



UNIVERSITAS  
KRISTEN  
MARANATHA

Fakultas  
Kedokteran

# **PENELITIAN BIOMEDIK DAN ILMU KEDOKTERAN**

Statistika Dasar dan Penelusuran Artikel Ilmiah



**EDITOR :**  
**Meilinah Hidayat**  
**Cindra Paskaria**  
**Decky Gunawan**



# **PENELITIAN BIOMEDIK DAN ILMU KEDOKTERAN**

PENULIS:

Dr. Meilinah Hidayat, dr., M.Kes., dkk

EDITOR:

Dr. Meilinah Hidayat, dr., M.Kes.

Cindra Paskaria, dr., MKM.

Decky Gunawan, dr., M.Kes., AIFO.



**PENERBIT ALFABETA BANDUNG**

UNDANG-UNDANG REPUBLIK INDONESIA  
NUMOR 28 TAHUN 2014 TENTANG HAK CIPTA

**Pasal 9**

- (1) Pencipta atau pemegang Hak Cipta sebagaimana dimaksud dalam Pasal 8 memiliki Hak Ekonomi untuk melakukan:
  - a. Penerbitan Ciptaan;
  - b. Penggandaan Ciptaan dalam segala bentuknya;
  - e. Pendistribusian Ciptaan atau salinannya;
  - g. Pengumuman Ciptaan;
- (2) Setiap orang yang melaksanakan hak ekonomi sebagaimana dimaksud pada ayat (1) wajib mendapatkan izin Pencipta atau Pemegang Hak Cipta.
- (3) Setiap Orang yang tanpa izin Pencipta atau Pemegang Hak Cipta dilarang melakukan penggandaan dan/atau Penggunaan Secara Komersial Ciptaan.

**Pasal 113**

- (3) Setiap Orang yang dengan tanpa hak dan/atau tanpa izin Pencipta atau pemegang Hak Cipta melakukan pelanggaran hak ekonomi Pencipta sebagaimana dimaksud dalam Pasal 9 (1) huruf a, huruf b, huruf e, dan/atau huruf g untuk Penggunaan Secara Komersial dipidana dengan pidana penjara paling lama 4 (empat) tahun dan/atau pidana denda paling banyak Rp1.000.000.000,00 (satu miliar rupiah).
- (4) Setiap Orang yang memenuhi unsur sebagaimana dimaksud pada ayat (3) yang dilakukan dalam bentuk pembajakan dipidana dengan pidana penjara paling lama 10 (sepuluh) tahun dan/atau pidana denda paling banyak Rp. 4.000.000.000,00 (empat miliar rupiah).

**Hak Cipta Dilindungi Undang-undang**

Dilarang keras memperbanyak, memfotokopi sebagian atau seluruh isi buku ini, serta memperjualbelikannya tanpa mendapat izin tertulis dari Penerbit.

© 2020, Penerbit Alfabeta, Bandung

Pnlt29 (vii + 180) 18 x 25 cm

Judul Buku : Penelitian Biomedik dan Ilmu Kedokteran

Editor : Dr. Mcilinah Hidayat, dr., M.Kes.  
Cindra Paskaria, dr., MKM.  
Decky Gunawan, dr., M.Kes., AIFO.

Penerbit : ALFABETA, cv  
Jl. Gegerkalong Hilir No. 84 Bandung  
Telp. (022) 200 8822 Fax. (022) 2020 373  
Mobile/Message: 081 1213 9484  
Website: www.cvalfabeta.com  
Email: alfabetabd@yahoo.co.id

Cetakan Kesatu : 2020

ISBN : 978-602-289-640-1

Anggota Ikatan Penerbit Indonesia (IKAPI)

## KATA SAMBUTAN

Puji syukur kepada Tuhan, atas terselesaikannya buku Penelitian Biomedik dan Ilmu Kedokteran. Saya mengucapkan banyak terima kasih kepada semua pihak yang telah bekerja keras untuk menyusun buku ini, baik semua para penulis, dan para editor buku ini, maupun pihak-pihak lain yang telah berkontribusi dalam penyusunan buku ini.

Sebagai institusi pendidikan, Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Maranatha harus selalu memperbaharui materi pembelajaran sesuai standar yang berlaku. Karya tulis ilmiah menjadi syarat penting kelulusan seorang sarjana kedokteran. Untuk mempersiapkan dan menyusun karya tulis ilmiah yang baik, disusunlah buku Penelitian Biomedik dan Ilmu Kedokteran ini. Setiap mahasiswa kedokteran harus mempelajarinya dengan sungguh-sungguh sehingga dapat meneliti, menulis dan menyusun laporan hasil penelitiannya dengan benar sesuai dengan format dan kaidah-kaidah penulisan penelitian ilmiah. Mahasiswa diharapkan dapat menuliskan karya tulis ilmiahnya dengan baik serta memublikasikan hasil tulisannya tersebut untuk menunjang karirnya sebagai seorang dokter di masa mendatang.

Besar harapan saya, buku ini dapat dimanfaatkan sebaik-baiknya oleh segenap penggunanya. Demikianlah kata sambutan saya, selamat belajar, sukses, dan senantiasa diberkati Tuhan.

Bandung, Desember 2020

Dr. Diana Krisanti Jasaputra, dr., M Kes.  
Dekan FK Universitas Kristen Maranatha

## KATA SAMBUTAN

Puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa atas diterbitkannya buku penunjang pembelajaran di Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Maranatha yang merujuk kepada Kerangka Kualifikasi Nasional Indonesia (KKNI). Dalam penerapan KKNI, Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Maranatha menggunakan metode pembelajaran *Problem Based Learning* (PBL).

Melalui sistem pembelajaran PBL mahasiswa dituntut aktif, mandiri dan belajar sepanjang hayat. Metode-metode pembelajaran diarahkan untuk memancing keingintahuan, memotivasi mahasiswa untuk belajar secara mandiri, melatih untuk berpikir kritis yang berguna baik pada saat perkuliahan maupun ketika mahasiswa sudah terjun di masyarakat sebagai dokter. Pembelajaran ini akan berhasil apabila mahasiswa aktif dalam mencari materi pengetahuan dari berbagai sumber yang dapat dipercaya dan dengan demikian melalui pembelajaran mandiri mahasiswa akan lebih mengingat apa yang telah mereka pelajari dan menguasai keahlian untuk belajar.

Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Maranatha menerbitkan panduan belajar berupa buku dengan maksud menjembatani tujuan pembelajaran dengan materi dunia kedokteran yang sangat banyak, dinamis, dan kompleks. Tidak ada buku yang dapat menjelaskan kompleksitas dan pengembangannya hanya seorang pembelajar yang dapat menjawab tantangan ini di masa depan. Isi buku ini hanya mencakup panduan umum dari materi yang harus dipelajari oleh mahasiswa secara individual. Mahasiswa wajib mencari sumber pustaka lain untuk menambah wawasan ilmu pengetahuan mereka. Melalui buku ini diharapkan mahasiswa dapat lebih terarah dan termotivasi untuk mempelajari lebih dalam lagi berbagai topik baik materi pengetahuan, praktikum, dan ketrampilan klinik.

Akhir kata kami mengucapkan terima kasih dan penghargaan sebesar-besarnya kepada semua pihak yang telah berkontribusi dalam pembuatan buku ini.

Bandung, Desember 2020

dr. July Ivone, M.K.K., M.Pd.Ked  
Ketua *Medical Education Unit*

## **KATA PENGANTAR**

Puji syukur kepada Tuhan, atas penyusunan dan penerbitan buku Penelitian Biomedik dan Ilmu Kedokteran. Kami mengucapkan banyak terima kasih kepada Dekanat Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Maranatha, para kontributor, dan semua pihak yang telah bekerja keras dalam penyusunan dan penerbitan buku ini.

Salah satu syarat kelulusan di Fakultas Kedokteran adalah menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah. Agar dapat menunjang hal tersebut, mahasiswa FK harus memahami berbagai teori dasar penelitian dan penulisan ilmiah. Materi di dalam buku ini diharapkan dapat menunjang hal tersebut. Buku ini terdiri dari beberapa materi mengenai penulisan karya tulis ilmiah, statistika bidang kesehatan, dan teknik laboratorium terkini. Mahasiswa diharapkan dapat mempelajarinya dengan baik agar dapat menunjang penelitian dan penulisan KTI-nya sesuai dengan tujuan penyusunan dan penerbitan buku ini.

Kami memohon maaf apabila masih ada kekurangan dalam penyusunan dan penerbitan buku ini. Besar harapan kami, buku ini dapat dimanfaatkan sebaik-baiknya oleh segenap penggunanya.

Bandung, Desember 2020

Tim Editor

## **DAFTAR KONTRIBUTOR**

Cindra Paskaria, dr., MKM.  
Demes Chormelia Martantiningtyas S.Si.,M.Sc  
Dr. Diana Krisanti Jasaputra, dr., M Kes.  
H. Edwin Setiabudi, dr., SpPD., KKV, FINASIM.  
Dr. Hana Ratnawati, dr., M.Kes.  
Dr. Julia Windi Gunadi, dr., M.Kes.  
Dr. Meilinah Hidayat, dr., M.Kes.  
Penny Setyawati, dr., SpPK, M.Kes.  
Stella Tinia Hasianna, dr, M.Kes, IBCLC.  
Susan Irawati, B.Biomed Sc., M.Biomed Sc.  
Prof. Dr. Susy Tjahjani, dr., M.Kes.

## DAFTAR ISI

JUDUL.....	i
KATA SAMBUTAN .....	iii
KATA PENGANTAR .....	v
DAFTAR KONTRIBUTOR .....	vi
DAFTAR ISI .....	vii
BAB I USULAN PENELITIAN .....	1
BAB II METODE PENELITIAN .....	11
BAB III UJI KLINIK AN DESAIN UJI KLINIK .....	20
BAB IV ETIK PENELITIAN KESEHATAN .....	26
BAB V PENELITIAN MENGGUNAKAN HEWAN COBA .....	35
BAB VI <i>CRITICAL APPRAISAL</i> .....	45
BAB VII PENULISAN ABSTRAK.....	53
BAB VIII DAFTAR PUSTAKA .....	62
BAB IX STATISTIK DESKRIPTIF .....	71
BAB X STATISTIK INFERENSIAL.....	77
BAB XI BESAR SAMPEL DAN CARA PENGAMBILAN SAMPEL .....	83
BAB XII <b>BASIC CELL CULTURE..</b> .....	89
BAB XIII <b>STEM CELL</b> .....	98
BAB XIV <i>IMMUNOASSAY</i> .....	106
BAB XV <i>POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR)</i> .....	120
LAMPIRAN.....	141



## BAB XII BASIC CELL CULTURE

Hana Ratnawati

---

### Pendahuluan

Kultur sel adalah suatu keadaan dimana sel diambil dari jaringan tubuh untuk ditumbuhkan di lingkungan buatan dengan kondisi yang dibuat menyerupai di dalam tubuh. Tujuannya adalah untuk mempelajari perubahan fungsi sel/jaringan tanpa pengaruh sistemik. Kondisi lingkungan yang disesuaikan yaitu dalam hal nutrisi, hormon, dan substrat/media sehingga sel/jaringan dapat hidup. Keadaan demikian disebut bahwa sel tersebut hidup secara *in vitro*, lepas dari pengaruh sistemik tetapi masih mempunyai sifat-sifat mirip dengan sel intak. Sel-sel mengadakan proliferasi tetapi masih dalam keadaan tidak terdiferensiasi (Freshney, 2006; Soejono, 2007).

### Sejarah Kultur Sel

Kultur jaringan pertama digunakan sebagai metode untuk mempelajari perilaku sel hewan yang bebas dari pengaruh variasi sistemik (Linke, 2007). Teknologi kultur jaringan telah berkembang sejak satu abad yang lalu dan saat ini berkembang begitu pesat untuk memahami diferensiasi sel dan mekanisme kontrol perkembangan sel. Pada abad ke-19, Sidney Ringer (Inggris) mengembangkan suatu larutan yang mengandung *sodium chloride*, *potassium*, *calcium* dan *magnesium*, dimana larutan tersebut ternyata dapat memelihara berlangsungnya kehidupan organ jantung hewan di luar tubuh. Pada tahun 1885 Wilhelm Roux berhasil mempertahankan kehidupan embrio ayam di luar tubuh selama beberapa hari dengan cara meletakkannya dalam *warm saline solution*. Inilah yang menjadi prinsip dasar berkembangnya metode kultur sel (Jedrzejczak-Silicka, 2017).

Teknologi kultur sel berkembang dengan pesat antara tahun 1940 – 1950 untuk mendukung penelitian dalam bidang virologi. Keberhasilan menumbuhkan virus dalam kultur sel memungkinkan dikembangkannya vaksin. Salk polio vaksin adalah salah satu produk vaksin pertama yang dihasilkan dengan teknik kultur sel. Vaksin ini berhasil dikembangkan dengan teknik kultur sel yaitu menumbuhkan virus pada jaringan ginjal kera oleh para peneliti John Franklin Enders, Thomas Huckle Weller, dan Frederick Chapman Robbins yang dari hasil penelitiannya mendapatkan hadiah Nobel (Jedrzejczak-Silicka, 2017)

Beberapa keberhasilan dalam bidang kultur sel yaitu: (Jedrzejczak-Silicka, 2017)

- Tahun 1952-1955, Gey *et al.* berhasil menanam sel kanker serviks dari pasien dan dapat tumbuh terus sehingga menghasilkan sel turunan (*cell line*), dikenal sebagai HeLa *cell line*.
- Tahun 1955, Eagle berhasil mengembangkan media kultur sel yang sekarang dikenal sebagai Eagle's medium.
- Tahun 1965, Hayflick mendapatkan bahwa ada keterbatasan masa hidup untuk sel kultur, misalnya sel *fibroblast* manusia akan mati setelah membelah dalam jumlah tertentu.
- Tahun 1975, Kohler dan Milstein membuat *monoclonal antibody* pertama dari kultur sel hibridoma.

### Manfaat dan Aplikasi Kultur Sel

Kultur sel banyak dimanfaatkan untuk penelitian biologi sel dan molekuler. Kultur sel merupakan suatu model yang baik untuk mempelajari fisiologi normal suatu sel dan juga sifat biokimianya. Contoh: mempelajari metabolisme, proses penuaan.

Manfaat lainnya yaitu untuk melihat efek suatu obat atau senyawa toksik terhadap sel, uji obat baru serta untuk pembuatan senyawa biologis dalam skala besar misalnya untuk pembuatan vaksin. Keuntungan penggunaan kultur sel dalam produksi vaksin adalah hasilnya konsisten dan reproduktif. Kultur sel juga sering digunakan untuk memproduksi berbagai produk bioteknologi, seperti enzim, hormon sintetik, monoklonal antibodi dan *anticancer agents* (Freshney, 2006; Soejono, 2007).

Terdapat beberapa keuntungan dan kerugian kultur sel (Soejono, 2007).

Keuntungan:

- Sifat fisikokimia lingkungan (pH, suhu, tekanan oksigen, CO<sub>2</sub>) dapat dikontrol sesuai yang diinginkan.
- Mudah dibuat homogen sehingga mudah dianalisis.
- Sel dapat tumbuh di cawan kultur (tidak perlu menggunakan hewan coba).
- Mudah dilakukan intervensi/perlakuan terhadap kultur sel.

Kerugian:

- Untuk mengerjakannya diperlukan keahlian khusus.
- Diperlukan laboratorium yang memenuhi syarat.

- Tidak atau sukar untuk mengidentifikasi sifat-sifat seperti pada *in vivo* (adanya pengaruh sistemik).

### **Perkembangan Kultur Jaringan**

Metode kultur jaringan ini awalnya dimulai dengan eksplan, dispers sel dan kultur sel (Freshney, 2006; Jedrzejczak-Silicka, 2017, Soejono, 2007).

#### **Eksplan**

Eksplan yaitu menanam suatu irisan jaringan. Misalnya irisan jaringan hepar. Irisan jaringan diletakkan pada cawan khusus yang berbentuk cekung. Biasanya tidak perlu incubator CO<sub>2</sub>, cukup menutup cawan dengan rapat menggunakan *tape*, agar CO<sub>2</sub> tidak keluar. CO<sub>2</sub> digunakan untuk pernafasan jaringan. Kerugiannya adalah sukar untuk dievaluasi karena sel bertumpuk dan tidak homogen.

#### **Dispers Sel**

Sebelum ditemukannya teknik kultur sel, para peneliti hanya melumatkan jaringan kemudian dimasukkan ke dalam tabung dan disimpan dalam incubator CO<sub>2</sub>. Dilakukan penghitungan sel sebelum dan sesudah mendapat perlakuan. Teknik ini juga dapat digunakan untuk menghitung atau mengukur konsentrasi substansi yang dihasilkan oleh sel.

#### **Kultur Sel**

Kultur sel adalah sekelompok sel yang dapat hidup secara *in vitro* dalam cawan kultur, lepas dari pengaruh sistemik tetapi masih mempunyai sifat-sifat mirip dengan sel intak. Sel dapat berproliferasi tetapi masih dalam keadaan tidak terdiferensiasi.

### **Konsep Dasar Kultur Sel Mamalia**

Kultur jaringan dapat diperoleh sebagai pertumbuhan menyebar dari sel-sel yang bermigrasi dari suatu fragmen jaringan, atau didapat dari disagregasi jaringan secara enzimatis ataupun mekanik. Dengan cara tersebut, maka dapat dibuat turunan sel (*cell line*) dengan sifat-sifat yang *uniform*. Pada kultur sel yang berasal dari disagregasi jaringan, sel yang tumbuh jadi kultur sel primer adalah sel yang tahan terhadap proses disagregasi dan sel yang mampu melekat. Sel dapat hidup satu lapis (*monolayer*) dan sel terpisah-pisah (tidak menumpuk) sehingga mudah untuk dianalisis dan dihitung. Jika kultur primer dipertahankan lebih dari beberapa jam, terjadi seleksi lebih lanjut. Sel yang mampu berproliferasi akan meningkat jumlahnya dan beberapa tipe sel tidak dapat hidup dalam lingkungan kultur. Karena proses seleksi tersebut terus berjalan, maka komposisi populasi kultur sel primer terus berubah sampai sel pelapis menjadi konfluen. Dengan

mempertahankan kepadatan sel supaya selalu rendah, misalnya dengan sering mengadakan subkultur, maka akan membantu mempertahankan fenotip normal kultur sel (Freshney, 2006; Soejono, 2007).

Kultur sekunder atau subkultur adalah kultur sel yang diambil dari kultur primer yang sudah konfluen, sel dilepaskan dari cawan kultur primer dan ditanam kembali di cawan kultur lainnya. Kultur primer maupun kultur sekunder dapat dipelihara dalam jangka waktu lama (Soejono, 2007).

### ***Cell Line***

Untuk mendapatkan turunan sel (*cell line*), maka perlu dilakukan subkultur/*passage* secara rutin. Setelah subkultur pertama, kultur primer akan menjadi turunan sel dan biasanya dapat di subkultur berkali-kali. Tiap subkultur berikutnya, komponen populasi sel yang mampu berproliferasi paling cepat akan semakin bertambah banyak dan mendominasi sel yang lain, sedang sel yang berproliferasi lambat atau tidak berproliferasi akan punah. Walaupun seleksi dan perubahan fenotipe terus terjadi dengan dilakukannya *passage*/subkultur, biasanya setelah subkultur ke-tiga, kultur sel tersebut akan lebih stabil dan sel cepat berproliferasi (Freshney, 2006; Soejono, 2007).

Umumnya turunan sel dapat dikultur terus tanpa berubah bentuk/morfologinya sampai beberapa generasi, setelah itu sel akan mati. Pada beberapa jenis sel, setelah subkultur berulang-ulang dapat berubah menjadi turunan sel kontinu (*continues cell line*), yaitu sel yang mengalami 'transformasi in vitro' dimana terjadi perubahan morfologi dan kinetik secara spontan atau akibat bahan kimia atau virus. Umumnya pada sel maligna. Turunan sel kontinu biasanya aneuploidi, atau bisa juga diploid dan tetraploid dan sering ada variasi dalam jumlah kromosom. Umumnya sel normal tidak tumbuh menjadi turunan sel kontinu. Misalnya fibroblas manusia, tetap euploidi dan sekitar 50 keturunan akan berhenti membelah. Sel turunan dapat disimpan dalam temperature yang rendah (minus 120° – 180°C) agar sel tersebut tidak mengadakan proliferasi. Begitu sel turunan dikultur segera akan hidup dan akan berproliferasi. Sebab itu harus dipelihara agar tidak mati akibat penuhnya sel dalam cawan kultur. Caranya yaitu dengan penggantian medium secara periodik, karena kemungkinan terjadi penurunan pH, berkurangnya makanan dan volume yang ditempati kurang (Freshney, 2006; Soejono, 2007).

Keuntungan subkultur yaitu dapat dikarakterisasi dan dipakai untuk pengukuran-pengukuran dengan parameter tertentu, misalnya untuk menentukan kemosensitivitas. Kerugiannya adalah fenotip tumor dan adaptasi selektif lingkungannya berubah.

## Metode Kultur Sel

Hal-hal yang perlu diperhatikan sebelum melakukan kultur sel yaitu: (Soejono, 2007)

- a. Tipe jaringan yang akan dikultur.
- b. Spesies hewan.
- c. Usia hewan.
- d. Disosiasi medium yang akan digunakan.
- e. Enzim yang akan digunakan jangan sampai tercemar.
- f. Konsentrasi enzim yang akan digunakan.
- g. Suhu.
- h. Waktu inkubasi.

Berikut adalah langkah-langkah dalam proses kultur sel:

### a. Isolasi Sel

Sel bisa diisolasi dari jaringan dengan berbagai cara, antara lain dengan sedimentasi, sentrifugasi, FACS, *Magnetic beads*, *selective killing*, *cloning*. Sel bisa diisolasi dari darah dengan mudah, tetapi hanya leukosit yang dapat ditumbuhkan pada kultur sel. Mononuklear sel bisa diisolasi dari jaringan pengikat dengan menggunakan enzim seperti kolagenase, tripsin, atau pronase yang dapat menghancurkan matriks ekstraselular. Bisa juga dengan cara meletakkan irisan jaringan dalam media penumbuh berupa *serum-free medium*, kemudian sel yang tumbuh dapat digunakan untuk kultur sel. Metode ini dikenal sebagai *explant culture*. Bila kultur sel berasal dari jaringan traktus respiratorius, traktus gastrointestinal atau traktus urogenital, maka ke dalam medium perlu ditambahkan antibiotik untuk melindungi terhadap infeksi.

Sel yang dikultur langsung dari suatu jaringan dikenal sebagai *primary cells* (kultur primer). Umumnya kultur primer mempunyai masa hidup yang terbatas, kecuali kultur primer sel tumor. Setelah mengalami pembelahan beberapa kali, sel akan menjadi tua dan berhenti membelah (Freshney, 2006).

### b. Maintaining Cells in Culture

Agar sel dapat tumbuh dengan baik dalam kultur, maka diperlukan kondisi yang sesuai untuk setiap jenis sel. Kondisi yang harus diperhatikan adalah suhu, komposisi gas dan media penumbuh. Untuk sel mamalia biasanya digunakan suhu 37°C dan 5%  $\text{CO}_2$ . Pada media penumbuh harus diperhatikan pH, konsentrasi glukosa, *growth factor* dan nutrient lainnya. *Growth factor* yang sering digunakan adalah *calf serum* (Freshney, 2006).



c. **Manipulasi Kultur Sel** (Freshney, 2006; Soejono, 2007)

Sel akan terus tumbuh dan membelah, sehingga menimbulkan beberapa hal:

- habis/berkurangnya nutrisi
- akumulasi *apoptotic* atau *nekrotic cell*
- kontak antar sel bisa menimbulkan cell-cycle arrest, sehingga sel berhenti membelah dikenal sebagai *senescence* atau *contact inhibition*.
- Kontak antar sel juga dapat menyebabkan diferensiasi sel.

Hal-hal yang perlu dilakukan untuk memanipulasi masalah tersebut di atas adalah mengganti media, *passaging cells* dan *transfection and transduction*. Hal-hal tersebut harus dilakukan secara steril dan sebaiknya dilakukan di *biosafety hood* atau *laminar flow cabinet*.

- Penggantian media kultur  
Penggantian media dilakukan dengan cara aspirasi dan mengisinya kembali.
- *Passaging cells* / subkultur  
*Passaging cells* juga disebut subkultur atau *splitting cells*, yaitu memindahkan sejumlah kecil sel ke kultur dish yang baru. Sel akan bisa hidup dan bertahan dalam waktu lama bila di *passage* secara rutin untuk menghindari *senescence cells*. Sebelum dipindahkan, sel harus dilepaskan dari cawan kultur dengan cara pemberian campuran enzim protease (contoh: trypsin) dan suatu *chelating agent* (contoh: EDTA), sekarang dikenal berbagai zat untuk *detached cells*.

- *Transfection and transduction*  
Cara lain untuk memanipulasi sel adalah dengan *transfection* dan *transduction*. *Transfection* yaitu mengsertie DNA asing agar sel dapat mengekspresikan protein yang diinginkan.

Cara yang paling baru saat ini adalah menginsertie RNAi untuk mensupres ekspresi suatu gen/protein.

DNA juga bisa diinsertie ke dalam sel menggunakan virus, metode ini dikenal sebagai transduksi, *infection* atau *transformation*. Virus sangat baik dalam menginsertie DNA ke dalam sel, karena virus secara alami memang harus bereproduksi di dalam sel.

Ada beberapa jenis sel yang tumbuh dalam kultur tetapi tidak melekat pada cawan kultur melainkan tetap berada dalam bentuk suspensi sebagai *single cells* atau *clumps*, contohnya adalah lymphoblast (sel Raji dan hybridomas). Hal ini disebut *static suspension cultures*.

**d. Established human cell lines**

Salah satu *human cell lines* yang pertama kali berhasil dikultur, diturunkan dari pasien bernama Henrietta Lacks, yang meninggal akibat kanker serviks. Sel kanker serviks tersebut kemudian dikultur dan berhasil membentuk *cell lines* yang disebut HeLa cells yang diwarnai dengan Hoechst, tampak inti sel berwarna biru.

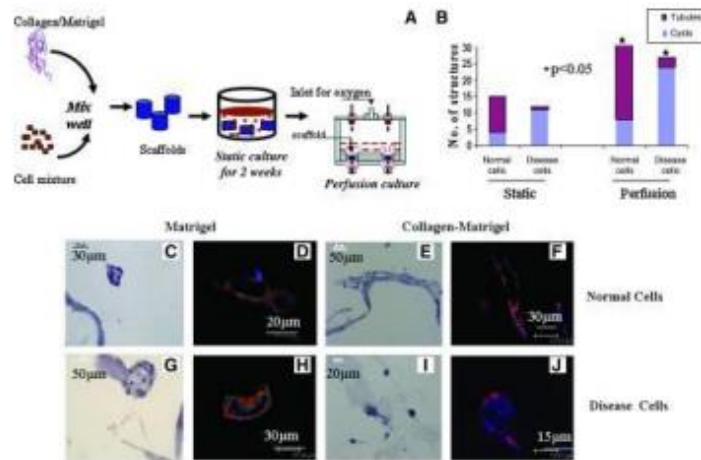
**e. Generation of hybridomas**

Dimungkinkan untuk memfusi sel normal dengan *immortalized cell line*. Metode ini digunakan untuk memproduksi antibodi monoklonal. Sebagai contoh, limfosit diisolasi dari limpa ataupun darah dari hewan yang telah di imunisasi, kemudian dikombinasi dengan *immortal myeloma cell line (B cell lineage)* untuk menghasilkan hybridoma yang mempunyai spesifisitas antibodi dari limfosit primer dan immortalitas dari sel myeloma. *Selective growth medium* (HA or HAT) digunakan untuk menyeleksi sel myeloma yang tidak berfusi; sel limfosit primer akan mati dengan segera di cawan kultur dan hanya sel yang berfusi yang hidup. Hal ini diperlukan untuk produksi antibodi, umumnya setelah dilakukan *single cloning* (Freshney, 2006; Soejono, 2007).

**Perkembangan Penelitian Kultur Sel**

Pada tahun 2007, Wilkes *et al.* berhasil membuat bioreaktor untuk mempelajari mekanisme biologis penyembuhan luka dengan teknik *vacuum-assisted closure (VAC) Negative Pressure Wound Therapy (NPWT)* dengan menggunakan kultur jaringan 3 dimensi yang terdiri dari fibroblas yang mengandung bekuan fibrin yang dikultur pada cawan bertingkat. Cawan kultur ini mendapat perfusi medium yang diatur kecepatan, tingkat aliran serta tekanannya berdasarkan keadaan jaringan yang terluka (Wilkes, 2007).

Linke *cs.* (2007) dari Fraunhofer Institute for Interfacial Engineering and Biotechnology mengembangkan model *liver* bioartifisial secara *in vitro* dengan cara *co-culture* hepatosit dan sel endotel mikrovaskular. Liver bioartifisial berhasil bertahan dan berfungsi selama 3 minggu *in vitro* (Linke, 2007).



Gambar 12.1. Skema bioreaktor jaringan ginjal (Wilkes, 2007)

Papadimitropoulos *et al.* (2011) berhasil membuat *three-dimensional* (3D) *organotypic culture* models yaitu 3D *osteoblastic-osteoclastic-endothelial cell co-culture system* sebagai model untuk proses *bone turnover*. Balajikarthick Subramanian *cs.* (2010) berhasil membuat *three-dimensional* (3D) *co-culture system* untuk *autosomal dominant polycystic kidney disease* (ADPKD). Sel tubulus dan kista dari jaringan ginjal normal dan ginjal ADPKD di kultur di *matrix extracellular* yang diinfuskan ke 3D *porous silk scaffolds*, kemudian dimasukkan ke bioreaktor perfusi. Hasilnya adalah *collagen-matrigel-jaringan ginjal* dan juga fibroblas (Subramanian, 2010).

## DAFTAR PUSTAKA

- Freshney RI. (2006). Basic principles of cell culture In: Vunjak-Novakovic G, Freshney RI. Eds, *Culture of cells for tissue engineering*. John Wiley & Sons, Inc., Publication.
- Jedrzejczak-Silicka M. (2017). History of Cell Culture In: Gowder SJT Ed. *New insights into cell culture technology*. Published by InTech.
- Linke K., Achanz J, Hansmann J, Walles T, Brunner H, Mersching H. (2007). Engineered liver like tissue on a capillarized matrix for applied research. *Tissue.Eng.* 2007. 13(11):2699-707



- Soejono SK. (2007). Makalah kursus dasar kultur jaringan sel. Bagian Ilmu Faal Fakultas Kedokteran UGM, Yogyakarta.
- Subramanian B, Darya Rudym, Chris Cannizzaro, Ronald Perrone, Jing Zhou, David L. Kaplan. (2010). Tissue-Engineered Three-Dimensional *In Vitro* Models for Normal and Diseased Kidney. *Tissue Eng.* 16(9):2821-2831
- Wilkes R.P., McNulty A.K., Feeley T.D., Schmidt M.A., Kieswetter K. (2007). Bioreactor for Application of Subatmospheric Pressure to Three-Dimensional Cell Culture. *Tissue Eng.* 2007;13(12):2839-54

-oo0oo-