

Biokompatibilitas *scaffold* sutera asal *Bombyx mori* ukuran pori 100µm terhadap *adipose-derived stem cells* (ADSCs) yang dikultur pada berbagai medium pertumbuhan

Biocompatibility of silk fibroin scaffold of *Bombyx mori* with pore of size 100µm towards *adipose-derived stem cells* (ADSCs) cultured on various of growth medium

Imam Rosadi^{1, *}, Karina^{1,2,3}, Komang A. Wahyuningsih^{1,2,4}, Anggraini Barlian⁵, Iis Rosliana¹, Tias Widyastuti¹, Siti Sobariah¹, Irsyah Afini¹

¹⁾ HayandraLab, Yayasan Hayandra Peduli, Jakarta, Indonesia

²⁾ Klinik Hayandra, Yayasan Hayandra Peduli, Jakarta, Indonesia

³⁾ Biomedik, Universitas Indonesia, Jakarta, Indonesia

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

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

*Email: imam.rosadi@hayandra.com

Diterima 31 Juli 2019

Disetujui 12 Februari 2020

INTISARI

Rekayasa jaringan terdiri dari 3 komponen utama yaitu sel, nutrisi, dan *scaffold*. Penggunaan sel punca asal jaringan lemak (*adipose-derived stem cells*/ ADSCs) telah banyak dikembangkan sebagai sumber sel dalam teknologi rekayasa jaringan. Medium yang digunakan dalam mendukung pertumbuhan sel diantaranya medium yang mengandung serum seperti *fetal bovine serum* (FBS), kombinasi FBS dan *L-ascorbic acid 2-phosphate* (LAA) atau *platelet-rich plasma* (PRP). Pada penelitian ini, sutera asal *Bombyx mori* diproduksi menjadi *scaffold* sutera ukuran pori 100µm kemudian ADSCs dikultur diatas *scaffold* dalam medium mengandung 10% FBS, 10% FBS-LAA atau 10% PRP. Uji yang dilakukan adalah uji pertumbuhan ADSCs yang dikultur pada *polystyrene* kemudian uji biokompabilitas *scaffold* sutera pada ADSCs dalam medium mengandung 10% FBS, 10% FBS-LAA dan 10% PRP. Hasilnya menunjukkan bahwa ketiga kelompok ADSCs dalam variasi medium yang mengandung FBS, FBS-LAA atau PRP dapat mendukung pertumbuhan sel. Ketiga medium tersebut juga tidak berbeda bermakna antar kelompok pada uji biokompabilitas ADSCs yang dikultur pada *scaffold* sutera. Berdasarkan hasil tersebut, *scaffold* sutera berpotensi sebagai substrat ADSCs yang dapat dikembangkan sebagai teknologi rekayasa jaringan.

Kata kunci: ADSCs, ascorbic acid, platelet-rich plasma, rekayasa jaringan, scaffold sutera

ABSTRACT

There are three components of tissue engineering which are cell, nutrient, and scaffold. *Adipose-derived stem cells* (ADSCs) have been used as cell source of tissue engineering. To support the cell proliferation, the medium should be contained serum as nutrition such as fetal bovine serum (FBS), combination of FBS and L-ascorbic acid 2-phosphate (LAA) or platelet-rich plasma (PRP). In this study, silk from *Bombyx mori* was fabricated into *scaffold* with pore of size 100µm then ADSC was cultured on scaffold in medium containing 10% FBS, 10% FBS-LAA or 10% PRP. This study observed ADSCs proliferation on polystyrene substrate and biocompatibility of silk scaffold in medium containing 10% FBS, 10% FBS-LAA and 10% PRP. The results showed that the three groups of medium which contain FBS, FBS-LAA, or PRP

can support proliferation rate of ADSCs. There is no significant different of various medium on ploriferation rate of ADSCs towards biocompability of silk scaffold. The conclusion of this study is silk scaffold can be used as ADSCs substrate to develop tissue engineering.

Keywords: ADSCs, ascorbic acid, platelet-rich plasma, silk scaffold, tissue engineering

PENDAHULUAN

Rekayasa jaringan merupakan salah satu solusi untuk menyediakan kebutuhan akan jaringan atau organ. Teknologi rekayasa jaringan memerlukan sel, nutrisi, dan *scaffold* (O'Brien, 2011). Sumber sel untuk mengembangkan rekayasa jaringan dapat berasal dari sel asal jaringan dewasa atau sel punca, namun pada umumnya sel asal jaringan dewasa terbatas jumlah dan proliferasinya sehingga sel punca lebih banyak dimanfaatkan sebagai sumber sel. Sel punca asal jaringan lemak atau disebut sebagai *adipose-derived stem cells* (ADSCs) dilaporkan memiliki sifat multipotensi, mudah diperoleh dan merupakan limbah pada operasi sedot lemak (Zuk, 2010). Oleh karena itu, ADSCs merupakan kandidat sumber sel punca yang dapat digunakan untuk mempelajari rekayasa jaringan. Komponen kedua dalam rekayasa jaringan adalah nutrisi bagi pertumbuhan sel.

Medium yang digunakan untuk mendukung pertumbuhan ADSCs diantaranya adalah medium yang mengandung serum. Serum tersebut dapat berasal dari hewan atau manusia seperti *fetal bovine serum* (FBS) atau *platelet-rich plasma* (PRP). Laporan studi pendahuluan menunjukkan bahwa medium mengandung FBS atau PRP dapat meningkatkan pertumbuhan ADSCs (Suryani *et al.*, 2013). Kombinasi FBS dengan *L-ascorbic acid* dilaporkan juga dapat meningkatkan pertumbuhan sel fibroblas dan sel osteo (Hata & Senoo, 1989; Takamizawa *et al.*, 2004). Efektifitas dari ketiga medium tersebut perlu dilakukan studi terhadap pertumbuhan ADSCs dalam mempelajari rekayasa jaringan. Komponen terakhir dalam rekayasa jaringan adalah *scaffold*.

Pemilihan *scaffold* ditentukan berdasarkan biokompabilitas, biodegradabilitas, sifat mekanis, arsitektur dan teknologi pembuatan *scaffold* (O'Brien, 2011). *Scaffold* dalam teknologi

rekayasa jaringan yang didesain harus mampu mendukung lingkungan sel baik secara fisik, kimia maupun biologi (Howard *et al.*, 2008). Peran *scaffold* adalah sebagai struktur kerangka untuk penempelan sel dalam regenerasi sel secara *in vivo* maupun *in vitro*. *Scaffold* berdasarkan sumbernya terbagi menjadi *scaffold* alami seperti sutera, kolagen, dan alginat serta *scaffold* sintetik seperti *poly-lactide* (PLA), *poly-glycolide* (PGA), *copolymer poly-lactide-co-glycolide* (PLGA) (Meinel *et al.*, 2004; Wang *et al.*, 2006). *Scaffold* sintetik telah dilaporkan dapat menimbulkan reaksi inflamasi pada pengujian secara *in vivo* (Meinel *et al.*, 2004), sedangkan *scaffold* berbahan dasar alami seperti kolagen dan alginat memiliki kelemahan diantaranya mudah terdegradasi. *Scaffold* asal sutera memiliki kekuatan, porositas, biodegradabilitas, biokompabilitas, proliferasi dan diferensiasi sel yang baik menurut Wang *et al.*, (2005), Meinel *et al.*, (2004), dan Hofmann, *et al.*, (2006).

Scaffold sutera dapat dibentuk menjadi berbagai macam struktur (Wang *et al.*, 2006). Struktur *scaffold* seperti ukuran pori dan konektivitas pori menentukan laju transpor nutrisi, metabolit dan mengatur pergerakan molekul (Meinel *et al.*, 2004). Pada studi ini, dilakukan uji biokompabilitas *scaffold* sutera asal ulat sutera (*Bombyx mori*) Indonesia dengan metode *salt-leaching* yang memiliki ukuran pori sebesar 100µm terhadap ADSCs yang dikultur pada medium mengandung 10% FBS, kombinasi 10% FBS-LAA serta 10% PRP. Luaran dari hasil yang diperoleh bertujuan untuk mengetahui potensi *scaffold* asal ulat sutera Indonesia sebagai material rekayasa jaringan dengan suplementasi medium FBS, FBS-LAA dan PRP.

MATERI DAN METODE

Pembuatan *Scaffold* Sutera

Pembuatan *scaffold* sutera asal ulat sutera (*Bombyx mori*) mengacu pada Wang *et al.*, (2005). Sutera berasal dari ulat sutera yang diperoleh dari Bandung, Indonesia. Sutera kemudian didegumisasi dan 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 $100\mu\text{m}$ 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 setiap 3-12 jam sekali hingga *scaffold* bebas garam. Indikator penggantian akuabides adalah tingkat kekeruhan air. Pengukuran pH akuabides pada jam akhir perendaman *scaffold* dilakukan untuk memastikan pH air mendekati atau sama dengan nilai pH akuabides murni. *Scaffold* yang tercetak dengan diameter 3 cm dengan ketebalan 1 mm kemudian dikeringkan menggunakan tisu beberapa saat dan disimpan dalam *freezer* -80°C selama 30 menit kemudian ditimbang berat *scaffold*. *Scaffold* dipotong dengan ukuran 5 x 5 mm dan ditimbang serta kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf dan siap untuk digunakan.

Kultur *Adipose-Derived Stem Cells* (ADSCs)

Stromal vascular fraction (SVF) diisolasi dari lipoaspirat jaringan lemak bawah kulit yang berasal dari satu donor. Isolasi ADSCs manusia mengacu pada protokol yang telah dipatenkan oleh Yayasan Hayandra Peduli (Nomor Paten: IDP000055609) yaitu dengan melakukan proses digesti jaringan lemak menggunakan larutan enzim rekombinan H-Remedy. 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 $600\times g$ selama 5 menit. Supernatan yang terbentuk pada lapisan bagian atas kemudian dibuang, sedangkan pelet sel SVF yang mengandung ADSCs dikultur menggunakan medium DMEM yang mengandung 1% *antibiotic-antimycotic* (Gibco, 100X) dan 10% FBS (Gibco) pada suhu 37°C , 5% CO_2 . ADSCs kemudian dipasase 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

Platelet rich plasma (PRP) asal donor manusia diperoleh dari Palang Merah Indonesia (PMI), Jl. Kramat Raya, No. 47, Jakarta Pusat, DKI Jakarta (10450) dengan melampirkan surat lulus kaji etik dari FK UNPAD. Bahan PRP digunakan sebagai substitusi FBS.

Uji Pertumbuhan ADSCs

Sebanyak 5×10^3 ADSCs pasase 4 dikultur pada 96 *well-plate* dalam berbagai medium yaitu medium DMEM dan antibiotik yang mengandung:

- 10% FBS
- 10% FBS dan *L-ascorbic acid* (10% FBS-LAA)
- 10% PRP

Sel dilakukan analisis pertumbuhan ADSCs untuk mengetahui laju pertumbuhan diantara ketiga medium tersebut. Medium ADSCs ketiga kelompok perlakuan dibuang dan dibilas dengan *Hank's Balanced Salt Solution* (HBSS, Gibco) pada hari ke 1, 3, 5, 7, dan 14. Sel kemudian ditambahkan $100\mu\text{l}$ DMEM dan $10\mu\text{l}$ reagen 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide (MTT) (Sigma-Aldrich) ke dalam 96 *well-plate*. Sel kemudian diinkubasi selama 4 jam. Larutan dalam *well* dibuang lalu ditambahkan $100\mu\text{l}$ DMSO dan diinkubasi selama 10 menit didalam 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.

Uji Biokompabilitas ADSCs

Sel dilakukan analisis toksisitas dan pertumbuhan sel untuk mengetahui biokompabilitas *scaffold* sutera terhadap ADSCs.

1. Uji Secara Tidak Langsung

Scaffold sutera yang telah dipotong dengan ukuran 5 x 5 mm kemudian direndam dalam berbagai medium (10% FBS, 10% FBS-LAA, dan 10% PRP) selama 1, 3, 5, dan 7 hari. Kode uji toksisitas *scaffold* secara tidak langsung adalah 10% FBS-T, 10% FBS-LAA-T, dan 10% PRP-T. Sel sebanyak 1×10^5 kemudian dikultur pada *scaffold* sutera menggunakan 96 *well-plate* dalam medium yang direndam *scaffold*. Pada hari ke-3 kultur, medium sel yang ditanam pada *scaffold* ketiga kelompok perlakuan dibuang dengan perendaman selama 1, 3, 5, 7 hari kemudian dibilas dengan *Hank's Balanced Salt Solution* (HBSS, Gibco). Sel kemudian ditambahkan 100 μ l DMEM (Gibco) dan 10 μ l reagen 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide (MTT) ke dalam 96 *well-plate*. Sel kemudian diinkubasi selama 4 jam. Larutan dalam *well* dibuang lalu ditambahkan 100 μ l DMSO dan diinkubasi selama 10 menit di dalam inkubator (Thermo Fisher Scientific). Larutan dalam *well* kemudian dipindahkan ke dalam 96 *well-plate* baru dan diamati absorbansinya menggunakan *microplate reader* (Biorad *iMark*) dengan panjang gelombang 595 nm.

2. Uji Secara Langsung

Sebanyak 1×10^5 ADSCs pasase 4 dikultur pada *scaffold* sutera dengan berbagai medium yaitu DMEM mengandung 10% FBS, 10% FBS-LAA, dan 10% PRP. Medium sel yang ditanam pada *scaffold* ketiga kelompok perlakuan

dibuang dan dibilas dengan *Hank's Balanced Salt Solution* (HBSS, Gibco). Selanjutnya, sel pada hari ke 1, 3, 5, 7, 14, dan 21 ditambahkan 100 μ l DMEM (Gibco) dan 10 μ l reagen 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide (MTT) ke dalam 96 *well-plate*. Sel kemudian diinkubasi selama 4 jam. Larutan dalam *well* dibuang lalu ditambahkan 100 μ l DMSO dan diinkubasi selama 10 menit didalam 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.

Analisis Statistik

Data 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).

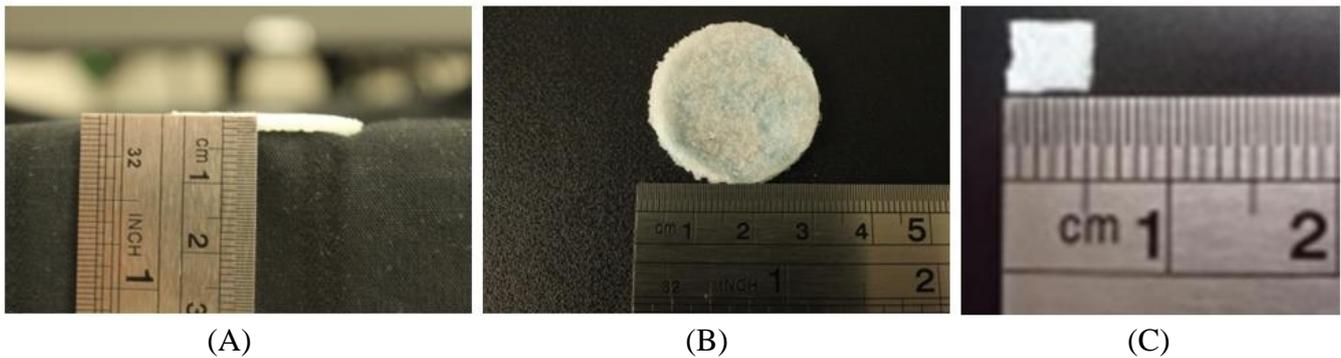
HASIL

Scaffold Sutera

Garam yang digunakan dalam produksi *scaffold* dihilangkan dengan teknik perendaman air. Hal ini disebabkan, konsentrasi garam yang tinggi dapat bersifat toksik bagi sel jika tidak dilarutkan sebelum digunakan sebagai *scaffold* ADSCs. Pada studi ini, kadar pH akuades dari bilasan terakhir untuk menghilangkan sisa-sisa garam pada *scaffold* sutera tidak berbeda bermakna dengan pH akuades murni yang menunjukkan *scaffold* bebas dari tingginya kadar garam. Berat *scaffold* sutera dengan diameter 3 cm dan ketebalan 1 mm adalah $0,49 \pm 0,04$ g. *Scaffold* sutera yang dipotong hingga berukuran 5 x 5 x 1 mm memiliki rerata berat *scaffold* sebesar $0,07 \pm 0,006$ g yang selanjutnya digunakan dalam pengujian. Bentuk *scaffold* sutera disajikan pada Gambar 1.

Tabel 1. Produksi *Scaffold* Sutera

Pengujian		Rerata ± SD
pH		
1	Air Bebas Mineral (ABM)	6,33 ± 0,41
2	ABM + <i>Scaffold</i> Sutera	6,35 ± 0,45
Berat <i>Scaffold</i> Sutera		
1	<i>Scaffold</i> ukuran 3 cm (g)	0,49 ± 0,04
2	<i>Scaffold</i> ukuran 5 mm (g)	0,07 ± 0,006

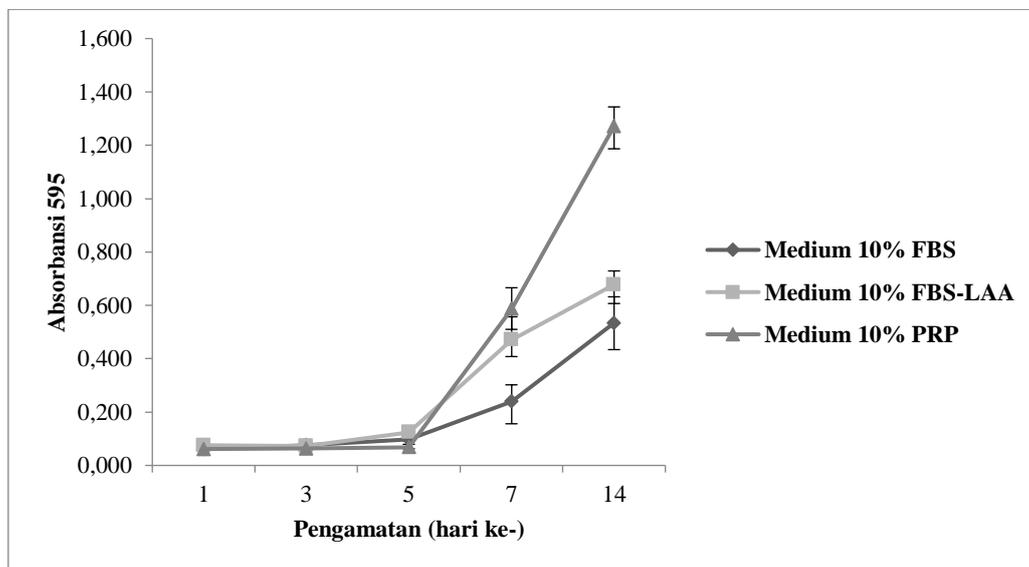


Gambar 1. *Scaffold* sutera (A) ketebalan *scaffold* yaitu 1 mm; (B) diameter *scaffold* awal produksi adalah 3 cm; (C) *scaffold* dipotong menjadi ukuran 5 x 5 mm yang selanjutnya digunakan dalam penelitian

Pertumbuhan ADSCs pada Substrat Polystyrene

Pertumbuhan ADSCs pada berbagai medium memiliki kecenderungan yang sama yaitu meningkat pada hari ke-7 hingga hari ke-14. Laju pertumbuhan tertinggi ADSCs yang dikultur diatas *polystyrene 96 well-plate* adalah ADSCs yang dikultur menggunakan medium PRP,

kemudian ADSCs yang dikultur pada medium FBS-LAA dan FBS (Gambar 2). Data tersebut menunjukkan bahwa ketiga medium tersebut berpotensi sebagai nutrisi pertumbuhan ADSCs. Hasil tersebut kemudian menjadi acuan untuk digunakan kembali ketiga medium pertumbuhan tersebut dalam mempelajari potensi *scaffold* sutera terhadap pertumbuhan ADSCs

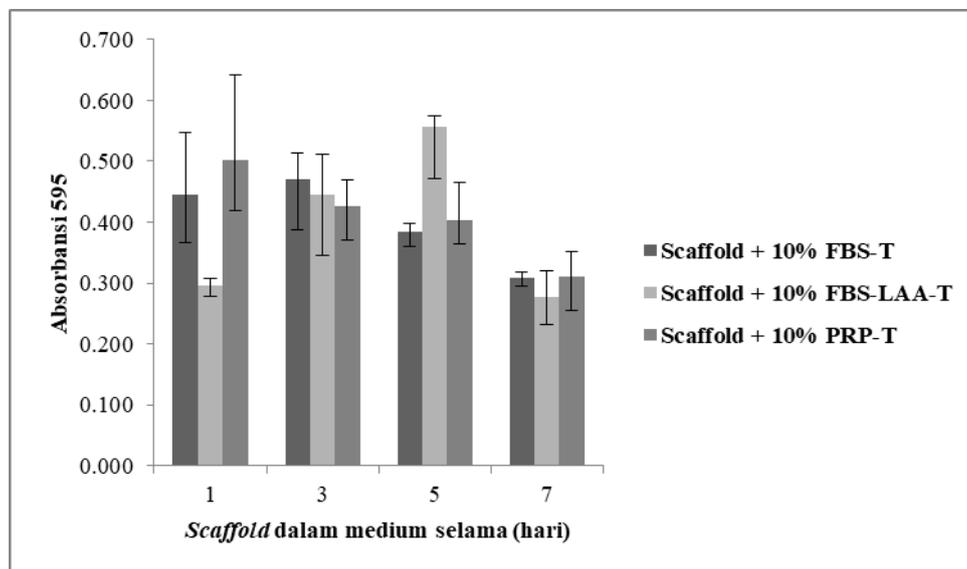


Gambar 2. Pertumbuhan ADSCs pada berbagai medium selama 14 hari pengamatan

Biokompabilitas *Scaffold* Sutera – Metode Tidak Langsung

Metode ini bertujuan untuk melihat efek medium yang direndam dalam *scaffold* sutera dengan masa inkubasi 1, 3, 5, dan 7 hari terhadap potensinya untuk mendukung pertumbuhan ADSCs dengan waktu pengamatan selama 3 hari. Hasil studi menunjukkan bahwa ada kecenderungan penurunan absorbansi jika *scaffold* direndam dalam waktu 7 hari. *Scaffold* sutera yang direndam menggunakan FBS dan PRP selama 5 dan 7 hari mengalami penurunan absorbansi yang menunjukkan sedikitnya

pertumbuhan sel hidup pada kelompok tersebut. Akan tetapi, pada kelompok ADSCs yang dikultur dalam medium mengandung FBS-LAA terjadi peningkatan absorbansi jika medium digunakan untuk merendam *scaffold* sutera selama 3 dan 5 hari, namun teramati adanya penurunan absorbansi jika lama waktu perendaman selama 7 hari. Tidak ada perbedaan yang signifikan terhadap kelompok medium dengan masing-masing waktu perendaman *scaffold* sutera (Gambar 3). Berdasarkan hasil tersebut, *scaffold* sutera berpotensi sebagai *scaffold* ADSCs dalam rekayasa jaringan.



Gambar 3. Uji toksisitas *scaffold* sutera menggunakan metode tidak langsung yaitu medium 10% FBS, 10% FBS-LAA dan 10% PRP direndam dalam *scaffold* selama 1, 3, 5, dan 7 hari, pengamatan dilakukan selama 3 hari. Huruf "T" = Uji Toksisitas

Biokompabilitas *Scaffold* Sutera –Metode Langsung

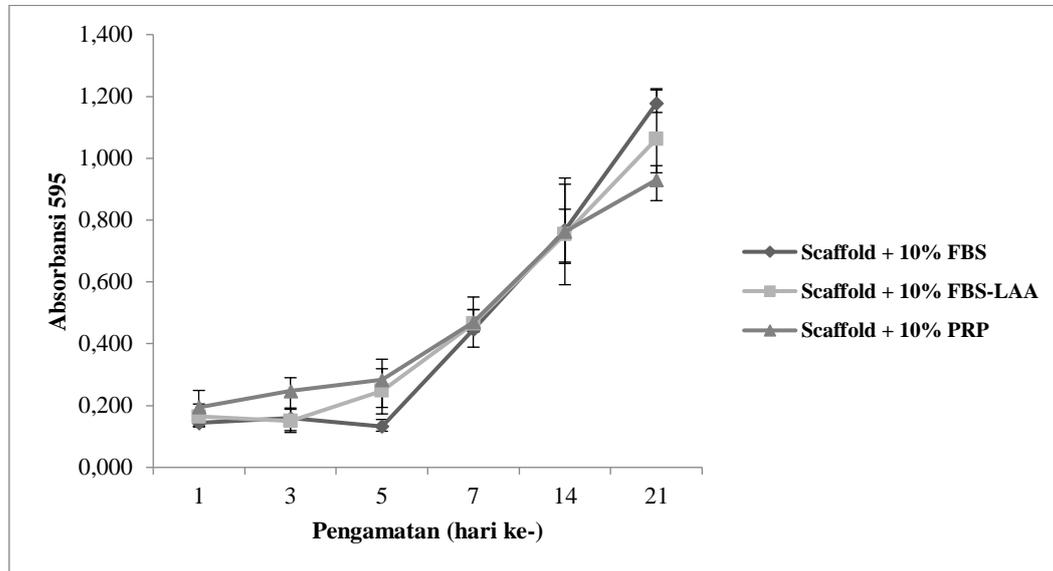
ADSCs yang dikultur selama 21 hari pada *scaffold* sutera ukuran 100 μ m dalam berbagai medium mengalami peningkatan pertumbuhan hingga hari ke-21. Tidak ada perbedaan yang bermakna diantara ketiga medium tersebut dalam mendukung pertumbuhan sel. Hasil ini menunjukkan bahwa *scaffold* sutera tidak bersifat toksik (biokompatibel) dan mendukung pertumbuhan ADSCs. Pertumbuhan ADSCs yang dikultur pada medium yang mengandung FBS memiliki laju proliferasi yang lebih tinggi

dibandingkan kelompok FBS-LAA dan PRP (Gambar 4). Hasil tersebut berbanding terbalik dengan pengujian awal ketika sel dikultur diatas *polystyrene* yaitu laju proliferasi tertinggi ditunjukkan pada kelompok PRP kemudian diikuti oleh kelompok FBS-LAA dan FBS.

Pada hari ke-7, ADSCs pada kelompok yang dikultur menggunakan FBS mengalami peningkatan 3,1x lipat dibandingkan hari pertama, sedangkan kelompok FBS-LAA dan PRP hanya mengalami peningkatan sebesar 2,8x dan 2,4x lipat dibandingkan hari pertama. Peningkatan ini terus teramati pada kelompok

ADSCs-FBS yaitu sebesar 5,3x dan 8,2x lipat pada hari ke-5 dan 7 dibandingkan hari pertama. Sedangkan kelompok ADSCs-FBS-LAA meningkat sebesar 4,6x dan 6,4x pada hari ke-5

dan 7, kemudian diikuti oleh kelompok ADSCs-PRP sebesar 3,9x dan 4,8x pada hari ke-5 dan 7 jika dibandingkan pada hari pertama pengamatan.



Gambar 4. Bikompabilitas *scaffold* sutera terhadap pertumbuhan sel menggunakan berbagai media selama 21 hari pengamatan

PEMBAHASAN

Sutera merupakan polimer berpilin yang tidak mudah larut dengan air atau larutan basa. Sutera hanya larut dalam *formic acid*, *hexafluoroisopropanol* (HFIP), atau *calcium sitrate* (Altman *et al.*, 2003). Sutera diproduksi oleh Lepidoptera seperti laba-laba dan ulat sutera (*Bombyx mori*). Berat molekul sutera laba-laba berkisar antara 70 – 700 kDa. Sutera dari laba-laba memiliki karakteristik diantaranya terdiri dari polialanin dan daerah gly-gly-X dengan X adalah tirosin, glutamin atau leusin. Sutera asal laba-laba juga memiliki urutan arginin, glisin, dan asam aspartat (RGD) yang berfungsi mendukung protein integrin pada sel untuk menempel pada *scaffold* berbahan dasar sutera. Urutan RGD ini tidak ditemukan pada sutera asal ulat sutera *B. mori* (Meinel *et al.*, 2004). Namun, sutera asal *B. mori* memiliki komposisi asam amino yang didominasi oleh glisin (Gly) dengan presentase sebanyak 43% kemudian diikuti oleh alanin (Ala)

30% dan serin (Ser) sebanyak 12% (Vepari dan Kaplan 2007; Wray *et al.*, 2011).

Komposisi asam amino tersebut diduga berperan dalam proses penempelan dan proliferasi sel. Selain itu, serat sutera asal *B. mori* diliputi oleh serisin, yaitu keluarga protein *glue-like* yang membentuk 2 protein serat fibroin pada kepompong. Serisin yang terkandung pada sutera dapat menyebabkan inflamasi sehingga harus dihilangkan agar *scaffold* bersifat *biocompatible* (Wang *et al.*, 2006). Serisin dapat dihilangkan dengan proses degumisasi (Wray *et al.*, 2011). Pada penelitian ini sutera telah dilakukan degumisasi untuk menghilangkan serisin sehingga dapat digunakan sebagai *scaffold* bagi pertumbuhan ADSCs.

Penggunaan pori 100µm pada *scaffold* sutera mengacu pada hasil studi Han *et al.*, (2015). Han *et al.*, (2015) melaporkan bahwa ukuran pori 90-180µm dari *scaffold* sutera merupakan ukuran terbaik untuk proliferasi kondrosit yang ditandai dengan meningkatnya ekspresi gen kolagen tipe 2

dan agrekan pada level mRNA. Studi dan pengembangan *scaffold* sutera ini selain untuk mengetahui potensi biokompabilitas *scaffold* terhadap pertumbuhan ADSCs juga sebagai studi pendahuluan untuk digunakan sebagai acuan dalam rekayasa jaringan kartilago. Oleh karena itu, perlu dilakukan studi awal terhadap potensi sutera *Bombyx mori* asal Indonesia. Pada studi ini, pengujian pertumbuhan ADSCs dilakukan pada *polystyrene* untuk mengkonfirmasi bahwa ADSCs yang diisolasi asal jaringan lemak dapat tumbuh dalam berbagai medium rendah glukosa yang mengandung 10% FBS, 10% FBS-LAA, dan PRP.

Suryani *et al.* (2013) melaporkan bahwa ADSCs yang dikultur pada medium mengandung PRP atau FBS dapat mendukung pertumbuhan sel, namun PRP mendukung pertumbuhan ADSCs lebih baik dibandingkan FBS, sehingga PRP dapat menggantikan FBS sebagai nutrisi pertumbuhan. Hasil serupa dilaporkan oleh Rosadi *et al.* (2019) yang menunjukkan bahwa ADSCs yang dikultur pada substrat *polystyrene* menggunakan medium mengandung PRP memiliki laju pertumbuhan sel yang lebih tinggi dibandingkan kombinasi FBS-LAA maupun FBS saja.

Pada uji biokompabilitas secara tidak langsung, pertumbuhan ADSCs pada medium dari rendaman *scaffold* sutera selama 7 hari cenderung memiliki absorbansi yang lebih rendah dibandingkan pengamatan hari lainnya. Namun, kecenderungan tersebut masih menunjukkan adanya potensi yang positif bagi *scaffold* sutera dalam mendukung pertumbuhan ADSCs karena medium akan selalu diganti setiap 2-3 hari sekali. Oleh karena itu, sel dalam medium yang digunakan dalam pengujian ini akan mengalami penyegaran dari zat toksik *scaffold* maupun produk samping dari metabolisme ADSCs. Secara alami, sel akan mensekresikan produk samping seperti asam laktat yang bersifat toksik bagi sel. Metabolisme dan pertumbuhan sel akan dihambat dengan menurunkan pH atau meningkatkan laktat pada lingkungan mikro sel (Chen *et al.*, 2009). Sedangkan laju pertumbuhan ADSCs dapat dipengaruhi oleh formulasi

medium yang digunakan dalam kultur ADSCs (Schipper *et al.*, 2008).

Pada studi ini, telah dilakukan normalisasi densitas sel awal yang dikultur. Adanya perbedaan formulasi medium dilakukan untuk mengetahui efektivitas LAA dan substitusi FBS menjadi PRP dalam mendukung pertumbuhan ADSCs yang dikultur pada *scaffold* sutera ukuran pori 100 μ m. Laju pertumbuhan ADSCs yang dikultur pada ketiga medium menunjukkan kecenderungan yang serupa yaitu meningkat seiring lamanya waktu pengamatan (21 hari). Berdasarkan hasil tersebut, ketiga formulasi medium mendukung pertumbuhan ADSCs dan *scaffold* sutera asal *Bombyx mori* bersifat biokompatibel bagi pertumbuhan ADSCs.

SIMPULAN

Scaffold sutera ukuran pori 100 μ m dapat digunakan untuk pengembangan rekayasa jaringan menggunakan ADSCs dalam medium mengandung *fetal bovine serum* (FBS), kombinasi FBS dan *L-ascorbic acid 2-phosphate* dan *platelet-rich plasma* (PRP) asal manusia.

UCAPAN TERIMAKASIH

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.

KEPUSTAKAAN

- Altman GH, Diaz F, Jakuba C, Calabro T, Horan RL, Chen J, Lu H, Richmond J, Kaplan DL. 2003. Silk-based biomaterials. *Biomaterials* **24**(3): 401-416.
- Chen T, Zhou Y, Tan WS. 2009. Influence of lactic acid on the proliferation, metabolism, and differentiation of rabbit mesenchymal stem cells. *Cell Bio. & Toxic* **25**(6): 573-586.
- Han KS, Song, JE, Tripathy N, Kim H, Moon BM, Park CH, Khang G. 2015. Effect of pore

- sizes of silk scaffolds for cartilage tissue engineering. *Macromol. Res.* **23(12)**: 1091-1097.
- Hata RI, Senoo H. 1989. L-ascorbic acid 2-phosphate stimulates collagen accumulation, cell proliferation, and formation of a three-dimensional tissuelike substance by skin fibroblasts. *J. Cellular Phy.* **138(1)**: 8-16.
- Hofmann S, Knecht S, Langer R, Kaplan DL, Vunjak-Novakovic G, Merkle HP, Meinel L. 2006. Cartilage-like tissue engineering using silk scaffolds and mesenchymal stem cells. *Tissue Eng.* **12(10)**: 2729-2738.
- Howard D, Buttery LD, Shakesheff KM, Roberts SJ. 2008. Tissue engineering: strategies, stem cells and scaffolds. *J. Anatomy* **213(1)**: 66-72.
- Meinel L, Hofmann S, Karageorgiou V, Zichner L, Langer R, Kaplan D, Vunjak-Novakovic G. 2004. Engineering cartilage-like tissue using human mesenchymal stem cells and silk protein scaffolds. *Biotech. & Bioeng.* **88(3)**: 379-391.
- O'brien FJ. 2011. Biomaterials & scaffolds for tissue engineering. *Materials today* **14(3)**:88-95.
- 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. *Mol. Cell. Biomed. Sci.* **3(1)**: 26-33.
- Schipper BM, Marra KG, Zhang W. 2008. Regional anatomic and age effects on cell function of human adipose-derived stem cells. *Ann Plast Surg.* **60**: 538-544.
- Suryani D, Pawitan JA, Lilianty J, Purwoko RY, Liem IK, Damayanti L. 2013. Comparison of fetal bovine serum and platelet-rich plasma on human lipoaspirate-derived mesenchymal stem cell proliferation. *Med. J. Indonesia.* **22(3)**: 146-151.
- Takamizawa S, Maehata Y, Imai K, Senoo H, Sato S, Hata RI. 2004. Effects of ascorbic acid and ascorbic acid 2-phosphate, a long-acting vitamin C derivative, on the proliferation and differentiation of human osteoblast-like cells. *Cell Bio. Intern.* **28(4)**: 255-265.
- Vepari C, Kaplan DL. 2007. Silk as a biomaterial. *Progress in Polymer Sci.* **32(8-9)**: 991-1007.
- Wang Y, Kim HJ, Vunjak-Novakovic G, Kaplan DL. 2006. Stem cell-based tissue engineering with silk biomaterials. *Biomaterials* **27(36)**: 6064-6082.
- Wang Y, Kim UJ, Blasioli DJ, Kim HJ, Kaplan DL. 2005. In vitro cartilage tissue engineering with 3D porous aqueous-derived silk scaffolds and mesenchymal stem cells. *Biomaterials* **26(34)**: 7082-7094.
- Wray LS, Hu X, Gallego J, Georgakoudi I, Omenetto FG, Schmidt D, Kaplan DL. 2011. Effect of processing on silk-based biomaterials: Reproducibility and biocompatibility. *J. Biomed. Materials Res. Part B: Applied Biomaterials* **99(1)**: 89-101.
- Zuk PA. 2010. The Adipose-derived Stem Cell: Looking Back and Looking Ahead. *Mol Bio Cell.* **21**: 1783-1787.