

## PENGARUH TEKNIK INJEKSI MULTIPLE *SODIUM DODECYL SULFAT* (SDS) PADA DESELULARISASI KULIT TIKUS UNTUK PEMBUATAN PERANCAH (*SCAFFOLD*) KULIT

Anak Agung Istri Agung Putri Septiani Dewi<sup>1</sup>, Asri Lestari<sup>2\*</sup>, AA Ayu Asri Prima Dewi<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Warmadewa

<sup>2</sup> Departemen Biokimia Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Warmadewa

<sup>3</sup> Departemen Histologi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Warmadewa

e-mail: [asrilestarini@gmail.com](mailto:asrilestarini@gmail.com)

### ABSTRAK

Deselularisasi merupakan proses pembuatan perancah (*scaffold*) dengan mengisolasi matriks ekstraseluler (ECM). Teknik yang paling sering dilaporkan untuk mendeselularisasi jaringan kulit yaitu perfusi, namun terbatasnya pompa peristaltik membatasi penggunaan teknik ini. Teknik yang lebih efisien perlu di coba untuk mengetahui apakah efektif untuk mendeselularisasi jaringan kulit. Sehingga penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh teknik injeksi multiple SDS pada deselularisasi kulit tikus untuk pembuatan perancah (*scaffold*) kulit. Metode penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental dengan membagi dua kelompok yaitu kelompok perlakuan dan kelompok kontrol. Kemudian dilakukan isolasi jaringan dan proses deselularisasi. Selanjutnya hasil sampel yang telah didapat akan dilakukan evaluasi histologi, dan dinilai berdasarkan kriteria atau penilaian deselularisasi yaitu tidak adanya inti sel yang terlihat dalam analisis histologis dengan Hematoksin Eosin (HE). Hasil penelitian kelompok perlakuan menunjukkan gambaran makroskopis yang tampak bening pada bagian dermis dan putih pada bagian epidermis dan gambaran mikroskopis memperlihatkan hilangnya sel dengan mempertahankan ECM, dibandingkan dengan kelompok kontrol yang memperlihatkan gambaran makroskopis jaringan yang berwarna merah pada bagian dermis dan tampak putih kecoklatan pada bagian epidermis, dan gambaran mikroskopis memperlihatkan gambaran sel yang masih utuh. Kesimpulan dari penelitian ini yaitu injeksi multiple SDS merupakan teknik yang dapat menghasilkan kulit tikus terdeselularisasi dengan mempengaruhi hilangnya sel pada jaringan untuk pembuatan perancah (*scaffold*) kulit.

**Kata kunci :** Deselularisasi., Perancah (*scaffold*)., Injeksi Multiple Sds

### ABSTRACT

Decellularization is the process of making a scaffold by isolating the extracellular matrix (ECM). The most frequently reported technique for decellularizing skin tissue is perfusion, but the limited use of peristaltic pumps limits the use of this technique. More efficient techniques need to be tried to find out whether they are effective in decellularizing skin tissue. So this research aims to determine the effect of multiple SDS injection techniques on decellularization of rat skin for making skin scaffolds. The research method used was experimental research by dividing two groups, namely the treatment group and the control group. Then the tissue isolation and decellularization process are carried out. Next, the results of the samples that have been obtained will be subjected to a histological evaluation, and assessed based on the criteria or assessment of decellularization, namely the absence of cell nuclei visible in histological analysis with Hematoxylin Eosin (HE). The research results of the treatment group showed a macroscopic picture that appeared clear in the dermis and white in the epidermis and the microscopic picture showed cell loss while maintaining the ECM, compared to the control group which showed a macroscopic picture of tissue that was red in the dermis and appeared brownish white in the epidermis. , and microscopic images show images of cells that are still intact. The conclusion of this research is that multiple injections of SDS are a technique that can produce decellularized mouse skin by influencing the loss of cells in the tissue for making a skin scaffold.

**Keywords :** Decellularization., Scaffold., Multiple SDS injection.

## PENDAHULUAN

Kulit adalah organ kompleks pelindung tubuh yang melindungi organ internal terhadap gangguan eksternal. Luka kulit kronis merupakan kerusakan luas pada kulit yang dapat disebabkan karena adanya penyakit kulit, trauma mekanis, prosedur pembedahan, penurunan sirkulasi darah, luka bakar, maupun penuaan.<sup>1</sup> Data kerusakan kulit di Indonesia menempati urutan ketiga setelah kanker leher rahim dan kanker payudara. Menunjukkan bahwa 97% dari 389 kasus kerusakan diakibatkan penyakit kulit seperti dermatitis kontak, sebanyak 66,3% dari kasus tersebut adalah dermatitis kontak iritan dan 33,7% adalah dermatitis kontak alergi.<sup>2</sup> Selain itu hasil penelitian penderita kanker kulit non melanoma di RSUP Sanglah pada tahun 2014 – 2018 didapatkan 100 penderita kanker kulit non melanoma. Berdasarkan tipe histopatologinya terdapat 39 kasus (39,00%) Karsinoma Sel Basal dan 61 kasus (61,00%) Karsinoma Sel Skuamosa.<sup>3</sup>

Dari berbagai dan jumlah kasus kerusakan yang luas atau ireversibel akibat luka kronis. Tindakan bedah atau *Skin graft* seringkali digunakan untuk memberikan perlindungan kulit segera, dengan menggunakan pengganti kulit atau perancah (*scaffold*), untuk memandu perbaikan dan regenerasinya.<sup>1</sup> Metode ini merupakan *gold standard* untuk perawatan luka bagi kerusakan yang luas atau ireversibel.<sup>4</sup> Luka kronis dengan kerusakan yang luas atau ireversibel dapat memasuki keadaan inflamasi persisten dan keadaan lebih buruk yang ditandai dengan kronisitas dan sering kambuh, sehingga dibutuhkan pemulihan dermis dengan bantuan perancah (*scaffold*) tiga dimensi (3D) yang berfungsi sebagai template untuk memandu restrukturisasi sel dan infiltrasi host dari *skin graft*.<sup>1</sup>

Biomaterial yang dapat berpotensi digunakan sebagai pengganti kulit yaitu ADM atau Matriks Dermal Aseuler. Teknik untuk pembuatan perancah (*scaffold*) dari ADM dapat dilakukan dengan deselularisasi, yaitu proses yang dapat membersihkan ECM dari sel-sel asli dan materi genetik dengan mempertahankan isyarat struktural, biokimia, dan biomekaniknya.<sup>5</sup> Umumnya deselularisasi dilakukan dengan teknik fisika, agen kimia atau enzimatis maupun kombinasi. Teknik yang paling sering dilaporkan untuk mendeselularisasi yaitu teknik perendaman dan agitasi, maupun perfusi.<sup>6</sup> Teknik perfusi merupakan teknik yang paling umum digunakan untuk organ besar, tebal, maupun seluruh organ dengan bekerja langsung pada sistem vaskular organ sehingga meningkatkan efisiensi deselularisasi dan perfusi homogen melalui pembuluh darah aslinya.<sup>6</sup> Tetapi kelemahan pada teknik yaitu beberapa laboratorium dengan fasilitas terbatas tidak memiliki pompa peristaltik sehingga membatasi penggunaan teknik deselularisasi perfusi tersebut.<sup>7</sup> Teknik perendaman umumnya digunakan pada jaringan yang kecil, rapuh, dan tipis serta jaringan atau organ tanpa struktur vaskular, jadi pada jaringan yang besar, tebal ataupun seluruh organ seperti dermis, membutuhkan durasi yang lebih lama dibandingkan dengan perfusi.<sup>6</sup> Teknik perendaman dan agitasi juga memerlukan alat pompa pengaduk yang jarang tersedia di fasilitas laboratorium.<sup>8</sup>

Deselularisasi dengan agen kimia untuk pembuatan perancah (*scaffold*) umumnya menggunakan *Sodium Dodecyl Sulfate* (SDS). SDS dikatakan memenuhi persyaratan standar penghilangan sel lengkap dengan penghilangan setidaknya 90% dari DNA inang di beberapa jenis jaringan dan organ.<sup>6</sup> Penelitian deselularisasi kulit dengan SDS dikatakan metode yang paling berhasil dan aman dalam hal meminimalkan jumlah DNA dan risiko penolakan cangkok atau *skin graft* setelah transplantasi.<sup>9</sup>

Dikarenakan belum adanya penelitian pembuatan perancah kulit dengan deselularisasi menggunakan injeksi multipel SDS, oleh karena itu, tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengembangkan pembuatan perancah (*scaffold*) melalui deselularisasi kulit tikus dengan menggunakan metode yang lebih sederhana yaitu dengan injeksi multipel jarum suntik dengan bantuan agen SDS. Teknik ini dipilih karena ketersediaan alat yang baik dan juga karena telah adanya penelitian terdahulu. Penelitian oleh Antarianto dkk., 2019, telah berhasil mengembangkan multipel deselularisasi hati tikus menggunakan jarum suntik agen SDS untuk pembuatan perancah (*scaffold*) hati, dengan penilaian dilihat dari hasil deselularisasi sel-sel hati yang telah bebas sel. Maka dari itu diharapkan penelitian ini dapat mengetahui pengaruh injeksi multipel SDS pada deselularisasi kulit tikus untuk pembuatan perancah (*scaffold*) kulit.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian ini menggunakan populasi target Tikus Sprague-Dawley. Sedangkan populasi terjangkau yaitu tiga Tikus Sprague-Dawley jantan berumur 3-4 bulan, dengan berat 200-250 gram, bebas patogen, dan dipelihara di bawah kondisi lingkungan yang terkontrol (siklus terang-gelap 12 jam) dengan ketersediaan langsung makanan dan air. Sampel yang digunakan yaitu tiga jaringan kulit Tikus Sprague-Dawley kelompok kontrol dan tiga jaringan kulit Tikus Sprague-Dawley kelompok perlakuan.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari *hand scoon*, kapas, *minor set surgeon*, *zipline plastic bag*, papan potong, beaker *glass*, penggaris, timbangan, pH meter, bisturi, dan jarum suntik, spuit tuberkulin 1 cc, mikroskop magnus theia-l. dan Bahan yang digunakan diantaranya adalah larutan SDS, aquabidest, NaCl, formalin, alkohol, ketamin, *xylazine*, xylol, Hematoksin Eosin (HE).

### Isolasi Jaringan Kulit

Tikus akan dianestesi terlebih dahulu menggunakan injeksi ketamin intraperitoneal dan *xylazine* secara intramuskular. Kemudian dilakukan *shaving* dan dilanjutkan melakukan insisi pada punggung tikus sepanjang 2 cm dengan kedalaman 0,2 cm sejajar dengan ostium vertebrae dan berjarak 5 cm dari telinga. Sampel kulit yang telah di insisi diisolasi dan ditempatkan dalam stoples koleksi spesimen yang telah berisi larutan NaCl. Kulit yang telah diisolasi dalam toples disimpan dalam freezer -20°C sampai diproses lebih lanjut.

### Proses Deselularisasi

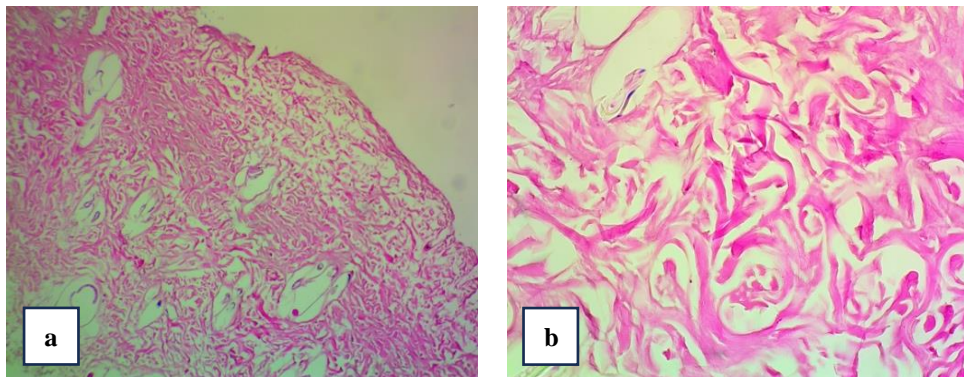
Langkah selanjutnya, kulit tikus dicairkan pada suhu kamar selama 1-2 jam. Kulit tikus yang sudah dibagi menjadi dua kelompok akan dipotong berbentuk kubus sebagai sampel dengan ukuran 1cm x 1cm x 0.2cm, kemudian sampel kulit tikus kontrol dan perlakuan dicuci dengan aquadest. Sampel kulit kelompok perlakuan kemudian akan disuntik dengan 25 ml dH<sub>2</sub>O dan diinjeksi selanjutnya dengan peningkatan konsentrasi SDS (0,1% - 0,25% - 0,5% - 0,75% - 1%) dengan volume total 25 ml dari masing-masing konsentrasi SDS. Semua injeksi dilakukan dengan spuit tuberkulin 1 cc. Secara total ada 9 titik injeksi untuk setiap sampel kulit. Setelah itu sampel kulit yang terdeselularisasi dicuci dengan 25 ml dH<sub>2</sub>O.

### Evaluasi Histologis

Dilanjutkan dengan melakukan fiksasi formalin 10% untuk analisis histologi lebih lanjut baik sampel tikus yang dideselularisasi dan kontrol. Kemudian, dilakukan proses pewarnaan dengan Hemaktosilin Eosin (HE). Setelah itu dilakukan pengambilan gambar sediaan histologi menggunakan mikroskop magnus *analytics*, dengan pembesaran 10 kali dan 40 kali pada setiap kelompoknya.

Penelitian ini sudah mendapatkan kelaikan etik penelitian dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Warmadewa, dengan nomor surat 343/Unwar/FKIK/EC-KEPK/VII/2023, tertanggal 4 Juli 2023. Pendanaan pada penelitian ini dibiayai secara pribadi oleh penulis dan penulisan jurnal ini bertujuan untuk kepentingan pendidikan sarjana penulis.

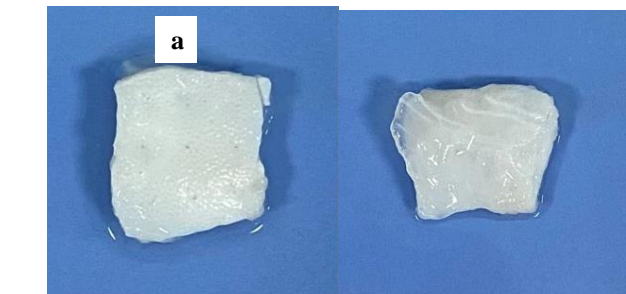
### HASIL



**Gambar 2.** Hasil gambaran mikroskopis sampel perlakuan. (a) pembesaran 10X, (b) pembesaran 40X

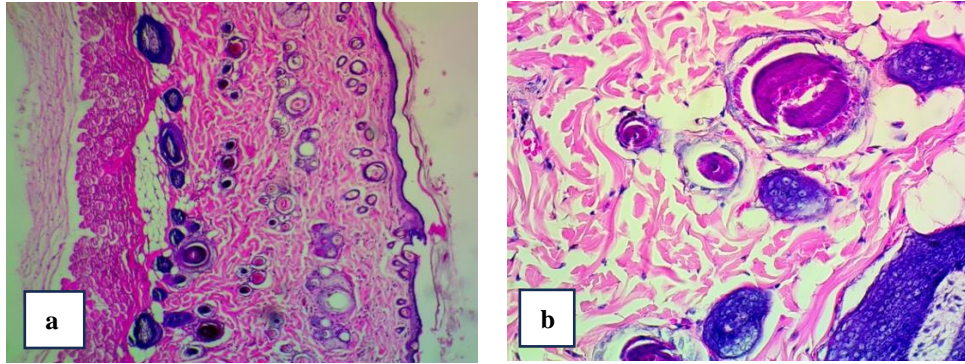
Sedangkan pada gambaran mikroskopis jaringan yang tidak terdeselularisasi gambarannya tampak sel-sel masih utuh pada ECM di seluruh

bagian jaringan (Gambar 3). Ketiga sampel kulit yang terdeselularisasi menunjukkan hasil yang konsisten di setiap proses dan hasilnya.



**Gambar 1.** Makroskopis jaringan deselularisasi. Jaringan kulit yang telah dilakukan injeksi multiple SDS bertingkat (a) tampak gambaran epidermis, (b) tampak gambaran dermis.

Hasil mikroskopis ketiga sampel kulit juga memperlihatkan perbedaan hasil gambaran jaringan yang telah dideselularisasi dengan jaringan yang tidak dilakukan deselularisasi, hasil mikroskopis jaringan dideselularisasi memperlihatkan gambaran sel-sel kulit yang telah bebas sel, dan jaringan ikat dermal yang terpelihara dengan baik secara keseluruhan yang dapat dilihat pada hasil sampel analisis histologis (Gambar 2).



Gambar 3. Hasil gambaran mikroskopis sampel kontrol. (a) pembesaran 10X, (b) pembesaran 40X

## PEMBAHASAN

Hasil proses deselularisasi dengan injeksi multipel dengan konsentrasi SDS bertingkat telah mengikuti penelitian perawatan SDS yang umumnya digunakan berkisaran 0,1-1%.<sup>1</sup> Kemudian mengacu pada penelitian Antarianto dkk pada tahun 2019 dengan menggunakan konsentrasi bertingkat, mampu memperlihatkan gambaran makroskopis yang sama, dengan mengikuti gambaran penelitian sebelumnya yaitu deselularisasi matriks dermal manusia,<sup>10,11</sup> yaitu berhasil menghasilkan sampel yang tampak putih setelah dilakukan deselularisasi. Selain itu terlihat dari hasil gambaran yang tampak berbeda jika dibandingkan dengan jaringan yang tidak dideselularisasi yang tampak berwarna putih kecoklatan, yang menandakan sel sel pada jaringan tetap utuh.

Penelitian ini juga hanya membutuhkan waktu 2-3 jam untuk menghasilkan kulit yang terdeselularisasi dengan hanya menggunakan metode injeksi multipel, yang diketahui umumnya proses deselularisasi dengan teknik perendaman membutuhkan waktu perendaman 12 hingga 24 jam khususnya untuk jaringan yang tebal dan kompleks yang mengandung lapisan konjungtiva padat atau epitel berlapis-lapis, seperti mesothelium, kulit, dan dinding kandung kemih.<sup>1</sup> Selain itu sembilan titik injeksi pada ukuran sampel 1 cm x 1 cm x 0.2 cm lebih baik dibandingkan menggunakan jumlah titik injeksi yang lebih sedikit, penyebaran larutan SDS pada satu titik injeksi berkisar 3 mm dari titik injeksi awal yang membuat larutan lebih tersebar rata. Pemanfaatan jarum suntik sebagai metode untuk deselularisasi sangat mudah dan murah di dapatkan dibandingkan metode agitasi yang membutuhkan rotator atau pengaduk yang digerakkan secara listrik, yang mungkin tidak tersedia di banyak laboratorium,<sup>8</sup> dan juga metode perfusi yang memerlukan pompa peristaltik, sehingga membatasi penggunaan teknik ini dikarenakan cukup sulit di temukan di fasilitas laboratorium.<sup>6</sup> Sehingga perlunya metode yang lebih sederhana dan mudah di dapatkan seperti metode injeksi multipel.

Salah satu keberhasilan deselularisasi juga perlu dilihat dalam gambaran mikroskopis, pada penelitian ini menunjukkan gambaran keberhasilan proses deselularisasi kulit dengan hilangnya sel pada gambaran mikroskopis dengan pewarnaan Hemaktosilin Eosin (HE) pada tiga sampel perlakuan. Percobaan pada ketiga sampel kulit mampu memperlihatkan hasil

mikroskopis deselularisasi kulit yang telah bebas sel, dibandingkan sampel kulit kontrol. Tidak adanya gambaran sel dapat dikonfirmasi oleh pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE) dan pemindaian mikroskop *electron*.<sup>9</sup> Sehingga penilaian kualitatif penghilangan sel ECM pada jaringan yang telah terdeselularisasi dapat terpenuhi.

Penelitian lain mengenai deselularisasi kulit banyak dilakukan dengan berbagai metode seperti metode fisik, metode kimia, maupun campuran. Seperti pada penelitian yang menggunakan metode kimia asam dan basa bekerja dengan cara penghilangan komponen nukleus dan sitoplasma sehingga pada gambaran mikroskopis mampu menghapus sel dalam jaringan dengan baik namun diketahui juga dapat menghilangkan faktor pertumbuhan jaringan dan mengganggu struktur mikro ECM.<sup>12</sup> Selain itu pada penelitian lainnya menggunakan Human dECM mendapatkan hasil analisis histologis yang baik untuk pembuatan *scaffold*, yang telah di teliti dengan analisis histologis dan kuantitatif matriks dermal memberikan bukti deselularisasi efektif dengan mempertahankan arsitektur jaringan, namun dengan bahan tersebut sulit mendapatkan sampel atau pendonor jaringan.<sup>10</sup> Dalam regenerasi kulit, pasokan yang terbatas merupakan tantangan besar aplikasi sebenarnya. Selain itu, umur jaringan yang di donor juga akan mempengaruhi deselularisasi jaringan.<sup>12</sup>

Penelitian terbaru yang dilakukan oleh Bual dkk, 2022 yaitu mengetahui karakterisasi deselularisasi ECM dari Kulit Ikan Bandeng (*Chanos chanos*) dengan membandingkan dua agen kimia seperti SDS dan Triton X-100 menggunakan dua konsentrasi 0.1% dan 1% dengan metode perendaman dan agitasi. Prosesnya juga membandingkan deselularisasi dilakukan pada suhu 25 °C suhu kamar dan sampel lainnya dilakukan di dalam lemari es suhu 4 °C. hasil penelitian tersebut menghasilkan agen kimia SDS 0,1% bila digunakan pada suhu 4 °C memberikan hasil yang paling menjanjikan di antara berbagai kondisi. Diketahui penggunaan SDS lebih efektif dalam menghilangkan komponen sel namun menyebabkan kerusakan struktural pada serat kolagen, terutama pada konsentrasi yang lebih tinggi.<sup>13</sup>

Dibandingkan dengan penelitian ini maupun penelitian oleh Antarianto dkk., 2019, deselularisasi dengan konsentrasi bertingkat SDS dengan metode injeksi multipel dapat konsisten menghasilkan sampel yang telah bebas sel dengan minimalnya

kerusakan struktural pada serat kolagen walaupun digunakan dengan sampel organ yang berbeda. Teknik perendaman dan agitasi diketahui memerlukan konsentrasi dan kondisi yang berbeda disetiap sampel untuk dapat menghasilkan deselularisasi yang baik.<sup>1</sup> Konsentrasi SDS memainkan peran penting dalam proses deselularisasi. Penggunaan SDS yang lebih rendah menyebabkan lebih sedikit terjadinya kerusakan protein ECM namun peningkatan efek sitotoksik karena lebih banyak sisa seluler.<sup>6</sup>

Menilai kualitas ECM yang terdeselularisasi, memerlukan penilaian deselularisasi yang lengkap, selain dilihat dari keberhasilan hilangnya sel-sel jaringan dalam gambaran mikroskopis dengan pewarnaan HE, juga perlunya kriteria untuk persiapan dECM yang dapat menyelaraskan hasil, struktur, sifat fisik dan biokimia dECM harus diusulkan.<sup>12</sup> Sehingga penelitian ini memerlukan eksperimen lebih lanjut seperti analisis kandungan DNA, dan imunohistokimia ECM untuk memastikan penilaian deselularisasi untuk pembuatan perancah (*scaffold*). Selain itu untuk masalah keamanan dalam aplikasi biomedis, hasil deselularisasi memerlukan uji biokompatibilitas dan reselularisasi.<sup>14</sup>

## SIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, teknik injeksi multipel SDS pada proses deselularisasi kulit tikus berhasil menghilangkan sel pada jaringan untuk pembuatan perancah (*scaffold*) kulit yang ditandai dengan gambaran makroskopis jaringan yang terinjeksi multipel SDS pada bagian epidermis terlihat bening dengan vaskularisasi jaringan yang tampak, dan dermis terlihat berwarna putih. Dan gambaran mikroskopis yang dilihat dari pembesaran 10x dan pembesaran 40x memperlihatkan kulit yang telah bebas sel dalam jaringan yang termasuk dalam kriteria penilaian deselularisasi.

Saran untuk penelitian ini perlu dilakukan eksperimen lebih lanjut seperti analisis kandungan DNA, dan imunohistokimia ECM kulit untuk penilaian kualitas perancah (*scaffold*) yang menyeluruh dari kulit yang telah dideselularisasi. Dan juga metode penelitian ini diharapkan dapat di teliti lebih lanjut untuk aplikasi klinis menggunakan jaringan kulit manusia autologus atau alogenik sebagai perancah kulit asli bagi terapi regeneratif kulit.

## REFERENSI

- Dussoyer M, Michopoulou A, Rousselle P. Decellularized scaffolds for skin repair and regeneration. *Applied Sciences (Switzerland)*. 2020;10(10).
- Kementerian Kesehatan RI. Profil Kesehatan Indonesia 2018. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2018;
- Yogiswara I, Saputra H, Ekawati N. Karakteristik pasien kanker kulit non-melanoma di RSUP Sanglah pada periode tahun 2014 - 2018. *Intisari Sains Medis* 2021;12(2):691.
- Schlottmann F, Bucan V, Vogt PM, Krezdorn N. A short history of skin grafting in burns: From the gold standard of autologous skin grafting to the possibilities of allogeneic skin grafting with immunomodulatory approaches. *Medicina (Lithuania)*. 2021;57(3):1–15.
- Gilpin A, Yang Y. Decellularization Strategies for Regenerative Medicine: From Processing Techniques to Applications. *Biomed Res Int*. 2017;2017.
- Zhang X, Chen X, Hong H, Hu R, Liu J, Liu C. Decellularized extracellular matrix scaffolds: Recent trends and emerging strategies in tissue engineering. *Bioact Mater*. 2022;10:15–31.
- Wettstein D, Hamar M, Cseprekál O, et al. Machine perfusion: New opportunities in abdominal organ transplantation. *Orv Hetil* 2018;159(46):1882–1890.
- Antarianto RD, Dewi AAAAP, Pragiwaksana A, Pawitan JA. Decellularization of liver cubes using multiple site syringe injection for generating native liver scaffold: Preliminary report. In: *AIP Conference Proceedings*. American Institute of Physics Inc., 2019;
- Macagonova O, Risnic D, Cociug A, Nacu V. Comparative analysis of the skin decellularization methods. *The Moldovan Medical Journal [homepage on the Internet]* 2021;64(2):79–86. Available from: <http://moldmedjournal.md/wp-content/uploads/2021/05/moldovan-med-j-2021-64-2-macagonova-et-al-full-text.pdf>
- Belviso I, Romano V, Sacco AM, et al. Decellularized Human Dermal Matrix as a Biological Scaffold for Cardiac Repair and Regeneration. *Front Bioeng Biotechnol* 2020;8:511639.
- Brouki Milan P, Pazouki A, Joghataei MT, et al. Decellularization and preservation of human skin: A platform for tissue engineering and reconstructive surgery. *Methods* 2020;171:62–67.
- Jiang S, Zhuang Y, Cai M, Wang X, Lin K. Decellularized extracellular matrix: A promising strategy for skin repair and regeneration. *Engineered Regeneration*. 2023;4(4):357–374.
- Bual R, Labares M, Valle KDD, et al. Characterization of Decellularized Extracellular Matrix from Milkfish (*Chanos chanos*) Skin. *Biomimetics* 2022;7(4).
- Hussein KH, Park KM, Kang KS, Woo HM. Biocompatibility evaluation of tissue-engineered decellularized scaffolds for biomedical application. *Materials Science and Engineering C*. 2016;67:766–778.

15. AA Ayu Asri Prima Dewi, Komang Trisna Sumadewi, Putu Diah Witari, Fransiscus Fiano Anthony Kerans, Luh Gde Evayanti, Dewa Ayu Agung Alit Suka Astini. Macroscopic and microscopic features of pancreatic scaffold generated by SDS-based decellularization using multiple needle injections. *Intisari Sains Medis* [Internet]. 2023 Oct. 31 [cited 2024 May 6];14(3):1028-31. Available from: <https://isainsmedis.id/index.php/ism/article/view/1843>
16. Lestari, A., Sri Agung Aryastuti, A., Putu Diah Witari, N., Wayan Sutarka, I., Wayan Sri Wardani, N., Hastuti, P., & Hamim Sadewa, A. (2020). MCP-1 Serum Levels were Higher in Patient with Diabetic Nephropathy among Balinese. *Indian Journal of Public Health Research & Development*, 11(2), 1456. <https://doi.org/10.37506/v11/i2/2020/ijphrd/195029>
17. Wati, G. A. P. R. ., Lestari, A., Aryastuti, S. A., Permatananda, P. A. N. K. . and Cahyawati, P. N. . (2023) “Interleukin-6 gene polymorphism (rs1800796) in patient with diabetic nephropathy among Balinese”, *JKKI : Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia*, 14(3), pp. 289–295. doi: 10.20885/JKKI.Vol14.Iss3.art9.

