



FORUM GURU BESAR
INSTITUT TEKNOLOGI BANDUNG



Orasi ilmiah Guru Besar Institut Teknologi Bandung



**DARI SEL PUNCA HINGGA REKAYASA
JARINGAN DAN EKSOSOM:
KONTRIBUSI BIOLOGI DALAM MASA DEPAN BIDANG KESEHATAN**

Profesor Anggraini Barlian
Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati
Institut Teknologi Bandung

**Aula Barat ITB
16 September 2023**

Orasi ilmiah Guru Besar
Institut Teknologi Bandung

**DARI SEL PUNCA HINGGA REKAYASA
JARINGAN DAN EKSOSOM: KONTRIBUSI
BIOLOGI DALAM MASA DEPAN BIDANG
KESEHATAN**

Orasi ilmiah Guru Besar
Institut Teknologi Bandung

**DARI SEL PUNCA HINGGA REKAYASA
JARINGAN DAN EKSOSOM: KONTRIBUSI
BIOLOGI DALAM MASA DEPAN BIDANG
KESEHATAN**

Prof. Angraini Barlian

16 September 2023
Aula Barat ITB



Hak cipta © pada penulis dan dilindungi Undang-Undang

Hak penerbitan pada ITB Press

Dilarang memperbanyak sebagian atau seluruh bagian dari buku ini tanpa izin dari penerbit

Orasi ilmiah Guru Besar Institut Teknologi Bandung:

***DARI SEL PUNCA HINGGA REKAYASA JARINGAN DAN EKSOSOM:
KONTRIBUSI BIOLOGI DALAM MASA DEPAN BIDANG KESEHATAN***

Penulis : Prof. Anggraini Barlian

Reviewer : Prof. Tjandra Anggraeni

Editor Bahasa : Rina Lestari

Cetakan I : 2023

ISBN : 978-623-297-324-4

ITB PRESS

© Gedung STP ITB, Lantai 1,
Jl. Ganesa No. 15F Bandung 40132
☎ +62 22 20469057
🌐 www.itbpress.id
✉ office@itbpress.id
Anggota Ikapi No. 043/JBA/92
APPTI No. 005.062.1.10.2018

PRAKATA

Biologi Perkembangan, atau *Developmental Biology* merupakan salah satu bidang ilmu inti di dalam ilmu Biologi dan dapat dianggap sebagai *stem cell* untuk berbagai ilmu-ilmu Biologi lainnya (*Biological Sciences*). Sebagai satuan unit fungsional terkecil dari kehidupan, sel memiliki karakteristik dasar dari makhluk hidup yang membangun tubuh suatu organisme, khususnya organisme multiseluler seperti halnya tubuh manusia. Tubuh manusia tersusun dari sekitar 37,2 triliun sel dan berasal dari sekitar 200 jenis sel yang berbeda. *Stem cell* atau sel punca merupakan sel yang dapat berdiferensiasi menjadi berbagai jenis sel yang membangun tubuh suatu organisme multiseluler. Sel punca sering kali dianggap sebagai harapan baru dalam pengobatan regeneratif masa depan di bidang kesehatan. Meski peraturan terkait sel punca khususnya di Indonesia masih digodok hingga saat ini, tetapi ilmu yang melatarbelakangi sel punca, yakni Biologi Sel dan Biologi Perkembangan, memiliki peran sangat besar dalam memahami Biologi Sel Punca, termasuk berbagai pertimbangan dalam aplikasinya di bidang kesehatan. Sel punca dan turunannya, atau produk yang dihasilkan sel punca, berperan dalam berbagai terapi kesehatan baik yang bersifat *cell-based therapy* maupun *cell-free based therapy*. Rekayasa jaringan merupakan salah satu bidang multidisiplin yang belakangan ini sering menggunakan sel punca sebagai sumber sel untuk diarahkan diferensiasinya menggantikan jaringan yang rusak, termasuk ke dalam *cell-based therapy*. Bagaimana sel punca dapat berdiferensiasi menjadi sel yang sesuai dengan yang diinginkan dalam rekayasa jaringan, sangat bergantung pada *microenvironment* di mana sel punca akan tumbuh dan berdiferensiasi, yakni *scaffold* atau perancah. Sebagai salah satu negara yang memiliki biodiversitas kekayaan hayati yang sangat besar, Indonesia memiliki sumber kekayaan alam yang luar biasa untuk dikembangkan menjadi bahan biomaterial *scaffold*, termasuk laba-laba dan *sponges*. Interaksi antara kandungan biomaterial dari kekayaan alam Indonesia di dalam *scaffold* dengan sel punca di dalam rekayasa jaringan rawan dan tulang maupun interaksi sel kulit dengan *scaffold* dalam rekayasa jaringan kulit menjadi fenomena yang sangat menarik untuk diteliti dan dipelajari dari sisi Biologi Sel dan Biologi Perkembangan dalam konteks Sains Biomedika untuk aplikasi di bidang Kesehatan. Eksosom sebagai produk sel

punca berkembang sangat pesat baik dari sisi penelitian maupun aplikasinya dalam *cell-free based therapy*. Eksosom yang memiliki peran dalam komunikasi sel sangat menarik untuk dipelajari dalam rekayasa jaringan maupun terapi di bidang kesehatan secara umum. Terapi menggunakan eksosom dari berbagai sumber sel sebagai *medicinal signalling molecule* membuka horizon baru dalam bidang kesehatan khususnya *regenerative medicine* yang memerlukan sains tentang sel. Perkembangan sangat pesat di bidang kesehatan dan sebagai salah satu bidang terdepan dalam *regenerative medicine* yang melibatkan sel, sel punca dan biomaterial ini tentunya sangat memerlukan dukungan ilmu dasar yang kuat seperti Biologi Sel dan Biologi Perkembangan, bukan hanya untuk pemahaman yang lebih baik namun juga untuk mengetahui dan menyadari konsekuensi aplikasinya di bidang kesehatan.

Bandung, 16 September 2023

Penulis

SINOPSIS

Rusak atau hilangnya suatu jaringan di dalam tubuh dapat disebabkan oleh penyakit maupun kecelakaan. Salah satu solusi untuk menggantikan jaringan yang rusak atau hilang adalah melalui teknologi rekayasa jaringan. Rekayasa jaringan merupakan suatu bidang yang bersifat multidisiplin, melibatkan tiga faktor utama: sel, *scaffold*, dan faktor bioaktif.

Sel punca *human Wharton Jelly Mesenchymal Stem Cell*, atau disebut juga hWJ MSC berasal dari tali pusat yang merupakan limbah melahirkan. Sel punca hWJ MSC memiliki beberapa keistimewaan, sifatnya multipoten, dapat berdiferensiasi menjadi sel rawan (kondrosit), sel tulang (osteosit) dan sel lemak (adiposit) dan tidak memicu respons imun jika digunakan secara alogenik. Oleh sebab itu hWJ MSC merupakan sumber sel yang tepat dalam mempelajari dan mengembangkan sel punca untuk aplikasi dalam rekayasa jaringan rawan dan jaringan tulang.

Indonesia memiliki keragaman kekayaan alam yang sangat berlimpah, menjadi sumber inovasi yang luar biasa untuk menciptakan berbagai jenis komposisi *scaffold* biomaterial dalam mendukung rekayasa jaringan. Sutera laba-laba atau *silk* spidroin yang berasal dari jaring laba-laba yang ada di Indonesia, salah satunya *Argiope appensa*, merupakan sumber biomaterial *scaffold* yang terbukti dapat berperan dalam mengarahkan diferensiasi hWJ MSC menjadi sel rawan. Sebagai negara kepulauan, dengan laut yang luas dan kekayaan laut yang sangat besar, Indonesia memiliki 85 -1500 atau sekitar 10% jenis *sponge* (spons) yang ada di dunia. Spons termasuk Porifera, dari Kingdom Animalia dan dikenal mengandung biosilika dengan kadar yang sangat tinggi dan unsur-unsur lainnya. *Scaffold* mengandung biosilika dari spons terbukti bersifat osteoinduktif yang mendukung diferensiasi sel punca hWJ MSC menjadi sel tulang.

Teknologi nano turut berperan dalam pengembangan aplikasi sel punca, melalui modifikasi substrat berpola nano, *nanopattern*, sel punca hWJ MSC berhasil diarahkan diferensiasinya menjadi sel rawan. Teknologi *nanopattern* membuka peluang dalam produksi sel punca tanpa bergantung pada faktor-faktor tumbuh yang mahal dan akan sangat berperan dalam *cell-based therapy*. Demikian pula dengan produk turunan sel punca hWJ MSC yang berukuran

nano, yakni eksosom. Peran eksosom dalam diferensiasi sel hWJ MSC menjadi sel rawan dan peran eksosom dari hWJ MSC sebagai agen anti-inflamasi telah diteliti dan memiliki potensi sangat besar dalam *cell-free based therapy*. Ketatnya peraturan pembuatan dan penggunaan sel punca dan produk turunannya membuka peluang untuk mendalami eksosom dari tumbuhan, yang disebut *Plant-derived Exosome like Nanoparticle* (PDEN), melalui riset kolaborasi.

Pengetahuan tentang sel, khususnya sel punca, dalam rekayasa jaringan dan terapi sel punca dan produk turunannya di bidang Kesehatan sangat diperlukan. Ilmu dasar seperti Biologi, khususnya Biologi Sel dan Biologi Perkembangan merupakan fondasi utama bagaimana pengetahuan dan pemahaman tentang sel punca turut menentukan kemajuan di bidang Kesehatan di era kini dan masa depan. Ilmu Biologi Sel dan Biologi Perkembangan tentang sel punca dan produk turunannya serta sebagai sumber sel dalam rekayasa jaringan, akan turut menentukan keberhasilan masa depan di bidang Kesehatan, khususnya *regenerative medicine*.

DAFTAR ISI

PRAKATA	v
SINOPSIS	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Kontribusi Biologi dalam Pengembangan Bidang Kesehatan	1
1.2 Aplikasi Sel Punca di Bidang Kesehatan	2
2. REKAYASA JARINGAN	6
2.1 Rekayasa Jaringan Rawan	7
2.2 Rekayasa Jaringan Tulang	29
2.3 Rekayasa Jaringan Kulit.....	35
3. EKSOSOM: CELL-FREE BASED THERAPY	40
3.1 Eksosom hWJ-MSC	40
3.2 <i>Plant-derived Exosome-like Nanoparticle</i> (PDEN)	44
4. PENUTUP	52
5. UCAPAN TERIMA KASIH	53
DAFTAR PUSTAKA	55
CURRICULUM VITAE	63

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.1	Karakterisasi Mesenchymal Stem Cell (MSC) (Barlian, 2022).....	4
Gambar 2.1	Ilustrasi komponen-komponen dalam rekayasa jaringan.....	6
Gambar 2.2	<i>Scaffold</i> 3D fibroin dan spidroin (Barlian dkk., 2020).	12
Gambar 2.3	hWJ-MSC yang ditumbuhkan pada <i>scaffold</i> sutera (fibroin dan spidroin) (Barlian dkk., 2020).....	13
Gambar 2.4	Diagram hipotesis mekanisme yang terjadi di dalam sel punca ADSC yang diberi PRP (Rosadi dkk., 2019).....	14
Gambar 2.5	<i>Adipose Derived Stem Cells</i> (ADSC) yang ditumbuhkan di <i>scaffold</i> (Barlian dkk., 2018; Rosadi dkk., 2019; Barlian & Yanti, 2020; Amsar dkk., 2021).	17
Gambar 2.6	Ekspresi mRNA SOX9 dan mRNA COL2A1 hWJ-MSCs yang ditumbuhkan pada <i>fibronectin</i> dan spidroin <i>micropattern</i> (Barlian dkk., 2020).	19
Gambar 2.7	Diagram mekanisme mekanotransduksi <i>scaffold nanopattern</i> (Barlian & Vanya, 2022).....	21
Gambar 2.8	SEM hWJ-MSC pada <i>scaffold</i> modifikasi substrat.....	22
Gambar 2.9	Imunositokimia <i>scaffold</i> bersubstrat spidroin.....	22
Gambar 2.10	<i>Scaffold</i> fibroin untuk rekayasa jaringan rawan (Vanawati dkk., 2022).....	27
Gambar 2.11	Perlakuan hipoksia pada <i>scaffold</i> rekayasa jaringan rawan (Barlian dkk., 2021; Vanawati dkk., 2022).....	29
Gambar 2.12	SEM dan Imunositokimia <i>scaffold</i> PCL/AgNP	31
Gambar 2.13	<i>Scaffold</i> dari spons laut <i>Spherospongia vagabunda</i>	34
Gambar 2.14	<i>Scaffold</i> untuk rekayasa jaringan kulit (Giovanni dkk., 2019; Nursatya dkk., 2021).	38
Gambar 2.15	Imunositokimia sel HDF yang ditumbuhkan pada <i>scaffold</i> HAM dengan penambahan spidroin dan fibroin.	39
Gambar 3.1	Eksosom untuk aplikasi di bidang kesehatan (Amsar dkk., 2022).....	41
Gambar 3.2	Efek Nor-exo (keadaan normoksia) dan Hypo-exo (Hipoksia) pada <i>Pro-Inflammatory Cytokine</i> sel L2 yang diinduksi LPS.	44
Gambar 3.3	Potensi PDEN dari berbagai tanaman pangan sebagai agen anti inflamasi.	50
Gambar 3.4	PDEN sebagai nanokosmetik dan <i>wound healing</i>	51

DAFTAR TABEL

Tabel 1	Platelet, protein level TGF β 1 dan konsentrasi total protein PRP (Rosadi dkk., 2019).	14
Tabel 2	Peran miRNA yang berasal dari eksosom pada regenerasi rawan (Amsar dkk., 2022).	42

1. PENDAHULUAN

1.1 Kontribusi Biologi dalam Pengembangan Bidang Kesehatan

Biologi Perkembangan merupakan salah satu ilmu inti di bidang Biologi yang mempelajari bagaimana berbagai macam proses interaksi menghasilkan suatu organisme atau makhluk hidup dengan beragam bentuk, ukuran, struktur yang muncul dari embrio hingga dewasa dalam suatu siklus hidup (Love 2014; Minelli 2014). Awal dari kemajuan pesat bidang Biologi Perkembangan bukan hanya karena Biologi Molekuler, tetapi sel, gen, dan molekul telah menjadi pusat kajian bagaimana ekspresi gen dikontrol dalam suatu makhluk hidup khususnya organisme multiseluler.

Pada tahun 1950, terminologi *Developmental Biology* (Biologi Perkembangan) diperkenalkan oleh Paul Weiss and N. J. Berrill, di dalamnya termasuk Embriologi juga studi tentang *adult stem cell* dan perkembangan non-embriolik seperti *budding* (bertunas) dan regenerasi (Gilbert, 2017). Biologi Perkembangan dianggap sebagai modernisasi dan perpanjangan Embriologi. Berasal dari studi embrio, asal muasal munculnya berbagai macam jenis sel, maka berkembang pulalah teori-teori tentang pembentukan sel. Atas dasar fenomena itulah maka Schleiden, Schwann, and Remak mengembangkan berbagai macam teori tentang sel sekaligus menjawab bagaimana organisme multiseluler terbentuk. Oleh sebab itu, munculnya disiplin ilmu Biologi Sel tidak terlepas dari Biologi Perkembangan. Hingga saat ini, teori tentang sel masih sebagian besar mengacu ke hipotesis Robert Remak tahun 1862 yang menyatakan bahwa embrio dibangun karena adanya pembelahan sel dan seluruh sel yang ada di tubuh berasal dari satu sel, yaitu zigot. Biologi Perkembangan juga berperan dalam riset tentang aging/penuaan yang berkorelasi dengan kematian sel terprogram (Hopwood, 2019).

Biologi Perkembangan yang menurunkan berbagai disiplin ilmu dan dianggap sebagai *vital generative science*, telah berkembang pesat termasuk munculnya *Stem Cell Biology* (Biologi Sel Punca) yang diyakini lebih dekat ke aspek medis. Biologi modern abad ke 21 yang berfokus pada relasi, proses,

dan konteks, menjadikan prinsip-prinsip dalam Biologi Perkembangan sebagai sebuah kerangka dalam mengintegrasikan berbagai disiplin ilmu dalam Biologi.

Sel merupakan unit fungsional terkecil dari kehidupan, sel memiliki karakteristik makhluk hidup. Tubuh manusia tersusun dari sekitar 37,2 triliun sel dan berasal dari sekitar 200 jenis sel. Begitu banyak jenis sel yang kita miliki yang semula hanya berasal dari satu sel, yakni zigot dan akan membelah menjadikan kita organisme multiseluler dengan memiliki berbagai jenis sel yang terspesialisasi dan memiliki fungsi spesifik. Di antara 200 jenis sel yang kita miliki, sel punca merupakan sel yang sangat istimewa. Sel punca dapat memperbanyak dirinya sendiri menjadi sel punca kembali atau dapat berdiferensiasi menjadi jenis sel lain bergantung pada asal muasal sel punca. Ilmu yang mempelajari tentang sel, yakni Biologi Sel telah berkembang sangat pesat dan bukan lagi mempelajari sebatas sitologi, peran setiap organel di dalam sel, namun struktur, fungsi dan proses yang terjadi di dalam sel serta interaksi antarsel dan sel dengan lingkungan mikro sekitarnya telah menjadi bagian dari Biologi Sel. Sebagai unit fungsional kehidupan terkecil yang dapat divisualisasi dengan maupun tanpa mikroskop, memiliki ukuran yang bervariasi. Sel beragam jenis, morfologi dan fungsinya serta mampu merespons sinyal-sinyal dari lingkungan sekitarnya. Walaupun sel berukuran relatif kecil namun sangat kompleks, sel mampu mengatur dirinya sendiri termasuk merespon kondisi lingkungan mikronya. Dalam bidang kesehatan, terapi medis apapun akan bertarget pada sel yang ada di dalam jaringan tubuh kita. Oleh sebab itu memahami bagaimana sel merespon kondisi lingkungan mikro di sekitarnya akan memberikan informasi berharga dalam bidang medis.

1.2 Aplikasi Sel Punca di Bidang Kesehatan

Stem cell atau sel punca merupakan sel yang belum berdiferensiasi, sering kali disebut sebagai “*blank cell*” yang dapat membelah menjadi sel punca kembali atau berdiferensiasi menjadi sel yang terspesialisasi yang memiliki fungsi spesifik. Sel punca merupakan sel yang sangat istimewa, untuk mempelajarinya tidak cukup hanya memahami tentang Biologi Sel, namun konsep Biologi Perkembangan, khususnya proses diferensiasi mendasari pemahaman tentang sel punca. Terobosan tentang sel punca dimulai sejak keberhasilan melakukan

reprogramming sel yang sudah berdiferensiasi menjadi sel pluripoten yang memiliki kemampuan untuk berdiferensiasi menjadi sel apapun dan dikenal sebagai iPSC, *induced pluripotent stem cell*. Penemuan iPSC sebagai hasil *reprogramming* ini menghantarkan Prof. Shinaya Yamanaka dari universitas Kyoto meraih Nobel di tahun 2012. Sejak itu penelitian-penelitian terkait sel punca termasuk turunan/ produknya serta potensi aplikasinya dalam terapi medis termasuk *frontiers* di bidang kesehatan.

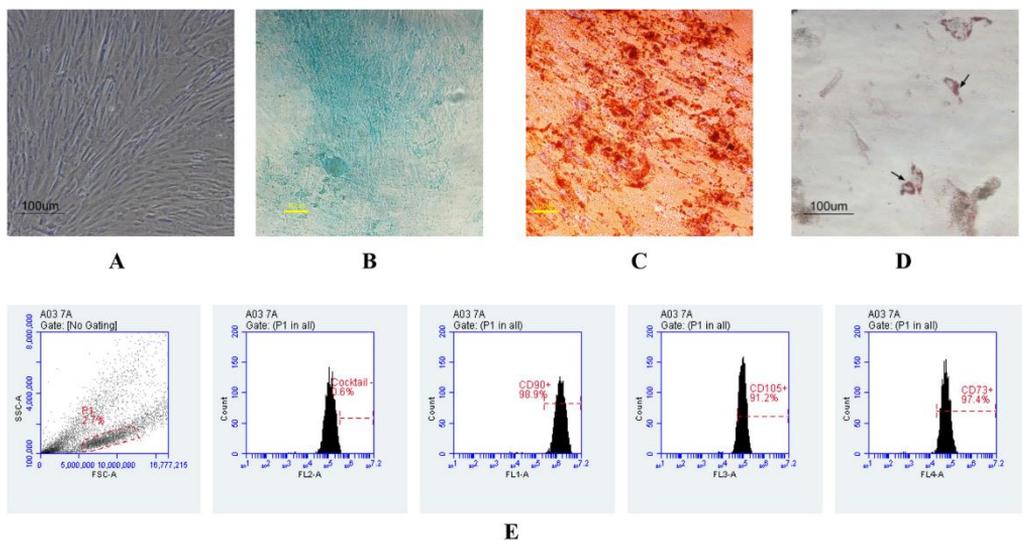
Kemajuan di bidang kesehatan tidak terlepas dari kemajuan penelitian tentang sel punca yang memiliki kontribusi besar dalam *regenerative medicine* di mana prospek masa depan sel punca banyak diteliti. Keberadaan sel punca dan proses regenerasi alami di dalam tubuh kita dalam merespons berbagai kondisi merupakan fenomena yang masih terus digali hingga saat ini dan di masa mendatang. Terapi di bidang kesehatan yang melibatkan peran sel punca dikelompokkan menjadi *cell-based* dan *cell-free based therapy*. Munculnya kekhawatiran penggunaan sel punca sebagai terapi dapat menimbulkan efek negatif mendorong penelitian produk sel punca seperti eksosom sebagai *cell-free based therapy* menjadi salah satu fokus penelitian yang paling terdepan di bidang medis. Pengetahuan dan pemahaman tentang sel punca yang didasari oleh ilmu Biologi Sel dan Biologi Perkembangan menunjukkan bahwa ilmu dasar seperti Biologi dibutuhkan sebagai fondasi kemajuan bidang kesehatan. Aplikasi berbagai potensi sel punca, teknologi terkait sel punca dan produk turunannya perlu didukung oleh sains biomedika yang kuat sehingga bukan hanya paham tetapi juga menyadari konsekuensi dari aplikasi tersebut.

Kemampuan sel punca yang dapat diarahkan diferensiasinya menjadi sel sesuai yang dikehendaki sangat bergantung pada asal muasal sel punca. Sel punca pluripoten yang berasal dari *inner cell mass* embrio dapat menjadi sel apapun, sementara sel punca multipoten yang dapat berasal dari berbagai sumber dapat menjadi beberapa jenis sel. Karena alasan etik, maka penggunaan sel punca pluripoten yang berasal dari embrio manusia tidak dimungkinkan, sehingga sel punca yang berasal dari non-embrio, *adult stem cell*, lebih banyak diteliti karena kemungkinan besar dapat diaplikasikan di bidang Kesehatan.

Sumber *adult stem cell* cukup beragam, salah satunya berasal dari tali pusat, yakni *human Wharton Jelly Mesenchymal Stem Cells* (hWJ MSC). Selain bersumber dari hWJ MSC, masih banyak jenis MSC lainnya, di antaranya berasal dari *bone*

marrow (sum-sum tulang), sel lemak atau adiposit hasil *liposuction* dan *human dental pulp stem cell* (HDPSC) dari pulpa gigi dan sebagainya.

Berdasarkan asal muasalnya yang beragam, maka pada saat bekerja dengan sel punca khususnya jika berasal dari kultur primer, maka diperlukan serangkaian karakterisasi untuk meyakinkan bahwa yang digunakan adalah benar sel punca. Sel punca hWJ MSC harus memiliki karakterisasi mengekspresikan *CD marker* tertentu dengan nilai persentase yang memenuhi syarat dan menunjukkan kemampuan multipotensinya dengan menunjukkan kemampuan berdiferensiasi menjadi osteosit, kondrosit, dan adiposity. Sel punca mesenkimal memiliki morfologi seperti fibroblast dan melekat pada substrat (*anchorage-dependent*) (Gambar 1.1). Karakterisasi ini harus memenuhi persyaratan dari *International Society for Cell and Gene Therapy* (ISCT).



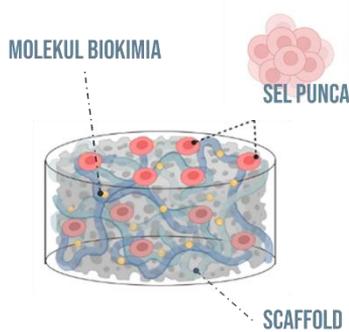
Gambar 1.1 Karakterisasi Mesenchymal Stem Cell (MSC): plastic adherent (A), uji multipotensi: diferensiasi kondrogenik dengan pewarnaan Alcian Blue (B), diferensiasi osteogenik dengan pewarnaan Alizarin Red (C), diferensiasi adipogenik dengan pewarnaan Oil Red O (D), dan hasil analisis MSC specific surface marker positif: CD73 (97.4%), CD90 (98.9%), CD105 (91.2%), dan negative marker (0.6%) (E). Tanda panah hitam menunjukkan lipid droplet; skala = 100 µm (Barlian, 2022)

Kemampuan sel punca dalam memperbaiki jaringan yang rusak di dalam tubuh termasuk menjadi salah satu dasar munculnya *Regenerative Medicine* di mana sel punca digunakan dalam terapi regeneratif (*regenerative therapy*). Terapi regeneratif menggunakan sel punca pada umumnya langsung memasukkan sel punca ke dalam tubuh melalui intravena. Karakteristik sel punca yang memiliki sifat “*homing*” meyakinkan orang bahwa sel punca yang

dimasukkan secara intravena akan menuju lokasi jaringan/ bagian tubuh yang mengalami inflamasi/ kerusakan. Hal ini yang mendorong munculnya industri-industri yang memproduksi dan menjual sel punca untuk terapi medis dengan harga yang mahal. Di Indonesia, peraturan tentang penggunaan sel punca, sel dan produk turunannya hingga saat ini masih digodok, baik dari permenkes maupun BPOM. Peraturan untuk melakukan terapi berbasis sel dan sel punca serta produk turunannya sangat kompleks, detail, dan sulit yang melibatkan bukan hanya fasilitas, sumber daya manusia namun juga termasuk penggunaan bahan-bahan khusus dan terstandar. Draf peraturan Permenkes yang melebihi 1000 halaman dan draf peraturan BPOM yang melebihi 500 halaman dalam tahap pembahasan menggambarkan ketatnya peraturan aplikasi sel punca dan turunannya di Indonesia sehingga masih pada tahap layanan kesehatan di sebelas rumah sakit yang ditunjuk oleh pemerintah. Sementara itu produk-produk sel punca yang berasal dari luar negeri sudah banyak yang memasuki pasaran di Indonesia, suatu ironi. Edukasi kepada masyarakat tentang terapi menggunakan sel punca dan produk turunannya perlu digencarkan agar pemahaman masyarakat terkait penggunaan dan manfaat sel punca dan produk turunannya di bidang kesehatan dapat dipahami dengan baik.

2. REKAYASA JARINGAN

Strategi pengobatan regeneratif, memanfaatkan penggunaan sel untuk memfasilitasi perbaikan jaringan berdasarkan konsep biologi sel melalui proses manipulasi, menggunakan sel, *scaffold*, dan molekul biokimia (Murphy dkk., 2013). Rekayasa jaringan (*Tissue engineering*) merupakan bidang kajian interdisipliner yang memanfaatkan prinsip material dan sel untuk mengembangkan jaringan untuk regenerasi atau memperbaiki jaringan yang rusak. Pada rekayasa jaringan, terdapat tiga komponen utama yang meliputi sel, *scaffold*/perancah, dan molekul biokimia (Gambar 2.1).



Gambar 2.1 Ilustrasi komponen-komponen dalam rekayasa jaringan.

Sel sebagai bahan utama dalam rekayasa jaringan dapat diambil dari sel dewasa atau sel punca (*stem cell*). Penggunaan sel dewasa memiliki kekurangan, yaitu sumbernya yang terbatas, selain itu sel dewasa yang diambil dari donor memiliki kemungkinan menimbulkan respons imun saat di implantasi. Sel punca (*stem cell*) menjadi pilihan yang paling tepat mengingat sel punca dapat diarahkan diferensiasinya menjadi jaringan sesuai dengan yang dibutuhkan.

Scaffold/perancah merupakan biomaterial baik sintesis atau alami yang berperan dalam mendukung pertumbuhan sel. *Scaffold* yang dapat digunakan dalam rekayasa jaringan memiliki syarat di antaranya bersifat biokompatibilitas dan *biodegradable*. Biomaterial *scaffold* tidak boleh bersifat toksik terhadap sel dan harus mampu terdegradasi secara alami ketika di implan ke dalam tubuh. Kecepatan degradasi *scaffold* di dalam tubuh harus seimbang dengan kecepatan sel dalam membentuk jaringan yang diinginkan. *Scaffold* dalam rekayasa jaringan memegang peranan penting karena

menyediakan *microenvironment* di mana sel bukan hanya tumbuh, namun berdiferensiasi menjadi sel yang spesifik. Di dalam tubuh kita, *microenvironment* yang sangat spesifik dan kompleks disebut *stem cell niche*, berperan dalam menentukan arah diferensiasi sel punca menjadi sel yang terspesialisasi dan memiliki fungsi tertentu.

Pada umumnya sel yang ditumbuhkan di atas *scaffold* tetap membutuhkan faktor-faktor tumbuh berupa molekul biokimia agar sel dapat tumbuh dan berkembang. Molekul biokimia ini dapat berupa *growth factor* atau senyawa lain seperti *Platelet Rich Plasma* (PRP) yang dapat membantu menciptakan kondisi ideal bagi sel. Meskipun molekul biokimia merupakan salah satu komponen rekayasa jaringan, namun tidak semua rekayasa jaringan membutuhkan ini.

Interaksi antar-komponen penyusun rekayasa jaringan dapat membuat *microenvironment* yang sesuai untuk pertumbuhan dan diferensiasi sel punca menjadi sel yang spesifik dan fungsional seperti sel rawan dan sel tulang. Rekayasa jaringan dapat dikatakan berhasil jika mampu memenuhi tujuannya, yaitu memulihkan, memelihara, dan memperbaiki jaringan yang rusak.

2.1 Rekayasa Jaringan Rawan

Rekayasa jaringan rawan hadir sebagai solusi dalam memperbaiki kerusakan jaringan rawan. Jaringan rawan yang rusak karena cedera atau penyakit degeneratif sulit untuk disembuhkan karena kemampuan regenerasi rawan rendah. Jaringan rawan tidak memiliki pembuluh darah dan saraf sehingga kemampuannya untuk *self-healing* rendah. Terapi sel menggunakan sel kondrosit dari tubuh sendiri (*autologous*) untuk membentuk dan menggantikan jaringan yang rusak memiliki keterbatasan berupa jumlah sel yang bisa diambil dan metode pengambilannya yang invasif. Oleh sebab itu rekayasa jaringan rawan merupakan salah satu metode alternatif yang efektif untuk menggantikan jaringan rawan yang rusak dengan menggunakan sel punca sebagai sumber sel.

Berbagai penelitian rekayasa jaringan rawan menggunakan kombinasi jenis-jenis sel punca dan biomaterial *scaffold* telah dilakukan. Sel punca yang digunakan diambil dari jaringan lemak (*Adipose-derived stem cell/ADSC*) dan

Wharton' jelly (*human Wharton's jelly stem cell/ hWJ MSC*). Pemilihan kedua jaringan tersebut sebagai sumber sel punca dikarenakan baik jaringan lemak maupun *Wharton's jelly* merupakan jaringan limbah yang sudah tidak digunakan lagi. ADSC dan hWJ MSC merupakan sel punca mesenkimal yang memiliki kemampuan dalam multipotensi salah satunya berdiferensiasi menjadi sel rawan (kondrosit). Penelitian yang menggunakan ADSC ditumbuhkan di dalam 3D *scaffold* yang berbentuk *sponge* menunjukkan bahwa ADSC mampu berdiferensiasi menjadi kondrosit (Barlian dkk., 2018, Rosadi dkk., 2019, Amsar dkk., 2021). Penelitian lain juga dilakukan dengan sumber sel yang berbeda, yaitu WJ MSC yang ditumbuhkan pada 3D *scaffold* yang berbentuk *sponge* (Barlian dkk., 2020, Vanawati dkk., 2022). Pemilihan jenis sel punca dalam rekayasa jaringan rawan menentukan tingkat efektif dan efisien proses rekayasa jaringan rawan yang dilakukan.

Material *scaffold* memiliki peran yang cukup besar dalam mendukung perlekatan, pertumbuhan, dan diferensiasi sel punca dengan membentuk lingkungan yang sesuai bagi sel. Pemilihan *biomaterial* sebagai bahan *scaffold* dapat memengaruhi perilaku sel yang ditumbuhkan di dalamnya. Penelitian telah dilakukan untuk mengembangkan 3D *scaffold* dari *silk fibroin* yang berasal dari kepompong *Bombix morii* dan *silk spidroin* yang berasal dari jaring laba-laba. Selain bersifat *biocompatible*, kedua bahan tersebut mampu digunakan untuk membentuk 3D *scaffold* dengan morfologi *sponge* yang ukuran porinya mendukung diferensiasi sel punca menjadi kondrosit. Struktur *scaffold*, ukuran pori dan adanya *interconnected pore* menjadi penting untuk diperhatikan supaya *scaffold* dapat memfasilitasi penetrasi sel punca ke dalam *scaffold*, dan menentukan *survival* sel sebagai langkah awal sel untuk selanjutnya berdiferensiasi menjadi sel yang diharapkan. 3D *scaffold* yang dibuat dengan metode *salt leaching* mampu memfasilitasi penetrasi sel punca ke dalamnya (Amsar dkk., 2021).

Spidroin, protein yang berasal dari jaring laba-laba *Argiope appensa* ditemukan mengandung sekuens asam amino RGD yang berperan dalam pelekatan sel pada substratnya. Spidroin memfasilitasi molekul integrin yang ada pada membrane sel untuk membentuk fokal kontak dengan substrat, dalam hal ini *scaffold* 3D (Barlian dkk., 2020). Penambahan spidroin dalam komposisi *scaffold* terbukti memfasilitasi sel punca untuk melekat dan tumbuh lebih baik sehingga diferensiasi menjadi sel rawan pun lebih baik. Namun penambahan spidroin akan berpengaruh terhadap struktur *scaffold* sehingga

konsentrasi yang tepat memang diperlukan untuk menghasilkan *scaffold* 3D yang optimum untuk mendukung pertumbuhan dan diferensiasi sel punca menjadi sel rawan.

Analisis FTIR dilakukan pada *scaffold silk fibroin* diketahui memiliki *wavenumber* spesifik untuk β -sheet pada 1630, 1530, dan 1240 cm^{-1} . *Wavenumber* sekitar 3300 cm^{-1} spesifik untuk ikatan hidrogen (Zhang dkk., 2012; Freddi dkk., 1999). Pada *scaffold*, proses *salt leaching* sedikit berpengaruh pada pelebaran *wavenumber* sekitar 3300 cm^{-1} . Secara keseluruhan, penggabungan *silk* spidroin ke dalam setiap komposisi *scaffold* tidak berpengaruh pada ikatan amida dan struktur sekunder protein (Gambar 2.2 (a)).

Sifat mekanik *scaffold* dengan komposisi *silk* fibroin dan *silk* spidroin yang berbeda diamati melakukan analisis uji tekan. Pada Gambar 2.2 (b), *scaffold* dengan penambahan 5%SS dan 10% SS memiliki kuat tekan tertinggi yaitu sebesar 0,0372 MPa dan 0,0304 MPa, sedangkan SF 100% dan *scaffold* dengan 20% memiliki kekuatan mekanik terendah. Berdasarkan pengamatan tersebut, penambahan *silk* spidroin ke dalam *scaffold* berpengaruh dalam meningkatkan kekuatan *scaffold*. Namun, peningkatan tersebut bergantung pada konsentrasi *silk* spidroin karena *scaffold* dengan konsentrasi *silk* spidroin tertinggi (SF80% + SS20%) memiliki sifat mekanik terendah. Kekuatan tekan *scaffold* berpori dipengaruhi oleh komposisi material, diameter pori, dan porositas (Yang dkk., 2012). Penggabungan *silk* spidroin yang dikenal dengan kekuatan mekaniknya mampu meningkatkan kekuatan mekanik *scaffold* pada penelitian ini (Vepari & Kaplan, 2007). Tulang rawan yang sehat diketahui memiliki modulus tekan antara 0,24–0,85 MPa, dan beberapa rekayasa jaringan diketahui memiliki modulus antara 0,005–5,9 MPa (Izadifar dkk., 2012). *Scaffold* dengan 5% SS memiliki kekuatan mekanik yang lebih baik daripada *scaffold* dengan 10% SS, namun untuk studi lebih lanjut *scaffold* yang digunakan adalah SF90% + SS10% karena memiliki morfologi pori yang lebih ideal dengan interkoneksi yang ideal untuk mendukung pertumbuhan sel dan diferensiasi.

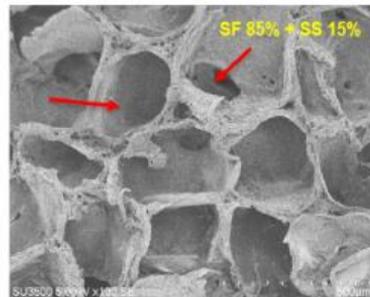
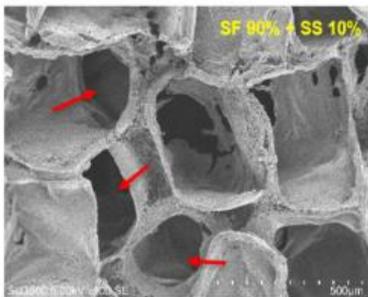
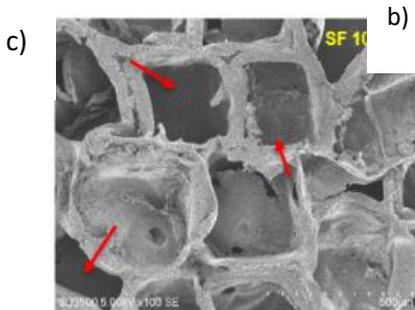
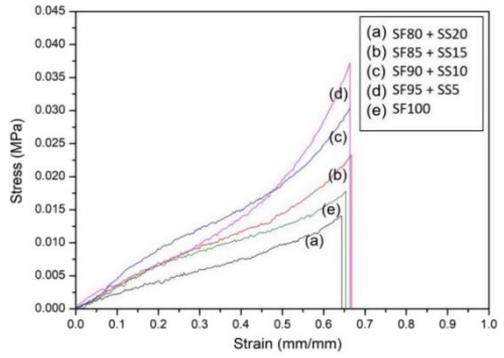
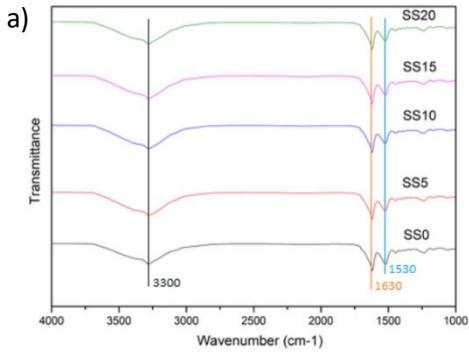
Berdasarkan citra SEM pada Gambar 2.2 (c), dapat diamati bahwa terbentuk struktur pori yang saling terhubung (interkoneksi), terkecuali pada komposisi SF 95% + SS 5% dan SF 80% + 20%. Pada komposisi SF 95% + SS 5%, tidak terbentuk interkoneksi antar pori, sedangkan pada

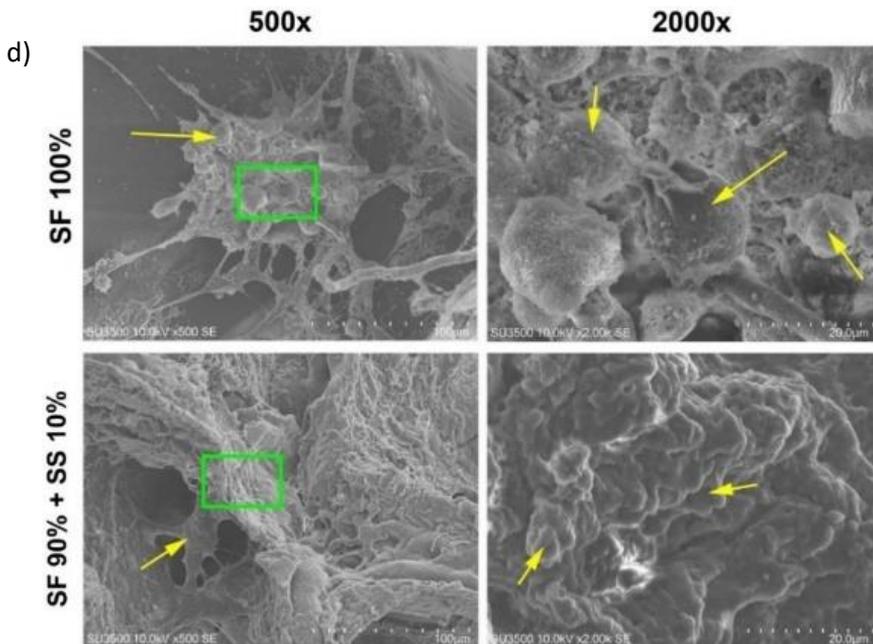
komposisi SF 80% + SS 20% struktur pori yang terbentuk tidak utuh (*collapsed*). Interkonektivitas pada *scaffold*, diperlukan agar sel dapat tumbuh merata pada permukaan *scaffold* dan menghasilkan komponen penyusun ECM. Struktur ini dapat mendukung masuknya nutrisi, pertukaran gas, dan pembuangan sisa metabolisme (Moisenovich dkk., 2012).

Pada komposisi SF 95% + SS 5%, tidak terbentuk interkonektivitas antar-pori, sedangkan pada komposisi SF 80% + SS 20% struktur pori yang terbentuk tidak utuh (*collapsed*). Interkonektivitas pada *scaffold*, diperlukan agar sel dapat tumbuh merata pada permukaan *scaffold* dan menghasilkan komponen penyusun ECM. Struktur ini dapat mendukung masuknya nutrisi, pertukaran gas, dan pembuangan sisa metabolisme (Moisenovich dkk., 2012).

Sel yang ditumbuhkan pada *scaffold* dengan campuran sutra spidroin memiliki morfologi sel yang memanjang dengan juluran filopodia/lamellopodia dan dapat tumbuh merata di atas permukaan *scaffold*, sedangkan sel pada *scaffold* SF 100% memiliki morfologi bulat dengan juluran yang lebih sedikit. Hasil ini menunjukkan bahwa penambahan sutra spidroin asal *Argiope appensa* dapat meningkatkan penempelan sel pada permukaan *scaffold*. Sel dengan bentuk bulat (*spherical*) memiliki ikatan yang lemah terhadap permukaan suatu biomaterial (Leal-Egaña dkk., 2012). Hal tersebut dapat disebabkan karena tidak terdapat domain spesifik penempelan sel pada fibroin asal *Bombyx mori* (Bray dkk., 2013).

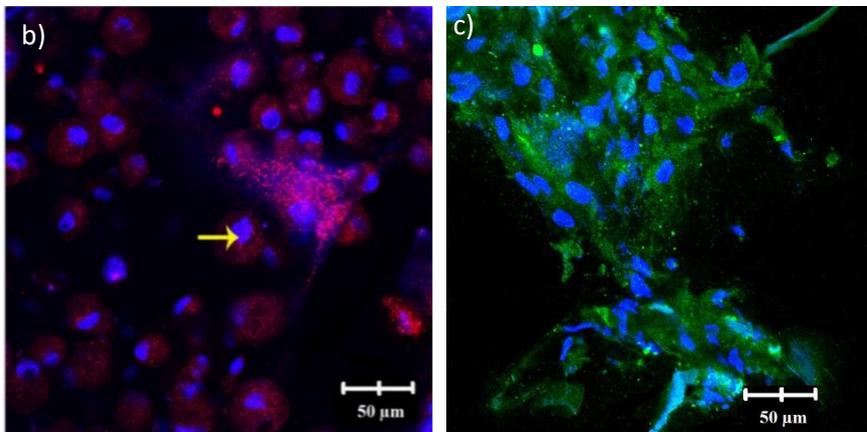
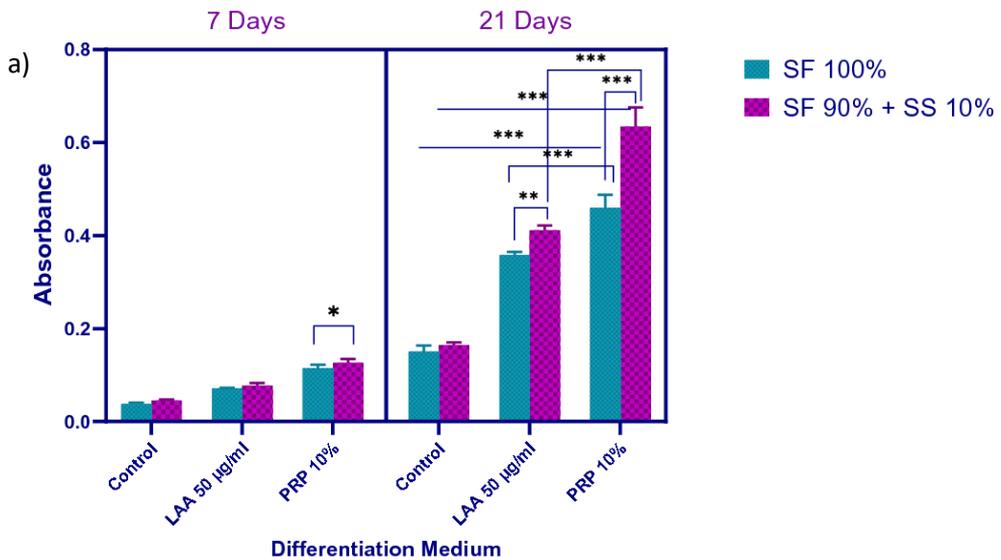
Penempelan sel (*cell attachment*) pada suatu biomaterial, merupakan tahapan yang penting untuk kemudian mendukung proliferasi dan diferensiasi dari sel. Integrin $\beta 1$ adalah subunit dari protein transmembran yang menjadi perantara pada interaksi sel dengan matriks/biomaterial. ICC integrin $\beta 1$ dilakukan untuk mengetahui perbedaan penempelan sel pada *scaffold* dengan campuran spidroin. Berdasarkan pengamatan ICC menggunakan mikroskop konfokal, sel yang tumbuh pada *scaffold* SF 100% nampak membentuk agregat sedangkan pada SF 90% + SS 10% sel menyebar rata pada permukaan *scaffold* (Gambar 2.2 (d)). Berdasarkan studi yang dilakukan oleh (Leal-Egaña dkk., 2012), sel menempel lemah pada sutra fibroin sehingga interaksi antara sel dengan sel lebih kuat dibandingkan dengan interaksi antara sel dan matriks.





Gambar 2.2 *Scaffold* 3D fibroin dan spidroin (a) analisis FTIR *scaffold* (b) kurva Stress–strain *scaffold*. (c) Morfologi *scaffold* tanpa sel (d) Morphology hWJ-MSC yang ditumbuhkan pada *scaffold* dilihat menggunakan *scanning electron microscope* (SEM) dengan perbesaran 500 × dan 2000 ×. kotak hijau menunjukkan area yang di zoom dengan perbesaran 2000x, dan panah kuning menunjukkan morfologi sel (Barlian dkk., 2020).

Kolagen tipe II adalah komponen yang spesifik terdapat pada jaringan rawan artikular dan ada pada sel yang berdiferensiasi menjadi kondrosit. ICC kolagen tipe II dilakukan dengan menumbuhkan sel di atas *scaffold*, ditambahkan medium diferensiasi LAA atau PRP, dan diinkubasi selama 21 hari (Gambar 2.3 (c)). Berdasarkan hasil ICC integrin $\beta 1$ (Gambar 2.3 (b)), diduga sutra spidroin yang diperoleh dari laba-laba *Argiope appensa*. mengandung sekuens asam amino RGD. Sekuens tersebut, dikenali oleh integrin yang akan mempengaruhi penempelan sel pada permukaan suatu biomaterial. Pada penelitian yang dilakukan oleh (Mandal & Kundu, 2009), *scaffold* berbahan dasar sutra asal *A. mylitta* yang diketahui memiliki sekuens RGD dapat mendukung diferensiasi osteogenik dan kondrogenik lebih baik dibandingkan dengan *scaffold* fibroin.



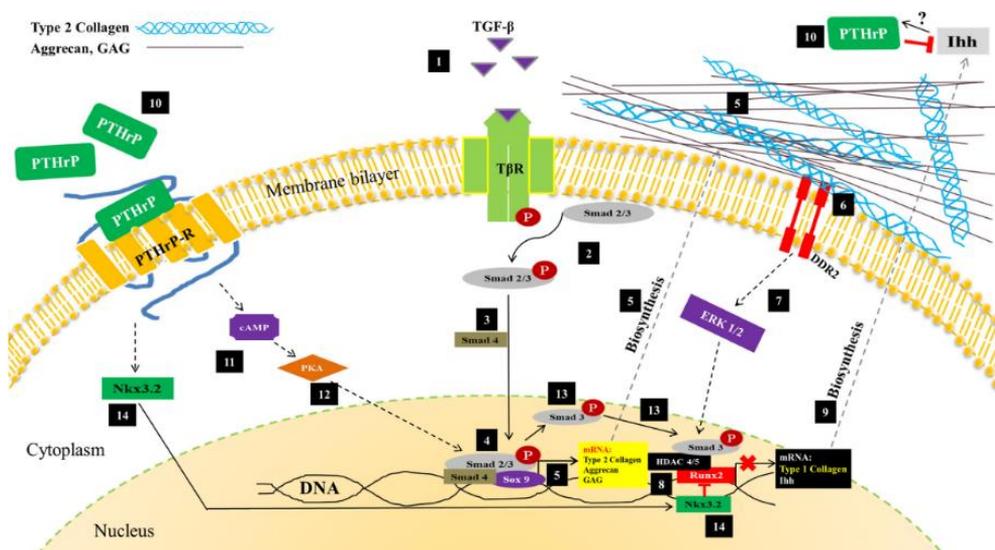
Gambar 2.3 hWJ-MSC yang ditumbuhkan pada *scaffold* sutera (fibroin dan spidroin) (a) Akumulasi GAG dengan penambahan LAA dan PRP (b) Immunocytochemistry (ICC) Integrin $\beta 1$ hWJ-MSCs yang ditumbuhkan pada silk fibroin-spidroin mix *scaffold* (SF 90% + SS 10%) setelah 48 jam. Integrin $\beta 1$ terlihat merah pada gambar. Panah kuning menunjukkan inti sel. (c) kolagen Tipe II yang dihasilkan oleh hWJ-MSC yang ditumbuhkan pada *scaffold* setelah 21 hari kultur. SF = silk fibroin; SS = silk spidroin (Barlian dkk., 2020).

Komponen ketiga rekayasa jaringan, yaitu molekul biokimia dapat ditambahkan untuk mendukung diferensiasi sel punca menjadi sel rawan. Penelitian telah dilakukan terhadap pemberian molekul biokimia yang berupa *platelet rich plasma* (PRP), *L-ascorbic acid* (LAA), dan kombinasi keduanya. Penambahan PRP dalam rekayasa jaringan rawan akan mempercepat diferensiasi sel punca menjadi kondrosit. PRP mengandung berbagai senyawa biokimia di antaranya *Transforming Growth Factor 1 β* (TGF $\beta 1$) (Tabel 1) (Rosadi dkk., 2019).

Tabel 1 Platelet, protein level TGFβ1 dan konsentrasi total protein PRP (Rosadi dkk., 2019).

Measurement	Batch		Average ± SD
	1	2	
Leucocytes (x 10 ³ /μl)	0.20	0.40	0.30 ± 0.14
Erythrocytes (x 10 ³ /μl)	0.01	0.03	0.02 ± 0.14
Thrombocytes (x 10 ³ /μl)	275	985	630 ± 502
TGFβ1 level (pg/ml)	12,451	32,834	22,642 ± 14,413
Protein total (μg/ml)	3980	5742	4861 ± 1246

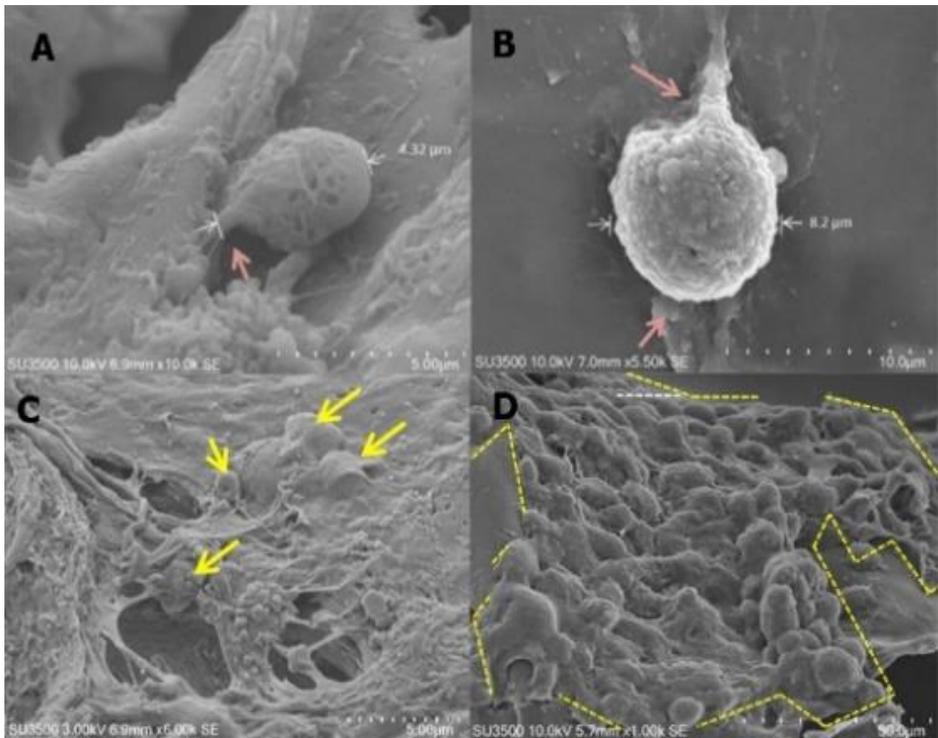
Scaffold dan PRP yang mengandung TGFβ1 menentukan arah diferensiasi sel punca ADSC menjadi sel rawan. TGFβ1 yang terkandung di dalam PRP berperan dalam proliferasi dan diferensiasi sel punca ADSC menjadi sel rawan, hal ini dapat dilihat dari grafik mineralisasi, level GAG dan ekspresi protein CD marker (Gambar 2.5 (2)). Hasil penelitian *scaffold* 3D dengan komposisi sutera fibroin serta suplementasi menggunakan PRP 10%, maka sel punca mampu berdiferensiasi menjadi sel kondrosit berdasarkan munculnya kolagen tipe II, kolagen tipe 1, dan agrekan. Mekanisme yang diduga terjadi di dalam sel punca ADSC yang diberi PRP dapat dilihat pada Gambar 2.4. Peran PRP yang mengandung TGFβ1 dan *scaffold* fibroin yang mampu memfasilitasi penempelan, proliferasi, dan proses kondrogenesis dapat dilihat pada Gambar 2.5.



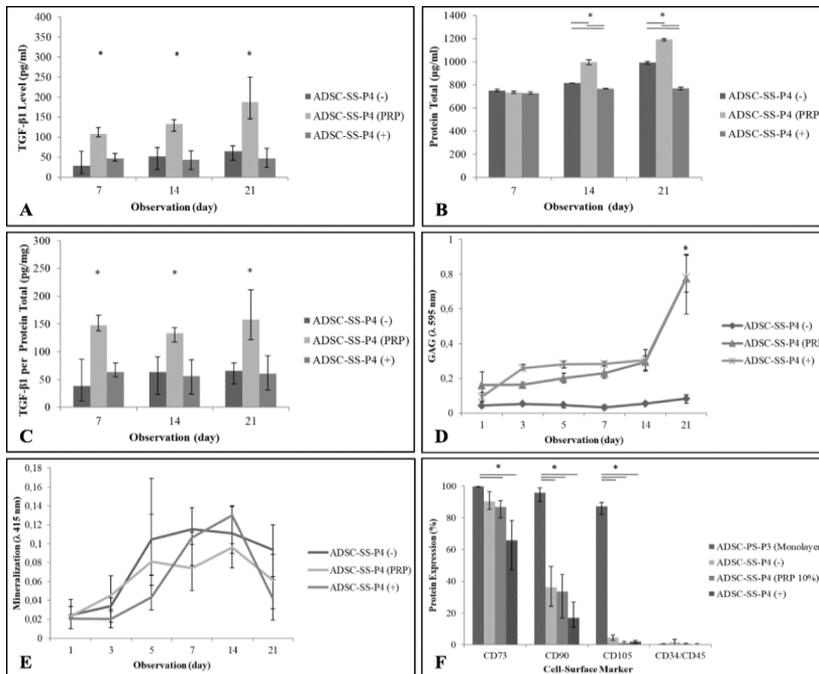
Gambar 2.4 Diagram hipotesis mekanisme yang terjadi di dalam sel punca ADSC yang diberi PRP (Rosadi dkk., 2019).

Diferensiasi sel punca ADSC pada *scaffold* 3D yang mengandung fibroin juga diteliti pada ekspresi gen di tingkat mRNA untuk gen-gen CDH2 (N Cadherin), CTNNB1 (siklin D1) dan COL2A1 (kolagen tipe 2). N Cadherin diketahui berperan dalam migrasi sel punca mesenkimal, siklin D1 berperan dalam siklus sel sedangkan kolagen tipe 2 merupakan salah satu marker kondrogenesis. Bagaimana pengaruh L-ascorbic acid (LAA) dan PRP sebagai faktor biomolekul yang ditambahkan pada kultur sel punca ADSC yang ditumbuhkan pada 3D *scaffold* yang mengandung fibroin terhadap ekspresi ketiga gen tersebut di tingkat mRNA dapat dilihat pada Gambar 2.5.

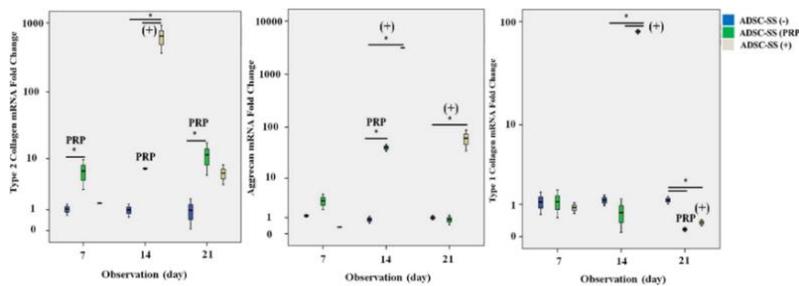
1)



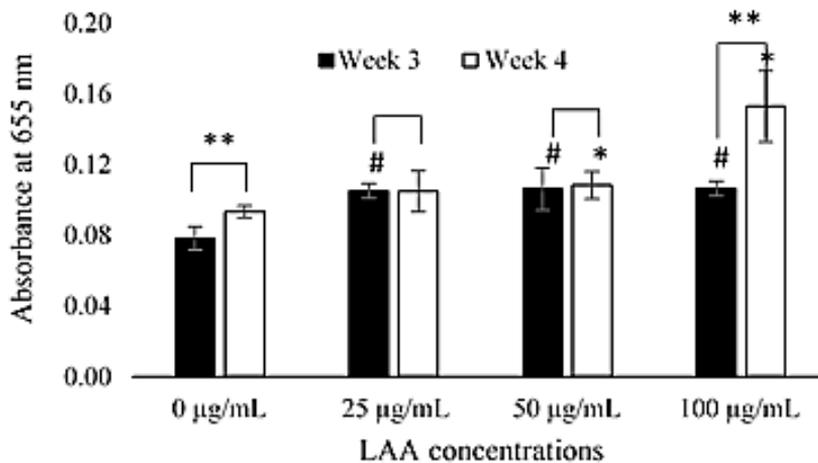
2)



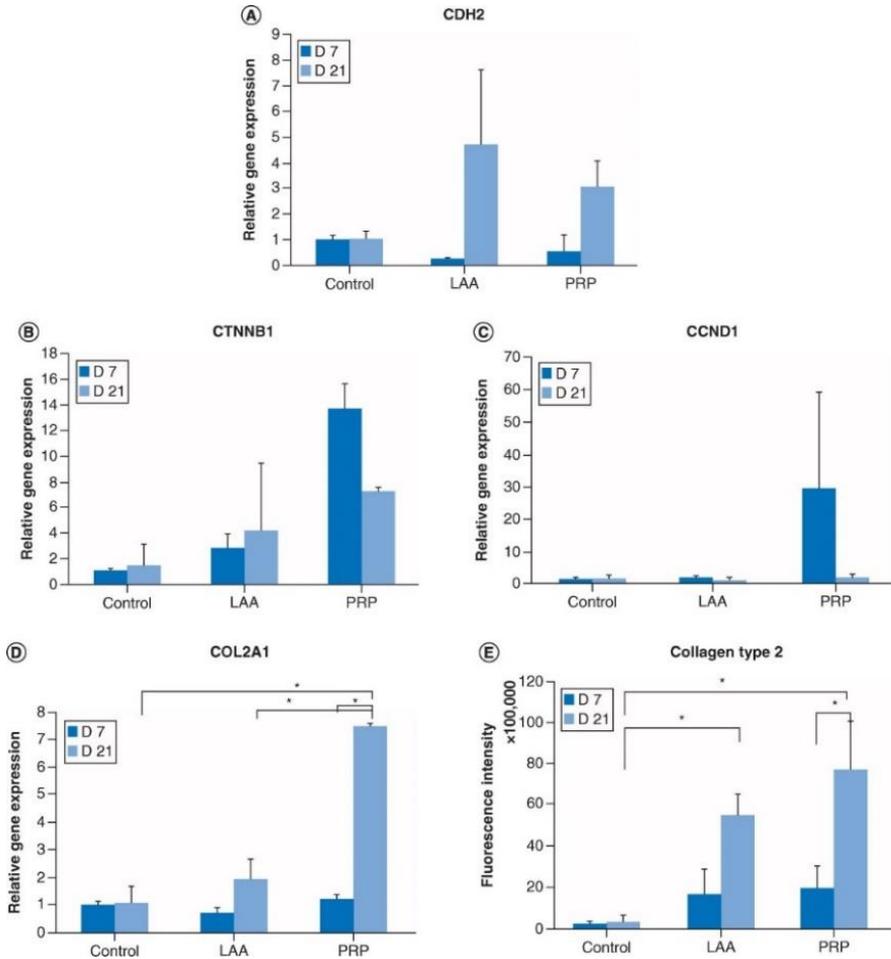
3)



4)



5)



Gambar 2.5 *Adipose Derived Stem Cells* (ADSC) yang ditumbuhkan di *scaffold* (1) *Morfologi Adipose Derived Stem Cells* (ADSC) di atas *scaffold* yang terbuat dari 12% w/v sutera fibroin yang memiliki ukuran pori 500 μm . 3D *scaffold* yang mengandung 12% sutera fibroin bikompatibel untuk sel punca ADSC. (2) Diferensiasi sel punca ADSC. TGF- β 1 level (pg/ml) (a), total protein ($\mu\text{g/ml}$) (b), TGF- β 1 levels per total protein (pg/mg) (c) disekresikan oleh ADSC-SS setelah dipuasakan selama 24 h pada hari ke 7, 14 dan 21 (d); mineralisasi ADSC-SS pada PRP kelompok kontrol stabil dalam konsentrasi rendah selama pengamatan 21 hari (e); ekspresi *cell-surface protein* pada kelompok ADSC-SS hari ke 21 pasase 4 dibandingkan dengan *monolayer* ADSCs pasase 3, *specific stem cell surface-protein markers* (CD73, CD90, CD105) dibandingkan ADSC-SS-PS (*monolayer*) (f). (* $p < 0.05$ indicates statistical significance). (3) Ekspresi relatif kolagen tipe 2 (A), agregkan (B), dan kolagen tipe 1 (C) ADSC-SS pada kelompok PRP dan kontrol hari pengamatan ke-7, 14 dan 21. * $p < 0,05$ berbeda bermakna. (4) Analisis secara kuantitatif GAG pada hADSC yang di induksi LAA dengan berbagai konsentrasi. (5) (A) Ekspresi gen relatif CDH2 (N cadherin) (B) Ekspresi gen relatif CTNNB1 (β -catenin) (C) Ekspresi gen relatif CCND1 (cyclin D1) (D) Ekspresi gen relatif COL2A1 (type 2 collagen) (Barlian dkk., 2018; Rosadi dkk., 2019; Barlian & Yanti, 2020; Amsar dkk., 2021).

LAA yang merupakan turunan dari vitamin C terbukti dapat meningkatkan pertumbuhan dan diferensiasi sel punca pada kultur 2D secara *in vitro* (Barlian & Yanti, 2020). Kemampuan LAA ini kemudian dimanfaatkan dengan menambahkannya pada konstruk sel punca- 3D *scaffold* yang terbukti dapat mendukung diferensiasi sel punca menjadi sel rawan dilihat dari kehadiran molekul-molekul marker kondrogenesis baik di tingkat protein maupun tingkat mRNA (Amsar dkk., 2021).

(LAA) diketahui dapat berperan dalam kondrogenesis. Konsentrasi LAA optimum adalah 50 µg/ml, karena dapat meningkatkan viabilitas sel secara bertahap hingga hari ke-14, dengan nilai tertinggi yang berbeda signifikan ($p < 0.05$), dibandingkan dengan perlakuan 25 µg/ml. Namun demikian jika dibandingkan dengan PRP10% baik pada 7 hari maupun 21 hari pengamatan, penambahan PRP10% lebih baik dalam mendukung kondrogenesis dibandingkan dengan LAA 50ug/ ml.

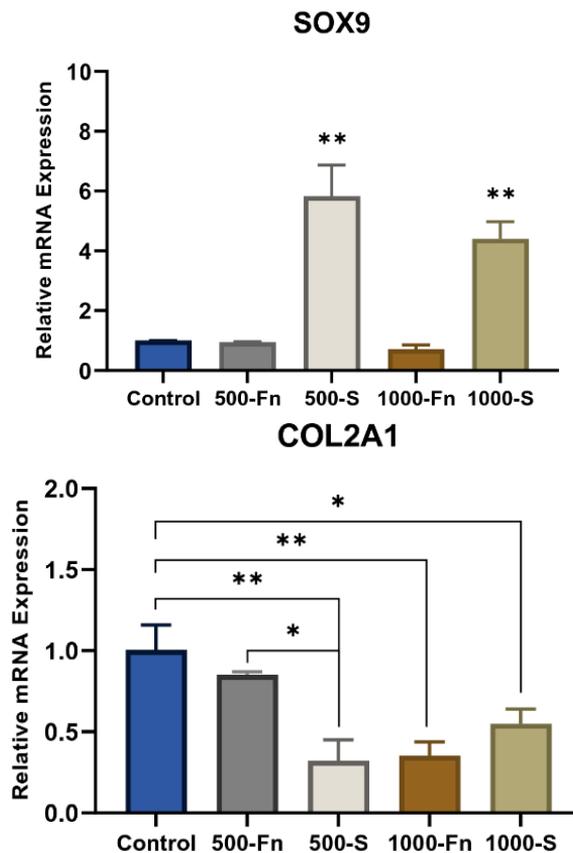
Pemberian molekul biokimia dalam rekayasa jaringan bersifat tidak wajib. *Scaffold* yang baik yang memberikan sinyal mekanik untuk diferensiasi sel tanpa penambahan molekul biokimia sudah mulai diteliti.

Biomaterial pendukung rekayasa jaringan juga dapat berupa *micropattern* dan *nanopattern*. *Micropatterning* adalah metode rekayasa topografi substrat menyerupai *microenvironment* yang sesuai bagi sel. Substrat untuk kultur direkayasa dengan motif-motif berukuran mikron yang akan mendefinisikan penempelan sel pada substrat tersebut (Thery, 2010). Mikrotopografi substrat ini sudah mulai banyak dipelajari sejak pertama ditemukan untuk melihat bagaimana fitur ini berinteraksi dengan sel. Namun, *microenvironment* juga memiliki fitur-fitur dalam skala nano. *Nanopatterning* atau pembuatan motif-motif nano pada substrat sekarang dapat dilakukan akibat perkembangan teknologi ukuran nano.

Metode *micropatterning* dengan *micro contact printing* µCP dimulai dari pembuatan master *micropattern* yang memiliki pola bergaris berukuran 500 µm dan 1000 µm. Master dibuat dengan prosedur laser cutting dari bahan poliakrilik agar memperoleh ukuran *micropattern* yang diinginkan. Sebagai *ink* digunakan larutan spidroin (S) dan Fibronectin (FnM, sebagai kontrol tintanya). Hasil menunjukkan bahwa sel mampu tumbuh hanya pada bagian yang memiliki FnM dan spidroin dan tidak tumbuh di bagian lainnya. Hal tersebut menyebabkan sel akan mendapatkan stimulus mekanik akibat dari terbatasnya area tumbuh sel

yang berujung kepada terjadinya *mechanotransduction*. *Mechanotransduction* merupakan proses di mana sel akan mampu mengubah stimulus mekanik menjadi sinyal biokimia dalam sel (Wang dkk., 2009).

Berdasarkan analisis ekspresi gen relatif tingkat mRNA (Gambar 2.6) dapat dilihat bahwa ekspresi relatif mRNA COL2 pada FnM 1000 μm menurun signifikan pada hari ke-21 dibandingkan kontrol sedangkan ekspresi relatif mRNA SOX9 tidak berbeda signifikan disemua perlakuan. Hal tersebut menunjukkan bahwa FnM tidak meningkatkan ekspresi COL2 dan SOX9 ditingkat mRNA, bahkan ekspresi gen tersebut cenderung lebih rendah dibandingkan kontrol disemua perlakuan FnM.



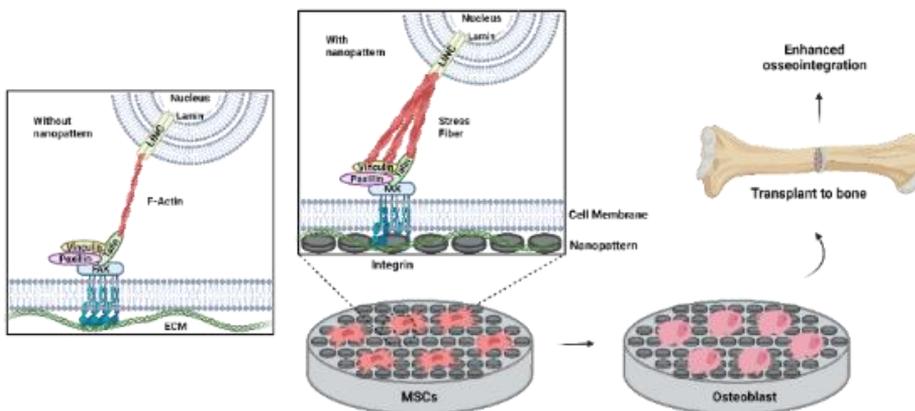
Gambar 2.6 Ekspresi mRNA SOX9 dan mRNA COL2A1 hWJ-MSCs yang ditumbuhkan pada *fibronectin* dan *spidroin micropattern* setelah 21 hari kultur (kontrol = non-coated coverslip, 500-Fn = 500 μm *fibronectin micropattern*, 500-S = 500 μm *spidroin micropattern*, 1000-Fn = 1000 μm *fibronectin micropattern*, 1000-S = 1000 μm *spidroin micropattern*). *denotes significant difference in relative mRNA expression ($p < 0.05$), whereas **($p < 0.01$) (Barlian dkk., 2020).

Teknologi nano turut berperan dalam mengarahkan diferensiasi sel punca menjadi sel rawan dan dibandingkan dengan induksi menggunakan faktor tumbuh, modifikasi substrat lebih ekonomis. Substrat termodifikasi dengan pola nano atau *nanopatterning* dapat mengarahkan diferensiasi sel punca hWJ MSC menjadi kondrosit. tempat sel melekat dan tumbuh. Teknologi *nanopattern* juga memiliki banyak tantangan, seperti kesulitan dalam pembuatan dan perancangan geometri dalam skala nano, serta biaya yang tinggi dengan hasil yang relatif rendah (Lin dkk., 2019). Perkembangan teknologi fabrikasi skala nano memungkinkan untuk membuat struktur nanotopografi. *Nanopattern* sendiri tidak hanya dimanfaatkan dalam bidang biologi saja, tetapi dalam bidang lain seperti elektronik untuk sel elektrokimia (Scholl dkk., 2004). *Nanopattern* mulai dikembangkan dalam studi tentang perilaku sel sekitar 3 dekade yang lalu (Ermis dkk., 2018). Hingga saat ini pun, *nanopattern* masih diteliti untuk mencari metode apa atau kombinasi seperti apa yang paling optimal untuk mengarahkan sel sesuai dengan kebutuhan.

Sudah banyak metode yang digunakan untuk menghasilkan *nanopattern* dan hingga sekarang, penelitian untuk menghasilkan *nanopattern* ini masih berlanjut. Hal ini karena masih banyaknya tantangan dalam nanofabrikasi seperti kesulitan dalam desain dan menghasilkan geometri dengan skala nano, serta biaya yang tinggi dengan yield yang rendah (Lin dkk., 2019). Metode nanofabrikasi terus bergeser seiring waktu. Berbagai macam metode telah dilakukan dalam penelitian untuk menghasilkan *nanopattern* seperti sonikasi (Kuvyrkov dkk., 2019), *sandblasting* (Li & Wang, 2020), metode *solvothermal* (Fu dkk., 2021), oksidasi plasma (Yang dkk., 2020), dan metode lainnya. Namun, beberapa metode yang cukup sering ditemukan adalah litografi, *etching*, dan anodisasi

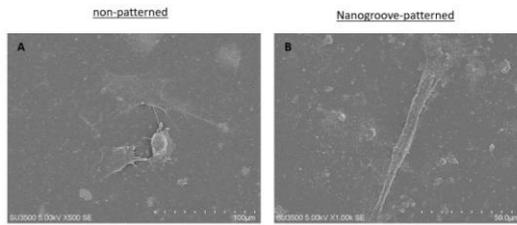
Penelitian menggunakan *nanopattern* telah cukup banyak dilakukan dan pengaruhnya terhadap diferensiasi osteogenik terbukti lewat ekspresi marker-marker osteogenik yang meningkat pada permukaan *nanopattern* dibandingkan kontrol. Penelitian Kim dkk (2013) menunjukkan bahwa ekspresi Col I, RUNX2, dan OPN lebih tinggi pada permukaan *nanopattern*. Selain itu, penelitiannya juga menunjukkan bahwa *nanopattern* dapat dikombinasikan juga dengan senyawa biokimia untuk meningkatkan lagi hasilnya. Amaral dkk (2019) juga membuktikan bahwa *nanopattern* dapat dibentuk menjadi *scaffold* dan dapat menginduksi diferensiasi osteogenik bahkan tanpa dorongan lebih dari senyawa induksi osteogenik.

Nanopattern memiliki potensi yang besar dalam rekayasa jaringan karena *nanopattern* dapat menginduksi diferensiasi MSC dalam *scaffold* melalui sinyal biofisika yang memiliki beberapa keunggulan dibandingkan senyawa biokimiawi seperti growth factor. Namun, upaya untuk fabrikasi *nanopattern* juga cukup sulit untuk dilakukan. Lagipula terdapat banyak jenis *nanopattern* dan pemilihan polanya dapat memengaruhi kontraktilitas sel yang pada akhirnya menginduksi diferensiasi sel. Banyak aspek yang perlu diperhatikan juga seperti teknologi yang dibutuhkan, penggunaan bahan, serta biaya produksi (Li dkk., 2011). Kesulitan-kesulitan ini dapat menjadi tantangan dalam pengembangan metode *nanopattern*. Pemanfaatan metode *nanopattern* dalam menginduksi diferensiasi osteogenik, serta potensi untuk pengembangannya ke depan dapat dilihat pada mekanisme berikut ini (Gambar 2.7). Penelitian menggunakan *nanopattern* untuk mengarahkan diferensiasi sel punca hWJ MSC telah dilakukan dan dapat dilihat bahwa pelekatan (*attachment*) dan *spreading* sel punca hWJ MSC menghasilkan morfologi yang berbeda (Gambar 2.8).

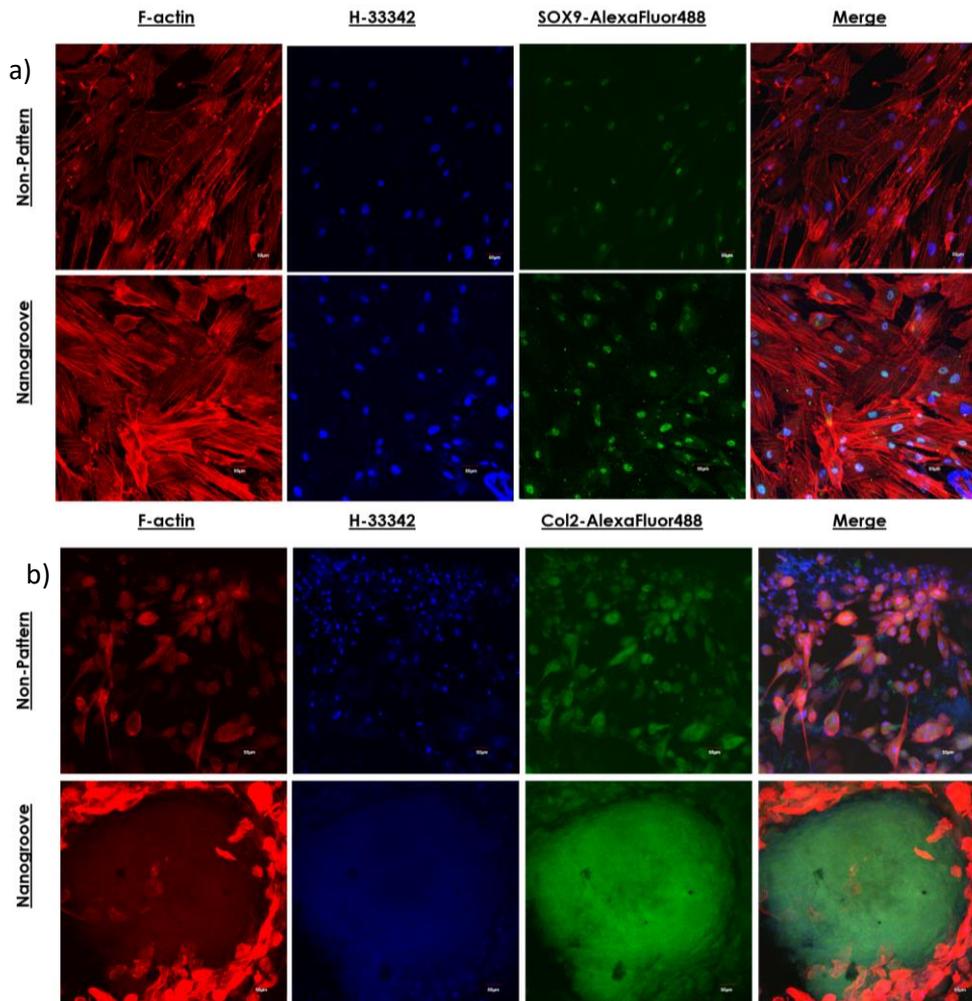


Gambar 2.7 Diagram mekanisme mekanotransduksi *scaffold nanopattern* (Barlian & Vanya, 2022).

Penggunaan teknologi nano melalui *nanopattern* telah membuktikan bahwa *nanopattern* turut menentukan proses kondrogenesis sel punca hWJ MSC. Perbedaan antara sel punca hWJ MSC yang ditanam di atas permukaan/substrat berpola nano dan tanpa pola dapat dilihat pada Gambar 2.10. Secara umum substrat berpola nano memfasilitasi proliferasi sel, dapat diamati dari adanya aktin (Gambar 2.9.a). Ekspresi Sox9 sebagai master regulator kondrogenesis dan kolagen tipe 2 sebagai marker molekul kondrogenesis lebih dominan pada sel yang ditumbuhkan pada substrat berpola nano (Gambar 2.9(b)).



Gambar 2.8 SEM hWJ-MSC pada *scaffold* modifikasi substrat (A) hWJ-MSC pada PDMS dengan lapisan spidroin tidak berpola, (B) hWJ-MSC pada PDMS dengan lapisan spidroin *nanogroove-patterned*.



Gambar 2.9 Immunositokimia *scaffold* bersubstrat spidroin (a) Warna Merah melabel actin, Biru melabel inti sel dan Hijau melabel SOX9 Analisis SOX9 hWJ-MSC pada PDMS Berpola Nano dengan Immunoflourescence-Immunocytochemistry (ICC) (b) Warna Merah melabel actin, Biru melabel inti sel dan Hijau melabel Kolagen tipe II, Analisis Collagen tipe II hWJ-MSC pada PDMS Berpola Nano dengan Immunoflourescence-Immunocytochemistry (ICC).

Teknologi *patterning* baik skala *micro* maupun *nano* dapat digunakan untuk mengarahkan diferensiasi sel punca tanpa menggunakan senyawa kimia tambahan lainnya. Hal ini tentunya lebih efisien dibandingkan dengan penambahan senyawa tambahan seperti *growth factor*. Pada teknologi *micropattern* dan *nanopattern* jarak antarcelah *pattern* menentukan arah diferensiasi sel punca menjadi jenis sel lain. Kami berhasil mengembangkan metode *patterning* dengan dan tanpa penambahan *bio-ink* dari jaring laba-laba. Metode tersebut dapat mengarahkan diferensiasi sel punca menjadi sel rawan/kondrosit tanpa penambahan *growth factor* yang lain.

Diferensiasi sel rawan/kondrosit juga dapat dijadikan sebagai solusi bagi pasien yang mengalami penyakit *lower back pain* (LBP). LBP banyak diderita orang dengan berbagai penyebab, namun pada dasarnya disebabkan oleh rawan yang berada di antara keping vertebra pada tulang punggung kita. Bergesernya atau menipis/memendeknya ataupun rusaknya rawan tersebut menyebabkan kondisi “saraf terjepit”. Jaringan rawan di antara keping vertebra sangat khusus, disebut *nucleus pulposus* (NP). NP tersusun dari kolagen tipe 2 yang pada *kondisi in vivo* di dalam tubuh kita berada pada kondisi hipoksia (rendah oksigen), osmolalitas yang tinggi dan kadar glukosa yang rendah. *Microenvironment* menentukan diferensiasi sel punca hWJ MSC menjadi *Nucleus Pulposus-like cells* (NP-like cells), sel rawan yang berlokasi di antara keping vertebrata tulang belakang sebagai penopang utama tubuh kita. Kombinasi kadar glukosa, oksigen dan struktur *scaffold* membuktikan bahwa untuk mengarahkan diferensiasi sel rawan NP yang sangat spesifik memerlukan *pre-conditioned* yang tepat. Kondisi spesifik jaringan rawan NP di tubuh kita yang rendah nutrisi dan hipoksia menyebabkan sel rawan yang dihasilkan secara *in vitro* dari eksperimen harus memenuhi syarat agar dapat bertahan dalam kondisi tersebut jika ditransplantasikan di antara keping vertebrata. Efek kombinasi topografi *scaffold* dan kondisi kultur atau *microenvironment* untuk mengarahkan diferensiasi hWJ MSC menjadi NP-like cells dalam rekayasa jaringan *nucleus pulposus* membuktikan bahwa *scaffold* dan *microenvironment* serta faktor bioaktif menentukan diferensiasi sel punca menjadi sel rawan yang spesifik dalam kondisi *in vitro* (Vanawati dkk., 2022)

Salah satu upaya untuk memfasilitasi diferensiasi sel punca hWJ MSC menjadi *Nucleus Pulposus-like cells* (NP-like cells), maka dilakukan penelitian

Scaffold 3D yang mengandung fibroin (*Scaffold SF, silk fibroin*) dari kepompong ulat sutera yang difabrikasi dengan metode *salt leaching* dengan ukuran pori beragam untuk mengetahui struktur *scaffold* 3D yang paling optimum untuk mendukung pertumbuhan dan diferensiasi sel punca hWJ MSC menjadi sel NP-like cells, Gambar 2.10.1 menunjukkan *scaffold* 3D yang telah dibuat dalam mendukung pertumbuhan sel punca hWJ MSC. Pada analisis SEM *scaffold* yang belum ditumbuhi oleh sel (Gambar 2.10.2) perbedaan pori dan interkoneksi pori terbentuk pada semua variasi *scaffold*, ukuran pori tergantung dengan ukuran NaCl yang digunakan dalam membuat *scaffold*. Pada hari ke-21 *scaffold* yang telah ditumbuhi sel diamati dengan analisis *z-stack* (Gambar 2.10.3), seluruh pori sudah terisi dengan sel hWJ-MSC. Sel dapat berpenetrasi ke dalam 3D *scaffold* di seluruh variasi *scaffold* yang telah dibuat. Optimasi PRP menunjukkan bahwa 10% konsentrasi PRP adalah konsentrasi optimal yang dapat meningkatkan pertumbuhan hWJ-MSC pada hari ke-21 (Gambar 2.10.3.a). Berdasarkan hasil ini, pertumbuhan hWJ-MSC menggunakan 10% PRP dibandingkan dengan serum 10% FBS yang biasanya digunakan dalam medium kultur (Gambar 2.10.3.b). Hasil menunjukkan bahwa hWJ-MSC yang dikultur dengan medium yang ditambahkan 10%PRP tumbuh secara signifikan pada hari ke 14 dan 21, hal ini ditunjukkan pula dengan akumulasi GAG yang meningkat (Gambar 2.10.3.c). Gambar 2.10.3.d menunjukkan bahwa pada hari ke 21 terlihat peningkatan pertumbuhan sel secara signifikan. Kemampuan diferensiasi kondrogenik hWJ-MSC yang dikultur pada medium rendah glukosa pada hari ke-14 dan ke-21 menunjukkan akumulasi GAG yang lebih tinggi dibandingkan dengan medium kultur yang tinggi glukosa (Gambar 2.10.3.e).

Analisis pengaruh kondisi hipoksia 5% terhadap pertumbuhan hWJ-MSC dianalisis menggunakan MTT assay (Gambar 2.11.1.a). Grafik menunjukkan, tidak terdapat perbedaan kurva pertumbuhan hWJ-MSC yang ditanam dalam kondisi hipoksia 5% maupun normoxia hingga hari ke-7, namun terjadi peningkatan pertumbuhan hWJ-MSC yang ditanam dalam kondisi normoxia dari hari ke-7 hingga hari ke-21, sedangkan tidak terjadi pertumbuhan pada hWJ-MSC yang ditanam dalam kondisi hipoksia 5% (Gambar 2.11.1). Analisis pengaruh kondisi hipoksia terhadap akumulasi GAG dan keberadaan kolagen 2 dilakukan menggunakan dua sel berbeda, yaitu hADSC dan hWJ-MSC. Grafik potensi diferensiasi memperlihatkan akumulasi GAG pada hADSC (Gambar 2.11.2) dan hWJ-MSC (Gambar

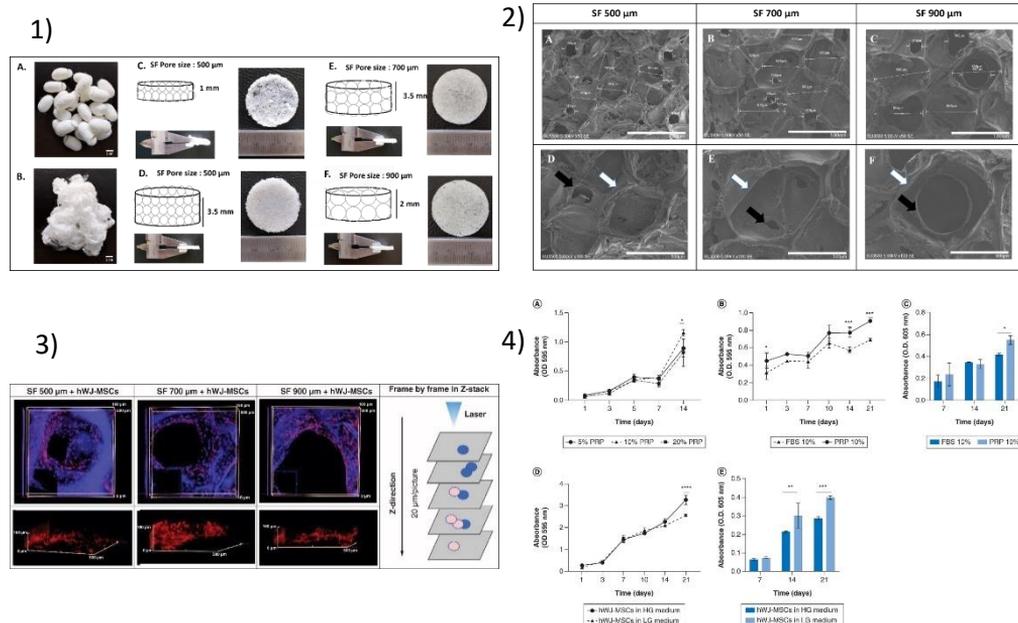
2.11.3). Pada hADSC akumulasi GAG terlihat lebih tinggi pada keadaan hipoksia sedangkan pada hWJ-MSC terlihat lebih tinggi pada keadaan normoksia. Selain itu, dilakukan visualisasi kolagen tipe 2, sebagai marker kondrogenesis hari ke-21 diamati menggunakan konfokal. Hasil visualisasi pada konfokal menunjukkan keberadaan kolagen tipe 2 (ditandai warna hijau) pada hADSC (Gambar 2.11.3) dan hWJ-MSC (Gambar 2.11.4) pada kondisi hipoksia 5%. Hal ini memperlihatkan bahwa kondisi hipoksia dapat menginduksi hWJ-MSC menjadi kondrosit. Diagram hipotesis bagaimana peran hipoksia dalam pertumbuhan dan diferensiasi hWJ-MSC pada *scaffold* SF (Gambar 2.11.7).

Hasil *Western blot* (WB) pada (Gambar 2.11.6) juga memperlihatkan bahwa kondisi hipoksia akan meningkatkan ekspresi gen di tingkat protein, yakni Sox9. Sox9 dikenal sebagai master regulator dalam proses kondrogenesis. Hasil ini memberikan kebaruan metode menggunakan hWJ-MSC sebagai sumber sel serta bentuk dasar kultur 3D dalam pengembangan metode rekayasa jaringan NP yang diuji menggunakan kondisi hipoksia sebagai lingkungan mikro di dalam NP. Berdasarkan hasil penelitian ini, maka ke depannya dapat dilakukan pengembangan untuk melakukan pre-diferensiasi sebelum dilakukan implantasi pada NP agar sel dapat bertahan dalam kondisi lingkungan mikro yang *harsh* dan berdiferensiasi seperti yang sudah dilakukan oleh Wang dkk. (2016).

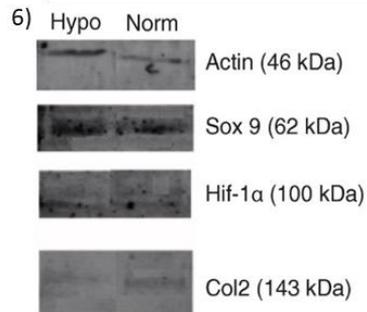
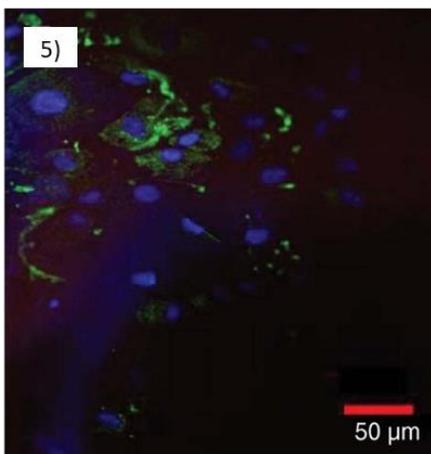
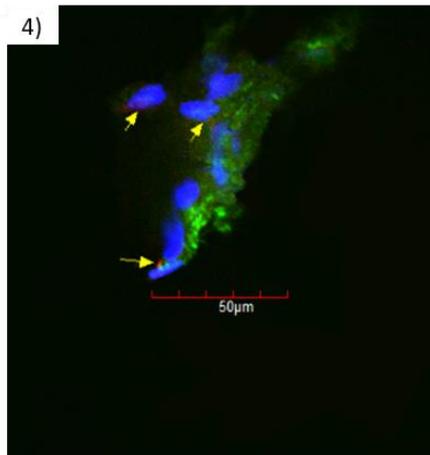
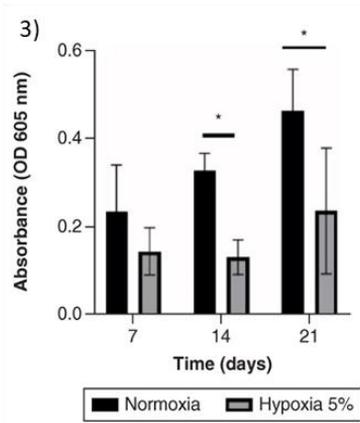
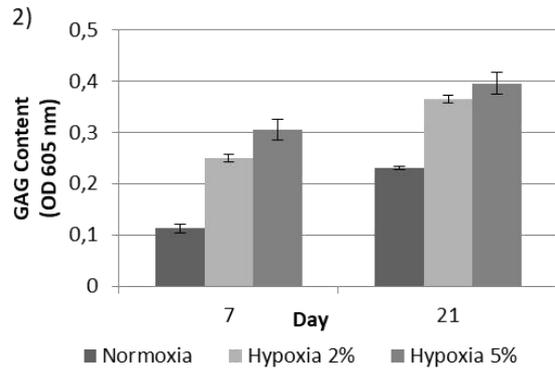
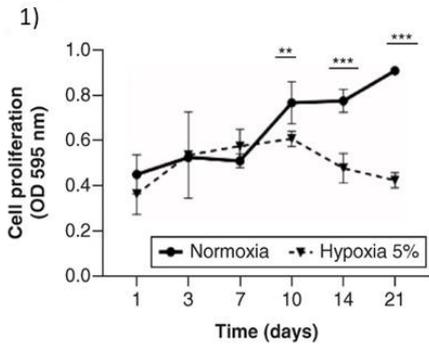
Kondisi normoksia akan meningkatkan proliferasi dan diferensiasi melewati jalur SMAD dan Wnt4. Sedangkan kondisi hipoksia akan menurunkan proliferasi dan meningkatkan diferensiasi dengan diaktivasinya Hif1 α karena kondisi hipoksia. T β R (TGF- β receptor), Sox 9 (Sry-related HMG box), WNT4 (WNT family member 4), Col2A1 (Collagen type II), Hif-1 α (Hypoxia Inducible factor - alpha). Mekanisme proliferasi dan diferensiasi sel yang terjadi dalam kondisi hipoksia dan normoxia dapat dilihat pada Gambar 2.11.7. Dalam kondisi normoxia, medium kultur yang mengandung 10% PRP diduga akan meningkatkan molekul TGF- β 1 yang akan menginduksi fosforilasi dari protein Smad 2/3 dan menuju inti sel untuk mengontrol ekspresi dari protein Sox 9. Selanjutnya, Sox9 akan berperan dalam meregulasi gen lain yang terlibat dalam kondrogenesis serta meningkatkan ekspresi ECM kolagen tipe 2 dan ACAN. Peningkatan ACAN sebagai molekul pembentuk matriks ekstraseluler yang berikatan dengan molekul GAG menyebabkan semakin banyak ACAN yang diekspresikan, maka semakin

banyak GAG yang terdeteksi sebagai marker kondrogenesis (Studer dkk., 2012). TGF- β 1 juga akan menginduksi proliferasi melalui jalur WNT/ β 1 catenin pathway (Usami dkk., 2016). Sedangkan, HIF-1 α akan terdegradasi oleh oksigen karena keberadaaan oksigen yang tinggi (Yang dkk., 2021). Menurut Lekvijittada dkk., (2021) dalam kondisi hipoksia, HIF-1 α akan teraktivasi dan akan meningkatkan ekspresi Sox9 yang terlibat dalam kondrogenesis dengan mengontrol komponen matriks ekstraseluler pada kondrosit. Sementara HIF-1 α , memiliki peranan lainnya dalam menurunkan ekspresi dari smad 2 dan WNT/ β catenin pathway sehingga pada kondisi hipoksia hanya terlibat dalam diferensiasi sel.

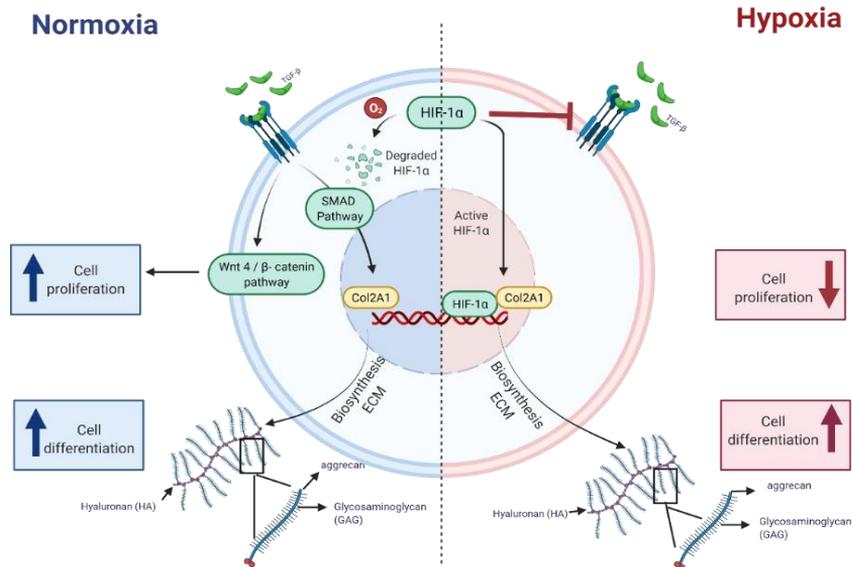
Berdasarkan hasil-hasil penelitian menggunakan *scaffold* 3D berbahan fibroin dan bioaktif faktor dari PRP, terdapat beberapa faktor yang menentukan kesuksesan rekayasa jaringan rawan. Faktor tersebut di antaranya ukuran pori *scaffold*, pre-kondisi sel, dan *microenvironment* tempat sel tumbuh. Pengkondisian *microenvironment* seperti kadar oksigen sangat berpengaruh pada pertumbuhan sel yang berbeda. Pada kadar oksigen rendah sel punca dari jaringan lemak atau ADSC lebih dapat bertahan dan lebih tinggi akumulasi GAG yang dihasilkan dibandingkan dengan hWJ-MS. Sel punca baik ADSC maupun hWJ-MS mampu berdiferensiasi menjadi sel rawan yang dibuktikan adanya marker-marker sel rawan yang diekspresikan baik di tingkat mRNA maupun protein. Hal ini tentunya menjadi penting bila dalam aplikasi rekayasa jaringan rawan di bidang kesehatan kita yakin bahwa apa yang akan ditransplantasikan adalah sel-sel yang akan menggantikan jaringan rawan yang rusak.



Gambar 2.10 Scaffold fibroin untuk rekayasa jaringan rawan (1) scaffold 3D dengan berbagai ukuran pori dan ketebalan. (2) Analisis SEM scaffold SF dengan variasi diameter pori. Pada semua variasi diameter pori memperlihatkan bentuk, ukuran pori dan *interconnected pores* dari scaffold SF Diameter pori 500 μm (A,D); 700 μm (B,E); SF 900 μm (C,F). Scale bar = 1 mm (A,B,C); 500 μm (D,E,F). Tanda parah berwarna putih menunjukkan pori, tanda panah berwarna hitam menunjukkan *interconnected pore* yang terbentuk. (3) Visualisasi penetrasi sel punca hWJ MSC dengan mikroskop konfokal Fv1200 (IOBC). Penetrasi sel punca hWJ MSC terjadi pada berbagai ukuran pori scaffold dengan ketebalan 3.5 mm. Actin berwarna merah, DAPI berwarna biru (mewarnai inti sel dan juga scaffold) menunjukkan pori 3D SF scaffold yang dipenuhi sel punca hWJ-MSC pada hari ke-21 dengan variasi ukuran pori 500 μm ; 700 μm ; dan 900 μm . Z-stack untuk optical sectioning dengan ketebalan 20 μm per foto. Fotograf diambil dari bagian atas pori. Gambar (4) Kurva tumbuh dan kemampuan berdiferensiasi sel punca hWJ- MSC pada konsentrasi glukosa rendah atau tinggi dan PRP 5, 10, 20%. (A) optimasi pertumbuhan hWJ-MSC dengan induksi PRP dengan berbagai variasi konsentrasi tanpa FBS and (B) kurva pertumbuhan hWJ-MSC pada scaffold yang diinduksi 10% PRP and 10% FBS and (C) grafik GAGs (D) Efek medium low glucose dan high glucose pada pertumbuhan hWJ-MSC and (E) grafik GAGs *p: 0.0322; **p: 0.002; ***p: 0.002; ****p: <0.0001; n: 3 (Vanawati dkk., 2022).



7) Normoxia



Gambar 2.11 Perlakuan hipoksia pada *scaffold* rekayasa jaringan rawan (1) kurva pertumbuhan hWJ- MSC dengan perbedaan konsentrasi oksigen; Grafik kandungan GAG yang dikultur dalam keadaan normoksia dan hipoksia pada (2) hADSC (3) hWJ-MSC; Ekspresi kolagen tipe II hWJ-MSC pada hari ke 21 dalam keadaan 5% hipoksia (4) hADSC (5) hWJ-MSC . Warna hijau menunjukkan kolagen tipe II dan warna biru menunjukkan DAPI; (E) *western blotting* Sox9, Col2, dan Hif-1 α^* ; (7) Diagram hipotesis peran kondisi hipoksia dalam proliferasi dan diferensiasi hWJ-MSC (Barlian dkk., 2021; Vanawati dkk., 2022).

2.2 Rekayasa Jaringan Tulang

Rekayasa jaringan tulang bertujuan untuk membentuk jaringan tulang yang fungsional melalui kombinasi sinergis dari komponen-komponen rekayasa jaringan. Produk dari rekayasa jaringan tulang diharapkan dapat menjadi jaringan yang dapat diimplementasi untuk mengatasi *critical skeletal defects*. Jaringan tulang memiliki struktur alami yang tersusun dari beberapa jenis sel di antaranya osteoklas dan osteoblas. Jaringan hasil rekayasa jaringan tulang diharapkan dapat meniru jaringan alami yang menyusun tulang.

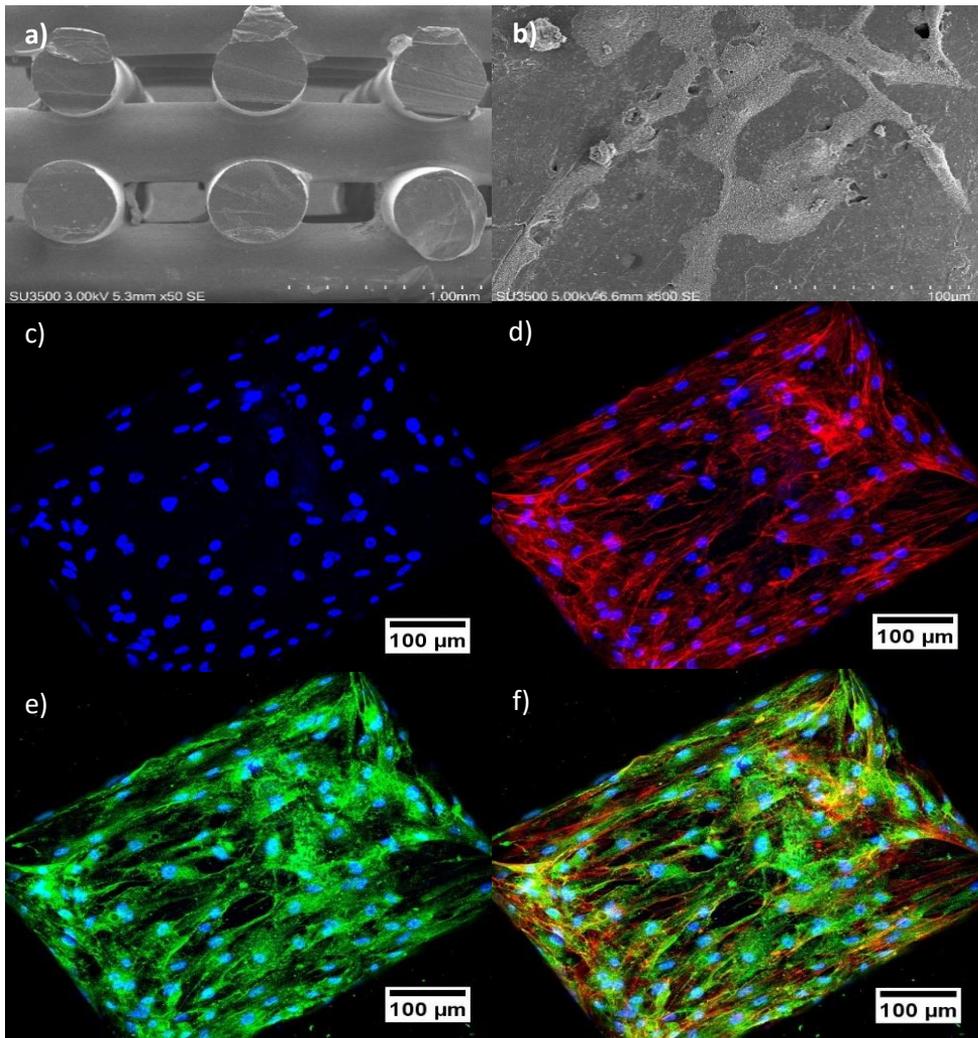
Desain biomaterial untuk rekayasa jaringan tulang menjadi penting untuk kesuksesan teknologi ini. Syarat utama material yang digunakan adalah biokompatibilitas yang dapat diartikan bahwa material tersebut tidak bersifat toksik. *Scaffold* yang mendukung pembentukan jaringan tulang juga harus bersifat *osteoinductive* yang artinya memiliki kemampuan intrinsik untuk menginduksi *osteogenesis* (diferensiasi sel punca menjadi osteoblast) dan juga

osteoinductive. Osteokonduktif material merupakan material yang memiliki struktur dan komposisi yang mampu mendeposisi jaringan termineralisasi pada permukaannya. Salah satu contoh material yang bersifat *osteoinductive* adalah nanopartikel Ag (AgNP).

Penelitian mengenai perilaku sel punca yang ditumbuhkan pada *scaffold* berbahan dasar polycaprolactone (PCL) dan AgNP telah dilakukan. Penambahan AgNP pada *scaffold* PCL dapat meningkatkan diameter serat dan mengurangi ukuran pori *scaffold* (Wibowo dkk., 2021). Menurut Krieghoff dkk. (2019), *scaffold* dengan pori berkisar antara 300 hingga 500 μm menghasilkan hasil terbaik karena sel mampu memproduksi kolagen, deposisi hidroksiapatit, dan maturasi tulang. *Scaffold* berbahan PCL dan AgNP dibuat dengan teknologi 3D printing yang dapat diatur struktur dan ukuran pori dari *scaffold* tersebut. *Scaffold* yang dihasilkan memiliki struktur yang identik dan pori yang berjajar dengan baik (Gambar 2.12 (a)). Sel hWJ-MSC mampu menempel dan tumbuh dengan baik pada *scaffold* tersebut ditandai dengan adanya juluran sitoplasma sel yang melingkupi *scaffold* Gambar 2.12 (b). Hal ini menunjukkan bahwa *scaffold* PCL/AgNP memiliki sifat *biocompatible*.

Kemampuan *osteoinductive* dari *scaffold* PCL/AgNP dibuktikan dengan melihat matriks ekstraseluler yang terbentuk pada konstruk hWJ MSC-*scaffold*. Keberadaan kolagen tipe 1 (warna merah) sebagai salah satu *marker osteogenesis* dan keberadaan *osteopontin* (warna hijau) yang merupakan salah satu *marker mature osteoblast* membuktikan bahwa 3D printed *scaffold* yang mengandung AgNP mampu memfasilitasi diferensiasi osteogenik (Gambar 2.12 (c)).

Pengembangan material yang mendukung rekayasa jaringan tulang terus dilakukan. Salah satu material alami yang dapat digunakan adalah biosilika. Beberapa penelitian telah dilakukan untuk membuktikan peran biosilika yang diambil dari Porifera dalam mendukung osteogenesis, namun belum ada penelitian yang menggunakan biosilika berasal dari perairan laut Indonesia. Komponen utama yang terdapat dalam Porifera, biosilika dan spongin (*collagen-like protein*), turut berperan dalam memicu pembentukan sel tulang.

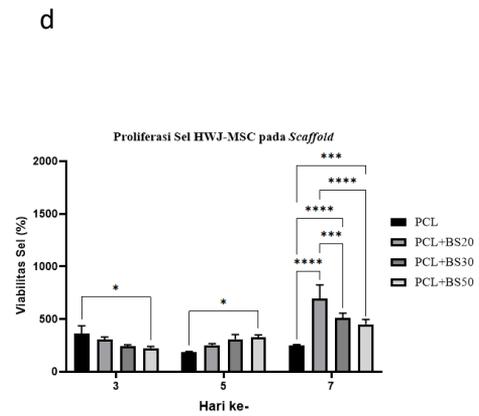
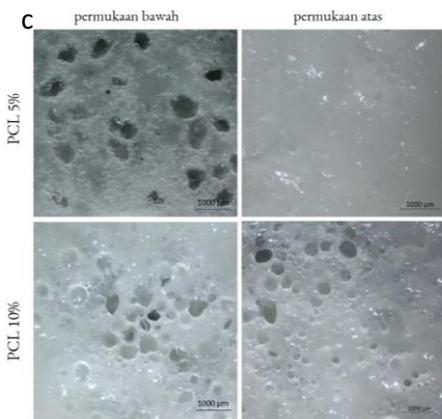
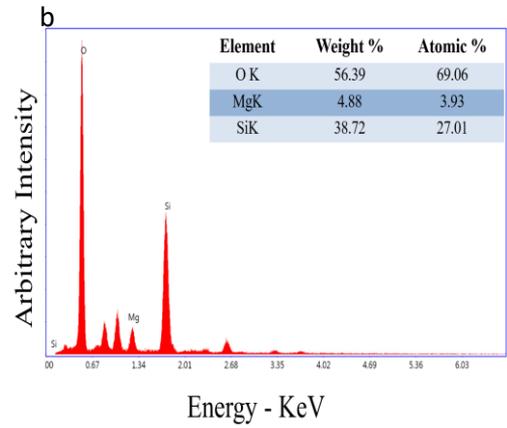
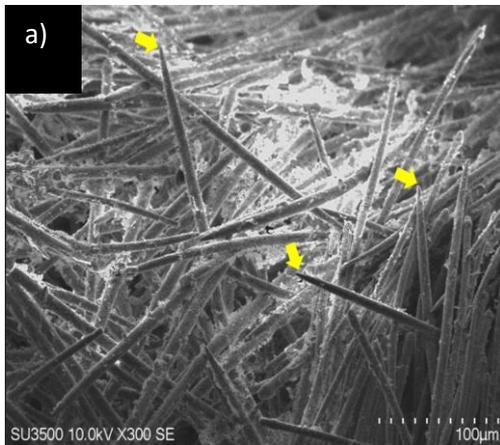


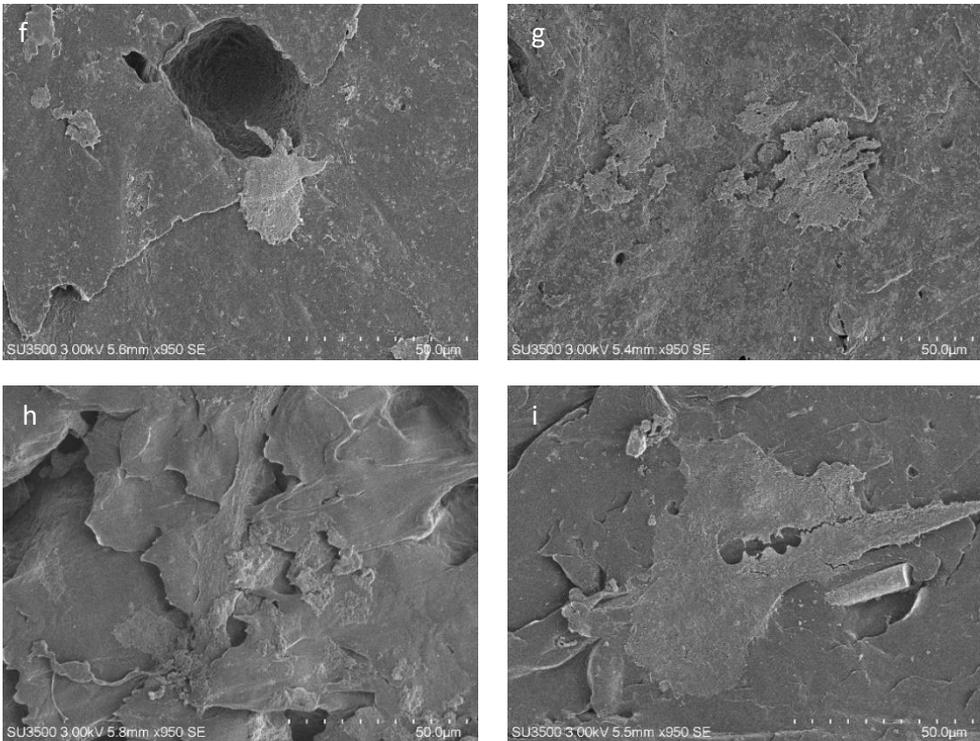
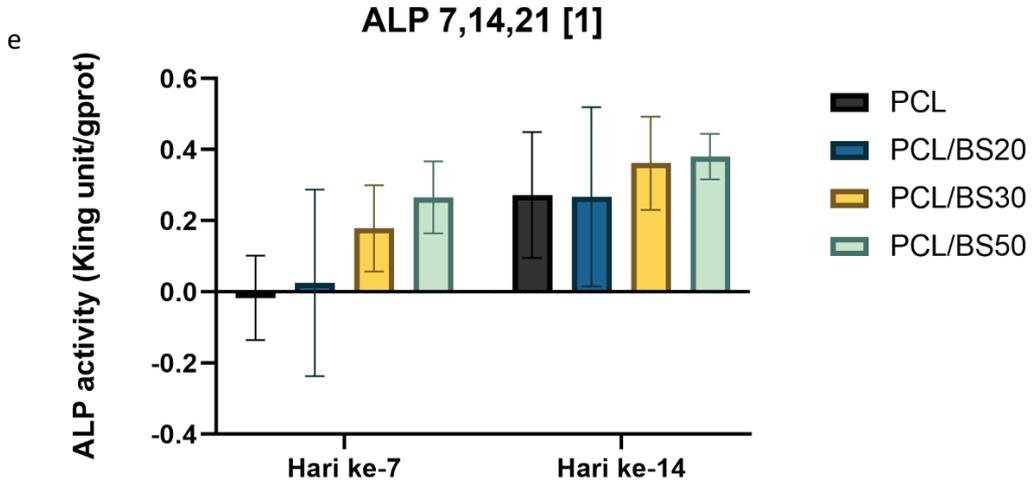
Gambar 2.12 SEM dan Imunositokimia *scaffold* PCL/AgNP (a) SEM *scaffold* PCL/AgNP; (b) SEM dari *scaffold* PCL/AgNP yang ditanami hWJ-MSC. *scaffold* tampak atas; Imunositokimia pada hWJ-MSC yang Ditumbuhkan pada *Scaffold* PCL/AgNP Hari ke 21 (c) DAPI, (d) Kolagen tipe I & DAPI, (e) Osteopontin & DAPI, (f) merge.

Penelitian tentang pembuatan *scaffold* berbahan dasar biosilika untuk mendukung diferensiasi sel punca menjadi osteosit telah dilakukan. Biosilika yang diambil dari spesies *Speciospongia vagabunda* teramati memiliki struktur yang runcing Gambar 2.13 (a). Biosilika spons laut (*Spheciospongia vagabunda*) mengandung sejumlah besar gugus hidroksil (SiO_2) sehingga menyediakan permukaan yang bersifat hidrofilik (Xu & Zhang, 2021) dan sejumlah kecil Mg untuk mendukung bioaktivitas *scaffold* (Baros dkk., 2016).

Biosilika tersebut kemudian digunakan untuk membuat *scaffold* dengan teknik *salt leaching*. Morfologi dan struktur *scaffold* yang terbentuk dapat diamati dengan mikroskop elektron Gambar 2.13 (c). Sel hWJ-MSc yang ditumbuhkan pada *scaffold* tersebut mampu menempel dan tumbuh dengan baik. Penambahan biosilika pada *scaffold* berbahan PCL terbukti lebih baik dalam mendukung perlekatan sel (*cell attachment*). Sel punca tampak menjulurkan sitoplasmanya pada *scaffold* yang mengandung biosilika dibandingkan dengan *scaffold* berbahan PCL saja (Gambar 2.13 (f,g,h,i)). Pertumbuhan sel punca pada *scaffold* yang mengandung biosilika juga terbukti lebih baik (Gambar 2.13 (d)). Hal ini dapat disimpulkan bahwa *scaffold* dengan bahan PCL dengan penambahan biosilika bersifat biokompatibel.

Alkaline Phosphatase atau ALP merupakan enzim yang diproduksi oleh tahap awal dari osteoblast sehingga dapat dijadikan marker diferensiasi awal dari MSCs. Berdasarkan studi lain, ALP dapat mengarahkan diferensiasi osteogenesis dari *Mesenchymal Stem Cells* (MSC) melalui aktivasi AMPK (*AMP-activated kinase*) (Sato dkk., 2021). Enzim ini berperan memfasilitasi mineralisasi tulang melalui pembentukan hydroxyapatite (Vimalraj, 2020). Aktivitas ALP dari sel akan meningkat hingga tahap mineralisasi pada proses diferensiasi dan menurun ketika mencapai tahap maturasi menjadi osteosit dewasa. Aktivitas ALP dari hWJ-MSCs teramati pada Gambar 2.13 (e) pada seluruh variasi mengalami peningkatan dari hari ke-7 dan mencapai nilai tertinggi pada hari ke-21. *Scaffold* PCL/BS50 secara keseluruhan memiliki aktivitas ALP yang paling tinggi dibandingkan seluruh variasi *scaffold* pada semua waktu. Adapun antarvariasi *scaffold* komposit PCL/BS tidak teramati perbedaan yang signifikan ($p > 0.05$). Peningkatan aktivitas ALP secara signifikan hanya teramati pada *scaffold* PCL antar waktu pengamatan (** $p < 0.01$), serta antara *scaffold* PCL/BS50 dengan PCL pada hari ke-7 (* $p < 0.05$). Aktivitas ALP pada hari ke-7 menunjukkan bahwa *scaffold* PCL/BS50 memiliki pengaruh terhadap peningkatan diferensiasi awal hWJ-MSCs menjadi osteoblast dibandingkan dengan *scaffold* PCL.





Gambar 2.13 Scaffold dari spons laut *Sphaciospongia vagabunda* (a) Biosilika spons laut, panah kuning menunjukkan ujung spikula biosilika monaxone rod-like; (b) Karakterisasi spektrum EDS biosilika spons laut; (c) Morfologi scaffold PCL dengan variasi konsentrasi 5% dan 10% yang divisualisasi menggunakan mikroskop stereo ; panah kuning = interkoneksi; (d) Viabilitas sel pada scaffold PCL+BS pada hari ke-3, -5, -7; (e) Aktivitas ALP hWJ-MSCs pada scaffold di hari ke-7 dan ke-14. ANOVA two-way, $p > 0.05$; Scaffold yang telah ditumbuhi sel diamati dengan menggunakan SEM; (f) scaffold PCL; (g) scaffold PCL/BS20; (h) scaffold PCL/BS30; (i) scaffold PCL/BS50.

2.3 Rekayasa Jaringan Kulit

Dalam kondisi luka parah, di mana sebagian jaringan kulit rusak/ hilang, maka salah satu alternatif yang dilakukan adalah dengan rekayasa jaringan kulit. Berbagai *scaffold* telah dibuat untuk menjadi tempat tumbuh dan berkembangnya sel kulit, salah satu yang dikembangkan adalah membuat *scaffold* untuk rekayasa jaringan kulit menggunakan PVA dan fibroin dengan metode *electrospinning*. Nanofiber yang terbentuk dari hasil *electrospinning* diharapkan strukturnya menyerupai matriks ekstraseluler yang ada di bagian jaringan kulit, sehingga dapat dilihat pada Gambar 2.14 (1,2) morfologi sel *Human Dermal Fibroblast* (HDF) dan pertumbuhan sel HDF.

Gambar 2.14 (1) menunjukkan bahwa kedua *scaffold* bisa memfasilitasi adhesi sel. Sitoplasma diamati hanya pada permukaan *scaffold* nanofiber (Lowery dkk., 2010). Hasil SEM menunjukkan bahwa kedua *scaffold* memiliki potensi untuk mendukung proliferasi sel. Penambahan SF pada *scaffold* nanofiber diharapkan dapat memudahkan penempelan sel karena SF didominasi oleh glisin (Lai., 2014). Penambahan SF diasumsikan memfasilitasi perlekatan sel lebih dari *scaffold* PVA. Proses adhesi sel ke substrat dipengaruhi oleh ukuran pori, serat diameter (Lowery dkk., 2010), hidrofilitas substrat, keberadaan protein pada substrat (Wilson dkk., 2005), dan struktur permukaan substrat (Cooper., 2000)

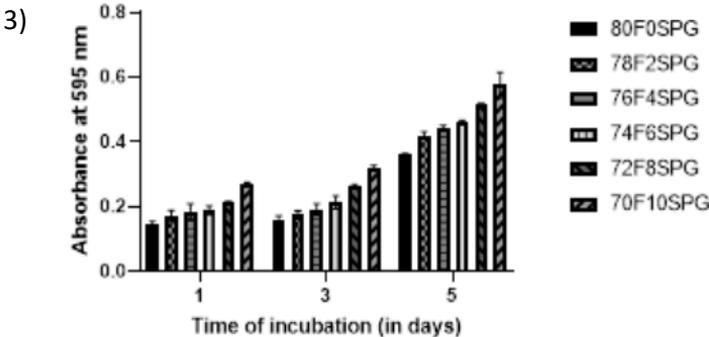
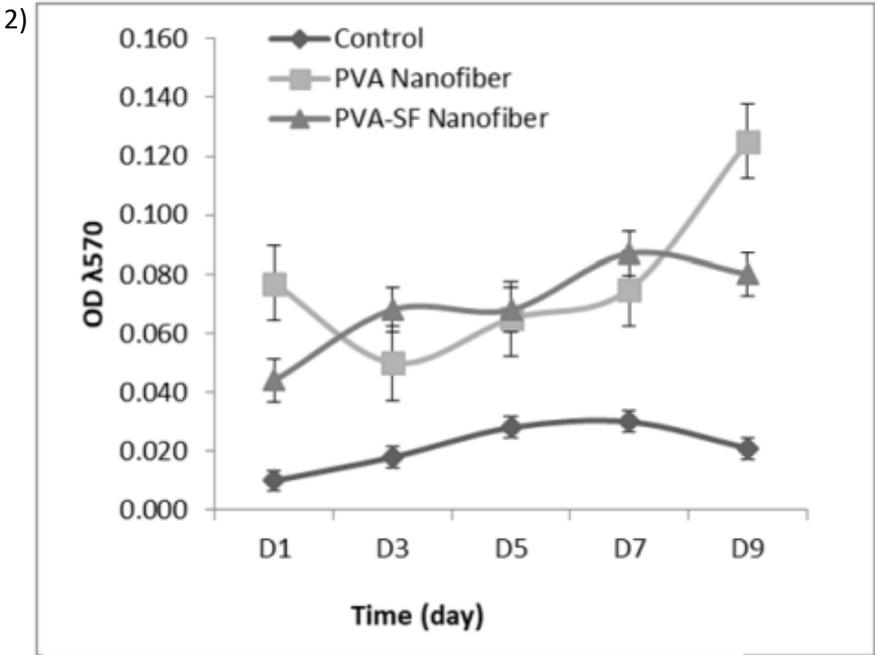
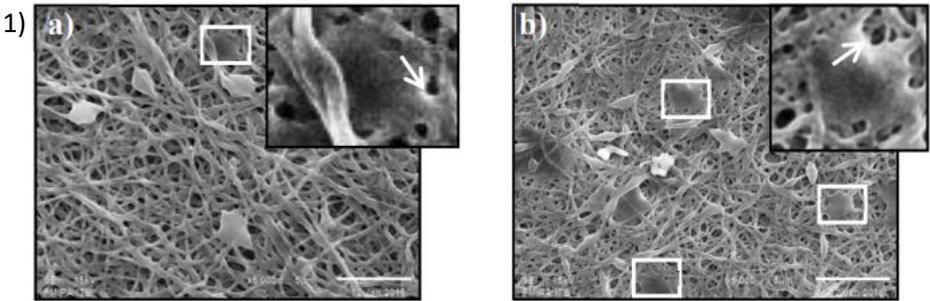
Gambar 2.14 (2) menunjukkan kurva pertumbuhan sel HDF pada penelitian ini. Pengamatan hari ketiga, jumlah sel dalam *scaffold* nanofiber PVA lebih sedikit dari jumlah sel pada hari pertama, juga dibandingkan dengan sel dalam *scaffold* nanofiber PVA-SF. Pengurangan jumlah sel dihipotesiskan sebagai dampak dari periode adaptasi bagi sel untuk menempel pada substrat baru (fase lag). Selama fase lag, sel mengatur ulang sitoskeleton dan mengeluarkan komponen matriks ekstraseluler (Iloki dkk., 2013). Alasan lain yang mungkin adalah sulitnya pembentukan formazan untuk sel karena masih beradaptasi dengan substrat baru atau karena ada vitamin E dalam media kultur sel, yang dapat mengganggu pembentukan formazan (Lim dkk., 2015). Namun alasan lain mungkin karena sel fibroblast perlu melakukan kontak satu sama lain untuk berkembang; oleh karena itu dalam keadaan awal, jumlah selnya berkurang karena belum menemukan sel lain (Albert dkk., 2008). Keberadaan SF dalam *scaffold* nanofiber PVA-SF memfasilitasi adaptasi penempelan sel. Fenomena ini dapat dilihat pada

Gambar 2.14 (2), di mana sel-sel HDF langsung memasuki fase log atau fase proliferaatif dalam *scaffold* nanofiber PVA-SF. Substrat yang mengandung protein memfasilitasi adhesi sel dan mendukung pertumbuhan sel lebih cepat dibandingkan dengan substrat yang tidak mengandung protein (Wilson dkk., 2005). Jumlah sel pada *scaffold* nanofiber PVA masih bertambah hingga 9 hari pengamatan. Namun, pengamatan *scaffold* nanofiber PVA-SF pada hari ke-9 menunjukkan penurunan jumlah sel yang signifikan ($p \leq 0,05$) bila dibandingkan dengan jumlah sel HDF pada *scaffold* nanofiber PVA. Fenomena ini diduga disebabkan oleh pembentukan beads di *scaffold* nanofiber PVA-SF.

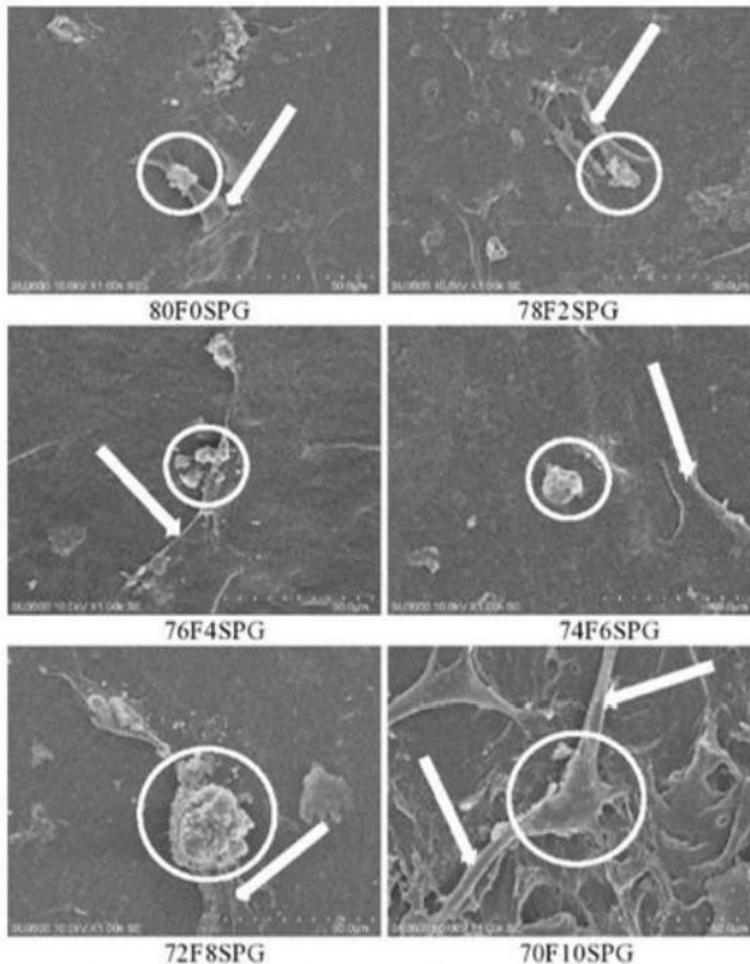
Peran spidroin dalam rekayasa jaringan kulit manusia juga dipelajari dengan menumbuhkan sel HDF pada *thin film scaffold* yang mengandung fibroin, spidroin, PVA dan gliserol. Semakin tinggi konsentrasi spidroin yang digunakan, pertumbuhan sel HDF semakin baik (Gambar 2.14.3). Semua sel yang ditumbuhkan pada sampel *scaffold thin film* menunjukkan peningkatan viabilitas sel dengan peningkatan waktu. Grafik menunjukkan bahwa sampel 70F10SPG memiliki viabilitas sel tertinggi dibandingkan dengan sampel lainnya (Gambar 2.14.3). Temuan ini sejalan dengan penelitian sebelumnya (Barlian dkk., 2020), yang menemukan bahwa sampel *scaffold* yang mengandung 10% spidroin memiliki nilai tertinggi viabilitas sel dibandingkan dengan sampel *scaffold* lainnya. Viabilitas sel tertinggi dalam sampel yang mengandung paling banyak spidroin (70F10SPG) hal ini disebabkan adanya RGD di spidroin, seperti yang diketahui bahwa spidroin *Argiope appensa* memiliki sekuen RGD (Barlian dkk., 2020). RGD (arginin-glisin-aspartat) tidak terdapat dalam fibroin *Bombyx mori* (Kang dkk., 2018). RGD dapat berikatan dengan integrin. Integrin adalah reseptor pada permukaan sel (Garcia-Gareta dkk., 2019; Ruoslahti, 1991).

Berdasarkan hasil *Scanning Electron Microscopy* (SEM) morfologi sel HDF yang ditumbuhkan pada *scaffold thin film* yang mengandung spidroin 10% menunjukkan morfologi terbaik. Pada Gambar 2.14.4 sel-sel fibroblas dapat menempel pada semua *scaffold thin film*. Hasil analisis SEM pada gambar menunjukkan adanya perbedaan morfologi sel. Pada sampel 80F0SPG sel masih berbentuk bulat dan filopodia pendek. Pada sampel 70F10SPG, fibroblas tampak menyebar, dan filopodia lebih panjang. Sel ditandai dengan lingkaran putih dan filopodia ditunjukkan oleh panah putih. Penyebaran sel penting untuk penyembuhan luka. Penyebaran sel menunjukkan bahwa sel

aktif mensekresi kolagen, berdiferensiasi menjadi miofibroblas, dan mensekresi sitokin GF (faktor pertumbuhan) (Li & Wang, 2011)



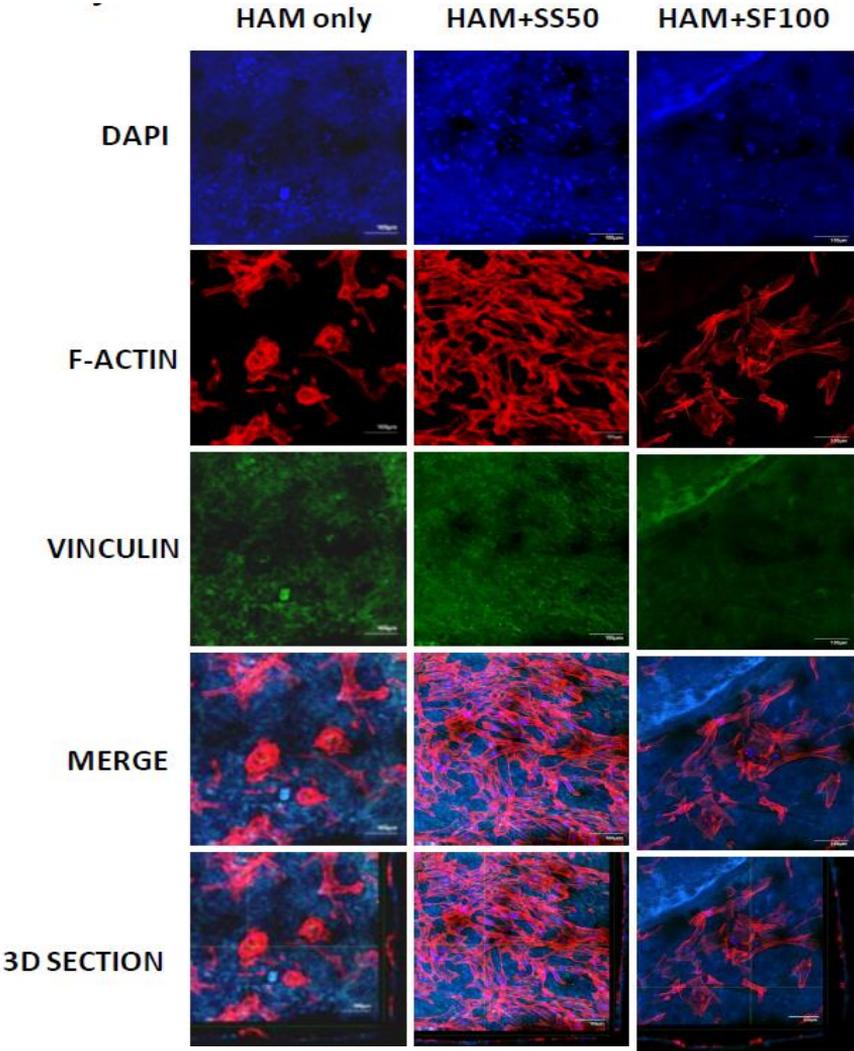
4)



Gambar 2.14 Scaffold untuk rekayasa jaringan kulit (1) Scaffold nanofiber yang ditumbuhi sel HDF diamati menggunakan SEM (a) PVA nanofiber, (b) (PVA-SF) nanofiber; (2) Kurva tumbuh sel HDF pada scaffold nanofiber; (3) Kurva tumbuh sel HDF pada scaffold thin film dengan berbagai variasi konsentrasi fibroin dan spidroin; (4) scaffold thin film yang ditumbuhi sel HDF diamati menggunakan SEM (Giovanni dkk., 2019; Nursatya dkk., 2021).

Selain fibroin dan spidroin yang digunakan untuk rekayasa jaringan kulit, biomaterial lain, yakni *Human Amniotic Membrane* (HAM) juga diteliti manfaatnya sebagai biomaterial untuk rekayasa jaringan kulit. *Human Amniotic Membrane* atau HAM merupakan limbah pascamelahirkan yang sudah cukup banyak diteliti juga manfaatnya dalam rekayasa jaringan. HAM diketahui mengandung banyak faktor tumbuh (*Growth Factors*) yang sangat mendukung proliferasi dan diferensiasi. Sebelum digunakan sebagai scaffold, harus dilakukan deselularisasi terlebih dahulu pada HAM sehingga tidak akan menimbulkan reaksi imunogenik jika diaplikasikan. Dalam penelitian yang

dilakukan selain HAM digunakan sebagai *scaffold*, juga diberi perlakuan dengan pelapisan HAM dengan bioink spidroin. Hasil penggunaan HAM sebagai *scaffold* dengan atau tanpa dilapisi bioink spidroin dapat dilihat pada Gambar 2.15 Sel HDF dapat tumbuh dan berproliferasi lebih baik pada HAM yang dilapisi spidroin 50 ug/ ml dibandingkan dengan yang dilapisi dengan fibroin 100 ug/ml maupun hanya HAM tanpa dilapisi apapun. Organisasi aktin dan penyebaran vinculin lebih baik pada HAM yang dilapisi spidroin.



Gambar 2.15 Imunositokimia sel HDF yang ditumbuhkan pada *scaffold* HAM dengan penambahan spidroin dan fibroin.

3. EKSOSOM: CELL-FREE BASED THERAPY

3.1 Eksosom hWJ-MSC

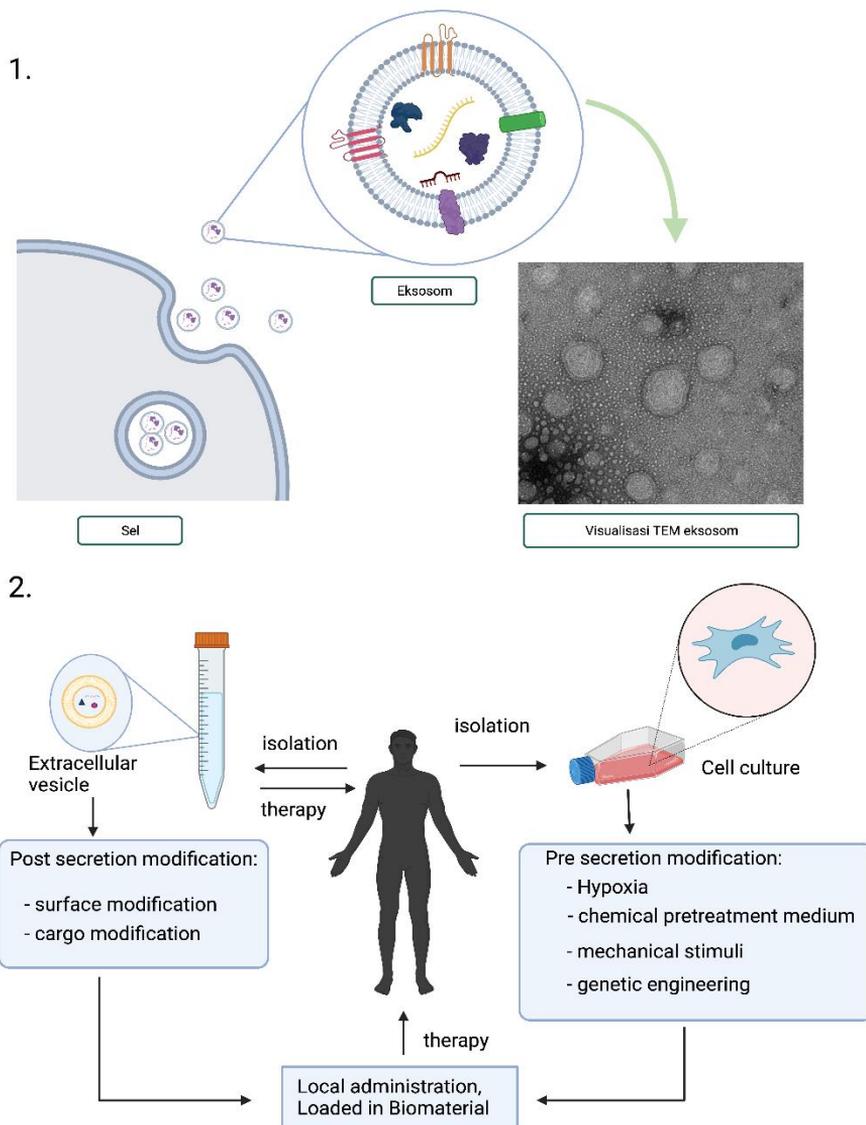
Eksosom merupakan vesikel ekstraseluler yang disekresikan oleh sel yang berperan penting untuk memediasi komunikasi antarsel. Eksosom berbeda dengan *secretome*, di mana eksosom merupakan vesikel sedangkan *secretome* merupakan keseluruhan media pengkondisian sel yang mengandung eksosom maupun senyawa yang lain. Sebagai vesikel, eksosom dapat membawa kargo berupa protein, lipid, dan asam nukleat yang dapat memengaruhi fungsi biologis dari sel melalui regulasi jalur pensinyalan tertentu (Kalluri & LeBleu, 2020). Kargo di dalam eksosom ini yang banyak dimanfaatkan sebagai bahan terapi yang efektif. Selain itu, eksosom dapat juga dimanfaatkan sebagai *drug-delivery system*. Apabila dibandingkan dengan terapi berbasis sel, eksosom sebagai bahan terapi bebas sel (*cell-free based therapy*) lebih aman karena tidak memicu respons kekebalan tubuh.

Eksosom memiliki karakteristik yang berbeda dibandingkan dengan vesikel ekstraseluler yang lain seperti *microvesicle*/ektosom dan *apoptotic body*. Eksosom berasal dari endosom-origin, sedangkan *microvesicle* berasal dari membran plasma sel. Secara fisik, eksosom berbentuk bulat atau *spherical* dengan membran lipid bilayer atau berbentuk *cup-shape*. Morfologi ini dapat dengan jelas diamati menggunakan mikroskop elektron. Ukuran eksosom juga cenderung lebih kecil dibandingkan dengan vesikel ekstraseluler yang lain, yaitu berkisar 30-160 nm (Jiang dkk., 2019). Eksosom yang berasal dari sel mamalia, seperti sel punca (*stem cell*), memiliki marker protein membran salah satunya adalah CD 63+ (Gambar 3.1.2 (b)).

Berbagai penelitian telah dilakukan tentang peran eksosom dalam bidang kesehatan, salah satunya adalah terapi untuk kerusakan rawan. Aplikasi eksosom dalam terapi jaringan rawan dapat dilakukan melalui *post modification* maupun *pre-modification* yang masing-masing memiliki kelebihannya. Gambaran tentang eksosom untuk aplikasi terapi jaringan rawan dapat dilihat pada Gambar 3.1.3 (Amsar dkk., 2022). *Pre-treatment* atau modifikasi eksosom sebelum disekresikan oleh sel terbukti mempengaruhi kualitas dan kuantitas eksosom yang dihasilkan. Penelitian tentang perlakuan LAA (*L-ascorbic acid*) dan hipoksia pada hWJ-MSC (*human Wharton's Jelly Mesenchymal Stem Cell*) menunjukkan bahwa perlakuan tersebut dapat meningkatkan produksi eksosom yang dihasilkan. Selain itu, pada

penelitian tersebut juga membuktikan bahwa eksosom tersebut dapat berperan dalam kondrogenesis (pembentukan rawan) dengan memicu sintesis ekstraseluler matriks rawan yaitu kolagen tipe II.

Eksosom memiliki potensi yang cukup besar dalam rekayasa jaringan rawan, khususnya kandungan miRNA yang merupakan salah satu kargo eksosom. Penelitian berbagai macam miRNA dari berbagai sumber sel punca sudah mulai diteliti dalam 5 tahun terakhir ini yang menarget sel rawan atau kondrosit melalui beberapa mekanisme seperti yang dapat dilihat pada Tabel 2.



Gambar 3.1 Eksosom untuk aplikasi di bidang kesehatan (1) Morfologi eksosom; (2) Strategi *extracellular vesicle based therapy* pada *cartilage repair* (Amsardkk., 2022).

Tabel 2 Peran miRNA yang berasal dari eksosom pada regenerasi rawan (Amsar dkk., 2022).

Exosome component	Donor cell	Target cell	Induced mechanism	Ref.
miR-216-5p	BMSC	Chondrocyte	Enhance chondrocyte proliferation, migration and apoptosis repression	Rong dkk., 2021
lncRNA H19	UMSC	Chondrocyte	Promote proliferation and prevent apoptosis in chondrocytes	Yan dkk., 2021
miR-8485	Chondrocyte	BMSC	Promote chondrogenic differentiation of BMSCs	Li dkk., 2020
mir-145 and mir-221	ADSC	Chondrocyte	Promote proliferation	Zhao dkk., 2020
miR-100-5p	IPF-MSc	Chondrocyte	Inhibit mTOR autophagy pathway	Zhang dkk., 2020
miR-92a-3p	BMSC	Chondrocyte MSC	Promote chondrocyte proliferation and matrix genes expression	Mao dkk., 2018

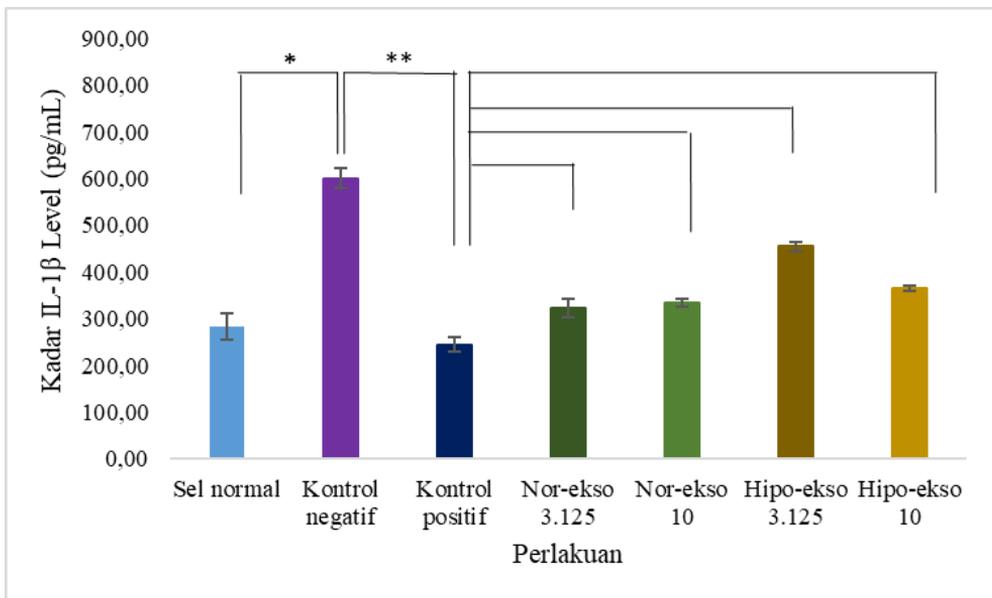
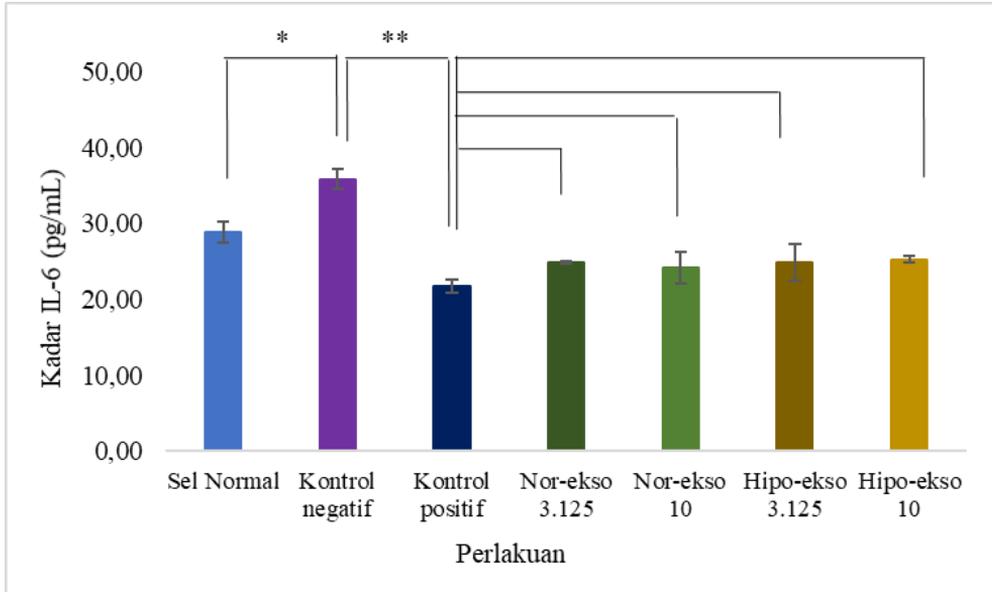
ADSC: Adipose-derived stem cell; BMSC: Bone marrow mesenchymal stem cell; IPF-MSc: Infrapatellar fat pad mesenchymal stem cell; MSC: mesenchymal stem cell; UMSC: Umbilical cord mesenchymal stem cell

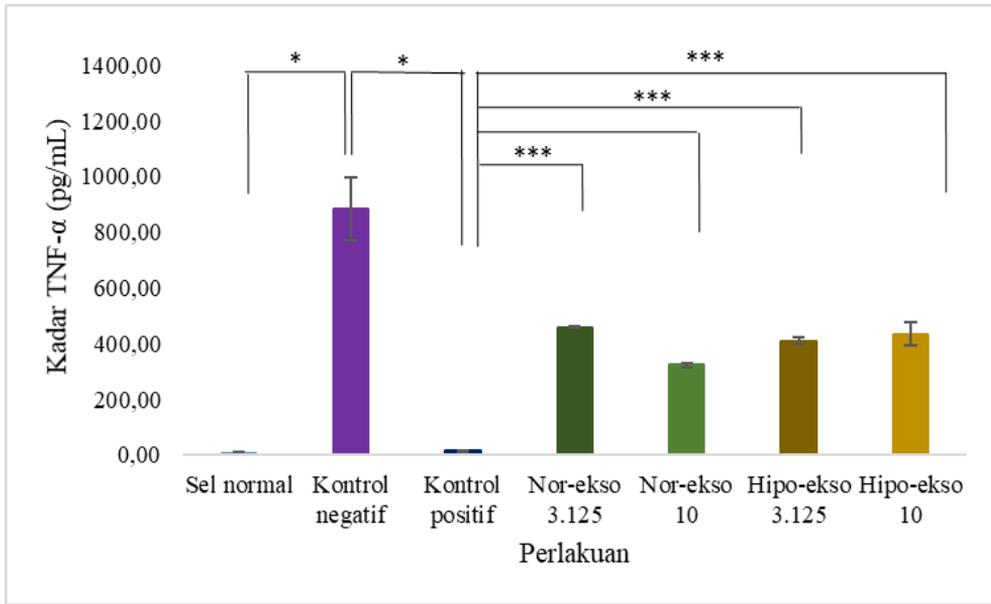
Potensi eksosom tidak hanya terbatas pada terapi kerusakan rawan. Eksosom diketahui memiliki kemampuan pengaturan respons imun dan memiliki sifat anti-inflamasi (Murphy dkk., 2013). Hal tersebut menjadikan eksosom sebagai kandidat yang baik dalam mengatasi berbagai penyakit inflamasi.

Pada inflamasi yang terjadi di jaringan paru-paru, pemberian eksosom terbukti dapat menurunkan sitokin yang berperan dalam menyebabkan inflamasi. Penelitian menggunakan lini sel L2 sebagai model sel paru-paru yang diinduksi inflamasi menunjukkan bahwa perlakuan eksosom hWJ-MSc menurunkan konsentrasi protein proinflamasi seperti IL-6. Apabila dibandingkan dengan deksametason, obat komersial untuk mengatasi inflamasi, eksosom yang dikondisikan normoksia (kandungan oksigen normal) ataupun hipoksia (kandungan oksigen rendah) dapat bekerja lebih baik (Gambar 3.2).

Pada kondisi inflamasi, sitokin proinflamasi seperti IL-1 β , TNF- α , IL-6 berperan dalam perekrutan dan aktivasi sel imun. TNF- α memainkan peran kunci dalam aktivasi *neutrofil* dan IL-6 dianggap sebagai biomarker awal kerusakan jaringan yang mencerminkan akumulasi *neutrofil* di paru-paru (Yang dkk., 2018; Katseni dkk., 2015). Eksosom yang dihasilkan hWJ-MSc mampu mencegah sel mengalami inflamasi dengan masuk ke dalam sel yang

cedera dan selanjutnya akan mengurangi kerusakan paru-paru dengan mengurangi sitokin inflamasi seperti TNF- α dan IL-6 (Liu dkk., 2019b).





Gambar 3.2 Efek Nor-exo (keadaan normoksia) dan Hipo-exo (Hipoksia) pada *Pro-Inflammatory Cytokine* sel L2 yang diinduksi LPS. IL-6 Level, IL-1 β Level, TNF- α Level. (Data are presented as mean \pm standard deviation. (*) significance between normal cells and negative control ($P < 0.05$), (***) significance between negative control and positive control ($P < 0.05$), ns: no significance).

3.2 Plant-derived Exosome-like Nanoparticle (PDEN)

Vesikel ekstraseluler seperti eksosom tidak hanya diproduksi oleh sel mamalia, namun sel tumbuhan juga menghasilkannya. Sama seperti vesikula ekstraseluler dari sel mamalia, vesikel ekstraseluler dari sel tumbuhan juga mengandung berbagai biomolekul yang berkontribusi dalam menentukan nasib dan morfologi sel target. Vesikel ekstraseluler yang ditemukan pada sel tumbuhan ini memiliki struktur dan ukuran yang menyerupai eksosom dari sel mamalia, sehingga sering disebut dengan *Plant-derived Exosome-like Nanoparticle* (PDEN).

Pengkajian mengenai pemanfaatan ekstrak tumbuhan pada bidang kesehatan sudah banyak dilakukan. Namun demikian, PDEN yang dihasilkan tumbuhan belum banyak dikaji. PDEN, sama seperti eksosom dari sel mamalia, dihasilkan sel dan disekresikan keluar. PDEN yang diekstrak dari berbagai macam organ tumbuhan, seperti buah, daun, akar, dan batang. PDEN yang berasal dari tumbuhan yang dapat dikonsumsi memiliki potensi besar sebagai agen terapi bebas sel (*cell-free based therapy*) karena kelimpahan

sumbernya, kemudahan dalam isolasi, biokompatibilitasnya, dan fungsionalitasnya. Indonesia memiliki keanekaragaman hayati yang tinggi sehingga pengkajian dan pemanfaatan PDEN ini sebagai agen terapi sangat potensial.

Eksosom dari sel mamalia telah dikaji dapat dijadikan bahan pengobatan anti-inflamasi. Namun eksosom tersebut menghadapi berbagai tantangan untuk produksi secara massal, termasuk berbagai regulasi yang ketat, sehingga sulit untuk mencapai tahap aplikasi secara klinis. PDEN yang diambil dari berbagai jenis tumbuhan muncul sebagai alternatif yang lebih ekonomis dengan potensi efek terapeutik yang serupa.

Jahe merupakan tanaman yang banyak dijumpai di Indonesia. Berbagai kajian telah dilakukan untuk mengetahui efek klinis dari ekstrak jahe dalam mengatasi inflamasi. Indonesia memiliki berbagai varian jahe termasuk di antaranya adalah jahe merah dan jahe emprit. Kandungan PDEN yang terdapat dalam keduanya dan potensinya sebagai alternatif pengobatan penyakit terkait inflamasi belum pernah dikaji sebelumnya. Oleh karena itu, penelitian menggunakan PDEN yang di ekstrak dari rimpang jahe (jahe merah dan jahe emprit) dilakukan untuk melihat pengaruhnya dalam mengatasi inflamasi secara *in vitro*. Sel makrofag (lini sel RAW 264.7) distimulasi dengan *lipopolysaccharide* (LPS) untuk menjadikannya model inflamasi kemudian sitokin IL-6 dan IL-1 β dikaji baik pada level ekspresi gen maupun proteinnya. Pemberian PDEN jahe merah dan jahe emprit pada sel RAW 264.7 yang teraktivasi menurunkan ekspresi sitokin pro-inflamasi IL-6 dan IL-1 β jika dibandingkan dengan kontrol (Gambar 3.3).

Tanaman lain yang diketahui mampu mengatasi inflamasi adalah *Solanum nigrum* L., yang pada umumnya lebih dikenal masyarakat sebagai ranti atau *leunca*. Tanaman ini banyak dibudidayakan dan dikonsumsi masyarakat Indonesia sebagai sajian pendamping nasi. Berbagai studi yang dilakukan pada buah tanaman ini menunjukkan bahwa *Solanum nigrum* L. mengandung senyawa metanol dan saponin steroid yang memiliki sifat anti-inflamasi (Ravi dkk., 2009; Y. Wang dkk., 2017). Meskipun khasiat konsumsi buah tanaman ini sudah diketahui, namun efek anti-inflamasi PDEN yang diambil dari buah *Solanum nigrum* L. belum banyak dipelajari.

Hasil pengukuran partikel pada Gambar 3.3 menunjukkan bahwa PDEN dari buah ranti memiliki distribusi ukuran sebesar 217.4 ± 2.64 nm. Ukuran

PDEN yang didapatkan masih berada dalam rentang ukuran PDEN yang telah diteliti, yaitu berkisar dari 30 – 900 nm (Subha dkk., 2023b). Sementara hasil pengamatan morfologi den menunjukkan bahwa PDEN dari buah ranti memiliki morfologi yang cenderung membulat (Gambar 3.3)

Pemberian PDEN dari buah leunca dapat menurunkan ekspresi sitokin pro-inflamasi IL-6 dan IL-1 β pada tingkat mRNA secara signifikan dibandingkan dengan kontrol LPS. PDEN dengan konsentrasi 2.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ memiliki efek yang paling baik dalam menurunkan ekspresi sitokin pro-inflamasi IL-6 dan IL-1 β hingga sekitar 0.9 *fold* dibandingkan dengan kontrol LPS. Selain itu, ekspresi sitokin IL-6 secara signifikan lebih rendah pada pendedahan PDEN sebesar 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dibandingkan dengan pemberian deksametason pada konsentrasi sama, yang menunjukkan bahwa PDEN dari buah leunca memiliki kemampuan yang lebih baik untuk menekan ekspresi sitokin pro-inflamasi dibandingkan dengan obat komersial.

PDEN mampu menurunkan konsentrasi sitokin IL-6 di tingkat protein secara signifikan dibandingkan dengan kontrol LPS. Selain itu, terlihat adanya tren penurunan produksi sitokin IL-6 seiring dengan meningkatnya konsentrasi PDEN yang didedahkan. Pemberian PDEN dengan konsentrasi 0.5, 1, dan 2,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ secara signifikan menurunkan konsentrasi IL-6 secara berturut-turut sebesar 76.82%, 92.92%, dan 97.28%, dibandingkan dengan kelompok kontrol positif. Selain itu, sejalan dengan hasil analisis RT-qPCR, pemberian PDEN dengan konsentrasi 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ juga mampu menurunkan konsentrasi IL-6 secara signifikan hingga sebesar 81.70% dibandingkan dengan pemberian deksametason dengan konsentrasi yang sama.

Secara keseluruhan, PDEN dari buah ranti telah menunjukkan sifat anti-inflamasi yang potensial secara *in vitro*. Sifat anti-inflamasi ini kemungkinan besar dipengaruhi oleh kandungan senyawa di dalamnya yang belum diidentifikasi. Berdasarkan penelitian terdahulu, buah ranti diketahui mengandung senyawa yang bersifat anti-inflamasi, seperti solanigrosida yang berasal dari kelompok saponin steroid (Wang dkk., 2017). Selain itu, Zhao dkk. (2018) telah mengidentifikasi dan mengekstrak senyawa alkaloid steorid baru, yaitu Solanin A, yang diketahui dapat memiliki aktivitas anti-inflamasi terhadap sel RAW264.7 melalui inhibisi jalur persinyalan NF- κ B. Senyawa ini dikatakan dapat menghambat fosforilasi p65 dan I κ B α , yang kemudian dapat menghambat degradasi I κ B α , sehingga transkripsi gen sitokin pro-inflamasi

seperti IL-6 dan IL-1 β menjadi terhambat (Zhao dkk., 2018). Mengingat PDEN juga dapat mengandung senyawa metabolit (Sarasati dkk., 2023), sifat anti-inflamasi PDEN dari buah ranti mungkin dipengaruhi oleh keberadaan senyawa solanigrosida dan solanin A, serta senyawa lain yang belum diketahui. Oleh karena itu, dibutuhkan analisis lebih lanjut untuk mengidentifikasi kandungan senyawa dalam PDEN dari buah ranti beserta jalur persinyalan yang dipengaruhinya.

PDEN yang dihasilkan buah pepaya juga memiliki potensi dalam mengatasi inflamasi. Pepaya (*Carica papaya*) merupakan tanaman lokal yang banyak dikonsumsi. Vesikel ekstraseluler dapat diambil dari berbagai organ tanaman ini, namun isolasi dari buah pepaya yang matang lebih mudah dilakukan. Dikarenakan ukuran pepaya yang cukup besar dibandingkan dengan buah lain, vesikel ekstraseluler yang diisolasi cukup melimpah. Hasil tersebut kemudian dikarakterisasi dengan karakter PDEN, dianalisis waktu penyimpanan dan diuji kemampuannya dalam mengatasi inflamasi.

Vesikel ekstraseluler yang berhasil diambil dari buah pepaya kemudian dikarakterisasi. Hasil karakterisasi tersebut menunjukkan bahwa partikel yang didapat masuk ke dalam kriteria PDEN, yaitu berukuran rerata 211.9 nm dengan bentuk *spherical* dan *cup-shaped*. Sel model yang digunakan dalam analisis inflamasi adalah makrofag (lini sel RAW 264.7) yang distimulasi dengan LPS. Hasil uji inflamasi PDEN yang dipaparkan pada sel makrofag menunjukkan bahwa PDEN mampu menurunkan produksi NO yang merupakan peristiwa yang terjadi saat inflamasi. Selain itu uji ekspresi gen menunjukkan bahwa PDEN dari pepaya mampu menurunkan ekspresi gen yang mengarah ke inflamasi seperti IL-1 β dan IL-6. Kedua gen tersebut berperan dalam produksi protein proinflamasi. Hasil ekspresi gen kemudian dikonfirmasi dengan analisis *in vivo*. Uji terhadap zebrafish terkait sel imun menunjukkan bahwa PDEN tidak toksik dan benar dapat berperan sebagai agen inflamasi.

Sel yang paling berperan dalam proses inflamasi adalah makrofag. Makrofag dapat berdiferensiasi menjadi M1 dan M2 untuk mengatasi inflamasi. Sel makrofag M1 berperan besar dalam respon *pro-inflammatory*, sedangkan sel makrofag M2 memiliki peran dalam respon *anti-inflammatory* dan perbaikan jaringan. PDEN dapat mempengaruhi polarisasi makrofag yang juga dapat mempercepat teratasinya inflamasi. Penelitian telah

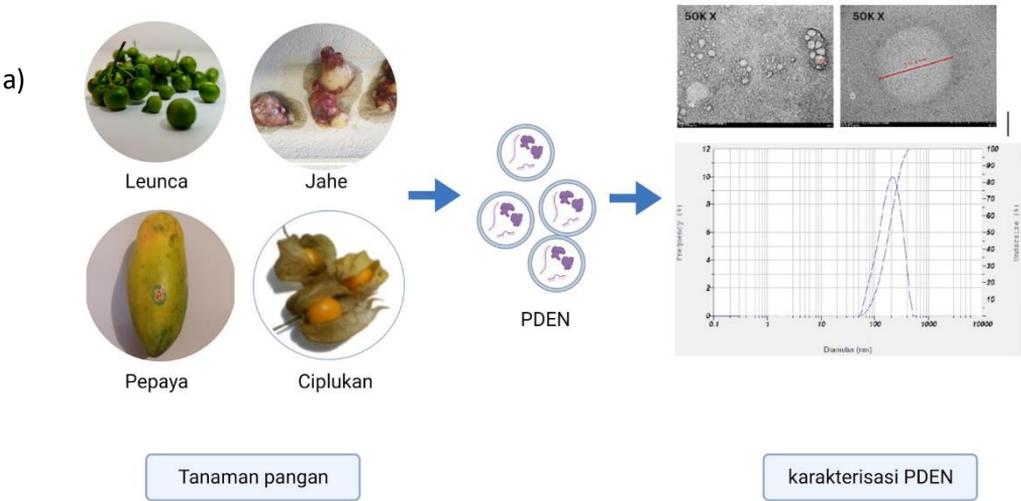
dilakukan untuk mengetahui pengaruh PDEN yang diisolasi dari buah ciplukan (*Physalis sp.*) terhadap polarisasi makrofag. Protein penanda seperti CD 80 sebagai marker M1 dan CD 209 sebagai marker M2 (Lin dkk., 2020; Xu dkk., 2021) dianalisis secara kuantitatif. Penelitian telah kami lakukan menggunakan model inflamasi, sel makrofag yang sudah diaktivasi dengan LPS, untuk mengetahui pengaruh PDEN dari buah ciplukan terhadap kemampuan polarisasi makrofag. Sel makrofag yang digunakan adalah lini sel RAW 264.7. Data yang didapat (Gambar 3.3), sel makrofag tanpa perlakuan/kontrol negatif memiliki CD 80 positif dan CD 209 positif dibawah 0.1% yang menandakan sel makrofag berada dalam keadaan tidak terpolarisasi (M0).

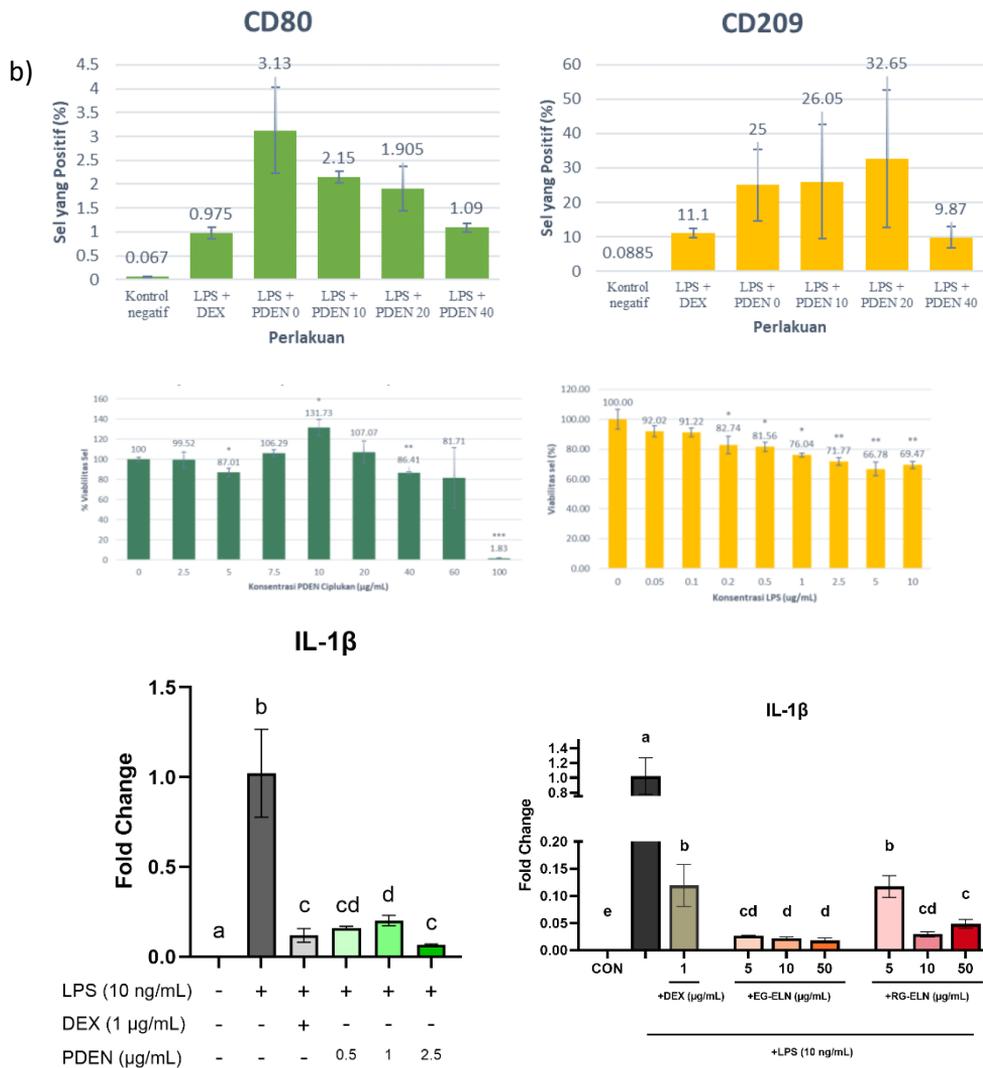
PDEN dari buah ciplukan memengaruhi polarisasi makrofag dipengaruhi oleh konsentrasinya. Pada sel makrofag yang dikondisikan inflamasi dan diberikan PDEN dengan berbagai konsentrasi (10, 20, dan 40 $\mu\text{g}/\text{mL}$), PDEN dengan konsentrasi 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ teramati meningkatkan sel positif CD209 yang berperan sebagai marker M2. Namun, ekspresi CD209 justru menurun pada pemberian konsentrasi PDEN ciplukan 40 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Populasi sel M1 menurun, ditandai dengan penurunan ekspresi CD80, dikarenakan pemberian PDEN ciplukan dengan konsentrasi 40 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Penurunan ekspresi CD80 memiliki keselarasan dengan hasil jumlah produksi *Nitric oxide* (NO).

PDEN juga dapat berperan dalam proses penutupan luka (*wound healing*). Analisa penutupan luka secara *in vitro* dilakukan dengan melihat kemampuan migrasi sel fibroblas manusia dan kemampuannya dalam memproduksi matrik ekstraseluler berupa kolagen tipe I serta MMP. Proses penutupan luka merupakan proses yang panjang. Kemampuan sel fibroblas yang baik dalam migrasi menutup luka dan membentuk matriks ekstraseluler untuk menutup luka menjadi penting. Penelitian yang telah kami lakukan menunjukkan bahwa PDEN yang diambil dari buah ciplukan mampu membantu penutupan luka lebih baik dibandingkan kontrol terutama pada konsentrasi 7,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Hal tersebut kemungkinan disebabkan oleh kandungan vitamin C yang sangat tinggi pada PDEN ciplukan sehingga secara molekular dan selular, signal dari vitamin C tersebut memicu sel membentuk juluran sel (lamellipodia) dan terjadi migrasi sel. Pada Gambar 3.4 dapat dilihat hasil migrasi sel fibroblas yang telah diberi perlakuan PDEN ciplukan.

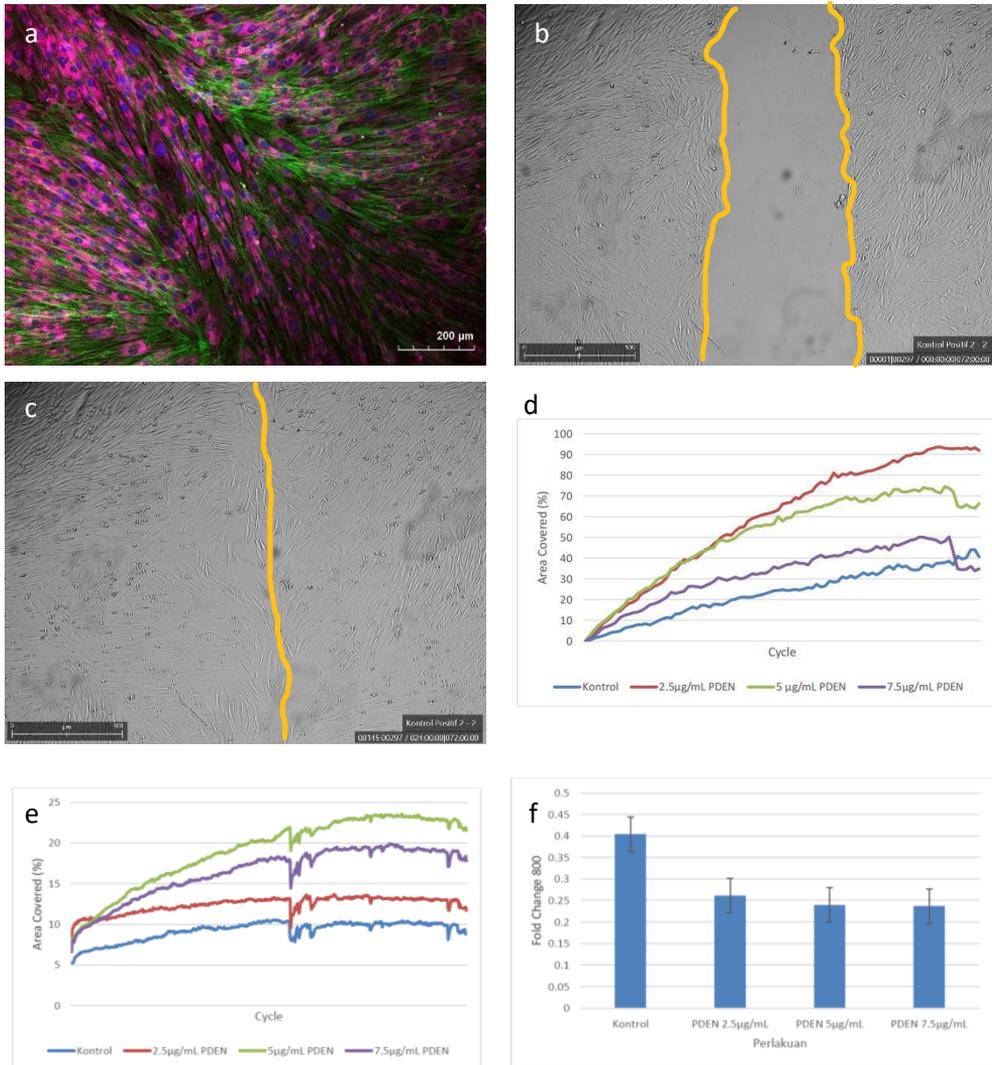
Selain sebagai agen *cell-free based therapy*, PDEN juga dapat dimanfaatkan dalam bidang estetika. Penelitian menggunakan PDEN yang diambil dari buah bengkoang (*Pachyrhizus erosus* L.) untuk estetika telah dilakukan. Tanaman bengkoang ini dipilih sebagai sumber PDEN karena telah diketahui manfaatnya sebagai agen anti melanogenesis dengan cara anti-tirosinase dan mencegah pembentukan melanin. Bengkoang mampu mencerahkan kulit tanpa bersifat toksik/racun. PDEN yang diambil dari bengkoang diharapkan memiliki efek yang serupa bahkan lebih baik karena berbagai manfaat yang terkandung di dalamnya. Untuk melihat pengaruh PDEN dari bengkoang secara *in vitro*, PDEN-bengkoang diuji terhadap sel fibroblas manusia dan dianalisis sitotoksitasnya, kemampuan sel tersebut dalam menginternalisasi, dan migrasi sel. Hasil analisis *in vitro* ini kemudian didukung dengan data *in vivo* menggunakan larva Zebrafish (*Danio rerio*). Baik analisis *in vitro* maupun *in vivo* menunjukkan bahwa PDEN bengkoang terbukti tidak beracun dan berpotensi sebagai agen pencerah alami (Gambar 3.4).

PDEN atau sering disebut dengan eksosom dari tumbuhan memiliki potensi yang besar dalam masa depan bidang kesehatan. Sama seperti eksosom dari sel mamalia, PDEN yang diisolasi dari tumbuhan mengandung berbagai senyawa aktif untuk mengatasi penyakit. PDEN juga dapat digunakan sebagai *delivery* suatu obat dengan memanfaatkan *lipid bilayer* yang terdapat pada PDEN dan ukuran PDEN yang kecil.





Gambar 3.3 Potensi PDEn dari berbagai tanaman pangan sebagai agen anti inflamasi. a) sumber PDEn dan karakterisasi. b) Analisis potensi inflamasi PDEn secara *in vitro*.



Gambar 3.4 PDEn sebagai nanocosmetik dan *wound healing* (a) HDF dengan PDEn bengkuang 2.5ug/mL menggunakan DAPI (biru), Phalloidin 488 (hijau) dan Concanavalin (merah) (jam ke-12); (b) uji migrasi sel HDF jam ke-0 dengan perlakuan PDEn bengkuang 2.5ug/mL; (c) uji migrasi sel HDF jam ke-24 dengan perlakuan PDEn bengkuang 2.5ug/mL; (d) Grafik migrasi sel HDF dengan induksi PDEn ciplukan dengan metode scratch assay; (e) kurva pertumbuhan sel HDF dengan induksi PDEn ciplukan; (f) Produksi kolagen tipe I sel HDF dengan induksi PDEn ciplukan.

4. PENUTUP

Studi tentang sel punca dalam rekayasa jaringan pada intinya menggali interaksi antara sel dengan *microenvironment* termasuk *scaffold* sebagai tempat sel menempel, tumbuh dan berdiferensiasi. Struktur dan komposisi *scaffold* menentukan bagaimana sel berperilaku sebagai respons interaksi fisik, mekanik dan kimiawi antara sel dengan substratnya sehingga penelitian terkait rekayasa jaringan merupakan penelitian multidisiplin. Sebagai sumber sel dalam rekayasa jaringan, sel punca berperan dalam *cell-based therapy*. Eksosom merupakan produk atau turunan sel punca (*stem cell-derived exosome*) yang dianggap lebih aman untuk diaplikasikan baik dalam rekayasa jaringan maupun terapi kesehatan lainnya termasuk dalam *cell-free based therapy* yang berkembang sangat pesat saat ini. Namun demikian peraturan penggunaan sel punca dan turunannya untuk terapi medis di Indonesia masih belum sehingga alternatif lain yakni *Plant-derived Exosome like Nanoparticle* atau PDEN perlu dikembangkan. PDEN memiliki potensi yang hampir sama dengan eksosom dari sel punca dan dapat bekerja *cross kingdom* sehingga kolaborasi penelitian di SITH menjadi penting. Sebagai negara yang memiliki kekayaan alam dan biodiversitas yang tinggi, Indonesia memiliki sumber alam yang sangat melimpah baik untuk pengembangan biomaterial *scaffold* maupun sumber PDEN. PDEN telah terbukti sangat potensial untuk dikembangkan sebagai agen anti-inflamasi, *wound healing* dan nano-kosmetik.

Penelitian-penelitian terkait sel punca merupakan *frontiers* dalam bidang kesehatan dan masih banyak yang perlu digali. Aplikasi sel punca dalam *regenerative medicine* ini terbukti memerlukan konsep-konsep sains yang kuat di bidang Biologi seperti Biologi Sel dan Biologi Perkembangan. Teknologi nano yang relatif baru juga turut berperan dalam penelitian sel punca, di antaranya pengembangan *nanopattern* dalam modifikasi substrat untuk mengarahkan diferensiasi sel punca hWJ MSC menjadi sel rawan melalui persinyalan mekanotransduksi dan epigenetik. Peran Biologi masa kini dan masa depan di bidang kesehatan tidak lagi berdiri sendiri sebagai sains namun merupakan bagian dari pendekatan multidisiplin yang tak terpisahkan.

5. UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur dipanjatkan kepada Tuhan Allah Yang Maha Pengasih dan Penyayang atas rahmat yang telah diberikan untuk memperoleh amanah Guru Besar Institut Teknologi Bandung di bidang Biologi Sel dan Perkembangan ini. Semoga amanah besar ini dapat dijalankan dengan baik dan penuh tanggung jawab, amin.

Ucapan terima kasih dan penghargaan sebesar-besarnya disampaikan kepada Pimpinan, Forum Guru Besar, Senat Akademik dan Civitas Akademika Institut Teknologi Bandung atas kesempatan, kepercayaan dan dukungan yang diberikan untuk melaksanakan tugas Tri Dharma sejak tahun 1988.

Ucapan terima kasih disampaikan pula kepada seluruh mitra atas kerja sama dan dukungan yang telah diberikan sehingga terwujudnya berbagai kegiatan penelitian. PT Wadya Prima Mulia, Evident Scientific Singapore Ltd, PT Dermama Bioteknologi, PT Kalbe Farma Tbk, Pusat Penelitian Nanosains dan Nanoteknologi, Klinik Hayandra, PERI Prodia. Fakultas Teknik Mesin dan Dirgantara ITB, Fakultas Teknik Industri ITB, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam ITB, Fakultas Teknologi Pertanian IPB University, FMIPA IPB University, Fakultas Kedokteran Gigi UGM, Fakultas Kesehatan Masyarakat UNAIR, FMIPA UI, Politeknik Nusa Utara, Sangihe.

Ucapan terima kasih dan penghargaan disampaikan pula kepada Dekanat, Senat dan kolega dosen, tenaga kependidikan, asisten riset dan mahasiswa Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati ITB atas kerja sama, kebersamaan, dukungan, dan kekeluargaan selama ini.

Ucapan terima kasih dan penghargaan kepada kolega dosen Kelompok Keilmuan Fisiologi, Perkembangan Hewan dan Sains Biomedik atas kebersamaan, kekeluargaan, persahabatan, dukungan keilmuan dan moril serta kepercayaan yang diberikan selama ini.

Ucapan terima kasih dan penghargaan disampaikan pula kepada kolega dosen, asisten, alumni, mahasiswa grup AB yang telah bekerja keras untuk melaksanakan penelitian dengan baik dan penuh dedikasi dan semangat.

Ucapan terima kasih dan penghargaan juga disampaikan untuk dosen-dosen senior-senior Biologi yang telah berbagi ilmu, mendidik, dan

membimbing dengan tulus juga kepada guru-guru yang telah membagi ilmu dengan kesabaran dan teman-teman yang setia dalam suka dan duka.

Ucapan terima kasih dan penghargaan atas bantuan dalam menelaah buku orasi ini, Prof. Tjandra Anggraeni, Ph.D. dan asisten-asisten yang selalu setia membantu dalam penyusunan buku ini Rizka Musdalifah Amsar dan Safira Meidina Nursatya.

Ucapan terima kasih sebesar-besarnya kepada keluarga Barlian dan keluarga Kartantya yang senantiasa membantu, mendukung, dan menyemangati, khususnya kepada suami dan anak-anakku yang selalu mempercayai, memberi kebebasan penuh, mendukung tanpa *reserve* dan menyayangi sepanjang hayat.

Semoga ilmu yang dikembangkan dapat bermanfaat untuk banyak pihak dan semoga Tuhan yang Maha Kuasa membalas semua kebaikan yang telah diberikan oleh seluruh pihak yang membantu dan mendukung dengan tulus.

DAFTAR PUSTAKA

- Albert, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., & Walter, P. (2008). *Molecular Biology of the Cell*, Ch. 5. *Garland Science, Taylor & Francis Group*.
- Amaral, D. L., Zanette, R. S., Almeida, C. G., Almeida, L. B., de Oliveira, L. F., Marcomini, R. F., & Munk, M. (2019). In vitro evaluation of barium titanate nanoparticle/alginate 3D scaffold for osteogenic human stem cell differentiation. *Biomedical Materials*, *14*(3), 035011.
- Amsar, R. M., Barlian, A., Judawisastra, H., Wibowo, U. A., & Karina, K. (2021). Cell penetration and chondrogenic differentiation of human adipose derived stem cells on 3D scaffold. *Future Science OA*, *7*(8), FSO734.
- Amsar, R. M., Wijaya, C. H., Ana, I. D., Hidajah, A. C., Notobroto, H. B., Kencana Wungu, T. D., & Barlian, A. (2022). Extracellular vesicles: A promising cell-free therapy for cartilage repair. *Future science OA*, *8*(2), FSO774.
- Assanga, I. (2013). Cell growth curves for different cell lines and their relationship with biological activities. *International Journal of Biotechnology and Molecular Biology Research*, *4*(4), 60-70.
- Barlian, A., & Vanya, K. (2022). Nanotopography in directing osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells: Potency and future perspective. *Future Science OA*, *8*(1), FSO765.
- Barlian, A., & Yanti, N. L. W. E. (2020). Glycosaminoglycans Content and Type II Collagen Localization in Chondrogenic Differentiation of Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells Induced by L-Ascorbic Acid 2-Phosphate. *Journal of Mathematical & Fundamental Sciences*, *52*(1).
- Barlian, A., Judawisastra, H., Alfarafisa, N. M., Wibowo, U. A., & Rosadi, I. (2018). Chondrogenic differentiation of adipose-derived mesenchymal stem cells induced by L-ascorbic acid and platelet rich plasma on silk fibroin scaffold. *PeerJ*, *6*, e5809.
- Barlian, A., Judawisastra, H., Ridwan, A., Wahyuni, A. R., & Lingga, M. E. (2020). Chondrogenic differentiation of Wharton's Jelly mesenchymal stem cells on silk spidroin-fibroin mix scaffold supplemented with L-ascorbic acid and platelet rich plasma. *Scientific Reports*, *10*(1), 19449.
- Barlian, A., Saputri, D. H. A. A., Hernando, A., Khoirinaya, C., Prajateljista, E., & Tanoto, H. (2022). Spidroin striped micropattern promotes chondrogenic differentiation of human Wharton's jelly mesenchymal stem cells. *Scientific Reports*, *12*(1), 4837.

- Barros, A. A., Aroso, I. M., Silva, T. H., Mano, J. F., Duarte, A. R. C., & Reis, R. L. (2016). In vitro bioactivity studies of ceramic structures isolated from marine sponges. *Biomedical Materials*, 11(4), 045004.
- Bray, L. J., Suzuki, S., Harkin, D. G., & Chirila, T. V. (2013). Incorporation of exogenous RGD peptide and inter-species blending as strategies for enhancing human corneal limbal epithelial cell growth on *Bombyx mori* silk fibroin membranes. *Journal of functional biomaterials*, 4(2), 74-88.
- Cooper, G. M., & Hausman, R. O. B. E. R. T. E. (2000). A molecular approach. *The Cell*. 2nd ed. Sunderland, MA: Sinauer Associates.
- Ermis, M., Antmen, E., & Hasirci, V. (2018). Micro and Nanofabrication methods to control cell-substrate interactions and cell behavior: A review from the tissue engineering perspective. *Bioactive materials*, 3(3), 355-369.
- Freddi, G., Pessina, G., & Tsukada, M. (1999). Swelling and dissolution of silk fibroin (*Bombyx mori*) in N-methyl morpholine N-oxide. *International Journal of Biological Macromolecules*, 24(2-3), 251-263.
- Fu, Y., Zhang, J., Lin, H., & Mo, A. (2021). 2D titanium carbide (MXene) nanosheets and 1D hydroxyapatite nanowires into free standing nanocomposite membrane: In vitro and in vivo evaluations for bone regeneration. *Materials Science and Engineering: C*, 118, 111367.
- García-Gareta, E., Levin, A., & Hook, L. (2019). Engineering the migration and attachment behaviour of primary dermal fibroblasts. *Biotechnology and Bioengineering*, 116(5), 1102-1115.
- Gilbert, S. F. (2017). Developmental biology, the stem cell of biological disciplines. *PLoS biology*, 15(12), e2003691.
- Giovanni, R., Wibowo, U. A., Judawisastro, H., & Barlian, A. (2019). Growth of Human Dermal Fibroblasts on Polyvinyl Alcohol-Silk Fibroin Nanofiber Scaffold. *Journal of Mathematical & Fundamental Sciences*, 51(3).
- Hopwood, N. (2019). Inclusion and exclusion in the history of developmental biology. *Development*, 146(7), dev175448.
- Iloki Assanga, S.B., Gil-Salido, A.A., Lewis Luján, L.M., Rosas-Durazo, A., Acosta-Silva, A.L., Rivera-Castañeda, E. G. & Rubio-Pino, J.L. (2013). Cell Growth Curves for Different Cell Lines and Their Relationship with Biological Activities. *International Journal for Biotechnology and Molecular Biology Research*, 4(4), pp. 60-70.
- Izadifar, Z., Chen, X., & Kulyk, W. (2012). Strategic design and fabrication of engineered scaffolds for articular cartilage repair. *Journal of functional biomaterials*, 3(4), 799-838.

- Jiang, K., Dong, C., Yin, Z., Li, R., Wang, Q., & Wang, L. (2019). The critical role of exosomes in tumor biology. *Journal of Cellular Biochemistry*, 120(5), 6820-6832.
- Kalluri, R., & LeBleu, V. S. (2020). The biology, function, and biomedical applications of exosomes. *Science*, 367(6478), eaau6977.
- Kang, Z., Wang, Y., Xu, J., Song, G., Ding, M., Zhao, H., & Wang, J. (2018). An RGD-containing peptide derived from wild silkworm silk fibroin promotes cell adhesion and spreading. *Polymers*, 10(11), 1193.
- Katseni, K., Chalkias, A., Kotsis, T., Dafnios, N., Arapoglou, V., Kaparos, G., & Katsenis, K. (2015). The effect of perioperative ischemia and reperfusion on multiorgan dysfunction following abdominal aortic aneurysm repair. *BioMed Research International*.
- Kim, M. J., Lee, B., Yang, K., Park, J., Jeon, S., Um, S. H., & Cho, S. W. (2013). BMP-2 peptide-functionalized nanopatterned substrates for enhanced osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells. *Biomaterials*, 34(30), 7236-7246.
- Krieghoff, J., Picke, A. K., Salbach-Hirsch, J., Rother, S., Heinemann, C., Bernhardt, R., & Hofbauer, C. (2019). Increased pore size of scaffolds improves coating efficiency with sulfated hyaluronan and mineralization capacity of osteoblasts. *Biomaterials research*, 23, 1-13.
- Kuvyrkov, E., Brezhneva, N., Ulasevich, S. A., & Skorb, E. V. (2019). Sonochemical nanostructuring of titanium for regulation of human mesenchymal stem cells behavior for implant development. *Ultrasonics Sonochemistry*, 52, 437-445.
- Lai, G. J., Shalumon, K. T., Chen, S. H., & Chen, J. P. (2014). Composite chitosan/silk fibroin nanofibers for modulation of osteogenic differentiation and proliferation of human mesenchymal stem cells. *Carbohydrate polymers*, 111, 288-297.
- Leal-Egaña, A., Lang, G., Mauerer, C., Wickinghoff, J., Weber, M., Geimer, S., & Scheibel, T. (2012). Interactions of fibroblasts with different morphologies made of an engineered spider silk protein. *Advanced Engineering Materials*, 14(3), B67-B75.
- Lekvijittada, K., Hosomichi, J., Maeda, H., Hong, H., Changsripun, C., Kuma, Y. I., ... & Ono, T. (2021). Intermittent hypoxia inhibits mandibular cartilage growth with reduced TGF- β and SOX9 expressions in neonatal rats. *Scientific reports*, 11(1), 1140.
- Li, B., & Wang, J. H. C. (2011). Fibroblasts and myofibroblasts in wound healing: force generation and measurement. *Journal of tissue viability*, 20(4), 108-120.

- Li, L., Hong, M., Schmidt, M., Zhong, M., Malshe, A., Huis, B., & Kovalenko, V. (2011). Laser nano-manufacturing—state of the art and challenges. *CIRP annals*, 60(2), 735-755.
- Li, Q., & Wang, Z. (2020). Involvement of FAK/P38 signaling pathways in mediating the enhanced osteogenesis induced by nano-graphene oxide modification on titanium implant surface. *International Journal of Nanomedicine*, 4659-4676.
- Li, Z., Wang, Y., Xiang, S., Zheng, Z., Bian, Y., Feng, B., & Weng, X. (2020). Chondrocytes-derived exosomal miR-8485 regulated the Wnt/ β -catenin pathways to promote chondrogenic differentiation of BMSCs. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 523(2), 506-513.
- Lim, S. W., Loh, H. S., Ting, K. N., Bradshaw, T. D., & Allaudin, Z. N. (2015). Reduction of MTT to purple formazan by vitamin E isomers in the absence of cells. *Tropical life sciences research*, 26(1), 111.
- Lin, L., Kollipara, P. S., & Zheng, Y. (2019). Digital manufacturing of advanced materials: Challenges and perspective. *Materials Today*, 28, 49-62.
- Lin, Y. H., Wang, Y. H., Peng, Y. J., Liu, F. C., Lin, G. J., Huang, S. H., & Cheng, C. P. (2020). Interleukin 26 skews macrophage polarization towards M1 phenotype by activating cJUN and the NF- κ B pathway. *Cells*, 9(4), 938.
- Liu, J., Chen, T., Lei, P., Tang, X., & Huang, P. (2019). Exosomes released by bone marrow mesenchymal stem cells attenuate lung injury induced by intestinal ischemia reperfusion via the TLR4/NF- κ B pathway. *International Journal of Medical Sciences*, 16(9), 1238.
- Love, A. C. (2014). The erotetic organization of developmental biology. *Towards a theory of development*, 33.
- Lowery, J. L., Datta, N., & Rutledge, G. C. (2010). Effect of fiber diameter, pore size and seeding method on growth of human dermal fibroblasts in electrospun poly (ϵ -caprolactone) fibrous mats. *Biomaterials*, 31(3), 491-504.
- Mandal, B. B., & Kundu, S. C. (2009). Osteogenic and adipogenic differentiation of rat bone marrow cells on non-mulberry and mulberry silk gland fibroin 3D scaffolds. *Biomaterials*, 30(28), 5019-5030.
- Mao, G., Zhang, Z., Hu, S., Zhang, Z., Chang, Z., Huang, Z., & Kang, Y. (2018). Exosomes derived from miR-92a-3p-overexpressing human mesenchymal stem cells enhance chondrogenesis and suppress cartilage degradation via targeting WNT5A. *Stem cell research & therapy*, 9, 1-13.
- Minelli, A., & Pradeu, T. (Eds.). (2014). *Towards a theory of development*. OUP Oxford.

- Moisenovich, M. M., Pustovalova, O., Shackelford, J., Vasiljeva, T. V., Druzhinina, T. V., Kamenchuk, Y. A., ... & Agapov, I. I. (2012). Tissue regeneration in vivo within recombinant spidroin 1 scaffolds. *Biomaterials*, 33(15), 3887-3898.
- Murphy, C. M., O'Brien, F., Little, D. G., & Schindeler, A. (2013). Cell-scaffold interactions in the bone tissue engineering triad.
- Murphy, M. B., Moncivais, K., & Caplan, A. I. (2013). Mesenchymal stem cells: environmentally responsive therapeutics for regenerative medicine. *Experimental & molecular medicine*, 45(11), e54-e54.
- Nursatya, S. M., Barlian, A., & Hermawan Judawisastra, I. (2021). Fibroin and Spidroin Thin Film to Support the Attachment and Spread of Human Dermal Fibroblast: The Potency of Skin Tissue Engineering.
- Ravi, V., Sheikuduman, M. S., Patel, S., Raamamurthy, J., & Karunakaran, G. (2009). Anti-Inflammatory Effect of Methanolic Extract of Solanum nigrum Linn Berries. *International Journal of Applied Research in Natural Products*, 2.
- Rong, Y., Zhang, J., Jiang, D., Ji, C., Wang, J., Ge, X., & Cai, W. (2021). Hypoxic pretreatment of small extracellular vesicles mediates cartilage repair in osteoarthritis by delivering miR-216a-5p. *Acta biomaterialia*, 122, 325-342.
- Rosadi, I., Karina, K., Rosliana, I., Sobariah, S., Afini, I., Widyastuti, T., & Barlian, A. (2019). In vitro study of cartilage tissue engineering using human adipose-derived stem cells induced by platelet-rich plasma and cultured on silk fibroin scaffold. *Stem cell research & therapy*, 10(1), 1-15.
- Rosadi, I., Karina, K., Rosliana, I., Sobariah, S., Afini, I., Widyastuti, T., & Barlian, A. (2019). The effect of human platelet-rich plasma and L-ascorbic acid on morphology, proliferation, and chondrogenesis ability towards human adipose-derived stem cells. *Molecular and Cellular Biomedical Sciences*, 3(1), 26-33.
- Ruoslahti, E. (1991). Integrins. *The Journal of clinical investigation*, 87(1), 1-5.
- Sarasati, A., Syahrudin, M. H., Nuryanti, A., Ana, I. D., Barlian, A., Wijaya, C. H., ... & Takemori, H. (2023). Plant-Derived Exosome-like Nanoparticles for Biomedical Applications and Regenerative Therapy. *Biomedicines*, 11(4), 1053.
- Sato, M., Saitoh, I., Kiyokawa, Y., Iwase, Y., Kubota, N., Imano, N., & Inada, E. (2021). Tissue-nonspecific alkaline phosphatase, a possible mediator of cell maturation: towards a new paradigm. *Cells*, 10(12), 3338.
- Scholl, H., Blaszczyk, T., Leniart, A., & Polanski, K. (2004). Nanotopography and electrochemical impedance spectroscopy of palladium deposited on different electrode materials. *Journal of Solid State Electrochemistry*, 8, 308-315.

- Studer, D., Millan, C., Ozturk, E., Maniura-Weber, K., & Zenobi-Wong, M. (2012). Molecular and biophysical mechanisms regulating hypertrophic differentiation in chondrocytes and mesenchymal stem cells. *Eur Cell Mater*, 24(24), 118-135.
- Subha, D., Harshni, K., Madhikiruba, K., Nandhini, M., & Tamilselvi, K. (2023). Plant derived exosome-like Nanovesicles: An updated overview. *Plant Nano Biol*, 3, 100022.
- Théry, M. (2010). Micropatterning as a tool to decipher cell morphogenesis and functions. *Journal of cell science*, 123(24), 4201-4213.
- Usami, Y., Gunawardena, A. T., Iwamoto, M., & Enomoto-Iwamoto, M. (2016). Wnt signaling in cartilage development and diseases: lessons from animal studies. *Laboratory investigation*, 96(2), 186-196.
- Vanawati, N., Barlian, A., Judawisastra, H., & Wibowo, I. (2022). The combinatory effect of scaffold topography and culture condition: An approach to nucleus pulposus tissue engineering. *Future Science OA*, 8(7), FSO810.
- Vepari, C., & Kaplan, D. L. (2007). Silk as a biomaterial. *Progress in polymer science*, 32(8-9), 991-1007.
- Vimalraj, S. (2020). Alkaline phosphatase: Structure, expression and its function in bone mineralization. *Gene*, 754, 144855.
- Wang, J., Tao, Y., Zhou, X., Li, H., Liang, C., Li, F., & Chen, Q. X. (2016). The potential of chondrogenic pre-differentiation of adipose-derived mesenchymal stem cells for regeneration in harsh nucleus pulposus microenvironment. *Experimental biology and medicine*, 241(18), 2104-2111.
- Wang, N., Tytell, J. D., & Ingber, D. E. (2009). Mechanotransduction at a distance: mechanically coupling the extracellular matrix with the nucleus. *Nature reviews Molecular cell biology*, 10(1), 75-82.
- Wang, Y., Xiang, L., Yi, X., & He, X. (2017). Potential anti-inflammatory steroidal saponins from the berries of *Solanum nigrum* L. (European Black Nightshade). *Journal of agricultural and food chemistry*, 65(21), 4262-4272.
- Wibowo, A., Tajalla, G. U., Marsudi, M. A., Cooper, G., Asri, L. A., Liu, F., & Bartolo, P. J. (2021). Green synthesis of silver nanoparticles using extract of Cilembu sweet potatoes (*Ipomoea batatas* L var. Rancing) as potential filler for 3D printed electroactive and anti-infection scaffolds. *Molecules*, 26(7), 2042.
- Wilson, C. J., Clegg, R. E., Leavesley, D. I., & Pearcy, M. J. (2005). Mediation of biomaterial–cell interactions by adsorbed proteins: a review. *Tissue engineering*, 11(1-2), 1-18.
- Wu, J., Kuang, L., Chen, C., Yang, J., Zeng, W. N., Li, T., ... & Yang, L. (2019). miR-100-5p-abundant exosomes derived from infrapatellar fat pad MSCs protect

- articular cartilage and ameliorate gait abnormalities via inhibition of mTOR in osteoarthritis. *Biomaterials*, 206, 87-100.
- Xu, B., & Zhang, Q. (2021). Preparation and properties of hydrophobically modified nano-SiO₂ with hexadecyltrimethoxysilane. *ACS omega*, 6(14), 9764-9770.
- Xu, M., Wang, X., Li, Y., Geng, X., Jia, X., Zhang, L., & Yang, H. (2021). Arachidonic acid metabolism controls macrophage alternative activation through regulating oxidative phosphorylation in PPAR γ dependent manner. *Frontiers in Immunology*, 12, 618501.
- Yan, L., Liu, G., & Wu, X. (2021). Exosomes derived from umbilical cord mesenchymal stem cells in mechanical environment show improved osteochondral activity via upregulation of LncRNA H19. *Journal of orthopaedic translation*, 26, 111-120.
- Yang, C., Xu, X., Dong, X., Yang, B., Dong, W., Luo, Y., ... & Wang, J. (2021). DDIT3/CHOP promotes autophagy in chondrocytes via SIRT1-AKT pathway. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 1868(9), 119074.
- Yang, L., Ge, L., Zhou, Q., Jurczak, K. M., & van Rijn, P. (2020). Decoupling the amplitude and wavelength of anisotropic topography and the influence on osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells using a high-throughput screening approach. *ACS Applied Bio Materials*, 3(6), 3690-3697.
- Yang, M., Shuai, Y., He, W., Min, S., & Zhu, L. (2012). Preparation of porous scaffolds from silk fibroin extracted from the silk gland of *Bombyx mori* (B. mori). *International journal of molecular sciences*, 13(6), 7762-7775.
- Yang, Z., Zhang, X. R., Zhao, Q., Wang, S. L., Xiong, L. L., Zhang, P., & Zhang, Y. H. (2018). Knockdown of TNF- α alleviates acute lung injury in rats with intestinal ischemia and reperfusion injury by upregulating IL-10 expression. *International Journal of Molecular Medicine*, 42(2), 926-934.
- Zhang, X., Cao, C., Ma, X., & Li, Y. (2012). Optimization of macroporous 3-D silk fibroin scaffolds by salt-leaching procedure in organic solvent-free conditions. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 23, 315-324.
- Zhao, C., Chen, J. Y., Peng, W. M., Yuan, B., Bi, Q., & Xu, Y. J. (2020). Exosomes from adipose-derived stem cells promote chondrogenesis and suppress inflammation by upregulating miR-145 and miR-221. *Molecular medicine reports*, 21(4), 1881-1889.
- Zhao, L., Wang, L., Di, S. N., Xu, Q., Ren, Q. C., Chen, S. Z., & Shen, X. F. (2018). Steroidal alkaloid solanine A from *Solanum nigrum* Linn. exhibits anti-inflammatory activity in lipopolysaccharide/interferon γ -activated murine macrophages and animal models of inflammation. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 105, 606-615.

CURRICULUM VITAE



Nama : Anggraini Barlian
Tempat/tgl lahir : Bandung/13 April 1963
Kel. Keahlian : Fisiologi, Perkembangan Hewan dan Sains Biomedika
Alamat Kantor : Jl. Ganesha no. 10 Bandung
Nama Suami : Steve Rijadi Kartantya
Nama Anak : Annette Steven
Andrea Steven

I. RIWAYAT PENDIDIKAN

No.	Jenjang Pendidikan	Perguruan Tinggi	Tahun Lulus	Gelar	Bidang
1.	S1	ITB	1987	Sarjana	Biologi
2.	S2	The Univ. of Waterloo	1990	<i>Master of Science</i>	Biologi
3.	S3	ITB	1999	Doktor	Biologi

II. RIWAYAT KERJA DI ITB

No.	Nama Jabatan	Tahun
1.	Sekretaris Departemen Biologi FMIPA ITB	2004 – 2006
2.	Ketua Program Studi Magister Biomanajemen dan Magister Bioteknologi SITH ITB	2012 – 2013
3.	Ketua Program Studi Magister Bioteknologi dan Doktor Biologi SITH ITB	2014 – 2017
4.	Ketua Kelompok Keilmuan Fisiologi Perkembangan Hewan dan Sains Biomedika SITH ITB	2015 – 2018
5.	Sekretaris Senat SITH	2019 – 2023
6.	Anggota Senat Akademik ITB	2019 – 2023
7.	Sekretaris Komisi I Senat Akademik ITB	2019 – 2023

III. RIWAYAT KEPANGKATAN

No.	Pangkat	Golongan	TMT
1.	Penata Muda	III/a	1 November 1988
2.	Penata Muda Tingkat I	III/b	1 April 1996
3.	Penata	III/c	1 April 2000
4.	Penata Tingkat I	III/d	1 Oktober 2013
5.	Pembina	IV/a	1 Oktober 2015
6.	Pembina Tingkat I	IV/b	1 Oktober 2017

IV. RIWAYAT JABATAN FUNGSIONAL

No.	Nama Jabatan	TMT
1.	Asisten Ahli Madya	1 April 1992
2.	Asisten Ahli	1 Desember 1995
3.	Lektor Muda	1 Januari 2000
4.	Lektor	1 Januari 2001
5.	Lektor Kepala	1 April 2013
6.	Profesor/Guru Besar	1 November 2022

V. KEGIATAN PENELITIAN

No.	Judul Penelitian	Tahun/periode; Sumber dana
1.	Pengaruh Kondisi Hipoksia pada Sel Kulit dalam Menanggulangi Penuaan	2014; LPPM ITB
2.	Pengaruh Oksidatif Stres pada Sel Otak: Studi Proses Penuaan dan Demensia	2015; LPPM ITB
3.	<i>Development of biodegradable silk fibroin scaffold for tissue engineering applications</i>	2016, Asahi Glass Foundation
4.	Pengembangan Nanofiber Scaffold Untuk Rekayasa Jaringan Kulit Manusia	2016, Ristekdikti
5.	Diferensiasi Terarah Human Mesenchymal Stem Cells menjadi Sel Kondrosit Menggunakan Metode Micropatterning : Studi Aplikasi Stem Cell untuk Rekayasa Jaringan Rawan	2017; LPPM ITB
6.	Pengembangan teknik hamburan cahaya untuk diagnosa kristal urin	2018; RISTEK-DIKTI
7.	Induksi Sel Punca Asal Wharton's Jelly menjadi Kondrosit yang Ditumbuhkan pada Scaffold Berbahan Dasar Alami untuk Aplikasi Rekayasa Jaringan	2018; RISTEK-DIKTI
8.	<i>Stem cells application in tissue engineering for back pain injury</i>	2018; Asahi Glass Foundation
9.	Rekayasa Jaringan Rawan dari Human Mesenchymal Stem Cells dengan Induksi Indirubin yang Ditumbuhkan pada Scaffold Berbasis Biomaterial	2019; LPPM ITB
10.	Aplikasi micropatterning untuk peningkatan proliferasi dan diferensiasi <i>human Wharton's Jelly mesenchymal stem cell</i>	2019; Ristekdikti-Kalbe Science Awards
11.	Rekayasa Jaringan Kulit Manusia Menggunakan Biomaterial Scaffold	2019; Ristekdikti
12.	Aplikasi Nanopatterning terhadap Pertumbuhan dan Diferensiasi Sel Punca	2020, Riset Multidisiplin, LPPM ITB.
13.	Rekayasa Topografi Substrat Berbasis Sutera Laba-laba untuk Multipotensi Sel Punca Mesenkimal Manusia	2020; Riset Unggulan, LPPM ITB

14.	Isolasi dan Karakterisasi Eksosom dari Sel Punca Mesenkimal untuk Terapi Berbasis Tanpa Sel	2020; Riset Kolaborasi Indonesia, WCU ITB (Mitra universitas: IPB, UGM, UNAIR)
15.	Stabilitas Kondrosit Hasil Diferensiasi Sel Punca Wharton's Jelly pada Scaffold berbahan Dasar Jaring Laba-laba dalam Aplikasi Jaringan Rawan	2020; Ristekdikti
16.	Peran <i>Micropattern</i> dari Biosilika untuk Mendukung Pertumbuhan dan Diferensiasi Osteogenik Sel Punca Mesenkimal	2020; Ristekdikti (PRN)
17.	<i>Application of Mechanobiology Concept in Sponge 3D Scaffold</i>	2020; PERI's Research Grant Year 2019 (dari Prodia)
18.	Aplikasi Eksosom dari Sel Punca Mesenkimal untuk Terapi Berbasis Tanpa Sel	2021; Riset Kolaborasi Indonesia, WCU ITB (Mitra universitas: IPB, UGM, UNAIR)
19.	Aplikasi Eksosom Sel Punca Mesenkimal sebagai Alternatif Anti-inflamasi untuk Mengatasi Badai Sitokin COVID-19	2021; Riset Unggulan, LPPM ITB
20.	Pengembangan Nano-Kosmetik Berbasis Eksosom Dari Sel Punca Mesenkimal Manusia Sebagai Agen Anti-Photoaging dan Peremajaan Kulit	2021; Riset Inovasi ITB, LPIK
21.	Rancang Bangun dan Model Simulasi Diferensiasi Sel Punca Mesenkimal Berbasis Nanopattern	2021; Riset Unggulan, LPPM ITB
22.	Establishment of Purification and Characterization method for Ginger-derived Exosome-like Nanoparticles and its Anti-inflammatory Activity	2022; Riset Kolaborasi Indonesia, LPPM ITB
23.	Rekayasa Microenvironment untuk Diferensiasi Sel Punca Mesenkimal Sel Rawan sebagai Potensi dalam Terapi Low Back Pain	2022; Riset ITB, LPPM ITB
24.	Produksi micro RNA anti-inflamasi oleh Sel Punca Mesenkimal yang diinduksi Eksosom dari Pepaya	2022; P2MI Riset kolaboratif, SITH ITB
25.	Fabrikasi dan Apikasi Scaffold Berbahan Spons Laut Indonesia untuk Rekayasa Jaringan Tulang	2023; Riset ITB, LPPM ITB
26.	Plant-derived Exosome-like Nanoparticles (PDEN) for Immunomodulation and Macrophage Polarization to Enhance Regenerative Dental and Medical Therapies	2023; Riset Kolaborasi Indonesia, LPPM ITB
27.	Pengembangan Nanobiomaterial untuk Aplikasi di Bidang Kesehatan	2023; RU3P,
28.	Eksosom dari human Wharton's jelly mesenchymal stem cells dalam Bentuk Scaffold Hidrogel untuk Penyembuhan Luka Diabetes	2023; Penelitian Kerjasama - Dalam Negeri, KEMDIKBUDRISTEK
29.	Scaffold berbasis biosilika dari Xestospongia testudinaria yang dimodifikasi dengan silane yang diintegrasikan pada Poly-ε-caprolactone (PCL) untuk rekayasa jaringan tulang.	2023; PTM, KEMDIKBUDRISTEK

VI. PUBLIKASI

A. BUKU

1. Marselina Irasonia Tan, **Anggraini Barlian**, Ernawati A Giri Rachman 2015. *Biologi Sel dan terapannya*. ITB Press, Bandung. ISBN: 978-602-7861-55-8.
2. BPOM. 2020. *Pedoman Penilaian Obat Berbasis Sel Manusia*. BPOM RI, Jakarta. ISBN: 978-602-415-036-5.

B. Jurnal

1. Ridwan, Ahmad, Raden Tanita Astrian, and **Anggraini Barlian**. "Pengukuran efek antidiabetes polifenol (Polyphenon 60) berdasarkan kadar glukosa darah dan histologi pankreas mencit (*Mus musculus L.*) SW jantan yang dikondisikan diabetes mellitus." *Jurnal Matematika dan Sains* 17, no. 2 (2012): 78-82.
2. Ridwan, Ahmad, Zuliyanto Zakaria, and **Anggraini Barlian**. "Pengaruh Fotoperiode terhadap Respon Stres dan Parameter Reproduksi pada Mencit Jantan (*Mus musculus L.*) Galur Swiss Webster. Institut Teknologi Bandung." *Jurnal Matematika & Sains* 17, no. 1 (2012): 39-45.
3. **Barlian, Anggraini**, Noviana Vanawati, and Fitria D. Ayuningtyas. "The patterns of sex determination and differentiation genes in green sea turtle (*Chelonia mydas*)." *Berkala Penelitian Hayati* 20, no. 2 (2015): 15-20.
4. Sanawati, Anna, **Anggraini Barlian**, and Marselina Irasonia Tan. "Construction, in Silico Analysis, and in Vitro expression of DNA vaccine candidate encoding human Rotavirus capsid protein VP6." *International Journal of Integrative Biology* 18, no. 1 (2017): 1.
5. Anggraeny, Dian, **Anggraini Barlian**, and Kusnandar Anggadiredja. "EFEK DIKLOFENAK DAN VCO TERHADAP EKSPRESI RESEPTOR EP3 PADA TIKUS STRAIN WISTAR ADIKSI NIKOTIN KONDISI DEPENDENCE." *Medika Kartika: Jurnal Kedokteran dan Kesehatan* 1, no. 1 (2017): 15-31.
6. **Barlian, Anggraini**, and Yemima Dani Riani. "Correlation of Hypoxia and Pro-senescence Protein Expression in Green Sea Turtle (*Chelonia mydas*) Lung Epithelial and Dermal Fibroblast Cell Culture." *J Math Fund Sci* 50 (2018): 59-71.

7. Anggraeni, T., N. Nisrine, **A. Barlian**, and S. H. Sumarsono. "Repellency of some essential oils against *Drosophila melanogaster*, vector for bacterium blood disease in banana plantation." *Journal of Entomology* 15, no. 3 (2018): 125-134.
8. Hidayatullah, Priyanto, T. Mengko, R. Munir, and **A. Barlian**. "A semiautomatic dataset generator for convolutional neural network." In *Proceedings of the International Conference on Electrical Engineering & Computer Science (ICEECS 2018)*, pp. 17-21. 2018.
9. **Barlian, Anggraini**, Regina Giovanni, Untung Ari Wibowo, Hermawan Judawisastra, Ni Luh Wisma Ekayanti, and Netty Paramita Pulungan. "Directed Differentiation of Human Mesenchymal Stem Cells into Chondrocytes Using Micropatterning Method." In *2018 2nd International Conference on Biomedical Engineering (IBIOMED)*, pp. 7-11. IEEE, 2018.
10. **Barlian, Anggraini**, Hermawan Judawisastra, Nayla M. Alfarafisa, Untung A. Wibowo, and Imam Rosadi. "Chondrogenic differentiation of adipose-derived mesenchymal stem cells induced by L-ascorbic acid and platelet rich plasma on silk fibroin scaffold." *PeerJ* 6 (2018): e5809.
11. Wibowo, Untung Ari, Hermawan Judawisastra, **Anggraini Barlian**, Nayla M. Alfarafisa, Karina F. Moegni, and Melinda Remelia. "Development of salt leached silk fibroin scaffold using direct dissolution techniques for cartilage tissue engineering." *Int. J. Adv. Sci. Eng. Inf. Technol* 9, no. 3 (2019): 810-815.
12. Rosadi, Imam, Karina Karina, Iis Rosliana, Siti Sobariah, Irsyah Afini, Tias Widyastuti, and **Anggraini Barlian**. "The effect of human platelet-rich plasma and L-ascorbic acid on morphology, proliferation, and chondrogenesis ability towards human adipose-derived stem cells." *Molecular and Cellular Biomedical Sciences* 3, no. 1 (2019): 26-33.
13. Giovanni, Regina, Untung Ari Wibowo, Hermawan Judawisastra, and **Anggraini Barlian**. "Growth of Human Dermal Fibroblasts on Polyvinyl Alcohol-Silk Fibroin Nanofiber Scaffold." *Journal of Mathematical & Fundamental Sciences* 51, no. 3 (2019).
14. Hidayatullah, Priyanto, Tati Erawati Rajab Mengko, Rinaldi Munir, and **Anggraini Barlian**. "A semiautomatic sperm cell data

- annotator for convolutional neural network." In *2019 5th International Conference on Science in Information Technology (ICSITech)*, pp. 211-216. IEEE, 2019.
15. Rosadi, Imam, Karina Karina, Iis Rosliana, Siti Sobariah, Irsyah Afini, Tias Widyastuti, and **Anggraini Barlian**. "EXPRESSION OF PROTEIN CD73/CD90/CD105/CD34/CD45/CD11b/CD19/HLA-DR ON STEM CELLS FROM HUMAN FAT TISSUE, USING CYTOMETRY FLOW." *Al-Kauniah: Jurnal Biologi* 12, no. 2 (2019): 133-141.
 16. Vanawati, Noviana, **Anggraini Barlian**, Yasuhiko Tabata, Hermawan Judawisastra, and Indra Wibowo. "Comparison of human Mesenchymal Stem Cells biocompatibility data growth on gelatin and silk fibroin scaffolds." *Data in brief* 27 (2019): 104678.
 17. Rosadi, Imam, Karina Karina, Iis Rosliana, Siti Sobariah, Irsyah Afini, Tias Widyastuti, and **Anggraini Barlian**. "In vitro study of cartilage tissue engineering using human adipose-derived stem cells induced by platelet-rich plasma and cultured on silk fibroin scaffold." *Stem cell research & therapy* 10, no. 1 (2019): 1-15.
 18. **Barlian, Anggraini**, Hermawan Judawisastra, Ahmad Ridwan, Antonia Ratih, and Noviana Vanawati. "Differentiation of human Wharton's jelly mesenchymal stem cells on biomaterial-based scaffold for cartilage tissue engineering." In *AIP Conference Proceedings*, vol. 2193, no. 1. AIP Publishing, 2019.
 19. Bana, Joice J., **Anggraini Barlian**, and Ahmad Ridwan. "PERTUMBUHAN DAN IMBANGAN EFISIENSI PROTEIN AYAM KAMPUNG (*Gallus gallus domesticus*) YANG DIBERI RANSUM MENGANDUNG TEPUNG LARVA Back Soldier Fly (BSF) *Hermetia illucens*." *SAINSTEK* 4, no. 1 (2019): 171-177.
 20. **Barlian, Anggraini**, and Ni Luh Wisma Eka Yanti. "Glycosaminoglycans Content and Type II Collagen Localization in Chondrogenic Differentiation of Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells Induced by L-Ascorbic Acid 2-Phosphate." *Journal of Mathematical & Fundamental Sciences* 52, no. 1 (2020).
 21. **Barlian, Anggraini**, and Yemima D. Riani. "Aging Process in Dermal Fibroblast Cell Culture of Green Turtle (*Chelonia mydas*)." *Aging* 2, no. 2 (2020).

22. Rosadi, Imam, Karina Karina, Komang A. Wahyuningsih, **Anggraini Barlian**, Iis Rosliana, Tias Widyastuti, Siti Sobariah, and Irsyah Afini. "Biokompatibilitas scaffold sutera asal Bombyx mori ukuran pori 100 μ m terhadap adipose-derived stem cells (ADSCs) yang dikultur pada berbagai medium pertumbuhan." (2020).
23. Rosadi, Imam, Karina Karina, Komang A. Wahyuningsih, Iis Rosliana, Tias Widyastuti, Siti Sobariah, Irsyah Afini, and **Anggraini Barlian**. "Kondrogenesis adipose-derived stem cells menggunakan platelet-rich plasma pada scaffold sutera." *Al-Kauniah J Biol* 13, no. 1 (2020): 31-8.
24. **Barlian, Anggraini**, Hermawan Judawisastra, Ahmad Ridwan, Antonia Ratih Wahyuni, and Meidiana Ebtayani Lingga. "Chondrogenic differentiation of Wharton's Jelly mesenchymal stem cells on silk spidroin-fibroin mix scaffold supplemented with L-ascorbic acid and platelet rich plasma." *Scientific Reports* 10, no. 1 (2020): 19449.
25. Hidayah, Thauhidayatul, and **Anggraini Barlian**. "Peran Ekstrak Kulit Batang Leea angulata Pada Tahap Proliferasi dalam Proses Penyembuhan Luka Kulit Mencit (Mus musculus)." *Jurnal Sumberdaya Hayati* 7, no. 2 (2021): 71-77.
26. Bana, Joice J., **Anggraini Barlian**, and Ahmad Ridwan. "Research Article Prolactin Hormone Profile, Patterns and Expression Level of Prolactin, Pit-1, VIP and PREB Gene in Kampung Chicken (Gallus gallus domesticus) Induced by Anti-Prolactin." (2021).
27. Nursatya, Safira Meidina, **Anggraini Barlian**, Indra Wibowo, Hermawan Judawisastra, and Hutomo Tanoto. "Fibroin and Spidroin Thin Film to Support the Attachment and Spread of Human Dermal Fibroblast: The Potency of Skin Tissue Engineering." (2021).
28. **Barlian, Anggraini**, Marselina Irasonia Tan, Ergha Widya Sarjana, and Noviana Vanawati. "Role of Hypoxia on Growth and Differentiation of Human Adipose Derived Stem Cells Grown on Silk Fibroin Scaffold Induced by Platelet Rich Plasma." (2021).
29. Viridi, Sparisoma, Suprijadi Suprijadi, **Anggraini Barlian**, and Damar Rastri Adhika. "Molecular dynamics (MD) method and agent-based model (ABM) in simulation of stem cell deposition on

- the surface with nanopattern: Current development stage of an in-house simulator." In *AIP Conference Proceedings*, vol. 2320, no. 1. AIP Publishing, 2021.
30. Hernando, A., D. H. A. Saputri, M. I. Tan, and **A. Barlian**. "Directing the chondrogenic differentiation of human Wharton's jelly mesenchymal stem cells using spider silk-based micropattern." In *AIP Conference Proceedings*, vol. 2346, no. 1. AIP Publishing, 2021.
 31. **Barlian, A.**, H. Judawisastra, A. Ridwan, A. R. Wahyuni, and M. E. Lingga. "Attachment, spreading, and proliferation of Wharton's jelly mesenchymal stem cells on scaffold combination of silk fibroin and *Argiope appensa* silk spidroin." In *AIP Conference Proceedings*, vol. 2346, no. 1. AIP Publishing, 2021.
 32. Tan, M. I., **A. Barlian**, E. Prajatelista, A. R. Wahyuni, and H. Tanoto. "A Study of Interaction Between hWJ-MSCs and SiO₂-Coated PDMS Micropattern." In *Journal of Physics: Conference Series*, vol. 1893, no. 1, p. 012010. IOP Publishing, 2021.
 33. Hidayatullah, Priyanto, Tati LER Mengko, Rinaldi Munir, and **Anggraini Barlian**. "Bull sperm tracking and machine learning-based motility classification." *IEEE Access* 9 (2021): 61159-61170.
 34. Suharta, Sigit, **Anggraini Barlian**, Atik Choirul Hidajah, Hari Basuki Notobroto, Ika Dewi Ana, Susi Indariani, Triati Dewi Kencana Wungu, and Christofora Hanny Wijaya. "Plant-derived exosome-like nanoparticles: A concise review on its extraction methods, content, bioactivities, and potential as functional food ingredient." *Journal of Food Science* 86, no. 7 (2021): 2838-2850.
 35. Wibowo, Indra, Nuruliawaty Utami, Tjandra Anggraeni, **Anggraini Barlian**, Ramadhani Eka Putra, Annisa Devi Indriani, Rina Masadah, and Savira Ekawardhani. "Propolis can improve caudal fin regeneration in zebrafish (*Danio rerio*) induced by the combined administration of Alloxan and glucose." *Zebrafish* 18, no. 4 (2021): 274-281.
 36. Hidayatullah, Priyanto, Xueting Wang, Toshihiko Yamasaki, Tati LER Mengko, Rinaldi Munir, **Anggraini Barlian**, Eros Sukmawati, and Suprpto Suprpto. "DeepSperm: A robust and real-time bull sperm-cell detection in densely populated semen videos." *Computer Methods and Programs in Biomedicine* 209 (2021): 106302.

37. Amsar, Rizka Musdalifah, **Anggraini Barlian**, Hermawan Judawisastra, Untung Ari Wibowo, and Karina Karina. "Cell penetration and chondrogenic differentiation of human adipose derived stem cells on 3D scaffold." *Future Science OA* 7, no. 8 (2021): FSO734.
38. Khoirinaya, Candrani, Hutomo Tanoto, Damar Rastri Adhika, and **Anggraini Barlian**. "Development of Spider Silk-based Substrate for the Attachment and Spreading of Human Wharton's Jelly-derived Mesenchymal Stem Cells (hWJ-MSCs)." *Malaysian Journal of Medicine & Health Sciences* 17 (2021).
39. Marsudi, Maradhana Agung, Ridhola Tri Ariski, Arie Wibowo, Glen Cooper, **Anggraini Barlian**, Riska Rachmantyo, and Paulo JDS Bartolo. "Conductive polymeric-based electroactive scaffolds for tissue engineering applications: Current progress and challenges from biomaterials and manufacturing perspectives." *International Journal of Molecular Sciences* 22, no. 21 (2021): 11543.
40. Ana, Ika Dewi, **Anggraini Barlian**, Atik Choirul Hidajah, Christofora Hanny Wijaya, Hari Basuki Notobroto, and Triati Dewi Kencana Wungu. "Challenges and strategy in treatment with exosomes for cell-free-based tissue engineering in dentistry." *Future science OA* 7, no. 10 (2021): FSO751.
41. **Barlian, Anggraini**, and Katherine Vanya. "Nanotopography in directing osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells: Potency and future perspective." *Future Science OA* 8, no. 1 (2022): FSO765.
42. Amsar, Rizka Musdalifah, Christofora Hanny Wijaya, Ika Dewi Ana, Atik Choirul Hidajah, Hari Basuki Notobroto, Triati Dewi Kencana Wungu, and **Anggraini Barlian**. "Extracellular vesicles: A promising cell-free therapy for cartilage repair." *Future science OA* 8, no. 2 (2022): FSO774.
43. **Barlian, Anggraini**, Dinda Hani'ah Arum Saputri, Adriel Hernando, Candrani Khoirinaya, Ekavianty Prajateljista, and Hutomo Tanoto. "Spidroin striped micropattern promotes chondrogenic differentiation of human Wharton's jelly mesenchymal stem cells." *Scientific Reports* 12, no. 1 (2022): 4837.

44. Tan, Marselina Irasonia, Nayla Majeda Alfarafisa, Popi Septiani, **Anggraini Barlian**, Mochamad Firmansyah, Ahmad Faizal, Lili Melani, and Husna Nugrahapraja. "Potential Cell-Based and Cell-Free Therapy for Patients with COVID-19." *Cells* 11, no. 15 (2022): 2319.
45. Vanawati, Noviana, **Anggraini Barlian**, Hermawan Judawisastra, and Indra Wibowo. "The combinatory effect of scaffold topography and culture condition: An approach to nucleus pulposus tissue engineering." *Future Science OA* 8, no. 7 (2022): FSO810.
46. Nuraini, Nuning, Kamal Khairudin Sukandar, Maria Yulita Trida Tahu, Ernawati Arifin Giri-Rachman, **Anggraini Barlian**, Sri Harjati Suhardi, Udjianna Sekteria Pasaribu et al. "Infectious Disease Modeling with Socio-Viral Behavioral Aspects—Lessons Learned from the Spread of SARS-CoV-2 in a University." *Tropical Medicine and Infectious Disease* 7, no. 10 (2022): 289.
47. Rahmanisa, Soraya, Ekavianty Prajatelistia, Indra Wibowo, and **Anggraini Barlian**. "3D Biosilica scaffolds from *Melophlus sarasinorum* and *Xestospongia testudinaria* Indonesian sponges are biocompatible for cell growth and differentiation of human Wharton's jelly mesenchymal stem cell in bone tissue engineering." *The Indonesian Biomedical Journal* 14, no. 4 (2022): 382-92.
48. Ratnadewi, Diah, Christofora Hanny Widjaja, **Anggraini Barlian**, Rizka Musdalifah Amsar, Ika Dewi Ana, Atik Choirul Hidajah, Hari Basuki Notobroto, and Triati Dewi Kencana Wungu. "Isolation of Native Plant-Derived Exosome-like Nanoparticles and Their Uptake by Human Cells." *HAYATI Journal of Biosciences* 30, no. 1 (2023): 182-192.
49. Daniel, Michael Leonardo, Safira Meidina Nursatya, **Anggraini Barlian**, Ekavianty Prajatelistia, and Hermawan Judawisastra. "Improving magnesium's corrosion resistance through tannic acid-polyethyleneimine coatings for bioresorbable implant applications." *Materials Advances* 4, no. 6 (2023): 1590-1603.
50. Ananda, Muhammad Bagas, Fathan Aditya Sanjaya, Tami Bachrurozy, Helmi Majid Ar Rasyid, **Anggraini Barlian**, Akfiny Hasdi Aimon, Fitriyatul Qulub, Prihartini Widiyanti, and Arie

Wibowo. "Fast Microwave-Assisted Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using Low Concentration of Seminyak (*Champeria* sp.) Leaf Extract." *Indonesian Journal of Chemistry* 23, no. 2 (2023).

51. Rieuwpassa, Frets Jonas, Indra Wibowo, Wendy A. Tanod, Jaka FP Palawe, Eko Cahyono, Stevy IM Wodi, Novalina M, Ansar Obyn I, Pumpente, Aprelia M, Tomaso, Usy N. Manurung, Eunike I. Kumaseh, Fitria F. Lungary, Herjumes Aatjin, Christian A. Manansang, Steward I. Makawekes, **Anggraini Barlian**, Walter Balansa. "Pemberdayaan Masyarakat Melalui Kegiatan Pembibitan dan Penanaman Mangrove di Pantai Salurang, Kepulauan Sangihe." *Wikrama Parahita: Jurnal Pengabdian Masyarakat* 7, no. 1 (2023): 69-74.
52. Salsabila, Aurelia, Aditya Pratama, Andrieanto Nurrochman, Hendra Hermawan, **Anggraini Barlian**, and Ekavianty Prajatelistia. "Preparation of Tannic Acid/Hyaluronic Acid Coating to Improve the Corrosion Resistance of Implant Material Based on AZ31B Magnesium Alloy." *Metals* 13, no. 3 (2023): 494.
53. Sarasati, Andari, Muhammad Hidayat Syahrudin, Archadian Nuryanti, Ika Dewi Ana, **Anggraini Barlian**, Christofora Hanny Wijaya, Diah Ratnadewi, Triati Dewi Kencana Wungu, and Hiroshi Takemori. "Plant-Derived Exosome-like Nanoparticles for Biomedical Applications and Regenerative Therapy." *Biomedicines* 11, no. 4 (2023): 1053.
54. Setiadi, Vincent Evan, Amirah Adlia, **Anggraini Barlian**, Fitria Dwi Ayuningtyas, and Heni Rachmawati. "Development and Characterization of a Gel Formulation Containing Golden Cherry Exosomes (*Physalis minima*) as a Potential Anti-Photoaging." *Pharmaceutical Nanotechnology* (2023).
55. **Barlian, Anggraini**, Rizka Musdalifah Amsar, Salindri Prawitasari, Christofora Hanny Wijaya, Ika Dewi Ana, Atik Choirul Hidajah, Hari Basuki Notobroto, Triati Dewi Kencana Wungu. "The properties of Exosomes Derived from Mesenchymal Stem Cells Preconditioned with L-Ascorbic Acid and Cobalt (II) Chloride." *HAYATI Journal of Biosciences* (2023) (*in print*).

VII. PATEN

- Perancah untuk Rekayasa Jaringan Rawan Artikular dari Serat Fibroin dan Serat Spidroin serta Metode Pembuatannya; Paten (Terdaftar). P00201912265 (2019)
- Material Tinta Alami Berpola Mikro (*Bio-Inking Micropattern*) untuk Pertumbuhan dan Diferensiasi Terarah Sel Punca dari Protein Spidroin Laba-Laba *Argiope Sp.* Serta Metode Pembuatannya; Paten (Terdaftar). P00202002535 (2020)
- Metode Pembuatan Nanopattern pada Permukaan Substrat Polydimethylsiloxane Menggunakan Cetakan Silikon Hasil Fabrikasi dengan Focused Ion Beam; Paten (Terdaftar). P00202010529 (2020)

VIII. PENGHARGAAN

No.	Nama Penghargaan	Pemberi penghargaan	Tahun
1.	Pengabdian 25 Tahun Institut Teknologi Bandung	Institut Teknologi Bandung	17 Agustus 2014
2.	Satyalancana Karya Satya 20 Tahun	Presiden Republik Indonesia	11 Agustus 2015
3.	Penghargaan Institut Teknologi Bandung di Bidang Pengajaran Tahun 2016	Institut Teknologi Bandung	2 Maret 2016
4.	Ristekdikti-Kalbe Science Awards (RKSA)	Kementerian Riset Teknologi dan Pendidikan Tinggi & Kalbe	26 Oktober 2018
5.	Penghargaan Institut Teknologi Bandung di Bidang Penelitian Tahun 2020	Institut Teknologi Bandung	2 Maret 2020
6.	Satyalancana Karya Satya 30 Tahun	Presiden Republik Indonesia	13 Agustus 2020
7.	<i>Best presenter</i>	Riset Kolaborasi Indonesia	12 Desember 2020
8.	<i>Best presenter</i>	Riset Kolaborasi Indonesia	12 Agustus 2021

IX. SERTIFIKASI

Sertifikasi pendidik sebagai dosen profesional

ITB PRESS

📍 Gedung STP ITB, Lantai 1,
Jl. Ganesa No. 15F Bandung 40132
☎ +62 22 20469057
🌐 www.itbpress.id
✉ office@itbpress.id
Anggota Ikapi No. 043/JBA/92
APPTI No. 005.062.1.10.2018

**Forum Guru Besar
Institut Teknologi Bandung**

Jalan Dipati Ukur No. 4, Bandung 40132
E-mail: sekretariat-fgb@itb.ac.id
Telp. (022) 2512532

🌐 fgb.itb.ac.id [FgbItb](#) [FGB_ITB](#)
📱 [@fgbitb_1920](#) [Forum Guru Besar ITB](#)

