



REPUBLIK INDONESIA
KEMENTERIAN HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA

SERTIFIKAT PATEN

Menteri Hukum dan Hak Asasi Manusia atas nama Negara Republik Indonesia berdasarkan Undang-Undang Nomor 13 Tahun 2016 tentang Paten, memberikan hak atas Paten kepada:

Nama dan Alamat Pemegang Paten : Dr. PURWATI, SpPD, FiNASIM.
Rungkut Harapan E10,
Surabaya, Jawa Timur, Indonesia

Untuk Invensi dengan Judul : METODE PEMBUATAN JARINGAN REKAYASA SEL PUNCA
(STEM CELL TISSUE ENGINEERING) UNTUK TERAPI ULKUS

Inventor : Dr. PURWATI, SpPD, FiNASIM

Tanggal Penerimaan : 13 Februari 2015

Nomor Paten : IDP000063071

Tanggal Pemberian : 02 Oktober 2019

Perlindungan Paten untuk invensi tersebut diberikan untuk selama 20 tahun terhitung sejak Tanggal Penerimaan (Pasal 22 Undang-Undang Nomor 13 Tahun 2016 tentang Paten).

Sertifikat Paten ini dilampiri dengan deskripsi, klaim, abstrak dan gambar (jika ada) dari invensi yang tidak terpisahkan dari sertifikat ini.



a.n. MENTERI HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA
DIREKTUR JENDERAL KEKAYAAN INTELEKTUAL

Dr. Freddy Harris, S.H., LL.M., ACCS.
NIP. 196611181994031001

KEMENTERIAN HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA RI
DIREKTORAT JENDERAL KEKAYAAN INTELEKTUAL
DIREKTORAT PATEN, DESAIN TATA LETAK SIRKUIT TERPADU DAN RAHASIA DAGANG
 Jln. H.R. Rasuna Said, Kav. 8-9 Kuningan Jakarta Selatan 12940
 Phone/Facs. (6221) 57905611; Website: www.dgip.go.id

INFORMASI BIAYA TAHUNAN

Nomor Paten : IDP000063071 Tanggal diberi : 02/10/2019 Jumlah Klaim : 3
 Nomor Permohonan : P00201500867 IPAS Filing Date : 13/02/2015
 Entitlement Date : 13/02/2015

Berdasarkan Peraturan Pemerintah Nomor 28 tahun 2019 tentang Jenis dan Tarif Atas Jenis Pencrimaan negara Bukan Pajak Yang Berlaku Pada Kementerian Hukum dan Hak Asasi Manusia, biaya tahunan yang harus dibayarkan adalah sebagaimana dalam tabel di bawah.

Biaya Tahunan Ke-	Periode Perlindungan	Batas Akhir Pembayaran	Biaya Dasar	Jml Klaim	Biaya Klaim	Total	Terlambat (Bulan)	Total Denda	Jumlah Pembayaran
1	13/02/2015-12/02/2016	01/04/2020	1.000.000	3	225.000	1.225.000	0	0	1.225.000
2	13/02/2016-12/02/2017	01/04/2020	1.000.000	3	225.000	1.225.000	0	0	1.225.000
3	13/02/2017-12/02/2018	01/04/2020	1.000.000	3	225.000	1.225.000	0	0	1.225.000
4	13/02/2018-12/02/2019	01/04/2020	1.250.000	3	300.000	1.550.000	0	0	1.550.000
5	13/02/2019-12/02/2020	01/04/2020	1.250.000	3	300.000	1.550.000	0	0	1.550.000
6	13/02/2020-12/02/2021	01/04/2020	1.750.000	3	525.000	2.275.000	0	0	2.275.000
7	13/02/2021-12/02/2022	14/01/2021	2.250.000	3	675.000	2.925.000	0	0	2.925.000
8	13/02/2022-12/02/2023	14/01/2022	2.250.000	3	675.000	2.925.000	0	0	2.925.000
9	13/02/2023-12/02/2024	14/01/2023	3.000.000	3	900.000	3.900.000	0	0	3.900.000
10	13/02/2024-12/02/2025	14/01/2024	4.000.000	3	900.000	4.900.000	0	0	4.900.000
11	13/02/2025-12/02/2026	14/01/2025	6.500.000	3	1.500.000	8.000.000	0	0	8.000.000
12	13/02/2026-12/02/2027	14/01/2026	6.500.000	3	1.500.000	8.000.000	0	0	8.000.000
13	13/02/2027-12/02/2028	14/01/2027	6.500.000	3	1.500.000	8.000.000	0	0	8.000.000
14	13/02/2028-12/02/2029	14/01/2028	6.500.000	3	1.500.000	8.000.000	0	0	8.000.000
15	13/02/2029-12/02/2030	14/01/2029	6.500.000	3	1.500.000	8.000.000	0	0	8.000.000
16	13/02/2030-12/02/2031	14/01/2030	6.500.000	3	1.500.000	8.000.000	0	0	8.000.000
17	13/02/2031-12/02/2032	14/01/2031	6.500.000	3	1.500.000	8.000.000	0	0	8.000.000
18	13/02/2032-12/02/2033	14/01/2032	6.500.000	3	1.500.000	8.000.000	0	0	8.000.000
19	13/02/2033-12/02/2034	14/01/2033	6.500.000	3	1.500.000	8.000.000	0	0	8.000.000
20	13/02/2034-12/02/2035	14/01/2034	6.500.000	3	1.500.000	8.000.000	0	0	8.000.000

Biaya yang harus dibayarkan untuk pertama kali hingga tanggal 20/11/2019 (tahun ke-1 s.d 6) adalah sebesar 9.050.000

- Pembayaran biaya tahunan untuk pertama kali wajib dilakukan paling lambat 6 (enam) bulan terhitung sejak tanggal diberi paten
- Pembayaran biaya tahunan untuk pertama kali meliputi biaya tahunan untuk tahun pertama sejak tanggal penerimaan sampai dengan tahun diberi Paten ditambah biaya tahunan satu tahun berikutnya.
- Pembayaran biaya tahunan selanjutnya dilakukan paling lambat 1 (satu) bulan sebelum tanggal yang sama dengan Tanggal Penerimaan pada periode perlindungan tahun berikutnya.
- Permohonan penundaan pembayaran biaya tahunan akan diterima apabila diajukan paling lama 7 hari kerja sebelum tanggal jatuh tempo pembayaran biaya tahunan berikutnya, dan bukan merupakan pembayaran biaya tahunan pertama kali.
- Dalam hal biaya tahunan belum dibayarkan sampai dengan jangka waktu yang ditentukan, Paten dinyatakan dihapus



KEMENTERIAN HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA
REPUBLIK INDONESIA
DIREKTORAT JENDERAL KEKAYAAN INTELEKTUAL
Jl. H.R. Rasuna Said Kav 8-9, Kuningan, Jakarta Selatan, 12940
Telepon: (021) 57905611 Faksimili: (021) 57905611
Laman: <http://www.dgip.go.id> Surel: dopatent@dgip.go.id

Nomor : HKI-3-HI.05.02.04.P00201500867-DP **G3071**
Lampiran : 1 (satu halaman)
Hal : Pemberitahuan dapat diberi Paten

02 OCT 2019

Yth. George Widjojo
George Widjojo & Partners
Jln. Kali Besar Barat No. 5, Jakarta Kota 11230

Dengan ini diberitahukan, bahwa sesuai dengan hasil pemeriksaan substantif terlampir, permohonan paten berikut ini dinyatakan dapat diberi Paten:

Nomor Permohonan : P00201500867
Tanggal Penerimaan : 13 Februari 2015
Pemohon : Dr. PURWATI, SpPD, FINASIM.
Judul invensi : ADIPOSE DERIVED STEMCELL TISSUE ENGINEERING UNTUK TERAPI ULKUS DIABETIK



00-2019-313492



Direktor Paten, Desain Tata Letak
Sirkuit Terpadu dan Rahasia Dagang,

Dra. Dede Mia Yusanti, MLS.
NIP. 196407051992032001

Tembusan:

1. Yth. Direktur Jenderal Kekayaan Intelektual (sebagai Laporan)
2. Dra. Johani Siregar
NIP. 196805261995032001



(12) PATEN INDONESIA

(11) IDP000063071 B

(19) DIREKTORAT JENDERAL
KEKAYAAN INTELEKTUAL

(45) 02 Oktober 2019

- 1) Klasifikasi IPC⁸ : A61L 27/60
1) No. Permohonan Paten : P00201500867
1) Tanggal Penerimaan: 13 Februari 2015

Data Prioritas :
(31) Nomor (32) Tanggal (33) Negara

Tanggal Pengumuman: 11 November 2016

Dokumen Perbandingan:
Laporan Penelitian "Induksi *in vitro* sel punca mesenkim dari talus pusat manusia menjadi sel punca limbal", Puslitbang Biomedis dan Teknologi kesehatan republik Indonesia, Jakarta, 2012 oleh Dr. Lutfah Rifati, SpM.

(71) Nama dan Alamat yang Mengajukan Permohonan Paten :
Dr. PURWATI, SpPD, FINASIM.
Rungkut Harapan E10,
Surabaya, Jawa Timur, Indonesia

(72) Nama Inventor :
Dr. PURWATI, SpPD, FINASIM, ID

(74) Nama dan Alamat Konsultan Paten :
George Widjojo, S.H.
086/2006
George Widjojo & Partners
Jl. Kali Besar Barat No. 5,
Jakarta Kota 11230
INDONESIA

Pemeriksa Paten : Dra. Johani Siregar

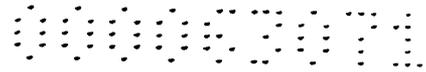
Jumlah Klaim : 3

Intensi : METODE PEMBUATAN JARINGAN REKAYASA SEL PUNCA (*STEM CELL TISSUE ENGINEERING*) UNTUK TERAPI
ULKUS

Deskripsi :

ini berkaitan dengan metode pembuatan jaringan rekayasa sel punca (*stem cell tissue engineering*) yang merupakan perpaduan *mesenchymal stem cell* (MSC) yang berasal dari membran amnion yang dikombinasikan dengan *scaffold* selulosa asetat – kolagen mempercepat penyembuhan luka pada terapi ulkus melalui efek parakrin dan efek *stem cell* itu sendiri. Adapun tahapan-tahapan pembuatan jaringan rekayasa ini adalah : 1) mengisolasi *stem cell* dari membran amnion dengan menggunakan enzim trypsinase, 2) mengkultur *stem cell* dengan medium penumbuh sel Alfa-MEM untuk dihasilkan *mesenchymal stem cell* sebanyak 2×10^7 , 3) mengkarakterisasi *mesenchymal stem cell* dengan marker positif CD105, CD44 dan CD90, 4) membuat *scaffold* dengan komposisi selulosa:kolagen 3:1 kemudian diproses dengan teknik *electrospinning* untuk menghasilkan nanofiber *scaffold* yang berukuran 40-100 nm, 5) *seeding stem cell* pada *scaffold* di dalam inkubator CO₂ 5% selama 3 hari sehingga dihasilkan *amnionic membrane derived tissue engineering* untuk penyembuhan luka, 6) karakterisasi morfologi dengan *scanning electron microscope* untuk mengamati morfologi antara *stem cell* dengan *scaffold*.





Deskripsi

METODE PEMBUATAN JARINGAN REKAYASA SEL PUNCA (STEM CELL TISSUE ENGINEERING) UNTUK TERAPI ULKUS

5

Bidang Teknik Invensi

Invensi ini berkaitan dengan metode pembuatan jaringan rekayasa sel punca (*stem cell tissue engineering*) yang merupakan perpaduan dari *mesenchymal stem cell* (MSC) yang berasal dari membran amnion yang dikombinasikan dengan *scaffold* selulosa asetat - kolagen untuk mempercepat penyembuhan luka pada terapi ulkus melalui efek parakrin dan efek *stem cell* itu sendiri.

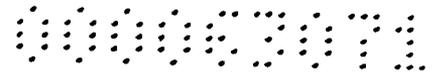
15

Latar Belakang Invensi

Penyembuhan luka adalah proses regenerasi jaringan komplek yang dialami tubuh sebagai respon terhadap hilangnya struktur seluler akibat berbagai jenis cedera traumatis. Pada manusia dewasa, penyembuhan luka yang optimal melibatkan: 1) hemostasis yang cepat, 2) peradangan, 3) diferensiasi sel mesenkim, proliferasi dan migrasi ke daerah luka, 4) angiogenesis yang baik, 5) epitelisasi segera (pertumbuhan kembali jaringan epitel di atas permukaan luka), dan 6) sintesis yang tepat, ikatan silang serta penjajaran kolagen untuk memberikan kekuatan pada jaringan penyembuhan (Gosain & DiPietro, 2004; Mathieu, 2006). Untuk memfasilitasi penyembuhan luka yang efektif, daerah luka biasanya ditutup dengan bahan pembalut steril untuk menghindari infeksi dan memungkinkan proses penyembuhan.

30

Dalam dekade terakhir, regenerasi kulit dari *xenograft*, *allograft* dan *autograft* telah digunakan untuk penyembuhan



luka. Namun, karena kemampuan bahan atau antigen untuk menginduksi respon imun (antigenisitas) yang tinggi atau jaringan donor yang terbatas, metode regenerasi kulit tersebut tidak dapat digunakan secara luas. Banyak studi telah beralih ke pendekatan rekayasa jaringan yang menerapkan prinsip biologi, kimia dan ilmu teknik untuk regenerasi jaringan. Pendekatan yang digunakan dalam rekayasa jaringan lebih ke penggunaan biomaterial, sel atau kombinasi keduanya, dan biokimia yang sesuai dan faktor fisiko-kimia untuk memulihkan, memelihara dan meningkatkan fungsi biologis.

Hal terpenting dalam rekayasa jaringan kulit adalah konstruksi *scaffold*. *Scaffold* adalah bahan yang telah direkayasa untuk menstimulasi interaksi seluler yang diinginkan dalam kontribusinya pada pembentukan jaringan fungsional baru, yang berfungsi dalam infiltrasi dan dukungan fisik untuk memandu diferensiasi dan proliferasi sel ke dalam jaringan fungsional yang ditargetkan (Mertsching et al., 2009). Untuk mencapai tujuan rekonstruksi jaringan, *scaffold* harus memenuhi beberapa persyaratan. *Scaffold* yang ideal untuk aplikasi rekayasa jaringan kulit harus memiliki biokompatibilitas yang baik, struktur mikro yang sesuai seperti ukuran pori rata-rata 63-150 μm dan nilai porositas di atas 90%, biodegradasi dapat dikontrol dan sifat mekanik yang sesuai (Newman et al., 2013; O'Brien et al., 2005).

Banyak biomaterial yang telah digunakan sebagai rekayasa jaringan kulit. Contoh bahan ini adalah selulosa asetat dan kolagen. Polisakarida adalah biopolimer alami yang tersedia melimpah dan menunjukkan biokompatibilitas yang sangat baik, salah satunya adalah selulosa yang selama bertahun-tahun digunakan sebagai pembalut luka. Sementara kolagen dikenal sebagai bahan yang paling menjanjikan dalam aplikasi rekayasa jaringan karena biokompatibilitas dan biodegradabilitasnya.

selulosa asetat - kolagen untuk mempercepat penyembuhan luka pada terapi ulkus. Adapun tahapan pembuatan jaringan rekayasa ini adalah: 1) mengisolasi *stem cell* dari membran amnion dengan menggunakan enzim kolagenase, 2) mengkultur *stem cell* dengan medium penumbuh sel Alfa-MEM untuk dihasilkan *mesenchymal stem cell* sebanyak 2×10^7 sel, 3) mengkarakterisasi *mesenchymal stem cell* dengan marker positif CD105, CD44 dan CD90, 4) membuat *scaffold* dengan komposisi selulosa asetat:kolagen 3:1 kemudian diproses dengan teknik *electrospinning* untuk menghasilkan nanofiber *scaffold* yang berukuran 40-100 mikron, 5) *seeding stem cell* pada *scaffold* di dalam inkubator CO₂ 5% selama 3 hari sehingga dihasilkan *amniotic membrane derived stem cell tissue engineering* untuk penyembuhan luka, 6) karakterisasi morfologi dengan *scanning electron microscope* untuk mengamati interaksi antara *stem cell* dengan *scaffold*.

Uraian Singkat Gambar

Gambar 1 mengungkapkan Morfologi *scaffold* membran selulosa asetat - kolagen yang diamati menggunakan *scanning electron microscope* perbesaran 100x

Gambar 2 mengungkapkan Morfologi *scaffold* membran selulosa asetat - kolagen yang telah dilakukan *seeding* dengan *mesenchymal stem cell* selama 3 hari yang diamati menggunakan *scanning electron microscope* perbesaran 100x

Uraian Lengkap Invensi

Karakterisasi morfologi *stem cell tissue engineering* dengan *scanning electron microscope* (SEM) dilakukan untuk mengamati interaksi antara *stem cell* dengan *scaffold*. Didapatkan ukuran pori pada *scaffold* adalah berkisar antara



40-100 mikron. Interaksi antara MSC dengan *scaffold* selulosa asetat - kolagen dievaluasi setelah 3 hari proses *seeding* dan hasilnya ditunjukkan pada Gambar (terlampir). *Stem cell* ditemukan melekat pada *scaffold* nanofiber. *Scaffold* yang
5 mengandung kolagen yang tinggi menunjukkan peregangan sel di seluruh substrat nanofiber.

Invensi ini berkenaan dengan metode pembuatan jaringan rekayasa sel punca (*stem cell tissue engineering*) yaitu
10 perpaduan antara *scaffold* dan *stem cell* untuk perawatan luka dengan defek yang lebar sehingga sulit penyembuhannya karena diskontinuitas jaringan yang lebar. Beberapa tahapan dalam penyembuhan luka adalah fase homeostasis yaitu terjadinya vasokonstriksi dan retraksi pembuluh darah yang putus.

15

Seperti diketahui bahwa luka adalah kerusakan jaringan tubuh yang disebabkan karena jejas, baik fisik maupun kimia yang menyebabkan gangguan kontinuitas yang normal dari struktur jaringan. Jejas fisik yang menyebabkan kerusakan
20 jaringan antara lain trauma benda tajam maupun tumpul, insisi, temperatur yang ekstrim, radiasi dan gangguan aliran darah. Penyembuhan luka sendiri merupakan proses fisiologis yang kompleks yang memerlukan peran secara biokimiawi dalam berbagai tahapan yang melibatkan komponen komponen sitokin dan faktor faktor pertumbuhan dan sel, baik itu untuk proses
25 proliferasi maupun *remodeling*.

Pada proses penyembuhan luka terjadi pelepasan beberapa komponen faktor pertumbuhan seperti faktor pertumbuhan derivat platelet (PDGF = *platelet derived growth factor*) dan faktor pertumbuhan transformasi beta (TGF- β = *transforming growth factor beta*). Kemudian diikuti fase inflamasi yang meliputi perekrutan beberapa sel radang serta sitokin-sitokin yang terkait, yang diikuti dengan fase proliferasi meliputi
30

pembentukan matriks, angiogenesis dan epitelisasi, yang akhirnya adalah proses *remodeling* yaitu pematangan maturasi, peningkatan fibroblas dan kolagen tipe 1.

5 Tahap pembuatan *stem cell tissue engineering* dalam invensi ini dimulai dari mengisolasi *stem cell* dari membran amnion dengan alasan bahwa beberapa bukti menunjukkan sel tersebut memiliki kemampuan yang *multilineage* atau dapat
10 *mesenchymal stem cell* (MSC) serta mempunyai daya regenerasi dan proliferasi yang lebih tinggi dibandingkan dengan *stem cell* dari sumsum tulang. Sehingga *stem cell* yang berasal dari dari membran amnion ini memiliki potensial yang lebih baik dalam penyembuhan luka.

15 Isolasi dilakukan dengan cara mencuci jaringan amnion dengan salin buffer fosfat hingga bersih dari darah dan debris jaringan yang melekat, kemudian dilakukan pemotongan jaringan dengan cara mencincang sampai halus. Enzim
20 kolagenase ditambahkan untuk mengeluarkan *stem cell* dari jaringan amnion kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 45 menit dan dilakukan sentrifugasi hingga terbentuk *pellet*. Selanjutnya dilakukan proses kultur pada komplit medium menggunakan Alfa-MEM. Pemanenan dilakukan setelah 3-4 hari
25 proses kultur dan didapatkan jumlah sel sebanyak 2×10^7 sel.

Tahap selanjutnya adalah melakukan karakterisasi *stem cell* dengan menggunakan *flowcytometry*, dimana untuk MSC ini marker yang telah disepakati berdasarkan *international standard cell therapy* adalah yang positif untuk CD105, CD44
30 dan CD90. Apabila *stem cell* telah memenuhi hal tersebut diatas, maka *stem cell* bisa digunakan sebagai *mesenchymal stem cell*.

Tahap selanjutnya adalah melakukan *seeding stem cell* hasil panen pada *scaffold* membran selulosa asetat - kolagen. *Scaffold* dimasukkan ke dalam suatu cawan petri yang berisi medium selama 6 jam kemudian ke dalamnya dimasukkan *stem cell* dan diinkubasi di dalam inkubator CO₂ 5% selama 3 hari untuk memberi kesempatan *stem cell* melekat pada *scaffold*.

Pada tahap terakhir, dilakukan karakterisasi morfologi *stem cell tissue engineering* dengan *scanning electron microscope* (SEM) untuk mengamati interaksi antara *stem cell* dengan *scaffold*. Didapatkan ukuran pori pada *scaffold* adalah berkisar antara 40-100 mikron. Interaksi antara MSC dengan *scaffold* dievaluasi setelah 3 hari proses *seeding*. *Stem cell* ditemukan melekat pada *scaffold* nanofiber. *Scaffold* yang mengandung kolagen yang tinggi menunjukkan peregangan sel di seluruh substrat nanofiber.

Contoh 1

Penggunaan *tissue engineering* dari kombinasi antara *bovine hidroxyapatite* (BHA) yang dilakukan *seeding* pada *mesenchymal stem cell* dari sumsum tulang, dimana BHA direndam di dalam tabung yang diisi dengan medium kemudian diinkubasi dalam inkubator CO₂. Setelah beberapa jam kemudian dimasukkan MSC ke dalamnya, dan di *seeding* selama 16 jam dengan tujuan MSC akan melekat pada BHA, kemudian kombinasi tersebut digunakan pada defek tulang.

Contoh 2

Penggunaan *mesenchymal stem cell* untuk uji pra-klinis pada penyembuhan luka yang diisolasi dari jaringan lemak, kemudian dikultur pada medium Alfa-MEM. Setelah mencapai pasase ke-3, maka *stem cell* dipanen dan diaplikasikan pada hewan yang

2. Metode menurut klaim 1 dimana karakterisasi morfologinya menggunakan *scanning electron microscope* (SEM) untuk mengamati interaksi antara *stem cell* dengan *scaffold*, dan didapatkan ukuran pori pada *scaffold* berkisar antara 40-100 mikron.

5

3. Metode menurut klaim 1 sampai 2 digunakan untuk mempercepat penyembuhan luka pada terapi ulkus.

10

R

MEKONTE PEMBUATAN JARINGAN REKAYASA SEL PUNCA
(STEM CELL TISSUE ENGINEERING) UNTUK TERAPI ULKUS

Abstrak

Invensi ini berkaitan dengan metode pembuatan jaringan rekayasa sel punca (stem cell tissue engineering) yang merupakan perpaduan dari mesenchymal stem cell (MSC) yang berasal dari membran amnion yang dikombinasikan dengan scaffold selulosa asetat - kolagen untuk mempercepat penyembuhan luka pada terapi ulkus melalui efek parakrin dan efek stem cell itu sendiri. Adapun tahapan-tahapan metode pembuatan jaringan rekayasa ini adalah : 1) mengisolasi stem cell dari membran amnion dengan menggunakan enzim kolagenase, 2) mengkultur stem cell dengan medium penumbuh sel Alfa-MEM untuk dihasilkan mesenchymal stem cell sebanyak 2×10^7 sel, 3) mengkarakterisasi mesenchymal stem cell dengan marker positif CD105, CD44 dan CD90, 4) membuat scaffold dengan komposisi selulosa asetat:kolagen 3:1 kemudian diproses dengan teknik electropinning untuk menghasilkan nanofiber scaffold yang berukuran 40-100 mikron, 5) seeding stem cell pada scaffold di dalam inkubator CO₂ 5% selama 3 hari sehingga dihasilkan amniontic membrane derived stem cell tissue engineering untuk penyembuhan luka, 6) karakterisasi morfologi dengan scanning electron microscope untuk mengamati interaksi antara stem cell dengan scaffold.