

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Teknik kriopreservasi merupakan teknik penyimpanan sel dan materi genetik pada suhu yang sangat rendah yang mampu mereduksi aktivitas metabolisme tanpa memengaruhi fungsi fisiologis, biologis dan morfologi sel (Kostaman, T. dan Setioko, A, 2011). Teknik kriopreservasi dibutuhkan untuk memperpanjang umur simpan sel, sehingga memberikan waktu pengangkutan dari *harvest site* ke tempat penggunaan klinis, uji kualitas, serta melalui *single harvest* dapat digunakan untuk beberapa kali prosedur (Shu, Z. *et al*, 2015). Teknik kriopreservasi *adipose-derived stem cells* (ADSCs) umum digunakan pada pasien *post-mastectomy* untuk *reconstructive surgical* (Shaik, S. *et al*, 2020).

Adipose-derived stem cells diperoleh dari jaringan lemak subkutan dibawah kulit dan sekitar organ interna (*visceral fat*) (Magdalena, 2019). Jaringan adiposa juga menjadi sumber terhadap banyak tipe sel, termasuk adiposit, sel endotel vaskular, sel otot polos vaskular, dan *adipose tissue-derived stem cells* yang dapat berdiferensiasi menjadi tulang, kartilago, sel hematopoietik, dan hepatosit (Shu, Z. *et al*, 2015). Selain kegunaannya yang beragam dalam klinis, ADSC lebih mudah didapat dibandingkan *mesenchymal stem cells* (MSCs) dari sumber jaringan lain (Minonzio, G. *et al*, 2014).

Namun, teknik kriopreservasi memiliki kekurangan yaitu terbentuknya kristal es intraseluler dan ekstraseluler yang menjadi stres mekanik dan menyebabkan sel lisis, sehingga memerlukan zat tambahan (Kostaman, T. dan Setioko, A, 2011). Krioprotektan yang merupakan zat kimia nonelektrolit diperlukan untuk menjaga keutuhan membran sel (Kostaman, T. dan Setioko, A, 2011). Dimetil sulfoxida (DMSO) merupakan *gold standard* dan krioprotektan yang paling umum digunakan tetapi DMSO bersifat toksik dan memiliki *side effects* seperti *nausea, vomiting* hingga

cardiac arrest (Svalgaard, J. D. *et al*, 2020). Pada tingkat seluler, penggunaan konsentrasi DMSO yang tinggi, yaitu 10% menyebabkan morfologi *hematopoietic stem cells* (HSC) berubah menjadi lebih kecil (Yunindasari TD, 2019). Oleh karena itu, konsentrasi DMSO perlu diturunkan dengan mengombinasikan DMSO dan krioprotektan ekstraseluler seperti sukrosa (Svalgaard, J. D. *et al*, 2020).

Sukrosa merupakan krioprotektan ekstraseluler yang dapat ditemukan dalam madu. Salah satu lebah penghasil madu yang banyak ditemukan di Indonesia adalah lebah *Apis mellifera*. Lebah *Apis mellifera* memiliki keunggulan mampu memproduksi madu dalam jumlah lebih banyak dibandingkan dengan jenis lebah lain (Putra, S.H. *et al*, 2018).

Pada penelitian Tiara di tahun 2019, kombinasi DMSO dengan madu hitam sumbawa 5% pada kriopreservasi *hematopoietic stem cells* (HSC) menurunkan konsentrasi DMSO hingga 2,5% dengan tetap mempertahankan viabilitas HSC (Yunindasari TD, 2019). Penelitian Anugerah di tahun 2019 membuktikan madu meningkatkan keberhasilan kriopreservasi sel sperma ikan gabus (*Channa striata*) dengan cara bekerja sebagai ekstender untuk mengencerkan sperma, sehingga meningkatkan motilitas awal dan menjadi sumber nutrisi bagi spermatozoa (Anugerah, A. *et al*, 2019). Bentuk gula lain yaitu pentaisomaltosa berhasil digunakan sebagai kombinasi DMSO untuk kriopreservasi *adipose-derived stem cells* dan mampu menurunkan toksisitas DMSO, berdasarkan penelitian J.D Svalgaard (Svalgaard, J. D. *et al*, 2020).

Penelitian mengenai madu sebagai sumber sukrosa untuk *cryopreservative additive* selama ini lebih terfokus pada tipe sel lain, seperti *hematopoietic stem cells* dan sel sperma sedangkan untuk kriopreservasi *adipose-derived stem cells* belum ditemukan penelitian yang menggunakan madu sebagai *cryopreservative additive*. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian mengenai efektivitas madu sebagai *cryopreservative additive* dalam kriopreservasi *adipose-derived stem cells* (ADSCs).

I.2 Rumusan Masalah

Adipose-derived stem cells (ADSCs) menjadi pilihan utama dalam *reconstructive surgical* pada pasien kanker payudara yang menjalani *lumpectomy* ataupun *mastectomy* dan *adipose tissue-derived stem cells* yang mampu berdiferensiasi menjadi beberapa tipe sel, memiliki peran penting dalam terapi medis. *Fresh fat transplantation* memiliki banyak kekurangan seperti *absorption rate* yang tinggi, risiko insufisiensi revaskularisasi, tidak efisien karena tidak bisa *single harvest* untuk beberapa kali prosedur yang meningkatkan angka morbiditas. Oleh karena itu, kriopreservasi jangka panjang dibutuhkan. Namun, teknik kriopreservasi sendiri memberikan stres kepada sel yang 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 tetapi DMSO memiliki toksisitas dan *side effects*, sehingga diperlukan kombinasi dengan krioprotektan ekstraseluler seperti sukrosa guna menurunkan konsentrasi DMSO. Maka dari itu, perumusan masalah penelitian ini adalah apakah terdapat efektivitas dari penambahan madu *Apis mellifera* sebagai *cryopreservative additive* untuk penyimpanan ADSC dengan *cryoprotective*.

I.3 Tujuan

I.3.1 Tujuan umum

Mengetahui potensi madu *Apis mellifera* sebagai *cryopreservative additive* untuk penyimpanan *adipose-derived stem cells* (ADSCs) dengan *cryoprotective*.

I.3.2 Tujuan khusus

Penelitian ini bertujuan untuk :

1. Mengetahui viabilitas *adipose-derived stem cells* (ADSCs) pasca *thawing* menggunakan krioprotektan DMSO dengan penambahan madu *Apis mellifera*.
2. Mengetahui perbandingan viabilitas *adipose-derived stem cells* (ADSCs) pasca *thawing* dalam media kultur DMEM (*Dulbecco's Modified Eagle*

*Medium), DMEM dengan 10% DMSO, DMEM dengan 2,5% DMSO dan 7,5% madu *Apis mellifera*, DMEM dengan 5% DMSO dan 5% madu *Apis mellifera*, dan DMEM dengan 7,5% DMSO dan 2,5% madu *Apis mellifera*.*

I.4 Manfaat

I.4.1 Manfaat teoritis

Memberikan informasi mengenai potensi madu *Apis mellifera* sebagai *cryopreservative additive* untuk penyimpanan *adipose-derived stem cells* (ADSCs) dengan *cryoprotective*.

I.4.2 Manfaat praktis

1. Untuk peneliti, diharapkan penelitian ini memperluas wawasan mengenai potensi madu *Apis mellifera* sebagai *cryopreservative additive* dalam teknik kriopreservasi ADSC.
2. Untuk pasien, diharapkan menjadi solusi guna berbagai keperluan medis yang memerlukan *stem cells* turunan dari jaringan adiposa dan memerlukan teknik kriopreservasi yang lebih aman tanpa terjadi penurunan viabilitas dan kemampuan fungsional ADSC dalam prosedurnya.
3. Untuk masyarakat umum, diharapkan dapat memberikan ilmu pengetahuan terbaru mengenai teknik kriopreservasi ADSC.
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 ADSC.
5. Untuk FK UPN, diharapkan memberikan ilmu pengetahuan terbaru mengenai teknik kriopreservasi sel kepada seluruh mahasiswa/i FK UPN, tenaga pengajar, maupun staf.