

Eksplorasi metode kultur tiga-dimensi sel punca mesenkim: suatu kajian pustaka

Exploration of three-dimensional mesenchymal stem cells culture: a literature review

Widia Meliawati^{1,*}, Ngurah Intan Wiratmini¹, Elrade Rofaani²

¹⁾ Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana, Bukit Jimbaran, Badung, Indonesia, 80361

²⁾ Pusat Riset Vaksin dan Obat, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) Jalan Raya Puspiptek 60, KST BJ Habibie, LAPTLAB 611, Tangerang Selatan, Banten, Indonesia, 15314

*Email: iwidii12@gmail.com

Diterima
25 November 2024

Disetujui
7 Mei 2025

INTISARI

Kultur tiga dimensi sel punca mesenkim mempunyai lingkungan *physicochemical* yang relevan secara *in vivo*. Metode ini mampu mengatasi keterbatasan pada kultur sel 2D dalam meniru morfologi dan fisiologi sel. Penelitian kajian pustaka ini mengeksplorasi berbagai metode kultur 3D, seperti *scaffolds* berbasis biomaterial, *scaffolds* berbasis polimer sintesis, metode tanpa berbasis *scaffolds*, dan kultur berbasis hidrogel yang dianalisa untuk mengevaluasi keunggulan, kekurangan, dan potensinya. Hasil kajian menunjukkan bahwa berbagai macam kultur tiga dimensi menghasilkan *spheroid* dengan potensi yang berbeda, namun mampu mendukung interaksi antar sel dan interaksi sel-matriks ekstraseluler, meningkatkan viabilitas, dan derivat metabolik sel punca mesenkim untuk digunakan dalam metode pengobatan terkini. Kultur tiga dimensi juga memberikan lingkungan yang stabil untuk pemeliharaan sel karena distribusi oksigen dan nutrisi yang tersebar secara merata sehingga tidak menyebabkan manfaat dari sel punca mesenkim hilang. Dapat disimpulkan bahwa metode kultur tiga dimensi pada sel punca mesenkim mampu mengatasi keterbatasan pada kultur secara dua dimensi karena memiliki lingkungan fisiologis yang mirip jaringan asli. Teknik kultur tiga dimensi dapat meningkatkan interaksi antar sel dan sel dengan matriks ekstraseluler untuk meningkatkan viabilitas, proliferasi, diferensiasi, dan derivat metabolik pada sel punca mesenkim.

Kata kunci: kultur tiga dimensi, sel punca mesenkim, spheroid

ABSTRACT

Three-dimensional culture system provides a relevant physicochemical environment *in vivo*. It overcomes the limitations of traditional 2D cell culture in terms of mimicking cells morphology and physiology. In this literature review, various 3D culture methods, such as biomaterial-based scaffolds, synthetic polymer-based scaffolds, scaffold-free methods, and hydrogel scaffolds-based culture were analyzed to evaluate their advantages, disadvantages, and potentials. The results showed that various three-dimensional cultures exhibit different potentials, but are generally capable of supporting cell-to-cell and cell-matrix extracellular interactions, enhancing the viability, and biological functions of mesenchymal stem cells for utilization in many modern medicine. Three-dimensional culture also provides a stable environment for cell maintenance due to the even distribution of oxygen and nutrients that do not cause the properties of mesenchymal stem cells to be lost. It can be concluded that the three-dimensional culture method of mesenchymal stem cells is able to overcome the limitations of two-dimensional culture because it has a physiological environment similar to native tissues so it can establish interactions between cells and cells with extracellular matrix to increase the viability, proliferation, differentiation, and metabolic derivative of mesenchymal stem cells.

Keywords: mesenchymal stem cell, spheroid, three-dimensional cell culture

PENDAHULUAN

Sel punca adalah sel yang dapat memperbaharui diri sendiri dan berdiferensiasi menjadi tipe sel fungsional yang lebih spesifik. Kemampuannya dalam mempertahankan sel di jaringan berbeda membuat sel punca didefinisikan sebagai sel induk. Berdasarkan sumber asalnya sel punca terbagi menjadi dua, yaitu sel punca embrionik dan sel punca yang berasal dari jaringan dewasa. Sel punca embrionik merupakan turunan dari *Inner Cell Mass* (ICM). ICM diisolasi dari embrio pada tahap blastosis dalam pembelahan sel dan dikultur secara *in vitro* untuk memperoleh koloni sel punca. Sel punca dewasa merupakan sel punca yang berasal atau diisolasi dari jaringan dewasa contohnya, jaringan adiposa, jaringan sumsum tulang belakang, dan jaringan tali pusat (Zhang et al., 2014; Li et al., 2015; Dubey et al., 2018). Jaringan dewasa menghasilkan sel punca dewasa yang mampu menjaga keseimbangan dan kestabilan pada jaringan, serta menghasilkan fungsi diferensiasi yang lebih terbatas dibandingkan dengan sel punca embrionik (Sobhani et al., 2017; Kim et al., 2023).

Sel punca mesenkim berasal dari berbagai macam jaringan dewasa, contohnya adalah jaringan adiposa, tali pusat, dan sumsum tulang (Zhang et al., 2014; Prats et al., 2020). Keunggulan pada sel punca mesenkim mampu meminimalkan respon sistem imun tubuh sehingga aman digunakan sebagai metode pengobatan terkini. Inovasi dalam metode pengobatan terkini oleh sel punca mesenkim dilakukan untuk mengatasi perbaikan jaringan yang rusak, menjaga keseimbangan metabolisme sel dalam tubuh, dan membantu tubuh menyesuaikan respon imun agar tetap stabil. Sekret yang dihasilkan oleh sel punca mesenkim berpotensi untuk digunakan dalam metode pengobatan terkini. *Growth factors*, sitokin, dan kemokin merupakan hasil sekresi sel punca mesenkim yang berfungsi sebagai antiinflamasi dan angiogenesis. Sekret tersebut berfungsi dalam perbaikan jaringan dan terapi berbasis sel untuk mengobati penyakit hati, diabetes, luka pada paru-paru, *stroke*, dan *spinal cord injury* (Li et al., 2015; Pawitan et al., 2017; Whidiastuti et al., 2020; Ibrahim et al., 2022). Penyakit degeneratif seperti penyakit parkinson, alzheimer, osteoarthritis, autoimun, diabetes melitus tipe-1, psoriasis, dermatitis atopik, dan asma juga dapat diatasi oleh sel punca mesenkim karena sel punca mesenkim memiliki sifat immunosupresi, antioksidan, dan mampu merangsang proliferasi sel (Kim et al., 2013; Sriramulu et al., 2018; Muzes & Sipos, 2022).

Metode kultur dua dimensi sel punca mesenkim merupakan metode yang umum digunakan dalam pengembangan teknik pengobatan, namun teknik tersebut menyebabkan manfaat yang ada pada sel punca mesenkim menjadi berkurang bahkan hilang (Rogers et al., 2020; Ylostalo et al., 2020; Sharma et al., 2021). Peshkova et al. (2016) menyatakan bahwa keterbatasan pertumbuhan sel pada kultur dua dimensi menghasilkan sitokin lebih rendah dibandingkan dengan teknik kultur tiga dimensi pada sel punca mesenkim-tali pusat. Kultur dua dimensi pada sel punca mesenkim juga menyebabkan distribusi oksigen dan aliran nutrisi yang terbatas akibat sebaran sel secara selapis sehingga mempengaruhi hasil derivat metabolik yang tidak maksimal (Kapałczyńska et al., 2016). Hal ini menunjukkan bahwa kultur dua dimensi mempunyai kekurangan dalam menunjukkan model yang lebih realistis secara *in vivo* pada sel, maka dari itu dikembangkan penelitian menggunakan kultur tiga dimensi. Kultur tiga dimensi dapat menghasilkan morfologi sel berbentuk *spheroid* sehingga dapat meningkatkan interaksi antar sel dan sel dengan matriks ekstraseluler (Ryu et al., 2019; Bialkowska et al., 2020; Ayvaz et al., 2021; Scalise et al., 2021; di-Caprio et al., 2023). Penelitian kajian pustaka ini

dilakukan untuk mengeksplorasi berbagai metode kultur 3D, seperti *scaffolds* berbasis biomaterial, *scaffolds* berbasis polimer sintesis, metode tanpa berbasis *scaffolds*, dan kultur berbasis hidrogel yang dianalisa untuk mengevaluasi keunggulan, kekurangan, dan potensinya.

PEMBAHASAN

Isolasi Dan Karakterisasi Sel Punca Mesenkim

Sel punca mesenkim berasal dari lapisan mesodermal yang bersifat multipoten. Isolasi dan perbanyakan sel dapat dilakukan secara *in vitro* dari berbagai organ, yaitu, pulpa gigi, otot, tali pusat, jaringan adiposa, cairan amnion, dan sumsum tulang (Zhang et al., 2014; Forghani et al., 2020; Hernández & García, 2020; Ma et al., 2020; Prats et al., 2020; Gupta et al., 2021; Han et al., 2022; Shi and Zhou., 2023). Keaslian dan sifat induk dari sel punca mesenkim dapat dikarakterisasi menggunakan flowsitometer dan diferensiasi trilineal (Silva et al. 2015). Penanda protein pada sel punca mesenkim dianalisa menggunakan Human MSC Analysis Kit (BD Biosciences, USA) dengan mengikuti panduan penggunaan alat flowsitometer (Nurhayati et al., 2018). Penanda protein yang diekspresikan oleh sel punca mesenkim disebut dengan *cluster of differentiation* (CD). Penanda protein yang diekspresikan, diantaranya adalah CD73 yang berperan dalam metabolisme purin, CD90 berperan dalam adhesi sel pada tempat kultur dan interaksi antar sel, CD105 berperan dalam proses angiogenesis dan menjadi penanda umum bagi sel punca mesenkim. Keaslian sel punca mesenkim ditunjukkan oleh protein CD29 sehingga dapat dibedakan dengan jenis sel hematopoietik. Ekspresi protein CD45, CD34, CD14, CD31, CD19, dan *human leukocyte antigen-DR* (HLA-DR) tidak terdeteksi pada sel punca mesenkim sehingga dapat dipastikan keaslian dari sel punca mesenkim (Andrzejewska et al., 2019).

Respon Imun dan Derivat Metabolik yang Dihasilkan Sel Punca Mesenkim

Song et al. (2020) menyatakan bahwa sifat imunomodulator yang terdapat pada sel punca mesenkim akan dikeluarkan untuk menekan (imunosupresi) atau merangsang (imunostimulasi) sel imun pada tubuh. Aktivitas sel punca mesenkim dalam menekan peradangan atau kerusakan jaringan pada tubuh, yaitu dengan menghambat aktivasi sel T, sel B, dan sel NK, sedangkan untuk merangsang regenerasi jaringan, sel punca mesenkim akan mengubah sel imun M1, Microglia-M2, dan Treg sebagai zat antiinflamasi. Kondisi ini dikeluarkan tergantung kebutuhan sel punca mesenkim dalam menghadapi berbagai kondisi khusus, contohnya pada perbaikan luka (Isakson et al., 2015). Sebagai imunomodulator dalam menekan dan merangsang sel imun pada tubuh, sel punca mesenkim juga berperan dalam mengatur aktivitas sitokin yang merupakan protein pengaturan interaksi antar sel imun untuk perbaikan jaringan sehingga mampu menekan inflamasi (Whidiastuti et al., 2020).

Derivat metabolik sel punca mesenkim disebut dengan sekretom. Sekretom terdiri dari faktor terlarut dan faktor vesikular (González et al., 2020). Faktor terlarut adalah derivat metabolik yang disekresikan oleh sel dan tersebar pada medium ekstraseluler, contohnya adalah *growth factor*: *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF), *Insulin-like Growth Factor-1* (IGF-1), *Epidermal Growth Factor* (EGF), dan *Hepatocyte Growth Factor* (HGF), *Transforming Growth Factor-A* (TGF-A), dan *Platelet-Derived Growth Factor* (PDGF). *Growth factor* memiliki manfaat yang berbeda tergantung jenisnya, contohnya pada *Vascular Endothelial Derived Growth Factor* (VEGF) yang bekerja pada sel endotel vaskular berfungsi untuk meningkatkan pemulihan aliran darah,

pengaturan migrasi sel endotel vaskular, proliferasi, dan berperan dalam pembentukan pembuluh darah (Takeuchi et al., 2019).

Transforming Growth Factor-A (TGF-A) dapat meningkatkan fungsi parakrin sel punca mesenkim dalam penyembuhan jaringan yang rusak. *Epidermal Growth Factor* (EGF) berfungsi sebagai satuan dan pengantar untuk reseptor membran EGF dalam mengaktifkan jalur interaksi sel dalam mempercepat penyembuhan luka. *Platelet-Derived Growth Factor* (PDGF) mampu meningkatkan konsentrasi kolagen untuk perbaikan pada luka dan dapat meningkatkan pembentukan matriks ekstraseluler (Hume et al., 2023). *Insulin-like Growth Factor-1* (IGF-1) merupakan faktor pertumbuhan utama yang terlibat dalam proliferasi berbagai tipe sel, seperti myoblas dan sel epitel. IGF-1 berperan penting dalam merangsang dan penghambatan apoptosis pada sel (Hou et al., 2017). Sekretom mempunyai derivat metabolik yang dikemas oleh membran untuk interaksi eksternal disebut sebagai faktor vesikular pada sel punca mesenkim (Rani et al., 2015). Faktor vesikular terdiri dari eksosom, mikrovesikel, RNA, enzim, dan DNA (Ahangar et al., 2020).

Kultur Tiga Dimensi pada Sel Punca Mesenkim

Kultur tiga dimensi sel punca mesenkim digunakan untuk mengatasi keterbatasan yang ada pada kultur sel dua dimensi yang menggunakan tempat kultur berbahan plastik seperti pada *T-Flask* atau *well plate*. Kultur dua dimensi sel punca mesenkim tumbuh secara selapis dan biasanya digunakan untuk ekspansi sel (Pittenger et al., 2019). Gatazzo et al. (2014) menyatakan bahwa sel punca mesenkim yang menempel pada permukaan tempat kultur secara selapis terjadi karena protein pada matriks-ekstraseluler mengaktifasi interaksi sel dengan molekul integrin. Adhesi sel punca mesenkim pada kultur dua dimensi menyebabkan keterbatasan interaksi antar sel sehingga diperlukan pengembangan teknik kultur pada sel punca mesenkim agar bisa mensekresikan derivat metabolik, diferensiasi sel, dan proliferasi sel dengan maksimal, yaitu dengan menggunakan kultur tiga dimensi (Centeno et al., 2018; Bou-Ghannam et al., 2021). Kultur tiga dimensi dapat dilakukan menggunakan *scaffolds* dan tanpa berbasis *scaffolds* dalam pembentukan *spheroid* (Rofaani et al., 2024). Keuntungan dalam penggunaan teknik kultur tiga dimensi adalah menghasilkan morfologi sel yang berbentuk *spheroid* sehingga mampu merangsang interaksi antar sel, interaksi matriks ekstraseluler dan sel, serta menghasilkan sekret, yaitu sitokin dan protein dalam kadar yang tinggi (Ryu et al., 2019).

Kultur tiga dimensi berbasis *scaffolds* merupakan kultur yang membutuhkan penyangga dengan struktur tiga dimensi sebagai tempat sel melekat dan tumbuh (Huang et al., 2022). Penyangga yang digunakan dapat berupa biomaterial, yaitu polimer, fibrin, titanium, *biometals*, dan *bioceramics*. Polimer yang digunakan pada metode berbasis *scaffolds* berupa polimer sintesis dan polimer alami, contoh polimer sintesis adalah *poly(ϵ -caprolactone)* (PCL), *polylactic acid* (PLA), dan *polyurethane*, sedangkan contoh polimer alami adalah *collagen*, *silk fibroin*, *poly(lactic-co-glycolic acid)* (PLGA), *gelatin methacrylate* (GelMA), *alginate*, dan *chitosan* (Nedjari et al., 2017; McNamara et al., 2017; Xu et al., 2018; Jang et al., 2020; Jin et al., 2022). *Collagen* sangat umum digunakan dalam kultur berbasis *scaffolds* dan dapat digunakan untuk pembentukan vaskular pada diferensiasi menjadi jaringan tulang. Penggunaan material kolagen dicampur menggunakan laminin/fibrin agar oksigen dan nutrisi pada saat kultur dapat tercukupi (Heo et al., 2019). Polimer lain yang dapat digunakan adalah *silk fibroin* yang seringkali dicampurkan dengan *alginate* sehingga mampu menghasilkan kepadatan sel dengan ukuran yang beragam dan

dapat diatur, kultur yang dilakukan dengan material ini dapat digunakan dalam jangka waktu yang panjang sehingga berpotensi untuk enkapsulasi sel secara bersamaan (Patil & Singh, 2019).

Teknik kultur tiga dimensi sel punca mesenkim tanpa berbasis *scaffolds* terbagi menjadi beberapa metode yang dapat digunakan untuk kebutuhan penelitian dan pengobatan. Metode tersebut, diantaranya adalah: *pellet culture*, *liquid overlay*, *hanging drop*, *low attachment*, *microfluidics*, *magnetic levitation*, *spinner culture*, dan *rotating wall vessel*. *Pellet culture* menggunakan gaya sentrifugasi untuk mengumpulkan sel menjadi satu. Metode ini dimanfaatkan untuk menghasilkan diferensiasi kondrosit oleh sel punca mesenkim. Perubahan morfologi sel punca mesenkim dalam bentuk fibroblas akan berubah bentuk menjadi poligonal. Morfologi poligonal yang dihasilkan pada sel punca mesenkim mirip dengan struktur kondrosit sehingga *pellet culture* dimanfaatkan untuk melihat interaksi sel saat kondrogenesis dalam mengetahui potensi perkembangan jaringan tulang rawan oleh sel punca mesenkim. *Liquid overlay* menggunakan tempat kultur yang berlapis *agarose* untuk menghambat adhesi sel. Metode ini membuat sel punca mesenkim tidak menempel ke tempat permukaan kultur sehingga terjadi kontak antar sel yang menyebabkan pembentukan *spheroid* dan dapat merangsang proliferasi sel (Carvalho et al., 2016; Carvalho et al., 2017; Ryu et al., 2019).

Hanging drop menggunakan tekanan permukaan dan gaya gravitasi pada sel yang menyebabkan sel membentuk *spheroid*. Kultur *hanging drop* menghasilkan *spheroid* dengan ukuran yang seragam (Wanigasekara et al., 2023). Bou-Ghannam et al. (2021) menyatakan bahwa kultur sel punca mesenkim menggunakan metode *hanging drop* mampu mengekspresikan *vascular endothelial growth factor* dua kali lebih banyak dibandingkan dengan kultur dua dimensi. Kekurangan dalam menggunakan metode ini adalah waktu kultur yang tidak bisa dilakukan dalam jangka waktu yang panjang dan proses pemeliharaan sel yang sulit terutama saat penggantian medium (Amaral et al., 2017). Metode *low attachment* yang dilakukan oleh Jensen and Teng (2020) menggunakan tempat kultur yang dilapisi bahan polistirena agar sel tidak mudah menempel pada permukaan tempat kulturnya. Hal ini didukung oleh pernyataan Wu et al. (2021) bahwa metode ini bergantung pada bahan yang melapisi permukaan tempat kultur untuk mencegah adhesi sel. Keuntungan dalam menggunakan metode *low attachment* adalah viabilitas sel dan ukuran *spheroid* yang dihasilkan lebih besar, serta mampu menghasilkan jumlah *spheroid* yang banyak dalam waktu yang singkat (Tsai et al., 2019; Wanigasekara et al., 2023). Konsentrasi sel pada metode ini harus disesuaikan dengan luas permukaan tempat kultur agar terdapat interaksi antar sel sehingga sel tidak akan melekat pada permukaan tempat kultur dan mampu membentuk *spheroid* (Foglietta et al., 2020).

Metode kultur tiga dimensi *microfluidics* menggunakan aliran mikrofluida dan bahan permeabel oleh faktor terlarut. Perangkat mikrofluida dirancang agar kultur sel mendapatkan kadar oksigen dan nutrisi yang stabil, sementara pada saat yang sama mampu membuang sisa metabolik pada kultur sel. Metode ini dilakukan agar derivat metabolik dari sel punca mesenkim yang dihasilkan meningkat dan berguna untuk *drug screening*, serta penelitian biomedis (Yong et al., 2017). *Magnetic levitation* menggunakan gaya magnet untuk mengangkat sel, yaitu sel-sel diisi dengan nanopartikel magnetik dan didorong untuk membentuk *spheroid* melalui bidang magnetik eksternal. Keuntungan dalam menggunakan metode ini adalah *spheroid* yang dihasilkan dapat dengan mudah diatur berdasarkan kualitas magnetiknya, selain itu memberikan manfaat untuk

migrasi sel dan pemetaan sel dalam mengamati respon sel punca mesenkim terhadap penyembuhan luka. Metode ini memiliki keterbatasan, yaitu membutuhkan waktu yang lama dan biaya yang relatif mahal (Lewis et al., 2017). Kultur tanpa berbasis *scaffolds* lainnya dapat dilakukan menggunakan alat bioreaktor yang terbagi menjadi dua metode, yaitu metode dengan menggunakan alat *spinner culture* dan metode dengan menggunakan alat *rotating wall vessel*. *Spinner culture* menggunakan gaya memutar dengan pengaduk, sedangkan *rotating wall vessel* menggunakan rotasi melingkar secara konstan. Keuntungan menggunakan kedua metode tersebut adalah dapat menghasilkan distribusi oksigen dan nutrisi yang tersebar secara merata sehingga mampu meningkatkan proliferasi sel dan diferensiasi sel (Tsimbouri et al., 2017).

Kultur tiga dimensi berbasis *scaffolds* dilakukan dengan menggunakan berbagai material, contohnya pada *nanofiber electrospinning*, serta pembentukan *hydrogel scaffolds* dan *synthetic hydrogels* yang memanfaatkan material sintesis dan alami (Langhans, 2018). Pembuatan *scaffolds* menggunakan *nanofiber* pada metode *electrospinning* sel punca mesenkim dilakukan dengan cara menggunakan polimer sintesis ataupun polimer alami yang dilarutkan dan dibentuk menjadi serat berukuran nano dengan mengaplikasikan aliran listrik yang kuat. Larutan polimer dikeluarkan melalui *syringe* sehingga menjadi tetesan dan memanjang, kemudian pemanjangan tetesan dibantu dengan gerakan dorong oleh aliran listrik, dan menyebabkan penguapan larutan sehingga terbentuk serat berukuran nano (Stojanov and Berlec, 2020). Pembentukan *nanofiber* dengan ukuran pori yang dapat diatur digunakan dalam kultur sel punca mesenkim berpotensi untuk digunakan dalam aplikasi biomedis (Islam, et al., 2019).

Metode dalam pembentukan *hydrogel scaffolds* menggunakan material yang alami sehingga bermanfaat dalam adhesi sel dan tidak menyebabkan peradangan ataupun terjadi reaksi penolakan pada tubuh (biokompatibel), larut dalam air, dan meningkatkan interaksi antar sel. Kadar air yang sangat tinggi pada *hydrogel scaffolds* membuat sel punca mesenkim lebih mudah berinteraksi dengan *scaffolds* karena memiliki kelembaban mirip dengan jaringan aslinya. Kelembaban yang terjaga membuat sel punca mesenkim mampu meningkatkan viabilitas sel, proliferasi sel, dan meningkatkan regenerasi pada jaringan luka (Burdick et al., 2016; Ryu et al., 2019; Huang et al., 2022). *Synthetic hydrogels* dibuat dengan menggunakan polimer sintesis seperti *poly(ϵ -caprolactone)* (PCL), *polylactic acid* (PLA), dan *polyurethane*. Metode ini biasanya digunakan untuk merangsang regenerasi pada jaringan tulang karena strukturnya yang kuat dan kaku (Milovac et al., 2014). Biomaterial *poly(ϵ -caprolactone)* banyak digunakan dalam regenerasi tulang rawan dan perbaikan untuk sistem syaraf tepi karena memiliki sifat yang tidak toksik bagi sel sehingga menghasilkan viabilitas yang tinggi (Ruiz et al., 2015; Cao et al., 2021). Sifat elastis dan bentuk serabut pada PCL juga diketahui mampu menghambat sel punca mesenkim untuk menempel pada tempat kultur sehingga sel punca mesenkim dapat menyatu membentuk *spheroid* yang mirip dengan jaringan asli (Bianco et al., 2013). Derivat metabolik yang disekresikan oleh sel punca mesenkim, yaitu *Fibroblast Growth Factor-2* (FGF-2) untuk sistem perbaikan syaraf tepi diketahui terbentuk pada saat sel punca mesenkim dikultur menggunakan PCL (Ruiz et al., 2015).

Polimer sintesis *polylactic-acid* (PLA) sebagai material pembentukan *scaffolds* banyak digunakan dalam kultur jaringan sel. *Polylactic acid* merupakan polimer semi-kristal dengan sifat yang kuat dan elastis (Marei et al., 2016). Modifikasi struktur *polylactic acid* dapat dilakukan agar struktur

scaffolds yang dihasilkan lebih kuat dengan cara menggabungkan *polylactic acid* dengan polimer lain misalnya, PCL atau *hydroxyapatite* (HA) (Marei et al., 216); Bernardo et al., 2022; Sitthisang et al., 2024). *Scaffolds* berbasis *polylactic acid* dan *hydroxyapatite* sangat menguntungkan dalam meningkatkan molekul bioaktif dan meregenerasi jaringan tulang, selain itu struktur *scaffolds* berbasis PLA sangat ideal untuk digunakan dalam pertumbuhan sel (Mondal et al., 2020). *Polyurethane* merupakan material yang fleksibel dan kuat untuk digunakan sebagai *scaffolds* dan bersifat biokompatibel sehingga tidak menimbulkan reaksi toksik atau reaksi imunologis yang berlebihan ketika digunakan dalam tubuh (Pedersen et al., 2022). *Scaffolds* berbasis *polyurethane* berpotensi untuk terapi regeneratif pada penyakit jantung. Berdasarkan hasil penelitian Li et al. (2024) *scaffolds* berbasis *polyurethane* pada kultur sel punca dapat mengurangi fibrosis dan mendorong pembentukan pembuluh darah pada lapisan otot jantung akibat serangan jantung, serta dapat meningkatkan fungsi pada jantung.

SIMPULAN

Teknik kultur tiga dimensi pada sel punca mesenkim mampu mengatasi keterbatasan pada kultur secara dua dimensi karena lingkungan fisiologis mirip jaringan aslinya *in vivo*. Teknik kultur tiga dimensi dapat meningkatkan interaksi antar sel dan sel dengan matriks ekstraseluler sehingga terjadi peningkatan viabilitas, proliferasi, diferensiasi, dan derivat metabolik pada sel punca mesenkim.

KEPUSTAKAAN

- Ahangar P, Mills SJ, Cowin AJ. 2020. Mesenchymal Stem Cell Secretome as an Emerging Cell-Free Alternative for Improving Wound Repair. *Molecular Sciences International Journal* **21(19)**: 1-15.
- Amaral RLF, Miranda M, Marcato PD, Swiech K. 2017. Comparative Analysis of 3D Bladder Tumor Spheroids Obtained by Forced Floating and Hanging Drop Methods for Drug Screening. *Journal of Frontiers Physiology* **8(605)**: 1-15.
- Ayvaz I, Sunay D, Sariyar E, Erdal E, Karagonlar ZF. 2021. Three-Dimensional Cell Culture Models of Hepatocellular Carcinoma — a Review. *Journal of Gastrointestinal Cancer* **52**: 1294-1308.
- Bernardo MP, Silva BCR, Hmouda AEI, De-Toledo MAS, Schalla C, Rutten S, Goetzke R, Mattoso LHC, Zenke M, Sechi A. 2022. PLA/Hydroxyapatite Scaffolds Exhibit In Vitro Immunological Inertness and Promote Robust Osteogenic Differentiation of Human Mesenchymal Stem Cells Without Osteogenic Stimuli. *Scientific Reports* **12(2333)**: 1-15.
- Bialkowska K, Komorowski P, Bryszewska M, Milowska K. 2020. Spheroids as a Type of Three-Dimensional Cell Cultures—Examples of Methods of Preparation and the Most Important Application. *International Journal of Molecular Sciences* **21(6225)**: 1-17.
- Bianco P, Cao X, Frenette PS, Mao JJ, Robey PG, Simmons PJ. 2013. The Meaning, The Sense and The Significance: Translating the Science of Mesenchymal Stem Cells into Medicine. *Nature Medicine* **19(1)**: 35-42.
- Burdick JA, Mauck RL, Gerecht S. 2016. To Serve and Protect: Hydrogels to Improve Stem Cell-Based Therapies. *Cell Stem Cell* **18**: 13-15.
- Cao Y, Cheng P, Sang S, Xiang C, An Y, Wei X, Yan Y. 2021. 3D Printed PCL/GelMA Biphasic Scaffold Boosts Cartilage Regeneration Using Co-Culture of Mesenchymal Stem Cells and Chondrocytes: In Vivo Study. *Materials and Design* **210(110065)**: 1-13.
- Caprio ND, Burdick JA. 2023. Engineered Biomaterials to Guide Spheroid Formation, Function, and Fabrication into 3D Tissue Constructs. *Acta Biomaterialia Journal* **165**: 4-18.
- Carvalho MP, Costa EC, Miguel SP, Correia IJ. 2016. Tumor Spheroid Assembly on Hyaluronic Acid-Based Structures: A review. *Carbohydrate Polymers* **150**: 139-148.
- Carvalho MP, Costa EC, Correia IJ. 2017. Assembly of Breast Cancer Heterotypic Spheroids on Hyaluronic Acid Coated Surfaces. *Biotechnology Progress* **33(5)**: 1346-1357.
- Centeno EGZ, Cimarosti H, Bithell A. 2018. 2D Versus 3D Human Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Cultures for Neurodegenerative Disease Modelling. *Journal of Molecular Neurodegeneration* **13(27)**: 1-15.

- Dubey NK, Mishra VK, Dubey R, Deng Y, Tsai F, Deng W. 2018. Revisiting the Advances in Isolation, Characterization and Secretome of Adipose-Derived Stromal/Stem Cells. *International Journal of Molecular Sciences* **19**(8): 1-23.
- Foglietta F, Canaparo R, Muccioli G, Terreno E, Serpe L. 2020. Methodological Aspects and Pharmacological Applications of Three-Dimensional Cancer Cell Cultures and Organoids. *Life Sciences* **254**(117784): 1-11.
- Forghani A, Koduru SV, Chen C, Leberfinger AN, Ravnic DJ, Cugno C. 2020. Differentiation of Adipose Tissue-Derived CD34⁺/CD31⁻ Cells Into Endothelial Cells In Vitro. *Regen Eng Translational Med.* **6**:101–110.
- Gattazzo F, Uricuolo A, Bonaldo P. 2014. Extracellular matrix: A Dynamic Microenvironment for Stem Cell Niche. *Journal of Biochimica et Biophysica Acta* **1840**: 2506-2519.
- Ghannam SB, Kim K, Grainger DW, Okano T. 2021. 3D Cell Sheet Structure Augments Mesenchymal Stem Cell Cytokine Production. *Journal of Scientific Reports* **11**(8170): 1-11.
- Gupta S, Sharma A, Verma RS. 2021. Mesenchymal stem cells for cardiac regeneration from differentiation to cell delivery. *Stem Cell Rev Rep.* **17**(5): 1666–1694.
- Han Y, Yang J, Fang J, Zhou Y, Candi E, Wang J, Hua D, Shao C, Shi Y. 2022. The Secretion Profile of Mesenchymal Stem Cells and Potential Applications in Treating Human Diseases. *Nature International Journal* **7**(92): 1-19.
- Heo DN, Hospodiuk M, Ozbolat IT. 2019. Synergistic Interplay Between Human MSC And HUVECS In 3D Spheroids Laden in Collagen/Fbrin Hydrogels for Bone Tissue Engineering. *Acta Biomaterial* **95**:348–356.
- Hernández AE, García E. 2021. Mesenchymal Stem Cell Therapy for Alzheimer's Disease. *Stem Cells International* **21**(1): 1-12.
- Huang X, Huang Z, Gao W, He W, Li Y, Crawford R, Zhou Y, Xiao L, Xiao Y. 2022. Current Advances in 3D Dynamic Cell Culture Systems. *Gels International Journal* **8**(289): 1-20.
- Isakson M, Blacam CD, Whelan D, McArdle A, Clover AJP. 2015. Mesenchymal Stem Cells and Cutaneous Wound Healing: Current Evidence and Future Potential. *Stem Cells International* **2015**(831095): 1-12.
- Islam MD, Ang S, Andriyana ABC, Afifi AM. 2019. A Review on Fabrication of Nanofibers via Electrospinning and Their Applications. *Applied Sciences Jorنال.* **1**(1248): 1-16.
- Jang, E.H., Kim, J.H., Lee, J.H., Kim, D.H., Youn, Y.N. 2020. Enhanced Biocompatibility of Multi-Layered, 3D Bio-Printed Artificial Vessels Composed of Autologous Mesenchymal Stem Cells. *Polymers* **12**(538): 1-12.
- Jensen C, Teng Y. 2020. Is It Time to Start Transitioning from 2D to 3D Cell Culture?. *Journal of Molecular Biosciences* **7**(33): 1-15.
- Jin Q, Jin G, Ju J, Xu L, Tang L, Fu Y, Hou R, Atala A, Zhao W. 2022. Bioprinting Small-Diameter Vascular Vessel with Endothelium and Smooth Muscle by The Approach of Two-Step Crosslinking Process. *Biotechnology Bioengineering* **119**: 1673–1684.
- Kapałczyńska M, Kolenda T, Przybyła W, Zajączkowska M, Teresiak A, Filas V, Ibbs M, Bliźniak R, Łuczewski L, Lamperska K. 2016. 2D and 3D Cell Cultures – A Comparison of Different Types of Cancer Cell Cultures. *Archives of Medical Science* **14**(4): 910-919.
- Kim H, Choi S, Kim H. 2013. Mesenchymal Stem Cell-Derived Secretome and Microvesicles as a Cell-Free Therapeutics for Neurodegenerative Disorders. *Tissue Engineering and Regenerative Medicine* **10**(3): 93-101.
- Kim Y, Kim I, Shin K. 2023. A New Era of Stem Cell and Developmental Biology: From Blastoids to Synthetic Embryos and Beyond. *Korean Society for Biochemistry and Molecular Biology* **55**: 2127-2137.
- Langhans SA. 2018. Three-Dimensional in Vitro Cell Culture Models in Drug Discovery and Drug Repositioning. *Frontiers in Pharmacology* **9**(6): 1-14.
- Li J, Yao Y, Zhou J, Yang Z, Qiu C, Lu Y, Xie J, Liu J, Jiang T, Kou Y, Ge Z, Liang P, Qiu C, Shen L, Zhu Y, Gao C, Yu L. 2024. Epicardial Transplantation of Antioxidant Polyurethane Scaffold Based Human Amniotic Epithelial Stem Cell Patch for Myocardial Infarction Treatment. *Nature Communications* **15**(9105): 1-16.
- Li T, Xia M, Gao Y, Chen Y, Xu Y. 2015. Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells: An Overview of Their Potential in Cell-Based Therapy. *Expert Opinion on Biological Therapy* **15**(9): 1293-1306.
- Liu F, Huang J, Ning B, Liu Z, Chen S, Zhao W. 2016. Drug Discovery Via Human-Derived Stem Cell Organoids. *Frontiers in Pharmacology* **7**(334): 1-12.
- Ma ZJ, Yang JJ, Lu YB, Liu AY, Wang XX. 2020. Mesenchymal Stem Cell-Derived Exosomes: Toward Cell-Free Therapeutic Strategies in Regenerative Medicine. *World Journal Stem Cells* **12**(8): 814-840.

- Marei NH, Sherbiny ME, Lotfy A, Badawy AE. 2016. Mesenchymal Stem Cells Growth and Proliferation Enhancement Using PLA vs PCL Based Nanofibrous Scaffolds. *International Journal of Biological Macromolecules* **93**: 9-19.
- McNamara MC, Sharifi F, Wrede AH, Kimlinger DF, Thomas DG, Wiel JBV, Chen Y, Montazami R, Hashemi NN. 2017. Microfibers as Physiologically Relevant Platforms for Creation of 3D Cell Cultures. *Macromolecular Bioscience Journal* **1700279**: 1-18.
- Milovac D, Ferrer GG, Ivankovic M, Ivankovic H. 2014. PCL-Coated Hydroxyapatite Scaffold Derived from Cuttlefish Bone: Morphology, Mechanical Properties, and Bioactivity. *Materials Science and Engineering C* **34**: 437-445.
- Muzes G, Sipos F. 2022. Mesenchymal Stem Cell-Derived Secretome: A Potential Therapeutic Option for Autoimmune and Immune-Mediated Inflammatory Diseases. *Cells Journal* **11(15)**: 1-23.
- Nedjari S, Awaja F, Altankov G. 2017. Three-Dimensional Honeycomb Patterned Fibrinogen Based Nanofibers Induce Substantial Osteogenic Response of Mesenchymal Stem Cells. *Scientific Reports* **7(15947)**: 1-11.
- Nurhayati RW, Lubis DSH, Pratama G, Agustina E, Khoiriyah Z, Alawiyah K, Pawitan JA, 2021. The Effects of Static and Dynamic Culture Systems on Cell Proliferation and Conditioned Media of Umbilical Cord-Derived Mesenchymal Stem Cells. *International Journal of Technology* **12(6)**: 1187-1197.
- Patil S, Singh N. 2019. Silk Fibroin-Alginate Based Beads for Human Mesenchymal Stem Cell Differentiation in 3D. *Biomaterial Science* **5(11)**: 1-28.
- Pedersen DD, Kim S, Wagner WR. 2022. Biodegradable Polyurethane Scaffolds in Regenerative Medicine: Clinical Translation Review. *Journal of Biomedical Materials Research* **110(8)**: 1460-1487.
- Peshkova M, Korneev A, Suleimanov S, Vlasova II, Svistunov A, Kosheleva N, Timashev P. 2023. MSCs Conditioned Media Cytokine and Growth Factor Profiles and Their Impact on Macrophage Polarization. *Stem Cell Research and Therapy Journal* **14(142)**: 1-15.
- Pittenger MF, Discher DE, Péault BM, Phinney DG, Hare JM, Caplan AI. 2019. Mesenchymal Stem Cell Perspective: Cell Biology to Clinical Progress. *Regenerative Medicine Nature Partner Journals* **22**: 1-15.
- Prats RG, Rimblas MC, Puig F, Herrero R, Tantinya N, Mollar AS, Artigas A. 2020. Alveolar Type II Cells or Mesenchymal Stem Cells: Comparison of Two Different Cell Therapies for the Treatment of Acute Lung Injury in Rats. *Cells International Journal* **9(8)**: 1-15.
- Rofaani E, Mardani MW, Yutiana PN, Amanda O, Darmawan N. 2024. Differentiation of Mesenchymal Stem Cells Into Vascular Endothelial Cells In 3D Culture: A Mini Review. *Molecular Biology Reports* **51(781)**: 1-12.
- Rogers CJ, Harman RJ, Bunnell BA, Schreiber MA, Xiang C, Wang FS, Santidrian AF, Minev BR. 2020. Rationale for The Clinical Use of Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells for COVID-19 Patients. *Journal of Translational Medicine* **18(203)**: 1-19.
- Ryu NE, Lee SH, Park H. 2019. Spheroid Culture System Methods and Applications for Mesenchymal Stem Cells. *Cells* **8(12)**: 1-13.
- Ruiz AC, Mendonca FE, Otero RM, Resende VTR. 2015. Biological Behavior of Mesenchymal Stem Cells on Poly-E-Caprolactone Filaments and A Strategy for Tissue Engineering of Segments of The Peripheral Nerves. *Stem Cell Research and Therapy* **6(128)**: 1-15.
- Scalise M, Marino F, Salerno L, Cianflone E, Molinaro C, Salerno N, Angelis AD, Viglietto G, Urbanek K, Torella D. 2021. From Spheroids to Organoids: The Next Generation of Model Systems of Human Cardiac Regeneration in a Dish. *International Journal of Molecular Sciences* **22(13180)**: 1-25.
- Shang T, Li S, Zhang Y, Lu L, Cui L, Guo FF. 2019. Hypoxia Promotes Differentiation of Adipose-Derived Stem Cells into Endothelial Cells Through Demethylation of ephrinB2. *Stem Cell Res Ther.* **10(133)**: 1-12.
- Shi Y, Zhou J. 2023. Mesenchymal Stem/Stromal Cells (MSCs): Origin, Immune Regulation, and Clinical Applications. *Cellular and Molecular Immunology* **2023(20)**: 555-557.
- Silva DMG, Nardiello C, Pozarska A, Morty RE. 2015. Recent Advances in The Mechanisms of Lung Alveolarization and The Pathogenesis of Bronchopulmonary Dysplasia. *Lung Cellular and Molecular Physiology* **309(11)**: 1239-1272.
- Sitthisang S, Hou X, Treetong A, Xu X, Liu W, He C, Ueng US, Yodmuang S. 2024. Nanomechanical Mapping of PLA Hydroxyapatite Composite Scaffolds Links Surface Homogeneity to Stem Cell Differentiation. *Nature Scientific Reports* **14(21097)**: 1-10.
- Sobhani A, Khanlarkhani N, Baazm M, Mohammadzadeh F, Najafi A, Mehdinejadiani S, Aval FA. 2017. Multipotent Stem Cell and Current Application. *Acta Medica Iranica* **55(1)**: 1-23.

- Song N, Scholttemeijer M, Khalid S. 2020. Mesenchymal Stem Cell Immunomodulation: Mechanism and Therapeutic Potential. *Trends in Pharmacological Sciences International Journal* **41(9)**: 653-664.
- Sriramulu S, Banerjee A, Liddo RD, Jothimani G, Gopinath M, Murugesan R, Marrotta F, Pathak S. 2018. Concise Review on Clinical Applications of Conditioned Medium Derived from Human Umbilical Cord-Mesenchymal Stem Cells (UC-MSCs). *Internasional Journal of Hematology Oncology and Stem Cell Research* **12(3)**: 230- 234.
- Stojanov S, Berlec A. 2020. Electrospun Nanofibers as Carriers of Microorganisms, Stem Cells, Proteins, and Nucleic Acids in Therapeutic and Other Applications. *Bioengineering and Biotechnology* **8(130)**: 1-16.
- Tsai HH, Yang KC, Wu MH, Chen JC, Tseng CL. 2019. The Effects of Different Dynamic Culture Systems on Cell Proliferation and Osteogenic Differentiation in Human Mesenchymal Stem Cells. *International Journal of Molecular Sciences* **20(16)**: 1-14
- Wanigasekara J, Carroll LJ, Cullen PJ, Tiwari B, Curtin JF. 2023. Three-Dimensional (3D) In Vitro Cell Culture Protocols to Enhance Glioblastoma Research. *Journal of PLoS ONE* **18(2)**: 1-19.
- Whidiastuti SS, Branitamahisi B, Inayati NS, Preharsini IA, Handika DB, Sadewa AH, Laqif A, Haryana SM. 2020. Pengaruh Media Terkondisi Sel Punca Mesensimal terhadap Ekspresi Gene Transcription Factor 7-Like 2 (TCF7L2) Tikus Model Diabetes Melitus Tipe 2. *Jurnal Ilmu-Ilmu Hayati* **19(2)**: 141-150.
- Wu X, Su J, Wei J, Jiang N, Ge X. 2021. Recent Advances in ThreeDimensional Stem Cell Culture Systems and Applications. *Journal of Stem Cells International* **2021(9477332)**: 1-13.
- Xu C, Zhao J, Li Q, Hou L, Wang Y, Li S, Jiang F, Zhu Z, Tian L. 2020. Exosomes Derived from Three-Dimensional Cultured Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells Ameliorate Pulmonary Fibrosis in a Mouse Silicosis Model. *Stem Cell Research and Therapy Journal* **11(503)**: 1-12
- Xu T, Yao Q, Miszuk JM, Sanyour HJ, Hong Z, Sun H, Fong H. 2018. Tailoring weight ratio of PCL/PLA in electrospun three-dimensional nanofibrous scaffolds and the effect on osteogenic differentiation of stem cells. *An International Journal of Colloids and Surfaces B* **171**: 31-39.
- Ylostalo JH. 2020. 3D Stem Cell Culture. *Cells International Journal* **9(2178)**: 1-3.
- Zhang W, Zhu C, Wu Y, Ye D, Wang S, Zou D, Zhang X, Kaplan DL, Jiang X. 2014. VEGF and BMP-2 Promote Bone Regeneration by Facilitating Bone Marrow Stem Cell Homing and Differentiation. *European Cells and Materials Journal* **27**: 1-12.