

TESIS

**PENGUNAAN *SILK FIBROIN SCAFFOLD* UNTUK
CEDERA MENISKUS: *SYSTEMATIC REVIEW***



Oleh

RAHMA AJENG PUSPITASARI
NIM. 081915053001

**PROGRAM STUDI MAGISTER TEKNIK BIOMEDIS
DEPARTEMEN FISIKA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

IR – PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

TESIS

**PENGUNAAN *SILK FIBROIN SCAFFOLD* UNTUK CEDERA
MENISKUS: *SYSTEMATIC REVIEW***

Oleh

**RAHMA AJENG PUSPITASARI
NIM. 081915053001**

**PROGRAM STUDI MAGISTER TEKNIK BIOMEDIS
DEPARTEMEN FISIKA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

IR – PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

TESIS

**PENGUNAAN *SILK FIBROIN SCAFFOLD* UNTUK CEDERA
MENISKUS: *SYSTEMATIC REVIEW***

Untuk Memenuhi Syarat Memperoleh Gelar Magister Teknik (M.T)

Dalam Program Studi Teknik Biomedis pada
Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga

Oleh:

RAHMA AJENG PUSPITASARI

NIM. 081915053001

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

DEPARTEMEN FISIKA

UNIVERSITAS AIRLANGGA

SURABAYA

2021

TESIS

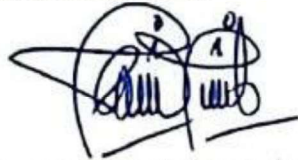
Penggunaan *Silk Fibroin Scaffold* Untuk Cedera Meniskus: *Systematic Review*

Yang dipersiapkan dan disusun oleh Rahma Ajeng Puspitasari
NIM. 081915053001

Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji
Pada tanggal 24 Agustus 2022

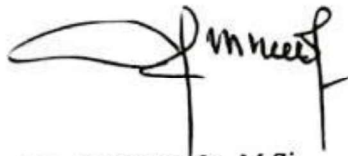
Susunan Dewan Penguji

Pembimbing Utama



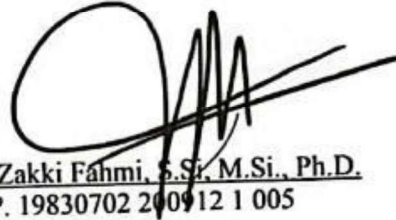
Dr. Prihartini Widiyanti, drg., M.Kes.
NIP. 19750222 200912 2 001

Pembimbing Pendamping



Dr. Aminatun, Ir., M.Si.
NIP. 19681028 199303 2 003

Penguji I



M. Zakki Fahmi, S.Si, M.Si., Ph.D.
NIP. 19830702 200912 1 005

Penguji II



Prof. Dr. Suryani Dyah Astuti, M.Si.
NIP. 19690804 199412 2 001

Penguji III



Dr. Aniek Setya Budiadin, Apt., M.Si.
NIP. 19591212 198903 2 001

Tesis ini telah diterima sebagai salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar
Magister Teknik

Mengetahui,
Ketua Departemen Fisika



Herri Trilaksana, S.Si., M.Si., Ph.D
NIP. 19771228 200312 1 003

Koordinator Program Studi S2
Teknik Biomedis



Prof. Dr. Suryani Dyah Astuti, M.Si.
NIP. 19690804 199412 2 001

LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Rahma Ajeng Puspitasari

NIM : 081915053001

Program Studi : Magister Teknik Biomedis

Judul Tesis : Penggunaan *Silk Fibroin Scaffold* untuk Cedera Meniskus:
Systematic Review

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa Tesis saya ini adalah asli (hasil karya sendiri) bukan merupakan hasil peniruan atau penjiplakan (plagiarisme) dari karya orang lain. Tesis ini belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar akademik.

Dalam tesis ini tidak terdapat pendapat yang telah tertulis atau dipublikasikan orang lain, kecuali secara tertulis dengan jelas dicantumkan sebagai acuan dengan disebutkan nama pengarang dan dicantumkan dalam daftar pustaka. Demikian, pernyataan ini dibuat tanpa adanya paksaan dari pihak manapun, apabila pernyataan ini tidak benar, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan norma dan peraturan yang berlaku di Universitas Airlangga.

Surabaya, 24 Agustus 2022


Rahma Ajeng Puspitasari
NIM. 081915053001

RINGKASAN

**PENGUNAAN *SILK FIBROIN SCAFFOLD* UNTUK CEDERA
MENISKUS: *SYSTEMATIC REVIEW***

Rahma Ajeng Puspitasari

Cedera meniskus lutut merupakan cedera yang paling sering ditangani dalam bedah ortopedi di seluruh dunia dengan 66-70 kasus penanganan per 100.00 kasus. Cedera meniskus jika dibiarkan dapat mengarahkan pada degeneratif sendi seperti osteoarthritis (OA) sehingga perlu dilakukan upaya dalam penanganannya karena meniskus memiliki peran yang penting sebagai bantalan sendi dan menjaga kestabilan sendi. Penanganan cedera meniskus cenderung lebih disukai untuk mempertahankan jaringan meniskus seperti dengan melakukan bedah atroskopi dan atau menisektomi parsial, namun tindakan ini dapat mengarahkan pada perubahan tekanan tibiofemoral yang dapat mengarahkan pada degeneratif sendi sehingga dilakukan upaya alternatif menggunakan *scaffold*. Penggunaan *autograft* dan *allograft* kurang disukai karena faktor keterbatasan donor dan reaksi imunorejeksi yang tidak diinginkan.

Bahan *silk fibroin* (SF) merupakan biomaterial yang ketersediaannya melimpah di alam dan telah banyak digunakan dalam aplikasi biomedis, beberapa studi menyatakan bahwa SF memiliki potensi sebagai pengganti jaringan meniskus namun memiliki sifat mekanik yang rendah sehingga perlu dikombinasikan dengan bahan lain agar komplementer satu sama lain. Review evaluasi morfologi, sifat mekanik, dan sifat biologi SF dan bahan perpaduannya pada *scaffold* untuk rekayasa jaringan meniskus belum pernah dilakukan. Oleh karena itu, review ini bertujuan untuk membuktikan hubungan penggunaan bahan SF pada *scaffold* terhadap struktur morfologi dan biokompatibilitas *scaffold* serta mengetahui bagaimana kombinasi material terbaik didalam scaffold berbahan dasar *silk fibroin* untuk rekayasa jaringan meniskus.

Seperti yang dijelaskan sebelumnya jaringan meniskus merupakan fibrokartilago yang terletak pada sendi lutut berbentuk huruf C berwarna putih dengan fungsi sebagai bantalan (*cushion*) dan keseimbangan dan kestabilan sendi lutut. Meniskus juga berfungsi sebagai fungsi kondroproteksi pada rawan artikular. Mekanisme perbaikan meniskal mengikuti dua pola yaitu jalur ekstrinsik dan intrinsik. Jalur ekstrinsik biasanya terjadi pada lesi area vaskular, terdapat jaring kapiler yang mensuplai sel mesenkim yang tidak berdiferensiasi dengan nutrisi untuk menginduksi penyembuhan. Jalur intrinsik didasarkan pada kapasitas

perbaikan diri dari fibrokartilago meniskal dan cairan sinovial. Semakin sentral lokasi cedera meniskus, semakin rendah responsivitas intrinsik. Dalam kasus ini, faktor lain diperlukan untuk memberikan respons biologis.

Rekayasa jaringan cedera meniskus mencakup banyak strategi termasuk penggunaan bahan dan sel, serta kombinasinya untuk menggantikan jaringan yang hilang, menggantikannya secara efektif baik secara struktural maupun fungsional. Dalam regenerasi meniskus, biomaterial yang digunakan memiliki syarat antara lain: biokompatibel menghindari penolakan tubuh (non toksik, non karsinogenik); dapat memandu pertumbuhan dan perkembangan sel dan jaringan, dengan didukung oleh ukuran pori, distribusi pori, dan interkoneksi pori untuk mendukung transpor nutrisi, oksigen, dan limbah hasil metabolisme; memiliki integritas dalam menopang sementara jaringan yang diperbaiki; mendukung adesi dan penempelan sel; serta kemampuan dalam rekayasa dan stabilitas implan *in vivo*. Sehingga dapat disingkat menjadi 3 bahwa arsitektur/morfologi, sifat mekanik, dan sifat biologis merupakan faktor yang penting.

Jenis dan desain penelitian ini menggunakan metode *systematic review* dengan melakukan indentifikasi, evaluasi, dan interpretasi terhadap semua hasil penelitian yang relevan terhadap pertanyaan penelitian, topik, dan fenomena yang menjadi perhatian. Dalam metode *systematic review*, terdapat metode kuantitatif dan kualitatif. Pendekatan kualitatif dalam *systematic review* digunakan untuk mensintesis (merangkum) hasil-hasil penelitian yang bersifat deskriptif kualitatif. Metode mensintesis (merangkum) hasil-hasil penelitian kualitatif ini disebut dengan “meta-sintesis”. Secara definisi, meta-sintesis adalah teknik melakukan integrasi data untuk mendapatkan teori maupun konsep baru atau tingkatan pemahaman yang lebih mendalam dan menyeluruh.

Pada penelitian ini, pencarian data dilakukan pada 3 database, yaitu: *Pubmed*, *Scopus*, dan *Web of Science*. Langkah-langkah *systematic review* dimulai dengan memformulasikan pertanyaan penelitian, sintesis bertujuan untuk menjawab pertanyaan penelitian (*review question*) dengan merangkum berbagai hasil penelitian (*summarizing*). Untuk merumuskan pertanyaan penelitian, digunakan menggunakan format PICO (*Population, Intervention, Comparison, Outcome*). Topik penelitian dielaborasi menjadi tema-tema tertentu untuk menghasilkan kerangka analisis (*conceptual framework*). Kemudian, dalam tema-tema tertentu tersebut dilakukan pencarian artikel hasil penelitian yang relevan dan dibandingkan dan dirangkum antar yang satu dengan yang lainnya. Hasil sintesis merupakan “agregat” dari berbagai hasil penelitian sesuai dengan tema yang relevan. Dalam melakukan *systematic review*, diperlukan kriteria inklusi dan eksklusi. Kriteria inklusi dan eksklusi pada penelitian ini: (1) Inklusi: (a) Jenis penelitian: eksperimen, *research article*; (b) Studi mengenai meniskus *scaffold* berbahan *SF*, teknik pembuatan dan morfologi *scaffold*, sifat mekanik, dan biologis

yang diuji secara *in vitro* dan *in vivo*; (c) Artikel yang dipilih menggunakan bahasa Inggris, dikarenakan bahasa yang paling umum digunakan dalam penulisan saintifik; (2) Eksklusi: (a) Pada jurnal review; (b) Jaringan selain meniskus; (c) Bukan SF dari *Bombyx mori*; (d) Duplikasi judul dari pencarian *reference manager*; (e) Dupikasi judul (dari pembacaan manual).

Studi ini menggunakan data analisis kualitatif, analisis data dilakukan pada artikel 10 tahun terakhir mengenai topik perkembangan rekayasa jaringan meniskus menggunakan bahan SF menggunakan teknik meta-sintesis. Meta-sintesis dilakukan pada penelitian yang memenuhi kriteria inklusi dan menyertakan data yang sesuai, serta dokumentasi mengenai pengumpulan, pembelajaran dan analisis data sekunder yang telah diperoleh. Metode penyajian data yang digunakan dalam penelitian ini adalah penyajian data yang disajikan dalam bentuk dokumentasi dan tabel yang dapat membantu menjelaskan penelitian dan hasil penelitian. Studi dikelompokkan menurut model eksperimen: model hewan *in vitro* dan *in vitro*, dan implantasi *in vivo*. Kami memasukkan semua studi eksperimental *in vitro* dan *in vivo* yang mengevaluasi regenerasi meniskus setelah penerapan *scaffold* atau cangkok pada model hewan dilaporkan dalam artikel yang ditulis dalam bahasa Inggris dengan tanggal publikasi 10 tahun terakhir sejak 2011 dan yang melaporkan hasil histologis yang terukur.

Berdasarkan pembahasan yang telah dilakukan, bahan *silk fibroin* memiliki hubungan terhadap morfologi struktur, sifat mekanik, dan sifat biologis *scaffold*. Teknologi seperti *particulate leaching*, *gas foaming*, *freeze-thawing*, *freeze-drying*, dan *phase separation* digunakan dalam pembuatan *scaffold* berbahan SF dapat memberikan struktur *sponge* isotropik. Struktur isotropik *scaffold* menunjukkan hasil pertumbuhan sel kondrosit yang lebih baik dibandingkan struktur *aligned*, hal ini disebabkan oleh sifat alami sel kondrosit penyusun meniskus yang tinggal pada lakuna-lakuna ECM meniskus yang berbentuk bulat. Berdasarkan evaluasi sifat mekanik, kombinasi bahan PCL dan SF menunjukkan sifat mekanik yang hampir mendekati rentang sifat mekanik meniskus ideal. Evaluasi sifat biologi pada *scaffold* menunjukkan bahwa kehadiran SF mampu mendorong penempelan sel, viabilitas sel baik, dan mendukung pertumbuhan jaringan. Hal ini disebabkan oleh sifat SF yang telah dimodifikasi memiliki sifat hidrofilik yang mendukung penempelan sel, dan interaksi sel dengan protein primer SF yang mendukung *anchoring* dan perubahan perilaku sel yang mendorong tumbuh kembang sel.

ABSTRACT

**ADVANCES OF SILK FIBROIN SCAFFOLD FOR MENISCAL
INJURIES: SYSTEMATIC REVIEW**

Rahma Ajeng Puspitasari

Meniscus injury is one of the most frequently treated knee injuries worldwide. Untreated meniscus injuries can cause joints degenerative such as osteoarthritis (OA). To treat meniscus injuries, arthroscopy or partial meniscectomy is generally performed. But partial meniscectomy procedure can lead to OA. Due to the limitations of allograft and autograft to replace the damaged meniscus, tissue engineering using scaffold is an alternative in meniscus repair. Silk fibroin (SF) material which is biocompatible, biodegradable, and good mechanical properties has chondroprotective properties and can be used in meniscus repair. The purpose of the systematic review in this study was to determine the relationship of silk fibroin to the structural morphology, mechanical and biological properties of the meniscus scaffold. Article searches were conducted on three databases, from a total of 104 studies, 13 studies were found that met the eligibility for qualitative studies. Data extraction was carried out by reading the full article by taking morphological assessment data such as scanning electron microscopy (SEM) or micro-CT (m-CT); mechanical properties such as compression and tensile modulus; and biological properties including assessment of cell viability and toxicity also histological-immunohistochemical evaluation as confirmation of the regenerated tissue. Based on data analysis, it is proven that SF has an influence on architecture/morphology, mechanical properties, and biological properties in supporting tissue engineering in meniscus injuries.

Keywords: meniscus, meniscal tear, scaffold, silk fibroin

UCAPAN TERIMA KASIH

Assalamualaikum wr. wb.,

Puji syukur Kehadirat Allah SWT atas karunia yang telah dilimpahkan sehingga penulis dapat melaksanakan dan menyelesaikan penelitian dan menyelesaikan tesis dengan judul **Penggunaan *Silk Fibroin Scaffold* Untuk Cedera Meniskus: *Systematic Review***.

Pada kesempatan ini, penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Pembimbing tesis, Ibu Dr. Prihartini Widiyanti, drg., M.Kes. dan Ibu Dr. Ir. Aminatun, M.Si. atas inspirasi, pengetahuan, bimbingan dan arahan, serta dorongan semangat dalam penulisan manuskrip.
2. Penguji tesis, Bapak M. Zakki Fahmi, S.Si, M.Si., Ph.D., Ibu Prof. Dr. Suryani Dyah Astuti, M.Si., dan Ibu Dr. Aniek Setya Budiadin, Apt., M.Si., atas waktu, insight, dan *peer review* yang telah diberikan dalam studi. Merupakan kehormatan memiliki mereka sebagai dosen yang menginspirasi penelitian ini.
3. Dekan Fakultas Sains dan Teknologi, Prof. Dr. Moh. Yasin, Drs., M.Si. dan Ketua Departemen Fisika Herri Trilaksana, S.Si., M.Si., Ph.D, dan seluruh staff dosen pengajar pada Magister Teknik Biomedis, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga, atas wawasan saintifik selama pendidikan Magister.

4. Asisten akademik S2 Teknik Biomedis, Ibu Prima Sari Wijayani, yang tidak kenal lelah dalam membantu saya dalam pengurusan berkas/dokumen akademik.
5. Teman-teman dan juga kolega yang tidak dapat disebutkan satu persatu, tetapi kepada semuanya saya mengucapkan apresiasi secara tulus atas doa dan semangatnya kepada penulis. Hal ini merupakan pengalaman yang tidak terlupakan menjadi bagian dari Magister Teknik Biomedis Universitas Airlangga.
6. Secara khusus, doa dan ucapan terima kasih penulis kepada kedua orang tua, saudara, dan anggota keluarga yang lain atas kasih sayang dan dorongan motivasi dalam menyelesaikan tesis ini.

Surabaya, 27 Agustus 2022

Penulis

DAFTAR ISI

Sampul Depan	i
Sampul Dalam	ii
Lembar Prasyarat Gelar	iii
Lembar Persetujuan	iv
Lembar Pernyataan Orisinalitas	vi
Ringkasan	vii
<i>Abstract</i>	x
Ucapan Terima Kasih	xi
Daftar Isi	xiii
Daftar Tabel	xv
Daftar Gambar	xvi
Daftar Singkatan dan Simbol	xvii

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian	6
1.4 Batasan Masalah	6
1.5 Manfaat Penelitian	7

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Anatomi dan Fisiologi Meniskus	8
2.2 Cedera Meniskus dan Perawatannya	12
2.3 Rekayasa Jaringan untuk Cedera Meniskus	17
2.4 Persyaratan <i>Scaffold</i>	21
2.5 Biomaterial <i>Scaffold</i> Meniskus	25
2.6 <i>Silk Fibroin</i>	30
2.7 Morfologi Permukaan <i>Scaffold</i>	35
2.8 Pembuatan <i>Scaffold</i> Meniskus	37

BAB III KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konseptual	40
3.2 Hipotesis Penelitian	41

BAB IV METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Jenis dan Desain Penelitian.....	42
4.2 Populasi (Sumber Informasi) dan Bahan Penelitian	45
4.3 Instrumen dan Lokasi Penelitian.....	45
4.4 Prosedur Pengumpulan dan Pengambilan Data	46
4.5 Metode Analisis dan Penyajian Data	47
4.6 Penelitian Awal (<i>Preliminary</i>)	48

BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Hasil Pencarian.....	51
5.1.1 Karakteristik Studi	51
5.1.2 Hasil Objektif.....	56
5.1.3 Penilaian Bias Publikasi.....	61
5.2 Data Ekstraksi	62
5.2.1 Bahan/Material.....	63
5.2.2 Studi Arsitektur dan Struktur <i>Scaffold</i>	63
5.2.3 Studi Sifat Mekanik	73
5.2.4 Studi Pengujian Biokompatibilitas.....	79

BAB VI PENUTUP

6.1 Simpulan	93
6.2 Saran.....	93

Daftar Pustaka	xviii
----------------------	-------

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Karakteristik fisik jaringan meniskal asli
Tabel 2.2	Biomaterial untuk fabrikasi scaffold 3D meniskal dalam rekayasa jaringan
Tabel 4.1	Daftar jurnal yang digunakan dalam penelitian
Tabel 5.1	Karakteristik studi
Tabel 5.2	Rangkuman hasil
Tabel 5.3	Karakteristik morfologi <i>scaffold</i>
Tabel 5.4	Sifat mekanik <i>scaffold</i>
Tabel 5.5	Viabilitas sel pada <i>scaffold</i>
Tabel 5.6	Evaluasi histologi dan imunohistokimia

DAFTAR GAMBAR

- Gambar 2.1 Ilustrasi sel dan jaringan fibrosa meniskus
Gambar 2.2 Ilustrasi meniskus tibial plateau jika dilihat dari atas
Gambar 2.3 Distribusi beban meniskus
Gambar 2.4 Ilustrasi berbagai jenis robekan meniskal
Gambar 2.5 Ilustrasi mendemonstrasikan teknik *meniscal scaffolding*
Gambar 2.6 Jalur pensinyalan intraseluler sederhana yang diaktifkan oleh molekul sinyal ekstraseluler
Gambar 2.7 Representasi sel yang diunggulkan pada lapisan medial dan lateral *scaffold fibroin* untuk meniru jaringan meniskus asli dan analisis histologi jaringan dewasa
Gambar 2.8 Gambaran umum tentang asal dan struktur *silk fibroin*
Gambar 2.9 Ilustrasi sifat permukaan material dan efeknya terhadap perilaku sel
Gambar 2.10 Sitoskeleton *actin* terbentuk. Integrin membantu adhesi fokal dengan substrat
Gambar 2.11 Gambar SEM *scaffold* 3D
Gambar 3.1 Kerangka konseptual
Gambar 4.1 Diagram alir proses seleksi artikel
Gambar 5.1 Diagram alir metode PRISMA
Gambar 5.2 *Scaffold* yang digunakan dalam studi
Gambar 5.3 Bersama dengan autofluorosensi dari *scaffold*, sitoskeleton *F-actin* muncul dengan warna merah dan inti sel muncul dengan warna biru
Gambar 5.4 Gambaran histologi dari meniskus teregenerasi dan *native meniscus*

DAFTAR SINGKATAN DAN SIMBOL

3D	: tiga dimensi, <i>three dimension</i>	PLA	: <i>polylactic acid</i>
AA	: asam askorbat	PLGA	: <i>co-polymer</i> PGA-PLA
ACL	: <i>anterior cruciate ligament</i>	PR	: pewarnaan <i>picrosirius red</i>
ATDC5	: sel ATDC5	PU	: <i>polyurethane</i>
BC	: <i>bacterial cellulose</i>	RGD	: asam amino Arg-Gly-Asp
BMSC	: <i>bone marrow mesechimal stem cells</i>	SEM	: <i>scanning electron microscopy</i>
BrdU	: <i>BrdU assay</i>	SEP	: protein cangkang telur
CCK-8	: <i>Cell Counting Kit-8 assay</i>	SF	: <i>silk fibroin</i>
CLS	: mikroskop konfokal	SO	: pewarnaan <i>Safarin O</i>
CMI	: <i>collagen meniscus implant</i>	Sr ²⁺	: unsur kimia Sr
Col	: kolagen	TB	: pewarnaan <i>toluidine blue</i>
Col I	: kolagen Tipe I	Wt	: <i>weight</i>
Col II	: kolagen Tipe II	μ-CT	: <i>micro computed tomography</i>
ECM	: matriks ekstraseluler		
EiC	: <i>entrapped in cage</i> , terperangkap dalam sangkar		
F-actin	: <i>actin fillament</i>		
GAG	: <i>glicosaminoglican</i>		
Gel	: gelatin		
GF	: <i>growth factor</i>		
H	: <i>heavy chain</i>		
H&E	: pewarnaan <i>Hematoxylin and Eosin</i>		
HFIP	: <i>hexafluoro isopropanol</i>		
kDa	: <i>kilo Daltons</i>		
L	: <i>light chain</i>		
L7	: <i>peptide L7</i>		
MTT	: <i>MTT assay</i>		
Mw	: <i>molecule weights</i>		
NA	: tidak ada jawaban, tidak tersedia		
OA	: osteoarthritis		
PCL	: <i>polycaprolactone</i>		
PGA	: <i>polyglycolic acid</i>		