

RINGKASAN

Kultur sel hewan merupakan suatu proses dimana sel-sel dari jaringan hewan ditempatkan dan ditumbuhkan dalam lingkungan yang sesuai di luar tubuhnya. Kultur sel memerlukan serum sebagai suplemen, serum yang sering digunakan adalah *Fetal Bovine Serum* (FBS). Namun, penggunaan FBS memiliki keterbatasan, termasuk biaya tinggi dan dampak negatif terhadap kesejahteraan hewan. *Human Platelet Lysate* (HPL) yang dihasilkan melalui proses *freezing-thawing* dari *Platelet Concentrate* (PC) berkualitas baik dapat dijadikan sebagai alternatif pengganti FBS. HPL menyediakan faktor pertumbuhan dan memiliki keunggulan efektivitas biaya serta produksi yang besar dan terstandarisasi. Meskipun HPL telah terbukti efektif sebagai suplemen dalam kultur sel, penggunaannya dalam *cryopreservation* belum banyak diteliti. Atas dasar hal ini, maka diperlukan uji berbagai konsentrasi HPL dalam medium *cryopreservation* pada kultur sel-sel hati mencit (*Mus musculus*). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi *Human Platelet Lysate* (HPL) dalam kombinasi *cryoprotectant* yang optimum untuk mendukung viabilitas dan densitas pada kultur sel primer hati mencit (*Mus musculus*) serta mengetahui konsentrasi *Human Platelet Lysate* (HPL) yang optimum untuk mendukung viabilitas, densitas, dan morfologi pada kultur sel *post-thawing* hati mencit (*Mus musculus*).

Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimental dalam dua tahapan eksperimental berkelanjutan yaitu dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 5 perlakuan dan 5 ulangan pada proses *cryopreservation* dan 5 perlakuan dan 3 ulangan pada kultur *post-thawing*. Penelitian dilaksanakan pada bulan Januari - Maret 2024 di Laboratorium Struktur dan Perkembangan Hewan Universitas Jenderal Soedirman dan Laboratorium Riset Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Soedirman. Data densitas dan viabilitas sel primer hati mencit diuji normalitasnya menggunakan *Kolmogorov-Smirnov* dan homogenitasnya menggunakan *Levene test*. Selanjutnya data yang terdistribusi normal dan homogen dilakukan analisis dengan ANOVA menggunakan aplikasi SPSS versi 25.0 serta uji lanjut menggunakan uji beda nyata terkecil (BNT) untuk hasil uji ANOVA dengan $p < 0,05$. Data berupa morfologi sel dianalisis secara deskriptif.

Hasil penelitian menunjukkan pemberian suplemen serum HPL dengan konsentrasi yang bervariasi pada *cryomedium* tidak memberikan pengaruh nyata ($P > 0,05$) terhadap viabilitas dan densitas sel-sel hati mencit *post-thawing cryopreservation* pada H-21 dan H-28. Pemberian suplemen serum HPL yang bervariasi pada kultur sel-sel hati mencit yang telah di-*cryopreserved* dan diinkubasi selama 3 hari memberikan pengaruh nyata ($P < 0,05$), terhadap viabilitas dan densitas kultur sel *post-thawing cryopreservation*. Pada *cryopreservation* sel-sel hati mencit selama 21 hari, pemberian suplemen serum HPL 15% mampu mempertahankan viabilitas dan densitas sel-sel hati mencit, sedangkan HPL 25% mampu mempertahankan viabilitas dan densitas sel-sel hati mencit pada *cryopreservation* selama 28 hari. Sel-sel hati yang telah di-*cryopreserved* kemudian dikultur dengan penambahan HPL dalam medium memiliki morfologi bentuk sel poligonal dengan inti di tengahnya.

Kata kunci: *Cryopreservation*, hati mencit, *Human Platelet Lysate*, kultur sel, viabilitas.

SUMMARY

Animal cell culture is a process where cells from animal tissues are placed and grown in a suitable environment outside their body. Cell culture requires serum as a supplement, one of which is *Fetal Bovine Serum* (FBS). However, using FBS has limitations, including high costs and negative impacts on animal welfare. *Human Platelet Lysate* (HPL) produced through a *freezing-thawing* process from good quality Platelet Concentrate (PC) can be used as an alternative to FBS. HPL provides growth factors and has the advantages of cost-effectiveness and large, standardized production. Although HPL is effective as a supplement in cell culture, its use in cryopreservation has not been widely studied. Based on this, it is necessary to test various concentrations of HPL in cryopreservation medium on the culture of mice liver cell suspension (*Mus musculus*). This study aims to determine the optimum cryoprotectant combination to support viability and density in primary cell cultures of mice liver (*Mus musculus*) and to determine the optimum concentration of Human Platelet Lysate (HPL) to support viability, density, and morphology in post-thawing cell cultures of mice liver (*Mus musculus*).

The research was conducted in two consecutive experimental stages, namely with a Completely Randomized Design (CRD) consisting of 5 treatments and 5 replicates in the cryopreservation process and 5 treatments and 3 replicates in the post-thawing culture. The research was conducted from January to March 2024 at the Animal Structure and Development Laboratory of Jenderal Soedirman University and the Research Laboratory of the Faculty of Medicine, Jenderal Soedirman University. Cell density and viability data of mice liver primary cells were subjected to a normality test using Kolmogorov-Smirnov and a homogeneity test using the Levene test. The normally distributed and homogeneous data were analyzed by ANOVA using the SPSS version 25.0 application and in case ANOVA showed $p < 0.05$ the analysis proceeded to the Least Significant Difference (LSD)

The results showed that supplementation of HPL serum at varying concentrations in the cryomedium did not significantly affect ($P > 0,05$) the viability and density of post-thawing cryopreservation cells at D-21 and D-28. The use of various concentrations of HPL in the cryopreserved mice liver cells cultured for 3 days has a significant effect ($P < 0,05$), on the viability and density post-thawing cryopreservation cell cultures. In cryopreservation of mice liver cells for 21 days, 15% HPL serum supplementation maintained the viability and density of mice liver cells, while 25% HPL maintained cell viability and density to maintain the morphology of mice liver cells. The cultured cell showed a polygonal cell shape morphology with a nucleus in the center.

Keywords: *Cell culture, cryopreservation, Human Platelet Lysate, mice liver, viability.*