

12053-33851-1-SM_imam.doc

by

Submission date: 25-Apr-2020 11:47PM (UTC+0700)

Submission ID: 1307534216

File name: 12053-33851-1-SM_imam.doc (287.5K)

Word count: 3703

Character count: 23676

INDUKSI ADIPOSE-DERIVED STEM CELLS MENJADI KONDROSIT PADA SCAFFOLD SUTERA DALAM MEDIUM YANG MENGANDUNG PLATELET-RICH PLASMA

INDUCTION OF ADIPOSE-DERIVED STEM CELLSCULTURED TO CHONDROCYTE ON SILK FIBROIN SCAFFOLD ON SUPPLEMETED MEDIUM BY PLATELET-RICH PLASMA

1

Imam Rosadi^{1,*}, Karina^{1,2,3}, Komang A. Wahyuningsih^{1,2,4}, Iis Roslana¹, Tias Widyastuti¹, Siti Sobariah¹, Irsyah Afini¹, Anggraini Barlian⁵

¹HayandraLab, Yayasan Hayandra Peduli, Jakarta, Indonesia

²Klinik Hayandra, Yayasan Hayandra Peduli, Jakarta, Indonesia

³Biomedik, Universitas Indonesia, Jakarta, Indonesia

⁴Histologi, Universitas Katolik Indonesia Atma Jaya, Jakarta, Indonesia

⁵Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati, Institut Teknologi Bandung, Bandung, Indonesia

*Corresponding author: imam.rosadi@hayandra.com

Abstrak

Studi terkait kemampuan *adipose-derived stem cells* (ADSCs) sebagai sel punca yang dapat berdiferensiasi menjadi kondrosit menggunakan *platelet-rich plasma* (PRP) sebagai substitusi *fetal bovine serum* (FBS) telah banyak dilaporkan. Penggunaan medium pertumbuhan dengan kombinasi ADSCs, PRP dan *scaffold* sutera masih belum banyak dipelajari dalam rekayasa jaringan kartilago. Studi ini bertujuan untuk mempelajari pengaruh medium yang mengandung 5%, 10% dan 20% PRP terhadap proses kondrogenesis ADSCs manusia yang dikultur pada *scaffold* sutera *Bombyx mori* Indonesia. Tahapan yang dilakukan untuk menjawab studi tersebut diantaranya diawali dengan pembuatan *scaffold* sutera menggunakan metode *salt-leaching*, isolasi dan kultur ADSCs manusia dari jaringan lemak, uji pertumbuhan ADSCs pada *scaffold* sutera dengan variasi konsentrasi PRP pada medium serta analisis kadar glikosaminoglikan (GAG). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ADSCs yang dikultur menggunakan berbagai konsentrasi PRP lebih tinggi laju pertumbuhannya dibandingkan ADSCs yang dikultur menggunakan FBS selama 7 hari pengamatan. Kadar GAG yang disekresikan ADSCs kelompok PRP juga lebih tinggi dibandingkan kelompok FBS. Kadar GAG tertinggi pada hari ke-21 pengamatan adalah medium yang mengandung 20% PRP kemudian 10% dan 5%, sedangkan kadar GAG kelompok kontrol cenderung stabil pada kadar yang rendah. Berdasarkan hasil tersebut, medium yang mengandung PRP memiliki potensi dalam menginduksi kondrogenesis ADSCs yang dikultur pada *scaffold* sutera.

Kata kunci: ADSCs, kondrogenesis, *platelet-rich plasma*, *scaffold* sutera, glikosaminoglikan

Abstract

The studies of *adipose-derived stem cells* (ADSCs) differentiation into *chondrocytes* using *platelet-rich plasma* (PRP) as a substitute of *fetal bovine serum* (FBS) have been reported. However, the combination of ADSCs, PRP and silk fibroin scaffold has not been widely studied for developing cartilage engineering. Therefore, the aim of this research is to study the effect of medium containing 5%, 10% and 20% PRP towards *chondrogenesis* of human ADSCs cultured on silk fibroin scaffold from *Bombyx mori* Indonesia. At first, the silk fibroin scaffold was fabricated using *salt-leaching* method, then ADSCs were isolated and cultured from adipose tissues. The assays of growth curve and biocompatibility of silk fibroin scaffold toward ADSCs supplemented by PRP as well as glycosaminoglycans (GAG) concentration was done later. The results showed higher

absorbance of proliferation rate was on ADSCs supplemented by various PRP concentrations compare to FBS control group for 7 days of observation. Level of GAG which secreted by ADSCs supplemented by various concentration of PRP were also higher than FBS group. The highest level of GAG on day 21 was observed in 20% PRP group then 10% and 5% PRP, while control group of GAG level is stable at low levels. The conclusion of this study is PRP has potential serum to induce chondrogenesis ADSCs which cultured on silk fibroin scaffold.

Keywords: ADSCs, chondrogenesis, platelet-rich plasma, silk fibroin scaffold, glycosaminoglycans

PENDAHULUAN

Adipose-derived stem cells (ADSCs) merupakan sel punca yang dapat berdiferensiasi menjadi beberapa jenis sel, salah satunya menjadi kondrosit (Zuk, 2010). Kondrogenesis ADSCs umumnya diinduksi menggunakan medium yang mengandung fetal bovine serum (FBS) dan transforming growth factor beta (TGF- β). Kadar TGF- β yang optimal akan meningkatkan potensi diferensiasi ADSCs menjadi kondrosit (Huang *et al.*, 2013; Dhurat & Suresh, 2014). Akan tetapi, faktor diferensiasi TGF- β tidak ekonomis, sementara FBS beresiko membawa kontaminan seperti prion dan dapat menimbulkan reaksi inflamasi pada tubuh manusia (Shahdadfar *et al.*, 2005). Alternatif nutrisi pengganti FBS yang telah dilaporkan mampu meningkatkan laju proliferasi sel mamalia adalah platelet rich plasma (PRP) atau konsentrat trombosit asal manusia (Kacsoemer *et al.*, 2007; Blande *et al.*, 2009). PRP juga dilaporkan mengandung TGF- β sehingga dapat menginduksi ADSCs menjadi kondrosit. Kondrosit sendiri memiliki protein spesifik yang diekspresikan sebagai ciri dari kondrosit. Beberapa penanda protein spesifik tersebut diantaranya kolagen tipe 2, agrekan, dan glikosaminoglikan (GAG) yang diekspresikan dalam kadar yang tinggi (Shen *et al.*, 2015). Ketiga penanda tersebut membentuk ekstraselular matriks kondrosit. Oleh karena itu, kombinasi ADSCs dan PRP berpotensi sebagai model sel punca dalam mempelajari proses kondrogenesis.

Studi kondrogenesis secara *in vitro* umumnya menggunakan scaffold dalam memahami proses molekular yang terjadi agar menyerupai kondisi alami *in vivo*. Scaffold merupakan salah satu komponen utama dalam pengembangan rekayasa jaringan yang berperan sebagai tempat tumbuh sel. Modifikasi dan studi rekayasa jaringan terus dilakukan untuk mendapatkan material ideal dalam pengembangan rekayasa jaringan (Evans *et al.*, 2006; Meinel *et al.*, 2004). Suatu material dapat digunakan sebagai scaffold dalam teknologi rekayasa jaringan namun harus memenuhi beberapa kriteria. Kriteria tersebut diantaranya harus bersifat *biodegradable*, *biocompatible*, mendukung penempelan, pertumbuhan dan diferensiasi sel, serta dapat dibentuk menjadi struktur tertentu seperti bentuk 3 dimensi (3D) berpori (*sponge*) (Correia *et al.*, 2012).

Biocompatible merupakan kondisi dimana material scaffold tidak bersifat toksik bagi sel dan tidak menimbulkan respon imun secara *in vivo*. Scaffold yang bersifat *biodegradable* adalah bahan material yang dapat terdegradasi dan terserap oleh tubuh sehingga dapat digantikan oleh matriks alami (Evans *et al.*, 2006). Hal lain yang perlu diperhatikan dalam menentukan bahan material scaffold untuk rekayasa jaringan tertentu adalah kekerasan, kekuatan, kelenturan dan elastisitas scaffold (Altman *et al.*, 2003). Scaffold berdasarkan sumbernya dapat dibagi menjadi 2 yaitu berbahan dasar alami dan sintesis. Kolagen, fibrin, sutra, alginat, hialuronan dan kitosan merupakan beberapa jenis scaffold alami yang telah digunakan dalam studi rekayasa jaringan. Pengembangan scaffold sintetik yang telah dilaporkan adalah Poly(lactic-co-glycolic acid) (PLGA), Poly (ethylene glycol) (PEG), dan keramik. Material scaffold berbahan dasar alami dan sintetik tersebut telah digunakan dalam studi rekayasa jaringan kartilago (Willerth & Sakiyama-Elber 2008). Scaffold sutera dilaporkan memiliki karakteristik yang baik dalam menunjang rekayasa jaringan kartilago (Wang *et al.*, 2005; Meinel *et al.*, 2004; Hofmann, *et al.*, 2006). Oleh karena itu, pada studi ini dilakukan pengembangan scaffold sutera asal *Bombyx mori* Indonesia yang memiliki ukuran pori 500 μ m. Tujuan dari studi ini adalah untuk mengetahui potensi kombinasi ADSCs dengan nutrisi PRP pada scaffold sutera dalam pengembangan rekayasa jaringan kartilago. Analisis yang

dilakukan diantaranya pengujian biokompatibilitas *scaffold* sutera dan pengukuran kadar GAG sebagai marker dari kondrosit.

MATERIAL DAN METODE

Pembuatan *Scaffold* Sutera

Pembuatan *scaffold* sutera asal ulat sutera (*Bombyx mori*) mengacu pada Wang dkk., (2005) dengan modifikasi. Sutera yang terdegumisasi dilarutkan dalam 8% w/v CaCl_2 /asam format hingga didapatkan konsentrasi akhir 12% w/v. Campuran keduanya dihomogenisasi menggunakan *magnetic stirrer* selama 15 menit, lalu ditambahkan garam (NaCl) ukuran $500\mu\text{m}$ dengan perbandingan 5:1, kemudian dihomogenisasi menggunakan batang pengaduk dan dicetak hingga permukaan rata. *Scaffold* dikering-anginkan selama semalam, kemudian direndam dalam alkohol 70% selama 30 menit. *Scaffold* direndam dalam akuabides selama 3 hari dengan penggantian akuabides hingga *scaffold* bebas garam. Pengukuran pH akuabides akhir dilakukan untuk memastikan pH air mendekati nilai pH akuabides sebelum digunakan untuk merendam *scaffold*. *Scaffold* yang tercetak (diameter 3 cm) kemudian dikeringkan menggunakan tisu beberapa saat dan disimpan dalam *freezer* -80°C selama 30 menit kemudian ditimbang berat *scaffold*. *Scaffold* dipotong dengan ukuran 5 mm x 5 mm dan ditimbang serta kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf dan siap untuk digunakan.

Kultur *Adipose-Derived Stem Cells* (ADSCs)

Jaringan lemak diisolasi secara enzimatis menggunakan enzim H-Remedy yang telah dipatenkan oleh Yayasan Hayandra Peduli (Nomor Paten: IDP000055609). Sebanyak 10% enzim H-Remedy ditambahkan pada sampel jaringan lemak dan diinkubasi pada suhu 37°C , 300 rpm, selama 1 jam. Enzim kemudian dinaktivasi dengan menambahkan medium *Dulbecco's Modified Eagle's* (DMEM) rendah glukosa (1 g/L) mengandung L-glutamin (4 mM) dan disentrifugasi pada kecepatan 600xg selama 5 menit. Supernatan yang terbentuk pada lapisan bagian atas kemudian dibuang, dan disentrifugasi kembali pada kecepatan 600xg selama 10 menit. Pelet sel yang mengandung *adipose-derived stem cells* (ADSCs) dikultur menggunakan medium DMEM yang mengandung 1% *antibiotic-antimycotic* (Gibco, 100X) dan 10% *fetal bovine serum* (FBS) (Gibco) pada suhu 37°C , 5% CO_2 . ADSCs kemudian disubkultur hingga pasase 4 (P4) untuk digunakan pada uji selanjutnya. Penelitian ini telah lulus kaji etik dengan nomor 666/UN6.C.10/PN/2017 oleh Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran, Bandung.

Platelet Rich Plasma (PRP)

Platelet rich plasma (PRP) asal donor manusia diperoleh dari Palang Merah Indonesia (PMI), DKI Jakarta dengan melampirkan proposal dan surat lulus kaji etik dari FK UNPAD. Bahan PRP digunakan sebagai substitusi FBS.

Perlakuan ADSCs

ADSCs dikultur pada *scaffold* sutera yang memiliki ukuran pori $500\mu\text{m}$ dibagi menjadi 4 kelompok berdasarkan konsentrasi serum. Sebanyak 1×10^5 ADSCs pasase 4 dikultur pada *scaffold* sutera dengan berbagai medium yaitu DMEM mengandung 10% FBS, 5% PRP, 10% PRP dan 20% PRP.

a. Biokompatibilitas *Scaffold* Sutera

Pengujian biokompatibilitas *scaffold* sutera dilakukan pada hari ke-1, 3, 5, dan 7. Pada setiap hari pengamatan, medium sel setiap kelompok dibuang dan dibilas dengan *Hank's Balanced Salt Solution* (HBSS, Gibco). Selanjutnya, sel ditambahkan $100\mu\text{l}$ DMEM (Gibco) dan $10\mu\text{l}$ reagen 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide (MTT) (Sigma-Aldrich) ke dalam 96well-plate. Sel kemudian diinkubasi selama 4 jam. Larutan dalam well dibuang lalu ditambahkan $100\mu\text{l}$ DMSO dan diinkubasi selama 10 menit di dalam inkubator (Thermo Fisher Scientific). Larutan dalam well kemudian dipindahkan ke dalam 96

well-plate baru kemudian diamati absorbansinya menggunakan *microplate reader* (Biorad iMark) dengan panjang gelombang 595 nm.

b. Uji Glikosaminoglikan (GAG)

Uji ini dilakukan untuk mengukur ²³ kosaminoglikan dari ADSCs yang mengalami diferensiasi menjadi kondrosit. Pengamatan dilakukan pada hari ke-1, 3, 5, 7, 14, dan 21. Sel pada hari pengamatan difiksasi menggunakan paraformaldehid 4% selama 15 menit kemudian paraformaldehid 4% dibuang dan ditambahkan 100 μ l alcian blue 1% dalam 3% asam asetat selama 30 menit. Alcian blue kemudian dibuang dan dicuci menggunakan 3% asam asetat selama 2 menit dengan pengulangan sebanyak 3 kali. De-ion ditambahkan dan diinkubasi selama 2 menit. Sel yang telah dicuci kemudian dilarutkan dalam 1% sodium dodecyl sulfate (SDS) sebanyak 100 μ l dan diinkubasi menggunakan shaker kecepatan 200rpm selama 30 menit. Pembacaan absorbansi pada gelombang 595 nm menggunakan *microplate reader*.

1

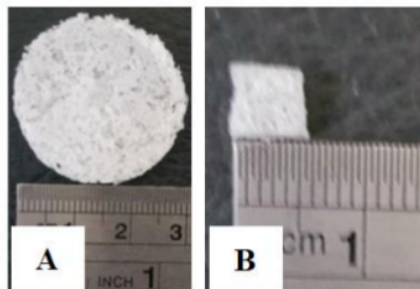
Analisis Statistik

Data yang didapat ditampilkan dalam bentuk gambar dan grafik (dinyatakan dalam rerata $\pm$ standar deviasi(SD)). Analisis statistik dimulai dengan uji normalitas dan homogenitas. Analisis perbedaan menggunakan uji statistik parametrik *analysis of variance* (ANOVA).

HASIL

Scaffold Sutera

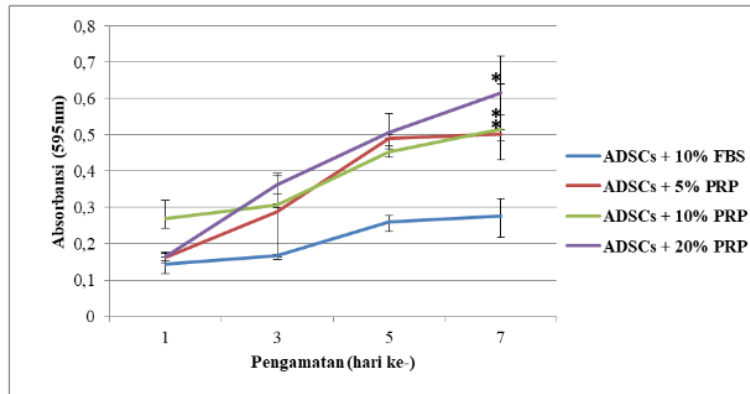
Scaffold sutera asal *Bombyx mori* yang terbentuk berdiameter 3 cm dengan ketebalan 1 mm (Gambar 1A). Scaffold sutera yang digunakan untuk pengujian biokompatibilitas dan kadar GAG ADSCs dalam medium mengandung PRP berukuran 5 x 5 mm (Gambar 1B). Scaffold sutera yang dibuat memiliki ukuran pori sebesar $\pm 500\mu$ m.



Gambar 1. Scaffold sutera ukuran pori 500 μ m; diameter scaffold awal produksi adalah 3 cm (A); scaffold dipotong menjadi ukuran 5 mm x 5 mm (B)

Biokompabilitas dan Pertumbuhan ADSCs

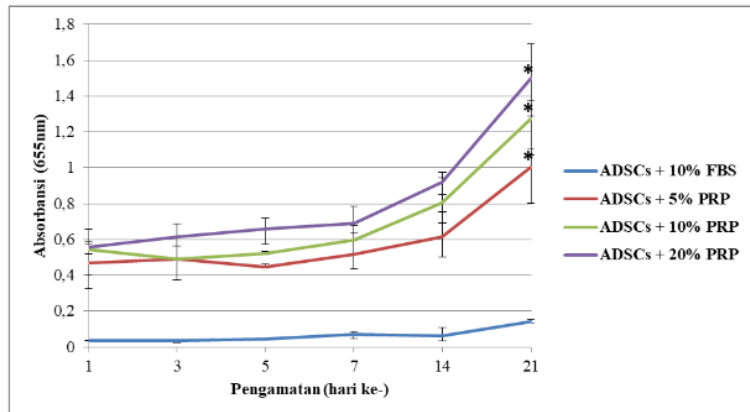
ADSCs yang dikultur pada medium mengandung FBS dan berbagai konsentrasi PRP cenderung mengalami peningkatan absorbansi hingga hari terakhir pengamatan yaitu hari ke-7 (Gambar 2). Hal ini menunjukkan bahwa scaffold sutera bersifat tidak toksik bagi sel dan mendukung pertumbuhannya. Laju proliferasi ADSCs tertinggi adalah ADSCs kelompok 20% PRP kemudian 10% PRP, 5% PRP dan 10% FBS. Berdasarkan hari ke-7 pengamatan sel, terdapat hubungan antara tingginya konsentrasi PRP terhadap laju proliferasi ADSCs (Gambar 2). Pada hari ke-7, kelompok ADSCs yang dikultur pada medium mengandung 20% PRP meningkat 3,7x lipat, kemudian kelompok 5% PRP sebesar 3,1x lipat, 10% PRP dan 10% FBS sebesar 1,9x lipat dan 1,9x lipat dibandingkan pengamatan hari ke-1. Hasil ini menunjukkan bahwa scaffold sutera tidak bersifat toksik dan baik bagi pertumbuhan ADSCs.



Gambar 3. Biokompatibilitas dan pertumbuhan ADSCs terhadap *scaffold* sutera pada medium mengandung FBS dan berbagai konsentrasi PRP; Pertumbuhan ADSCs pada medium PRP (5%, 10%, dan 20%) pengamatan hari ke-7 lebih tinggi secara signifikan dibandingkan kontrol (* $p < 0,05$)

Kadar Glikosaminoglikan (GAG)

Kadar GAG pada ADSCs yang dikultur menggunakan medium yang mengandung PRP (5%, 10% dan 20%) lebih tinggi dibandingkan medium yang mengandung 10% FBS. Kelompok PRP cenderung mengalami peningkatan kadar GAG selama hari pengamatan, sedangkan kelompok FBS cenderung stabil pada kadar yang rendah hingga hari ke-21 pengamatan. Semakin tinggi konsentrasi PRP maka semakin tinggi kadar GAG yang terdeteksi. Oleh karena itu, pada hari ke-21 kelompok ADSCs yang dikultur menggunakan 20% PRP terdeteksi memiliki kadar GAG tertinggi kemudian diikuti oleh kelompok 10% PRP, dan 5% PRP. Kadar absorbansi GAG kelompok PRP pada hari ke-21 lebih tinggi secara signifikan dibandingkan kelompok kontrol (Gambar 3).



Gambar 3. Kadar glikosaminoglikan ADSCs yang dikultur pada *scaffold* sutera menggunakan medium mengandung 10% FBS (kontrol), 5% PRP, 10% PRP dan 20% PRP; Kelompok PRP (5%, 10%, dan 20%) kadar GAG lebih tinggi secara signifikan dibandingkan kontrol (* $p < 0,05$)

PEMBAHASAN

ADSCs secara alami untuk bertahan hidup akan memanfaatkan beberapa protein yang terkandung dalam medium maupun protein yang disekresikan oleh sel secara autokrin. Protein yang berperan penting dalam faktor pertumbuhan untuk pertumbuhan sel adalah *fibroblast growth factor* (FGF) (Gentile 2012; Wang dkk., 2006). Selain FGF, ada beberapa faktor pertumbuhan lainnya yang berperan dalam stimulasi ekspresi gen-gen yang berperan dalam proses pembelahan sel. PRP

dilaporkan mengandung beberapa faktor pertumbuhan yaitu FGF, *platelet-derived growth factor* (PDGF), *vascular endothelial growth factor* (VEGF), *transforming growth factor beta* (TGF- β), dan *macrophage migration inhibitory factor* (MIF) (Kang *et al.*, 2005, Palumbo *et al.*, 2014, Atashi *et al.*, 2014).

Ikatan PDGF, FGF dan MIF dengan reseptornya masing-masing menstimulasi persinyalan AKT, namun molekul VEGF yang disekresikan oleh ADSCs maupun yang terkandung dalam medium tidak berinteraksi dengan reseptor VEGF. Hal ini dikarenakan ADSCs tidak mengekspresikan reseptor VEGF. Akan tetapi, VEGF akan berinteraksi dengan reseptor PDGF untuk menginisiasi pembelahan sel melalui jalur AKT (Atashi *et al.*, 2014). Ikatan molekul lain seperti TGF- β dan reseptornya menginisiasi jalur pensinyalan Smad2. Protein Smad2 akan membentuk heterodimer dengan Smad3 yang memicu inisiasi pertumbuhan ADSCs di nukleus. Aktivasi jalur AKT/Smad2 akan meningkatkan pertumbuhan ADSCs sehingga ekspresi protein-protein terkait siklus sel seperti protein D1 siklin menjadi lebih tinggi (Atashi *et al.*, 2015).

Laju proliferasi ADSCs kelompok PRP lebih tinggi dari FBS diduga disebabkan oleh tingginya konsentrasi MIF dan TGF- β pada medium PRP dibandingkan dengan FBS. Meskipun konsentrasi MIF pada PRP lebih tinggi dari FBS, namun hal tersebut tidak merubah ekspresi endogenous ADSCs dalam mensekresikan MIF. Oleh karena itu, ADSCs yang dikultur menggunakan PRP dilaporkan lebih banyak mengaktivasi jalur AKT dan Smad2 daripada ADSCs yang dikultur menggunakan medium mengandung FBS (Atashi *et al.*, 2015). Produk reaksi tersebut memicu protein D1 siklin yang diekspresikan lebih banyak sehingga laju proliferasi ADSCs PRP lebih tinggi daripada FBS. Pada studi ini, tingginya pertumbuhan ADSCs sejalan dengan tingginya kadar GAG pada kelompok PRP yang menunjukkan adanya pergeseran sifat kepuncaan sel menjadi kondrosit. Potensi PRP dalam mendukung pertumbuhan dan diferensiasi ADSCs menjadi kondrosit secara *in vitro* juga dilaporkan oleh Shen *et al.*, (2015).

Pada prinsipnya, *alcian blue* merupakan zat yang akan mewarnai polisakarida yang bersifat asam seperti GAG (Frazier *et al.*, 2008; Whiteman, 1973). Komponen GAG berfungsi memediasi interaksi sel dengan ligan ekstraselular dan molekul adesi lainnya. GAG juga dilaporkan mampu menciptakan lingkungan mikro spesifik bagi sel untuk membentuk pertahanan fisik atau biokimia. Hal ini menyebabkan terbentuknya pertahanan selektif berdasarkan ukuran molekul (Gasimli *et al.*, 2014). ADSCs yang dikultur pada medium yang mengandung PRP tidak hanya meningkatkan kemampuan pertumbuhan sel, namun juga produksi protein GAG. Hal tersebut ditunjukkan pada Gambar 4, yaitu ADSCs kelompok perlakuan PRP (5%, 10%, dan 20%) secara stabil mengalami peningkatan hingga hari ke-21. Nilai persentase tersebut dapat dinyatakan sebagai bentuk adanya deposit GAG oleh sel (Trujillo & Popat, 2014).

Kemampuan PRP dalam meningkatkan pertumbuhan dan diferensiasi ADSCs menjadi kondrosit juga dilaporkan oleh Van Pham *et al.*, (2013). Medium yang mengandung PRP mendukung kondrogenesis ADSCs yang ditandai dengan meningkatnya ekspresi kolagen tipe 2, Sox9, dan agrekan sebagai marker kondrosit. Pengaruh PRP pada diferensiasi ADSCs menjadi kondrosit dipelajari secara *in vitro* dengan variasi konsentrasi PRP 10%, 15% dan 20%. Hasilnya menunjukkan adanya potensi PRP sebagai induktor kondrogenesis ADSCs. Studi lanjutan untuk mengetahui kemampuan ADSCs dalam menyembuhkan jaringan kartilago yang rusak secara *in vivo* diamati menggunakan hewan model tikus dengan melakukan kombinasi ADSCs-PRP. Hasilnya menunjukkan bahwa kombinasi ADSCs-PRP memberikan pemulihan jaringan kartilago pada hewan model tikus yang lebih baik dibandingkan kontrol (Van Pham *et al.*, 2013). Pada studi ini, untuk kelompok ADSCs kontrol menggunakan medium FBS juga terdeteksi adanya GAG namun dengan absorbansi yang sangat rendah.

Berdasarkan studi pendahuluan dilaporkan bahwa GAG juga terdapat pada sel punca manusia. Berdasarkan jenis GAG yang ada pada sel punca manusia, GAG membentuk lingkungan mikro sendiri bagi sel untuk menjaga laju proliferasi sel. Akan tetapi, kondisi ini tidak dapat dipertahankan sel saudara ketika sel mengalami pembelahan. Sel punca yang membelah akan ditranslokasikan keluar dari kondisi mikro yang dibuat oleh GAG sehingga sel tersebut tidak terproteksi dan akan terpapar oleh protein yang ada disekitarnya (Gasimli *et al.*, 2014; Soares *et al.*,

2017). Pada kondisi ini, sel punca akan membelah atau berdiferensiasi sangat dipengaruhi oleh kondisi lingkungan mikro sekitar. Selain itu, GAG yang terdapat pada sel punca dalam jumlah terbatas merupakan GAG yang miskin akan sulfat sehingga tidak terdeteksi (sangat rendah) oleh *alcian blue*. Sebaliknya, kondrosit memiliki banyak GAG yang kaya akan variasi gugus sulfat.

Beberapa jenis GAG yang terdapat pada ekstraselular matriks kondrosit diantaranya kondroitin sulfat, keratin sulfat dan dermatan sulfat. GAG tersebut memiliki peran sebagai penjaga kestabilan kondisi osmosis untuk mencegah sel mengalami pembengkakan. Peran lainnya yaitu menghubungkan interaksi sel dan ekstraselular matriks. Komponen melimpah lainnya yang penting dalam jaringan kartilago adalah agrekan. Agrekan diikat oleh keratin sulfat dan kondroitin sulfat sehingga agrekan juga umumnya digunakan sebagai marker kartilago (Soares *et al.*, 2017). Berdasarkan hasil studi ini menunjukkan bahwa PRP memiliki potensi dalam menginduksi ADSCs dalam rekayasa jaringan kartilago menggunakan *scaffold* sutera ukuran 500 μ m.

KESIMPULAN DAN SARAN

Platelet-rich plasmapada konsentrasi medium 5%, 10%, dan 20% memiliki potensi sebagai induktor bagi ADSCs menjadi kondrosit yang dikultur pada *scaffold* sutera asal *Bombyx mori* Indonesia. Diperlukan konfirmasi ulang melalui studi lanjutan dengan melakukan pengujian ekspresi gen pada kolagen tipe 2 dan agrekan sebagai protein penanda spesifik kondrosit lainnya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terimakasih pada Lembaga Pengelola Dana Pendidikan (LPDP) Kementerian Keuangan Republik Indonesia yang telah mendanai penelitian ini melalui pemberian Beasiswa Tesis, sesuai dengan Nota Perjanjian nomor: PRJ-1332 /LPDP.3/2016.

REFERENSI

- Altman, G.H., Diaz, F., Jakuba, C., Calabro, T., Horan, R.L., Chen, J., Lu, H., Richmond, J., Kaplan, D.L. (2003). Silk-based biomaterials. *Biomaterials*, 24(3), 401-416.
- Atashi, F., Jaconi, M.E., Pittet-Cuenod, B., Modarressi, A. (2014). Autologous Platelet-Rich Plasma: A Biological Supplement to Enhance Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cell Expansion. *Tissue Engineering Part C Methods*, 21(3), 253-262.
- Atashi, F., Serre-Beinier, V., Nayernia, Z., Pittet-Cuénod, B., Modarressi, A. (2015). Platelet Rich Plasma Promotes Proliferation of Adipose Derived Mesenchymal Stem Cells via Activation of AKT and Smad2 Signaling Pathways. *Journal of Stem Cell Research & Therapy*, 5(8), 1-10.
- Blande, I., Bassaneze, V., Lavini-Ramos, C., Fae, K., Kalil, J., Miyakawa, A., Schetter, I., Krieger, J. (2009). Adipose tissue mesenchymal stem cell expansion in animal serum-free medium supplemented with autologous human platelet lysate. *Transfusion*, 49(12), 2680-2685.
- Correia, C., Bhumiratana, S., Yan, L.P., Oliveira, A.L., Gimble, J.M., Rockwood, D., Kaplan, D.L., Sousa, R.A., Reis, R.L., Vunjak-Novakovic, G. (2012). Development of silk-based scaffolds for tissue engineering of bone from human adipose-derived stem cells. *Acta biomaterialia*, 8(7), 2483-2492.
- Dhurat, R., Suresh, M.S. (2014). Principles and methods of preparation of platelet-rich plasma: a review and author's perspective. *Journal of cutaneous and aesthetic surgery*, 7(4), 189-197.
- Evans, N.D., Gentleman, E., Polak, J.M. (2006). Scaffolds for stem cells. *Materials Today*, 9(12), 26-33.
- Frazier, S.B., Roodhouse, K.A., Hourcade, D.E. Zhang, L. (2008). The quantification of glycosaminoglycans: a comparison of HPLC, carbazole, and alcian blue methods. *Open glycoscience*, 1(1), 31-39.
- Gasimli, L., Hickey, A.M., Yang, B., Li, G., dela Rosa, M., Nairn, A.V., Kulik, M.J., Dordick, J.S., Moremen, K.W., Dalton, S., Linhardt, R.J. (2014). Changes in glycosaminoglycan

- structure on differentiation of human embryonic stem cells towards mesoderm and endoderm lineages. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)- General Subjects*, 1840(6), 1993-2003.
- 2 Gentile, P. (2012). Concise Review: Adipose-Derived Stromal Vascular Fraction Cells and Platelet-Rich Plasma: Basic and Clinical Implications for Tissue Engineering Therapies in Regenerative Surgery. *Stem cells translational medicine*, 1(3), 230-236.
- 13 Hofmann, S., Knecht, S., Langer, R., Kaplan, D.L., Vunjak-Novakovic, G., Merkle, H.P. and Meinel, L. (2006). Cartilage-like tissue engineering using silk scaffolds and mesenchymal stem cells. *Tissue engineering*, 12(10), 2729-2738.
- 8 Huang, S.J., Fu, R.H., Shyu, W.C., Liu, S.P., Jong, G.P., Chiu, Y.W., Wu, H.S., Tsou, Y.A., Cheng, C.W., Lin, S.Z. (2013). Adipose-derived stem cells: isolation, characterization, and differentiation potential. *Cell transplantation*, 22(4), 701-709.
- 2 Kang, Y.J., Jeon, E.S., Song, H.Y. (2005). Role of c-Jun N-terminal kinase in the PDGF-induced proliferation and migration of human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells. *Journal of cellular biochemistry*, 95(6), 135-145.
- Kocaoemer, A., Kern, S., Klüter, H., Bieback, K. (2007). Human AB serum and thrombin-activated platelet-rich plasma are suitable alternatives to fetal calf serum for the expansion of mesenchymal stem cells from adipose tissue. *Stem cells*, 25(5), 1270-1278.
- 11 Meinel, L., Hofmann, S., Karageorgiou, V., Zichner, L., Langer, R., Kaplan, D. and Vunjak-Novakovic, G. (2004). Engineering cartilage-like tissue using human mesenchymal stem cells and silk protein scaffolds. *Biotechnology and bioengineering*, 88(3), 379-391.
- 12 Palumbo, S., Tsai, T.L., Li, W.J. (2014). Macrophage migration inhibitory factor regulates AKT signaling in hypoxic culture to modulate senescence of human mesenchymal stem cells. *Stem cells and development*, 23(8), 852-865.
- 9 Shahdadfar, A., Frønsdal, K., Haug, T., Reinholt, F.P., Brinckmann, J.E. (2005). In vitro expansion of human mesenchymal stem cells: choice of serum is a determinant of cell proliferation, differentiation, gene expression, and transcriptome stability. *Stem cells*, 23(9), 1357-1366.
- 18 Shen, J., Gao, Q., Zhang, Y., He, Y. (2015). Autologous platelet-rich plasma promotes proliferation and chondrogenic differentiation of adipose-derived stem cells. *Molecular medicine reports*, 11(2), 1298-1303.
- 17 Soares da Costa, D., Reis, R.L., Pashkuleva, I. (2017). Sulfation of glycosaminoglycans and its implications in human health and disorders. *Annual review of biomedical engineering*, 19(1), 1-26.
- 19 Trujillo, N.A., Popat, K.C. (2014). Increased adipogenic and decreased chondrogenic differentiation of adipose derived stem cells on nanowire surfaces. *Materials*, 7(4), 2605-2630.
- 3 Van Pham, P., Bui, K.H., Ngo, D.Q., Vu, N.B., Truong, N.H., Phan, N.L., Le, D.M., Duong, T.D., Nguyen, T.D., Le, V.T., Phan, N.K. (2013). Activated platelet-rich plasma improves adipose-derived stem cell transplantation efficiency in injured articular cartilage. *Stem cell research & therapy*, 4(91), 1-11.
- 4 Wang, Y., Kim, H.J., Vunjak-Novakovic, G., Kaplan, D.L. (2006). Stem cell-based tissue engineering with silk biomaterials. *Biomaterials*, 27(36), 6064-6082.
- Wang, Y., Kim, U.J., Blasioli, D.J., Kim, H.J. and Kaplan, D.L. (2005). In vitro cartilage tissue engineering with 3D porous aqueous-derived silk scaffolds and mesenchymal stem cells. *Biomaterials*, 26(34), 7082-7094.
- 7 Whiteman, P. (1973). The quantitative measurement of alcian blue-glycosaminoglycan complexes. *Biochemical Journal*, 131(2), 343-350.
- 22 Willerth, S.M., Sakiyama-Elbert, S.E. (2008). Combining stem cells and biomaterial scaffolds for constructing tissues and cell delivery. *StemJournal*, 1(1), 1-25.
- Zuk, P.A. (2010). The Adipose-derived Stem Cell: Looking Back and Looking Ahead. *Molecular biology of the cell*, 21(11), 1783-1787.

ORIGINALITY REPORT

30%

SIMILARITY INDEX

24%

INTERNET SOURCES

21%

PUBLICATIONS

27%

STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1

Submitted to Universitas Sebelas Maret

Student Paper

6%

2

www.journal.uinjkt.ac.id

Internet Source

4%

3

acikerisim.aku.edu.tr

Internet Source

2%

4

Submitted to University of Queensland

Student Paper

1%

5

skemman.is

Internet Source

1%

6

Submitted to Cardiff University

Student Paper

1%

7

hdl.handle.net

Internet Source

1%

8

Submitted to Canakkale Onsekiz Mart University

Student Paper

1%

9

studentsrepo.um.edu.my

Internet Source

1%

10

Submitted to Napier University

Student Paper

1 %

11

Submitted to SUNY, Binghamton

Student Paper

1 %

12

Xiaolin Liu, Xin Li, Wenwu Zhu, Yuelin Zhang, Yimei Hong, Xiaoting Liang, Baohan Fan, Hongyan Zhao, Haiwei He, Fengxiang Zhang. "Exosomes from mesenchymal stem cells overexpressing MIF enhance myocardial repair", Journal of Cellular Physiology, 2020

Publication

1 %

13

etd.lib.metu.edu.tr

Internet Source

1 %

14

Imam Rosadi, Karina Karina, Iis Rosliana, Siti Sobariah, Irsyah Afini, Tias Widyastuti, 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, 2019

Publication

1 %

15

Submitted to University of Lincoln

Student Paper

1 %

16

link.springer.com

Internet Source

1 %

Submitted to University of Salford

17

Student Paper

1%

18

tessera.spandidos-publications.com

Internet Source

1%

19

Rana Moradian Tehrani, Hamed Mirzaei, Javad Verdi, Amirhossein Sahebkar et al.

"Chondrogenic differentiation of human scalp adipose-derived stem cells in Polycaprolactone scaffold and using Freeze Thaw Freeze method", Journal of Cellular Physiology, 2018

Publication

1%

20

Submitted to Florida Community College at Jacksonville

Student Paper

1%

21

stemcellres.biomedcentral.com

Internet Source

1%

22

www.e-biotechnologia.pl

Internet Source

1%

23

es.scribd.com

Internet Source

1%

Exclude quotes

Off

Exclude matches

< 1%

Exclude bibliography

On