

Original Research

**PENGARUH KONDISI KELEMBABAN LEMBAB DAN KERING
TERHADAP JUMLAH DAN VIABILITAS SEL PUNCA
MESENKIMAL PADA PASASE 6-9**

**THE EFFECT OF HUMID AND DRY MOISTURE CONDITIONS ON THE NUMBER
AND VIABILITY OF MESENCHYMAL STEM CELLS AT PASSAGES 6-9**

Galuh Rismawan¹ Dewi Rahmawati¹, Rizky Farmasita Budiastuti^{2*}

¹Pharmacy Studi Program, Jakarta Global University, Depok, Jawa Barat, Indonesia, 16412

²Apothecary Professional Study Program, University of 17 August 1945, DKI Jakarta, Indonesia, 143501

*E-mail: rizky.budiastuti@uta45jakarta.ac.id

Diterima: 07 November 2025

Direvisi: 27 November 2025

Disetujui: 2 Desember 2025

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh kondisi kelembaban inkubator terhadap jumlah dan viabilitas sel punca mesenkimal (Mesenchymal Stem Cell, MSC) pada pasase 6 hingga 9. Dua kondisi fisiologis diuji, yaitu kultur dalam inkubator dengan kelembaban tinggi ($RH \pm 95\%$) dan kelembaban rendah ($RH < 80\%$) pada kondisi normoksia (37°C , $5\% \text{CO}_2$). Sel yang digunakan merupakan MSC manusia yang diperoleh dari jaringan lemak donor dewasa dan telah dikarakterisasi positif terhadap penanda CD73, CD90, dan CD105. Proses kultur dilakukan secara aseptis dengan media α -MEM yang diperkaya Human Platelet Lysate (HPL) serta antibiotik 1% penicillin-streptomycin. Parameter yang diukur meliputi jumlah total sel, viabilitas sel menggunakan pewarnaan Trypan Blue, dan Population Doubling Time (PDT). Hasil menunjukkan bahwa kelembaban tinggi memberikan hasil yang signifikan terhadap peningkatan jumlah sel dan viabilitas ($p < 0,05$). Rata-rata jumlah sel akhir pada kondisi lembab mencapai $23,36 \times 10^6$ dengan viabilitas 90,23%, sedangkan pada kondisi kering hanya $5,56 \times 10^6$ dengan viabilitas 81,13%. Perbedaan kelembaban juga memengaruhi PDT, di mana kondisi lembab menghasilkan pertumbuhan lebih cepat ($0,33 \text{ hari}^{-1}$) dibandingkan kondisi kering ($0,54 \text{ hari}^{-1}$). Dengan demikian, kelembaban tinggi berperan penting dalam menjaga stabilitas fisiologis dan mempercepat proliferasi MSC in vitro.

Kata kunci : Sel punca mesenkimal, kultur sel, kelembaban inkubator, viabilitas, proliferasi.

Abstract

This study aims to evaluate the effect of incubator humidity conditions on the number and viability of mesenchymal stem cells (MSCs) at passages 6 to 9. Two physiological conditions were tested, namely culture in an incubator with high humidity ($RH \pm 95\%$) and low humidity ($RH < 80\%$) under normoxia conditions (37°C , $5\% \text{CO}_2$). The cells used were human MSCs obtained from adult donor fat tissue and have been characterized as positive for CD73, CD90, and CD105 markers. The culture process was carried out aseptically with α -MEM media enriched with

Human Platelet Lysate (HPL) and 1% penicillin-streptomycin antibiotics. Parameters measured included total cell number, cell viability using Trypan Blue staining, and Population Doubling Time (PDT). The results showed that high humidity gave significant results on increasing cell number and viability ($p < 0.05$). The average final cell count under humid conditions reached 23.36×10^6 with 90.23% viability, while under dry conditions it was only 5.56×10^6 with 81.13% viability. Differences in humidity also affected PDT, with humid conditions resulting in faster growth (0.33 days^{-1}) than dry conditions (0.54 days^{-1}). Thus, high humidity plays a crucial role in maintaining physiological stability and accelerating MSC proliferation in vitro.

Keywords: *Mesenchymal stem cells, cell culture, incubator humidity, viability, proliferation.*

PENDAHULUAN

Mesenchymal Stem Cell (MSC) merupakan salah satu jenis sel punca dewasa yang memiliki kemampuan untuk memperbarui diri dan berdiferensiasi menjadi berbagai jenis sel seperti osteosit, kondrosit, dan adiposit. Potensi regeneratif dan imunomodulatornya menjadikan *MSC* sebagai kandidat utama dalam terapi berbasis sel, terutama untuk penanganan penyakit degeneratif dan gangguan jaringan. Berbagai penelitian pra-klinis dan klinis telah menunjukkan bahwa *MSC* berperan penting dalam memperbaiki jaringan tulang, tulang rawan, serta organ yang mengalami kerusakan permanen. Seiring dengan berkembangnya teknologi kultur sel dan terapi regeneratif, kebutuhan akan produksi *MSC* dalam skala besar dengan kualitas yang konsisten menjadi semakin penting.

Penelitian sel punca di Indonesia menunjukkan kemajuan pesat, khususnya dalam pemanfaatan sel punca mesenkimal untuk terapi berbasis riset, meskipun penggunaannya sebagai sistem penghantar obat (drug delivery system) masih dalam tahap awal. Berdasarkan Permenkes No. 32 Tahun 2014, terdapat 11 rumah sakit rujukan terapi sel punca, termasuk RSUP dr. Cipto Mangunkusumo, RSUP dr. Sardjito, dan RS Kanker Dharmais, yang tersebar di berbagai wilayah Indonesia. Untuk mendukung layanan terapi ini, rumah sakit perlu dilengkapi dengan instalasi pengolahan sel punca, fasilitas penyimpanan, pusat riset terintegrasi, serta tenaga medis yang terlatih. Pengolahan sel dapat dilakukan di dalam atau di luar rumah sakit. Seiring meningkatnya penerapan sel punca di dunia medis, riset mengenai teknik kultur yang optimal menjadi penting untuk memastikan hasil panen sel punca yang berkualitas dan siap digunakan dalam terapi.

Kondisi lingkungan kultur *in vitro* memiliki pengaruh signifikan terhadap proliferasi, viabilitas, dan potensi diferensiasi *MSC*. Parameter seperti suhu, pH, tekanan osmotik, kadar CO_2 , dan kelembapan relatif (*Relative Humidity, RH*) berperan dalam menjaga stabilitas fisiologis sel. Inkubator CO_2 modern umumnya dirancang dengan *RH* tinggi (~95%) untuk mencegah evaporasi media. Namun, dalam praktik kultur jangka panjang atau pada kondisi inkubator dengan kelembapan rendah, evaporasi media dapat meningkat, menyebabkan peningkatan osmolalitas dan perubahan komposisi ionik yang dapat mengganggu fungsi seluler. Studi terdahulu menunjukkan bahwa peningkatan osmolalitas media dapat menurunkan proliferasi dan viabilitas sel, serta memicu stres osmotik yang berdampak pada morfologi dan metabolisme *MSC* (Wei et al., 2013).

Beberapa panduan teknis dan publikasi terkini menyoroti pentingnya pengendalian *RH* dalam kultur sel, karena perubahan kecil dalam kelembapan dapat menyebabkan variasi besar dalam hasil kultur. Misalnya, Ibidi (2022) dan Thermo Fisher Scientific (2024) melaporkan bahwa

evaporasi media akibat rendahnya *RH* dapat meningkatkan konsentrasi garam hingga 10–15%, sehingga memengaruhi keseimbangan ionik dan tekanan osmotik medium. Penelitian Zhang et al. (2022) juga menunjukkan bahwa fluktuasi osmolaritas secara langsung mengubah aktivitas biologis sel melalui jalur osmoregulasi. Namun demikian, hingga saat ini belum ada kajian sistematis yang secara langsung membandingkan pengaruh kelembapan tinggi dan rendah terhadap karakteristik *MSC* pada pasase lanjut (P6–P9).

Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini dilakukan untuk menganalisis pengaruh perbedaan kelembapan inkubasi terhadap jumlah dan viabilitas sel punca mesenkimal pada pasase 6 hingga 9. Hipotesis yang diajukan adalah bahwa kondisi kelembapan rendah (*RH* <80%) menyebabkan peningkatan evaporasi media dan osmolalitas yang berujung pada penurunan proliferasi serta viabilitas *MSC* dibandingkan dengan kondisi kelembapan tinggi (*RH* 95%). Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan pemahaman yang lebih mendalam mengenai efek fisiologis *RH* terhadap kultur *MSC* dan menjadi dasar bagi standarisasi kondisi kultur pada proses produksi sel punca.

METODE

Sampel (Bahan) Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Sel Terapi (CTU Lab, Stem Cell Cancer Institute) menggunakan sampel sel punca mesenkimal yang telah mencapai pasase 6 hingga pasase 9. Sampel dibagi menjadi dua kelompok: Sampel A diinkubasi dalam kondisi normoksia basah (*RH* $\pm$ 95%, *CO*₂ 5%) dan Sampel B dalam kondisi normoksia kering (*RH* <80%, *CO*₂ 5%). Penelitian menggunakan metode enzimatik, dengan pewarnaan Trypan Blue untuk mendeteksi viabilitas sel.

Proses kultur dan pemeliharaan sel dilakukan secara aseptis dalam biosafety cabinet, menggunakan media α -MEM yang diperkaya dengan human platelet lysate serta bahan dan alat laboratorium standar seperti cryovial, mikroskop inverted, hemocytometer, dan alat pengukur lingkungan kultur. Teknik pencucian sel dilakukan menggunakan PBS dan proses tripsinasi menggunakan Tryple Select.

Prosedur kerja

Data diperoleh melalui observasi primer terhadap berbagai tahapan kultur sel, mulai dari proses thawing, seeding, ganti media, hingga harvesting pada masing-masing pasase. Seluruh prosedur dilaksanakan secara terjadwal dari hari pertama hingga hari ke-26. Data dianalisis melalui tahap editing, coding, dan tabulasi, kemudian dievaluasi untuk menilai keberhasilan kultur serta pertumbuhan sel dalam dua kondisi inkubasi yang berbeda. Perhitungan jumlah sel dilakukan menggunakan hemocytometer dan rumus estimasi total sel berdasarkan rerata jumlah sel, faktor pengenceran, dan volume sampel. Penelitian ini bertujuan mengevaluasi pengaruh kondisi kelembapan terhadap hasil kultur sel punca mesenkimal.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Thawing dan Seeding

Proses pencairan sel atau disebut *thawing* dilakukan di dalam *waterbath* dengan suhu 37 °C selama 1 menit 20 detik. Kemudian hasil kultur di tanam atau *seeding* dengan densitas ± 4000 sel/cm² ke dalam tc dish. Hasil kultur sel MSC di hari pertama di simpan di dalam inkubator normoksia dengan suhu 37 °C dan kadar CO₂ 5%. Dalam tahap ini belum dilakukan perlakuan terhadap kelembaban inkubator, untuk mengetahui apakah sel berhasil tumbuh. Proses inkubasi kering dilakukan di pasase 7 hari ke-7.

Tabel 1. Jumlah Sel, Viabilitas Sel, Seeding Sel Hasil Kultur Sel SPM Thawing

No	Hasil kultur sel	Hasil
1	Jumlah sel	5,44 x 10 ⁶ sel
2	Viabilitas sel	94,34%
3	Jumlah sel yang ditanam	0,040 ml densitas (3.959 sel/ cm ²)

Berdasarkan tabel 1 diketahui bahwa jumlah sel yang didapatkan dari hasil *thawing* adalah 5.443.333 sel, dengan viabilitas sel 94,34% dan jumlah sel yang ditanam adalah sebanyak 0,040 ml densitas (3958 sel/ cm²).

Pergantian Media hari ke-4 dan pasase 7 hari ke-7

Proses pengamatan pertumbuhan sel hari ke-4 diamati melalui *inverted microscope* pada setiap proses. Hasil pengamatan sel pada tc dish A dan B keduanya dapat tumbuh dan berproliferasi dengan baik. Pada Pasase 7 hari ke-7 adalah subkultur 1 tc dish A dan 1 tc dish B yang telah di inkubasi di inkubator normoksia 37 °C dan kadar CO₂ 5%.

Tabel 2. Jumlah Sel, Viabilitas Sel, Seeding Sel Hasil Kultur Sel SPM Pasase 7

No	Hasil kultur sel	Hasil tc dish A	Hasil tc dish B
1	Jumlah sel	1,55 x 10 ⁶ sel	1,69 x 10 ⁶ sel
2	Viabilitas sel	93,56%	95,51%
3	Jumlah sel yang ditanam	0,142 ml densitas (4.010 sel/ cm ²) 0,22 x 10 ⁶ sel	0,130 ml densitas (4.002 sel/ cm ²) 0,22 x 10 ⁶ sel

Berdasarkan tabel 2. diketahui bahwa jumlah sel yang didapatkan dari hasil pasase 7 untuk tc dish A adalah 1,55 x 10⁶ sel, dengan viabilitas sel 93,56% dan jumlah sel yang ditanam adalah sebanyak 0,142 ml densitas (4.010 sel/ cm²). Tc dish B adalah 1,69 x 10⁶ sel dengan viabilitas sel 95,51% dan jumlah sel yang ditanam adalah sebanyak 0,130 ml densitas (4.002 sel/ cm²).

Pergantian Media hari ke-10 dan pasase 8 hari ke-13

Proses pengamatan pertumbuhan sel hari ke-10 diamati melalui *inverted microscope*. Hasil pengamatan sel dapat tumbuh dan berproliferasi dengan baik pada tc dish A, sedangkan tc dish B terlihat hasil pengamatan konfluensi sel yang lebih sedikit dibandingkan tc dish A. Pada Pasase 8 hari ke-13 adalah subkultur 2 tc dish A di inkubasi di inkubator normoksia 37 °C dan kadar CO₂ 5%, Kelembaban > 95% dan

2 tc dish B di inkubasi di inkubator normoksia 37 °C dan kadar CO₂ 5%, Kelembaban < 80 %.

Tabel 3. Jumlah Sel, Viabilitas Sel, Seeding Sel Hasil Kultur Sel SPM Pasase 8

No	Hasil kultur sel	Hasil tc dish A	Hasil tc dish B
1	Jumlah sel	3,55 x 10 ⁶ sel	1,42 x 10 ⁶ sel
2	Viabilitas sel	92,62%	75,66%
3	Jumlah sel yang ditanam	0,062 ml densitas (4.002 sel/ cm ²)	0,155 ml densitas (4.002 sel/ cm ²)
		0,22 x 10 ⁶ sel	0,22 x 10 ⁶ sel

Berdasarkan tabel 3 diketahui bahwa jumlah sel yang didapatkan dari hasil pasase 8 untuk tc dish A adalah 3,55 x 10⁶ sel, dengan viabilitas sel 92,62% dan jumlah sel yang ditanam adalah sebanyak 0,062 ml densitas (4.002 sel/ cm²). Tc dish B adalah 1,42 x 10⁶ sel dengan viabilitas sel 75,66% dan jumlah sel yang ditanam adalah sebanyak 0,155 ml densitas (4.002 sel/ cm²).

Pergantian Media hari ke-16 dan pasase 9 hari ke-19

Proses pengamatan pertumbuhan sel hari ke-16 diamati melalui *inverted microscope*. Hasil pengamatan sel dapat tumbuh dan berproliferasi dengan baik pada tc dish A, sedangkan tc dish B terlihat hasil pengamatan konfluensi sel yang lebih sedikit dibandingkan tc dish A. Pada Pasase 9 hari ke-19 adalah subkultur 4 tc dish A di inkubasi di inkubator normoksia 37 °C dan kadar CO₂ 5%, Kelembaban > 95% dan 4 tc dish B di inkubasi di inkubator normoksia 37 °C dan kadar CO₂ 5%, Kelembaban < 80%.

Tabel 4. Jumlah Sel, Viabilitas Sel, Seeding Sel Hasil Kultur Sel SPM Pasase 9

No	Hasil kultur sel	Hasil tc dish A	Hasil tc dish B
1	Jumlah sel	5,87 x 10 ⁶ sel	1.99 x 10 ⁶ sel
2	Viabilitas sel	92,24%	75,69%
3	Jumlah sel yang ditanam	0,04 ml densitas (4.272 sel/ cm ²)	0,110 ml densitas (3.990 sel/ cm ²)
		0,23 x 10 ⁶	0,22 x 10 ⁶

Berdasarkan tabel 4 diketahui bahwa jumlah sel yang didapatkan dari hasil pasase 9 untuk tc dish A adalah 5,88 x 10⁶ sel dengan viabilitas sel 92,24% dan jumlah sel yang ditanam adalah sebanyak 0,04 ml densitas (4.272 sel/ cm²). Tc dish B adalah 1,99 x 10⁶ sel dengan viabilitas sel 75,69% dan jumlah sel yang ditanam adalah sebanyak 0,110 ml densitas (3.990 sel/ cm²).

Pergantian Media hari ke-22 dan *Harvest* hari ke-26

Proses pengamatan pertumbuhan sel hari ke-22 diamati melalui *inverted microscope*. Hasil pengamatan sel dapat tumbuh dan berproliferasi dengan baik pada tc dish A, sedangkan tc dish B terlihat hasil pengamatan konfluensi sel yang lebih sedikit dan tidak jauh berbeda dari pasase sebelumnya dibandingkan dengan tc dish A. Pada *Harvest* hari ke-26 adalah proses panen 8 tc dish A di inkubasi di inkubator normoksia 37 °C dan kadar CO₂ 5%, Kelembaban > 95% dan 8 tc dish B di inkubasi di inkubator normoksia 37 °C dan kadar CO₂ 5%, Kelembaban < 80 %. Proses ini adalah tahapan akhir dari penelitian ini dimana jumlah sel yang dihasilkan dari kedua kondisi inkubasi bisa dihitung jumlah sel dan viabilitas

sel yang dikultur.

Pada tahap akhir penelitian ini dilakukan panen sel yang berjarak 4 hari dari proses penggantian media dengan tujuan mendapatkan hasil panen sel yang lebih banyak. Faktor pengenceran sel yang digunakan pada tc dish A adalah 1:10 dengan volume 2 ml, sedangkan untuk tc dish B menggunakan pengenceran sel 1:2 dengan volume 2 ml.

Tabel 5 Jumlah Sel, Viabilitas Sel Hasil Panen Sel SPM Pasase 9

No	Hasil kultur sel	Hasil tc dish A	Hasil tc dish B
1	Jumlah sel	$23,4 \times 10^6$ sel	$5,6 \times 10^6$ sel
2	Viabilitas sel	90,23%	81,13%

Berdasarkan tabel 5 diketahui bahwa jumlah sel yang didapatkan dari hasil panen sel untuk tc dish A adalah $23,4 \times 10^6$ sel dengan viabilitas sel 90,23% dan jumlah Tc dish B adalah $5,6 \times 10^6$ sel dengan viabilitas sel 81,13%. Hasil panen yang didapatkan tc dish A lebih besar dibandingkan dengan Tc dish B. Pemilihan media, penentuan angka densitas sel dan tehknik kultur mempengaruhi hasil akhir dari panen sel punca disamping kondisi kelembaban saat proses inkubasi.

Secara umum sel membutuhkan jumlah densitas tertentu untuk bisa tumbuh dengan baik, karena sel punca membutuhkan *cell signaling* dari sel-sel lainnya. Namun apabila sudah sampai ke densitas yang tinggi sel normal juga memiliki *Cell growth inhibition* yang memperlambat laju pertumbuhan sel karena tempat tumbuh sel yang semakin sedikit.

Hasil Perhitungan Total sel

Population doubling time (PDT) adalah waktu yang dibutuhkan sel untuk menggandakan diri. Perhitungan PDT biasa digunakan dalam perhitungan untuk melihat waktu yang diperlukan sel untuk tumbuh secara eksponensial. Penelitian ini menghasilkan PDT perhari 0,33, 0,34, 0,35, 0,43 (Tc dish A) dan 0,34, 0,40, 0,43, 0,54(Tc dish B) pada p6, p7, p8, p9 pada kofluensi $\pm 90\%$. Dalam penelitian sebelumnya oleh Dian median,. et al (2015) p6, p7 dan p8 memiliki PDT 1,73, 1,98, 1,61 pada kofluensi 30%. Penelitian lainnya terjadi penurunan nilai MSC-PDT dari $85 \pm 7,2$ jam (3,54 perhari). PDT pada p0 menggunakan media DMEM-10% FBS sampai mencapai koefluensi 100% dan jumlah sel dihitung berdasarkan selama fase log (Karahuseyinoglu et al., 2007).

Penelitian lain menggunakan media DMEM 10% FBS dalam kultur UCMSC pada p15 mendapatkan nilai mean $\pm$ SD pada PDT p1 sampai p15 adalah $3,1 \pm 0,4$ perhari. Penurunan laju proliferasi dan pertumbuhan sel terjadi dengan nilai CPD mean $\pm$ SD $33,7 \pm 2,1$ doublings selama masa kultur $160,9 \pm 6,9$ hari dari jumlah pasase $21,0 \pm 1,0$ (Scheers et al., 2013).

Suhu inkubasi ($\pm 37^\circ\text{C}$), kelembaban ($\pm 95\%$ RH) dengan atmosfer gas 5%(CO₂) di sekitar sel, secara tidak langsung berhubungan dengan pH media kultur dan sistem buffer bikarbonat. Parameter ini, idealnya harus konstan dan bukan sumber variasi eksperimental (Freshney et al., 1994) Namun, jika variasi terjadi, dapat menciptakan stres, dan sel akan bereaksi, tergantung pada jenis sel, sifat dan durasi stres, dan juga berbagai cara mulai dari aktivasi jalur bertahan hidup hingga inisiasi kematian sel.

Kelembaban ($>80\%$ RH) menyebabkan viabilitas sel TC dish berbeda dimana banyak sel yang mengalami apoptosis sehingga viabilitasnya menurun. Warna pH diukur dengan membandingkan sampel dengan standar indikator phenol red. Perubahan pH yang terjadi tidak

terlalu mempengaruhi kultur sel dalam penelitian ini. Dengan adanya dapar pada media mengakibatkan stabilitas pH tetap baik. PH yang dihasilkan masih dalam batas normal (7,0-7,4) yang biasa dilakukan dalam kultur sel (Mackenzie et al., 1961). Nilai PH rendah <6,8 akan menyebabkan pertumbuhan sel terganggu dan viabilitas sel turun (Otto et al., 2010). Pertumbuhan sel yang terhambat bukan akibat dari PH pada media, tetapi dari teknik inkubasi yang menggunakan metode dry incubation menyebabkan penurunan jumlah hasil kultur sel.

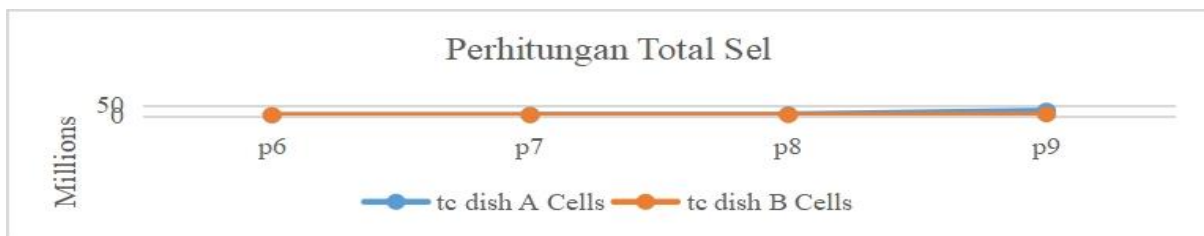
Osmolaritas pada penelitian ini tidak diukur karena keterbatasan pada penelitian ini. Namun, media yang berkurang pada saat inkubasi menandakan adanya evaporasi yang terjadi saat proses inkubasi kering dan tidak terjadi pada proses inkubasi dengan kelembaban tinggi. Stres hiperosmotik yang diinduksi oleh media >300 mOsm mengakibatkan adanya perubahan fisikokimia dari perubahan tekanan osmotik dalam sel yang menyebabkan penurunan viabilitas sel dan fungsionalitasnya (Karlsson et al., 1996). Adanya perubahan nilai osmolaritas diperkuat dengan banyaknya nekrosis dan viabilitas sel yang rendah pada Tc dish B.

Banyaknya variasi dalam penelitian bisa mempengaruhi dalam laju proliferasi sel, termasuk media, enzimatis harvest (contoh: TrypLE Select), waktu interval antara seeding dan pasase. (Osipova et al., 2011). Media kultur Penelitian ini menunjukkan hasil PDT yang lebih baik dari penelitian sebelumnya. Salah satu faktornya adalah media yang digunakan, Penelitian ini menggunakan HPL untuk kultur sel mesenkimal dimana diketahui HPL lebih baik dibandingkan FBS karena tidak berbasis hewani dan bersifat xenofree yang artinya minim rejeksi didalam tubuh dan non tumorgenik (Capelli et al., 2007). HPL CM mengandung 10% *human platelet lysate* dalam 500ml α -MEM (Chen et al., 2009) untuk meningkatkan laju proliferasi. Dalam keadaan kondisi kultur menggunakan inkubasi kering, pertumbuhan sel masih tetap terjadi walaupun mengalami penurunan jumlah sel yang dihasilkan.

Lingkungan lembab yang ditemukan di inkubator sangat ideal untuk proliferasi sel. Masalah yang sering dialami oleh setiap laboratorium kultur sel adalah kontaminasi kultur di inkubator oleh patogen udara melewati kamar melalui wadah dari air yang terdapat dalam inkubator (Potter et al., 2010). Dengan kelembaban yang tinggi mendapat hasil panen yang lebih baik dibandingkan dengan inkubasi kering. Akan tetapi potensi kontaminasi terjadi lebih besar dengan menggunakan teknik inkubasi kelembaban tinggi. Oleh karena itu proses kulturasi sel dilakukan dengan teknik aseptik dari segala aspek yang meliputi proses kultur ini.

Total Sel, Viabilitas dan Kelembaban Hasil Penelitian Tc Dish A dan B

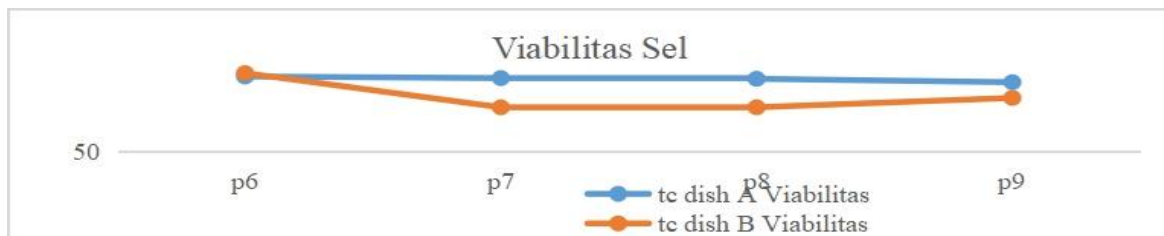
Gambar 1. Grafik Total Sel, Viabilitas dan Kelembaban Hasil Penelitian Tc Dish A dan B



keterangan:

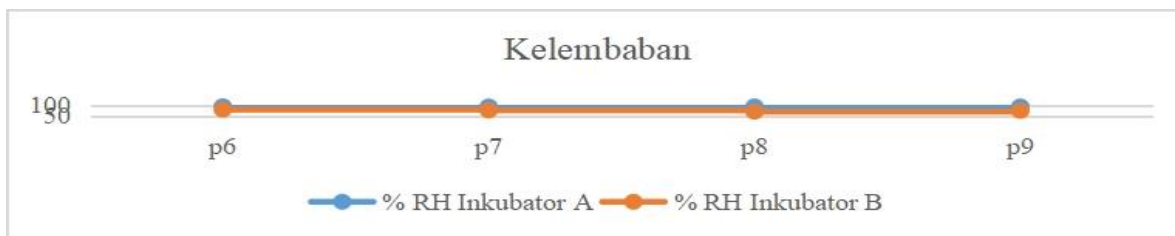
Pasase	Tc dish A Sel	Tc dish B Sel

p6	1.553.333	1.693.333
p7	3.550.000	1.420.000
p8	5.875.000	1.995.000
p9	23.366.667	5.560.000



Keterangan:

Pasase	Tc dish A Viabilitas	Tc dish B Viabilitas
p6	93,56 %	95,51 %
p7	92,62 %	75,66 %
p8	92,23 %	75,69 %
p9	90,23 %	81,13 %



Keterangan:

Pasase	% RH Inkubator A	% RH Inkubator B
p6	93,5	77,8
p7	92,8	74,5
p8	93,2	68,5
p9	93	72,3

Tc dish A menunjukkan peningkatan signifikan jumlah sel dari pasase ke pasase. Dimulai dari 1,55 juta (p6) hingga mencapai 23,36 juta (p9) pada saat panen sel. Tc dish B juga menunjukkan peningkatan, namun jauh lebih rendah dan tidak secepat Tc dish A. Diawali dengan 1,69 juta (p6) sampai 5,56 juta (p9) yang diperoleh saat panen sel. Pertumbuhan sel pada Tc dish A jauh lebih optimal dibandingkan dengan Tc dish B. Hal ini disebabkan oleh kondisi kelembaban inkubator yang optimal pada Tc dish A.

Viabilitas Sel Tc dish A menunjukkan viabilitas sel yang cukup stabil dan tinggi, sedikit menurun dari 93,56% (p6) ke 90,23% (p9). Tc dish B mengalami penurunan viabilitas tajam dari 95,51% (p6) ke 75,66% (p7 dan p8), lalu sedikit meningkat ke 81,13% (p9). Sel pada Tc dish A tidak hanya tumbuh dalam jumlah yang lebih besar, tapi juga tetap sehat (viabilitas tinggi). Sebaliknya, Tc dish B menghadapi stres lingkungan atau media yang kurang optimal, disebabkan oleh teknik inkubasi kering sehingga viabilitasnya menurun.

Kelembaban Inkubator A mempertahankan kelembaban yang cukup stabil dan tinggi sekitar 93% di semua pasase. Inkubator B memiliki kelembaban yang jauh lebih rendah dan fluktuatif, turun hingga 68,5% (p8), lalu naik lagi ke 72,3% (p9). Kondisi kelembaban pada penelitian ini sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan dan viabilitas sel. Inkubator A dengan kelembaban lebih stabil dan tinggi mendukung pertumbuhan dan kesehatan sel lebih baik dibandingkan Inkubator B.

Reservoir air di inkubator berfungsi menjaga kelembaban tinggi (RH ~90–95%), mencegah penguapan media kultur dan menstabilkan suhu dan gas (CO₂/O₂). Tanpa reservoir air menyebabkan RH turun drastis seperti yang terlihat pada data (p8: hanya 68,5% pada Inkubator B). Kondisi ini menyebabkan media lebih cepat menguap dan secara teoritis meningkatkan osmolaritas, menyebabkan stres osmotik pada sel, sehingga sel lebih cepat mengalami dehidrasi, kehilangan fungsi, bahkan kematian dini. Penghilangan reservoir air di Inkubator B merupakan penyebab utama penurunan viabilitas dan lambatnya pertumbuhan Tc dish B. Pada penelitian ini, kelembaban rendah (<70%) terbukti memperlambat proliferasi dan memperburuk kesehatan sel.

Pengaruh kelembaban Inkubator terhadap pertumbuhan dan viabilitas Sel pada penelitian ini menunjukkan hasil adanya perbedaan signifikan antara pertumbuhan dan viabilitas sel pada Tc dish A dan Tc dish B, yang dikulturkan dalam dua kondisi inkubasi berbeda. Tc dish A dikultur dalam inkubator dengan reservoir air aktif, sedangkan Tc dish B di inkubasi dalam inkubator tanpa sistem humidifikasi atau inkubasi kering. Berdasarkan data, kelembaban relatif (%RH) di Inkubator A berada pada rentang 92,8–93,5%, sementara Inkubator B hanya 68,5–77,8%. Perbedaan ini berkorelasi langsung dengan viabilitas sel viabilitas Tc dish A tetap stabil di atas 90% di seluruh pasase sedangkan Tc dish B mengalami penurunan viabilitas signifikan, dengan nilai terendah 75,66% pada pasase ke-7 dan ke-8.

Hal ini mengindikasikan bahwa kelembaban rendah berdampak negatif terhadap integritas membran sel, metabolisme, dan kelangsungan hidup sel. Seiring penguapan media yang lebih cepat di kelembaban rendah, osmolaritas meningkat, menyebabkan stres osmotik yang menghambat pertumbuhan dan meningkatkan kematian sel. Selain viabilitas, jumlah total sel juga menunjukkan perbedaan yang mencolok. Tc dish A mengalami pertumbuhan eksponensial dari 1,55 juta sel (p6) menjadi 23,36 juta sel (p9). Sebaliknya, Tc dish B hanya mencapai 5,56 juta sel pada p9.

KESIMPULAN

Kondisi kelembaban inkubator sel sangat mempengaruhi fisiologis kultur dan laju pertumbuhan sel punca mesenkimal. Pemilihan media yang digunakan, suhu, kelembaban, termasuk osmolaritas yang berubah karena kondisi pengaruh kelembaban metode inkubasi yang digunakan mempengaruhi hasil dari pertumbuhan sel punca yang di kultur. Teknik aseptis dalam

proses kultur menjadi salah satu aspek penting dalam penelitian ini. Dengan proses aseptis yang digunakan dalam metode ini, meminimalisir potensi kontaminasi pada saat proses kultur berlangsung

DAFTAR RUJUKAN

1. Liu X, Zhang Y, Wang L, Chen Y, Zhao H. Environmental humidity modulates mesenchymal stem cell metabolism and senescence in vitro. *Stem Cell Res Ther.* 2023;14(1):215.
2. Zhao H, Zhang Y, Wang L, Liu X, Chen Y. Humidity control enhances mesenchymal stem cell proliferation and maintains stemness via osmotic homeostasis. *Cell Biol Int.* 2021;45(7):1485–93.
3. Capelli C, Gotti E, Morigi M, Rota C, Weng L, Dazzi F, et al. Human platelet lysate as a substitute of fetal bovine serum for mesenchymal stem cell expansion: a safe and efficient approach. *Cytherapy.* 2007;9(5):498–505.
4. Liang H, Zhou S, Zhang C, Wang L, Xu H. Osmotic stress regulates mesenchymal stem cell proliferation and differentiation through the p38 MAPK pathway. *Front Cell Dev Biol.* 2020;8:585529.
5. Zhang H, Li W, Wu YH, Zhang S, Li J, Han L, et al. Effects of changes in osmolarity on biological activity of human nucleus pulposus mesenchymal stem cells. *Stem Cells Int.* 2022;2022:1121064.
6. Ando W, Hart DA, Tateishi K, Nakamura N, Yoshikawa H, Fujie H, et al. Cartilage repair using an in vitro generated scaffold-free tissue-engineered construct derived from porcine synovial mesenchymal stem cells. *Biomaterials.* 2007;28(36):5462–70.
7. de Sousa EB, Parisi JR, Nascimento IC, et al. Impact of oxygen tension on the biological properties of mesenchymal stem cells. *Stem Cell Rev Rep.* 2019;15(3):318–29.
8. Pattappa G, Heywood HK, de Bruijn JD, Lee DA. The metabolism of human mesenchymal stem cells during proliferation and differentiation. *J Cell Physiol.* 2011;226(10):2562–70.
9. Estrada JC, Torres Y, Benguría A, et al. Human mesenchymal stem cell-replicative senescence and oxidative stress are closely linked to aneuploidy. *Cell Death Dis.* 2013;4:e691.
10. Choi JR, Yong KW, Wan Safwani WKZ, et al. Effect of hypoxia on human mesenchymal stem cells and its potential clinical applications. *Cell Mol Life Sci.* 2017;74(14):2587–600.