

INTISARI

Keberhasilan rekayasa jaringan untuk regenerasi tulang ditentukan oleh 3 faktor yaitu perancah, signal molekuler, dan sel. Perancah harus mampu menyediakan lingkungan mikro untuk sel yang dapat menginduksi sel berdiferensiasi menjadi osteoblast sekaligus menghasilkan matriks tulang yang baru. Dalam penelitian ini, formulasi perancah koral buatan dikembangkan dan dikombinasikan dengan plasma kaya platelet (*platelet-rich plasma* atau PRP) untuk menyediakan lingkungan mikro dan signal molekuler guna menginduksi diferensiasi sel punca mesenkimal, mengembangkan formulasi perancah koral buatan serta menguji karakteristik fisis dan kimiawinya, menelaah kemampuannya apabila dikombinasi dengan PRP untuk menginduksi diferensiasi sel punca mesenkimal atau *mesenchymal stem cells* (MSC) menjadi osteoblas (*in vitro*), serta mengkonfirmasi bahwa kompleks tersebut dapat bekerja secara *in vivo*.

Penelitian dibagi ke dalam 3 tahap. Tahap pertama berupa pengembangan formulasi perancah koral buatan dilanjutkan uji pola difraksi sinar-X, spektra inframerah, mikrostruktur perancah, kemampuan pemuatan PRP, rasio *swelling*, profil degradasi, kapasitas pelepasan PRP, dan *zeta potential*, untuk menemukan kandidat komposisi terbaik. Tahap kedua adalah tahap penelitian *in vitro* pada 5 kelompok yaitu S0P0M1-OM (MSC, tanpa perancah dan tanpa PRP, dengan medium osteogenik), S1P1M1-OM (perancah, PRP, MSC, dengan medium osteogenik), S1P0M1-OM (perancah, tanpa PRP, MSC, dengan medium osteogenik), S0P0M1-SM (MSC tanpa perancah dan tanpa PRP dengan medium standar), S1P1M1-SM (perancah, PRP, MSC, dengan medium standar). Ekspresi *Runx2*, *Osterix*, dan Osteokalsin diamati menggunakan *reverse transcriptase* PCR, elektroforesis agarose gel, dan densitas ekspresi diukur menggunakan perangkat lunak Image-J. Tahap ketiga adalah uji pada hewan coba dengan melakukan implantasi pada regio subkutan punggung *Sprague Dawley*, dengan menggunakan kompleks S1P0M0 (perancah, tanpa PRP dan tanpa sel), S1P1M0 (perancah, dengan PRP, tanpa sel), S1P1M1 (perancah, dengan PRP dan dengan sel), S1P0M1 (perancah, tanpa PRP, dengan sel). Pengamatan imunohistokimiawi ekspresi osteokalsin dilakukan pada hari ke-7, 14, dan 21.

Hasil menunjukkan bahwa SC-05 dengan 50% berat CaCO_3 merupakan kandidat yang potensial untuk konstruksi komposit di antara berbagai komposisi perancah. Pabrikasi perancah koral buatan menghasilkan karakteristik yang ideal untuk regenerasi jaringan tulang ditinjau dari mikrostruktur dan arsitekturnya, rasio *swelling*, dan profil degradasinya. Berdasarkan hasil uji *in vitro* dan *in vivo* menggunakan hewan coba diketahui bahwa ketika perancah koral buatan dikombinasikan dengan PRP dan MSC (S1P1M1), maka sistem dapat menyediakan lingkungan mikro yang sesuai untuk MSC guna menghasilkan dan mensekresikan matriks ekstraselular tulang pada lingkungan *non-osseus* dilihat dari hasil implantasi subkutan *Sprague Dawley*.

Dapat disimpulkan bahwa sintesis membran kalsium karbonat telah berhasil menghasilkan perancah ideal menyerupai koral yang dapat menyediakan lingkungan mikro untuk MSC mensintesis dan mensekresikan matriks ekstra-

seluler tulang secara *in vitro* dan *in vivo*, dalam lingkungan *osseus* dan *non-osseus*.

Kata kunci: Perancah, koral buatan, sel punca mesenkimal, plasma kaya platelet, regenerasi tulang.

ABSTRACT

Scaffold, signal molecules and cells are considered to be important for tissue regeneration, including bone regeneration. Fundamental technology for tissue regeneration is preparation of biomaterials as an artificial scaffold to act as synthetic extracellular matrix. Scaffolds should provide natural microenvironment and proliferate signal molecules for cells to differentiate. In this study, formulation of synthetic coral scaffolds was developed and characterized. Scaffold ability to induce MSC (mesenchymal stem cells) to differentiate into osteoblast both in vitro and in vivo were also investigated.

The study was divided into 3 phases. At first, fabrication of synthetic coral scaffold was done by combining gelatin and calcium carbonate in various concentrations to be screened to achieve the most ideal one. For in vitro cell experiment, the most potential scaffold candidate was observed wherein 5 groups were investigated, i.e. S0P0M1-OM (MSC cultured in osteogenic medium), S1P1M1-OM (scaffold, PRP, MSC, with osteogenic medium), S1P0M1-OM (scaffold, without PRP, MSC, with osteogenic medium), S0P0M1-SM (MSC cultured in standard medium), S1P1M1-SM (scaffold, PRP, MSC, with standard medium). The cells were seeded and cultured for 7, 14 and 21 days. Runx, Osterix and Osteocalcin expressions were investigated by RT-PCR, gel agarose electrophoresis and Image-J software was used for measurement. To observe the success of the system in an animal model, implantation of the construct into subcutaneous tissue of *Sprague Dawley* rats was done with the following system: S1P0M0 (scaffold only), S1P0M0 (scaffold incorporated with PRP), S1P1M1 (scaffold incorporated with PRP and MSC) and S1P0M1 (scaffold with MSC). After 7, 14, 21 and 28 days, ectopic bone formation was observed by osteocalcin expression.

It was found that SC-05 with 50 weight% of CaCO₃ inside the scaffold was considered the most potential candidate for the composite construction among several compositions tested. Moreover, fabricated synthetic coral scaffold has ideal characteristics required for bone regeneration with respect to its microstructure and architecture, swelling ratio and its degradation profile. Based on the in vitro cell studies and in vivo studies using animal model, it was known that when the scaffold is combined with PRP and MSC, the system provides micro environment for MSC to generate and secrete bone extracellular matrix in osseous and non-osseous environment shown by the results of subcutaneous implantation.

It is concluded that synthesis of calcium carbonate film has successfully resulted ideal coral-like scaffold to provide micro environment for MSC to generate and secrete bone extracellular matrix both in vitro and in vivo, in osseous and non-osseous environment.

Key words: Scaffold, synthetic coral, *mesenchymal stem cells* (MSC), *platelet rich plasma* (PRP), bone regeneration