



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 : 1. Dr. Purwati, dr., SpPD, K-PTI, FINASIM
Rungkut Harapan E/10,
Surabaya, Jawa Timur
2. Dr. Dwikora Novembri Utomo, dr., Sp.OT (K)
Manyar Tirtoasri 4/7,
Surabaya, Jawa Timur
3. Dr. Ferdiansyah, dr., Sp.OT (K)
Rungkut Mapan Barat 12/AK-01,
Surabaya, Jawa Timur
4. Lesmono
Darmorejo 4-A/22,
Surabaya, Jawa Timur

Untuk Invensi dengan Judul : JARINGAN TULANG RAWAN REKAYASA UNTUK TERAPI
OSTEOARTHRITIS DARI KOMBINASI SEL PROGENITOR KONDROSIT
DAN SCAFFOLD TULANG RAWAN

Inventor : Dr. Purwati, dr., SpPD, K-PTI, FINASIM
Dr. Dwikora Novembri Utomo, dr., Sp.OT (K)
Dr. Ferdiansyah, dr., Sp.OT (K)
Lesmono

Tanggal Penerimaan : 08 November 2016

Nomor Paten : IDP000063317

Tanggal Pemberian : 08 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 : IDP000063317 Tanggal diberi : 08/10/2019 Jumlah Klaim : 3
 Nomor Permohonan : P00201607504 IPAS Filing Date : 08/11/2016
 Entitlement Date : 08/11/2016

Berdasarkan Peraturan Pemerintah Nomor 28 tahun 2019 tentang Jenis dan Tarif Atas Jenis Penerimaan 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	08/11/2016-07/11/2017	07/04/2020	1.000.000	3	225.000	1.225.000	0	0	1.225.000
2	08/11/2017-07/11/2018	07/04/2020	1.000.000	3	225.000	1.225.000	0	0	1.225.000
3	08/11/2018-07/11/2019	07/04/2020	1.000.000	3	225.000	1.225.000	0	0	1.225.000
4	08/11/2019-07/11/2020	07/04/2020	1.250.000	3	300.000	1.550.000	0	0	1.550.000
5	08/11/2020-07/11/2021	09/10/2020	1.250.000	3	300.000	1.550.000	0	0	1.550.000
6	08/11/2021-07/11/2022	09/10/2021	1.750.000	3	525.000	2.275.000	0	0	2.275.000
7	08/11/2022-07/11/2023	09/10/2022	2.250.000	3	675.000	2.925.000	0	0	2.925.000
8	08/11/2023-07/11/2024	09/10/2023	2.250.000	3	675.000	2.925.000	0	0	2.925.000
9	08/11/2024-07/11/2025	09/10/2024	3.000.000	3	900.000	3.900.000	0	0	3.900.000
10	08/11/2025-07/11/2026	09/10/2025	4.000.000	3	900.000	4.900.000	0	0	4.900.000
11	08/11/2026-07/11/2027	09/10/2026	6.500.000	3	1.500.000	8.000.000	0	0	8.000.000
12	08/11/2027-07/11/2028	09/10/2027	6.500.000	3	1.500.000	8.000.000	0	0	8.000.000
13	08/11/2028-07/11/2029	09/10/2028	6.500.000	3	1.500.000	8.000.000	0	0	8.000.000
14	08/11/2029-07/11/2030	09/10/2029	6.500.000	3	1.500.000	8.000.000	0	0	8.000.000
15	08/11/2030-07/11/2031	09/10/2030	6.500.000	3	1.500.000	8.000.000	0	0	8.000.000
16	08/11/2031-07/11/2032	09/10/2031	6.500.000	3	1.500.000	8.000.000	0	0	8.000.000
17	08/11/2032-07/11/2033	09/10/2032	6.500.000	3	1.500.000	8.000.000	0	0	8.000.000
18	08/11/2033-07/11/2034	09/10/2033	6.500.000	3	1.500.000	8.000.000	0	0	8.000.000
19	08/11/2034-07/11/2035	09/10/2034	6.500.000	3	1.500.000	8.000.000	0	0	8.000.000
20	08/11/2035-07/11/2036	09/10/2035	6.500.000	3	1.500.000	8.000.000	0	0	8.000.000

Biaya yang harus dibayarkan untuk pertama kali hingga tanggal 04/11/2019 (tahun ke-1 s.d 5) adalah sebesar 6.775.000

- 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



(12) PATEN INDONESIA

(11) IDP000063317 B

(19) DIREKTORAT JENDERAL
KEKAYAAN INTELEKTUAL

(45) 08 Oktober 2019

(51) Klasifikasi IPC⁸ : A 61K 35/12, A 61K 35/32, A 61P 19/02

(71) No. Permohonan Paten : P00201607504

(72) Tanggal Penerimaan: 08 November 2016

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

Tanggal Pengumuman: 18 Mei 2018

Dokumen Perbandingan:

US 6,056,489 B1, *Scaffold for tissue engineering cartilage having outer surface layers of copolymer and ceramic material*, tanggal paten 2 Desember 2003

WO 01/027 897 A1, *cartilage tissue engineering*, tanggal publikasi 16 Agustus 2000

(71) Nama dan Alamat yang Mengajukan Permohonan Paten :

1. Dr. Purwati, dr., SpPD, K-PTI, FINASIM
Rungkut Harapan E/10,
Surabaya, Jawa Timur
2. Dr. Dwikora Novembri Utomo, dr., Sp.OT (K)
Manyar Tirtoasri 4/7,
Surabaya, Jawa Timur
3. Dr. Ferdiansyah, dr., Sp.OT (K)
Rungkut Mapan Barat 12/AK-01,
Surabaya, Jawa Timur
4. Lesmono
Darmorejo 4-A/22,
Surabaya, Jawa Timur

(72) Nama Inventor :

- Dr. Purwati, dr., SpPD, K-PTI, FINASIM, ID
Dr. Dwikora Novembri Utomo, dr., Sp.OT (K), ID
Dr. Ferdiansyah, dr., Sp.OT (K), ID
Lesmono, 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. Farida, M.IPL.

Jumlah Klaim : 3

(4) Judul : JARINGAN TULANG RAWAN REKAYASA UNTUK TERAPI OSTEOARTHRITIS DARI KOMBINASI SEL PROGENITOR KONDROSIT DAN SCAFFOLD TULANG RAWAN

(7) Abstrak :
Abstrak ini berkaitan dengan jaringan tulang rawan rekayasa yang merupakan hasil *seeding* dari sel progenitor kondrosit pada tulang rawan. Produk jaringan tulang rawan rekayasa dari invensi ini digunakan untuk memperbaiki kerusakan tulang rawan pada sendi atau proses penuaan pada osteoarthritis.



Deskripsi**JARINGAN TULANG RAWAN REKAYASA UNTUK TERAPI OSTEOARTHRITIS
DARI KOMBINASI SEL PROGENITOR KONDROSIT**

5

DAN SCAFFOLD TULANG RAWAN**Bidang Teknik Invensi**

10 Invensi ini berkaitan dengan jaringan tulang rawan rekayasa yang merupakan hasil *seeding* dari sel progenitor kondrosit pada *scaffold* tulang rawan yang berasal dari tulang sapi. Produk jaringan tulang rawan rekayasa dari invensi ini digunakan untuk memperbaiki kerusakan tulang rawan pada proses degenerasi atau proses penuaan pada osteoarthritis.

15

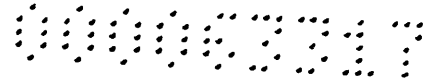
Latar Belakang Invensi

20 Osteoarthritis (OA) merupakan penyakit degenerasi pada sendi yang melibatkan kartilago, lapisan sendi, ligamen dan tulang sehingga menyebabkan nyeri dan kekakuan pada sendi (Matsiko et al., 2013). Perhimpunan Reumatologi Indonesia secara sederhana mendefinisikan osteoarthritis sebagai suatu penyakit sendi degeneratif yang terjadi karena proses inflamasi kronis pada sendi dan tulang di sekitar sendi

25 tersebut. Derajat osteoarthritis menurut Kellgren-Lawrence dibagi menjadi 4 derajat. Osteoarthritis dini adalah osteoarthritis yang masih awal yaitu sendi normal, terdapat sedikit osteofit atau osteofit pada dua tempat dengan sklerosis subkondral, celah sendi normal serta terdapat

30 kista subkondral.

Prevalensi osteoarthritis di Indonesia mencapai 23,6 sampai 31,3% dan diperkirakan 1-2 juta lansia menderita cacat akibat osteoarthritis. Angka kejadian tertinggi



osteoarthritis ditemukan pada usia >55 tahun (59,17%) dari keseluruhan kasus osteoarthritis di RSUD Dokter Soedarso Pontianak (Tuan et al., 2013). Di samping itu, usia di atas 50 tahun merupakan salah satu kriteria klinis dalam mendiagnosis osteoarthritis berdasarkan kriteria American College of Rheumatology (ACR). Di Amerika pada usia 18-24 tahun, 7% laki-laki dan 2% perempuan menggambarkan osteoarthritis pada tangan. Pada usia 55-64 tahun, 28% laki-laki dan perempuan terkena osteoarthritis lutut dan 23% osteoarthritis panggul. Pada usia antara 65-74, 39% laki-laki dan perempuan menggambarkan osteoarthritis pada lutut dan 23% menggambarkan osteoarthritis pada panggul. Pada usia diatas 75 tahun, sekitar 100% laki-laki dan perempuan mempunyai gejala-gejala osteoarthritis (Utomo et al., 2017).

Penyakit ini ditandai oleh adanya abrasi rawan sendi dan pembentukan tulang baru yang tidak teratur pada permukaan persendian. Nyeri menjadi gejala utama terbesar pada sendi yang mengalami osteoarthritis. Rasa nyeri diakibatkan setelah melakukan aktivitas dengan penggunaan sendi dan rasa nyeri dapat diringankan dengan istirahat, sehingga akan menurunkan kualitas hidup pasien. Osteoarthritis selama ini dipandang sebagai akibat dari suatu proses ketuaan yang tidak dapat dihindari. Namun, penelitian para pakar menyatakan bahwa osteoarthritis merupakan penyakit gangguan homeostasis dari metabolisme kartilago dengan kerusakan struktur proteoglikan kartilago yang penyebabnya belum diketahui. Jejas mekanis dan kimiawi diduga merupakan faktor penting yang merangsang terbentuknya molekul abnormal dan produk degradasi kartilago di dalam cairan sinovial sendi yang mengakibatkan terjadi inflamasi sendi, kerusakan kondrosit dan nyeri.

Kartilago sendi merupakan target utama perubahan degeneratif pada osteoarthritis. Kartilago sendi ini secara

umum berfungsi untuk membuat gerakan sendi bebas gesekan karena terendam dalam cairan sinovial dan sebagai penahan beban dari tulang. Pada osteoarthritis, terjadi gangguan homeostasis dari metabolisme kartilago sehingga terjadi
 5 kerusakan struktur proteoglikan kartilago, erosi tulang rawan dan penurunan cairan sendi.

Modalitas terapi untuk osteoarthritis sampai saat ini adalah untuk mengurangi gejala dan mencegah terjadinya
 10 kontraktur atau atrofi otot. Terapi osteoarthritis pada umumnya simptomatik, misalnya dengan pengendalian faktor-faktor resiko, latihan intervensi fisioterapi dan terapi farmakologis. Pada fase lanjut modalitas terapi adalah
 15 penggantian sendi, dimana terapi ini banyak dihindari oleh penderita karena ketidaknyamanan yang ditimbulkan pasca operasi (Bedi *et al.*, 2010).

Untuk mencegah progresifitas kerusakan sendi, maka dalam invensi ini dilakukan pendekatan terapi biologis yang berasal
 20 dari sel punca, yaitu dibuat sel kondrosit dari lemak yang diharapkan akan memperbaiki lingkungan mikro persendiaan dan memperbaiki jumlah dan kualitas sel tulang rawan pada persendian sehingga bisa menghambat progresifitas kerusakan persendian pada pasien osteoarthritis. Sedangkan untuk
 25 osteoarthritis lanjut dikembangkan teknik rekayasa jaringan. Rekayasa jaringan adalah suatu teknik yang memungkinkan untuk dibuat suatu jaringan baru yang dibutuhkan dengan mengkombinasi 3 faktor yaitu sel punca, *scaffold* sebagai matrik ekstraseluler dan faktor pertumbuhan (*growth factor*).
 30 *Scaffold* pada rakayasa jaringan untuk hal ini juga berperan penting di samping sel. Pada invensi ini *scaffold* diambil dari tulang rawan sapi yang dikombinasi dengan sel progenitor kondrosit.

Uraian Singkat Invensi

Invensi ini berkaitan dengan pembuatan jaringan tulang rawan rekayasa untuk terapi osteoarthritis yang berasal dari seeding sel progenitor kondrosit pada *scaffold* tulang rawan yang bertujuan untuk memperbaiki jumlah dan kualitas tulang rawan sendi serta memperbaiki lingkungan mikro persendian yang mengalami peradangan, sehingga akan terjadi perbaikan dari sendi tersebut. Jaringan tulang rawan rekayasa ini dibuat melalui tahapan: 1) pembuatan sel progenitor kondrosit dengan mengisolasi dari jaringan lemak dan mendiferensiasi menjadi sel punca mesenkimal, mengkarakterisasi sel punca mesenkimal dengan marker CD90, 105, 44, 34 dan 45, mendiferensiasi sel punca mesenkimal menjadi sel progenitor kondrosit dan menvalidasi sel progenitor kondrosit dengan marker Sox4, Sox9, BMP2; 2) membuat *scaffold* tulang rawan dengan memisahkan tulang rawan dari tulang sapi, membuat sediaan bubuk dengan ukuran 40-300 mikron dan mensterilkan sediaan bubuk tersebut; 3) melakukan seeding sel progenitor kondrosit pada *scaffold* tulang rawan.

Uraian Lengkap Invensi

Osteoarthritis selama ini dipandang sebagai akibat dari suatu proses ketuaan yang tidak dapat dihindari. Namun, penelitian para pakar menyatakan bahwa osteoarthritis ternyata merupakan penyakit gangguan homeostasis dari metabolisme kartilago dengan kerusakan struktur proteoglikan kartilago yang penyebabnya belum diketahui. Jejas mekanis dan kimiawi diduga merupakan faktor penting yang merangsang terbentuknya molekul abnormal dan produk degradasi kartilago di dalam cairan sinovial sendi yang mengakibatkan terjadi inflamasi sendi, kerusakan kondrosit dan nyeri.

Kartilago sendi merupakan target utama perubahan degeneratif pada osteoarthritis. Kartilago sendi ini secara umum berfungsi untuk membuat gerakan sendi bebas gesekan karena terendam dalam cairan sinovial dan sebagai penahan beban dari tulang. Pada osteoarthritis, terjadi gangguan homeostasis dari metabolisme kartilago sehingga terjadi kerusakan struktur proteoglikan kartilago, erosi tulang rawan dan penurunan cairan sendi. Tulang rawan (kartilago) sendi dibentuk oleh sel kondrosit dan matriks ekstraseluler, yang terutama terdiri dari air (65%-80%), proteoglikan, dan jaringan kolagen. Kondrosit berfungsi mensintesis jaringan lunak kolagen tipe II untuk penguat sendi dan proteoglikan untuk membuat jaringan tersebut elastis, serta memelihara matriks tulang rawan sehingga fungsi bantalan rawan sendi tetap terjaga dengan baik. Kartilago tidak memiliki pembuluh darah sehingga proses perbaikan pada kartilago berbeda dengan jaringan-jaringan lain. Di kartilago, tahap perbaikannya sangat terbatas mengingat kurangnya vaskularisasi dan respon inflamasi sebelumnya.

20

Beberapa keadaan seperti trauma atau jejas mekanik akan menginduksi pelepasan enzim degradasi, seperti *stromelysin* dan *matrix metalloproteinases* (MMP). *Stromelysin* mendegradasi proteoglikan, sedangkan MMP mendegradasi proteoglikan dan kolagen matriks ekstraseluler. MMP diproduksi oleh kondrosit, kemudian diaktifkan melalui kaskade yang melibatkan proteinase serin (aktivator plasminogen), radikal bebas, dan beberapa MMP tipe membran. Kaskade enzimatik ini dikontrol oleh berbagai inhibitor, termasuk TIMP dan inhibitor aktivator plasminogen. *Tissue inhibitor of metalloproteinases* (TIMP) yang umumnya berfungsi menghambat MMP tidak dapat bekerja optimal karena di dalam rongga sendi ini cenderung bersifat asam oleh karena *stromelysin* (pH 5,5), sementara TIMP baru dapat bekerja optimal pada pH 7,5.

Pada osteoarthritis, mediator-mediator inflamasi ikut berperan dalam progresifitas penyakit. Selain pelepasan enzim-enzim degradasi, faktor-faktor pro-inflamasi juga terinduksi dan dilepaskan ke dalam rongga sendi, seperti oksida nitrit (NO = Nitric Oxide), Interleukin-1 β dan faktor nekrosis tumor alfa (TNF- α = tumor necrosis factor alpha). Sitokin-sitokin ini menginduksi kondrosit untuk memproduksi protease, kemokin, dan eikosanoid seperti prostaglandin dan leukotrien dengan cara menempel pada reseptor di permukaan kondrosit dan menyebabkan transkripsi gen MMP sehingga produksi enzim tersebut meningkat. Akibatnya sintesis matriks terhambat dan apoptosis sel meningkat. Sitokin yang terpenting adalah Interleukin-1 yang berperan menurunkan sintesis kolagen tipe II dan tipe IX, serta meningkatkan sintesis kolagen tipe I dan tipe III sehingga menghasilkan matriks rawan sendi yang berkualitas buruk. Pada akhirnya tulang subkondral juga akan ikut berperan, dimana osteoblas akan terangsang dan menghasilkan enzim proteolitik.

Sel progenitor kondrosit ini selain efek selnya yang mampu memperbaiki jumlah dan kualitas sel tulang rawan yang terkena osteoarthritis, maka efek parakrin dari sel tersebut juga akan memperbaiki lingkungan daerah persendian dengan sekresi anti inflamatori faktor yang mempunyai peranan penting terhadap progresifitas gradasi dari osteoarthritis tersebut. Dengan demikian, kartilago akan mengalami replikasi dan memproduksi matriks baru untuk memperbaiki diri akibat jejas, mensintesis matriks yang berkualitas dan memelihara keseimbangan antara degradasi dan sintesis matriks ekstraseluler, termasuk produksi kolagen tipe I, III, VI, dan X dan sintesis proteoglikan.

Sehingga pada invensi ini, dibuat suatu teknik jaringan rekayasa tulang rawan untuk memperbaiki osteoarthritis yang merupakan penggabungan dari *scaffold* tulang rawan yang telah diproses dan dikombinasikan dengan sel progenitor kondrosit, dengan melalui tahapan sebagai berikut:

1. Pembuatan sel progenitor kondrosit

Isolasi sel punca diambil dari jaringan lemak dengan alasan bahwa beberapa bukti menunjukkan sel tersebut memiliki kemampuan yang *multilineage* atau dapat didiferensiasi menjadi berbagai jenis sel termasuk sel punca mesenkimal serta mempunyai daya regenerasi dan proliferasi yang lebih tinggi dibandingkan dengan sel punca dari sumsum tulang. Isolasi sel punca didapatkan dari jaringan lemak hasil lipopektomi dengan cara mendigesti jaringan lemak tersebut menggunakan kolagenase tipe 1, kemudian dikultur pada komplet medium. Pemanenan dilakukan setelah 1-2 minggu proses kultur. Karakterisasi dilakukan menggunakan sitometri air, dimana untuk sel punca mesenkimal, marker yang telah disepakati berdasarkan *International Standard Cell Therapy* adalah yang positif untuk CD105, CD44, CD90.

Tahap selanjutnya adalah mendiferensiasi sel punca mesenkimal menjadi sel progenitor kondrosit. Sel punca mesenkimal sebelumnya ditambahkan salin buffer fosfat dan ditripsinasi agar menjadi sel tunggal di dalam inkubator 37°C dengan kadar CO₂ 5%. Setelah menjadi sel tunggal, dilakukan resuspensi dan sentrifugasi pada kecepatan 1600 rpm pada suhu 10°C. Pellet yang dihasilkan kemudian ditambahkan medium kondrosit dan diresuspensi. Perbanyakkan sel progenitor kondrosit dilakukan di dalam inkubator 37°C dengan kadar CO₂ 5% selama kurang lebih 21 hari.

Sel progenitor kondrosit kemudian dilakukan karakterisasi dengan menggunakan sitometri air. Sel kondrosit haruslah mengekspresikan marker-marker Sox4, Sox 9 dan BMP 2 melalui pemeriksaan imunositokimia.

5

2. Pembuatan *scaffold*

Scaffold pada suatu jaringan rekayasa merupakan komponen yang sangat penting karena *scaffold* merupakan tempat yang kondusif untuk pertumbuhan sel. Oleh karena itu, pemilihan *scaffold* yang baik haruslah: 1) bersifat biokompatibel dan biodegradable, 2) dapat memfasilitasi perlekatan dan proliferasi dari sel, 3) mempunyai struktur dan ukuran pori yang dapat memfasilitasi terjadinya neovaskularisasi, perlekatan molekul bioaktif dan mendukung terjadinya integrasi yang sempurna dengan jaringan resipien.

Dalam invensi ini, *scaffold* diambil dari tulang rawan sapi yang didapat melalui pemrosesan yaitu pemisahan antara tulang rawan dan tulang kerasnya. Tulang rawan mengandung banyak matrik dan serat kolagen. Selanjutnya dibuat sediaan bubuk melalui sistem beku-kering (*freeze-drying*), dengan ukuran pori 150-355 mikron, karena sebagai *scaffold* untuk jaringan rekayasa harus memiliki struktur dan pori 40-300 mikron untuk memudahkan jaringan tumbuh dan migrasi dari jaringan pembuluh darah. Kemudian *scaffold* dibentuk menjadi suatu membran dengan ukuran yang diinginkan dan dilakukan sterilisasi.

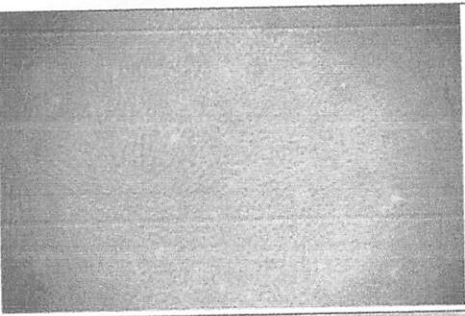
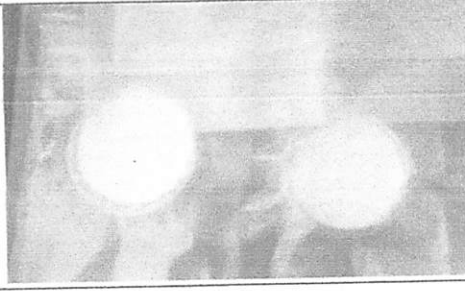
3. *Seeding* sel progenitor kondrosit pada *scaffold* tulang rawan

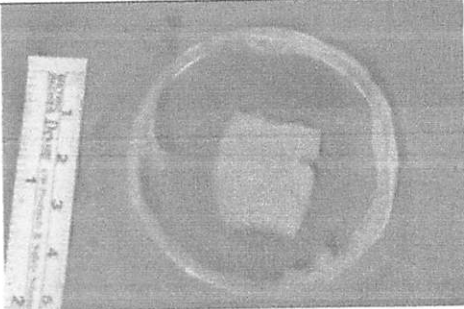
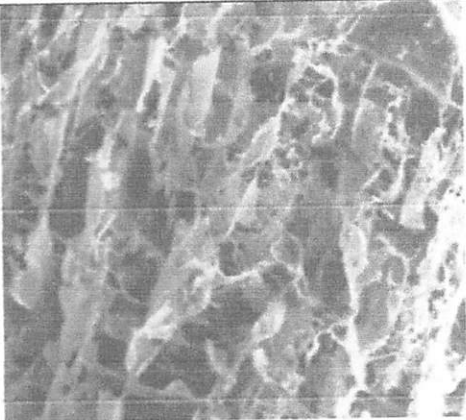
Dalam suatu teori jaringan rekayasa, dimungkinkan untuk membuat jaringan baru yang diinginkan dengan menggabungkan 3

komponen, yaitu: sel punca, *scaffold* sebagai matrik ekstraseluler dan faktor pertumbuhan (*growth factor*). Konsep tersebut disebut dengan *triad of tissue engineering*. Dalam invensi ini, sel progenitor kondrosit dilakuka *seeding* pada
 5 membrane *scaffold* tulang rawan selama 3 hari, kemudian hasilnya dievaluasi dengan menggunakan mikroskop elektron (SEM = *Scanning Electron Microscope*) untuk melihat seberapa banyak sel progenitor kondrosit dapat tumbuh pada *scaffold* tersebut. Hasil pengamatan morfologi dengan SEM JEOL-T100
 10 didapatkan bahwa sel melekat pada permukaan porositas *scaffold* dalam jumlah yang tinggi. Struktur *scaffold* yang berpori dan saling berhubungan memiliki bentuk retensi yang baik dan dapat mendukung terjadinya proliferasi sel. Dengan demikian, maka invensi ini siap untuk digunakan.

15

Paramater Pendukung

No.	Parameter	Keterangan
1	Pengamatan mikroskop dari sel progenitor kondrosit	
2	Bentuk sediaan <i>scaffold</i> tulang rawan	

3	Bentuk sediaan jaringan tulang rawan rekayasa dari sel progenitor kondrosit yang telah di <i>seeding</i> pada <i>scaffold</i>	
4	Hasil pengamatan morfologi jaringan tulang rawan rekayasa dengan SEM	
5	Spesifikasi jaringan tulang rawan rekayasa	<ul style="list-style-type: none"> • berbentuk silinder • diameter 3 cm • ketebalan 0,5 cm • struktur berpori • mengandung sel progenitor kondrosit • kaya akan faktor pertumbuhan
6	Keunggulan jaringan tulang rawan rekayasa	<ul style="list-style-type: none"> • bersifat biokompatibel dan biodegradabel • tidak toksik dan tidak menimbulkan respon alergi • regenerasi yg terbentuk mirip seperti sifat kondrosit hialin (alami) • penyembuhan lebih cepat • jaringan fibros yg sedikit
7		<ul style="list-style-type: none"> • meregenerasi tulang rawan articular • mencegah terjadinya osteoarthritis

Contoh 1

Injeksi sel punca mesenkimal untuk terapi osteoarthritis pada lutut. Sel punca mesenkimal diketahui memiliki potensi
5 untuk meregenerasi kartilago persendian. Pada suatu kondisi osteoarthritis, didapatkan kerusakan kartilago secara menyeluruh sehingga alternatif terapi yang dipakai adalah dengan pemberian sel punca mesenkimal autologus yang didapatkan dari jaringan lemak yang dikultur, kemudian
10 diinjeksikan secara intra-artikular dengan dosis yang berbeda yaitu 20 juta sel, 50 juta sel dan 200 juta sel.

Contoh 2

15 Teknik rekayasa jaringan dengan menggabungkan sel punca mesenkimal dengan *scaffold* yang terbuat dari kitosan yang dikombinasikan dengan hidroksiapatit untuk memperbaiki defek pada kalfaria tikus yang mengalami fraktur.

20 **Penerapan dalam industri**

Produk jaringan tulang rawan rekayasa hasil *seeding* dari sel progenitor kondrosit pada *scaffold* tulang rawan dari invensi ini dapat diterapkan dalam industri karena dapat
25 diproduksi secara massal dan berulang.

Referensi

1. Bedi A, Feeley BT, Williams RJ. 2010. 3rd. Management of articular cartilage defects of the knee. *J Bone Joint Surg Am.* 2010;92(4):994-1009.
- 5 2. Fritz J, Janssen P, Gaissmaier C, Schewe B, Weise K. 2008. Articular cartilage defects in the knee--basics, therapies and results. *Injury*;39 Suppl 1:S50-7.
3. Mahyudin F, Utomo DN, Martanto TW, Hidayat AR, Putri LM. 2018. Effect of Decellularized Cartilage Bovine Scaffold and Hypoxic Condition on Stem Cell Differentiation to Chondrocyte: An In Vitro Study. In: *Journal of Biomimetics, Biomaterials and Biomedical Engineering.* Trans Tech Publ; p. 67-76.
- 10 4. Mankin HJ. 2000. Articular cartilage structure, composition, and function. *Orthop basic Sci.*
- 15 5. Matsiko A, Levingstone TJ, O'Brien FJ. 2013. Advanced strategies for articular cartilage defect repair. *Materials (Basel)*;6(2):637-68.
6. Tuan RS, Mauck RL. 2013. Articular Cartilage Repair and Regeneration. In: O'Keefe RJ, Jacobs JJ, Chu CR, Einhorn TA, editors. *Orthopaedic Basic Science: Foundations of Clinical Practice.* 4th ed. Rosemont, IL: American Academy of Orthopaedic Surgeons; p. 309-27.
- 20 7. Utomo DN, Abdul Rantam F, Ferdiansyah, Purwati. 25 Regeneration Mechanism of Full Thickness Cartilage Defect Using Combination of Freeze Dried Bovine Cartilage Scaffold - Allogenic Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells - Platelet Rich Plasma Composite (SMPC) Implantation. *Journal of Biomimetics, Biomaterials and Biomedical Engineering.* 2017;31:70-82.
- 30

Klaim

1. Jaringan tulang rawan rekayasa untuk terapi osteoarthritis yang berasal dari *seeding* sel progenitor kondrosit sebanyak 20 juta sel pada *scaffold* tulang rawan dengan diameter 3 cm dan ketebalan 0,5 cm
2. Sel progenitor kondrosit sesuai klaim 1, dibuat melalui tahapan sebagai berikut:
 - a) mengisolasi jaringan lemak
 - b) mendigesti jaringan lemak dengan menggunakan kolagenase tipe 1
 - c) mendiferensiasi jaringan lemak menjadi sel punca mesenkimal
 - d) mengkarakterisasi sel punca mesenkimal dari tahapan c) dengan marker CD90, 105, 44, 34 dan 45
 - e) mendiferensiasi sel punca mesenkimal dari tahapan c) menjadi sel progenitor kondrosit selama 21 hari
 - f) menvalidasi sel progenitor kondrosit dengan marker Sox4, Sox9, BMP2
3. *Scaffold* tulang rawan sesuai klaim 1 dibuat melalui tahapan:
 - a) memisahkan tulang rawan yang berasal dari tulang sapi,
 - b) membuat sediaan bubuk dari tulang rawan pada tahapan a) dengan ukuran 40-300 mikron,
 - c) mensterilkan sediaan bubuk dari tahapan b)

Abstrak

JARINGAN TULANG RAWAN REKAYASA UNTUK TERAPI OSTEOARTHRITIS
DARI KOMBINASI SEL PROGENITOR KONDROSIT
5 DAN SCAFFOLD TULANG RAWAN

10 Invensi ini berkaitan dengan jaringan tulang rawan rekayasa yang merupakan hasil *seeding* dari sel progenitor kondrosit pada *scaffold* tulang rawan. Produk jaringan tulang rawan rekayasa dari invensi ini digunakan untuk memperbaiki kerusakan tulang rawan pada proses degenerasi atau proses penuaan pada osteoarthritis.