

Optimasi Metode Deselularisasi Jaringan Berdasarkan Pengamatan Makroskopik dan Mikroskopik Saraf Tepi Domba

Optimization of Tissue Decellularization Method Based on Macroscopic and Microscopic Observation in The Sheep Peripheral Nerves

**Fajar Shodiq Permata¹, Rina Susilowati², Rini Dharmastiti³,
 Muhammad Mirandy Pratama Sirat⁴, Pipin Dwi Kartikasari⁵**

¹Mahasiswa S2 Rekayasa Biomedis Sekolah Pascasarjana Universitas Gadjah Mada, ²Bagian Histologi dan Biologi Sel, Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada, ³Jurusan Teknik Mesin, Fakultas Teknik, Universitas Gadjah Mada, ⁴Mahasiswa S2 Sain Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, ⁵Mahasiswa S1 Kedokteran Hewan, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada
 Email: drh_fajar@ymail.com

Abstract

Animal graft tissue (xenograft) was developed to replace the limited supply of human graft tissue (allograft). Peripheral nerve graft tissue is needed to replace the damage. Swine is the most developed source of tissue donor for the preparation of acellular tissue because a lot of livestock population and its extracellular matrix components similar to human collagen. Swine xenograft development would be an obstacle in Indonesia because of socio-cultural so that sheep used as swine donor replacement. Sheep cartilage tissue acellular induced less human inflammatory mediators than swine. Xenograft is necessary to decellularize before implantation into human that results in only extracellular matrix. However, decellularization process varies depending on the species and methods so that it is needed a preliminary study to get the best decellularization method for sheep peripheral nerve specimens. Five samples of sheep Ischiadicus nerves were conducted decellularization various processes and one sample of fresh nerve (control). Decellularization methods were 24 hours shaking, tissue soaking and perfusion for both 14 days and 17 days, respectively. Decellularization solution was 0.1% SDS-EDTA in PBS. Post decellularization, samples were observed macroscopically, fixed, HE staining of histopathologic examination for microscopic examination. The data were analyzed descriptively. At the macroscopic observation of post decellularization tissue showed white, and samples of soaking method showed softer consistency than that of shaking and perfusion. Microscopic examination showed that samples were not being completed decellularization at shaking method. There was destruction of collagen fibers of perineurium and endoneurium in 17 days of soaking and perfusion methods, while 14 days soaking and perfusion methods showed that samples were being completed decellularization and both perineurium and endoneurium collagen were still good. Conclusion of this study is that 14 days soaking and perfusion decellularization methods are better than that of 24 hours shaking method and 17 days of soaking and perfusion methods for sheep decellularization peripheral nerve.

Keywords: peripheral nerve, sheep, decellularization, macroscopic, microscopic

Abstrak

Jaringan cangkok asal hewan (*xenograft*) dikembangkan guna mengganti jaringan cangkok asal manusia (*allograft*) yang persediaannya terbatas. Jaringan cangkok saraf tepi dibutuhkan sebagai pengganti apabila terjadi kerusakan. Babi banyak dikembangkan sebagai sumber donor jaringan untuk pembuatan jaringan

acellular karena merupakan populasi ternak banyak dan komponen matriks ekstraseluler kolagen mirip manusia. Pengembangan *xenograft* babi akan menjadi kendala di Indonesia karena masalah sosial budaya, sehingga domba dipakai sebagai alternatif donor pengganti babi. Jaringan kartilago *acellular xenograft* domba menginduksi lebih sedikit mediator radang manusia dibandingkan dengan babi. *Xenograft* perlu dilakukan tahapan proses deselularisasi sebelum implantasi ke manusia menyisakan matriks ekstraseluler saja, namun dilaporkan proses deselularisasi sangat bervariasi tergantung spesies dan metode deselularisasinya sehingga perlu dilakukan studi pendahuluan guna mendapat metode deselularisasi terbaik untuk spesimen saraf tepi asal domba. Lima sampel saraf Ischiadicus domba dilakukan variasi proses deselularisasi dan 1 sampel saraf segar domba (kontrol). Metode deselularisasi dengan metode *shaking* selama 24 jam, perendaman dan perfusi jaringan masing-masing 14 hari dan 17 hari. Larutan deselularisasi digunakan 0,1% SDS-EDTA dalam PBS. Pasca dideselularisasi, sampel diamati makroskopik, difiksasi dan dibuat preparat histologis pewarnaan HE guna pengamatan mikroskopik. Preparat histologis dianalisa deskriptif. Pengamatan makroskopik jaringan pasca deselularisasi menunjukkan berwarna putih dan hasil metode perendaman menunjukkan konsistensi lebih lembek daripada metode *shaking* dan perfusi. Gambaran histologis menunjukkan sampel tidak terdeselularisasi secara menyeluruh pada metode *shaking* 24 jam, dan terjadi destruksi serabut kolagen perineurium dan endoneurium pada metode perfusi dan perendaman 17 hari, sedangkan hasil deselularisasi pada metode perendaman dan perfusi 14 hari menunjukkan sampel terdeselularisasi menyeluruh, kolagen perineurium dan endoneurium masih baik. Kesimpulan penelitian ini adalah metode deselularisasi perendaman dan perfusi 14 hari lebih baik daripada metode *shaking* 24 jam, serta perendaman dan perfusi 17 hari untuk deselularisasi saraf tepi domba.

Kata kunci: saraf tepi, domba, deselularisasi, makroskopik, mikroskopik

Pendahuluan

Kerusakan saraf tepi berupa terputusnya saraf tepi seringkali sulit diregenerasi sehingga memicu kejadian tidak berfungsinya organ atau jaringan yang diinervasinya (Gadget *et al.*, 2011). Menurut Uzun *et al.* (2006), kerusakan saraf tepi di negara berkembang disebabkan karena kecelakaan atau komplikasi akibat kesalahan operasi maupun kongenital. Saraf tepi yang terputus membutuhkan pipa penyambung saraf yang dapat berupa jaringan cangkok (Gu *et al.*, 2011). Jaringan cangkok asal manusia (*allograft*) memiliki kelemahan yaitu ketersediaan terbatas, namun jaringan cangkok asal hewan (*xenograft*) memiliki kelebihan yaitu ketersediaan tak terbatas (Cozzi *et al.*, 2006). *Xenograft* harus diberikan perlakuan deselularisasi sebelum diimplantasikan guna mengurangi pengenalan sel imun terhadap sel. Jaringan *acellular* hanya berisi matriks ekstraseluler (Gilbert, *et al.*,

2006). Matriks ekstraseluler pada saraf tepi yang dominan adalah kolagen tipe I, III dan IV yang memiliki susunan asam amino mirip antara kolagen antar mamalia (domba, babi dan manusia) (Zhoconde, 2008) (Tabel 1).

Babi adalah hewan yang umum digunakan sebagai sumber *xenograft*, contoh *xenograft* asal babi yang komersial adalah Xe-Derma (*dermal graft*) yang mampu mengganti kulit manusia yang terbakar (Zajicek *et al.*, 2011), namun penggunaan babi di Indonesia terkendala dengan masalah sosial budaya masyarakat, domba memiliki ukuran tubuh mendekati babi sehingga dapat dipakai sebagai alternatif hewan model selain babi (Einstiana 2006 *cit.* Tirtosiwi, 2011, Siemens *et al.*, 1990). Pada domba, jaringan kartilago *acellular* lebih sedikit memicu mediator peradangan manusia berdasarkan uji *in vitro* (Hetherington *et al.*, 2005). Proses deselularisasi dilaporkan bervariasi tergantung

metode yang dilakukan. Metode deselularisasi saraf tepi asal babi dilaporkan dengan menggunakan metode *shaking* 24 jam (Zhang, *et al.*, 2010). Metode deselularisasi yang lain telah dilaporkan dengan teknik perfusi untuk deselularisasi jantung *ex vivo* (Harald *et al.*, 2008) dan metode perendaman untuk deselularisasi otot (Hidayah *et al.*, 2012). Menurut

Gilbert *et al.* (2006), bahan kimia yang sering digunakan untuk deselularisasi adalah *sodium duodecyl sulphate* (SDS) dan *ethylenediamintetraacetic* (EDTA). Evaluasi hasil deselularisasi dilaporkan dapat dilakukan berupa gambaran makroskopik dan mikroskopik (Crapo *et al.*, 2011).

Tabel 1. Persentase persamaan susunan asam amino kolagen antara domba, babi dan manusia dengan *BLAST*

Kolagen	Domba vs Babi	Domba vs Manusia	Babi vs Manusia
Type I alpha 1	38 %	94 %	87 %
Type I alpha 2	100 %	100 %	100 %
Type III alpha 1	100 %	100 %	100 %
Type IV alpha 3	100 %	100 %	100 %

Keterangan: Masing-masing *accession number* kolagen type I alpha 1 domba: AAF79923.1 ; babi: AAF23130.1; manusia: AAB59373.1; kolagen type I alpha 2 domba: ABO33472.1; babi: NP_001230584.1; manusia: ; kolagen type III alpha 1 domba: ABB45731.1; babi: NP_001230226.1; manusia: AAH28178.1; kolagen type IV alpha 3 domba: ABO33473.1; babi: AAA91882.1; manusia: AAA18942.1

Tujuan penelitian ini adalah melakukan studi pendahuluan optimasi metode deselularisasi jaringan berdasarkan pengamatan makroskopik dan mikroskopik saraf tepi domba, guna mendapat metode deselularisasi yang terbaik untuk spesimen saraf tepi asal domba.

Materi dan Metode

Enam sampel saraf Ischiadicus domba dikoleksi dari Tempat Penjualan Kambing dan Domba Aqiqah daerah Prambanan. Sampel saraf direndam dalam *phosphate buffered saline* (PBS) selama perjalanan menuju ke laboratorium. Selanjutnya, sampel saraf dilakukan *trimming* sepanjang 3 cm mulai dari pangkal proksimal daerah caput femur, kemudian dilakukan potongan saraf dan difoto

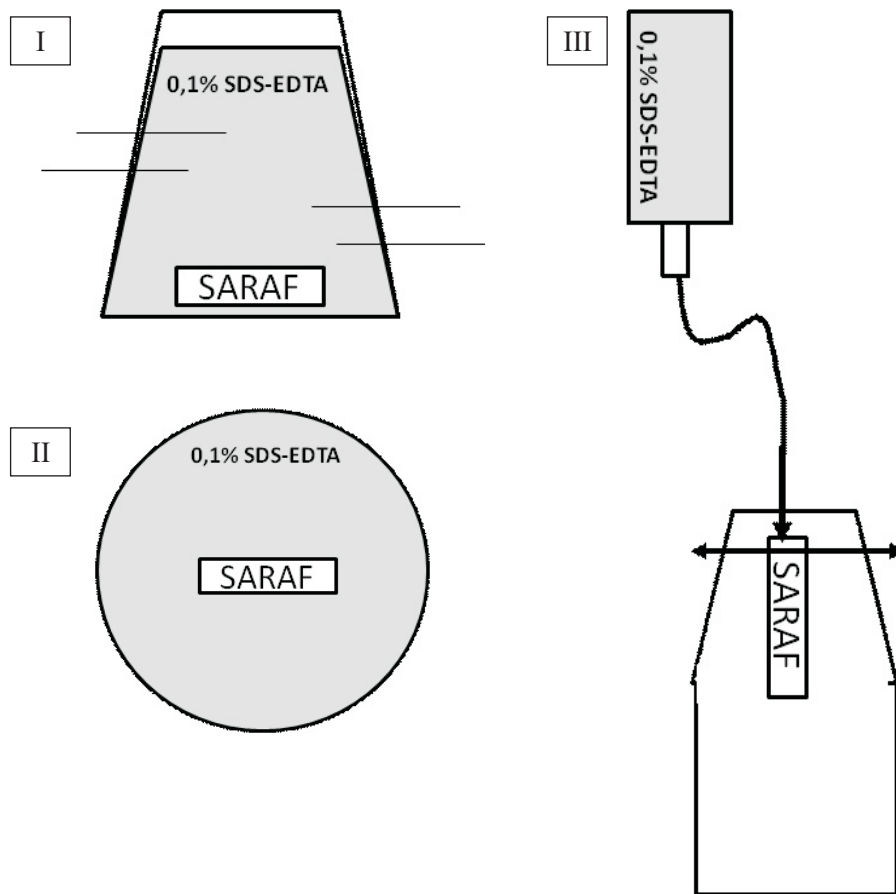
dengan *pocket camera* (CANON PowerShot 10.0 MP). Sampel saraf difiksasi dengan PBS-Formalin 10%. Sampel saraf lainnya merupakan kelompok saraf perlakuan yang dilakukan proses variasi metode deselularisasi yaitu dengan metode *shaking* 24 jam, perfusi 14 hari, perfusi 17 hari, perendaman 14 hari dan 17 hari masing-masing metode diwakili dengan 1 sampel.

Proses deselularisasi saraf tepi asal domba dilakukan dengan 5 variasi metode. Sampel I dilakukan proses deselularisasi dengan metode *shaking* 90 rpm selama 24 jam menggunakan tabung Erlenmeyer 100 cc dan mesin *shaker* berdasarkan metode Zhang *et al.* (2010) dan Xu *et al.* (2011). Sampel II dilakukan proses deselularisasi dengan metode perendaman 14 hari, sampel III dilakukan metode peredaman 17 hari. Perendaman dilakukan

dalam Petri Dish diameter 10 cm. Metode perendaman mengacu pada metode Hidayah *et al.* (2012). Sampel IV dilakukan proses deselularisasi dengan metode perfusi 14 hari, Sampel V dilakukan proses deselularisasi dengan metode perfusi 17 hari. Metode perfusi menggunakan infus set dan botol infus 500 ml yang diisi larutan deselularisasi, ujung saraf difiksasi dengan jarum. Sampel saraf diperfusi dengan frekuensi 5 tetes/ detik dan ujung proksimal dan distal secara bergantian difiksasi oleh jarum setiap 3 hari. Metode didasarkan pada metode

Harald *et al.* (2008).

Bahan kimia yang digunakan *sodium duodecylsulphate/* SDS (Merck, USA) dan *ethylenediaminetetraacetic/* EDTA (Merck, USA). Larutan deselularisasi yang digunakan adalah 0,1% (w/v) SDS-EDTA dalam PBS (Zhang, *et al.*, 2010). Penggantian larutan perendaman dan perfusi deselularisasi dilakukan 3 hari sekali. Gambaran skema metode deselularisasi dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Gambaran skema variasi metode deselularisasi. Metode I: *Shaking* 90 rpm selama 24 jam. Metode II: Perendaman dengan *petri dish* selama 14 hari dan 17 hari. Metode III: Perfusi dengan infus set selama 14 hari dan 17 hari. Larutan yang digunakan adalah 0,1% SDS-EDTA dalam PBS.

Pada sampel saraf perlakuan post deselularisasi, dilakukan dokumentasi perubahan warna makroskopik dan dianalisa secara deskriptif terhadap warna dan konsistensi dengan membandingkan sampel saraf segar. Sampel saraf perlakuan difiksasi dalam PBS-formalin 10%, kemudian dilakukan pembuatan preparat jaringan histologis.

Pembuatan preparat histologis dilakukan di Laboratorium Mikroanatomi FKH UGM. Pertamata dilakukan *trimming* pada sampel di 3 segmen dengan panjang segmen masing-masing 1 cm. Segmen yang diambil adalah segmen tengah kemudian dilakukan proses dehidrasi dengan etanol 70%, etanol 80%, etanol 90%, etanol absolut, dan proses *clearing* dengan *xylol*. Infiltrasi parafin dilakukan dengan menggunakan larutan paraffin I, II, III pada suhu 65°C dan kemudian dilakukan proses *embedding*. Jaringan dipotong 12µm dan diwarnai dengan pewarnaan Hematoxylin-Eosin (HE). Preparat jaringan histologi saraf diamati

secara mikroskopik dan dilakukan analisa secara deskriptif.

Hasil dan Pembahasan

Hasil pengamatan makroskopik menunjukkan, bahwa masing-masing sampel saraf baik segar dan deselularisasi tiap metode menunjukkan warna dan konsistensi yang berbeda. Sampel kontrol (segar) menunjukkan warna sampel yang berwarna putih agak keruh, konsistensi lembek, sampel I (*shaking* 24 jam) berwarna putih kompak, konsistensi lembek. Sampel II (perendaman 14 hari), sampel IV (perfusi 14 hari) dan sampel V (perfusi 17 hari) menunjukkan warna putih kompak, konsistensi kenyal, sedangkan sampel III (perendaman 17 hari) menunjukkan warna putih agak transparan, konsistensi lembek. Hasil pengamatan makroskopik saraf segar dan berbagai metode deselularisasi ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil pengamatan makroskopik saraf tepi domba berdasarkan perlakuan

Perlakuan	Pengamatan Makroskopik Saraf Tepi Domba	
	Warna	Konsistensi
Segar	putih agak keruh	Lembek
<i>Shaking</i> 24 jam	putih kompak	Lembek
Perendaman 14 hari	putih kompak	Kenyal
Perendaman 17 hari	putih agak transparan	Lembek
Perfusi 14 hari	putih kompak	Kenyal
Perfusi 17 hari	putih kompak	Kenyal

Pada hasil pengamatan mikroskopik menunjukkan perbedaan hasil di tiap metode deselularisasi. Sampel saraf segar menunjukkan adanya fasikulus saraf yang dibungkus oleh jaringan ikat perineurium, dan di dalam fasikulus terlihat adanya akson, mielin

dan inti sel Schwann. Sampel I menunjukkan proses deselularisasi hanya bagian tepi jaringan saja, sedangkan bagian dalam tidak terdeselularisasi. Sampel terdeselularisasi tidak mengandung adanya akson, mielin dan sel Schwann pada fasikulus saraf

dan hanya menyisakan jaringan ikat endoneurium yang membentuk pori endoneurium, sedangkan sampel yang tidak terdeselularisasi dengan baik memiliki struktur yang hampir mirip dengan sampel segar. Sampel II dan IV menunjukkan deselularisasi yang baik yang ditunjukkan semua fasikulus di dalam jaringan terdeselularisasi dan hanya terdapat pori-pori endoneurium yang utuh dalam fasikulus disertai serabut kolagen perineurium yang lebih







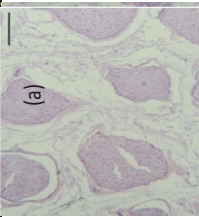
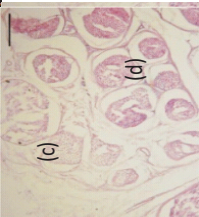
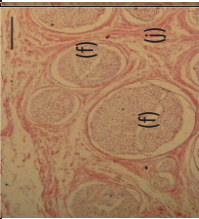


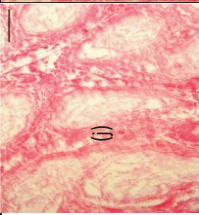
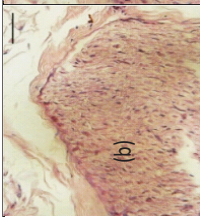



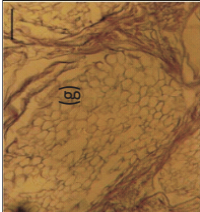
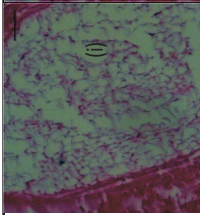
tebal dibandingkan sampel kontrol. Sampel III dan V menunjukkan pori-pori endoneurium yang terlalu lebar, namun pada sampel III menunjukkan destruksi serabut kolagen perineurium sebagai indikasi deselularisasi yang berlebihan, sedangkan sampel IV kolagen perineurium sangat tebal (dominan). Hasil pengamatan mikroskopik tiap sampel saraf dijelaskan pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil pengamatan mikroskopik saraf tepi domba

Keterangan	Hasil Pengamatan Mikroskopik Saraf Tepi Domba
Sampel Segar (Kontrol)	Jaringan saraf mengandung fasikulus-fasikulus saraf yang dibungkus oleh perineurium berupa serabut kolagen. Fasikulus saraf mengandung serabut saraf berupa akson yang dibungkus mielin dan terdapat sel Schwann. Serabut saraf dibungkus oleh endoneurium berupa kolagen
Sampel I (<i>Shaking</i> 24 jam)	Fasikulus saraf di bagian tepi jaringan yang hanya terdeselularisasi dan fasikulus saraf bagian dalam belum. Pori endoneurium yang terbentuk terlihat baik dan utuh.
Sampel II (Perendaman 14 hari)	Fasikulus-fasikulus saraf terdeselularisasi menyeluruh. Pori endoneurium yang dihasilkan baik dan utuh. Kolagen perineurium lebih tebal dibandingkan jaringan saraf segar.
Sampel III (Perendaman 17 hari)	Fasikulus-fasikulus saraf terdeselularisasi menyeluruh. Pori endoneurium mengalami kerusakan dan terlalu lebar. Kolagen perineurium di bagian dalam mengalami kerusakan.
Sampel IV (Perfusi 14 hari)	Fasikulus-fasikulus saraf terdeselularisasi menyeluruh. Pori endoneurium yang terbentuk baik dan utuh. Kolagen perineurium tampak dominan/ lebih banyak dibandingkan dengan saraf normal.
Sample V (Perfusi 17 hari)	Fasikulus-fasikulus saraf terdeselularisasi menyeluruh, namun pori endoneurium banyak yang mengalami kerusakan sehingga pori yang terbentuk terlalu besar. Kolagen perineurium sangat dominan

Gambaran makroskopik dan mikroskopik saraf tepi domba segar dan berbagai metode deselularisasi disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Gambaran hasil deselularisasi makroskopik dan mikroskopik saraf tepi domba

	Sampel Segar	Metode <i>shaking</i> 24 jam 90 rpm	Metode Perendaman 14 hari	Metode Perendaman 17 hari	Metode Perfusi 14 hari	Metode Perfusi 17 hari
Hasil Makroskopik						
Hasil Mikroskopik (Objektif 10x) Skala = 200 µm						
Hasil Mikroskopik (Objektif 40x) Skala = 50 µm						

Keterangan: Gambaran makroskopik menunjukkan bahwa sampel segar dan metode perendaman 17 hari menunjukkan warna putih keruh, sedangkan sampel metode *shaking*, perendaman 14 hari, perfusi 14 dan 17 hari menghasilkan warna makroskopik putih kompak. Hasil mikroskopik saraf normal menunjukkan adanya fasikulus saraf (a) yang berisi serabut saraf yang mengandung akson, mielin dan sel Schwann (b). Hasil metode *shaking* hanya mampu mendeselularisasi bagian perifer jaringan (c) namun bagian dalam tidak terdeselularisasi (d), namun menghasilkan pori endoneurium yang baik dan utuh (e). Metode perendaman dan perfusi 14 hari menghasilkan deselularisasi fasikulus yang menyeluruh (f) serta menghasilkan pori endoneurium yang utuh pula (g). Metode perendaman 17 hari menunjukkan destruksi kolagen perineurium (h). Baik metode perendaman dan perfusi 17 hari menunjukkan hasil deselularisasi fasikulus saraf yang berlebihan dengan ditunjukkan banyak pori endoneurium yang tidak utuh atau rusak (i). Baik metode perendaman dan perfusi menunjukkan serabut kolagen perineurium lebih besar dan dominan (j) dibandingkan sampel saraf segar dan metode *shaking*.

Terputusnya saraf tepi dengan *gap* yang lebar misalnya disebabkan kecelakaan memerlukan pipa penyambung saraf yang dapat berupa jaringan cangkok saraf guna memperbaiki fungsi kembali. Pengembangan jaringan cangkok asal hewan (*xenograft*) menjadi perhatian karena ketersediaannya yang tidak terbatas dibandingkan jaringan cangkok asal manusia (*allograft*) yang ketersediaannya terbatas, namun kekurangan dari *xenograft* adalah tingginya resiko penolakan sistem imun (Cozzi *et al.*, 2006), namun muncul ilmu rekayasa jaringan yang berusaha menjawab permasalahan tersebut. Jaringan *xenograft* perlu dilakukan deselularisasi atau proses penghilangan sel yang hanya menyisakan matriks ekstraseluler guna mengurangi respon imun. Hal ini dikarenakan pengenalan sel imun memerlukan molekul MHC (*Major Histocompatibility Complex*) yang terdapat di sel (Gilbert *et al.*, 2006, dan Crapo *et al.*, 2011). Matriks ekstraseluler saraf tepi didominasi oleh kolagen, domba menjadi kandidat sumber *xenograft* saraf tepi dikarenakan sesuai dengan kondisi sosial budaya masyarakat Indonesia serta memiliki susunan asam amino pada kolagen yang mirip dengan manusia (Tabel 1).

Metode deselularisasi sangat bervariasi menyesuaikan jenis jaringan, bahan yang dipakai serta cara deselularisasinya. Analisa hasil deselularisasi jaringan dapat berupa pengamatan makroskopik dan mikroskopik. Perubahan makroskopik jaringan saraf tepi pasca deselularisasi yang pernah dilaporkan adalah jaringan menjadi transparan (Sondell *et al.*, 1998) dan jaringan menjadi lebih putih dan bersih (Yang *et al.*, 2009).

Pada penelitian ini setelah jaringan

dideselularisasi pada metode *shaking* 24 jam, perendaman 14 hari, perfusi 14 dan 17 hari tampak warna putih kompak dengan konsistensi kenyal dibandingkan dengan saraf segar yaitu putih keruh dan perendaman 17 hari yang mulai transparan dengan konsistensi lembek. Warna putih keruh pada jaringan segar disebabkan karena adanya komponen darah di dalam jaringan, sedangkan warna lebih putih dan konsistensi kenyal kemungkinan karena terjadi peningkatan kolagen didalamnya dan hilangnya komponen darah di dalam jaringan akibat proses deselularisasi, dan warna mulai transparan menunjukkan proses deselularisasi terlalu berlebihan yang ditunjukkan dengan adanya destruksi kolagen selaku matriks ekstraselulernya. Warna putih keruh pada jaringan segar dikarenakan masih adanya darah di dalam jaringan.

Sodium duodecyl sulphate (SDS) merupakan detergen *ionic* yang mampu merusak sel dan membran nukleus dan mendenaturasi protein. *Sodium duodecyl sulphate* efektif untuk jaringan yang lebih padat seperti sendi dan tulang. Menurut Crapo *et al.* (2011), SDS mampu efektif membersihkan residu sel misalnya nukleotida dibandingkan detergen lainnya, namun SDS memiliki daya rusak lebih kuat daripada Triton X-100 sehingga waktu pemakaian perlu diperhatikan guna mempertahankan matriks ekstraseluler. Menurut Gilbert *et al.* (2006), EDTA adalah agen pengkelat yang membentuk molekul cincin yang dapat berikatan dengan ion, misalnya Ca^{2+} dan Mg^{2+} yang terdapat pada ikatan sel dengan kolagen dan fibronectin sehingga mampu memfasilitasi pelepasan ikatan sel dengan matriks ekstraselulernya. Menurut Gu *et al.* (2011), pipa

penyambung saraf yang ideal adalah memiliki pori-pori yang mampu memfasilitasi regenerasi akson dan memfasilitasi pertukaran nutrisi dan zat sampah antara pipa penyambung saraf dengan lingkungan jaringan sekitar.

Berdasarkan hasil pengamatan mikroskopik, metode perendaman 14 hari dan perfusi 14 hari mampu menghasilkan pori endoneurium yang utuh dan baik, sedangkan metode *shaking* hanya mampu mendeselularisasi fasikulus saraf bagian perifer jaringan, namun menghasilkan pori endoneurium yang utuh dan baik. Pada perendaman 17 hari dan perfusi 17 hari menunjukkan proses deselularisasi yang berlebihan yang ditunjukkan banyaknya pori endoneurium yang rusak. Pori endoneurium berfungsi sebagai tabung yang memfasilitasi regenerasi akson dari sisi proksimal menuju ke sisi distal (Gadget *et al.*, 2011). Jaringan *acellular* dapat berfungsi sebagai *scaffold* pada rekayasa jaringan. Pori-pori yang terbentuk pada jaringan *acellular* dapat dimanfaatkan sebagai ruang kosong untuk dikombinasikan dengan implantasi sel sesuai resipien baik berupa sel spesifik misalnya eksternal sel Schwann manusia, sel punca mesenkimal manusia sebagai pengganti sel yang hilang atau pemberian *growth factor external* (Tabata, 2008), misalnya *neural growth factor* yang dapat memacu percepatan regenerasi jaringan saraf tepi.

Studi ini adalah studi pendahuluan guna mencari metode deselularisasi saraf tepi domba yang menghasilkan pori endoneurium yang paling baik dan digunakan sebagai dasar metode dari studi lanjutan berupa karakterisasi kekuatan mekanis dan mikrostruktur jaringan *acellular* saraf tepi domba.

Kesimpulan dari hasil penelitian ini bahwa metode perendaman 14 hari dan perfusi 14 hari

dengan menggunakan larutan deselularisasi 0,1% SDS-EDTA menunjukkan hasil deselularisasi lebih baik daripada metode *shaking* 24 jam, perendaman 17 hari dan perfusi 17 hari berdasarkan gambaran makroskopik dan mikroskopik.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih atas bantuan Dr. drh. Tri Wahyu Pangestiningih, MP selaku Kepala Bagian Anatomi FKH UGM dan drh. Teguh Budipitojo, MP, Ph.D selaku kepala Laboratorium Mikroanatomi FKH UGM serta Bapak Agus Tunggoro dan Ibu Tri Winangsih selaku laboran di Laboratorium Mikroanatomi FKH UGM, serta Bu Sis selaku kontak Tempat Penjualan Kambing dan Domba Aqiqah di Prambanan, dan Dr. drh. Rini Widayari, MP., selaku Kepala Bagian Biokimia FKH UGM yang telah mengizinkan penggunaan *shaker*.

Daftar Pustaka

- Cozzi, E., Bosio, E., Seveso, M., Vadori, M. and Ancona, E. (2006) Xenotransplantation-current status and future perspectives. *Br. Med. Bull.* 75-76: 99-114.
- Crapo, P.M., Gilbert, T.W. and Badylak, S.G. (2011) An overview of tissue and whole organ decellularization processes. *Biomaterials* 32: 3233-3243.
- Einstiana, A. 2006. *cit.* Tirtosiwati, B,U. (2011) Ukuran dan bentuk tubuh serta pendugaan bobot badan domba garut, domba ekor tipis dan domba ekor gemuk. Skripsi. Departemen Ilmu Produksi dan Teknologi Peternakan Fakultas Peternakan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Gadget A.D., Popovich, P.G. and Ramer, M.S. (2011) Wallerian degeneration: Gaining perspective on inflammatory events after peripheral nerve injury. Review. *J Neur. Infl.* 8: 110.

- Gilbert, T.W., Sellaro, T.L. and Badylak, S.F. (2006) Decellularization of tissues and organs. *Biomaterials* 27: 3675-3683.
- Gu, X., Ding, F., Yang, Y. and Liu, J. (2011) Construction of tissue engineered nerve grafts and their application in peripheral nerve regeneration. *Progress in Neurobiol.* 93: 204-230.
- Harald, C.O., Thomas, S.M., Goh, S.K., Black L.D., Kren, S.M., Netoff, T. and Taylor, D.A. (2008) Perfusion-decellularized matrix: Using nature's platform to engineer a bioartificial heart. *Nat. Med.* 14: 213-221.
- Hetherington, V.J., Kawalec, J.S., Dockery, D.S., Targoni, O.S., Lehmann, P.V. and Nadler, D. (2005) Immunological testing of xeno-derived osteochondral grafts using peripheral blood mononuclear cells from health human donors, *BMC Musculoskeletal Dis.* 6: 1-11.
- Hidayah, N.H., Fadzli, A.S., Ng, M.H., Ruszymah, B.H.I., Naicker, A.S. and Shalimar, A. (2012) Porous PLGA sheet and acellularized muscle stuffed vein seeded with neural-differentiated MSCs are potential scaffolds for nerve regeneration. *Reg. Res.* 1: 1-7.
- Siemens, A.L., Lipsey, R.J., Hedrick, H.B., Williams, F.L., Yokley, S.W. and Siemens, M.G. (1990) Comparison of market hog characteristics of pigs selected by feeder pig frame size or current USDA feeder pig grade standards. *J. Anim. Sci.* 68: 2217-2221.
- Sondell, M., Lundborg, G. and Kanje, M. (1998) Regeneration of the rat sciatic nerve into allografts made acellular through chemical extraction. *Brain Res.* 795: 44-54.
- Tabata, Y. (2008) Open Lecture: Translational Research in Tissue Engineering: Experiences and Lessons Learned from Japan. In conjunction with 59th Anniversary of Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia.
- Uzun, N., Tanriverdi, T., Savrun, F.K., Kiziltan, M.E., Sahin, R., Hanimoglu, H. and Hanci, M. (2006) Traumatic Peripheral Nerve Injuries: Demographic and Electrophysiologic Findings of 802 Patients from a Developing Country. *J. Clin. Neuromusc. Dis.* 97: 97-103.
- Xu, H., Sun, W., Cui, C. and Wan, H. (2011) *Nerve treatment devices and Methods*, Patent no. US20110135606A1.
- Yang, L.M., Liu, X.L., Zhu, Q.T., Zhang, Y., Xei, T.F., Hu, J, He, C.F. and Jiang, L. (2009) Human peripheral nerve-derived scaffold for tissue-engineered nerve grafts: Histology and biocompatibility analysis. *J. Biomed. Mater. Res. part B: Appl. Biomater.* 96B: 25-33.
- Zajicek, R., Matouskova, Broz, L., Kubok, R., Waldauf, P. and Königova, R. (2011) New biological temporary skin cover Xe-Derma® in the treatment superficial scald burns in children. *Burns* 37: 333-337.
- Zhang, Y., Luo, H., Zhang, Z., Lu, Y., Huang, X., Yang, L., Xu, J., Yang, W., Fan, X., Du, B., Gao, P., Hu, G. and Jin, Y. (2010) A nerve graft constructed with xenogeneic acellular nerve matrix and autologous adipose-derived mesenchymal stem cells, *Biomaterials* 31: 5312-5324.
- Zhoconde, D.W., (2008) *Neurobiology of peripheral nerve regeneration*, 1st ed., Cambridge University Press. Cambridge.