

REVIEW ARTIKEL: STUDI PUSTAKA TENTANG PROSEDUR KULTUR SEL

Anisa Rosdiana, Yuni Elsa Hadisaputri

Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran
Jl. Raya Bandung Sumedang Km.21 Jatinangor, Jawa Barat. Indonesia 45363
anisarosdiana15@gmail.com

ABSTRAK

Kultur sel banyak dilakukan dalam penelitian tingkat *in vitro* yaitu untuk penelitian ekstrak atau senyawa obat baru. Kultur sel juga dapat dijadikan parameter diagnostik terjadinya kanker ataupun gangguan metabolisme dilihat dari biomarker yang dihasilkan oleh sel. Metode untuk kultur sel yaitu dengan proses yang kompleks sel line yang didapat dari bank sel ataupun hasil diisolasi dari jaringan atau organ secara *in vivo* ditumbuhkan dalam media pertumbuhan yang dikendalikan lingkungannya agar dapat tumbuh dengan optimum. Cara mengendalikan lingkungan pertumbuhan sel dalam media yaitu dengan penambahan *buffer*, antibiotik dan antijamur, pencucian sel dengan PBS, media ditambahkan FBS, sel diinkubasi dengan waktu yang telah ditentukan yaitu hingga sel mengalami fase logaritmik pada suhu 37°C yang merupakan suhu tubuh normal manusia dan dengan penambahan 5 % CO₂ untuk mendapat sel dengan jumlah tertentu maka harus diatur kepadatan media yang digunakan agar sel tidak berhimpit selain itu dilakuan sentrifugasi untuk memurnikan sel yang telah didapat. Sel yang banyak dikultur yaitu sel kanker maka diulas mengenai prosedur kultur sel kanker seperti sel kanker payudara, sel kanker serviks dan sel kanker paru – paru selain itu juga terdapat ulasan mengenai kultur sel normal ginjal dan adiposit.

Kata kunci : *Kultur, Sel, Kanker, Isolasi, Sel line.*

ABSTRACT

Cell culture performed in vitro level research is to study the extract or a new drug compounds. Cell culture can also be used as a diagnostic parameter of cancer or metabolic disorders seen from biomarkers produced by the cells. Methods for cell culture is the complex process cell line derived from a cell bank or the results isolated from tissue or organ in vivo grown in growth media controlled environment that can grow with optimum. How to control the growing environment of the cells in a medium that is with the addition of buffer, antibiotics and antifungals, washing the cells with PBS, media added FBS, the cells were incubated with a predetermined time, namely until the cells undergo logarithmic phase at a temperature of 37⁰ C which is the normal body temperature of humans and the Extra 5% CO₂ to obtain a cell with a certain amount then it should be set density medium used for the cells does not coincide besides dilakuan centrifuges to purify cells that have been obtained. Cells that many cancer cells are then cultured for reviews regarding cancer cell culture procedures such as breast cancer cells, cervical cancer cells and lung cancer cells - the lungs but it also contained a review of normal kidney cell cultures and adipocytes.

Keywords: *Culture, Cell, Cancer, Isolation, Cell line.*

Pendahuluan

Sel kultur (*cell line*) adalah sel yang dapat berproliferasi pada media kultur secara *in vitro*. Sel kultur dapat diambil dari jaringan asal ataupun memperbanyak sel yang sudah ada. Dalam penelitian tingkat *in vitro* banyak digunakan sel-sel kultur, seperti penelitian dalam uji senyawa atau ekstrak obat baru, dilakukan penelitian tingkat seluler, Sel kultur juga disebut *continous cell line*. *Continous cell line* sering dipakai dalam penelitian kanker secara *in vitro* karena mudah penangannya, memiliki kemampuan replikasi yang tidak terbatas, homogenitas yang tinggi serta mudah diganti dengan *frozen stock* jika terjadi kontaminasi^[1].

Kultur sel dilakukan dengan proses yang kompleks yaitu pertama dilakukan isolasi sel dari jaringan atau organ alami (*in vivo*) kemudian dilakukan pertumbuhan dalam kondisi buatan yang lingkungannya dikendalikan (*in vitro*). Sel dan jaringan atau organ tertentu yang dibudidayakan jangka pendek dari sel line yang kemudian digunakan untuk penelitian dan diagnosis^[2].

Kultur sel metabolik dapat digunakan untuk mengidentifikasi biomarker dari kondisi patologis dilihat dari jalur metabolisme sel yang akan menghasilkan biomarker. Metabolit dapat dijadikan parameter dalam diagnosis, kekambuhan dan prognosis kanker dengan cara mengidentifikasi biomarker kanker

yang baru. Jika terjadi perubahan meskipun sedikit pada metabolisme sel akan terdeteksi karena adanya produk dari proses seluler yang mengakibatkan perkembangan prognostik kanker yang akhirnya digunakan untuk deteksi dini kanker^{[3][4]}.

Sel kanker dapat dibedakan dengan sel normal, antar lain: sel kanker tidak mempunyai kontrol pertumbuhan, bersifat invasif yaitu dapat mendesak sel lain disuatu jaringan kemudian akan bermetastasis yaitu berpindah ke jaringan lain melalui pembuluh darah^[5].

Media yang banyak digunakan untuk transport dan media pertumbuhan sel adalah *Dulbecco's Modified Eagle Medium* (DMEM), atau *Roswell Park Memorial Institute* (RPMI). Medium ini ditambahkan penisilin, streptomisin dan *fetal bovine serum* (FBS) atau *fetal calf serum* (FCS)^[6]. Untuk kebanyakan sel line dibutuhkan jumlah atau kepadatan sel pada pertumbuhan karena sel perlu bergabung satu sama lain dengan koloninya untuk bertahan hidup atau tumbuh^{[7][8]}. Maka dibutuhkan pengetahuan mengenai berbagai penanganan dan metode yang berbeda dalam kultur sel.

Metode

Sumber data diperoleh dengan metode studi pustaka dari jurnal internasional mengenai kultur sel dari *US National Library of Medicine National Institutes of Health PubMed* website.

Pencarian dilakukan dengan menggunakan kata kunci *Culture cell*, *Culture cancer cell*, *Culture normal cell*, *Breast cancer culture cell*, *HeLa Culture cell*. lalu diambil bagian prosedur dari setiap metode kultur sel, yaitu berupa pengkondisian sel pada inkubator, penambahan CO₂, media dan *buffer* yang digunakan serta perlakuan khusus terhadap beberapa jenis sel. Pustaka yang diambil dipilih berdasarkan beberapa kriteria inklusi yaitu : Merupakan jurnal internasional yang diterbitkan 10 tahun terakhir yaitu dari tahun 2006, jurnal

berisi kultur sel manusia, kultur sel diutamakan untuk sel normal dan sel kanker dan bukan merupakan stem sel. Maka dengan kriteria tersebut ada beberapa jurnal yang dieklusi karena tidak memenuhi kriteria yang digunakan. Terdapat 30 jurnal yang didapat Inklusi: 9 dan Eksklusi: 21, namun selain jurnal utama yang masuk kriteria inklusi terdapat beberapa jurnal lain dan juga sumber buku yang digunakan untuk pustaka pada pendahuluan.

Hasil

No.	Sel	Reagen yang perlu disiapkan	Prosedur
1.	<i>Hela cervical cancer cell line, A549 and H1650 non-small cell lung cancer cell lines, HCT116 colorectal</i>	Bahan : Medium RPMI-1640 dengan 5% <i>fetal bovine serum</i> dan streptomycin, PBS. Alat : Falcon tube 15 ml, Inkubator	Membangunkan sel 1. Sel yang merupakan stok dari ATCC diambil. 2. Masukkan ke dalam disk dengan medium RPMI-1640 dengan 5% fetal bovine serum dan streptomycin 3. Sel dikultur dalam <i>Water-jacket incubator</i> dengan suhu 37°C dilihat stabilitas suhu dengan thermometer , Inkubator disuplai dengan 5 %

	<i>cancer cell line</i>		<p>CO₂</p> <ol style="list-style-type: none"> 4. Medium diganti setiap 3-4 hari atau bila warnanya berubah agak kuning (Selama penggantian media kultur disk dikeluarkan dari inkubator secara cepat agar waktu medium pada suhu ruang lebih sedikit) 5. Medium segar yang digunakan dalam keadaan hangat disesuaikan dengan suhu inkubator 6. Sel pada fase logaritmik dipanen dimasukan ke dalam 96 – well plate dengan kepadatan 2×10^3 per well^[9].
2.	<i>Lung Cancer cell</i>	RPMI-1640, 100 u/mL Penisilin dan 100 µg/mL Streptomycin, PBS	<ol style="list-style-type: none"> 1. Sel berasal dari specimen bedah (6kasus) : 4 laki – laki dan 2 Perempuan 2. Sel kanker paru – paru yang diresekresi dalam ukuran 1.0 cm³ ditempatkan dalam Ice-cold RPMI-1640 3. Ditambah 100 u/mL Penisilin dan 100 µg/mL Streptomycin 4. Setelah removal pembekuan darah sampel dibilas dengan PBS (<i>Phosfat Buffer Saline</i>) sebanyak dua kali 5. Potong menjadi fragmen ukuran 1 mm³ kemudian inkubasi dengan kolagenase dalam <i>gently shaking water bath</i> selama 1 jam suhu 37° C. 6. Sentrifugasi pada kecepatan 3000 x 10 menit

			<ol style="list-style-type: none"> 7. Pelet diencerkan sampai 5×10^5 sel/ mL diikubasi pada botol kultur dengan media RPMI-1640 (Roswell Park Memorial Institute) yang mengandung PBS pada suhu 37°C dan 5 % CO_2 8. Setelah dikultur selama 24 jam medium pertama diganti dipindahkan ke 6- well plate Pre-Placed dengan coverslips 9. Sel difiksasi dalam 4 % Polyformain selama 30 menit lalu dicuci dengan buffer PBS 3 kali [10].
<p>3.</p>	<p><i>Pancreatic cell line</i> <i>Capan 1 dan Paca- 3</i></p>	<p>RPMI, FBS, Kolagen tipe 1, Formal saline</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Masukkan satu ml dari campuran 5,25 volume kolagen tipe I ditambah 1,75 dari Matrigel, 1 volume 10 Roswell Park Memorial Institut (RPMI) sedang, 1 volume FBS, dan 1 volume suspensi sel stroma (5×10^5 MRC-5 atau PS-1 sel) kedalam well terdapat 24-well yang dilapisi dengan kolagen tipe I yang telah diencerkan (1: 100 di PBS) 0,7 2. Hari berikutnya, medium diambil dan 5×10^5 sel kanker, atau spheroids (diambil bagian yang mengendap di es) 3. Disuspensikan dalam 1 ml radio-immunoprecipitation media uji ditambahkan di atas gel, medium diganti jika dibutuhkan. 4. Lalu gel dipanen setelah 7 hari kultur, tetapkan pada 10% formal

			saline ^[11] .
4.	<i>Renal cell</i>	Medium DMEM, Penisilin-streptomisin, <i>Fetal Calf Serum</i>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Sel ginjal yang digunakan berasal dari tumor autologous dan specimen jaringan korteks ginjal setelah operasi 2. Dikumpulkan pada medium DMEM LG medium dingin yang mengandung 1 % penisilin / streptomisin , 1 % amfoterisin ,1 % glutamin , dan 10 % <i>fetal calf serum</i> (Medium kultur) disimpan pada suhu 4 ° C sampai pengolahan (dalam waktu 24 jam). 3. Jaringan , normal atau neoplastik , dicuci dua kali dalam PBS pH 7,2 pada 4 ° C 4. Potong menjadi fragmen 1 mm³ dalam cawan petri . Fragmen kecil kemudian diinkubasi selama 2 jam pada suhu 37 ° C dengan DMEM - F12 dan 1,25 mg / ml Jenis Kolagenase IV (Sigma Aldrich , St. Louis , MO) 5. Divortex setiap 15 menit untuk mendapatkan enzimatik disagregasi Sampel kemudian dicuci tiga kali di PBS pada suhu 4 ° C 6. Diplate di 10 - cm cawan petri medium kultur inkubasi pada 37 ° C dan 5 % CO₂ 7. Setelah 24 jam sel dicuci dengan PBS pada 37 ° C untuk menghilangkan eritrosit ,

			<p>granulosit , dan apoptosis dan sel nekrotik , dan medium kemudian diganti</p> <p>8. Hasil sel trypsinized yang konfluen 90 % dicek morfologinya dengan mikroskop^[12].</p>
5.	Cell breast <i>epithelial</i>	Medium Thaw EHS	<ol style="list-style-type: none"> 1. Kultur sel pada medium <i>Thaw EHS</i> pada suhu 4 ° C semalam 2. Permukaan kultur dilapisi dengan lapisan tipis EHS secara merata Inkubasi selama 15-30 menit pada 37 ° C untuk memungkinkan EHS untuk gel (tapi jangan biarkan terlalu kering) 3. Sel Trypsinize dari monolayer untuk suspensi sel tunggal. Gunakan sel-sel yang sehat dan tidak lebih dari 75% konfluen. 4. Sel Aliquot akan berlapis ke dalam tabung 1,5 ml <i>microcentrifuge</i>. 5. Untuk melakukan tes respon obat di kultur 7,10,11 3D 6. Sel disentifugasi kemudian diresuspensi ke dalam volume yang sesuai EHS jumlah sel sesuai dari sifat sel line, rentang yang disarankan : Sel nonmalignant , $0,85 \times 10^6$ sel / ml; untuk sel-sel ganas, $0,50-0,60 \times 10^6$ sel / ml. 7. Pipet campuran sel dan EHS ke permukaan precoated. Inkubasi 30 menit pada 37 ° C untuk memungkinkan EHS membentuk gel.

			8. Menjaga kultur sel untuk 10 hari, mengubah media setiap 2 hari ^[13] .
6.	<i>Lung cell line</i>	RPMI 1640, Fetal Calf Serum.	<ol style="list-style-type: none"> 1. Sel line paru-paru adenokarsinoma NCI - H460 diperoleh dari ATCC 2. Sel dikultur pada medium RPMI 1640 dengan 10 % (v/v) fetal calf serum (Gibco/Life Technologies, Carlsbad) lalu diinkubasi pada suhu 37 ° C dan 5% CO₂ 3. Lakukan perlakuan dengan penambahan suplementasi dan pengobatan sebelum radiasi^[14]. (Fetal calf serum merupakan serum dari janin kambing bisa juga digunakan FBS <i>Fetal Bovine serum</i> dari janin sapi).
7.	<i>Normal Renal Cell</i>	Kolagen, Medium RPMI 1640	<ol style="list-style-type: none"> 1. Benih sel diisolasi pada 75 cm² kultur flask yang dilapisi kolagen dengan kepadatan 56.104 sel / cm² kemudian dilembabkan atmosfer 95 % udara / 5 % CO₂ di 37⁰C . (Catatan: RPMI 1640 medium dengan suplemen dapat digunakan sebagai alternatif untuk tumbuh HRTC 2. Mengubah media 24 jam setelah pembibitan awal dan pada 48 jam interval sesudahnya . 3. Biarkan sel untuk tumbuh sampai 80 % sebelum subkultur atau beku. 4. Kultur tersebut dilakukan selama 10-13 hari setelah pembibitan hingga dilakukan panen sel^[15].
8.	<i>Primary skin</i>	Medium DMEM, FBS,	1. <i>Primary skin fibroblasts CRL2097</i>

	<p><i>fibroblasts</i> <i>CRL2097</i> <i>and BJ</i> <i>(neonatal</i> <i>foreskin</i></p>	<p>MEM Asam amino non esensial, Hepes, Marcaptoethanol</p>	<p><i>and BJ (neonatal foreskin</i> yang didapat dari ATCC dikultur dalam medium DMEM (10313-021) yang mengandung 10 % FBS (10439-024) , 1X MEM Asam amino non esensial (11140-050) , 1X Glutamax (35050-061) , 10 mM Hepes (15630-080) dan 0.11mM 2 Mercaptoethanol (21985-023)</p> <ol style="list-style-type: none"> 2. Dinkubasi lalu kultur trypsinized dan dipanen dari 6 plate 3. Sel-sel dicuci dan diresuspensi dalam FACS buffer (PBS , 2 mM EDTA , 2 mM HEPES , 1 % FBS) <p>[16].</p>
<p>9.</p>	<p><i>Adipocyte cell</i></p>	<p>Saline 0,9 % , Fosfat Buffered Saline (PBS) solusi atau Medium 199 (M199) (Gibco) dengan glutamin pada suhu kamar (RT) . Jika digunakan untuk kultur sel atau organ , menambahkan penisilin (100 U / l) , streptomisin (100 ug / ml) , dan gentamisin (50 ug / ml) ke media transportasi .</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Adiposit hasil isolasi disuspensi dalam media kultur ditambahkan antibiotik 2. Lalu adiposit diresuspensi ~ 10 % (yaitu 1 ml sel dikemas dalam media kultur 10 - ml) FBS atau BSA dapat digunakan untuk kultur sel lemak yang terisolasi untuk menangkap asam lemak bebas yang dilepaskan selama kultur 3. Mendistribusikan suspensi adiposit ke kultur disk atau tabung 50 – cc (harus longgar dibatasi selama budaya). Adiposit matang mengapung dengan mudah dan lembut berputar-putar diperlukan selama proses pemisah untuk mendapatkan jumlah yang sama dari sel per disk atau tabung . 4. Tempatkan tabung atau disk di

			inkubator kultur sel . 5. Media diganti setelah 24 jam pertama ^[17] .
--	--	--	---

Pembahasan

Kultur sel dilakukan untuk memperbanyak sel, sel yang digunakan dalam kultur sel biasanya merupakan sel line yang didapat dari bank sel seperti ATCC dapat juga sel dari tubuh manusia langsung yaitu didapat setelah isolasi contohnya dari tumor sel, specimen dari bagian tubuh yang diambil dengan cara swab. Sel yang dikultur tersebut digunakan untuk melihat hasil jika dilakukan intervensi misalnya dengan suatu obat baru, perlakuan khusus seperti suhu inkubasi ataupun hanya ingin melihat bagaimana morfologi, tingkat pertumbuhan dan ekspresi gen dari sel yang dikultur tersebut.

Proses dari kultur sel hampir sama untuk setiap sel yaitu sel dikultur dalam medium yang ditempatkan pada cawan petri , ditambahkan *buffer*, antibiotik, antijamur, FBS , lalu diinkubasi pada suhu optimum sel tumbuh dengan penambahan 5% CO₂ setelah itu lakukan inkubasi hingga didapat sel dengan kepadatan tertentu yang telah ditetapkan waktu panen sel dan pergantian medium selama inkubasi sebelum sel dipanen kemudian sentrifugasi untuk mendapat pellet sel.

1. Medium

Prosedur yang pertama dilakukan yaitu sel disimpan dalam medium berupa tempat hidup sel secara *in vitro* biasanya ditempatkan dalam cawan petri, medium ini berisi nutrisi untuk sel agar dapat hidup, tumbuh dan memperbanyak diri. Medium yang banyak digunakan untuk transport dan media pertumbuhan sel adalah *Dulbecco's Modified Eagle Medium* (DMEM), atau *Roswell Park Memorial Institute* (RPMI). Medium ini ditambahkan penisilin, streptomisin dan *fetal bovine serum* (FBS) atau *fetal calf serum* (FCS)^[6].

Medium kultur yang digunakan untuk kultur jaringan beragam. Terdapat medium kultur yang mengandung seluruh komponen secara lengkap dalam bentuk bubuk dan siap pakai. Macam medium diberi nama sesuai dengan pembuat medium dan larutan garam seimbang yang digunakan. Medium merupakan campuran nutrisi, serum, antibiotik, hormon, dan faktor tumbuh yang digunakan dalam kultur sel secara *in vitro*. Medium kultur sel sangat beragam dengan fungsi spesifik masing-masing. Beberapa contoh medium di antaranya *Minimal Essential Medium* (MEM), *Dulbecco's Modified Eagle's Medium* (DMEM), *Hams Nutrient*

Mitres F10 dan F12, *Molecular Cellular Developmental Biology* (MCDB), F12 CDME, dan Leibovitz L-15^[18].

2. Buffer

Pada sebagian sel diperlukan pH khusus untuk tumbuh, pH yang digunakan biasanya pada rentang 7-8 karena pH dalam tubuh manusia ada pada rentang tersebut, *buffer* yang digunakan misalnya PBS (*Phosfat Buffer Saline*) *Buffer* membantu untuk mempertahankan konstan pH. Osmolaritas dan konsentrasi ion solusi yang isotonik yaitu sesuai dengan tubuh manusia. Mekanisme *buffer* mempertahankan osmolaritas sel karena Garam mengandung ion, yang menyeimbangkan jumlah ion garam di dalam sel. Jika sel yang tenggelam ke dalam solusi yang memiliki terlalu banyak garam ion, air akan bocor keluar dari sel, menyebabkan sel menyusut.

PBS yang digunakan dalam kultur sel ini tidak mengandung gula atau bikarbonat, sehingga dapat disterilisasi dengan cara autoklaf. Cara yang dilakukan adalah dengan menempatkan larutan PBS ke dalam botol tahan panas, ditutup dan disegel, kemudian diautoklaf selama 20 menit dengan suhu 121°C dengan tekanan 100 kpa ^[6]. Untuk cara penyimpanan PBS dapat disimpan pada suhu kamar, tetapi dapat menjamin pendinginan untuk mencegah pertumbuhan bakteri jika solusi yang tidak steril dan disimpan untuk jangka waktu yang lama. Disimpan pada

suhu ruang (15-30°C). Namun apabila penyimpanan menggunakan suhu 4°C, PBS yang digunakan menjadi lebih tahan lama^[6].

3. Antibiotik dan Antijamur

Kultur sel harus dengan keadaan aseptik maka penambahan antibiotik dan antijamur pada medium kultur sel diperlukan yaitu untuk menghindari adanya bakteri ataupun jamur yang dapat tumbuh pada medium sehingga yang tumbuh hanya sel yang kita inginkan yaitu sel dari sel line. Antibiotik ada dua jenis yaitu bakteristatik dan bakterisida begitu pula antijamur ada fungistatik dan fungisida. Selain itu untuk penelitian pada ekstrak atau senyawa obat baru maka pada tahapan akan ada penambahan ekstrak atau obat baru dengan konsentrasi tertentu kemudian hasilnya dilihat parameter sel tersebut dan dibandingkan dengan pertumbuhan pada kultur sel kontrol yaitu kultur sel tanpa intervensi penambahan senyawa lain yang biasa digunakan yaitu penisilin streptomisin.

4. FBS

FBS (*Fetal bovine serum*) yaitu merupakan media kultur penambahan FBS ini bertujuan untuk meningkatkan pertumbuhan sel line yang ditumbuhkan karena berasal dari janin sapi maka proliferasi sel nya sangat cepat dibandingkan sel lain. Maka sel yang dikultur dengan penambahan FBS akan mengalami proliferasi sel yang cepat pula

maka waktu inkubasi akan lebih singkat hingga didapat sel pada jumlah tertentu yang dipanen saat fase logaritmik dapat pula digunakan Fetal calf serum yang merupakan serum dari janin kambing yang memiliki kandungan hampir sama dengan FBS.

Dalam kultur sel diperlukan medium kultur yang biasanya dikombinasikan dengan *Fetal Bovine Serum* (FBS), yaitu suatu serum (darah tanpa sel dan faktor penggumpal/pembeku). FBS berisi berbagai substansi yang dibutuhkan sel yang dikultur untuk tumbuh dan hidup dengan baik. FBS merupakan serum yang digunakan secara luas dalam kultur sel, jaringan, ataupun organ secara invitro, karena dapat digunakan hampir di semua jenis sel serta karena mengandung banyak faktor pendukung pertumbuhan dan metabolisme embrionik^[19].

5. Sentrifugasi

Proses sentrifugasi dilakukan untuk memurnikan sel yang kita inginkan. Pemisahan sentrifugal menggunakan prinsip dimana objek diputar secara horizontal pada jarak tertentu. Apabila objek berotasi di dalam tabung atau silinder yang berisi campuran cairan dan partikel, maka campuran tersebut dapat bergerak menuju pusat rotasi, namun hal tersebut tidak terjadi karena adanya gaya yang berlawanan yang menuju kearah dinding luar silinder atau tabung, gaya

tersebut adalah gaya sentrifugasi. Gaya inilah yang menyebabkan partikel-partikel menuju dinding tabung dan terakumulasi membentuk endapan^[20].

Dalam bentuk yang sangat sederhana sentrifus terdiri atas sebuah rotor dengan lubang-lubang untuk meletakkan cairan wadah/tabung yang berisi cairan dan sebuah motor atau alat lain yang dapat memutar rotor pada kecepatan yang dikehendaki. Semua bagian lain yang terdapat pada sentrifus modern saat ini hanyalah perlengkapan yang dimaksudkan untuk melakukan berbagai fungsi yang berguna dan mempertahankan kondisi lingkungan saat rotor tersebut bekerja^[21].

6. Inkubasi

Pada setiap prosedur kultur sel suhu inkubasi yang digunakan adalah 37°C karena suhu tersebut merupakan suhu normal pada tubuh manusia dan dengan 5% CO₂ juga sesuai dengan CO₂ yang diperlukan untuk sel agar dapat mengubah makanan dari medium menjadi energi sehingga sel dapat tumbuh dan memperbanyak diri. Namun pada beberapa jurnal dilakukan inkubasi pada suhu lebih tinggi yaitu 39°C hal ini dilakukan untuk melihat perbandingan pertumbuhan sel kanker pada suhu normal dan pada suhu tinggi dan hasil yang didapat pada suhu tinggi sel kanker pertumbuhannya sedikit terhambat hal ini bisa dijadikan acuan untuk melakukan pengobatan pada sel

kanker agar dapat menekan proliferasi sel yang sangat cepat.

7. Panen sel

Tahapan terakhir dalam kultur sel yaitu hasil kultur dipanen dengan jumlah tertentu biasanya 2 minggu setelah pembibitan sesuai dengan sel yang dikultur karena setiap sel memiliki pertumbuhan yang berbeda – beda. Sel yang telah dihasilkan lalu di dianalisis ulang morfologi, dan ekspresi gennya.

Kesimpulan

Dalam penelitian tingkat in vitro banyak digunakan sel-sel kultur, seperti penelitian dalam uji senyawa atau ekstrak obat baru. Proses dari kultur sel hampir sama untuk setiap sel yaitu sel dikultur dalam medium yang ditempatkan pada cawan petri atau botol kultur dengan penambahan *buffer*, antibiotik, antijamur, FBS , lalu diinkubasi pada suhu optimum sel tumbuh dengan penambahan 5% CO₂ setelah itu lakukan inkubasi hingga didapat sel dengan kepadatan tertentu yang telah ditetapkan waktu panen sel dan pergantian medium selama inkubasi sebelum sel dipanen kemudian sentrifugasi untuk memurnikan sel namun yang berbeda adalah medium dan zat tambahan lain yang digunakan serta waktu inkubasi dari kultur sel hingga sel dipanen.

Konflik kepentingan

Seluruh penulis menyatakan tidak terdapat potensi konflik kepentingan

dengan penelitian, kepenulisan (*authorship*), dan atau publikasi artikel ini.

Daftar Pustaka

1. Jurdall, E.S., Hanby M.A., Landsdown, R.J.M., and Speirs, V., *Breast Cancer Cell Line*, *Breast Cancer Res.*, 2003: 5(2): 89-95
2. Hudu, S.A., Ahmed S.A., Ahmad Syahida., Zamberi S., *Cell Culture, Technology : Enhancing the Culture of Diagnosing Human Diseases*. *Jurnal of Clinical and Diagnostic Research*. 2016:10(3)
3. Zhao W-D, Chen J, LIU F-G, Wang M, LI J-M. *Poster Abstracts–Liver*. *Chinese Journal of Digestive Diseases*. 2005;6:A31-A51.
4. Beebe K, *Employing metabolomics in cell culture and bioprocessing to gain greater predictability, control and quality*. *Annual Meeting and Exhibition*. 2014
5. Mulyadi. *Kanker : Karsinogen dan Antikanker*, Yogyakarta, Tiara Wacana Yogya, 1997,96-98.
6. Freshney RI. *Culture of animal cells: a manual of basic tehniqeu*. 5th ed. Willeyand Son, Inc; 2005.
7. Axelrod R, Axelrod DE, Pienta KJE. *Volution of cooperation among tumor cells*. *Proc Natl AcadSci U S A*. 2006: 103.13474–13479
8. Korolev KS, Xavier JB, Gore J. *Turning ecology and evolution against cancer*. *Nat Rev Cancer*. 2014;14.371–380.
9. Zhu Shengming., Jiangang Wang., Bingkun Xie., Zhiguo Luo., Xiukun Lin., D Joshua Liao. *Culture at a higher temperature mildly inhibits cancer cell growth but enhances cemotherapeutic effects by inhibiting cell-cell collaboration*. *Plos One*. *Journal pone*. 2015;10.1371
10. Si, Lian lian., Lu Lv., Wen-Hui Zhou., Wei-Dong Hu. *Establishment and identification of human primary lung cancer cell culture in vitro*. *Int J Clin Exp Pathol* 2015;8(6):6540-6546.
11. Froeling, F.E.M., Tariq A.M., Roger M.F., Angela S., George E., Ian

- R.H.,Hemant M.K.Organotypic culture model of pancreatic cancer demonstrates that stromal cells modulate E-Cadherin, β -Catenin and ezrin expression in tumor cells. *The American Journal of Pathology*.2009: 175(2)
12. Bianchi,C., Silvia B.,Francesca R., Barbara T.,Valentina A.,Stefano F, dkk.Primary cell culture from human renal cortex and renal cell carcinoma evidence a differential expression of two spliced isoform of annexin A3.*The American Journal of Pathology*.2010:176(4)
 13. Lee G,Y.,Paraic A.K.,Eva H.L.,Mina J.B. Three dimensional culture of normal and malignant breast epithelial cells. Author manuscript; available in PMC.2010.
 14. Matschke J., Elisa W., Sebastian H.,Justin R.,Verena J.Role of SGK1 for fatty acid uptake, cell survival and radioresistance of NCI-H460 lung cancer cells exposed to acute or chronic cycling severe hypoxia. *Radiation Oncology*.2016.11(75).
 15. Valente, M.J., Rui H., Vera L.C., Carmen J., Felix C., Maria L.dkk. A rapid and simple procedur for establishment of human normal and cancer renal primary cell cultures from surgical specimens.2011:6(5)
 16. Lin, T., Rajesh, A., Xu yuan.,Wenlin Li.,Simon H.,Ramzey A.,Xiangyi Lin. A chemical platform for improved induction of human iPS cells. Author manuscript; available in PMC.2013:6(11).
 17. Carswell K.A., Mi-Jeong Lee., Susan K.F. Culture of isolated human adipocytes and isolation adipose tissue. Author manuscript; available in PMC.2015.
 18. Marther, Jennie P., dan Roberts, E. Penelope. *Introduction to Cell and Tissue Culture: Theory and Technique*. New York: Plenum Press.1998.
 19. Jochems,Carlo. Fetal Bovine Serum: Are Cell Cultures Cruelty Free. diakses di:<http://www.all-creatures.org/clct/ar-fetal.html>. 2009.
 20. Zulfikar. *Kimia Kesehatan*. Jilid 3. Jakarta : Departemen Pendidikan Nasional.2008.
 21. Hendra A.Teknik Pemisahan dalam Analisis Biologis. Bogor : IPB Press.1989.