)**

Elory Leonard

14/366867/BI/09308

ABSTRACT

Human mesenchymal stem cells (hMSC) are human cells with the unique ability in self-renewal and able to develop into specialised cell types in the body such as adipocytes, chondrocytes and osteoblasts. There are several types of hMSC and some of them are human umbilical cord mesenchymal stem cells (hUCMSC) which are isolated from human umbilical cord and human bone marrow mesenchymal stem cells (hBMSC) which are isolated from human bone marrow. Cellular senescence is an irreversible, total loss of replication ability which happens to somatic cells. In long-term culture of hMSC for clinical applications, endogenous and exogenous factors are constantly to damage and act as stressors to cells thus causing hMSC to halt its cell cycle permanently, decreasing the quality of hMSC. CDKN2A gene has an important role in cell proliferation mechanism and related to the occurrence of cellular senescence, shown possible potency to detect cellular senescence in hMSC culture. Thus, this research aims to assess the level of CDKN2A gene related to cellular senescence towards hUCMSC and hBMSC due to in vitro expansion. Methods for this research involve cell culture for both types of hMSC, hMSC characterization using fluorescence-activated cell sorting (FACS) method, calculation of cell culture's growth profile, total RNA isolation, cDNA synthesis, assessment to gene's expression qualitatively using electrophoresis method and quantitatively using qPCR to analyze gene's expression level. Result of the research shown that CDKN2A gene's expression of hBMSC and hUCMSC is increased following to the length of culture period. Thus, this result suggests the relation of CDKN2A gene's accumulation being directly proportional to cellular senescence. Moreover, CDKN2A gene's expression in hBMSC is known to be accumulated greater following to the length of culture period than hUCMSC hence showing higher level of cellular senescence.

Keywords : cellular senescence, CDKN2A gene, gene expression, human umbilical cord mesenchymal stem cells, human bone marrow mesenchymal stem cells