

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Kriopreservasi adalah proses yang mempertahankan organel, sel, jaringan, atau konstruksi biologis lainnya dengan mendinginkan sampel hingga suhu yang sangat rendah (Fry, 2012). Sel punca dan jaringan aktif lainnya, yang memiliki potensi besar untuk digunakan dalam penelitian dasar serta untuk banyak aplikasi medis, tidak dapat disimpan dengan pendinginan atau pembekuan sederhana untuk waktu yang lama karena pembentukan kristal es, guncangan osmotik, dan kerusakan membran selama pembekuan dan pencairan akan menyebabkan kematian sel.

Saat kriopreservasi, reaksi biologis dan kimiawi dalam sel hidup berkurang drastis pada suhu rendah, sebuah fenomena yang dapat mengarah pada kemungkinan pengawetan sel dan jaringan dalam jangka panjang. Namun, pembekuan berakibat fatal bagi sebagian besar organisme hidup, karena kristal es intra dan ekstraseluler terbentuk dan mengakibatkan perubahan pada pengaturan kimiawi sel yang menyebabkan kerusakan dan cedera seluler (Fry, 2012). Perilaku pembekuan sel dapat diubah dengan adanya agen krioprotektif (CPA; juga disebut krioprotektan), yang memengaruhi laju pengangkutan air, nukleasi, dan pertumbuhan kristal es. Dalam proses kriopreservasi, sel dipindahkan ke dalam medium *cryo*. Medium *cryo* terdiri dari media basal ditambah dengan media pengenceran agen krioproteksi. Kriopreservatif adalah zat yang dapat menghambat pembentukan kristal intra dan ekstraseluler sehingga dapat menghindari kematian sel.

Medium krio adalah medium basal yang ditambahkan dengan diluent medium dan *cryoprotectant agent* salah satunya adalah DMSO. Menurut Fry (2012) DMSO bersifat toksik pada sel sehingga diperlukan kombinasi DMSO dengan CPAs ekstraseluler. DMSO digunakan dalam konsentrasi 5% atau 10% sebagai krioprotektan. Konsentrasi DMSO sebesar 2% atau kurang dapat menurunkan integritas membran sel sehingga rentan terhadap lisis sehingga potensi kriopreservasi rendah. Krioprotektan ekstraseluler seperti sukrosa atau trehalosa

yang dikombinasi dengan DMSO, dapat menurunkan konsentrasi DMSO menjadi 2,5 %. Menurut penelitian yang dilakukan oleh UCL, penurunan kadar DMSO yang dikombinasikan dengan CPA ekstraseluler seperti glukosa dan sukrosa dapat mempertahankan konsentrasi total zat terlarut CPA yang sesuai, modulasi pembentukan es, dan perlindungan sel selama kriopreservasi, sehingga dapat menurunkan toksisitas yang ditimbulkan formula cryoprotectant DMSO.

Peluang kombinasi CPAs intraseluler DMSO mendorong penggunaan madu sebagai CPAs ekstraseluler. Madu dipilih sebagai CPAs ekstraseluler dikarenakan kandungan gula pada madu yang tinggi (Dewi, 2017). Madu memiliki kandungan gula hingga 80 % dan bersifat higroskopis yakni mampu menyerap air sehingga diharapkan mampu menjaga sel dalam keadaan homeostatis. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Hamad (2017) menunjukkan bahwa dalam 100mL madu *Tetragonula Sp.* mempunyai rerata kandungan air 22,9 mEq, Fruktosa 29,2 mEq, Glukosa 18,6 mEq, dan Sukrosa 13,4 mEq. Meski penelitian madu *Tetragonula Sp.* selama ini difokuskan kepada penelitian tentang antioksidan dan khasiat antimikroba, namun eksplorasi ke pengembangan formula krioprotektan madu *Tetragonula Sp.* dikombinasi DMSO diharapkan dapat mengatasi masalah toksisitas DMSO dan pemanfaatan hasil alam Indonesia untuk riset simpan beku ADC.

I.2 Rumusan Masalah

Adipose-derived stem cell (ADSC) saat ini menjadi salah satu pilihan terbaik dalam berbagai terapi berbasis sel punca. Oleh karena itu, kriopreservasi jangka panjang dibutuhkan. Namun teknik kriopreservasi sendiri memberikan stres kepada sel yang bisa menyebabkan kerusakan membran sel dan berujung kematian sel. Agen krioprotektan yang berperan dalam menjaga integritas membran sel, yang paling umum digunakan saat ini adalah DMSO. Namun DMSO memiliki efek toksisitas pada resipien sehingga diperlukan formula kombinasi dengan krioprotektan ekstraseluler seperti sukrosa guna menurunkan konsentrasi DMSO sehingga dapat menurunkan toksisitas selagi tetap mempertahankan viabilitas sel pasca proses *thawing*. Adapun madu *Tetragonula Sp.* memiliki kandungan sukrosa tinggi sebagai unsur penting formulasi zat krioprotektan serta mudah diperoleh di Indonesia. Sehingga masalah penelitian ini yaitu apakah terdapat efektivitas dari

penambahan madu *Trigonola Sp.* sebagai *cryopreservative additive* untuk penyimpanan ADSC dengan *cryoprotective*.

I.3 Tujuan

Adapun tujuan dari penelitian ini dibedakan menjadi 2 tujuan yaitu, tujuan umum dan tujuan khusus:

1. Tujuan umum

Tujuan umum dari penelitian yang dilakukan adalah untuk mengidentifikasi potensi madu *Tetragonula Sp.* sebagai *cryopreservative additive* untuk penyimpanan sel dengan *cryoprotective*.

2. Tujuan khusus

Tujuan khusus dari penelitian yang dilakukan adalah bertujuan untuk:

1. Apakah madu *Tetragonula sp.* dapat digunakan sebagai formula krioprotektan guna menurunkan kadar DMSO dalam teknik kriopreservasi?
2. Bagaimana perbandingan viabilitas setelah proses *thawing* dengan formula krioprotektan dengan kombinasi madu *Tetragonula sp.*?
3. Berapa konsentrasi optimal penggunaan madu *Tetragonula sp.* sebagai aditif krioprotektan.?
4. Bagaimana mekanisme intraselular madu *Tetragonula sp.* terhadap sel ADSC saat kriopreservasi?

I.4 Manfaat

1. Untuk peneliti, diharapkan penelitian ini memperluas wawasan mengenai potensi madu *Tetragonula Sp.* sebagai *cryopreservative additive* dalam teknik kriopreservasi sel.
2. Untuk pasien, diharapkan dengan mengetahui potensi madu *Tetragonula Sp.* sebagai *cryopreservative additive* terjadi pengembangan teknik kriopreservasi yang lebih aman tanpa terjadi penurunan viabilitas dan kemampuan fungsional sel.
3. Untuk masyarakat umum, diharapkan dapat memberikan ilmu pengetahuan terbaru mengenai teknik kriopreservasi sel.
4. Untuk instansi pelayanan kesehatan, diharapkan dapat menjadi solusi ataupun alternatif pelaksanaan teknik kriopreservasi sel yang aman untuk

diterapkan dalam terapi-terapi yang memerlukan penerapan teknik kriopreservasi sel.

5. Untuk FK UPN, diharapkan memberikan ilmu pengetahuan terbaru mengenai teknik kriopreservasi sel kepada seluruh mahasiswa/i FK UPN, tenaga pengajar, maupun staf.