

## **REVIEW ARTIKEL: MEDIA YANG DIGUNAKAN PADA KULTUR SEL**

**Hasna Nur Syahidah, Yuni Elsa Hadisaputri**

Fakultas Farmasi Universitas padjadjaran  
Jl. Raya Bandung Sumedang Km 21 Jatinangor 45363, Telp/Fax. (022) 779 6200  
<sup>1</sup>hasnans20@gmail.com

### **ABSTRAK**

Kultur sel adalah suatu proses menumbuhkan suatu sel atau jaringan pada keadaan yang terkontrol. Perkembangan dalam teknologi kultur sel berkembang pesat seiring berkembangnya dalam pembuatan media yang merupakan komponen penting dalam kultur sel. Sel-sel tersebut adalah sel line CCA HuCCT-1, sel HaCat, sel line Hep-2, sel HepG2/C3A, sel line epitel, sel karsinoma hepatoselular manusia, HepG2, dan sel epitel alveolar manusia tipe II, dua model sel ER+/Her2+, BT474 dan MDA-MB361, sel line MH-S makrofag murin alveolar, sel MRC-5 (fibroblast paru-paru), sel HCC (sel adenokarsinoma paru-paru), makrofag, tiga sel line kanker pancreas (HPAF-II, HPAC, dan PL45), makrofag murin, mikroglia primer, dan sel B92. Dengan media yang digunakan diantaranya adalah EMEM (Eagle's Minimum Essential Medium), DMEM (*Dulbecco's Modified Eagle's Medium*), RPMI-1640 (Roswell Park Memorial Institute), DMEM/F12, dan *Ham's F12-K Medium*. Dengan adanya penambahan antibiotik/antimikotik untuk mencegah kontaminasi, asam amino dan serum.

**Kata kunci:** media, kultur, sel.

### **ABSTRACT**

*Cell culture is a process to growth a cell or tissue in a controlled condition. Development in a cell culture technology is very rapid that associated with development of made a medium that an important things in cell culture. Method of this review article is taken and adapted reference of scientific journal that associated with cell culture via pubmed. The cells are CCA HuCCT-1 line cell, HaCat cell, Hep-2 line cell, HepG2/C3A cell, epithelial line cell, human carcinoma hepatocellular cell, HepG2, human epithelial alveolar cell type II, two model ER+/Her2+ cell, BT474 and MDAMB361, MH-S murine macrophage alveolar line cell, MRC-5 cell (lung fibroblast), HCC cell (lung adenocarcinoma cell), macrophage, three pancreas cancer line cell (HPAF-II, HPAC, and PL45), murine macrophage, primary microglia, and B92 cell. With the medium is used are EMEM (Eagle's Minimum Essential Medium), DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium), RPMI-1640 (Roswell Park Memorial Institute), DMEM/F12, and Ham's F12-K Medium. And added with antibiotic/antimicotic for prevent contamination, amino acid and serum.*

**Keywords:** medium, culture, cell.

## PENDAHULUAN

Kultur sel telah ditandai sebagai perubahan mayor dalam penelitian sejak dekade terakhir karena fleksibilitas studi dan uji coba lapangan yang mereka terapkan. Sejarah teknik ini berawal dari akhir abad sembilan belas ketika Wilhelm Roux berhasil mempertahankan sel hidup di pelat saraf yang berasal dari embrio ayam dalam buffer salin selama beberapa hari (Rodriguez-Hernandez, *et al.*, 2014).

Pada tahun 1907, Ross Granville Harrison melakukan kultur sel saraf dan mengawasi perkembangan serat-serat syaraf. Pada tahun 1910, Montrose Burrows mengadaptasi metode *hanging drop* pada jaringan darah panas yaitu digunakan bekuan plasma ayam sebagai pengganti getah bening. Kemudian bersama-sama dengan Alexis Carrel, mereka mengkultur embrionik dan jaringan dewasa anjing, kucing, ayam, tikus dan babi, menggunakan plasma segar yang berasal dari sumber yang sama yaitu

jaringan yang dikultur (Rodriguez-Hernandez, *et al.*, 2014).

Bagaimanapun, di awal 1940, kultur sel berkembang dengan desain dan perkembangan media kultur sintetis untuk sel hewan dan tumbuhan. Earle memperoleh sel line pertama yang ditetapkan, yang mengandung fibroblast yang disesuaikan dengan pertumbuhan di media kultur. Pada tahun 1956, kelompok Earle mengembangkan media bebas protein untuk sel L, dan Eagle mengembangkan Medium Esensial dan *Dulbecco's Modified Eagle's Medium* dengan penambahan asam amino esensial dan non-esensial (Rodriguez-Hernandez, *et al.*, 2014).

Berikut fitur-fitur yang penting dalam medium kultur untuk pertumbuhan dan pemeliharaan sel-sel hewan:

- a. Substrat. Substrat harus memungkinkan terjadinya adhesi dan proliferasi sel dengan baik. Pada umumnya, substrat yang sering digunakan adalah kaca dan plastik

- untuk karakteristik optik (Freshney, 2008).
- b. Oksigen. Umumnya banyak sel yang membutuhkan untuk respirasi *in vivo*, walaupun beberapa sel bisa anaerobik. Oksigen tetap dibutuhkan walau dengan konsentrasi yang bervariasi bergantung pada jenis kulturnya (Freshney, 2008).
- c. pH. Umumnya sel hewan optimal tumbuh pada pH antara 7,0 dan 7,4 (Chaudry, *et al.*, 2009).
- d. Buffer, karbon dioksida dan bikarbonat. Karbon dioksida terlarut dalam media, membuat kesetimbangan dengan  $\text{HCO}_3$ , ion yang menurunkan pH. Walaupun kapasitas buffer buruk pada pH fisiologis, bikarbonat biasa digunakan karena toksisitas rendah dan menguntungkan nutrisi untuk kultur. pH media kultur bisa disangga dengan 2 tipe kondisi, terbukanya wadah, dimana  $\text{CO}_2$  yang masuk dapat meningkatkan pH ;  $\text{CO}_2$  dan produksi asam karena konsentrasi sel yang tinggi dapat menyebabkan penurunan pH (Freshney, 2008).
- e. Osmolaritas. Kebanyakan kultur sel memiliki toleransi terhadap tekanan osmotik yang luas. Pada prakteknya, osmolaritas antara 260 mOsm/kg dan 320 mOsm/kg diterima oleh banyak sel, tetapi baiknya dijaga konstan pada  $\pm 10$  mOsm/kg (Freshney, 2008).
- f. Suhu. Suhu tubuh hewan pada penentuan suhu optimal untuk sel kultur dan variasi anatomi pada kulit dan testikel biasanya lebih rendah dari tubuh (Lee, 2013).
- g. Viskositas. Viskositas media kultur dipengaruhi oleh kandungan serum (Freshney, 2008).
- h. Asam amino dan vitamin. Asam amino esensial yang dibutuhkan untuk kultur sel adalah sistein,

arginin, glutamin dan tirosin. Tetapi kebutuhan asam amino bervariasi dari satu sel ke tipe lain. Pada *Eagle's Minimum Essential Medium*, yang mengandung air dengan vitamin (vitamin B, kolin, asam folat, inositol, nikotinamid, tidak termasuk biotin), dan kebutuhan lainnya (Rodriguez-Hernandez, *et al.*, 2014).

- i. Ion dan glukosa.  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ , dan  $\text{HCO}_3^-$  membantu osmolaritas media (Kwong, *et al.*, 2012).
- j. Antibiotik dan antifungi. Untuk mengurangi jumlah kontaminasi oleh bakteri dan fungi (Freshney, 2008).
- k. Suplemen organik. Media bisa ditambahkan beberapa komponen seperti protein, peptida, nukleosid, asam sitrat, piruvat dan lipid (Freshney, 2008).
- l. Serum. Serum yang terdapat faktor pertumbuhan dapat meningkatkan

proliferasi sel (Mojica-Henshaw, *et al.*, 2013).

Tujuan dari artikel *review* ini adalah mengetahui jenis media apa saja yang digunakan untuk berbagai jenis sel.

### **Media yang Digunakan pada Kultur Sel**

Kultur sel adalah proses dimana suatu sel diambil dari suatu jaringan dan ditumbuhkan dalam keadaan yang dikontrol. Dan dalam prakteknya, media kultur merupakan komponen penting yang tidak terpisahkan. Dan media yang dibutuhkan untuk sel bervariasi tergantung pada sel yang akan dikulturnya.

### ***Eagle's Minimum Essential Medium (EMEM)***

Media ini merupakan yang pertama kali digunakan secara luas diformulasikan oleh Harry Eagle dari medium basal (BME) yang lebih awal dan lebih sederhana. Sejauh ini, banyak variasi formulasi EMEM untuk aplikasi yang berbeda. EMEM hanya mengandung 12 jenis asam amino non-

esensial, glutamine, 8 vitamin dan beberapa garam anorganik (Liu, *et al.*, 2016).

Pada kultur sel MRC-5 (fibroblast paru-paru) ditambahkan pula 10% FBS (*Fetal Bovine Serum*) (Liu, *et al.*, 2016), dan sel line Hep-2 ditambah dengan 10% serum fetus anak sapi (Cultilab), 1% asam amino non-esensial dan 1% antibiotik/antimikotik (Franco-salla, *et al.*, 2016), sel line HepG2/CA ditambahkan dengan 10% FBS, 1% glutamax, dan 1% penisilin/streptomisin (Devhare, *et al.*, 2016). Serum yang berasal dari janin sapi ini berfungsi untuk menyediakan nutrient yang esensial, hormon dan faktor pertumbuhan, pengikatan protein, perlindungan, dan faktor ekstensi dan adherent. Penambahan asam amino non esensial untuk sel dalam mensintesis protein, dan antibiotik berfungsi untuk mencegah kultur sel terkontaminasi bakteri dan antimikotik mencegah kontaminasi jamur.

### *Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM)*

Media DMEM ini merupakan modifikasi dari *Basal Medium Eagle (BME)* yang mengandung konsentrasi tinggi asam amino dan vitamin, dan komponen tambahan lainnya (Rohanova, *et al.*, 2014). DMEM mengandung empat kali lebih banyak vitamin dan asam amino dari formula asli dan dua sampai empat kali lebih banyak glukosanya. Formula asli dari DMEM adalah 1000 mg/L glukosa dan pertama kali dilakukan pada kultur sel embrionik tikus. Dan berkembang semakin jauh dengan 4500 mg/L glukosa optimal untuk penanaman tipe sel tertentu (Rohanova, *et al.*, 2014).

DMEM cocok digunakan untuk sel tumor dengan kecepatan pertumbuhan yang cepat. DMEM ini bisa digunakan untuk mengkultur sel line CCA HuCCT-1, sel HaCat, sel HepG2/C3A, sel karsinoma hepatoselular manusia, HepG2 (ATCC HB-8065), dan sel epitel alveolar manusia tipe II, tiga sel line kanker pankreas (HPAF-II,

HPAC, dan PL45) dari adenokarsinoma saluran pankreas yang diuji, mikroglia primer, sel B92.

Sel line CCA HuCCT-1 (tumor intrahepatik/distal) dan TFK-1 (tumor ekstrahepatik) ditambahkan 10% FCS (Heits, *et al.*, 2016). Sel HaCaT (diperoleh dari epithelium manusia yang diubah) ditambah 10% fetal bovine serum dan 1% larutan penisilin-streptomisin (Teagle, *et al.*, 2016). Sel karsinoma hepatoselular manusia, HepG2 (ATCC HB-8065), sel epitel alveolar manusia tipe II, A549 (ATCC CCL-185), ditambahkan dengan 10% FBS (Propst, *et al.*, 2016). Tiga sel line kanker pancreas (HPAF-II, HPAC, dan PL45) dari adenokarsinoma saluran pankreas diuji, ditambah dengan 10% FBS, 2 mmol/L glutamine, antibiotik (100 U/ml penisilin, 0,1 mg/ml streptomisin), dan 0,25 µg/ml amfoterisin B (Gagliano, *et al.*, 2016), pada mikroglia primer dan sel B92 ditambahkan 10% FBS dan penstrep pada 37<sup>0</sup> C dalam

kelembaban 95% dan 5% CO<sub>2</sub> (Jamalidoust, *et al.*, 2016).

Serum yang berasal dari janin sapi ini berfungsi untuk menyediakan nutrient yang esensial, hormon dan faktor pertumbuhan, pengikatan protein, perlindungan, dan faktor ekstensi dan adherent. Penisilin dan streptomisin sebagai antibiotik untuk mencegah kontaminasi bakteri, amfoterisin B sebagai antimikotik untuk mencegah kontaminasi jamur. Karbon dioksida terlarut dalam media, membuat kesetimbangan dengan HCO<sub>3</sub>, ion yang menurunkan pH.

***RPMI-1640 (Roswell Park Memorial Institute)***

Media ini merupakan modifikasi McCoy's 5A dan dikembangkan untuk kultur jangka panjang limfosit darah perifer. RPMI-1640 akan mendukung pertumbuhan varietas sel yang luas pada suspensi seperti jumlah pertumbuhan sel pada *monolayer* (Freshney, 2008).

Media ini dapat digunakan untuk dua model sel ER+/Her2+, BT474 dan MDA-MB361, sel line MH-S makrofag murin alveolar, sel HCC ( sel adenokarsinoma paru-paru).

Dua model sel ER+/Her2+, BT474 dan MDAMB361, RPMI yang ditambah dengan 10% FCS (*Fetal Calf Serum*), penisilin (100 unit/ml), streptomisin (100 µg/ml) dan amfoterisin B (2,5 µg/ml) (Gangadhara, *et al.*, 3016), sel line MH-S makrofag murin alveolar RPMI1640 dengan 10% *fetal calf serum*, 100 U/ml penisilin dan 100 U/ml streptomisin (Meng, *et al.*, 2016), sel HCC ( sel adenokarsinoma paru-paru) RPMI 1640 ditambah dengan 10% FBS (Liu, *et al.*, 2016).

FCS sama dengan FBS yang berperan sebagai serum yang menyediakan nutrient yang essensial, penisilin dan streptomisin sebagai antibiotik, amfoterisin sebagai antimikotik.

### **DMEM/F12**

Media ini merupakan campuran DMEM dan Ham's F-12 dengan perbandingan 1:1. Media ini mengandung medium kompleks dan akan mendukung pertumbuhan tipe sel secara luar pada serum apapun dan formulasi bebas serum.

Media ini digunakan pada sel line epitel, yang ditambahkan dengan 200 U/ml penisilin dan streptomisin, 5% FBS, 0,01 µg/ml toksin kolera, 5 µg/ml insulin, dan 10 ng/ml faktor pertumbuhan epidermis manusia (Kokado, *et al.*, 2016). Penisilin dan streptomisin merupakan antibiotik yang akan mencegah kontaminasi bakteri, FBS sebagai serum yang mengandung banyak faktor pertumbuhan, insulin sebagai hormon yang mendukung pertumbuhan, toksin kolera untuk merangsang pertumbuhan epitel (Freshney, 2008).

### ***Ham's F12-K Medium***

Seperti EMEM, terdapat berbagai modifikasi formulasi termasuk *Ham's F-12 medium* , formulasi yang lebih kompleks

dari F-10 yang sesuai untuk perkembangan bebas serum. Media ini bisa digunakan untuk mengkultur makrofag, dengan ditambahkan 100 U/ml penisilin, 100 mg/ml larutan streptomisin, dan 2 mM L-glutamin (Liu, *et al.*, 2016). Penisilin dan streptomisin sebagai antibiotik dan L-glutamin sebagai asam amino yang berfungsi untuk meningkatkan proliferasi sel (Freshney, 2008).

### SIMPULAN

Kultur sel adalah proses dimana suatu sel diambil dari suatu jaringan dan ditumbuhkan dalam keadaan yang dikontrol. Media yang banyak digunakan untuk kultur sel adalah DMEM (*Dulbecco Modified Eagle's Medium*), RPMI (*Roswell Park Memorial Institute*), EMEM (*Eagle's Minimum Essential Medium*), DMEM/F12, *Ham's F12-K Medium*.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih penulis ucapkan kepada pihak-pihak yang telah membantu dalam

memberikan saran, bimbingan, dan kritikan dalam pembuatan artikel *review* ini.

### KONFLIK KEPENTINGAN

Seluruh penulis menyatakan tidak terdapat potensi konflik kepentingan dengan penelitian, kepenulisan (*authorship*), dan atau publikasi artikel ini.

### DAFTAR PUSTAKA

- Chaudry, M.A., Bowen, B.D., Piret, J.M. 2009. Culture pH and Osmolirity Influence Proliferation and Embryoid Body Yields of Murine Embryonic Stem Cells. *Biochemical Engineering Journal*, 45:126-135.
- Devhare, P.B., Desai, S., Lole, K.S. 2016. Innate immune responses in human hepatocyte-derived cell lines alter genotype 1 hepatitis E virus replication efficiencies. *Scientific Reports*, 22(3):240-248.
- Franco-salla, G.B., Prates, J., Cardin, L.T., Santos, A.R.D., Silva, W.A., Cunha, B.R., *et al.* 2016. Euphorbia tirucalli modulates gene expression in larynx squamous cell carcinoma. *BMC Complementary and Alternative*, 16:136.
- Freshney, R.I. 2008. *Culture of Animal Cells, A Manual Of Basic Technique And Specialized Applications*, 6<sup>th</sup> ed. Wiley-Blackwell. New York. page 200-204.
- Gagliano, N., Celesti, G., Tacchini, L., Pluchino, S., Sforza, C., Rasile, M., *et al.* Epithelial-to-mesenchymal transition in pancreatic ductal adenocarcinoma: Characterization



- in a 3D-cell culture model. *World J. Gastroenterol*, 22(28):4466-4483.
- Gangadhara, S., Smith, C., Barrett-Lee, P., Hiscox, S. 2016. 3D Culture of Her2+ breast cancer cells promotes AKT to MAPK switching and a loss of therapeutic response. *BMC Cancer*, 16:345.
- Heits. N., Heinze, T., Bernsmeim, A., Kerber, J., Hauser, C., Becker, T., *et al.* Influence of mTOR inhibitors and mycophenolic acid on human cholangiocellular carcinoma and cancer associated fibroblasts. *BMC Cancer*, 16:322.
- Jamalidoust, M., Ravanshad, M., Namayandeh, M., Zare, M., Asaei, S., Ziyaeyan, M. 2016. Construction of AAV-rat-IL4 and Evaluation of its Modulating Effect on A<sub>1</sub> (1-42)-Induced Proinflammatory Cytokines in Primary Microglia and the B92 Cell Line by Quantitative PCR Assay. *Microbiology*, 9(3):e30444.
- Kokado, M., Okada, Y., Miyamoto, T., Yamanaka, O., Saika, S. 2016. Effects of epiplakin-knockdown in cultured corneal epithelial cell. *BMC Research Notes*, 9:278.
- Kwong, P.J., Abdullah, R.B., Khadijah, W.E.W. 2012. Increasing glucose in basal medium on culture Day 2 improves in vitro development of cloned caprine blastocysts produced via intraspecies and interspecies somatic cell nuclear transfer. *Theriogenology*. 78:921-929.
- Lee, W.Y., Park, H.J., Lee, R., Lee, K.H., Kim, Y.H., Ryu, B.Y., *et al.* 2013. Establishment and in vitro culture of porcine spermatogonial germ cells in low temperature culture conditions. *Stem Cell Research*, 11:1234-1249.
- Liu, X., Kiefl, R., Roskopf, C., Tian, F., Huber, R.M. 2016. Interactions among Lung Cancer cells, Fibroblasts, and macrophages in 3D Co-Cultures and the Impact on MMP-1 and VEGF Expression. *PLoS ONE*, 11(5):e0156268.
- Meng, A., Zhang, X., Wu, S., Wu, M., Li, J., Yan, X., *et al.* 2016. In vitro modeling of COPD inflammation and limitation of p38 inhibitor-SB203580. *International Journal of COPD*, 11:909-917.
- Mojica-Henshaw, M.P., Jacobson, P., Morris, J., Kelly, L., Pierce, J., Boyer, M., Reems, J.A. 2013. Serum-converted platelet lysate can substitute for fetal bovine serum in human mesenchymal stromal cell cultures. *Cytotherapy*, 5(12):1458-1468.
- Propst, C.N., Pylypko, S.L., Blower, R.J., Ahmad, S., Mansoor, M., Hoek, M.L. 2016. *Francisella philomiragia* infection and lethality in mammalian tissue culture cell models, *Galleria mellonella*, and BALB/c Mice. *Frontiers in Microbiology*, 7:696.
- Rodriguez-Hernandez, C.O., Torres-Garcia, S.E., Olvera-Sandoval, C., Ramirez-Castillo, F.Y., Muro, A.L., Avelar-Gonzalez, F.J., *et al.* 2014. Cell Culture: History, Development and Prospects. *International Journal of Current Research and Academic Review*, 2(12), 188-200.
- Rohanova, D., Boccaccini, A.R., Horkavcova, D., Bozdechova, P., Bezdicka, P., Castoralova, M. 2014. Is Non-buffered DMEM solution a suitable medium for *in vitro* bioactivity tests?. *Journal of Materials Chemistry B*, 2: 5068-5076.
- Teagle, A.R., Birchall, J.C., Hargest, R. 2016 Gene Therapy for Pyoderma Gangrenosum: Optimal Transfection Conditions and Effect

of Drugs on Gene Delivery in the HaCat Cell Line Using Cationic Liposomes. *Skin Pharmacology and Physiology*, 29:119-129.