

Efek Substitusi Fetal Bovine Serum menjadi Platelet-Rich Plasma terhadap Pertumbuhan Sel Punca

(The Substitution Effect of Fetal Bovine Serum to Platelet-Rich Plasma on Stem Cell Proliferation)

Imam Rosadi^{1*}, Karina Karina^{2,3,4}, Irsyah Afini^{2,5}, Tias Widyastuti², Siti Sobariah²

¹Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Mulawarman University, Samarinda, Indonesia.

²HayandraLab, Hayandra Peduli Foundation, Jakarta, Indonesia

³Hayandra Clinic, Hayandra Peduli Foundation, Jakarta, Indonesia

⁴Research Center for Regenerative Medicine and Neuroscience, Faculty of Medicine, Universitas Pembangunan Nasional Veteran Jakarta, Jakarta, Indonesia

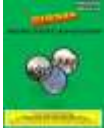
⁵Master's Programme in Biomedical Science, Faculty of Medicine, Universitas Indonesia, Jakarta, Indonesia

*E-mail: imamrosadi@unmul.ac.id

Abstrak: Sel punca merupakan sel yang dapat meregenerasi dirinya sendiri dan dapat menjadi sel yang memiliki fungsi spesifik yaitu sel dewasa seperti sel lemak, rawan dan tulang. Sel punca dapat dikultur secara *in vitro* menggunakan medium yang mengandung serum seperti *fetal bovine serum* (FBS). Akan tetapi, jumlah sel yang dihasilkan masih belum optimal sehingga perlu dilakukan pendekatan manipulasi medium. *Platelet-rich plasma* (PRP) merupakan plasma yang kaya akan trombosit dan mengandung protein pertumbuhan. Studi ini bertujuan untuk melakukan perbandingan FBS (Gibco), PRP non-komersial dan PLTGold® *Human Platelet Lysate* (Merck) (komersial) terhadap pertumbuhan dan *population doubling time* (PDT) sel punca asal jaringan lemak. Sel punca diisolasi secara enzimatis dari jaringan lemak, kemudian dilakukan proses kultur dan perbanyakan yang diikuti dengan pengamatan morfologi, viabilitas sel, laju pertumbuhan dan PDT. Hasil penelitian menunjukkan bahwa morfologi sel asal jaringan lemak berbentuk seperti sel fibroblas yang menempel pada permukaan plastik. Jumlah sel, PDT dan laju proliferasi terbaik adalah kelompok PLTGold®, PRP dan FBS secara berurutan. Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa PLTGold® atau PRP dapat mensubstitusi FBS sebagai nutrisi pertumbuhan sel punca.

Kata Kunci: Sel Punca, Pertumbuhan, PDT, PRP, PLTGold®

Abstract: Stem cells are capable of self-regeneration and differentiation into specialized cells, such as adipocytes, chondrocytes, and osteocytes. Stem cells can be cultured *in vitro* using media-containing serum, such as fetal bovine serum (FBS). However, the cell yield is often lacking, thus the manipulation of the culture medium is needed. Platelet-rich plasma (PRP) contains a thousand growth proteins. This study aims to compare the effects of FBS (Gibco), non-commercial PRP, and commercial PLTGold® *Human Platelet*



Lysate (Merck) on the growth and population doubling time (PDT) of stem cells isolated from adipose tissue. Stem cells will be enzymatically isolated from adipose tissue, followed by culture and expansion processes, with subsequent observations of cell morphology, viability, growth rate, and PDT. The results showed that adipose-derived stem cells exhibit fibroblast-like morphology and adhere to the plastic surface. The optimal cell number, PDT and proliferation rate showed in PLTGold®, PRP and FBS respectively. Based on these results, it can be concluded that PLTGold® or PRP can substitute FBS as a growth supplement for stem cell proliferation.

Keywords: Stem Cell, Proliferation, PDT, PRP, PLTGold®

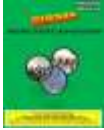
PENDAHULUAN

Sel punca atau *stem cells* merupakan sel yang belum terspesialisasi, mampu mengalami pembelahan dan berdiferensiasi menjadi sel fungsional seperti sel rawan dan tulang. Sel punca berdasarkan sumbernya dibagi menjadi dua yaitu sel punca asal jaringan dewasa dan sel punca embrionik (Rajabzadeh *et al.*, 2019). Perkembangan sel punca embrionik banyak mengalami pertentangan dikarenakan isu etika sehingga sel punca asal jaringan dewasa lebih banyak diteliti. Jaringan dewasa yang umum digunakan sebagai sumber sel punca adalah jaringan sumsum tulang, lemak, dan tali pusat (Bangun *et al.*, 2021; Revilla and Mulyani, 2020; Zuk *et al.*, 2004). Jaringan lemak digunakan sebagai sumber sel punca karena merupakan limbah pada operasi sedot lemak dan mengandung sel punca yang berlimpah.

Sel punca banyak diinvestigasi dalam penelitian biomedis karena potensinya dalam *regenerative medicine* (Han *et al.*, 2015; Rajabzadeh *et al.*, 2019). Potensi yang besar pada sel punca untuk kesehatan meningkatkan kebutuhan jumlah sel. Oleh karena itu, perbanyak sel punca secara *in vitro* dilakukan dengan manipulasi kandungan nutrisi medium. Penggunaan *fetal bovine serum* (FBS) umum dimanfaatkan untuk perbanyak sel punca skala *in vitro* (Rosadi *et al.*, 2020; Wahyuningsih *et al.*, 2020). FBS yang merupakan turunan dari hewan memiliki masalah jika akan diaplikasikan pada terapi manusia. Oleh karena itu, perlu dilakukan upaya substitusi FBS.

Platelet-rich plasma (PRP) merupakan plasma yang kaya akan trombosit, yaitu sel yang mengandung protein termasuk protein pertumbuhan seperti *platelet-derived growth factor* (PDGF), *transforming growth factor-β1* (TGF-β1), *epidermal growth factor* (EGF), *vascular endothelial growth factor* (VEGF), dan *insulin-like growth factor-1* (IGF-1) (Pavlovic *et al.*, 2016). Faktor pertumbuhan tersebut berperan dalam proliferasi sel termasuk sel punca. PRP dapat diperoleh dari darah dan dipisahkan dengan komponen darah lainnya melalui teknik sentrifugasi (Karina *et al.*, 2021).

Penggunaan PRP sebagai medium substitusi FBS telah dilaporkan dapat meningkatkan jumlah sel punca yang dikultur secara *in vitro* (Pratama *et al.*, 2020; Rosadi *et al.*, 2019c; Suryani *et al.*, 2013). PRP dapat menginduksi sel punca untuk berdiferensiasi menjadi sel dewasa lain, seperti sel rawan (kondrosit) pada berbagai konsentrasi dengan durasi kultur tertentu (Rosadi *et al.*, 2019c). Penelitian ini, menggunakan limbah lemak manusia yang dicacah menggunakan teknik enzimatik sehingga diperoleh *stromal vascular fraction* (SVF). SVF kemudian dikultur pada



medium pertumbuhan standar hingga mencapai batas konfluensi. Pengaruh substitusi FBS dengan PRP pada pertumbuhan sel dilakukan pada pasase ke-3. PRP yang digunakan berasal dari Palang Merah Indonesia dan PLTGold® *Human Platelet Lysate* (Merck). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh substitusi FBS menjadi PRP non-komersial dan komersial terhadap penambahan jumlah, PDT, dan laju pertumbuhan sel punca asal jaringan lemak.

METODE PENELITIAN

Isolasi Sel Asal Jaringan Lemak

Penelitian ini dilakukan di laboratorium HayandraLab, Jakarta. Sampel jaringan lemak diperoleh dari satu donor. Proses isolasi sel mengacu pada teknik *in house* HayandraLab berbasis enzimatik (Moegni *et al.*, 2019). Sel yang terlepas dari jaringan lemak kemudian dipisahkan menggunakan teknik sentrifugasi. *Stromal vascular fraction* (SVF) diperoleh pada tahap ini (Karina *et al.*, 2020). SVF kemudian dikultur untuk memperbanyak sel.

Kultur Sel

Sel SVF dikultur dengan medium mengandung *Dulbecco's Modified Eagle Medium* (DMEM) (Gibco), dengan nutrisi 10% serum dan 1X antibiotik-antimikotik (ABAM) (Gibco) yang diinkubasi pada suhu 37°C dan 5% CO₂. Serum yang digunakan adalah FBS, PRP non-komersial yang diperoleh dari Palang Merah Indonesia selanjutnya disebut PRP, dan PRP komersial merupakan PLTGold® *Human Platelet Lysate* (Merck) yang selanjutnya disebut PLTGold®. Medium sel diganti setiap 2-3 hari sekali. Kultur sel dilakukan proses panen ketika mencapai konfluensi 80-90% dengan teknik enzimatik hingga pasase 2 dan dilanjutkan dengan pengujian pada pasase ke 3. Pasase bertingkat bertujuan untuk mendapatkan sejumlah sel yang cukup untuk dilakukan pengujian.

Morfologi Sel

Sel yang tumbuh dan menempel pada permukaan plastik diamati bentuk morfologi dan pertumbuhannya. Morfologi sel diamati menggunakan mikroskop cahaya OPTICA (Italia) perbesaran 100X. Gambar diambil menggunakan software OPTICA.

Uji Viabilitas, Perubahan Kelipatan Sel, dan PDT

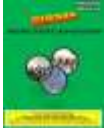
Sel pada pasase 3 dikultur menggunakan flask T25 menjadi kelompok 10% FBS, 10% PRP dan 10% PLTGold® *Human Platelet Lysate* (Merck). Jumlah sel dihitung menggunakan pewarnaan *tryphan blue* dibawah mikroskop dengan formula berikut:

$$\text{Jumlah sel} = \frac{\text{Rerata jumlah sel hidup atau mati}}{\text{Rerata jumlah kamar hitung}} \times Df \times 10^4 \times \text{volume suspensi sel}$$

Df = Faktor pengenceran

Viabilitas sel dipresentasikan dalam persen antara jumlah sel hidup dan mati dengan rumus berikut:

$$\text{Viabilitas sel} = \frac{\text{Rerata jumlah sel hidup}}{\text{Rerata jumlah sel hidup + sel mati}} \times 100\%$$



Perhitungan PDT merujuk pada studi yang telah dilaporkan (Rosadi *et al.*, 2019a). Pengujian dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali.

Uji 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide (MTT)

Uji MTT dilakukan untuk mengetahui pertumbuhan sel. Sel dikultur pada 96-well plates (5,000 sel per sumur) pada berbagai nutrisi. Pengamatan dilakukan pada hari ke-1, 3 dan 5. Protokol pengujian MTT mengacu pada penelitian terdahulu (Rosadi *et al.*, 2019d). Intensitas yang dihasilkan diukur dengan panjang gelombang 595 nm menggunakan *microplate reader* (Biorad iMark). Pengujian dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali.

Penyajian Data

Hasil yang diperoleh disajikan dalam bentuk gambar dan tabel. Pengulangan teknik dilakukan sebanyak tiga kali dengan menampilkan rerata dan standar deviasi.

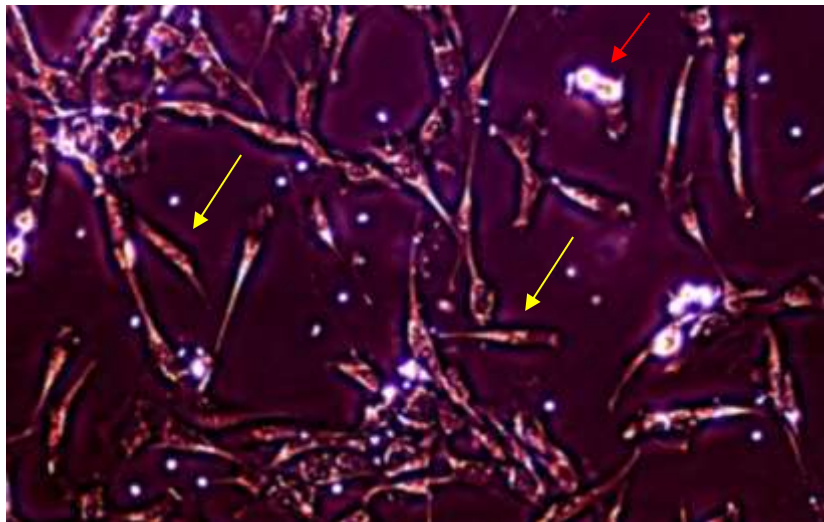
Analisis Statistika

Analisis data menggunakan uji statistika *student* T-test. Nilai $p < 0,05$ menunjukkan adanya perbedaan data yang signifikan. Tanda (*) menunjukkan $p < 0,05$, (**) menunjukkan $p < 0,01$, (***) menunjukkan $p < 0,0001$.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Morfologi Sel

Sel punca asal jaringan lemak telah banyak dikembangkan untuk penelitian terkait laju pertumbuhan sel, arah diferensiasi, dan rekayasa jaringan (Meiliana *et al.*, 2016; Mukti *et al.*, 2021; Rosadi *et al.*, 2021; Sibuea *et al.*, 2020; Wahyuningsih *et al.*, 2020). Jaringan lemak dipilih karena umumnya merupakan limbah dari operasi sedot lemak dan jumlah sel yang diperoleh lebih banyak dibandingkan dengan asal sumsum tulang. Pada studi ini, jaringan lemak diisolasi secara enzimatis sehingga diperoleh SVF. SVF merupakan fraksi yang mengandung berbagai macam sel seperti sel imun, perisit, progenitor, dan sel punca (Karina *et al.* 2020). Sel punca dipisahkan dengan sel lainnya dengan proses perbanyakan. Perbanyakan sel bertujuan untuk memperoleh cukup sel saat melakukan pengujian, pada studi ini adalah pasase 3. Pada proses kultur dengan penggantian media setiap 2-3 hari, maka sel akan terseleksi. Data observasi gambaran sel pada pasase 0 yang disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Sel Punca Pasase Ke-0 pada Hari Pengamatan Ke-12, Panah Kuning: Sel Berbentuk Seperti Fibroblas, Panah Merah: Sel Mengalami *Spreading*

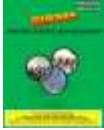
Sel yang dikultur dari jaringan lemak merupakan sel yang menempel pada substrat plastik berbentuk seperti fibroblas (Gambar 1). Sel-sel yang tidak menempel (*adherent*) akan mengalami seleksi dan terbuang saat penggantian medium. Karakteristik seperti fibroblas yang menempel pada substrat plastik merupakan salah satu ciri sel punca (Dominici *et al.*, 2006).

Viabilitas sel

Sel punca pasase ke-3 umum digunakan untuk pengujian dan telah dilaporkan. Penggunaan pasase rendah dalam pengujian diharapkan menjaga sel dari proses penuaan (*senescence*) yang berdampak pada hasil yang diperoleh. Penambahan molekul bioaktif tersebut dikombinasikan dengan FBS sebagai sumber nutrisi. Penggunaan FBS yang merupakan turunan dari hewan memicu pertumbuhan sel yang belum optimal sehingga diperlukan substitusi FBS dengan nutrisi yang bebas akan turunan hewan.

PRP merupakan salah satu alternatif akselerasi pertumbuhan sel lebih tinggi dibandingkan FBS. PRP yang mengandung lebih dari 1000 protein memiliki beragam peran meliputi penutupan luka, inisiator pembentukan pembuluh darah, dan memicu laju proliferasi sel (Pavlovic *et al.*, 2016). Selain itu, PRP juga mengandung sitokin yang berperan dalam mediasi komunikasi sel. Beberapa jenis bioaktif molekul yang berkaitan dengan pertumbuhan sel adalah IGF, VEGF, TGF beta, PDGF dan EGF. Kandungan PRP yang beragam berpotensi mendukung perannya untuk memperbaiki jaringan yang rusak (Samadi *et al.*, 2019).

Pengamatan viabilitas sel dilakukan setelah proses panen sel pada pasase 3 yang dikultur dengan ketiga perlakuan berbeda. Pengamatan ini dilakukan bertujuan untuk mengetahui efek negatif yang mungkin ditimbulkan pada penggantian FBS dan kontrol teknik pekerjaan. Viabilitas sel dihitung dan disajikan pada Tabel 1 berikut:



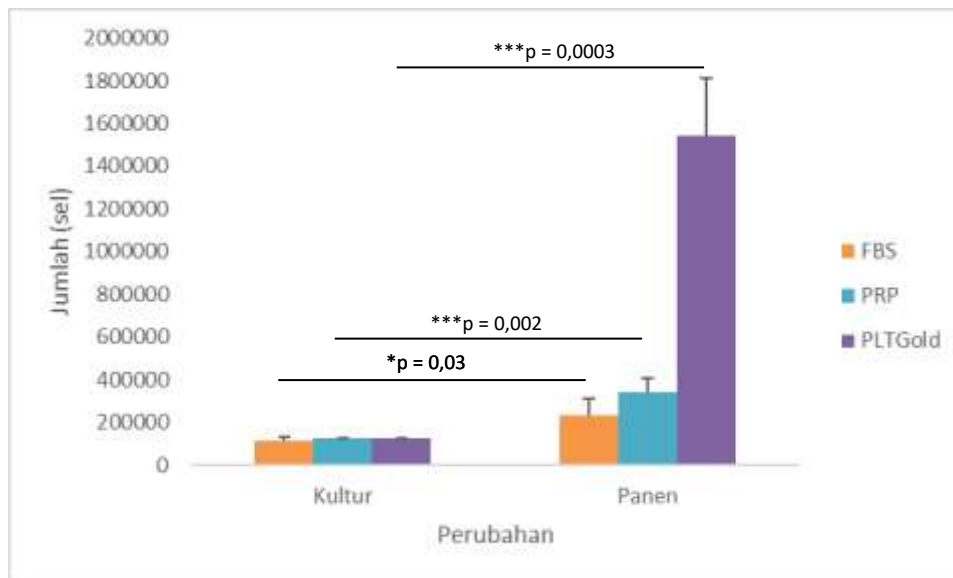
Tabel 1. Viabilitas Sel

Kelompok	Viabilitas (%)			Rerata (%) ± SD
	1	2	3	
FBS	98	100	100	99.37 ± 1,09
PRP	100	100	98	99.38 ± 1,06
PLTGold	100	100	100	100 ± 0

Rerata viabilitas sel setelah 5 hari kultur pada kelompok FBS, PRP dan PLTGold adalah 99,05%, 99,38% dan 100% (Tabel 1). Pada studi ini, proses kultur berhasil dilakukan dengan mempertahankan viabilitas sel diatas 95%. Hal ini menunjukkan bahwa sel dibiakkan dengan aman dan minim kesalahan teknis. Pergantian medium setiap 2-3 hari sekali mencegah kondisi lingkungan mikro sel menjadi asam akibat produksi asam laktat oleh sel. Kondisi lingkungan mikro yang banyak mengandung asam laktat dapat memicu kematian sel sehingga menurunkan viabilitas sel.

Jumlah Sel dan Perubahan Kelipatan Sel

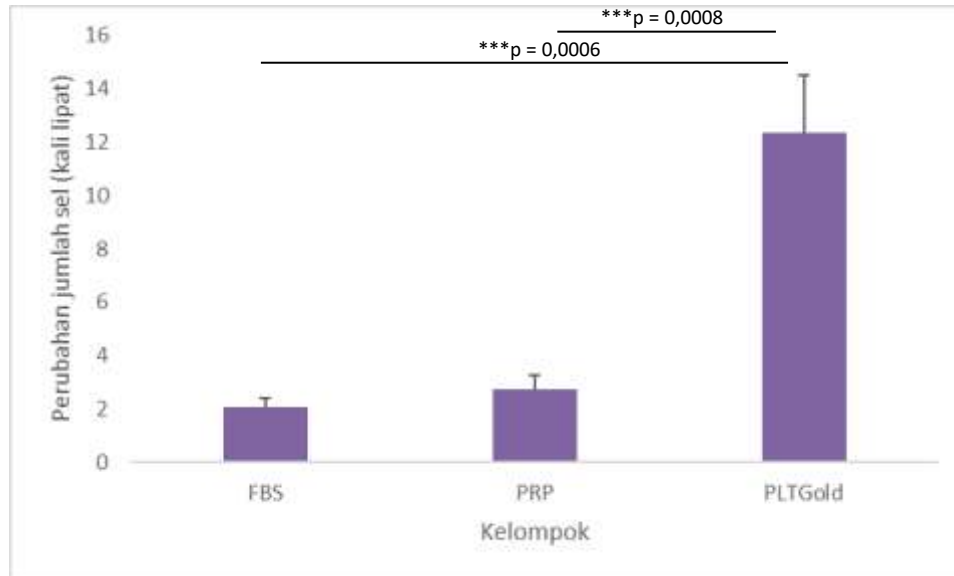
Rerata masing-masing kelompok pada kultur awal pada kelompok FBS, PRP dan PLTGold secara berurutan adalah 112.000, 125.000, dan 125.000 sel. Jumlah sel dari hasil perbanyakkan pasase 2 kelompok FBS terbatas sehingga berdampak pada jumlah sel yang dapat dikultur pada pengujian pasase 3. Oleh karena itu, disajikan pula data perubahan kelipatan sel berdasarkan jumlah awal sel. Berikut merupakan data jumlah sel sebelum dan sesudah panen pada pasase 3 selama 5 hari dalam berbagai medium yang disajikan pada Gambar 2:



Gambar 2. Jumlah Sel Kultur dan Panen pada Kelompok FBS, PRP dan PLTGold Selama 5 Hari Pengamatan

Jumlah sel yang diperoleh setelah 5 hari kultur pada kelompok FBS, PRP dan PLTGold adalah 237.000, 342.000, dan 1.545.000 sel (Gambar 2). Jumlah sel naik

signifikan pada ketiga kelompok yaitu FBS, PRP dan PLTGold®. Perubahan jumlah sel dalam kelipatan dibandingkan data kultur awal disajikan pada Gambar 3 sebagai berikut:

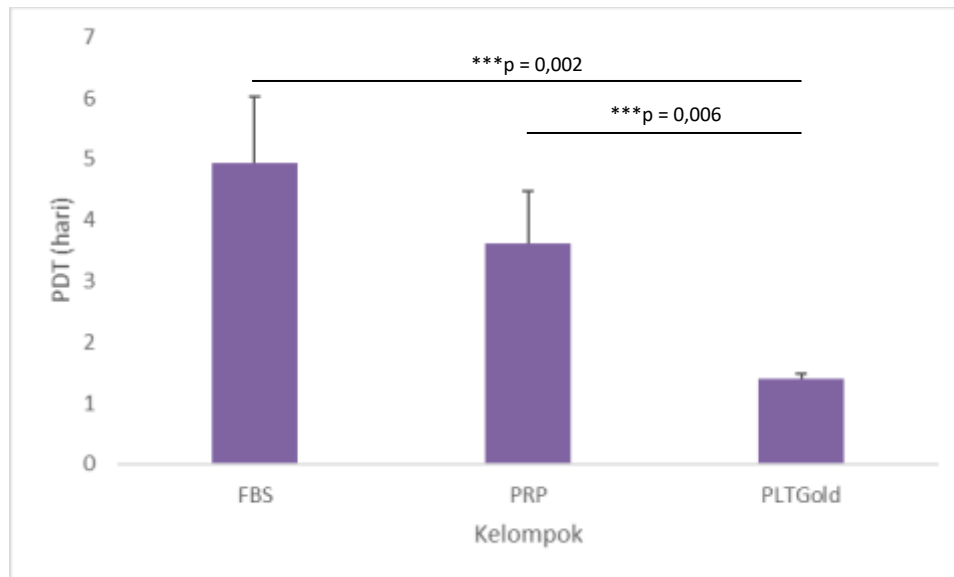


Gambar 3. Perubahan Jumlah Sel (dalam Kali) Sebelum dan Sesudah Panen pada Kelompok FBS, PRP dan PLTGold Selama 5 Hari Pengamatan

Perubahan kelipatan sel secara berurutan adalah 2,12; 2,73 dan 12,36 kali lipat (Gambar 3). Berdasarkan hasil tersebut, kelompok sel yang dikultur dengan mengandung PLTGold meningkat jumlahnya secara signifikan dibandingkan kelompok lainnya. Kadar molekul bioaktif pada setiap *bacth* yang dihasilkan tidak selalu seragam karena proses ekspresi protein diatur dalam proses transkripsi dan translasi dan dipengaruhi oleh fisiologis sel. Hal ini akan mempengaruhi efek terhadap proliferasi sel. Penelitian sebelumnya telah melaporkan bahwa total protein dari PRP penderita diabetes tidak berbeda signifikan dengan non-diabetes. Akan tetapi, kadar molekul bioaktif pada pasien diabetes seperti VEGF signifikan lebih tinggi dibandingkan non-diabetes (Karina *et al.*, 2019). VEGF berperan dalam proses pembentukan pembuluh darah pada kasus jaringan rusak seperti *diabetes foot ulcer* (Olsson *et al.* 2006). Tinggi dan rendahnya kadar protein yang diproduksi berkaitan dengan homeostasis (kesetimbangan). Perbedaan produksi ini juga yang mungkin terjadi antar *batch* PRP. Namun secara umum, faktor pertumbuhan PRP meningkatkan jumlah sel lebih baik dibandingkan FBS.

Population Doubling Time (PDT)

PDT merupakan pengujian untuk mengetahui lamanya waktu yang dibutuhkan dari satu sel menjadi dua sel. Data PDT disajikan pada Gambar 4 sebagai berikut:

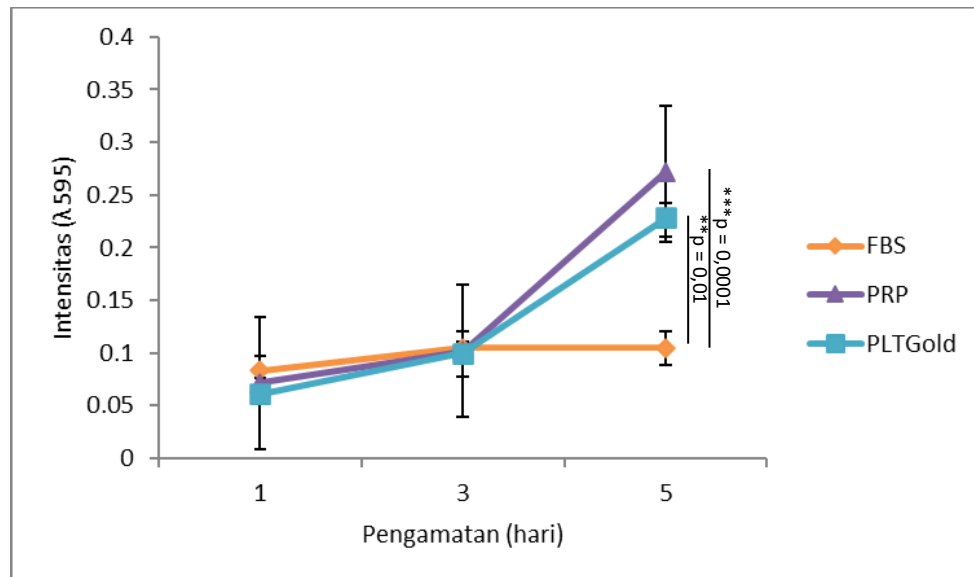


Gambar 4. PDT yang Diperlukan Sel pada Medium FBS, PRP dan PLTGold

Waktu pembelahan tercepat diamati terjadi pada kelompok PLTGold yaitu 1.4 hari diikuti dengan kelompok PRP dan FBS yaitu 3.6 hari dan 4.9 hari (Gambar 4). Hal ini menunjukkan penggunaan PRP (komersial atau non-komersial) dapat meningkatkan akselerasi jumlah sel meskipun signifikansi hanya tercapai pada kelompok PLTGold® terhadap kelompok lainnya. Penelitian sebelumnya terkait PDT pada sel punca menggunakan 10% PRP non-komersial pasase 3 adalah 2 hari (Suryani *et al.* 2013). Perbedaan ini mungkin disebabkan adanya variasi *batch* PRP yang belum diketahui konsentrasi proteinnya.

Proliferasi Sel

Pertumbuhan sel dikonfirmasi kembali menggunakan uji MTT yang berbasis pada penangkapan intensitas absorbansi. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 595. Data hasil pengamatan uji MTT disajikan pada Gambar 6 sebagai berikut:



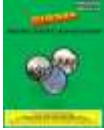
Gambar 6. Proliferasi Sel Punca pada Kelompok yang Diberi FBS, PRP dan PLTGold

Ketiga kelompok dalam 5 hari pengamatan menunjukkan adanya kecenderungan peningkatan intensitas absorbansi sel. Hal ini mengindikasikan adanya pertambahan jumlah sel. Kelompok dengan pertumbuhan tercepat secara berurutan adalah kelompok PLTGold®, PRP dan FBS (Gambar 6). Kelompok PLTGold® dan PRP juga meningkat signifikan pada hari ke-5. Berdasarkan hasil pengujian MTT, absorbansi yang diamati pada kelompok PLTGold® tidak berbeda nyata dengan PRP non-komersial. Hal ini diduga karena adanya overkonfluensi pada sel sehingga sebagian besar sel pada kelompok PLT Merck mengalami pelepasan dengan substrat (*detachment*). Pada studi sel punca yang dikultur menggunakan 10% PRP selama 21 hari memicu terbentuknya agregat pada sel yang merubah sifat kepuncaannya menjadi kondrosit (Rosadi *et al.*, 2019c). Hal ini dapat berakibat pada mudahnya sel mengalami *detachment*. Namun perlu dilakukan studi lebih lanjut untuk mengkonfirmasi hal tersebut. Oleh karena itu, rekomendasi penggunaan PLTGold® adalah dengan menurunkan konsentrasi menjadi 2,5% atau 5%. Penurunan konsentrasi diduga menstabilkan kecepatan pertumbuhan setara dengan PRP non-komersial. Hal ini tentunya juga akan meningkatkan efisiensi biaya pemeliharaan dan perbanyakan sel punca karena penggunaan PLTGold® komersial.

Studi ini berhasil merangkum beberapa data terkait efek substitusi FBS menjadi PRP non-komersial dan komersial terhadap pertumbuhan sel punca asal jaringan lemak. Akan tetapi, studi ini juga memiliki kelemahan diantaranya belum adanya investigasi tingkat molekuler terkait jalur pertumbuhan sel bagaimana kelompok PRP dan PLTGold lebih baik dibandingkan kelompok FBS.

KESIMPULAN

Pertumbuhan sel punca asal jaringan lemak dapat diakselerasi dengan mensubstitusi FBS menjadi PRP (komersial atau non-komersial). PLTGold® Human



Platelet Lysate (Merck) menginduksi laju pertumbuhan yang lebih tinggi daripada PRP non-komersial.

SARAN

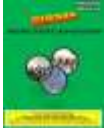
Adanya kemungkinan keberagaman komponen bioaktif setiap *batch* PRP memungkinkan untuk dilakukan percobaan terkait konsistensi hasil serta pengukuran faktor pertumbuhan yang terkandung didalam PRP. Diperlukan investigasi tingkat molekuler terkait jalur pertumbuhan sel bagaimana kelompok PRP dan PLTGold lebih baik dibandingkan kelompok FBS.

DAFTAR PUSTAKA

- Bangun, K., (2021). Bone Growth Capacity of Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells and BMP-2 Seeded Into Hydroxyapatite/Chitosan/Gelatin Scaffold in Alveolar Cleft Defects: An Experimental Study in Goat. *Cleft Palate-Craniofacial Journal*, Vol. 58 No. 6, 707-717. doi: 10.1177/1055665620962360.
- Dominici., (2006). Minimal Criteria for Defining Multipotent Mesenchymal Stromal Cells. The International Society for Cellular Therapy Position Statement. *Cytotherapy*, Vol. 8 No. 4, 315-317.
- Han., (2015). Adipose-Derived Stromal Vascular Fraction Cells: Update on Clinical Utility and Efficacy. *Critical Reviews in Eukaryotic Gene Expression*, Vol. 25 No. 2, 145-152. doi: 10.1615/CRITREVEUKARYOTGENEEXPR.2015013057.
- Karina., (2021). Evaluating the Safety of Intravenous Delivery of Autologous Activated Platelet-Rich Plasma. *Journal of Health Sciences*, 1-5. doi: 10.17532/jhsci.2021.1276.
- Karina., (2020). Adipose-Derived Stem Cells and Their Microenvironment (Niche) in Type 2 Diabetes Mellitus. *Stem Cell Investigation*, Vol. 7. doi: 10.21037/SCI.2019.12.02.
- Karina., (2019). Evaluation of Platelet-Rich Plasma from Diabetic Donors Shows Increased Platelet Vascular Endothelial Growth Factor Release. *Stem Cell Investigation*, Vol. 6 No. 43. doi: 10.21037/SCI.2019.10.02.
- Meiliana., (2016). Stem Cell Therapy in Wound Healing and Tissue Regeneration. *The Indonesian Biomedical Journal*, Vol. 8 No. 2, 61-70. doi: 10.18585/INABJ.V8I2.191.
- Moegni, K., (2019). Stromal Vascular Fraction (SVF) Therapy for Treatment of Various Diseases: Delivering Safety of the First Patented Svf Technique in Indonesia. *Cytotherapy*, Vol. 21 No. 5. doi: 10.1016/J.JCYT.2019.03.511.
- Mukti, A.I., (2021). Mesenchymal Stem Cells Enhance Vascular Endothelial Growth Factor-A, Endothelial Nitric Oxide Synthetase, and HSP70 Expression in Improving Erectile Dysfunction in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*, Vol. 9, 1174-1180. doi: 10.3889/oamjms.2021.7801.
- Olsson, (2006). VEGF Receptor Signalling ? In Control of Vascular Function. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, Vol. 7 No. 5, 359-371. doi: 10.1038/nrm1911.
- Pavlovic., et al. (2016). Platelet Rich Plasma: A Short Overview of Certain Bioactive



- Components. *Open Medicine (Poland)*, Vol. 11 No. 1, 242–247. doi: 10.1515/med-2016-0048.
- Pratama, G.A., (2020). Wharton's Jelly Derived Mesenchymal Stem Cells: A Comparison Study in Preterm vs. Term Deliveries and in FBS vs. PRP vs Mesencult Culture Media. *Journal of Global Pharma Technology*, Vol. 12 No. 6, 366–374.
- Rajabzadeh, (2019). Stem Cell-Based Regenerative Medicine. *Stem Cell Investigation*, Vol. 6. doi: 10.21037/SCI.2019.06.04.
- Revilla, G and Mulyani, H. (2020). The Effect of Human Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells on Epidermal Growth Factor and Epidermal Growth Factor Receptor Expression in Re-Epithelialization Process in the Healing of Burns on Experimental Rats. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*, Vol. 8, No. A, 508-11. doi: 10.3889/oamjms.2020.3959.
- Rosadi, I., (2021). L-Ascorbic Acid-2-Phosphate and Fibrin Substrate Enhances the Chondrogenic Differentiation of Human Adipose-Derived Stem Cells. *Progress in Stem Cell*, Vol. 8 No. 2, 310–317. doi: 10.15419/psc.v8i2.412.
- Rosadi, I., (2019a). Expression of protein CD73/CD90/CD105/CD34/CD45/CD11b/CD19/HLA-DR on stem cells from human fat tissue, using cytometry flow. *Al-Kauniyah: Jurnal Biologi*, Vol. 12 No. 2, 133-141. doi: 10.15408/KAUNIYAH.V12I2.8751.
- Rosadi, I., (2019b). In Vitro Study of Cartilage Tissue Engineering Using Human Adipose-Derived Stem Cells Induced by Platelet-Rich Plasma and Cultured on Silk Fibroin Scaffold. *Stem Cell Research & Therapy*, Vol. 10 No. 1, 1–15. doi: 10.1186/S13287-019-1443-2.
- Rosadi, I., (2019c). The Effect of Human Platelet-Rich Plasma and L-Ascorbic Acid on Morphology, Proliferation, and Chondrogenesis Ability towards Human Adipose-Derived Stem Cells. *Molecular and Cellular Biomedical Sciences*, Vol. 3 No. 1, 26–33. doi: 10.21705/MCBS.V3I1.43.
- Rosadi, I., (2020). Perbandingan Kemampuan Migrasi Adipose-Derive Stem Cells Asal Manusia Pada Berbagai Medium Pertumbuhan. *Bioeksperimen: Jurnal Penelitian Biologi*, Vol. 6 No. 1, 45-51. doi: 10.23917/BIOEKSPERIMEN.V6I1.10432.
- Samadi, P., (2019). The Use of Platelet-Rich Plasma in Aesthetic and Regenerative Medicine: A Comprehensive Review. *Aesthetic Plastic Surgery*, Vol. 43 No. 3, 803–814.
- Sibuea, (2020). 3D Co-Culture of Hepatocyte, a Hepatic Stellate Cell Line, and Stem Cells for Developing a Bioartificial Liver Prototype. *International Journal of Technology*, Vol. 11 No. 5, 951–962. doi: 10.14716/IJTECH.V11I5.4317.
- Suryani, D., (2013). Comparison of Fetal Bovine Serum and Platelet-Rich Plasma on Human Lipoaspirate-Derived Mesenchymal Stem Cell Proliferation. *Medical Journal of Indonesia*, Vol. 22 No. 3, 146–151. doi: 10.13181/mji.v22i3.583.
- Wahyuningsih, K.A., (2020). Effect of Ascorbic Acid on Morphology of Post-Thawed Human Adipose-Derived Stem Cells. *Stem Cell Investigation*, Vol. 7. doi: 10.21037/sci-2020-011.
- Zuk, P.A., (2004). Multilineage Cells from Human Adipose Tissue: Implications for



Cell-Based Therapies. *Tissue Engineering*, Vol. 7 No. 2, 211-228. doi:
10.1089/107632701300062859.