



Suplementasi bFGF (*basic Fibroblast Growth Factor*) Meningkatkan Kecepatan Migrasi Sel Kultur HDF (*Human Dermal Fibroblast*) Pada Model Luka in Vitro

Supplementation bFGF (*basic Fibroblast Growth Factor*) Improves The Speed of Cell Migration Kultur HDF (*Human Dermal Fibroblast*) In The in Vitro Model of Wound

Yurika Sandra¹, Indra Kusuma²

¹Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, YARSI University

²Department of Physiology, Faculty of Medicine, YARSI University

KATA KUNCI KEYWORDS

Fibroblast kulit manusia, bFGF, Migrasi, DMSO
Human dermal fibroblast, bFGF, migration, DMSO

ABSTRAK

Fibroblas adalah sel kunci yang bertanggung jawab untuk penyembuhan luka. Untuk mempercepat penyembuhan luka, molekul dibutuhkan untuk memperbaiki proliferasi dan migrasi fibroblas. BFGF adalah faktor pertumbuhan yang biasa digunakan sebagai suplemen dalam kultur sel untuk meningkatkan proliferasi dan mempertahankan stemness cell. Penelitian ini bertujuan untuk memverifikasi efek bFGF terhadap migrasi HDF.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan menggunakan empat kelompok sampel fibroblas. Kelompok intervensi dibiakkan dengan kombinasi BFGF dan BFGF + DMSO, dimana kelompok kontrol dikultivasi dengan suplemen standar dan DMSO. Fibroblas diperoleh dari Laboratorium Sel Induk di Universitas Yarsi. Tip pipet digunakan untuk menyiapkan goresan di lapisan fibroblas. Tingkat rata-rata penutupan luka dievaluasi dengan mengukur lebar luka. Kecepatan sel yang bermigrasi ke daerah luka diperiksa dan difoto. Migrasi sel dinilai dengan microphotography. Analisis data dilakukan dengan paired student t-test.

BFGF meningkatkan migrasi fibroblas setelah 24 jam sekitar 40%, dimana DMSO 2% menghambat migrasi fibroblas sekitar 40,83%. Fibroblast ditambah kombinasi DMSO2% + bFGF 8ng / ml yang serupa dengan kelompok yang tidak diobati.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa BFGF akan berguna dalam penanganan luka.

ABSTRACT

Fibroblasts are the key cell responsible for wound healing. To accelerate wound healing, molecules are needed to improve the proliferation and migration of fibroblasts. bFGF is a growth factor commonly used as a

supplement in cell culture to improve proliferation and maintain stemness cell. This study was to verify the effect of bFGF on HDF migration.

This study was an experimental design using four groups of fibroblasts sample. The intervention groups were cultured with bFGF and bFGF+DMSO combination, where as the control groups were cultured with standard supplement and DMSO. Fibroblasts were obtained from Stem Cell Laboratory at Yarsi University. A pipette tip was used to prepare a scratch across the layer of fibroblast. The average extent of wound closure was evaluated by measuring the width of the wound. The speed of migrating cells into the wound area was examined and photographed. Cell migration was assessed by microphotography. Data analysis was performed with paired student t-test.

bFGF enhanced migration of fibroblast after 24 hours about 40%, where as DMSO 2% inhibited migration of fibroblast about 40,83%. Fibroblast was supplemented DMSO2% + bFGF 8ng/ml combination showed similar with untreated group.

The result of this study indicate that the bFGF may be useful in management of wounds.

PENDAHULUAN

Penyembuhan luka merupakan proses yang kompleks dan dinamis melibatkan mobilisasi sel untuk mengembalikan struktur kulit menjadi normal. Tatalaksana terhadap luka yang standar adalah menggunakan antiseptik dan antibiotik dengan tujuan untuk mencegah terjadinya infeksi (Krishnamoorthy *et al.*, 2012). Kemajuan ilmu kedokteran memberikan harapan untuk penggunaan unsur sel sebagai terapi luka (Applegate *et al.*, 2009). Mekanisme penyembuhan luka sendiri melibatkan migrasi dan proliferasi berbagai sel pembangun kulit. HDF adalah sel kunci dalam inisiasi proses angiogenesis, epitelialisasi dan pembentukan kolagen (Krishnamoorthy *et al.*, 2012).

HDF sebagai salah satu unsur terapi sel bisa didapatkan dengan mudah melalui isolasi foreskin

preputium pasca khitan. Berbagai studi telah dilakukan baik secara *in vitro* maupun *in vivo* terhadap peran HDF dalam penutupan luka. Aspek penting yang perlu dikaji adalah kemampuan migrasi sel HDF untuk menutup luka (Bainbridge, 2013). Migrasi sel terjadi dengan mekanisme yang kompleks dan berbeda-beda. Namun yang sangat berperan penting dalam migrasi sel adalah keberadaan sitoskeleton. Sitoskeleton terdiri dari aktin dan mikrotubulin yang memberikan mekanisme migrasi yang berbeda pada sel (Ganguly *et al.*, 2012). bFGF adalah faktor tumbuh yang biasa digunakan sebagai suplemen pada medium kultur sel punca karena bFGF memiliki kemampuan mempertahankan *stemness* sel kultur (Schmidt *et al.*, 2006) (Wu *et al.*, 2012).

Correspondence:

Dr. Yurika Sandra, M.Biomed

Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, YARSI University, Jakarta

Email: Yurika.sandra@yarsi.ac.id

bFGF diduga memiliki peran dalam migrasi sel dengan mempengaruhi fungsi sitoskeleton. Untuk itu, pada penelitian ini akan dilihat pengaruh bFGF terhadap kemampuan migrasi sel HDF melalui model luka *in vitro* (metode *scratch assay*).

CARA KERJA

Disain Penelitian

Penelitian ini menggunakan disain penelitian eksperimental *in vitro*. Dilaksanakan Oktober 2015-Maret 2016.

Kultur sel

Fibroblas diperoleh dari laboratorium Terpadu Universitas YARSI. Sel ditanam di well 24 menggunakan medium komplet hingga konfluens 100%. Dilakukan perlakuan menggunakan tip 1uL. Hasil perlakuan didokumentasikan. Sel dicuci dan diberi perlakuan. Kelompok sel dibagi atas 4 yaitu: kelompok kontrol positif, kelompok kontrol negatif dengan inhibitor *dimethyl sulfoxide* 2% (DMSO 2%), kelompok perlakuan dengan suplementasi bFGF 8 ng/mL, kelompok Perlakuan dengan bFGF 8 ng/mL+DMSO 2%. Dilakukan dokumentasi 4 jam dan 24 jam pasca perlakuan.

Pengukuran kecepatan migrasi HDF

Pengukuran kecepatan migrasi fibroblast menggunakan *software* mikro fotografi (Nikon).

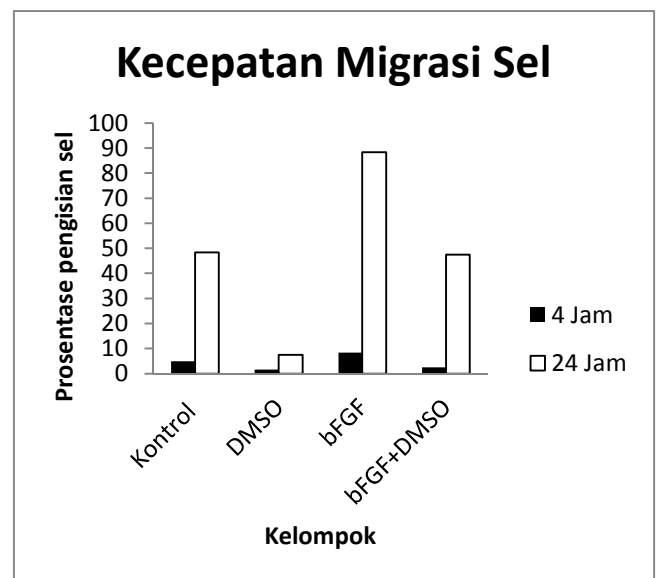
Pengumpulan data dan analisis statistik

Kecepatan migrasi fibroblas dibandingkan antara kelompok kontrol dan perlakuan. Analisis statistik dengan t-test.

HASIL

Telah dilakukan prosedur kultur, *scratch assay*, pendokumentasian serta analisis hasil uji migrasi sel HDF dengan pemberian suplementasi bFGF.

Kecepatan migrasi HDF 4 jam dan 24 jam pasca perlakuan pada semua kelompok sel



Gambar 1. Kecepatan migrasi HDF dengan suplementasi bFGF

Pada kelompok sel yang tidak mendapatkan perlakuan, 4 jam pasca perlakuan didapatkan 5% daerah perlukaan telah tertutupi fibroblas, sedang 24 jam pasca perlukaan didapatkan 48,33% daerah perlukaan telah tertutupi fibroblas.

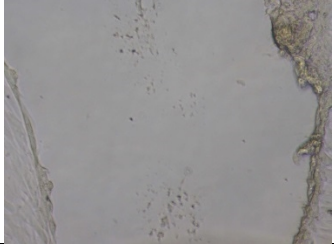

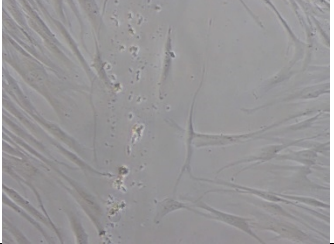

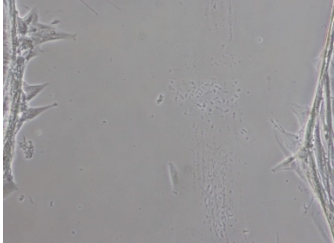
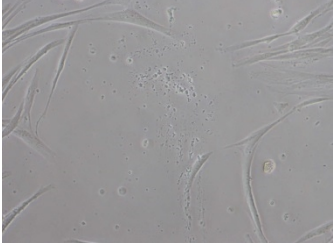
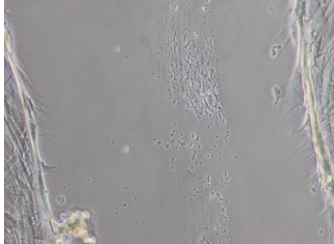
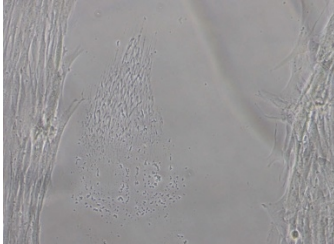
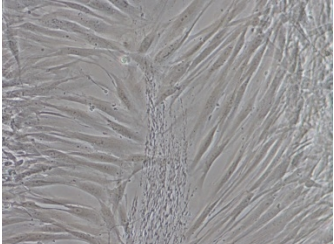

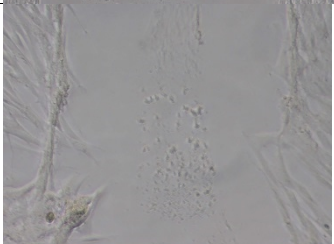
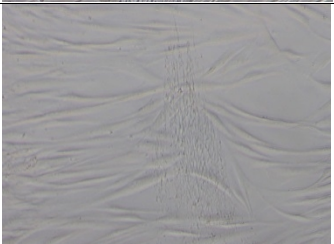
Pada kelompok sel yang diberi DMSO 2%, 4 jam pasca perlukaan didapatkan 1,66% daerah perlukaan telah tertutupi fibroblas, sedang 24 jam pasca perlukaan didapatkan 7,5% daerah perlukaan telah tertutupi fibroblas.

Pada kelompok sel yang diberi bFGF 8%, 4 jam pasca perlukaan didapatkan 8,3% daerah perlukaan telah tertutupi fibroblas, sedang 24 jam pasca

SUPLEMENTASI BFGF (*BASIC FIBROBLAST GROWTH FACTOR*) MENINGKATKAN KECEPATAN MIGRASI SEL KULTUR HDF (*HUMAN DERMAL FIBROBLAST*) PADA MODEL LUKA IN VITRO

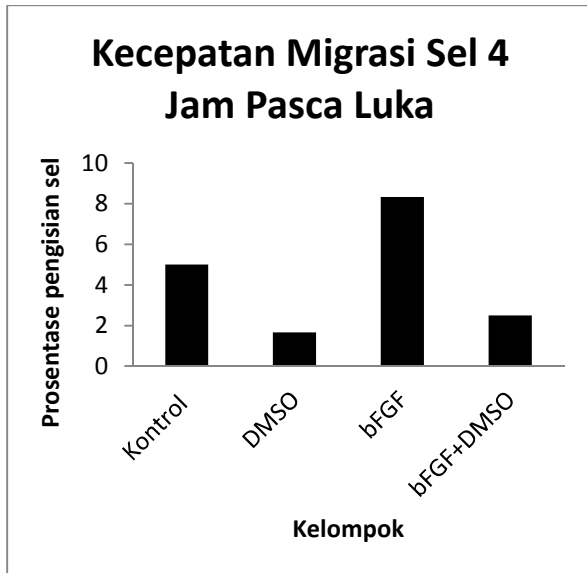
perlukaan didapatkan 88,33% daerah perlukaan telah tertutupi fibroblas. Pada kelompok sel yang diberi bFGF 8% + DMSO 2,5%, 4 jam pasca perlukaan didapatkan 8,3% daerah

perlukaan telah tertutupi fibroblas, 24 jam pasca perlukaan didapatkan 47,5 % daerah perlukaan telah tertutupi fibroblas.

			Kontrol
			DMSO
			bFGF
			DMSO + bFGF
0 Jam Pasca Luka	4 Jam Pasca Luka	24 Jam Pasca Luka	

Gambar 2. Kecepatan Migrasi HDF 4 jam dan 24 Pasca Perlukaan

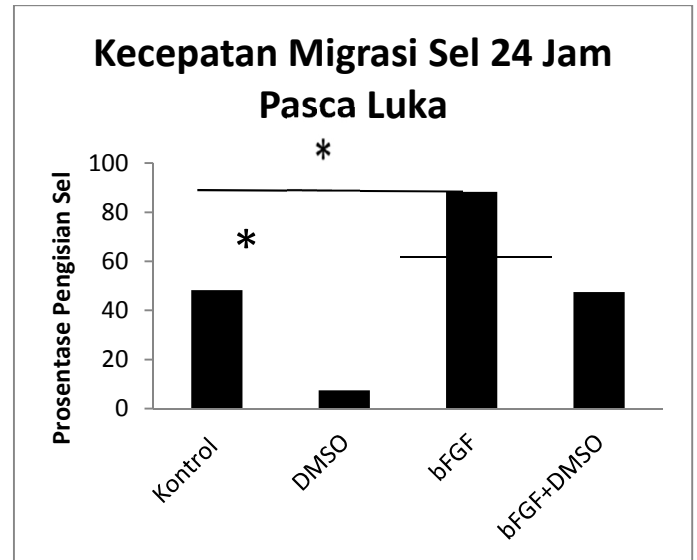
Perbandingan kecepatan migrasi sel pada kultur HDF yang diberi suplemen bFGF pada 4 jam pasca perlukaan.



Gambar 3. Kecepatan Migrasi Sel 4 Jam Pasca Perlukaan

Pada 4 jam pasca perlukaan, belum terlihat perbedaan yang bermakna pengisian sel pada area luka antara kelompok kontrol (5%) dengan kelompok yang diberi perlakuan dengan bFGF (8,33%) dengan nilai $p > 0,05$. DMSO yang sudah diketahui menghambat migrasi sel juga belum memberikan daya hambat yang bermakna (1,6%) jika dibandingkan dengan kelompok kontrol (5%) dengan nilai $p > 0,05$. Migrasi sel pada kelompok yang diberi perlakuan DMSO+bFGF juga tidak berbeda bermakna (2,5%) jika dibandingkan dengan kelompok kontrol (5%) dengan nilai $p > 0,05$.

Perbandingan kecepatan migrasi sel pada kultur HDF yang diberi suplemen bFGF pada 24 jam pasca perlukaan.



Gambar 4. Kecepatan Migrasi Sel 24 Jam Pasca Perlukaan

Pada 24 jam pasca perlukaan, pengisian sel pada area luka antara kelompok kontrol (48,33%) dan kelompok yang diberi perlakuan dengan bFGF (88,33%) terdapat perbedaan yang bermakna dengan nilai $p < 0,05$. DMSO menghambat migrasi pengisian sel (7,5%) dan memberikan perbedaan yang bermakna jika dibandingkan dengan kelompok kontrol (48,33%) dengan nilai $p < 0,05$. Migrasi sel pada kelompok yang diberi perlakuan DMSO+bFGF (47,5%) tidak berbeda bermakna jika dibandingkan dengan kelompok kontrol (48,33) dengan nilai $p > 0,05$.

DISKUSI

Penelitian ini telah memperlihatkan bahwa bFGF memiliki kemampuan untuk meningkatkan migrasi sel HDF pada penutupan luka secara *in vitro*. Fibroblas merupakan sel utama yang berperan dalam proses penyembuhan luka disamping keratinosit (Bainbridge, 2013). Proliferasi dan kecepatan migrasi fibroblas merupakan faktor utama dalam menunjang keberhasilan penyembuhan luka (Moulin *et al.*, 1996). bFGF telah diketahui sebagai faktor tumbuh yang mampu meningkatkan kemampuan proliferasi sel (Wu *et al.*, 2012). Pada penelitian ini juga memperlihatkan bahwa bFGF mampu meningkatkan kemampuan migrasi HDF. DMSO merupakan senyawa ampifatik yang biasa digunakan sebagai *cyroprotectan* dalam sel kultur. Pada penelitian Wang (2012), memperlihatkan bahwa DMSO dengan dosis 2% signifikan menghambat migrasi sel NSCL. Hal ini juga pernah disampaikan oleh Lampugnani (1987), yang memperlihatkan bahwa DMSO 2% menghambat migrasi dan proliferasi sel *mouse* B16 melanoma. Pada penelitian ini dapat dilihat bahwa apabila medium kultur diberi campuran DMSO dan bFGF, terlihat bahwa kemampuan migrasi sel lebih tinggi dibandingkan kelompok yang diberi DMSO saja. Hal inilah yang membuktikan bahwa bFGF juga mampu meningkatkan kecepatan migrasi sel sekaligus meningkatkan kemampuan proliferasinya. bFGF sangat potensial untuk terapi luka.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

bFGF terbukti dapat meningkatkan laju migrasi HDF pada model luka *in vitro*.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui mekanisme stimulasi migrasi sel HDF dan peluang bFGF sebagai salah satu terapi luka.

KEPUSTAKAAN

- Applegate, L.A., Scaletta, C., Hirt-Burri, N., Raffoul, W., Pioletti, D., 2009. Whole-cell bioprocessing of human fetal cells for tissue engineering of skin. *Skin Pharmacol. Physiol.* 22, 63–73. doi:10.1159/000178865
- Bainbridge, P., 2013. Wound healing and the role of fibroblasts. *J. Wound Care* 22, 407–408, 410–412. doi:10.12968/jowc.2013.22.8.407
- Ganguly, A., Yang, H., Sharma, R., Patel, K.D., Cabral, F., 2012. The Role of Microtubules and Their Dynamics in Cell Migration. *J. Biol. Chem.* 287, 43359–43369. doi:10.1074/jbc.M112.423905
- Krishnamoorthy, J.R., Sumitira, S., Ranjith, M.S., Gokulshankar, S., Ranganathan, S., Mohanty, B.K., Prabhakaran, G., 2012. An *in vitro* study of wound healing effect of a poly-herbal formulation as evidenced by enhanced cell proliferation and cell migration. *Egypt. Dermatol. Online J.* 8, 1.
- Lampugnani, M.G., Pedenovi, M., Niewiarowski, A., Casali, B., Donati, M.B., Corbascio, G.C., Marchisio, P.C., 1987. Effects of dimethyl sulfoxide (DMSO) on microfilament organization, cellular adhesion, and growth of cultured mouse B16 melanoma cells. *Exp. Cell Res.* 172, 385–396.

- Moulin, V., Castilloux, G., Jean, A., Garrel, D.R., Auger, F.A., Germain, L., 1996. In vitro models to study wound healing fibroblasts. *Burns J. Int. Soc. Burn Inj.* 22, 359-362.
- Schmidt, A., Ladage, D., Schinköthe, T., Klausmann, U., Ulrichs, C., Klinz, F.-J., Brixius, K., Arnhold, S., Desai, B., Mehlhorn, U., Schwinger, R.H.G., Staib, P., Addicks, K., Bloch, W., 2006. Basic Fibroblast Growth Factor Controls Migration in Human Mesenchymal Stem Cells. *Stem Cells* 24, 1750-1758. doi:10.1634/stemcells.2005-0191
- Wang, C.-C., Lin, S.-Y., Lai, Y.-H., Liu, Y.-J., Hsu, Y.-L., Chen, J.J.W., 2012. Dimethyl sulfoxide promotes the multiple functions of the tumor suppressor HLJ1 through activator protein-1 activation in NSCLC cells. *PloS One* 7, e33772. doi:10.1371/journal.pone.0033772
- Wu, J., Huang, G.T.-J., He, W., Wang, P., Tong, Z., Jia, Q., Dong, L., Niu, Z., Ni, L., 2012. Basic fibroblast growth factor enhances stemness of human stem cells from the apical papilla. *J. Endod.* 38, 614-622. doi:10.1016/j.joen.2012.01.014