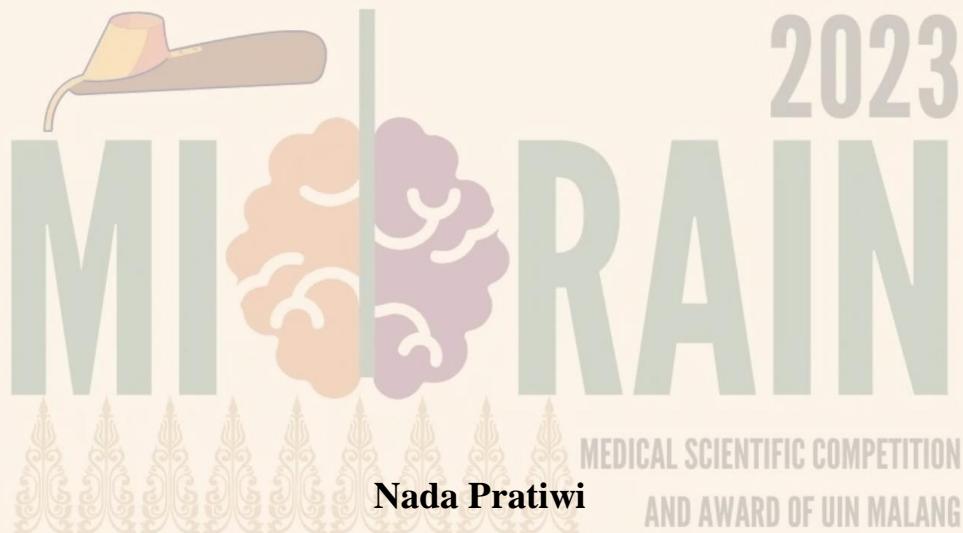


**INOVASI REGENERASI JARINGAN JANTUNG PASIEN INFARK
MIOKARD : TERAPI AAPRP DENGAN AKTIVATOR LOW
ELECTRICAL STIMULATION TERMEDIASI NANOHYDROGEL
BIOKOMPOSIT ALAMI MELALUI PROSES NANOTEKNOLOGI
LASER RAMAH LINGKUNGAN**

Subtema :

Clinical Application Of IPTEK (IPTEK) As An Effort To Prevent, Early Detect and

Manage Cardiovascular Disease at A Global Level



Nada Pratiwi

Rahmat Simbolon

Universitas Siber Muhammadiyah

Lomba Esai Ilmiah

Medical Scientific Competition and Award of UIN Malang (MIDBRAIN)

2023

1. PENDAHULUAN

Infark miokard (IM) merupakan salah satu penyebab utama kematian dan cacat di seluruh dunia. Prevalensi penyakit ini mencapai sekitar 3 juta orang di seluruh dunia.¹ Sementara angka kasus IM ini belum terdata dengan baik di Indonesia, namun kasus kematian akibat penyakit jantung atau kardiovaskular di Indonesia sebanyak 251,09 per 100.000 orang pada 2019 dan setiap tahunnya jumlah tersebut mengalami peningkatan dari tahun sebelumnya.²

Infark miokard merupakan penyebab paling umum penyebab gagal jantung. Infark miokard terjadi ketika aliran darah terhenti pada arteri koroner tertentu, menyebabkan iskemia dan memicu nekrosis miokard. Beberapa faktor dapat menyebabkan infark miokard, tetapi penyumbatan koroner yang menghambat aliran darah merupakan penyebab utama. Penyumbatan ini dipicu oleh pecahnya plak, yang memicu agregasi trombosit, pembentukan trombus, dan spasme koroner. Kerusakan permanen pada miokard terjadi sekitar 20 menit setelah terjadinya infark miokard. Dalam dua jam berikutnya, kerusakan merambat ke area lain, menyebabkan kerusakan pada miliaran sel. Dalam dua bulan, bagian yang terkena infark miokard digantikan oleh jaringan parut melalui proses yang dikenal sebagai remodeling jantung. Hal ini berkontribusi pada efisiensi mekanis yang rendah dalam pemompaan darah, yang pada akhirnya menyebabkan gagal jantung kongestif pada pasien.³

Pada banyak penelitian meyakinkan bahwa regenerasi miokard (otot jantung) tidak mungkin akibat ketidakmampuan jaringan jantung beregenerasi setelah cedera atau serangan jantung. Sejauh ini, standar emas untuk pengobatan cedera miokard adalah transplantasi jantung. Namun, beberapa tantangan terkait transplantasi jantung ada, termasuk kekurangan donor organ, risiko penolakan oleh sistem kekebalan tubuh, dan memperpanjang waktu rawat inap.⁴ Pengobatan lain termasuk penghambatan farmakologis reseptor terkait protein G dan terapi intervensi yang dapat membersihkan plak pembuluh darah atau menyebabkan vasodilatasi dan mengembalikan aliran darah ke otot jantung yang rusak. Namun, pendekatan-pendekatan ini seringkali berdampak pada lonjakan tak terduga dari spesies oksigen reaktif (ROS), yang dapat meningkatkan risiko "cedera iskemia-reperfusi".⁵

Penelitian terbaru juga mencoba memperbaiki masalah kematian sel jantung dengan sel punca. Meskipun sel punca memiliki potensi besar dalam rekayasa jaringan jantung akibat infark miokard, pada hewan coba namun terdapat beberapa kelemahan atau tantangan dalam penggunaannya pada manusia, antara lain: proses diferensiasi yang harus benar-benar terkontrol, proses keamanan yang rumit, ketersediaannya yang terbatas, biaya yang sangat

mahal, dan risiko terjadinya proliferasi atau mutasi sel-sel dalam jangka panjang. Sehingga diperlukan inovasi dibidang regenerasi sel yang lebih aman.^{6,7,8}

Pada berbagai penelitian yang dilakukan pada hewan coba dan jaringan biopsi jantung manusia, salah satu opsi alternatif melibatkan penyuntikan sel dan biomaterial langsung ke lokasi infark jantung. Sejumlah jenis sel dapat digunakan, termasuk sel induk yang diperoleh dari pasien melalui metode cangkok autologus, namun hasilnya bervariasi. Tantangan utama dalam metode penyuntikan ini adalah sebagian kecil sel yang dapat bertahan di tempat infark. Setelah disuntikkan, sekitar 50% sel dapat mengalami kematian, dan hanya 10% dari sel tersebut yang dapat bertahan selama satu minggu. Faktor-faktor ini mungkin disebabkan oleh viskositas rendah dari larutan garam tubuh dan oleh terjadinya apoptosis saat sel-sel terpapar pada lingkungan infark iskemik.^{9,10} Untuk meningkatkan proses penyembuhan, penggunaan media penghantaran seperti *scaffold* atau perancah dapat menjadi solusi, memungkinkan sel untuk tetap hidup di area infark.

Indonesia merupakan negara kepulauan dengan total 17 ribu pulau dan 2/3 wilayahnya adalah lautan yang memiliki garis pantai lebih dari 80 ribu kilometer.¹¹ Ikan, udang dan kepiting merupakan salah satu komoditas unggulan ekspor kelautan dan perikanan. Komoditas ini menghasilkan limbah. Limbah kulit kerang digunakan dalam pembuatan kitosan. Kitosan adalah polimer alami yang bermanfaat sebagai bahan baku obat, penghantar obat, serta *scaffold* dalam bidang medis.¹² Sementara masih banyak tumpukan cangkang kerang yang terlihat menggunung di kawasan kampung nelayan di sepanjang pesisir pantai Indonesia. Limbah kulit kerang yang mengalami pembusukan menimbulkan bau dan masalah kesehatan. Penumpukan kulit kerang juga menjadi sarang hidupnya bakteri, yang mengakibatkan wabah muntaber atau diare. Juga menjadi sarang nyamuk yang menyebabkan demam berdarah. Selain itu, pemandangan juga menjadi tidak menarik karena timbunan sampah ada di mana-mana.¹³ Oleh karena itu, dirasa perlu untuk menggali potensi bahan alam ini dalam rangka meningkatkan perekonomian masyarakat, efektivitas belanja kesehatan nasional, dan meningkatkan kualitas terapi infark miokard di Indonesia.

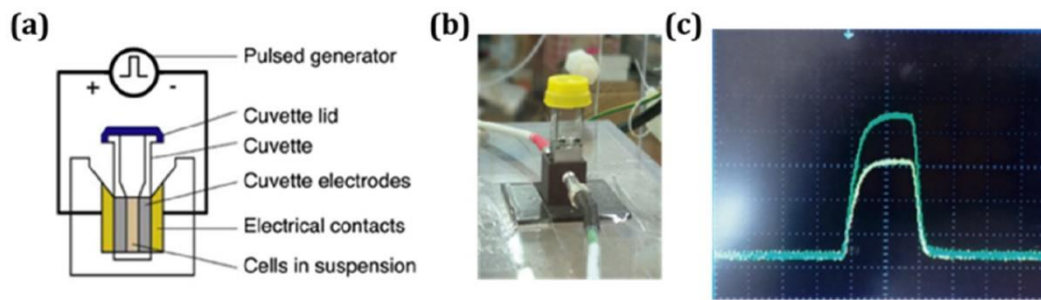
2. PEMBAHASAN

Pada esai ilmiah ini disajikan kajian terkait potensi terapi aaPRP (*autologous activated Platelet Rich Plasma*) dengan aktivator *low electrical stimulation* yang termediasi pada *scaffold nanohydrogel* berbahan biopolimer alami (kitosan dari limbah kulit kerang kekayaan maritim Indonesia dan asam hialuronat bakteri) melalui proses nanoteknologi DLW (*Direct Laser Writing*) ramah lingkungan serta sederhana sebagai upaya inovatif rekayasa dan regenerasi jaringan jantung pada pasien infark miokard akut. Keuntungan dari terapi rekayasa atau regenerasi jaringan jantung dengan penggunaan bahan-bahan alami berpotensi mengurangi risiko efek samping dan meminimalkan risiko penolakan oleh tubuh.

2.1 aaPRP (*autologous activated Platelet Rich Plasma*) untuk Regenerasi Jaringan Jantung.

PRP (Platelet-Rich Plasma) adalah produk terapi yang dihasilkan dari darah pasien yang telah diproses untuk menghasilkan konsentrasi tinggi platelet dalam plasma. PRP diambil dari darah pasien itu sendiri, sehingga risiko terjadinya reaksi alergi atau penolakan oleh tubuh sangat kecil.¹⁴ Platelet merupakan sel darah yang berperan dalam proses penyembuhan luka, karena mengandung faktor pertumbuhan yang membantu mempercepat pemulihan jaringan.^{14,15} Pada banyak penelitian preklinis, PRP digunakan sebagai bahan terapi regeneratif jantung hewan coba.^{14,15,16}

aaPRP adalah produk dari PRP darah yang telah diaktifkan menggunakan zat kimia tertentu atau dengan menggunakan aktivator fisika, sehingga mempercepat pelepasan faktor pertumbuhan yang terkandung di dalam platelet. Dengan diaktifkannya PRP, maka faktor pertumbuhan tersebut dapat dihasilkan lebih cepat dan lebih banyak, sehingga memberikan hasil yang lebih efektif dalam proses penyembuhan. Namun pengaktifan dengan dengan aktivator fisika seperti *low electrical stimulation* dinilai lebih aman karena tidak melibatkan proses kimia serta mencegah ikutnya produk kimia di dalam aaPRP. Mekanisme pengaktifan PRP menjadi aaPRP menggunakan arus listrik rendah atau *low-level electrical stimulation* melibatkan pelepasan faktor pertumbuhan dari dalam platelet dengan menstimulasi elektrik pada sel platelet.^{17,18}



Gambar 1. Aktivasi PRP dengan *pulse electric field* (PEF) (a) Skema aplikasi PEF pada platelet. (b) Kuvet dengan koneksi listrik. (c) Tegangan dan arus percobaan .¹⁸

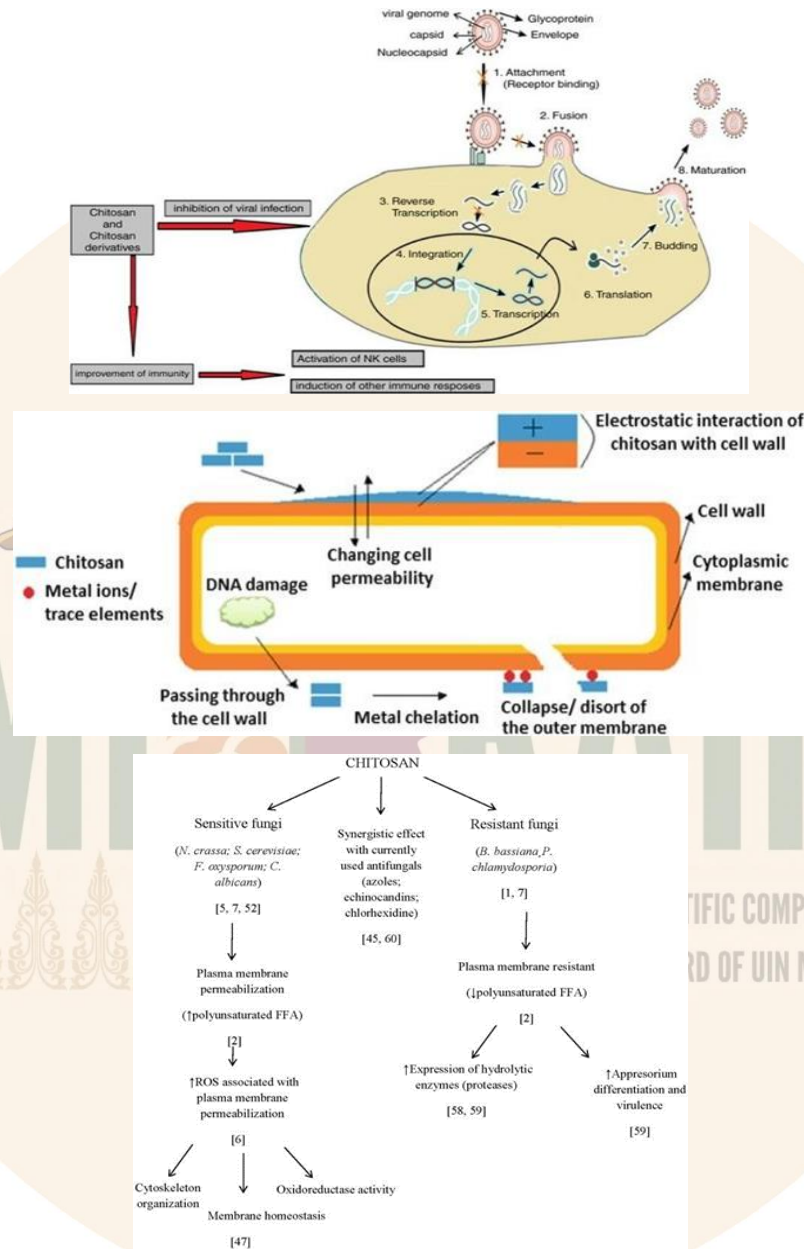
Proses ini dimulai dengan mempersiapkan sampel PRP dari pasien dengan memisahkan platelet dari komponen darah lain menggunakan sentrifugasi. Selanjutnya, sampel PRP ditempatkan dalam sebuah *chamber* dan diaplikasikan dengan arus listrik rendah menggunakan elektroda yang ditempatkan pada masing-masing sisi *chamber*. Arus listrik rendah yang diberikan pada sampel PRP menyebabkan platelet menjadi lebih aktif dan melepaskan faktor pertumbuhan yang terkandung dalam granula mereka. Beberapa faktor pertumbuhan yang dilepaskan antara lain *platelet-derived growth factor* (PDGF), *transforming growth factor-beta* (TGF- β), *insulin-like growth factor-1* (IGF-1), dan *vascular endothelial growth factor* (VEGF). Pengaktivasian PRP dengan arus listrik rendah dapat meningkatkan efektivitas PRP sebagai terapi regeneratif karena dapat meningkatkan konsentrasi faktor pertumbuhan yang terkandung dalam PRP.^{17,18,19,20} Selain itu, metode ini juga lebih aman dibandingkan dengan penggunaan aktivator kimia seperti kalsium klorida atau trombin.¹⁸ Diharapkan pada aplikasi rekayasa atau regenerasi jaringan jantung, aaPRP mengandung faktor pertumbuhan yang lebih banyak daripada PRP biasa sehingga berpotensi merangsang pertumbuhan jaringan lebih cepat dan kompleks dalam regenerasi jaringan pada jantung yang rusak atau terganggu.

Pada penelitian klinis medis yang dilakukan dokter Karina dkk. (2021) terapi aaPRP lebih efektif daripada PRP. Pemberian intravenous aaPRP dapat meningkatkan kadar VEGF (*vascular endothelial growth factor*) plasma hingga 1 minggu setelah pemberian aaPRP.²¹

2.2. Kitosan dan Asam Hialuronat untuk Regenerasi Jaringan Jantung

Sumber kitosan dalam rencana penelitian ini diperoleh dari produksi limbah cangkang kerang dengan beberapa tahapan. Tahapan tersebut meliputi pemisahan kitin, proses deproteinisasi (untuk menghilangkan sifat alergi) dan dimineralisasi (menghilangkan logam berat yang terkandung), serta proses deasetilasi kitin. Kitosan adalah polisakarida kationik alami yang menunjukkan banyak sifat yang sangat baik seperti biokompatibilitas, biodegradabilitas, nontoksitas, homeostasis, bioadhesi, dan peningkatan permeabilitas.

Selain itu, kitosan memiliki sifat antibakteri, antijamur dan antivirus yang sangat baik, perlekatan membran dapat mencegah sepsis, dan keberadaan kitosan berlimpah dan terjangkau.²²



Gambar 2. Skema Aktivitas Antivirus, Antibakteri, dan Antijamur dari Kitosan.²³

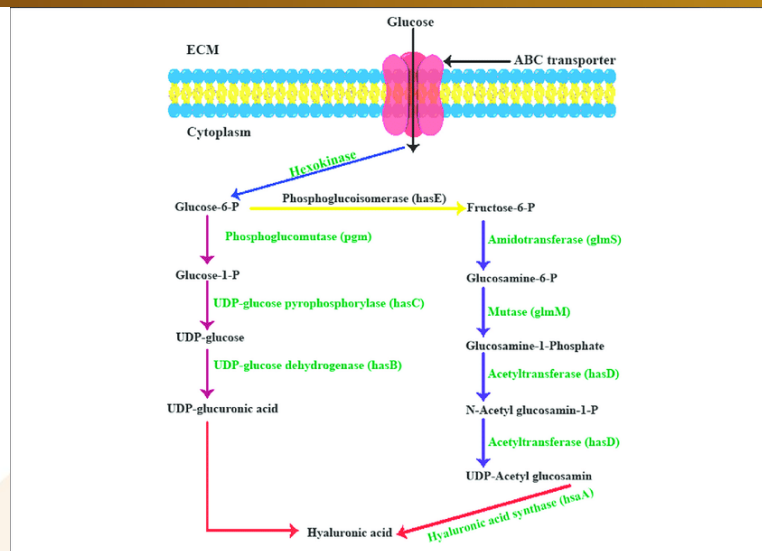
Kitosan dapat membentuk lapisan pelindung di sekitar permukaan bahan *scaffold* yang ingin dilindungi dari infeksi. Kitosan dapat menghambat virus untuk menembus dan menginfeksi bahan tersebut. Kitosan memiliki muatan positif yang kuat, sedangkan beberapa virus memiliki muatan negatif. Ini menyebabkan interaksi elektrostatis antara kitosan dan virus, yang dapat mengganggu kemampuan virus untuk berinteraksi dengan sel target atau

memasuki sel. Kitosan memiliki sifat yang dapat merusak membran sel bakteri dan jamur. Ini terjadi ketika kitosan menembus dinding sel mikroba dan berinteraksi dengan komponen sel, seperti asam nukleat dan protein. Akibatnya, permeabilitas sel mikroba meningkat, yang dapat menyebabkan kebocoran zat-zat penting dari dalam sel dan akhirnya mengakibatkan kematian bakteri dan jamur.²³

Pada tinjauan sistematis review yang dilakukan oleh Beleño dkk. (2023) terhadap 75 artikel yang relevan, dengan kriteria hewan coba (*in vivo*) dan sel biopsi jantung manusia (*in vitro*) berupa ael endotel pembuluh darah koroner manusia dan kardiomyosit yang berasal dari sel stem pluripoten manusia. *Scaffold* kitosan mampu memulihkan fungsi penting jantung dengan meniru lingkungan fisiologis dan porositas terkontrol. *Scaffold* kitosan meningkatkan konduktivitas listrik, stimulasi diferensiasi sel punca, dan angiogenesis pada jaringan miokardium yang mengalami infark. Penambahan kitosan pada *scaffold* sintesis dapat memperbaiki sifat mekanik, bioaktivitas, dan biokompatibilitas. Kitosan berperan dalam pemulihan infark miokardium melalui stimulasi faktor pertumbuhan VEGF. *Scaffold* kitosan menjanjikan untuk aplikasi biomedis dalam rekayasa jaringan kardiovaskular karena efek regeneratif dan terapeutik yang diamati.²⁴

Saat ini, produksi asam hialuronat atau *hyaluronic acid* (HA) dalam skala besar melibatkan ekstraksi dari jaringan hewan. Namun, karena kekhawatiran akan keamanan, sumber alternatif HA telah diupayakan termasuk penggunaan mikroorganisme bebas endotoksin, seperti bakteri *Streptococci*. Pada banyak penelitian, HA sama seperti kitosan terbukti memiliki sifat antibakteri dan antijamur dengan cara merusak permeabilitas membran bakteri dan jamur. Serta bersifat antivirus dengan menghibisi virus dan mengaktifkan sel *natural killer* yang berperan (NK) dalam respon imun tubuh manusia.^{25,26}

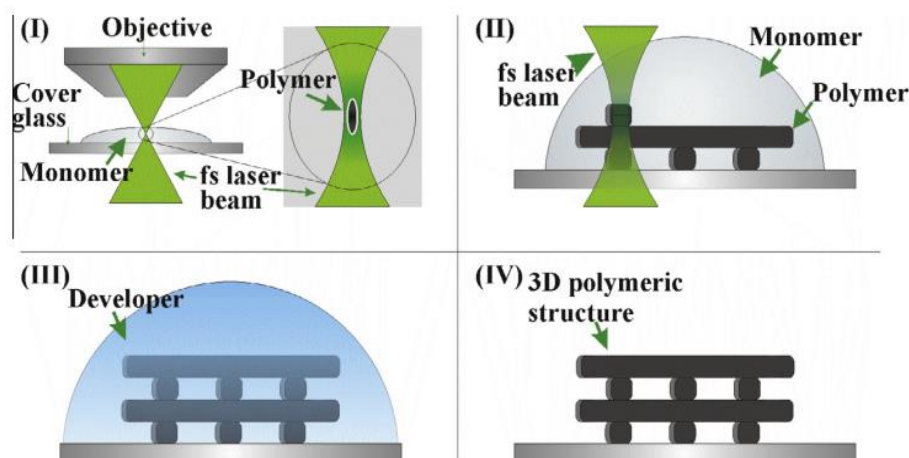
Pathway sintesis asam hialuronat (HA) dari *Streptococcus zoopedimicus* melibatkan serangkaian reaksi biokimia kompleks di dalam sel bakteri. Bakteri ini menggunakan sumber karbon dan nitrogen yang tersedia untuk menghasilkan prekursor asam hialuronat. Enzim-enzim kunci, seperti UDP-glukosa dehidrogenase dan asam hialuronat sintase, berperan dalam mengkatalisis konversi glukosa menjadi unit disakarida yang bergabung menjadi rantai polimer HA. Proses ini terjadi di dalam jalur biosintesis bakteri, dan hasilnya adalah produksi asam hialuronat yang dapat digunakan sebagai bahan biokomposit dalam terapi regenerasi jaringan jantung.²⁷



Bagan 1. Pathway Produksi Asam Hialuronat Menggunakan *Streptococcii zooepidemicus*.²⁷

Pada penelitian yang dilakukan wang dkk. (2019) terhadap hewan coba (*in vivo* dan *in vitro*), HA mengurangi ukuran infark dan apoptosis, serta meningkatkan angiogenesis dan proliferasi sel. HA merekrut makrofag ke area infark dan memacu polarisasi M2, juga menekan respons inflamasi berlebihan. HA memacu migrasi dan invasi makrofag secara *in vitro*. Analisis transkriptomik menunjukkan HA memacu polarisasi makrofag dan jalur pensinyalan untuk rekonstruksi fungsi miokardium. Sehingga dapat disimpulkan berpotensi sebagai agen untuk rekonstruksi fungsi kardiomyosit pasca infark miokard melalui modulasi respons makrofag.²⁸

2.3 Nanoteknologi *Direct Laser Writing* (DLW) Ramah Lingkungan



Gambar 3. Teknik Produksi *Scaffold* Melalui Proses DLW : (I) Pemfokusan Sinar (II) Pencetakan (III) pengembangan (IV) Penyelesaian Prosedur.³⁰

Dalam pengobatan regeneratif, *Scaffold* memainkan peran penting dalam mengendalikan laju pelepasan obat, mengatur perilaku sel, dan meregenerasi jaringan yang cedera. *Scaffold* yang dibuat melalui proses DLW (*Direct Laser Writing*) dapat memiliki diameter yang berkisar dari beberapa nanometer hingga puluhan mikrometer dan merupakan biomimikri yang baik dari matriks ekstraseluler menjadikannya sebagai pilihan yang ideal.²⁹

Meskipun sektor industri kesehatan bukan penyebab utama perubahan iklim, namun kontribusinya terhadap total emisi gas rumah kaca secara umum sudah berdampak pada lingkungan. Proses manufaktur dalam industri farmasi menggunakan energi yang berasal dari sumber-sumber nonterbarukan, seperti pembakaran bahan bakar fosil, yang menghasilkan emisi gas rumah kaca. Secara global, sektor perawatan kesehatan bertanggung jawab atas sekitar 4,6 persen dari total emisi gas rumah kaca, yang melibatkan karbon dioksida, metana, dan ozon, antara lain.³¹ Proses produksi *scaffold* ini dilakukan menggunakan mesin nanoteknologi sederhana DLW (*Direct Laser Writing*) yang menggunakan energi laser ramah lingkungan. Proses laser tidak melibatkan pembakaran bahan bakar fosil, sehingga tidak menghasilkan emisi langsung dari pembakaran tersebut.³⁰

2.4 Rancangan Metode Kerja

Rancangan metode kerja untuk inovasi terapi regenerasi jaringan jantung pada pasien infark miokard dengan integrasi aaPRP dan *nanohydrogel* biokomposit alami (kitosan limbah kulit kerang dan asam hialuronat bakteri *Streptococcus zoopedimicus*) melalui proses nanoteknologi DLW ramah lingkungan adalah sebagai berikut:

1. Pengumpulan Bahan Baku:
Mengidentifikasi dan mengumpulkan bahan baku, termasuk sampel darah pasien, kitosan dari limbah kulit kerang, dan asam hialuronat dari bakteri *Streptococcus zoopedimicus*.
2. Proses Aktivasi aaPRP: Mengekstraksi PRP dari sumbernya dari darah; Melakukan proses aktivasi aaPRP melalui metode yang sesuai, seperti metode *low electrical stimulation* untuk meningkatkan aktivitas platelet dan pelepasan faktor pertumbuhan.
3. Produksi *Nanohydrogel* Biokomposit: Memproses kitosan dan asam hialuronat menjadi *nanohydrogel* biokomposit melalui proses nanoteknologi DLW; Memastikan bahwa *nanohydrogel* memiliki karakteristik yang sesuai untuk integrasi dengan aaPRP.
4. Integrasi aaPRP dan *Nanohydrogel* Biokomposit: Mengintegrasikan aaPRP yang telah diaktivasi dengan *nanohydrogel* biokomposit melalui proses yang ditentukan.
5. Aplikasi pada Pasien Infark Miokard: Menyiapkan *nanohydrogel* dari integrasi aaPRP dan *nanohydrogel* biokomposit; Melakukan aplikasi pada pasien infark miokard

melalui prosedur yang sesuai, seperti pembedahan minimal invasif ataupun dengan kateterisasi jantung.

6. Evaluasi Hasil Terapi: Mengamati dan mengevaluasi pasien infark miokard setelah terapi; Melakukan evaluasi menggunakan metode seperti pencitraan jantung dan parameter klinis untuk menilai efektivitas dan perbaikan kondisi pasien.

3. PENUTUP

3.1 Kesimpulan

Inovasi terapi regenerasi jaringan jantung dengan integrasi aaPRP dan *nanohydrogel* biokomposit alami (kitosan limbah kulit kerang dan asam hialuronat bakteri) melalui proses nanoteknologi DLW merupakan langkah signifikan dalam pengembangan solusi terapeutik untuk pasien infark miokard. Kombinasi aaPRP dan *nanohydrogel* biokomposit alami menjanjikan sebagai metode regenerasi yang unggul, memadukan kelebihan kedua materi untuk mempercepat proses penyembuhan jaringan jantung dengan efek samping yang kecil. Penerapan proses nanoteknologi DLW memberikan keunggulan dalam pembuatan *scaffold nanohydrogel* dengan struktur nanometer teratur, meningkatkan efisiensi integrasi bahan-bahan terapeutik, dan ramah lingkungan. Integrasi inovatif ini memiliki potensi untuk meningkatkan kualitas hidup pasien infark miokard dengan mempercepat proses regenerasi dan mengurangi dampak buruk penyakit jantung. Penggunaan limbah kulit kerang sebagai sumber kitosan mendukung prinsip daur ulang dan pemanfaatan bahan alam secara berkelanjutan dan mendukung perekonomian.

3.2. Saran

Meski penelitian ini berupa kajian ilmiah konseptual dari berbagai jenis dan tipe penelitian terdahulu, masih diperlukan penelitian eksperimental kembali yang teliti untuk memvalidasi efektivitas dan keamanan integrasi aaPRP dan *nanohydrogel* biokomposit alami ini. Uji praklinis dan klinis dapat memberikan pemahaman lebih lanjut tentang respons tubuh dan hasil terapi. Proses nanoteknologi DLW perlu dioptimalkan untuk mencapai struktur *scaffold* yang optimal dan memastikan pengintegrasian bahan-bahan dengan tingkat keberhasilan yang tinggi. Diperlukan kolaborasi antara ahli nanoteknologi, kardiolog, dan ahli biomedis untuk memastikan pendekatan yang holistik dan pemahaman menyeluruh terhadap terapi yang diusulkan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Nascimento BR, Brant LC, Marino BC, Passaglia LG, Ribeiro AL. Implementing myocardial infarction systems of care in low/middle-income countries. *Heart*. 2019 Jan 1;105(1):20-6.
2. Institute for Health Metrics and Evaluation. *Kematian Akibat Penyakit Jantung di Indonesia: Data Tahun 2019*. Seattle: IHME; 2019.
3. Sudoyo AW, Setiyohadi B, Alwi I, Simadibrata M, Setiati S. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid II Edisi VI*. Jakarta: Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. 2014.
4. Crespo-Leiro MG, Costanzo MR, Gustafsson F, Khush KK, Macdonald PS, Potena L, Stehlik J, Zuckermann A, Mehra MR. Heart transplantation: focus on donor recovery strategies, left ventricular assist devices, and novel therapies. *European heart journal*. 2022 Jun 14;43(23):2237-46.
5. Schumacher SM, Gao E, Zhu W, Chen X, Chuprun JK, Feldman AM, G. Tesmer JJ, Koch WJ. Paroxetine-mediated GRK2 inhibition reverses cardiac dysfunction and remodeling after myocardial infarction. *Science translational medicine*. 2015 Mar 4;7(277):277ra31-.
6. Fisher SA, Zhang H, Doree C, Mathur A, Martin-Rendon E. Stem cell treatment for acute myocardial infarction. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2015(9).
7. Madigan M, Atoui R. Therapeutic use of stem cells for myocardial infarction. *Bioengineering*. 2018 Apr 6;5(2):28.
8. Shafei AE, Ali MA, Ghanem HG, Shehata AI, Abdelgawad AA, Handal HR, Talaat KA, Ashaal AE, El-Shal AS. Mesenchymal stem cell therapy: A promising cell-based therapy for treatment of myocardial infarction. *The journal of gene medicine*. 2017 Dec;19(12):e2995.
9. K, Gasbarrino K, Mahmoud I, Makhoul G, Yu B, Dufresne L, Daskalopoulou SS, Schwertani A, Cecere R. Bioactive scaffolds in stem-cell-based therapies for cardiac repair: protocol for a meta-analysis of randomized controlled preclinical trials in animal myocardial infarction models. *Systematic Reviews*. 2018 Dec;7:1-7.
10. Jiang Y, Sun SJ, Zhen Z, Wei R, Zhang N, Liao SY, Tse HF. Myocardial repair of bioengineered cardiac patches with decellularized placental scaffold and human-induced pluripotent stem cells in a rat model of myocardial infarction. *Stem cell research & therapy*. 2021 Dec;12(1):1-4.

11. Jayawardana HB, Afandi A. The usage of chitosan from shrimp waste as natural preservative for fish cilok (Traditional Food in Indonesia). *Indonesian Journal of Science and Education*. 2019 Apr 30;3(1):1-9.
12. Gumilar TA, Prihastanti E, Haryanti S, Subagio A. Utilization of waste silica and chitosan as fertilizer nano chisil to improve corn production in Indonesia. *Advanced Science Letters*. 2017 Mar 1;23(3):2447-9.
13. Oetomo RW. Kerusakan Lingkungan Akibat Sampah Kulit Kerang di Situs Kota Cina Medan. *PURBAWIDYA: Jurnal Penelitian dan Pengembangan Arkeologi*. 2022 Dec 28;11(1):17-27.
14. Spartalis E, Tomos P, Moris D, Athanasiou A, Markakis C, Spartalis MD, Troupis T, Dimitroulis D, Perrea D. Role of platelet-rich plasma in ischemic heart disease: an update on the latest evidence. *World journal of cardiology*. 2015 Oct 10;7(10):665.
15. Chiuman L, Purba DA, Samin HM. Understanding Platelet-Rich Plasma as Potential Therapy To Improve Cardiac Function After Myocardial Infarction: Based On Evidence. *Journal of Biomedicine and Translational Research*. 2023 Apr 29;9(1):39-46.
16. Spartalis, M., Tzatzaki, E., Athanasiou, A. and Spartalis, E., 2018. eComment. Platelet-rich plasma and cardiac tissue regeneration. *Interactive cardiovascular and thoracic surgery*, 26(1), pp.154-154.
17. Frelinger III AL, Gerrits AJ, Garner AL, Torres AS, Caiafa A, Morton CA, Berny-Lang MA, Carmichael SL, Neculaes VB, Michelson AD. Modification of pulsed electric field conditions results in distinct activation profiles of platelet-rich plasma. *PLoS One*. 2016 Aug 24;11(8):e0160933.
18. Salvador D, Almeida H, Rego D, Mendonça P, Sousa AP, Serra M, Redondo L. Pulsed Electric Fields for Valorization of Platelets with No Therapeutic Value towards a High Biomedical Potential Product—A Proof of Concept. *Applied Sciences*. 2022 Jun 7;12(12):5773.
19. Neculaes B, Frelinger III AL, Gerrits AJ, Gremmel T, Forde EE, Klopman S, Carmichael SL, Michelson AD. Activation of platelet-rich plasma by pulse electric fields: Voltage, pulse width and calcium concentration can be used to control and tune the release of growth factors, serotonin and hemoglobin. *Plos one*. 2021 Apr 23;16(4):e0249209.

20. Hargrave B, Li F. Nanosecond Pulse Electric Field Activated-Platelet Rich Plasma Enhances the Return of Blood Flow to Large and Ischemic Wounds in a Rabbit Model. *Physiological Reports*. 2015 Jul;3(7):e12461.
21. Karina K, Ekaputri K, Biben JA, Rosadi I, Rosliana I, Sobariah S, Sulaeha AD, Andrew H, Afini I, Widyastuti T, Jusryanti J. Evaluation of plasma PDGF and VEGF levels after systemic administration of activated autologous platelet-rich plasma. *Biomedicine*. 2021 Sep 7;41(2):409-12.
22. Younes I, Rinaudo M. Chitin and chitosan preparation from marine sources. Structure, properties and applications. *Marine drugs*. 2015 Mar 2;13(3):1133-74
23. Jaber N, Al-Remawi M, Al-Akayleh F, Al-Muhtaseb N, Al-Adham IS, Collier PJ. A review of the antiviral activity of Chitosan, including patented applications and its potential use against COVID-19. *Journal of applied microbiology*. 2022 Jan 1;132(1):41-58.
24. Beleño Acosta B, Advincula RC, Grande-Tovar CD. Chitosan-Based Scaffolds for the Treatment of Myocardial Infarction: A Systematic Review. *Molecules*. 2023 Feb 17;28(4):1920.
25. Pan NC, Pereira HC, da Silva MD, Vasconcelos AF, Celligoi MA. Improvement production of hyaluronic acid by *Streptococcus zooepidemicus* in sugarcane molasses. *Applied biochemistry and biotechnology*. 2017 May;182:276-93.
26. Yahyaei B, Peyvandi N, Akbari H, Arabzadeh S, Afsharnezhad S, Ajoudanifar H, Pourali P. Production, assessment, and impregnation of hyaluronic acid with silver nanoparticles that were produced by *Streptococcus pyogenes* for tissue engineering applications. *Applied Biological Chemistry*. 2016 Apr;59:227-37.
27. Alipoor R, Ayan M, Hamblin MR, Ranjbar R, Rashki S. Hyaluronic Acid-Based Nanomaterials as a New Approach to the Treatment and Prevention of Bacterial Infections. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2022 Jun 8;10:913912.
28. Wang N, Liu C, Wang X, He T, Li L, Liang X, Wang L, Song L, Wei Y, Wu Q, Gong C. Hyaluronic acid oligosaccharides improve myocardial function reconstruction and angiogenesis against myocardial infarction by regulation of macrophages. *Theranostics*. 2019;9(7):1980.
29. Hribar KC, Meggs K, Liu J, Zhu W, Qu X, Chen S. Three-dimensional direct cell patterning in collagen hydrogels with near-infrared femtosecond laser. *Scientific reports*. 2015 Nov 25;5(1):17203.

30. Selimis A, Mironov V, Farsari M. Direct laser writing: Principles and materials for scaffold 3D printing. *Microelectronic Engineering*. 2015 Jan 25;132:83-9.
31. Commonwealth Fund. 2020. How the U.S. Health Care System Contributes to Climate Change.





LAMPIRAN

