



REPUBLIK INDONESIA
KEMENTERIAN HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA

SURAT PENCATATAN CIPTAAN

Dalam rangka perlindungan ciptaan di bidang ilmu pengetahuan, seni dan sastra berdasarkan Undang-Undang Nomor 28 Tahun 2014 tentang Hak Cipta, dengan ini menerangkan:

Nomor dan tanggal permohonan : EC00201826469, 6 September 2018

Pencipta

Nama : Prof. Fedik A. Rantam, drh, Ferdiansyah, dr., Sp.OT., , dkk
Alamat : Wisma Permai 9 No. 19, Surabaya, Jawa Timur, 60115
Kewarganegaraan : Indonesia

Pemegang Hak Cipta

Nama : Prof. Fedik A. Rantam, Ferdiansyah, dr., Sp.OT., , dkk
Alamat : Wisma Permai 9 No. 9, Surabaya, 10, 60115
Kewarganegaraan : Indonesia

Jenis Ciptaan : Buku
Judul Ciptaan : Modul Workshop On Stem Cell And Bio-Processing

Tanggal dan tempat diumumkan untuk pertama kali di wilayah Indonesia atau di luar wilayah Indonesia : 6 September 2018, di Surabaya

Jangka waktu perlindungan : Berlaku selama hidup Pencipta dan terus berlangsung selama 70 (tujuh puluh) tahun setelah Pencipta meninggal dunia, terhitung mulai tanggal 1 Januari tahun berikutnya.

Nomor pencatatan : 000116579

adalah benar berdasarkan keterangan yang diberikan oleh Pemohon.

Surat Pencatatan Hak Cipta atau produk Hak terkait ini sesuai dengan Pasal 72 Undang-Undang Nomor 28 Tahun 2014 tentang Hak Cipta.



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

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

MODUL 3

WORKSHOP STEM CELL DAN BIO-PROCESSING

PURWATI

PUSAT PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN SEL PUNCA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA REGENERATIVE MEDICINE CENTER
RSUD DR. SOETOMO-FK UNIVERSITAS AIRLANGGA

Editor:
Fedik A. Rantam
Ferdiansyah

2018



MODUL 3

WORKSHOP STEM CELL DAN BIO-PROCESSING

Pengarang:

Dr. Purwati, dr., Sp.PD, K-PTI, FINASIM

Divisi Tropik Infeksi, Dep. Penyakit Dalam, RSUD Dr. Soetomo/FK; Lab. *Stem Cell, Institute of Tropical Disease (ITD); Regenerative Medicine & Stem Cell Center* RSUD Dr. Soetomo/FK Universitas Airlangga Surabaya

Editor:

Prof. Dr. Fedik Abdul Rantam, drh.

Lab. Virologi dan Imunologi, Dep. Mikrobiologi, FKH; Lab. *Stem Cell, Institute of Tropical Disease (ITD); Regenerative Medicine & Stem Cell Center* RSUD Dr. Soetomo/FK Universitas Airlangga Surabaya

Dr. Ferdiansyah, dr., Sp.OT(K)

Dep. Ortopedi dan Traumatologi, RSUD Dr. Soetomo/FK; *Regenerative Medicine & Stem Cell Center, Bank Jaringan, RSUD Dr. Soetomo/FK* Universitas Airlangga Surabaya



**PUSAT PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN SEL PUNCA
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

PRAKATA

Segala puji hanyalah milik Allah SWT, Tuhan semesta alam. Puji syukur dipanjatkan karena berkat rahmat dan kemudahan-Nya sehingga Modul 3 yang diberi judul “*Workshop Stem Cell dan Bio-engineering*” ini dapat terselesaikan dengan baik. Adapun tujuan dari dibuatnya modul ini adalah untuk memberikan pengetahuan dan gambaran secara umum dan khusus tentang *stem cell*, metabolit *stem cell* juga rekayasa jaringan, serta aplikasinya secara mendasar di bidang medis.

Stem cell dapat berdiferensiasi menjadi sel yang diinginkan sesuai dengan lingkungan mikro. Berdasar pada sifat dan kemampuannya, *stem cell* lebih dikenal dengan sel yang mempunyai fleksibilitas (*plasticity*) tinggi. Aplikasi *stem cell* di bidang kedokteran regeneratif saat ini berkembang pesat karena sel tersebut dapat berfungsi untuk menggantikan sel yang mati, integrasi dengan sel jaringan hospes, menghasilkan molekul efek autokrin dan parakrin, dapat dieksplorasi dari berbagai sumber, dapat dikembangkan secara in-vitro, serta dapat diaplikasikan secara *autogenous* maupun *allogenuous*. Saat ini banyak aplikasi *stem cell* dikembangkan di bidang *bio-engineering* dalam bentuk komposisi (*composite*) rekayasa jaringan yang terdiri dari *scaffold*, sel, dan faktor pertumbuhan (*growth factors*).

Pada akhirnya, kami menyadari bahwa dalam penulisan modul ini masih banyak kekurangan baik dari segi isi maupun penyajian dan masih jauh dari kesempurnaan sehingga kritik dan saran yang bersifat membangun diperlukan guna membantu perbaikan dan penyempurnaan. Diharapkan modul ini dapat memberikan sumbangan motivasi dan inovasi dalam mengembangkan ilmu pengetahuan dan teknologi khususnya di bidang kedokteran regeneratif.

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
Kontributor Modul.....	i
Prakata	ii
Daftar Isi	iii
Daftar Gambar	iv
1. Latar Belakang.....	1
2. Tujuan Pelatihan dan Sertifikasi	2
3. Sasaran Pelatihan dan Sertifikasi.....	3
4. Program Pelatihan dan Sertifikasi.....	3
5. Proses Penyelenggaraan Pelatihan dan Sertifikasi.....	4
5.1. Biaya dan Fasilitas Pelatihan dan Sertifikasi.....	4
5.2. Deskripsi Kegiatan Pelatihan dan Sertifikasi.....	5
5.3. Instruksi Kerja.....	6
5.4. Waktu dan Tempat Pelatihan dan Sertifikasi.....	23
5.5. Dokumentasi Pelatihan dan Sertifikasi	23
Daftar Pustaka.....	24

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Program pelatihan dan sertifikasi <i>stem cell</i> dan <i>bio-processing</i>	3
Gambar 2. Deskripsi kegiatan pelatihan dan sertifikasi <i>stem cell</i> dan <i>bio-processing</i>	5

MODUL 3

WORKSHOP STEM CELL DAN BIO-PROCESSING

1. Latar Belakang

Bertambahnya angka harapan hidup berdampak pada penambahan insiden penyakit degeneratif dan keganasan. Kemajuan teknologi dan transportasi juga memberi efek meningkatnya insiden trauma. Penyakit degeneratif, keganasan dan trauma mengakibatkan kegagalan dan kerusakan organ ataupun jaringan. Fenomena ini memacu berkembangnya ilmu kedokteran regeneratif.

Kedokteran regeneratif dan rekayasa jaringan adalah terapi medis inovatif yang memungkinkan tubuh manusia untuk memperbaiki, mengganti, mengembalikan dan meregenerasi sel, jaringan dan organ yang rusak. Ilmuwan di seluruh dunia berkumpul dalam aktivitas penelitian yang memungkinkan perbaikan otot jantung yang rusak setelah serangan jantung, penggantian kulit untuk luka bakar, restorasi pergerakan setelah jejas medulla spinalis dan regenerasi jaringan pankreas untuk memproduksi insulin bagi penderita diabetes. Kedokteran regeneratif menjanjikan harapan hidup yang lebih tinggi dan peningkatan kualitas hidup dengan mendukung dan mengaktifkan proses penyembuhan alami tubuh.

Cangkok sumsum tulang telah digunakan dalam 40 tahun terakhir untuk regenerasi darah dan sistem imun pasien dengan leukemia, limfoma, anemia aplastik berat dan penyakit metabolik herediter. Sayangnya, cangkok sumsum tulang allogenik terbatas oleh ketersediaan donor yang sesuai. *Stem cell* muncul sebagai suatu alternatif yang mudah didapat dan langsung tersedia untuk terapi. Transplantasi *stem cell* dapat memberikan insidensi komplikasi yang lebih rendah, khususnya penyakit *graft-versus-host*. Uji klinik sedang dilakukan untuk memperbaiki otot jantung yang mempunyai paru atau yang sekarat setelah serangan jantung atau selama gagal jantung kongestif. Penelitian yang sedang berjalan pada diabetes difokuskan untuk memahami bagaimana *stem cell* dapat dilatih untuk menjadi tipe sel pulau pankreas yang mensekresi insulin yang diperlukan. Perbaikan jejas medulla spinalis juga merupakan tujuan peneliti melalui regenerasi neuron, myelin dan sel saraf.

Dengan berlangsungnya penelitian dasar, peneliti berharap untuk mempelajari bagaimana *stem cell* bereplikasi dan menciptakan sel anak terspesialisasi, yang mungkin

dapat memberikan gambaran mengenai kerusakan sel yang menyebabkan cacat bawaan. Memahami jalur sinyal sel juga dapat memberikan petunjuk bagaimana sel punca mampu berkumpul pada lokasi jejas untuk memulai perbaikan jaringan yang rusak atau sakit. Menggunakan sel punca sebagai sistem penghantaran obat merupakan satu tujuan lain peneliti. *Stem cell* juga mampu membawa agen kemoterapeutik langsung menuju sel kanker target. *Stem cell* juga dapat digunakan untuk menciptakan sel hepar atau jaringan lain yang dapat digunakan untuk penapisan kandidat obat baru demi keamanan pengembangan obat farmaseutika. Penggunaan sel dan/atau jaringan manusia dapat memberikan model yang lebih baik untuk uji toksikologi daripada model hewan tradisional yang digunakan saat ini.

Vaksin kanker, suatu macam imunoterapi adoptif, sedang dalam uji klinik untuk kanker prostat, payudara, indung telur dan kolorektal. Mengkombinasikan sel tumor dari pasien dengan sel dendritik dapat mengarah pada suatu vaksin yang akan mencari dan menghancurkan sel kanker. Imunoterapi adoptif lainnya dapat secara artifisial meningkatkan jumlah sel T pembunuh (suatu bentuk sel darah putih) pada pasien kanker. Hal ini melibatkan pengumpulan sel T pasien, ekspansi secara *ex vivo*, lalu diinfuskan kembali kepada pasien. Hasilnya adalah peningkatan jumlah sel T dan respons imun pasien yang lebih kuat terhadap kanker.

2. Tujuan Pelatihan dan Sertifikasi

Dalam rangka mewujudkan Pusat Penelitian dan Pengembangan Sel Punca Universitas Airlangga menjadi pusat terkemuka dalam tingkat nasional maupun internasional dalam bidang penelitian, pengujian/analisa dan pelatihan laboratorium, *Workshop Stem Cell* dan *Bio-processing* menjadi salah satu program yang diunggulkan dengan tujuan-tujuan diantaranya:

1. Mengembangkan kompetensi bagi profesi personil/individu yang melaksanakan kegiatan kepelatihan.
2. Mempersiapkan tenaga medis dan non-medis yang berkualitas yang berorientasi pada penguasaan pengolahan *stem cell* dan rekayasa jaringan.
3. Meningkatkan jumlah penelitian *stem cell* dan rekayasa jaringan.
4. Mendukung penelitian *stem cell* yang berkelanjutan.
5. Meningkatkan kolaborasi riset dalam bidang *stem cell* di dalam dan luar negeri.

6. Meningkatkan perolehan jumlah hak paten/HKI dalam bidang *stem cell*.
7. Meningkatkan pemahaman kepada masyarakat tentang aspek pengobatan dan manfaat *stem cell* dan rekayasa jaringan, baik dalam bidang kedokteran regeneratif, untuk kecantikan, maupun bidang medis lainnya.
8. Mengembangkan keilmuwan dan produk unggulan dalam bentuk produksi *stem cell* dan metabolit aktifnya.

3. Sasaran Pelatihan dan Sertifikasi

Adapun sasaran peserta pelatihan dan sertifikasi “*Workshop Stem Cell dan Bio-processing*” diantaranya:

1. Dokter atau Non-Dokter
2. Konsultan
3. Dikirim atau didelegasikan oleh Rumah Sakit / Instansi terkait
4. Tertarik menggeluti bidang *stem cell* dan rekayasa jaringan
5. Kalangan akademisi dari S2 maupun S3
6. Sanggup mengikuti pelatihan dan sertifikasi hingga berakhirnya program

4. Program Pelatihan dan Sertifikasi



Gambar 1. Program pelatihan dan sertifikasi *stem cell* dan *bio-processing*

Nama program pelatihan dan sertifikasi ini adalah “*Workshop Stem Cell dan Bio-processing*”. Program kegiatan yang dilakukan meliputi :

1. Pembekalan materi di dalam kelas yang disampaikan oleh praktisi atau klinisi di bidang *stem cell* dan rekayasa jaringan dari Pusat Penelitian dan Pengembangan Sel Punca Universitas Airlangga. Materi yang disampaikan adalah pengetahuan dasar mengenai *stem cell* dan rekayasa jaringan, isolasi dan kultur *stem cell* dan produk metabolitnya, aplikasi dan penelitian-penelitian yang telah dilakukan.
2. Pelatihan *hands-on* di laboratorium untuk meningkatkan kompetensi, dilakukan bersama-sama dengan teknisi profesional laboratorium sel punca.
3. Sertifikasi sebagai bukti peserta telah menyelesaikan pelatihan dengan baik. Sertifikasi ini menjadi tolak ukur pada dokter maupun klinisi yang akan mengaplikasi sel punca agar tercapai terapi yang efektif, efisien, aman dan sesuai dengan standar yang ditentukan.

5. Proses Penyelenggaraan Pelatihan dan Sertifikasi

5.1. Biaya dan Fasilitas Pelatihan dan Sertifikasi

Indeks biaya pelatihan dan sertifikasi “*Workshop Stem Cell dan Bio-processing*” per orang : Rp 20.000.000,- yang meliputi :

1. Biaya pelatihan dan sertifikasi
2. Training kit
3. Konsumsi
4. *Welcome party*

Selama mengikuti pelatihan dan sertifikasi, peserta akan mendapatkan fasilitas diantaranya :

1. Sertifikasi
2. Modul pelatihan
3. *Handout* materi presentasi
4. Buku “*Stem Cell: Mesenchymal, Hematopoetik dan Model Aplikasi, Edisi Kedua*” penerbit Airlangga University Press
5. Training kit (tas punggung, notebook, dan pen)
6. Konsumsi, termasuk *coffee break* selama pelatihan

5.2. Deskripsi Kegiatan Pelatihan dan Sertifikasi

Generally stem cell	<ul style="list-style-type: none">• expansion, isolation, characterisation, the promise of stem cell research
Isolation of stem cell	<ul style="list-style-type: none">• umbilical cord, amnion membrane, adipose tissue, culture of cell and organ, analysis potency of stem cell (scratch)
Preparation of MSCs based on marker	<ul style="list-style-type: none">• stem cell validation include purity, pluripotency, and contamination
Clinical application of stem cell	<ul style="list-style-type: none">• clinical application of stem cell, tissue engineering, and regenerative medicine, include national regulation
Stem cell analysis in vitro	<ul style="list-style-type: none">• characterization of stem cell using marker, passage cell, harvest validation (polymerase chain reaction (PCR: DNA extraction, amplification), immunochemistry, cell count, (freezing, thawing)
Analysis product metabolite	<ul style="list-style-type: none">• dialysis product metabolite (secretom), ELISA, general evaluation

Gambar 2. Deskripsi kegiatan pelatihan dan sertifikasi *stem cell* dan *bio-processing*

5.3. Instruksi Kerja

PROSEDUR MEMASUKI RUANG PROSES DI LAB STEM CELL
<p>Tujuan Sebagai acuan penerapan langkah–langkah untuk memasuki ruangan khusus <i>processing</i> di Laboratorium <i>Stem Cell</i> Universitas Airlangga</p>
<p>Ruang Lingkup Instruksi kerja ini menjelaskan cara memasuki ruangan khusus <i>processing</i> di Laboratorium <i>Stem Cell</i> Universitas Airlangga</p>
<p>Penanggung Jawab Ketua Pusat Penelitian dan Pengembangan Sel Punca Universitas Airlangga</p>
<p>Acuan World Health Organization. 2004. Laboratory biosafety manual 3rd edition. Geneva Switzerland</p>
<p>Instruksi Kerja</p> <ol style="list-style-type: none">1. Melepaskan alas kaki sebelum memasuki laboratorium2. Tidak diperbolehkan untuk membawa makanan dan minuman3. Meletakkan semua barang bawaan pada loker yang disediakan4. Memakai baju khusus yang telah disediakan5. Menggunakan <i>glove</i> atau sarung tangan selama proses di dalam laboratorium6. Menggunakan masker, <i>nurse cap</i>, serta mengenakan alas kaki khusus ruangan steril7. Masuk ke dalam ruang laboratorium

PROSEDUR *PROCESSING* JARINGAN AMNION

Tujuan

Sebagai acuan penerapan langkah-langkah pemrosesan jaringan amnion di Laboratorium *Stem Cell* Universitas Airlangga

Ruang lingkup

Instruksi kerja ini menjelaskan cara untuk proses isolasi jaringan amnion untuk dikultur menjadi *mesencymal stem cell*

Penanggung Jawab

Ketua Pusat Penelitian dan Pengembangan Sel Punca Universitas Airlangga

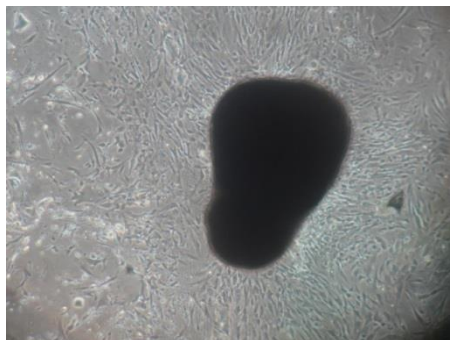
Acuan

Rantam, Fedik A. dkk., 2014, Stem cell mesenchymal, hematopoetik dan model aplikasi edisi kedua, Surabaya, Indonesia

Instruksi Kerja

1. Keluarkan jaringan amnion dari medium transport dan letakkan dalam cacing
2. Cuci jaringan amnion dengan PBS steril sampai bersih dari darah dan debris jaringan yang melekat
3. Lakukan pemotongan dengan cara mencincang hingga halus
4. Tambahkan enzim kolagenase untuk mengeluarkan *stem cell* dari jaringan amnion
5. Inkubasi selama 45 menit pada suhu 37⁰C
6. Saring jaringan lemak dan lakukan sentrifugasi hingga terbentuk *pellet*
7. Tambahkan medium kultur pada *pellet* dan tanam pada *plate* 10 cm hingga sel melekat pada dasar petri
8. Berikan label identitas pasien berupa nama dan tanggal *processing* kemudian inkubasi dalam inkubator CO₂

Analisis Hasil Pemeriksaan



PROSEDUR *PROCESSING* JARINGAN LEMAK

Tujuan

Sebagai acuan penerapan langkah-langkah pemrosesan jaringan lemak di Laboratorium *Stem Cell* Universitas Airlangga

Ruang Lingkup

Instruksi kerja ini menjelaskan cara untuk proses isolasi jaringan lemak untuk dikultur menjadi *mesencymal stem cell*

Penanggung Jawab

Ketua Pusat Penelitian dan Pengembangan Sel Punca Universitas Airlangga

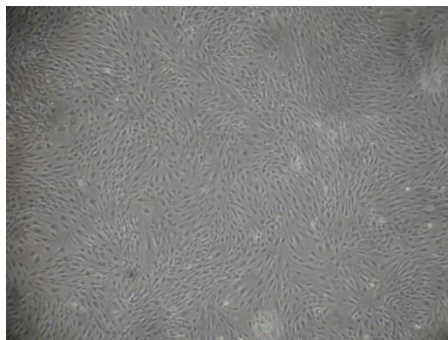
Acuan

Rantam, Fedik A. dkk., 2014, *Stem cell mesenchymal, hematopoetik dan model aplikasi edisi kedua*, Surabaya, Indonesia

Instruksi Kerja

1. Keluarkan jaringan lemak dari medium transport dan letakkan dalam cucing
2. Cuci jaringan lemak dengan PBS steril sampai bersih dari darah dan debris jaringan yang melekat
3. Lakukan pemotongan dengan cara mencincang hingga halus
4. Tambahkan enzim kolagenase untuk mengeluarkan *stem cell* dari jaringan lemak
5. Inkubasi selama 45 menit pada suhu 37⁰C
6. Saring jaringan lemak dan lakukan sentrifugasi hingga terbentuk *pellet*
7. Tambahkan medium kultur pada *pellet* dan tanam pada *plate* 10 cm hingga sel melekat pada dasar petri
8. Berikan label identitas pasien berupa nama dan tanggal *processing* kemudian inkubasi dalam inkubator CO₂

Analisis Hasil Pemeriksaan



PROSEDUR PROCESSING JARINGAN UMBILICAL CORD

Tujuan

Sebagai acuan penerapan langkah-langkah pemrosesan jaringan *umbilical cord* di Laboratorium *Stem Cell* Universitas Airlangga

Ruang Lingkup

Instruksi kerja ini menjelaskan cara untuk proses isolasi jaringan *umbilical cord* untuk dikultur menjadi *mesencymal stem cell*

Penanggung Jawab

Ketua Pusat Penelitian dan Pengembangan Sel Punca Universitas Airlangga

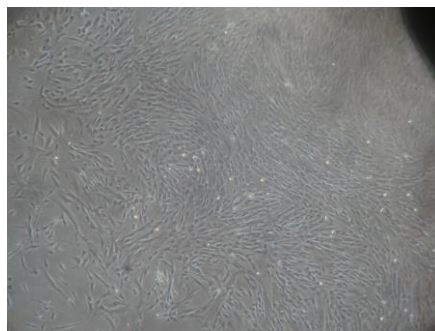
Acuan

Rantam, Fedik A. dkk., 2014, Stem cell mesenchymal, hematopoetik dan model aplikasi edisi kedua, Surabaya, Indonesia

Instruksi Kerja

1. Keluarkan jaringan *umbilical* dari medium transpor dan letakkan dalam cacing
2. Cuci jaringan *umbilical cord* dengan PBS steril sampai bersih dari darah dan debris jaringan yang melekat
3. Lakukan pemotongan dengan cara mencincang hingga halus
4. Tambahkan enzim kolagenase untuk mengeluarkan *stem cell* dari jaringan *umbilical cord*
5. Inkubasi selama 45 menit pada suhu 37⁰C
6. Saring jaringan lemak dan lakukan sentrifugasi hingga terbentuk *pellet*
7. Tambahkan medium kultur pada *pellet* dan tanam pada plate 10 cm hingga sel melekat pada dasar petri
8. Berikan label identitas pasien berupa nama dan tanggal *processing* kemudian inkubasi dalam inkubator CO₂

Analisis Hasil Pemeriksaan



PROSEDUR *PROCESSING* SEL PBMC

Tujuan

Sebagai acuan langkah-langkah pemrosesan isolasi PBMC

Ruang Lingkup

Instruksi kerja ini menjelaskan cara untuk proses isolasi PBMC

Penanggung Jawab

Ketua Pusat Penelitian dan Pengembangan Sel Punca Universitas Airlangga

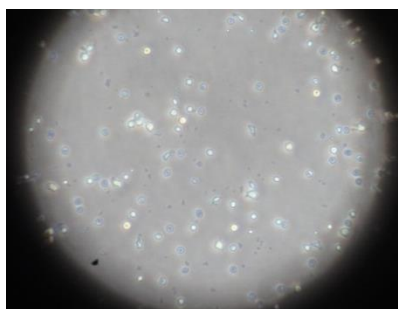
Acuan

Rantam, Fedik A. dkk., 2014, Stem cell mesenchymal, hematopoetik dan model aplikasi edisi kedua, Surabaya, Indonesia

Instruksi Kerja

1. Tuangkan darah dari spuit kedalam konikel 50 cc secara perlahan
2. Tambahkan PBS 1:1 kemudian diresuspensi menjadi larutan homogen
3. Tuangkan hasil resuspensi pada tabung konikel yang sudah diberi *ficol* 5 cc dengan cara perlahan melalui dinding tabung
4. Sentrifugasi selama 30 menit dengan kecepatan 1600 rpm dengan suhu 26⁰C
5. Setelah terpisah jadi 4 lapis aspirai bagian lapisan kedua yang berupa *Buffycoat* yang tampak seperti cincin kabut
6. Tuang perlahan larutan *Buffycoat* kedalam konikel tube 15 ml kemudian cuci dengan menggunakan PBS 10 cc
7. Sentrifugasi selama 5menit dengan kecepatan 1600 rpm
8. Setelah terbentuk *pellet* tambahkan medium kultur
9. Lakukan resuspensi hingga homogen, kemudian tanam dalam *plate* 10 cm
10. Berikan label identitas pasien berupa nama dan tanggal *processing* kemudian inkubasi dalam inkubator CO₂

Analisis Hasil Pemeriksaan



PROSEDUR *PROCESSING* JARINGAN LEMAK

Tujuan

Sebagai acuan penerapan langkah-langkah pemrosesan jaringan lemak di Laboratorium *Stem Cell* Universitas Airlangga

Ruang Lingkup

Instruksi kerja ini menjelaskan cara untuk proses isolasi jaringan lemak untuk dikultur menjadi *mesenchymal stem cell*

Penanggung Jawab

Ketua Pusat Penelitian dan Pengembangan Sel Punca Universitas Airlangga

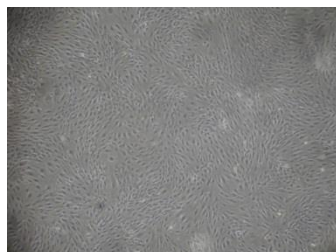
Acuan

Rantam, Fedik A. dkk., 2014, *Stem cell mesenchymal, hematopoetik dan model aplikasi edisi kedua*, Surabaya, Indonesia

Instruksi Kerja

1. Keluarkan jaringan lemak dari medium transport dan letakkan dalam cacing
2. Cuci jaringan lemak dengan PBS steril sampai bersih dari darah dan debris jaringan yang melekat
3. Lakukan pemotongan dengan cara mencincang hingga halus
4. Tambahkan enzim kolagenase untuk mengeluarkan *stem cell* dari jaringan lemak
5. Inkubasi selama 45 menit pada suhu 37⁰C
6. Saring jaringan lemak dan lakukan sentrifugasi hingga terbentuk *pellet*
7. Tambahkan medium kultur pada *pellet* dan tanam pada plate 10 cm hingga sel melekat pada dasar petri
8. Berikan label identitas pasien berupa nama dan tanggal *processing* kemudian inkubasi dalam inkubator CO₂

Analisis Hasil Pemeriksaan



THAWING SEL

Tujuan

Sebagai acuan langkah-langkah penerapan dalam melakukan *thawing* sel

Ruang Lingkup

Instruksi kerja ini menjelaskan cara untuk proses *thawing* sel

Penanggung Jawab

Ketua Pusat Penelitian dan Pengembangan Sel Punca Universitas Airlangga

Acuan

Rantam, Fedik A. Dkk., 2009, Stem cell Exploration Methods of isolation and culture edisi pertama, Surabaya, Indonesia.

Rantam, Fedik A. Dkk., 2014, Stem cell mesenchymal, hematopoetik dan model aplikasi edisi kedua, Surabaya, Indonesia.

Rantam, Fedik A., 2003, Metodologi imunologi, Surabaya. Indonesia.

Instruksi Kerja

1. Sel yang disimpan pada nitrogen cair atau minus 80 kemudian dicairkan pada *water bath* dengan temperatur 37⁰ C
2. Kemudian menuangkan sel 1ml kedalam tabung yang mengandung 10ml medium yang telah dipanaskan pada temperatur 37⁰ C
3. Kemudian di sentrifuge selama 5 menit 1600 rpm
4. Kemudian supernatan di buang dan pelet diresuspensi dengan menggunakan medium kultur dan di masukan dalam *plate* dan letakan dalam inkubator CO₂ suhu 37⁰ C selama 6 jam
5. Kemudian di evaluasi dengan menggunakan mikroskop *inverted*
6. Berikan label identitas pasien berupa nama dan tanggal *processing* kemudian inkubasi dalam inkubator CO₂

FREZZING SEL

Tujuan

Sebagai acuan langkah-langkah penerapan dalam melakukan *freezing* sel

Ruang Lingkup

Instruksi kerja ini menjelaskan cara untuk proses *freezing* sel

Penanggung Jawab

Ketua Pusat Penelitian dan Pengembangan Sel Punca Universitas Airlangga

Acuan

Rantam, Fedik A. Dkk., 2009, Stem cell Exploration Methods of isolation and culture edisi pertama, Surabaya, Indonesia.

Rantam, Fedik A. Dkk., 2014, Stem cell mesenchymal, hematopoetik dan model aplikasi edisi kedua, Surabaya, Indonesia.

Rantam, Fedik A., 2003, Metodologi imunologi, Surabaya. Indonesia.

Instruksi Kerja

1. Sel yang disimpan sebaiknya sel yang berumur 2-3 hari agar setelah *thawing* sel hidup lebih bnyak
2. Sel yang ditanam pada *plate* atau *flash* dipanen
3. Kemudian di *sentrifuge* selama 5 menit 1600 rpm
4. Kemudian supernatan dibuang dan pelet diresuspensi dengan menggunakan
5. Medium *freezing* dan dimasukkan dalam *cryotube* yang di rendam didalam es
6. *Cryotube* di taruh pada *styrophor* dan disimpan pada *freezer* -80°C atau nitrogen cair

PEMERIKSAAN BIOLOGI MOLEKULER *STEM CELL*

Tujuan

Untuk memperoleh hasil pemeriksaan biologi molekuler *mesenchymal stem cell* (MSC) dan *haemopoetic stem cell* (HSC)

Ruang Lingkup

Instruksi kerja ini menjelaskan cara pemeriksaan untuk mendeteksi gen nukleotida dengan teknik PCR, baik yang secara kualitatif maupun kuantitatif

Penanggung Jawab

Ketua Pusat Penelitian dan Pengembangan Sel Punca Universitas Airlangga

Acuan

1. Rantam, Fedik.A., 2003. Metode Imunologi. Airlangga University Press. Surabaya, Indonesia
2. Rantam, Fedik.A., Fediansyah, Purwati. 2014. Stem Cell Mesenchymal, Hematopoetik, dan Model Aplikasi Edisi Kedua. Airlangga University Press, Surabaya, Indonesia. Hal 57-77.
3. Surzycki, S. Human Molecular Biology Laboratory Manual. 2003. Blackwell Publishing Company, USA. page 196-213.

Instruksi Kerja

Ekstraksi RNA

Ekstraksi RNA dari *Haemopoetic Stem Cell* (HSC) menggunakan reagen Trizol, HSC dari pembuluh darah tepi yang telah di kultur kemudian di koleksi dalam *connical tube* 15 ml dan di sentrifugasi dengan kecepatan 6000 rpm selama 5 menit, kemudian supernatan dibuang dan pelet sel di tambahkan dengan reagen Trizol sebanyak 1000 µl untuk melisiskan sel dan diresuspensi, sedangkan yang berasal dari *Mesenchymal Stem Cell* (MSC) penambahan Trizol pada Plate dish diameter 5cm ditambahkan reagen Trizol sebanyak 1000 µl untuk melisiskan sel dan diresuspensi.

Langkah selanjutnya untuk ekstraksi RNA pada HSC maupun MSC sama dimana, hasil resuspensi kemudian dimasukkan ke dalam mikrotube 1,5 ml lalu ditambahkan 200 µl chloroform untuk memisahkan pada fase *aqua* yang mengandung RNA, *shake* untuk homogenisasi dan diinkubasi pada suhu ruang selama 5 menit. Sentrifugasi dengan kecepatan 12.000 rpm, 15 menit, pada suhu 4°C. *Aquaface* diambil dan masukkan ke dalam mikrotube 1,5 ml baru dan ditambahkan isopropanol 500 µl,

untuk presipitasi RNA, *shake* dan diinkubasi pada suhu ruang selama 10 menit. Dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 12.000 rpm, 10 menit, pada suhu 4°C, kemudian buang supernatan hati-hati agar pelet tidak sampai ikut terbuang dan dicuci dengan etanol 75% masing-masing sebanyak 1000 µl. Dilakukan sentrifugasi kembali dengan kecepatan 9.100 rpm, 7 menit pada suhu 4°C, buang supernatan lalu kering anginkan pada *laminar flow* kemudian ditambahkan *nuclease free water* sebanyak 20 µl kemudian dipipeting untuk homogenisasi dan di inkubasi pada suhu 55°C selama 10 menit. Ekstraksi RNA dapat langsung dipakai atau di simpan pada suhu -80°C.

One Step PCR

One Step PCR dilakukan dengan menggunakan reagen SuperScript III One-Step RT-PCR System with Platinum *Taq* DNA Polymerase dari Invitrogen (Cat. No. 12574-026). Sebelum membuat Master Mix, reagen harus di *thawing* dan di *spindown* terlebih dahulu.

Pencampuran Master Mix untuk One Step PCR adalah sebagai berikut :

Komponen	Volume
2x Reaction Mix	12.5 µl
Sense Primer (10µM)	1 µl
Anti sense primer (10µM)	1 µl
Template RNA	1-2 µl
Nuclease Free Water	8.5µl

One Step PCR dilakukan dengan menggunakan reagen SuperScript III One-Step RT-PCR System with Platinum *Taq* DNA Polymerase dari Invitrogen (Cat. No. 12574-026). Sebelum membuat Master Mix, reagen harus di *thawing* dan di *spindown*.

Pencampuran Master Mix untuk One Step PCR adalah sebagai berikut :

Komponen	Volume
2x Reaction Mix	12.5 µl
Sense Primer (10µM)	1 µl
Anti sense primer (10µM)	1 µl
Template RNA	1-2 µl
Nuclease Free Water	8.5µl

Selanjutnya Master Mix di masukkan ke alat Thermal Cycler dimana cDNA synthesis dilanjutkan langsung dengan PCR amplifikasi

cDNA sintesis

1 siklus 45-60°C for 15-30 menit

Denaturasi

1 siklus 94°C for 2 menit

PCR amplifikasi

40 Siklus 94°C for 15 detik

55-65°C for 30 detik

68°C for 1 menit per kilobase

Final extension

1 Siklus 65°C for 5 menit

PEMERIKSAAN BIOLOGI MOLEKULER *STEM CELL*

1. Elektroforesis

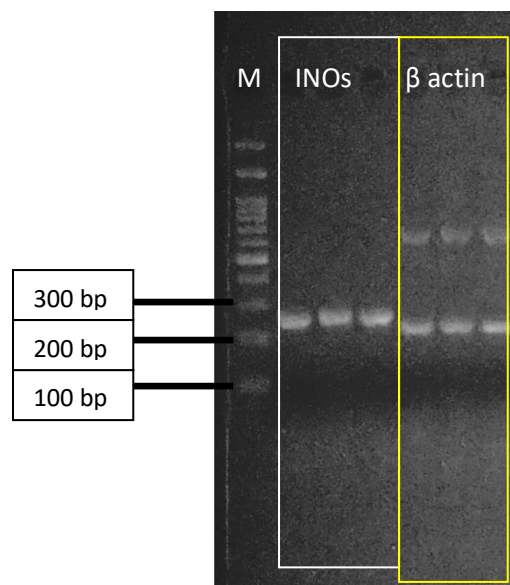
Pembuatan agarose gel 1%:

Timbang sebanyak 0.5 gram agarose dan dimasukkan ke dalam tabung erlenmeyer yang telah berisi 50 ml 0,5X TBE (Tris Buffer EDTA), dan diaduk hingga tercampur, masukkan erlenmeyer pada oven dan panaskan hingga agarose sepenuhnya larut, kemudian ditambahkan dengan *Ethidium Bromide* sebanyak 1 μ l dan diaduk sampai merata lalu di tuang kedalam cetakan agarose.

Sebanyak 4 μ l DNA hasil PCR dicampur dengan 1 μ l *loading dye*, dan 3 μ l *nuclease free water* dimasukkan ke dalam well Agarose LE 1 % untuk proses *running*. Marker yang digunakan sebagai acuan adalah 100 bp *DNA ladder* yang terdiri dari 15 fragmen antara 100 bp dan 1.500 bp dan fragmen tambahan 2072 bp . Plat dijalankan dalam kondisi 100 V, 400 mA dalam waktu 45 menit. Kemudian gel hasil elektroforesis dibaca pada *Gel Documentation/Transluminator* UVP dan didokumentasikan.

2. Hasil Elektroforesis

Berikut adalah salah satu hasil ELP pada pemeriksaan PCR Haemopoetik Stem Cell



KARAKTERISASI *STEM CELL*

Tujuan

1. Untuk mengevaluasi apakah sel dalam sampel tertentu mengekspresikan antigen yang bersangkutan atau tidak dengan metode Imunositokimia
2. Untuk mengetahui kuantitas sensitif kolometrik sel dengan uji MTT Assay
3. Untuk mendeteksi suatu antibodi, antigen, atau hormon tertentu yang disekresikan oleh sel dengan metode ELISA
4. Untuk mengetahui kalsifikasi sel yang telah berdiferensiasi menjadi sel osteogenik dengan teknik pemeriksaan Alizarin Red

Ruang Lingkup

Instruksi kerja ini menjelaskan tentang karakterisasi sel dengan beberapa metode seperti, uji ICC, uji MTT, ELISA, dan Pewarnaan Alizarin Red

Penanggung Jawab

Ketua Pusat Penelitian dan Pengembangan Sel Punca Universitas Airlangga

Acuan

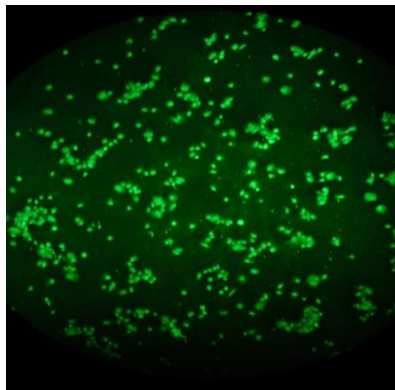
1. Rantam, Fedik.A., 2003. Metode Imunologi. Airlangga University Press. Surabaya, Indonesia
2. Stockert, Juan C., A.Blázquez-Castro^a, M.Cañete, R. W. Horobin, Á. Villanueva. 2012. MTT assay for cell viability: Intracellular localization of the formazan product is in lipid droplets. Acta Histochemica. Volume 114, Issue 8, December 2012, Pages 785–796
3. S. An, Ling J., Gao Y., Xiao Y. 2012. Effects of varied ionic calcium and phosphate on the proliferation, osteogenic differentiation and mineralization of human periodontal ligament cells in vitro. J Periodontal Res. 2012 Jun;47(3):374-82.
4. Shan-Rong Shi, James Guo, Richard J. Cote, Lillian Young, Debra Hawes, Yan Shi, Sandra Thu, and Clive R. Taylor, Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology, vol 7, 201-208, 1999

Instruksi Kerja

1. Imunositokimia (ICC) :

➤ Immunositokimia berlabel FITC:

- Sel monolayer di lakukan proses *splitting* agar menjadi *single* sel dan kemudian di tanam pada obyek glass COOKE dan di inkubasi pada suhu 37°C selama 2 jam
- Sel yang telah di inkubasi kemudian di fiksasi dengan Buffer formalin 4% selama 15 menit, lalu obyek glass di cuci dengan PBS dan di kering anginkan, dilanjutkan dengan Blocking FBS 10% selama 15 menit
- Sel kemudian di beri pewarnaan antibodi sekunder sebanyak 10 µl sesuai yang di inginkan misal untuk karakterisasi sel Mesenchymal Stem Cell dengan CD 105, untuk Haemopoetik Stem Cell dengan CD 45, untuk sel Kanker dengan CD 133, dan lain sebagainya, pewarnaan CD dilakukan pada ruangan gelap karena sensitif terhadap cahaya, kemudian di inkubasi pada suhu 37°C selama 1 jam dan dilakukan pembacaan menggunakan mikroskop Fluoresence.
- Hasil ICC pewarnaan CD 105 positif:



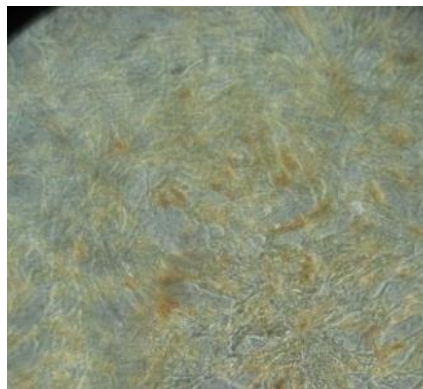
Sel yang terlabel CD 105 berpendar kehijauan

➤ Immunositokimia dengan DAB:

- Perlabelan sel dengan teknik ICC juga dapat dilakukan dengan perwarnaan DAB chromogen menggunakan Kit Lab Vision Ultravision LP: Detection System HRP Polymer/DAB Chromogen merek Thermo (cat# TL-125HD)
- Sel monolayer di lakukan proses *splitting* agar menjadi *single* sel dan kemudian di tanam pada *cover slip* dan diinkubasi pada inkubator CO2 dengan suhu 37°C selama 2 hari
- *Coverslip* kemudian dikoleksi dan difiksasi dengan *buffer* formalin 4% selama 15 menit
- *Coverslip* kemudian dicuci dengan PBS-Tween 0,5%, lalu diinkubasi dengan

Hydrogen Peroksida Block selama 10 menit.

- Dicuci lagi dalam PBS-Tween 0,5% sebanyak 4 kali, dan ditambahkan Ultra V Block diinkubasi selama 5 menit.
- *Coverslip* dicuci lagi dengan PBS-Tween 0,5% dan di berikan antibodi Primer yang ingin di periksa, diinkubasi selama 1 jam pada suhu 37°C
- Setelah 1 jam cuci kembali coverslip dan di tambahkan dengan Primary antibodi enhancer selama 10 menit
- Cuci *coverslip* lalu ditambahkan HRP polymer selama 15 menit(pada tahap ini sebaiknya dilakukan pada ruangan gelap)
- Setelah pencucian tambahkan 1 tetes (40µl) DAB chromogen yang telah dicampur dengan 2 ml DAB plus subtrat dan inkubasi 5 menit pada suhu ruang.
- *Coverslip* dapat diamati pada mikroskop inverted



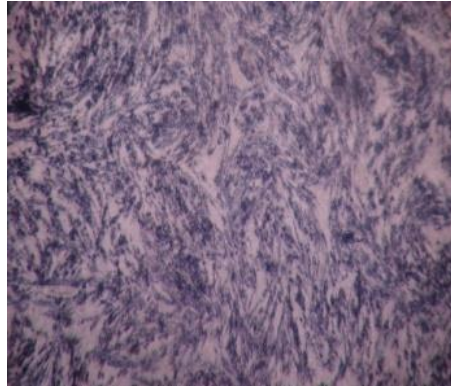
Sel yang terwarnai dengan DAB Chromogen

1. MTT Assay:

- Sel monolayer di proses splitting agar menjadi *single* sel dan kemudian di tanam pada plate M-96 sebanyak 3000-5000 sel per well dan diinkubasi pada inkubator CO₂ dengan suhu 37°C selama kurang lebih 24 jam
- Sel yang telah ditanam pada plate M-96 di berikan bahan tertentu untuk mengetahui apakah bahan tersebut toksik terhadap sel, atau menginduksi proliferasi sel sebanyak 200 µl per well, dengan konsentrasi sesuai yang diinginkan, dan diinkubasi selama 20 jam pada inkubator CO₂ dengan suhu 37°C
- Timbang reagen MTT sebanyak 5mg/ml di larutkan dengan PBS kemudian ditambahkan tiap well perlakuan sebanyak 25µl dan diinkubasi selama 4 jam
- Hasil MTT assay adalah terbentuknya Kristal Formazan atau tidak sebagai reaksi

tetrazolium bromide terhadap enzim dehidrogenase yang disekresikan oleh mitokondria sel

- Semakin banyak kristal formazan yang terbentuk menunjukkan bahwa viabilitas sel semakin tinggi atau terjadi proliferasi sel, dapat juga menunjukkan bahwa bahan yang di ujikan tidak toksik terhadap sel



Kristal formazan

2. ELISA

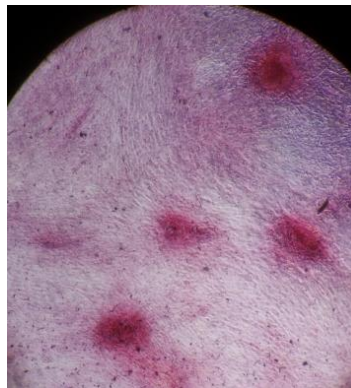
- Uji ini sering digunakan untuk mengukur kadar titer antigen dan antibodi dengan cara nilai absorbansinya melalui *optical density* (OD)
- Salah satu model ELISA yang dapat digunakan adalah *Sandwich* ELISA, dimana antigen yang akan diperiksa telah di coating pada well
- Kit ELISA dapat mendeteksi didesain untuk dapat mendeteksi kuantitas suatu antibodi yang berasal dari kultur sel supernatan, serum, plasma, dan cairan biologis lainnya.
- Tahapan dalam Sandwich ELISA adalah sebagai berikut:
 - a. Disiapkan permukaan untuk mengikatkan antibodi 'penangkap'. Semua non spesifik binding sites pada permukaan diblokir
 - b) Sampel berisi antigen dimasukkan dalam plate
 - c) Plate dicuci untuk membuang kelebihan antigen yang tidak terikat
 - d) Antibodi primer ditambahkan, supaya berikatan secara spesifik dengan antigen
 - e) Antibodi sekunder yang berikatan dengan enzim dimasukkan, yang akan berikatan dengan antibodi primer
 - f) Plate dicuci, sehingga konjugat antibodi-enzim yang tidak terikat dapat dibuang.
 - g) Ditambahkan reagen yang dapat diubah oleh enzim menjadi sinyal berwarna/

berfluoresensi/ elektrokimia

h) Diukur absorbansinya untuk menentukan kehadiran dan kuantitas dari antigen.

3. Pewarnaan Alizarin Red:

- Pewarna *Alizarin Red* dapat mewarnai sel yang terkalsifikasi. Ion Ca^{2+} yang terdapat dalam proses kalsifikasi tulang akan bereaksi dengan ARS membentuk kompleks Ca-ARS yang berwarna merah
 - Identifikasi differensiasi sel menjadi sel osteogenik dapat diamati setelah 21 hari, medium penumbuh yang lama dibuang kemudian di cuci dengan PBS
 - Dilakukan fiksasi sel dengan menggunakan Buffer formalin 4 % selama 15 menit
 - Selanjutnya sel di cuci kembali dengan PBS dan diwarnai dengan larutan Alizarin Red dan inkubasi pada temperatur ruang selama 1 jam lalu di cuci kembali dengan PBS sebanyak 2 kali
- Sel selanjutnya dapat diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 10 x 10.
- Hasil pewarnaan Alizarin red:



Sel yang mengalami Kalsifikasi menyerap warna merah

5.4. Waktu dan Tempat Pelatihan dan Sertifikasi

Waktu:

Workshop on Stem Cell and Tissue Processing dilaksanakan selama 3 hari pada bulan April, Juli dan November. Masing-masing terdapat 2 sesi, dimana 1 sesi maksimal 10-12 orang.

Tempat :

Pusat Penelitian dan Pengembangan Sel Punca (*Stem Cell Research and Development Center*) Universitas Airlangga Kampus C

Jl. Mulyorejo, Sukolilo, Mulyorejo, Kota Surabaya, Jawa Timur 60115

Telp: (031) 5915551

5.5. Dokumentasi Pelatihan dan Sertifikasi



DAFTAR PUSTAKA

- Bancroft JD, Gamble M. 2002. *Theory and Practice of Histological Techniques*. 5th edition. Philadelphia. Churchill Livingstone Publishers, pp. 63–84.
- Birbrair, Alexander; Frenette, Paul S. 2016. *Niche Heterogeneity in the Bone Marrow*. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1370: 82–96.
- Bosworth, L. A.; Turner, L. A.; Cartmell, S. H. 2013. *State of The Art Composites Comprising Electrospun Fibres Coupled With Hydrogels: A Review*. *Nanomedicine*, 9, 322–335.
- Cassidy JW. 2014. *Nanotechnology in the regeneration of complex tissues*. *Bone and Tissue Regeneration Insights*. 5: 25–35.
- Chan JK. 2014. *The Wonderful Colors of The Hematoxylineosin Stain in Diagnostic Surgical Pathology*. *International Journal of Surgical Pathology*, Vol. 22, No. 1, pp. 12–32.
- Chen YW, Chiou SH, Wong TT, Ku HH, Lin HT, Chung CF, Yen SH, Kao CL. 2006. *Using gelatin scaffold with coated basic fibroblast growth factor as a transfer system for transplantation of human neural stem cells*. *Transplant Proc*; 38(5):1616-7.
- Cotran, Ramzi S. Kumar, Vinay; Fausto, Nelson; Nelso Fausto; Robbins, Stanley L.; Abbas, Abul K. 2005. *Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease*. St. Louis, Mo: Elsevier Saunders.
- Etzion S, Barbash IM, Feinberg MS. 2002. *Cellular Cardiomyoplasty of Cardiac Fibroblast by Adenoviral Delivery of MyoD Ex Vivo: An Unlimited Source of Cells for Myocardial Repair*. *Circulation*. 106(12 Suppl 1): I125-I130.
- Fariz Ihsan, Indra Setyawan, Suniawan Satrio, Ayunda Dewi Jayanti, Shahylananda Tito, Elizabeth Henny Herningtyas. 2016. *Ekstrak Purwaceng (Pimpinella Alpinna) sebagai Agen Kemopreventif dan Kemoterapi Kanker Paru (Kajian Antiproliferatif serta Uji Apoptosis melalui Jalur P53, Bcl-2, Rb dan Caspase- 9)*. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.
- Francisco-Cruz A, Aguilar-Santelises M, Ramos-Espinosa O, Mata-Espinosa D, Marquina-Castillo B, Barrios-Payan J, Hernandez-Pando R. 2014. *Granulocyte-*

- Macrophage Colony-Stimulating Factor: Not Just Another Haematopoietic Growth Factor*. *Medical Oncology*. 31 (1): 774.
- Friedrich J, Seidel C, Ebner R, Kunz-Schughart LA. 2009. *Spheroid-based drug screen: considerations and practical approach*. *Nat Protoc*. 4: 309–24. doi:10.1038/nprot.2008.226. PMID 19214182.
- Gaetano T. Montelione. 2010. *Humoral Immunity*. Medscape, CABM Structural Bioinformatics Laboratory.
- Gaharwar, AK; Peppas, NA; Khademhosseini, A. 2014. *Nanocomposite Hydrogels for Biomedical Applications*. *Biotechnology and Bioengineering*. 111 (3): 441–53.
- Ginhoux F, Jung S. 2014. *Monocytes and Macrophages: Developmental Pathways and Tissue Homeostasis*. *Nature Reviews Immunology*, Vol. 14, No. 6, pp. 392–404.
- Halim D, Harry M, Ferry S, Arief B, Tono D, Boenjamin S. 2010. *Stem Cell: Dasar Teori & Aplikasi Klinis*. Erlangga.
- Harris DT. 2013. *Umbilical Cord Tissue Mesenchymal Stem Cells: Characterization and Clinical Applications*. *Curr Stem Cell Res Ther*;8(5):394-9.
- Harris, Edward D. 2017. *Biochemical Facts Behind The Definition and Properties of Metabolites*. Biochemistry and Biophysics and Faculty of Nutrition Texas A&M University.
- Hee Jung Lee, Eo Gin Lee, Sangjin Kang, Jong-Hyuk Sung, Hyung-Min Chung, Dong Hyun Kim. 2014. *Efficacy of Microneedling Plus Human Stem Cell Conditioned Medium for Skin Rejuvenation: A Randomized, Controlled, Blinded Split-Face Study*. *Ann Dermatol* Vol. 26, No. 5, pp. 584-591.
- Helfrich RY, Sachs LD, Voorchees JJ. 2008. *Overview of Skin Aging and Photoaging*. *Dermatology Nursing*, Vol. 20, No. 3, pp. 177-83.
- Hiasa M, Abe M, Nakano A, Oda A, Amou H, Kido S, Takeuchi K, Kagawa K, Yata K, Hashimoto T, Ozaki S, Asaoka K, Tanaka E, Moriyama K, Matsumoto T. 2010. *GM-CSF and IL-4 Induce Dendritic Cell Differentiation and Disrupt Osteoclastogenesis through M-CSF Receptor Shedding by Up-Regulation of TNF-Alpha Converting Enzyme (TACE)*. Department of Medicine and Bioregulatory Sciences, University of Tokushima Graduate School of Medical Sciences.

- Howard D, Lee D. Buttery, Kevin M. Shakesheff and Scott J. Roberts. 2008. *Tissue Engineering: Strategies, Stem Cells and Scaffolds*. J. Anat. 213, pp66–72.
- Jennifer Elisseeff, Peter X. Ma. 2005. *Scaffolding In Tissue Engineering*. Boca Raton: CRC.
- Kanczler JM, Barry J, Ginty P, Howdle SM, Shakesheff KM, Oreffo RO. 2007. *Supercritical carbon dioxide generated vascular endothelial growth factor encapsulated poly(DL-lactic acid) scaffolds induce angiogenesis in vitro*. Biochem Biophys Res Commun; 352(1):135-41.
- Kim Serk W. 2009. *The Wound–Healing and Antioxidant Eff Ect of Adipose-Derived Stem Cells*. Expert Opinion on Biological Therapy, Vol. 7, pp. 879-87.
- Kraich M, Klein M, Patino E, Harrer H, Nickel J, Sebald W, Mueller TD. 2006. *A Modular Interface of IL-4 Allows for Scalable Affinity without Affecting Specificity for The IL-4 Receptor*. BMC Biology, 4:13.
- Lai Y, Asthana A, Kisaalita WS. 2011. *Biomarkers for simplifying HTS 3D cell culture platforms for drug discovery: the case for cytokines*. Drug Discov Today. 16: 293–7.
- Lechner A, Habener JF. 2003. *Stem/Progenitor Cells Derived from Adult Tissues: Potential for the Treatment of Diabetes Mellitus*. American Journal of Physiology, Endocrinology and Metabolism;254;259-266.
- Lee, EL; von Recum, HA. 2010. *Cell culture platform with mechanical conditioning and nondamaging cellular detachment*. J Biomed Mater Res A. 93: 411–8.
- Lee Genee; Kenny Paraic A; Lee Eva H; Bissell Mina J. 2015. *Three-dimensional culture models of normal and malignant breast epithelial cells*. Nature Methods. 4: 359–365.
- Li MO, Flavell RA. 2008. *TGF-Beta: A Master of All T Cell Trades*. Cell. 134 (3): 392–404.
- MacArthur BD; Oreffo RO. 2005. *Bridging The Gap*. Nature. 433 (7021): 19.
- Martin BJ, Pittengers MF. 2006. *Bone Marrow-Derived Stem Cell for Myocardial Regeneration*. Preclinical Experience.
- Massagué J. 2012. *TGFβ Signalling in Context*. Nature Reviews Molecular Cell Biology. 13 (10): 616–30.

- Massagué J, Blain SW, Lo RS. 2000. *TGFbeta Signaling in Growth Control, Cancer, and Heritable Disorders*. Cell. 103 (2): 295–309.
- Maura Bríd Cotter, Massimo Loda. 2017. *Introduction to Histology*. Pathology and Epidemiology of Cancer. Springer International Publishing Switzerland.
- Mertsching H, Schanz J, Steger V, Schandar M, Schenk M, Hansmann J, Dally I, Friedel G, Walles T. 2009. *Generation And Transplantation of An Autologous Vascularized Bioartificial Human Tissue*. Transplantation; 88: 203-10.
- Mitalipov S, Wolf D. 2009. *Totipotency, Pluripotency and Nuclear Reprogramming*. Adv. Biochem. Eng. Biotechnol. Advances in Biochemical Engineering / Biotechnology. 114: 185–99.
- Moore KW, de Waal Malefyt R, Coffman RL, O'Garra A. 2001. *Interleukin-10 and The Interleukin-10 Receptor*. Annual Review of Immunology, 19:683-765.
- Murphy C, Fergal J, O'Brien, David G.L, Aaron S. 2013. *Cell-Scaffold Interactions in The Bone Tissue Engineering Triad*. European Cells & Materials.
- Netter Frank H. 2006. *Atlas of Human Anatomy, Fourth Edition*. Philadelphia: Saunders ELSEVIER.
- Ng Shyh-Chang, George Q. Daley, Lewis C. Cantley. 2013. *Stem Cell Metabolism in Tissue Development and Aging*. Development. 140(12): 2535–2547.
- Paek KY, Chakrabarty D, Hahn EJ 2005. *Application of Bioreactor System for Large-Scale Production of Horticultural and Medicinal Plants*. in Hvoslef-Eide, AK & Preil W. Dordrecht (eds.), Liquid Culture Systems for In Vitro Plant Propagation, Springer, pp. 95-116.
- Park SB, Jang AK. 2008. *Adipose Derived Stem Cell and Their Secretory Factors as A Promising Therapy for Skin Aging*. J Dermatol Surg, 34: 1323-6.
- Purwati, Fedik A.R, Sony Wibisono, Anas P, Eric H, Helen S, Deya K. 2012. *Transplantasi Autologus Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell Dan Allogenic Pancreatic Stem Cell Untuk Perbaikan Sel Beta Pankreas Pada Eksperimental Diabetes Melitus*. Prosiding InSINas 2012.
- Ramadani Mery. 2011. *Upaya Penundaan Proses Penuaan (Degeneratif) menggunakan Antioksidan dan Terapi Sulih Hormon*. Jurnal Kesehatan Masyarakat, Vol. 5, No. 1.

- Rantam F.A., Ferdiansyah, Nasronudin, Purwati. 2009. *Stem Cell Exploration, Isolation, and Methods*. Surabaya Airlangga University Press.
- Rantam F.A., Ferdiansyah, Purwati. 2014. *Stem Cell: Mesenchymal, Hematopoetik, dan Model Aplikasi*. Surabaya Airlangga University Press.
- Rifki Febriansah, Desy Bintang, Dwi Susilo Hardika, Dita Prabaningrum, Dzilqi Bustanul Hadi, Nur Oktafiyani. 2012. *Kajian secara In Vitro Ekstrak Etanolik Buah Morinda citrifolia L. sebagai Agen Khemopreventif Kanker Payudara yang Potensial*. Mutiara Medika Vol. 12 No. 3, pp. 155-162.
- Sallusto F, Cella M, Danieli C, Lanzavecchia A. 2010. *Dendritic Cells use Macropinocytosis and The Mannose Receptor to Concentrate Macromolecules in The Major Histocompatibility Complex Class II Compartment: Downregulation by Cytokines and Bacterial Products*. Basel Institute for Immunology, Switzerland.
- Satimin Hadiwidjaja. 2012. *Pengaruh Interleukin-1 β (Il-1 β) dan Tumor Necrosis Factor-A (TNF-A) terhadap Dopamin pada Cerebral Palsy*. Bioteknologi 1 (1): 25-29.
- Schöler, Hans R. 2007. *The Potential of Stem Cells: An Inventory*. In Nikolaus Knoepffler; Dagmar Schipanski; Stefan Lorenz Sorgner. Humanbiotechnology as Social Challenge. Ashgate Publishing. p. 28. ISBN 978-0-7546-5755-2.
- Simon, Eric M. 2017. *NIH Phase I Final Report: Fibrous Substrates for Cell Culture (R3RR03544A)*. ResearchGate.
- Sri Bakti Subakir, Dewi Irawati Soeria Santosa, Arleni. 2008. *Kadar MDA dan HSP 70 pada Plasenta Penderita Preeklampsia*. Makara Kesehatan, Vol. 12, No. 2, pp. 92-94.
- Sokol, C.L., Barton, G.M., Farr, A.G. & Medzhitov, R. 2008. *A Mechanism for The Initiation of Allergen-Induced T Helper Type 2 Responses*. Nat Immunol. 9 (3): 310–318.
- Suciati T, Howard D, Barry J, Everitt NM, Shakesheff KM, Rose FR. 2006. *Zonal release of proteins within tissue engineering scaffolds*. J Mater Sci Mater Med; 17(11):1049-56.
- Swirski FK, Nahrendorf M, Etzrodt M, Wildgruber M, Cortez-Retamozo V, Panizzi P, Figueiredo J-L, Kohler RH, Chudnovskiy A, Waterman P, Aikawa E, Mempel

- TR, Libby P, Weissleder R, Pittet MJ. 2009. *Identification of Splenic Reservoir Monocytes and Their Deployment to Inflammatory Sites*. *Science*, 325: 612-616.
- Synder YE, Loring FJ. 2005. *A Role for Stem Cell Biology in The Physiological and Pathological Aspect of Aging*. *J Amer Geriatr Soc*; 53: 287-91.
- Takayama S, Akita M. 2006. *Bioengineering Aspects of Bioreactor Application in Plant Propagation*, in Gupta, SD & Ibaraki, Y, Dordrecht, Plant Tissue Culture Engineering, Springer, pp. 83-100.
- Tuch BE. 2006. *Stem Cells – A Clinical Update*. *Australian Family Physician*. 35 (9): 719–21.
- Tortora, Gerard J., and Sandra R. Grabowski. 2000. *Principles of Anatomy and Physiology*. New York: John Wiley & Sons, Inc.
- Vera Madonna, Chairiyah Tanjung, Irma D Roesyanto. 2015. *Kadar Sitokin Interleukin-17 dalam Serum Pasien Psoriasis dan Hubungannya dengan Keparahan Penyakit*. MDVI Vol. 42 No. 2, pp. 61-64.
- Viera 'Stvrtinová, Ján Jakubovský, Ivan Hulín. 2010. *Neutrophils, Central Cells in Acute Inflammation*. Faculty of Medicine, Comenius University.
- Voehringer D. 2012. *Basophil Modulation by Cytokine Instruction*. *European Journal of Immunology*. 42 (10): 2544–50.
- Wang, J; Wang, K; Gu, X; and Luo, Y. 2016. *Polymerization of Hydrogel Network on Microfiber Surface: Synthesis of Hybrid Water-Absorbing Matrices for Biomedical Applications ACS Biomater. Sci. Eng.*
- Wasilah Rochmah, Soedjono Aswin. 2001. *Tua dan Proses Menua*. *Jurnal Berkala Ilmu Kedokteran*, Vol. 33, No. 4, pp. 221-227.
- Yang JA, Chung HM. 2010. *Potential Application of Adipose-Derived Stem Cells and Their Secretory Factor to Skin: Discussion from Both Clinical and Industrial Viewpoint*. *Expert Opinion Biol Therapy*, Vol. 10, No. 4, pp. 495-503.
- Yaar M, Gilchrest BA. 2007. *Photoageing: Mechanism, Prevention and Therapy*. *Br J Dermatol*; 157: 874-87.
- Yesil-Celiktas, O Gurel A, Vardar-Sukan F. 2010. *Large Scale Cultivation of Plant Cell and Tissue Culture in Bioreactors*. *Transworld Research Network*, 37/661, no. 2, pp. 1- 54.