

SKRIPSI

**PENGARUH STARVASI TERHADAP KEMAMPUAN MIGRASI SEL
PUNCA MESENKIMAL TALI PUSAT MANUSIA DENGAN METODE
*SCRATCH ASSAY***



Oleh:

Puspita Tri Yuliana

G1A021032

KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI

UNIVERSITAS JENDERAL SOEDIRMAN

FAKULTAS KEDOKTERAN

JURUSAN KEDOKTERAN

PURWOKERTO

2025

LEMBAR PENGESAHAN

**PENGARUH STARVASI TERHADAP KEMAMPUAN MIGRASI SEL
PUNCA MESENKIMAL TALI PUSAT MANUSIA DENGAN METODE
*SCRATCH ASSAY***

Oleh:

Puspita Tri Yuliana

G1A021032

SKRIPSI

Untuk memenuhi Salah Satu Persyaratan Memperoleh Gelar Sarjana Keokteran
Pada Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Soedirman

Disetujui dan disahkan

Pada tanggal 3 Februari 2025

Pembimbing I

Nor Sri Inayati, S.Si., M. Biotech

NIP. 199201202023212051

Pembimbing II

dr. Sutrisno, Sp. O.G(K)-Onk., M.Kes

NIP. 198306212014041001

Mengetahui:

Dekan Fakultas Kedokteran



Dr. dr. M. Mulyono Rudi P., M. Kes.,

M.Si. Med., Sp. An

NIP. 197702062006041002

Ketua Jurusan Pendidikan Dokter

Dr. dr. Susiana Candrawati,

Sp.KO

NIP. 197908222005012002

**LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS DAN PERSETUJUAN
PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Yang bertanda tangan di bawah ini, saya mahasiswa Universitas Jenderal Soedirman :

Nama : Puspita Tri Yuliana

NIM : G1A021032

Menyerahkan karya ilmiah saya kepada UPT Perpustakaan Universitas Jenderal Soedirman, yang berjudul :

Pengaruh Starvasi Terhadap Kemampuan Migrasi Sel Punca Mesenkimal Tali Pusat Manusia Dengan Metode *Scratch Assay*

beserta perangkat yang diperlukan (bila ada). Dengan demikian saya :

1. Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah tersebut diatas adalah benar-benar hasil karya saya sendiri dan bukan merupakan plagiat, saduran dan atau pengambilalihan tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai tulisan atau pikiran saya kecuali yang secara tertulis diacu dalam karya ilmiah saya dengan menyebutkan sumber didalam daftar pustaka.
2. Memberikan hak kepada UPT Perpustakaan Universitas Jenderal Soedirman atas karya ilmiah saya dengan judul tersebut diatas untuk menyimpan, mengelola dalam pangkalan data (*database*), mengalih media, mendistribusikan, dan mempublikasikannya di Internet atau media lain, untuk kepentingan akademis tanpa perlu meminta ijin dari saya, maupun memberikan royalti kepada saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis.

Demikian pernyataan ini yang saya buat dengan sebenar-benarnya tanpa ada unsur paksaan dari pihak manapun.

Dibuat di Purwokerto

Pada tanggal : 7 Februari 2025

Yang menyatakan



Puspita Tri Yuliana

G1A021032

PENGARUH STARVASI TERHADAP KEMAMPUAN MIGRASI SEL PUNCA MESENKIMAL TALI PUSAT DENGAN METODE SCRATCH ASSAY

ABSTRAK

Latar Belakang: Terapi sel punca mesenkimal (SPM) tengah berkembang pesat. SPM sebagai sel penyusun keseluruhan tubuh melalui potensi regenerasi dan diferensiasi menjadi berbagai turunan sel yang spesifik. Keterbatasan terapi SPM yaitu respon rejeksi tubuh resipien terhadap sel punca donor, proses diferensiasi, dan migrasi tidak terkontrol. Upaya mengatasi keterbatasan tersebut dengan mengembangkan prekondisi starvasi pada SPM melalui sinkronisasi siklus sel pada fase *quiescence* sehingga sel dapat beradaptasi pada lingkungan rendah nutrisi.

Tujuan: Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh starvasi terhadap kemampuan migrasi sel punca mesenkimal tali pusat manusia dengan metode *scratch assay*.

Metode: Penelitian ini menggunakan metode *quasi experimental* dengan pendekatan *post test only with control group*. SPM dibagi menjadi tiga kelompok perlakuan yaitu media DMEM+FBS sebagai media komplit (MK), media DMEM *only* sebagai starvasi serum (BASAL) dan media HBSS sebagai starvasi asam amino (HBSS). Sampel didapatkan dari pengambilan gambar mikroskop inversi pada jam ke-4,8,24, dan 48. Proses editing dan kuantifikasi persentase luas penutupan migrasi sel SPM menggunakan *ImageJ*. Analisis data menggunakan *One-Way ANOVA* dilanjutkan dengan uji statistik *Post-Hoc Games Howell*.

Hasil: Rerata Persentase luas penutupan migrasi SPM tertinggi pada kelompok MK ($82,80 \pm 15,37\%$) dengan durasi starvasi 48 jam dan terendah pada kelompok HBSS ($21,29 \pm 7,91\%$) dengan durasi starvasi 4 jam. Nilai statistik menunjukkan terdapat perbedaan signifikan ($p < 0,05$) kemampuan migrasi pada kelompok MK, BASAL, dan HBSS pada jam ke-4 dan 8. Selain itu, Terdapat perbedaan signifikan ($p < 0,05$) rerata kemampuan migrasi pada media BASAL dan HBSS.

Kesimpulan: Kemampuan migrasi pada kelompok HBSS lebih lambat dibandingkan kelompok lainnya. Durasi starvasi terbaik pada tiga kelompok media pada jam ke-4 dan 8.

Kata Kunci: Migrasi, Sel punca mesenkimal. Siklus sel, Starvasi

THE EFFECT OF STARVATION ON THE MIGRATION ABILITY OF HUMAN UMBILICAL CORD MESENCHYMAL STEM CELLS USING THE SCRATCH ASSAY METHOD

ABSTRACT

Background: Mesenchymal stem cell (MSC) therapy is rapidly advancing. MSCs, as the building blocks of the entire body, have the potential for regeneration and differentiation into various specific cell derivatives. Limitations of MSC therapy include the recipient's immune rejection response to donor stem cells, as well as uncontrolled differentiation and migration processes. One approach to address these limitations is to develop a starvation preconditioning for MSCs through synchronization of the cell cycle in the quiescence phase, allowing the cells to adapt to nutrient-poor environments.

Objective: This study aims to determine the effect of starvation on the migration ability of human umbilical cord mesenchymal stem cells using the scratch assay method.

Methods: This study used a quasi-experimental design with a post-test only control group approach. MSCs were divided into three treatment groups: DMEM+FBS as the complete medium (MK), DMEM only as serum starvation (BASAL), and HBSS as amino acid starvation (HBSS). Samples were obtained by capturing inverted microscope images at 4, 8, 24, and 48 hours. The process of editing and quantifying the percentage of cell migration area closure was performed using ImageJ. Data analysis was conducted using One-Way ANOVA followed by Post-Hoc Games Howell statistics.

Results: The average percentage of migration area closure was highest in the MK group ($82.80 \pm 15.37\%$) with 48 hours of starvation and lowest in the HBSS group ($21.29 \pm 7.91\%$) with 4 hours of starvation. Statistical values indicated significant differences ($p < 0.05$) in migration ability between the MK, BASAL, and HBSS groups at 4 and 8 hours. Additionally, significant differences ($p < 0.05$) were found in the average migration ability between the BASAL and HBSS media.

Conclusion: The migration ability of the HBSS group was slower compared to the other groups. The best starvation duration for all three media was at 4 and 8 hours.

Keywords: Cell cycle, Mesenchymal stem cells, Migration, Starvation

PRAKATA

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, atas rahmat, karunia, serta kasih-Nya yang berlimpah dan tiada berkesudahan. Penulis senantiasa telah diberikan kekuatan dan kesehatan untuk menyelesaikan penulisan skripsi yang berjudul **“Pengaruh Starvasi Terhadap Kemampuan Migrasi Sel Punca Mesenkimal Tali Pusat Manusia Dengan Metode *Scratch Assay*”**.

Skripsi ini disusun untuk memenuhi syarat dalam memperoleh gelar Sarjana Kedokteran di Fakultas Keokteran Universitas Jenderal Soedirman. Penulis menyadari bahwa skripsi ini tidak akan terselesaikan tanpa adanya dukungan dan bantuan semua pihak terkait, oleh sebab itu penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

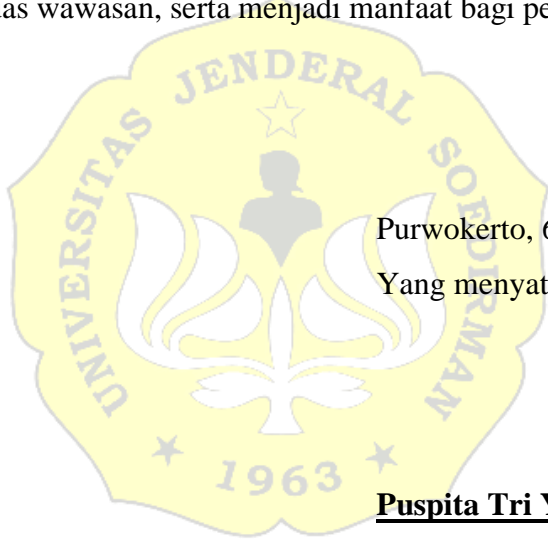
1. Dr. dr. M. Mukhlis Rudi Prihatno, M. Kes, M.Si Med, SP. An-KNA. Selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Soedirman.
2. dr. Susiana Candrawati, Sp. KO selaku Jurusan Kedokteran Umum Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Soedirman.
3. dr. Sindhu Wisesa, Ph.D. selaku penyelenggara penelitian, terima kasih atas hibah pendanaan dan kesempatan yang telah diberikan kepada saya untuk ikut andil dalam penelitian yang sangat memberi pengalaman terbaik semasa pre-klinik, serta bimbingan, nasihat, arahan dan ilmu beliau yang senantiasa membantu penyelesaian skripsi saya.
4. Bu Nor Sri Inayati, S.Si, M. Biotech selaku Pembimbing I yang senantiasa meluangkan waktunya untuk memberikan bimbingan, pengarahan, motivasi, dukungan dan selalu mendampingi kepada penulis selama penelitian serta penyelesaian dalam penyusunan skripsi.inspiratif untuk saling bertukar pikiran dan berbagi kisah kehidupan.
5. dr. Sutrisno, Sp. O. G (K)-Onk., M. Kes Pembimbing II yang meluangkan waktunya yang memberikan bimbingan, pengarahan, motivasi, dan dukungan kepada penulis selama penyusunan skripsi.
6. Dr. dr. Nur Signa Aini Gumilas, M. Biotech selaku penelaah yang telah meluangkan waktu beliau untuk memberikan ilmu, arahan, saran, serta

dukungan melalui berbagai masukan berharga yang menjadi motivasi penulis untuk menyempurnakan skripsi ini.

7. Dr. dr Nendyah Roestijawati, M. KK selaku wakil komisi skripsi yang telah meluangkan waktunya dalam memberikan ilmu, arahan, serta dukungan dan masukan yang berharga bagi penulisan skripsi ini.
8. Seluruh Bapak/Ibu staf dan civitas akademika Fakultas Keodkteran Universitas Jenderal Soedirman yang tulus mengajar, mendukung, membantu, dan memberi kemudahan bagi penulis selama masa studi.
9. Orang tua tercinta, Ayah Sumaryono dan Ibu Murniati dengan cinta dan kesabarannya senantiasa menjadi pendengar yang baik dan selalu mengiringi langkah penulis hingga dapat menyelesaikan studi serta mengawal penulis dalam menggapai cita-citanya. Kedua kakak tersayang Ratna Agustiyani dan Dewi Ayu Murtiningsih yang senantiasa memberi motivasi dan semangat tiada henti serta mendoakan penulis dalam penyusunan skripsi.
10. Yang terkasih, Rizqi Anta Pratama dengan kesabaran hatinya, senantiasa memberi semangat, dukungan, menenangkan, menemani dan memotivasi kepada penulis selama pembuatan tugas akhir, memiliki kepribadian yang lembut dan perhatian yang kehadirannya selalu disyukuri penulis.
11. Teman seperjuangan penelitian sel punca terbaik, Kayla Salsabila yang senantiasa saling menguatkan dan tulus memberi bantuan serta siap sedia untuk penulis selama penulisan skripsi. Teman yang baik dalam bertukar pikiran dan saling memberikan semangat juang.
12. Teman SMA saya Rofiqotus Sholichah yang senantiasa membantu penulis dalam penyusunan tugas akhir, memiliki pribadi yang suka berbagi keilmuannya dan senantiasa memberi semangat dan motivasi kepada penulis.
13. Sahabat saya Nur Laila, Regina Putri Meilani, Retsa Kamilah, Rayhan Rizqika P. yang senantiasa menghibur, menemani, saling menguatkan perjalanan penulis selama perkuliahan, tulus menjadi sandaran di setiap waktu, serta kawan seperjuangan.

14. Teman-teman baik penulis selama perkuliahan Amygdala Adiuores Anatomium 2021, FK Unsoed Angkatan 2021. Serta seluruh kawan baik penulis selama berkuliah di Universitas Jenderal Soedirman yang tidak dapat disebutkan satu satu persatu yang telah mendukung dan memberi doa baik kepada penulis.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati, besar harapan penulis bahwa pembaca dapat memberikan saran dan masukan guna perbaikan dan peningkatan kebermanfaatan skripsi ini. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat menjadi andil dalam perkembangan ilmu di masa depan dan pengembangan penelitian bidang terkait, memperluas wawasan, serta menjadi manfaat bagi pembacanya.



Purwokerto, 6 Februari 2025

Yang menyatakan,

Puspita Tri Yuliana

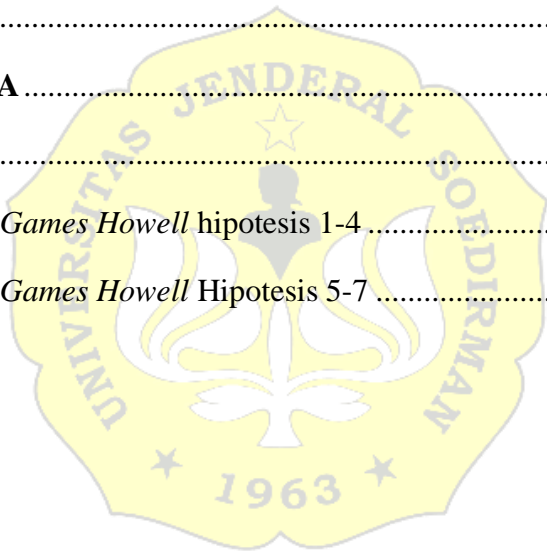
NIM G1A021032

DAFTAR ISI


LEMBAR PENGESAHAN	ii
SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI	ii
SURAT PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN	iii
ABSTRAK	iv
PRAKATA	vi
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR SINGKATAN	xii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Perumusan Masalah	4
C. Tujuan dan Manfaat	5
1. Tujuan	5
2. Manfaat	6
D. Keaslian Penelitian	7
II. TINJAUAN PUSTAKA	9
A. Materi Pustaka	9
1. Sel punca	9
2. Sel punca mesenkimal	12
3. Manfaat terapi sel punca mesenkimal	14
4. Starvasi	16

5. Migrasi sel punca	20
6. Hubungan starvasi dengan migrasi sel punca	23
B. Kerangka Pemikiran Penelitian	25
C. Kerangka Konsep Penelitian	26
D. Hipotesis.....	26
III. METODE PENELITIAN	27
A. Rancangan penelitian	27
B. Materi dan Bahan	27
1. Alat.....	27
2. Bahan.....	27
C. Rancangan Percobaan.....	27
D. Variabel Penelitian	29
E. Definisi Operasional Variabel	29
F. Tata Urutan Kerja	30
1. Pengajuan Ethical Clearance.....	30
2. Persiapan dan pembuatan media	30
3. Kultur sel.....	30
4. Subkultur	31
5. <i>Scratch assay</i>	31
6. Perlakuan starvasi.....	32
7. Pengambilan sampel.....	32
8. Pengukuran dan perhitungan luas penutupan migrasi.....	32
9. Pengolahan dan analisis data.....	33
G. Alur Penelitian.....	34

H. Analisis Data	35
1. Analisis Univariat.....	35
2. Analisis bivariat	35
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	36
A. Hasil	36
B. Pembahasan	47
V. KESIMPULAN DAN SARAN	60
A. Kesimpulan.....	60
B. Saran.....	60
DAFTAR PUSTAKA	62
LAMPIRAN.....	68
1. Uji <i>Post-Hoc Games Howell</i> hipotesis 1-4	86
2. Uji <i>Post-Hoc Games Howell</i> Hipotesis 5-7	87

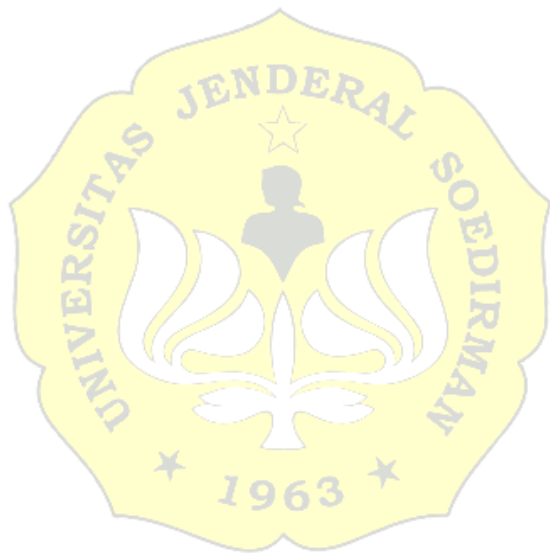


DAFTAR SINGKATAN



α -MEM	:	<i>α Modification of Eagle's medium</i>
AMPK	:	<i>Adenosine Monophosphate Protein Kinase</i>
ARDS	:	<i>Acute Respiratory Distress Syndrome</i>
BAVM	:	<i>Brain Arteriovenous Malformation</i>
bFGF	:	<i>Basic Fibroblast Growth Factor</i>
CD	:	<i>Cluster of Differentiation</i>
CDC	:	<i>Cycle cell Deviation</i>
c-Myc	:	<i>Cluster-Myelocytomatosis</i>
CXCR4	:	<i>CXC Chemokine Receptor 4</i>
DNA	:	<i>Deoxyribo Nucleic Acid</i>
DMEM	:	<i>Dulbecco's Modified Eagle Medium</i>
EBSS	:	<i>Earle's Balanced Salt Solution</i>
ECM	:	<i>Extracellular Matrix</i>
EGF	:	<i>Epidermal Growth Factor</i>
ERK1/2	:	<i>Extracellular Signal-Regulated 1/2</i>
ESC	:	<i>Embryonic Stem Cell</i>
FBS	:	<i>Fetal Bovine Serum</i>
GTP	:	<i>Guanosine Triphosphate</i>
HBSS	:	<i>Hank's Balanced Salt Solution</i>
HGF	:	<i>Hepatocyte Growth Factor</i>
IGF	:	<i>Insulin Growth Factor</i>
ISCT	:	<i>international Society for Cellular therapy</i>
mTOR	:	<i>Mammalian Target of Rapamycin</i>
PDGF	:	<i>Platelet Derived Growth Factor</i>
SDF-1	:	<i>Stromal Cell Factor-1</i>
SPM	:	<i>Sel punca mesenkimal</i>
TGF- β 1	:	<i>Transforming Growth Factor-β1</i>

TLR : *Toll like receptor*
ROCK : *Rho-associated Protein Kinase*
RCF : *Relative Centrifuge Force*
VEGF : *Vascular Endothelial Growth Factor*



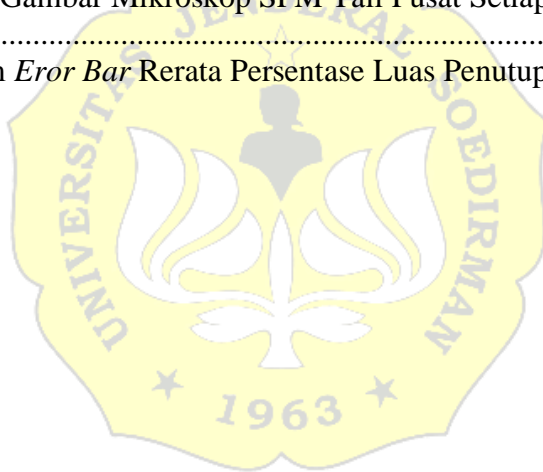
DAFTAR TABEL

Tabel 1. 1 Keaslian Penelitian.....	7
Tabel 3. 1 Kelompok Perlakuan.....	28
Tabel 3. 2 Definisi Operasional	29
Tabel 4. 1 Hasil Luas Penutupan Migrasi Pada Kelompok Media Starvasi	41
Tabel 4. 2 Hasil Luas Penutupan Migrasi Berdasarkan Waktu Pengamatan.....	41
Tabel 4. 3 Migrasi SPM setelah starvasi 4 jam.....	43
Tabel 4. 4 Migrasi SPM setelah starvasi 8 jam.....	43
Tabel 4. 5 Migrasi SPM setelah starvasi 24 jam.....	43
Tabel 4. 6 Migrasi SPM setelah starvasi 48 jam.....	43
Tabel 4. 7 Migrasi SPM pada media MK	44
Tabel 4. 8 Migrasi SPM pada media DMEM	44
Tabel 4. 9 Migrasi SPM pada media HBSS.....	44
Tabel 4. 10 Hasil <i>Post-Hoc</i> Luas Penutupan Migrasi Berdasarkan Media Starvasi ...	45
Tabel 4. 11 Hasil <i>Post-Hoc</i> Luas Penutupan Migrasi Berdasarkan Waktu Pengamatan	46



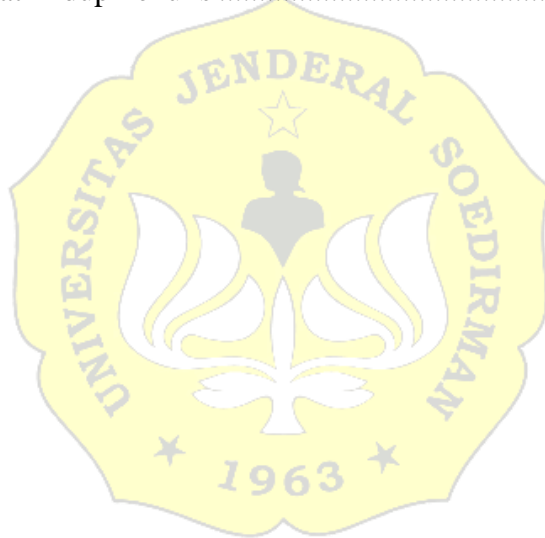
DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Potensi Diferensiasi Sel Punca	9
Gambar 2. 2 Replikasi Simetris dan Asimetris	10
Gambar 2. 3 Klasifikasi Sel Punca Berdasarkan Potensinya	11
Gambar 2. 4 <i>Embryonic Stem Cell</i> (ESC).....	12
Gambar 2. 5 Klasifikasi Sumber Sel Punca Dewasa	12
Gambar 2. 6 Gambar Sel Punca Mesenkimal	13
Gambar 2. 7 Faktor-Faktor Mikroseluler Migrasi Pada Perbaikan Jaringan	21
Gambar 2. 8 Regulasi Migrasi Sel Punca.....	22
Gambar 2. 9 Kerangka Pemikiran Penelitian	25
Gambar 2. 10 Kerangka Konsep Penelitian	26
Gambar 3. 1 Contoh Gambar SPM Konfluens 80-90%	31
Gambar 3. 2 Contoh Gambar <i>Scratch Assay</i> Pada SPM.....	32
Gambar 3. 3 Alur Penelitian.....	34
Gambar 4. 1 Morfologi Sel Punca Mesenkimal Sebelum Perlakuan.....	37
Gambar 4. 2 Morfologi Sel Punca Mesenkimal setelah dilakukan perlakuan	38
Gambar 4. 3 Sampel Gambar Mikroskop SPM Tali Pusat Setiap Kelompok Perlakuan	40
Gambar 4. 4 Diagram <i>Error Bar</i> Rerata Persentase Luas Penutupan Migrasi.....	47



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Protokol Penelitian.....	68
Lampiran 2 <i>Ethical clearance</i>	74
Lampiran 3 Data Rerata Hasil Pengukuran Luas Penutupan Migrasi.....	75
Lampiran 4 Pengolahan Data Hasil Penelitian.....	76
Lampiran 5 Hasil Uji Normalitas <i>Shapiro-Wilk</i>	82
Lampiran 6 Uji Statistik Homogenitas (<i>Levene's Test</i>)	84
Lampiran 7 Analisis Bivariat <i>One-Way ANOVA</i> Presentase Luas Penutupan area migrasi SPM Tali Pusat.....	85
Lampiran 8 Hasil Uji <i>Post-Hoc Games Howell</i> Presentase Luas Penutupan Area Migrasi SPM Tali Pusat.	86
Lampiran 9 Tahapan Pengolahan Gambar Mikroskop dan Perhitungan Proliferasi SPM Tali Pusat.....	89
Lampiran 10 Dokumentasi Penelitian	91
Lampiran 11 Riwayat Hidup Penulis	92



I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Terapi sel punca tengah berkembang pesat. Perkembangan ini, membawa pembaharuan dalam praktik klinis kedokteran. Namun, adanya keterbatasan mengenai pemahaman metodologi dan biologi molekuler menghambat implementasi terapi sel punca (Mas-Bargues & Borrás, 2021). Walaupun demikian, terapi sel punca telah menunjukkan keberhasilan pada penyakit degeneratif (Trisnadi *et al.*, 2021; Zakrzewski *et al.*, 2019). Keberhasilan terapi sel punca didukung oleh kemampuan sel punca sebagai sel penyusun keseluruhan tubuh melalui potensi regenerasi dan diferensiasi menjadi berbagai turunan sel yang spesifik (Putra, 2019). Secara umum, setiap sel punca memiliki regulasi keseimbangan antara kematian sel matur, diferensiasi, regenerasi dan replikasi. Regulasi tersebut sebagai upaya menjaga stabilitas jumlah sel punca. Regulasi keseimbangan dan potensi sel punca sering dimanfaatkan untuk kepentingan berbagai riset laboratorium (Kumar *et al.*, 2019; Putra, 2019).

Berdasarkan asalnya, sel punca dibagi menjadi dua yaitu sel punca embrionik dan sel punca dewasa. Sel punca mesenkimal (SPM) merupakan salah satu jenis dari sel punca dewasa yang kini banyak digunakan untuk penelitian. Berbagai penelitian menyatakan bahwa SPM memiliki potensi regenerasi yang kuat, diferensiasi lebih kompleks, efek terapeutik yang baik, risiko rejeksi yang minimal dalam perbaikan jaringan, dan sebagai imunomodulator. Selain itu, sumber SPM dapat ditemukan dari darah tali pusat manusia atau *wharton jelly*. Sel punca mesenkimal tali pusat manusia cenderung lebih mudah dalam prosedur pengambilan dan murah, sehingga sering digunakan sebagai subjek penelitian pengoptimalan terapi sel punca (Anas *et al.*, 2019; Karina *et al.*, 2020; Mas-Bargues & Borrás, 2021; Ningrum & Kurniawaty, 2019; Putra, 2019).

Pemanfaatan sel punca sangat potensial untuk berbagai penyakit yaitu gagal jantung, *spinal cord injury*, diabetes melitus, ruptur tendon, degenerasi retina dan makular, *acute respiratory distress syndrome*, *Covid-19*, sepsis, pengobatan kanker dan lainnya (Boru Haloho & Legiran, 2022; Ningrum & Kurniawaty, 2019; Zakrzewski *et al.*, 2019). Walaupun demikian, terapi sel punca tidak selalu berhasil karena masih

terdapat keterbatasan terapi seperti proses diferensiasi sel punca di dalam tubuh yang belum terkontrol secara maksimal, risiko sel punca berkembang menjadi sel kanker setelah transplantasi dan respon rejeksi tubuh resipien terhadap sel punca donor. Hal ini terjadi akibat perbedaan fase siklus sel tubuh pasien dengan sel punca donor, sehingga memerlukan upaya sinkronisasi siklus sel agar meminimalisir rejeksi tubuh pasien (Widhiastuti, 2020).

Faktor-faktor yang mempengaruhi sinkronisasi siklus sel yaitu penyediaan lingkungan mikro ekstraseluler pada media kultur SPM. Komponen media kultur sel perlu diperhatikan untuk mempertahankan regenerasi dan mencegah habisnya kumpulan sel (Karina *et al.*, 2020). Media kultur terdiri dari media basal yang perlu dipastikan kaya akan nutrisi. Komponen media basal terdiri dari sumber karbon yaitu glukosa atau serum dan asam amino. Dua bahan tersebut merupakan komponen paling mempengaruhi pertumbuhan, perluasan sel dan mempercepat laju migrasi (Karina *et al.*, 2020; Nikolits *et al.*, 2021).

Beberapa penelitian melakukan upaya mengatasi keterbatasan terapi sel punca dengan mengembangkan media terkondisi. Prekondisi starvasi lingkungan media dengan rendah serum, tanpa serum dan rendah oksigen dianggap dapat mengatasi keterbatasan terapi sel punca (Harada, 2019; Kumar *et al.*, 2019). Serum merupakan komponen penting pada media kultur pertumbuhan sel punca. Fungsi serum sebagai sumber lipid, mineral, hormon, adhesi dan faktor pertumbuhan pada media basal (Gibco, 2020). Starvasi serum akan memediasi stres oksidatif pada lingkungan mikro ekstraseluler sehingga menyebabkan siklus sel inaktif, hal ini tergantung pada durasi starvasi serum. SPM yang telah dilakukan starvasi akan berada pada fase siklus *quiescence* dengan harapan sel dapat beradaptasi pada lingkungan rendah nutrisi kemudian dapat menyamakan fase siklusnya terhadap tubuh resipien setelah dilakukan transplantasi (Li *et al.*, 2019). Selain serum, asam amino juga merupakan sumber nutrisi untuk pertumbuhan dan pemeliharaan sel punca. Fungsi asam amino yaitu sebagai bahan penyusun protein sel seperti sitoskeleton dan protein-protein sinyal kaskade sinyal (Salazar *et al.*, 2016).

Pada penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa prekondisi starvasi dapat mengoptimalkan terapi seperti penyakit inflamasi, khususnya infeksi retrovirus, kanker dan meminimalisir rejeksi terhadap sel tubuh resipien. Perekondisi starvasi akan menyebabkan sinkronisasi siklus sel menuju G0 (*quiescence*) secara *in vitro* (Li *et al.*, 2019; Pawar *et al.*, 2022). Hal ini serupa dengan penelitian pengaruh starvasi terhadap viabilitas SPM. Adanya penurunan viabilitas pada penelitian prekondisi starvasi serum. Viabilitas SPM pada media dengan serum sebesar 97% sedangkan media dengan starvasi serum pada media α -MEM sebesar 73%. Namun, intervensi starvasi serum tersebut tidak mengganggu pertumbuhan dari sel punca. Hal ini menunjukkan adanya perubahan metabolisme sel setelah dilakukan starvasi sehingga SPM beradaptasi melalui proses proliferasi yang melambat (Fikriyah, 2024). Oleh karena itu, perlunya penelitian prekondisi starvasi terhadap potensi SPM lainnya sebagai pengoptimalan terapi.

Secara fisiologis, migrasi merupakan salah satu kemampuan SPM tali pusat manusia. SPM dapat bermigrasi menuju ke jaringan yang rusak untuk regenerasi sel yang rusak (Fu *et al.*, 2019; Karina *et al.*, 2020). Kemampuan migrasi berperan krusial dalam keberhasilan terapi inflamasi dan degeneratif. SPM akan bermigrasi pada jaringan sel yang ditargetkan, sehingga mendorong regenerasi sel yang sesuai (Schäfer *et al.*, 2020). Tantangan yang sering ditemui pada terapi sel punca adalah kemampuan migrasi sel punca yang tidak terkendali, membentuk resolusi persimpangan sel, sehingga berdampak patologis membentuk sel kanker. Pada penelitian Danielyan *et al.*, (2020) menyebutkan, transplantasi SPM secara *in vivo* tanpa starvasi dapat mendorong pertumbuhan tumor akibat dari peningkatan kecepatan migrasi pada SPM (Danielyan *et al.*, 2020). Penelitian tersebut menunjukkan perlu adanya upaya prekondisi starvasi pada SPM sebelum dilakukannya transplantasi untuk menjaga stabilitas adherens antar sel bermigrasi sehingga meningkatkan efektivitas pensinyalan parakrin antar sel dan kemampuan migrasi SPM (Danielyan *et al.*, 2020).

Pada penelitian Karina *et al.*, 2020, kemampuan migrasi *adipose-derived cells in vitro* pada media DMEM+FBS dengan penambahan *L-ascorbic acid* meningkat 3,05% pada jam ke-0 dibandingkan kelompok kontrol pada media DMEM lengkap

(Karina *et al.*, 2020). Penelitian lainnya menunjukkan kemampuan migrasi *hepatocellular carcinoma* menurun 30% dan 60% pada media DMEM rendah glukosa dengan starvasi serum dan penambahan metformin daripada kontrol pada media DMEM lengkap dengan serum selama 24 jam (Ferretti *et al.*, 2019). Selain itu uji migrasi pada kultur sel dermal fibroblas manusia hanya menyisakan 5-10% area terbuka pada media DMEM + FBS dengan pemberian glukosa dosis 50 mM dan 30 mM dibandingkan kelompok kontrol DMEM tanpa serum yang menyisakan area terbuka 90% (Hadi & Sandra, 2020). Hal ini menunjukkan adanya perubahan kemampuan migrasi pada media rendah serum dibandingkan dari media lengkap dengan serum.

Berbagai penelitian menyebutkan bahwa prekondisi starvasi serum pada rentang waktu 24 jam tidak mengganggu kemampuan SPM dalam bermigrasi sesuai target. Sehingga perlunya penelitian mengenai pengaruh starvasi terhadap kemampuan migrasi lebih lanjut. Pengaruh starvasi serum dan asam amino terhadap kemampuan migrasi SPM tali pusat manusia secara *in vitro* belum sepenuhnya dieksplorasi. Selain itu, belum banyak studi literatur mengenai durasi yang diperlukan untuk mengetahui pengaruh starvasi terhadap kemampuan migrasi secara *in vitro*. Oleh karena itu, pengembangan penelitian mengenai prekondisi starvasi serum dan asam amino SPM tali pusat manusia pada media DMEM dan HBSS (*low glucose + electrolyte only*) sangat dibutuhkan dengan harapan dapat mengoptimalkan terapi, meningkatkan pemahaman dasar mengenai SPM serta memberikan peluang dan harapan sebagai kemajuan terapi medis untuk berbagai jenis penyakit yang melibatkan kerusakan sel bersifat *irreversible*.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dijelaskan, rumusan masalah pada penelitian ini adalah “Apakah terdapat pengaruh starvasi pada kemampuan migrasi SPM tali pusat manusia dengan metode *scratch assay*?”.

C. Tujuan dan Manfaat

1. Tujuan

a. Umum

Mengetahui pengaruh starvasi pada kemampuan migrasi SPM tali pusat manusia dengan metode *scratch assay*.

b. Tujuan Khusus

- 1) Mengetahui perbedaan kemampuan migrasi sel punca mesenkimal tali pusat manusia dalam media MK, BASAL, dan HBSS pada 4 jam pertama secara *in vitro*
- 2) Mengetahui perbedaan kemampuan migrasi sel punca mesenkimal tali pusat manusia dalam media MK, BASAL, dan HBSS pada 8 jam pertama secara *in vitro*
- 3) Mengetahui perbedaan kemampuan migrasi sel punca mesenkimal tali pusat manusia dalam media MK, BASAL, dan HBSS pada 24 jam pertama secara *in vitro*
- 4) Mengetahui perbedaan kemampuan migrasi sel punca mesenkimal tali pusat manusia dalam media MK, BASAL, dan HBSS pada 48 jam pertama secara *in vitro*
- 5) Mengetahui perbedaan rata-rata kemampuan migrasi sel punca mesenkimal tali pusat manusia dalam media MK pada jam 4, 8, 24, 48 jam secara *in vitro*.
- 6) Mengetahui perbedaan rata-rata kemampuan migrasi sel punca mesenkimal tali pusat manusia dalam media BASAL pada jam 4, 8, 24, 48 jam secara *in vitro*.
- 7) Mengetahui perbedaan rata-rata kemampuan migrasi sel punca mesenkimal tali pusat manusia dalam media HBSS pada jam 4, 8, 24, 48 jam secara *in vitro*.

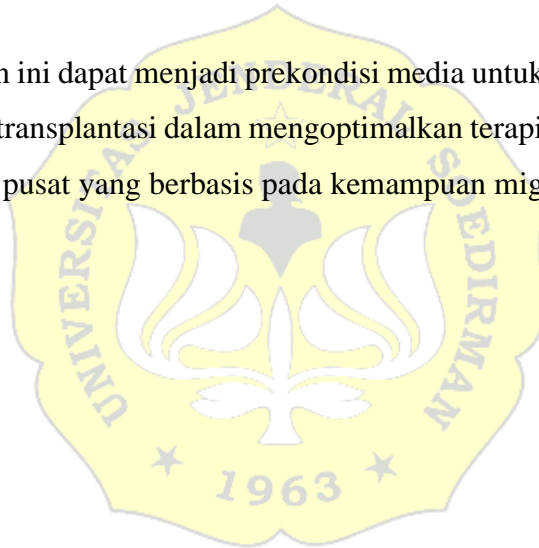
2. Manfaat

a. Manfaat Teoritis

Penelitian ini diharapkan dapat menambah wawasan ilmiah tentang starvasi dan manfaatnya pada proses migrasi sel punca mesenkimal (SPM) tali pusat manusia untuk mengoptimalkan terapi serta menjadi dasar penelitian selanjutnya mengenai migrasi sel punca mesenkimal tali pusat manusia.

b. Manfaat Praktis

- 1) Penelitian ini dapat membantu tenaga medis untuk mengetahui prekondisi starvasi serum dan starvasi asam amino. Sehingga, prekondisi starvasi dapat diimplementasikan untuk mengoptimalkan migrasi SPM tali pusat manusia.
- 2) Penelitian ini dapat menjadi prekondisi media untuk sinkronisasi siklus sel sebelum transplantasi dalam mengoptimalkan terapi sel punca mesenkimal SPM tali pusat yang berbasis pada kemampuan migrasi.



D. Keaslian Penelitian

Tabel 1. 1 Keaslian Penelitian

No.	Nama Penulis	Judul Penelitian	Persamaan	Perbedaan
1.	Karina, K., Rosadi, I., Subroto, W.R., Zaiyah, A., Afini, I., Rosliana, I., Widyastuti, T., <i>et al.</i> 2020.	Pengaruh Penambahan Berbagai Konsentrasi L-Ascorbic Acid Terhadap Kemampuan Migrasi Adipose-Derived Stem Cells Asal Manusia.	Karina <i>et al.</i> , (2020) dan penelitian ini sama-sama meneliti kemampuan migrasi pada beberapa media terkondisi dengan pendekatan studi eksperimental. Pada penelitian Karina <i>et al.</i> , (2020) dengan penelitian ini sama-sama menggunakan metode <i>scratch assay</i> .	1. Variabel bebas berbeda yaitu mengetahui pengaruh penambahan berbagai konsentrasi L-Ascorbic Acid. Sedangkan, penelitian ini hanya mengetahui starvasi serum. 2. Subjek penelitian berbeda yaitu Adipose-Derived Stem Cells asal manusia. Sedangkan penelitian ini SPM tali pusat manusia
2.	Nagelkerke, A., Bussink, J., Mujcic, H., Wouters, B.G., Lehman, S., Sweep, F.C.G.J., Span, P.N. 2013.	Hypoxia Stimulates Migration of Breast Cancer Cells via The PERK/ATF4/LAMP3-arm of the unfolded protein response.	Penelitian Nagelkerke <i>et al.</i> , (2013) dan penelitian ini sama-sama meneliti kemampuan migrasi dengan media terkondisi. Pendekatan studi eksperimental.	1. Variabel bebas berbeda yaitu mengetahui stimulasi hipoksia. Sedangkan pada penelitian ini adalah starvasi serum. 2. Subjek yang diteliti berbeda yaitu sel kanker payudara. Sedangkan pada penelitian ini SPM tali pusat manusia.

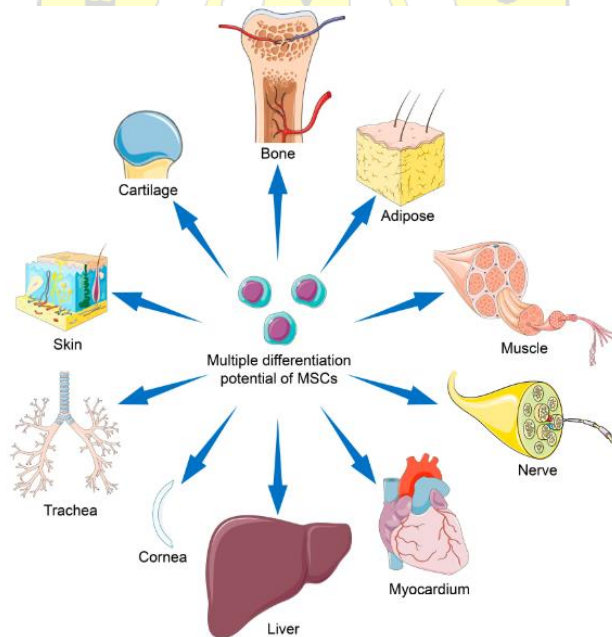
No.	Nama Penulis	Judul Penelitian	Persamaan	Perbedaan
				3. Metode yang digunakan menggunakan <i>boyden chambers</i> . Pada penelitian ini menggunakan metode <i>scratch assay</i> .
3.	Hadi, R.S., Sandra, Y. 2020.	Pengaruh Tinggi Proliferasi, Migrasi dan Ekspresi Gen OCT-4 pada Kultur Sel Dermal Fibroblast Manusia.	Glukosa terhadap Migrasi dan kemampuan migrasi dengan media terkondisi. Pendekatan studi eksperimen. Pada penelitian Hadi dan Sandra, 2020 sama sama menggunakan metode <i>scratch assay</i> .	<p>Penelitian Hadi dan Sandra, (2020) sama-sama meneliti kemampuan migrasi dengan media terkondisi. Pendekatan studi eksperimen. Pada penelitian Hadi dan Sandra, 2020 sama sama menggunakan metode <i>scratch assay</i>.</p> <p>1. Variabel bebas berbeda yaitu pengaruh glukosa tinggi. Sedangkan penelitian ini starvasi serum.</p> <p>2. Variabel terikat juga meneliti proliferasi dan ekspresi gen OCT-4. Sedangkan penelitian ini hanya meneliti migrasi saja.</p> <p>3. Subjek penelitian berbeda yaitu sel dermal fibroblast manusia, sedangkan pada penelitian ini sel punca mesenkimal tali pusat manusia.</p>

II. TINJAUAN PUSTAKA

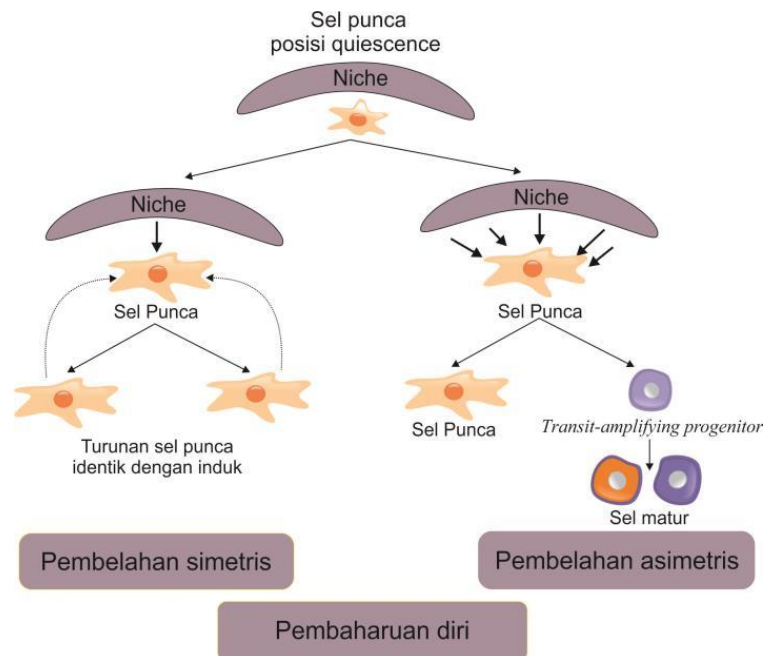
A. Materi Pustaka

1. Sel punca

Sel punca merupakan jenis sel yang belum terspesialisasi dan memiliki kemampuan untuk berproliferasi dan berdiferensiasi menjadi jenis sel apapun, dapat dilihat pada Gambar 2.1. Sel punca berperan penting pada perkembangan beberapa organ seperti tulang, saraf, kulit, otak, darah, dan organ lainnya (Boru Haloho & Legiran, 2022; Noviantari & Khariri, 2020). Sel punca memiliki kemampuan yang unik yaitu replikasi simetris dan asimetris. Hal tersebut merupakan salah satu karakteristik khas dari sel punca, dapat terlihat jelas dalam proses embriogenesis. Replikasi asimetris merupakan pembelahan sel punca yang akan menghasilkan satu sel anak mengikuti jalur berbeda dan menjadi sel matur, sedangkan replikasi simetris turunannya tetap menjadi sel punca tak terspesialisasi yang mempertahankan kemampuan regenerasi dapat dilihat pada Gambar 2.2 (Kumar *et al.*, 2019; Putra, 2019).



Gambar 2. 1 Potensi Diferensiasi Sel Punca (Han *et al.*, 2019).



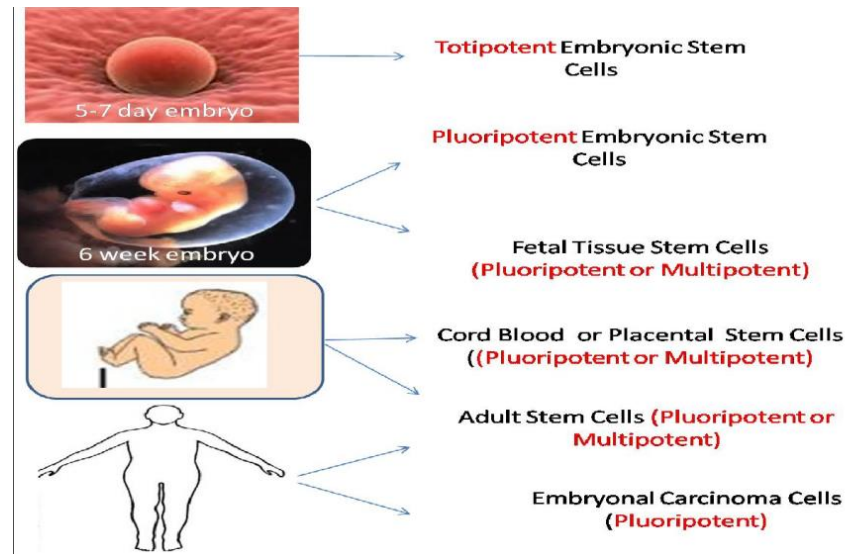
Gambar 2. 2 Replikasi Simetris dan Asimetris (Putra, 2019).

Sel punca dikelompokkan berdasarkan jenis potensinya menjadi:

- a) Totipotent: memiliki potensi diferensiasi tertinggi, dapat membelah diri dan berdiferensiasi menjadi semua jenis sel, contoh sel-sel zigot.
- b) Pluripotent: memiliki potensi diferensiasi membentuk tiga lapisan germinal embrio, tetapi tidak dapat membentuk struktur organ ekstraembrionik, contoh sel punca embrio (ESC) dan *induced pluripotent stem cells* (iPSC).
- c) Multipoten: memiliki spektrum diferensiasi lebih terbatas daripada pluripotent namun dapat berdiferensiasi menghasilkan suatu turunan sel yang spesifik, contoh sel punca hematopoietik seperti eritrosit, trombosit, dan leukosit. *Bone marrow stromal stem cell* atau sel punca mesenkimal (SPM).
- d) Oligopotent: memiliki spektrum potensi diferensiasi lebih sempit daripada multipoten. Jenis turunannya lebih sedikit, contoh sel punca myeloid seperti leukosit.

- e) Unipotent: Potensi diferensiasi terendah, spektrum potensi diferensiasi paling sempit tidak dapat berdiferensiasi menjadi jenis sel lain, hanya dapat membelah diri. Contoh sel punca dermal dan sel punca spermatogonia.

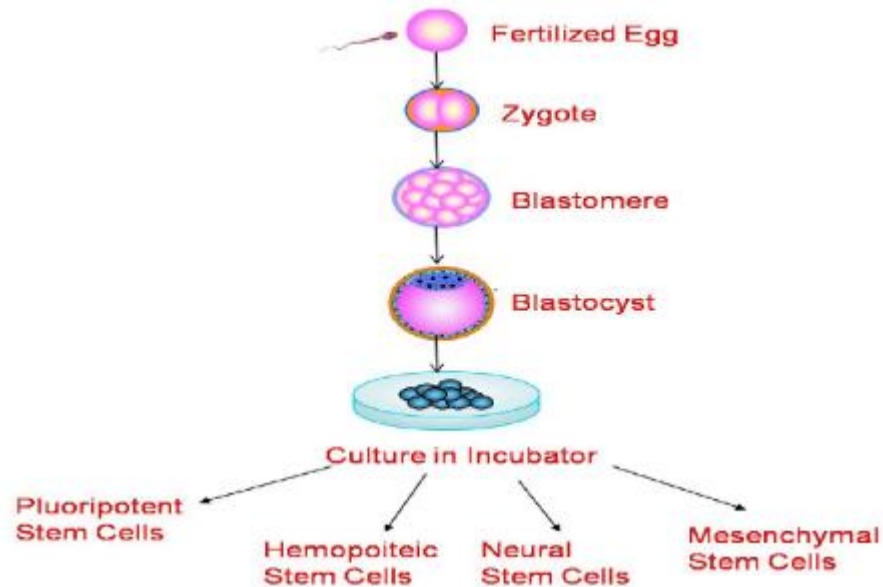
(Mahendra, 2022; Noviantar & Khariri, 2020).



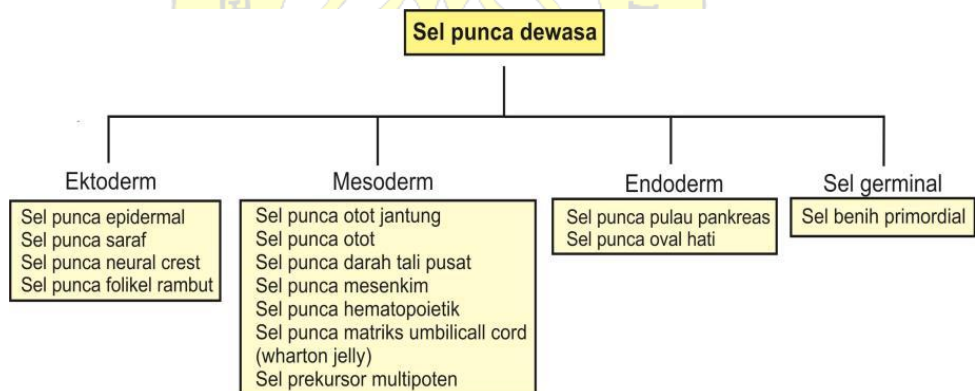
Gambar 2. 3 Klasifikasi Sel Punca Berdasarkan Potensinya (Kalra & Tomar, 2014).

Sel punca dibagi berdasarkan asalnya yaitu sel punca embrionik (*Embryonic stem cell/ESC*) dan sel punca dewasa (Mahendra, 2022). Sel punca embrionik dapat dijumpai pada *inner cell mass* blastokista saat embriogenesis. *Embryonic stem cell* merupakan sel yang memiliki kemampuan regenerasi sangat kuat serta mampu berdiferensiasi menjadi sel yang spesifik contohnya sel punca hematopoietik, sel punca neuron, sel punca mesenkimal dan sel punca pluripotent lainnya dapat dilihat pada Gambar 2.4. Namun, pemanfaatan ESC manusia masih kontroversial karena dianggap dapat menggagalkan kehidupan individu. Sedangkan, sel punca dewasa dapat menghasilkan berbagai turunan sel terdiferensiasi walaupun terbatas dibanding ESC. Sumber dari sel punca dewasa berasal dari jaringan dewasa yang telah berdiferensiasi menjadi organ spesifik setelah tahapan embrio organogenesis selesai (Putra, 2019; Anas *et al.*, 2019). Berbagai sumber sel punca dewasa dilihat pada Gambar 2.5. Sumber sel

punca dewasa mudah didapatkan sehingga dapat menunjang penelitian pengembangan terapi. Selain itu, sel punca dewasa memiliki peran penting dalam memperbaiki dan mempertahankan jaringan (Putra, 2019).



Gambar 2. 4 *Embryonic Stem Cell* (ESC) (Kalra dan Tomar, 2014).



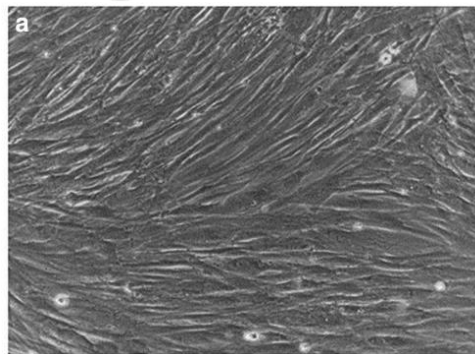
Gambar 2. 5 Klasifikasi Sumber Sel Punca Dewasa (Putra, 2019).

2. Sel punca mesenkimal

Sel punca mesenkimal (SPM) merupakan sel punca dewasa yang bersifat multipoten. SPM mampu berdiferensiasi menjadi beberapa sel penyusun tubuh. Potensi SPM sebagai peluang dalam pemanfaatan terapi sel punca. SPM ditemukan pertama kali pada sumsum tulang, namun berkembangnya penelitian saat ini, SPM telah dapat diisolasi dari beberapa

jaringan dewasa dan janin termasuk dermis, cairan sinovial, darah tali pusat, *wharton jelly* dari tali pusat, periosteum, jaringan lemak, gigi, plasenta, dan cairan amniotik (Widhiastuti, 2020; Noviantari & Febrianti, 2021). Meskipun demikian, SPM tali pusat manusia memiliki potensi diferensiasi lebih kompleks dibanding sel punca dewasa lainnya karena dapat melanggengkan *lineage* berada di antara multipoten dan pluripoten (Putra, 2019).

Pada studi sebelumnya bahwa SPM tali pusat manusia sebagai sumber sel punca mesenkimal alternatif untuk terapi sumsum tulang. SPM memiliki karakteristik yang sama dengan sel punca sumsum tulang mulai dari imunofenotipe, potensi untuk berdiferensiasi, morfologi dan fungsinya sebagai pendukung hematopoiesis (Ningrum & Kurniawaty, 2019). Selain itu, prosedur pengambilan dari SPM tali pusat lebih mudah dibanding SPM sumsum tulang (Anas *et al.*, 2019; Putra, 2019). Menurut *Mesenchymal and Tissue Stem Cell Committee of the international Society for Cellular therapy (ISCT)* merilis kriteria minimal SPM yang dapat diisolasi yaitu berbentuk *spindle-shaped cells* dapat dilihat pada Gambar 2.6, memiliki kemampuan melekat pada plastik dalam kultur jaringan standar (*plastic-adherent*), dapat mengekspresikan antigen permukaan tertentu seperti (CD (*cluster of differentiation*) 105+, CD90+, dan CD 73+) serta berdiferensiasi *in vitro* menjadi adiposit, osteoblas, dan kondroblas (Eleuteri & Fierabracci, 2019; Haloho & Legiran, 2022).



Gambar 2. 6 Gambar Sel Punca Mesenkimal (Grada *et al.*, 2017).

3. Manfaat terapi sel punca mesenkimal

Sel punca mesenkimal berperan penting dalam regenerasi dan mempertahankan homeostasis jaringan. Sel punca mesenkimal dapat berdiferensiasi menghasilkan berbagai jenis sel dan memiliki sifat imunomodulator. Berdasarkan sifat dan kemampuannya, SPM dapat mengobati penyakit degeneratif, perbaikan jantung, meningkatkan hasil transplantasi sumsum tulang, dan meregenerasi jaringan ikat (Ningrum & Kurniawaty, 2019). Sel punca mesenkimal mampu mensekresi mediator angiogenik dan sitokin untuk memperbaiki jaringan rusak. Sel punca mesenkimal sebagai imunomodulator dapat menekan proliferasi sel T, inhibisi proliferasi dari sel B, menekan migrasi, maturasi, dan presentasi dari sel dendritik. Sel punca mesenkimal juga dapat mensekresi molekul bioaktif sebagai antiinflamasi seperti prostaglandin E2, IL-10, TGF β 1. Molekul anti inflamasi tersebut dimanfaatkan sebagai antimikroba. SPM berperan pada neovaskularisasi dengan mensekresi Ang1 untuk mengembalikan permeabilitas epitel, *matrix metalloproteinase 3* (MMP 3) dan MMP 9, serta mensekresi VEGF dan *epidermal Growth factor* (EGF) berfungsi mempercepat epitelisasi dengan meningkatkan proliferasi endotel. Mekanisme tersebut seringkali dimanfaatkan dalam pengobatan rekonstruksi kerusakan jaringan yang bersifat *irreversible* pada sistem muskuloskeletal, sistem saraf, miokardium, hati, kornea, trakea, dan kulit (Han *et al.*, 2019; Ningrum & Kurniawaty, 2019).

Sel punca mesenkimal hingga saat ini masih banyak diteliti karena diyakini memiliki efek terapeutik yang baik (Mahendra, 2022). Menurut Han *et al.*, (2019) SPM dalam pemanfaatan terapi sel punca memiliki risiko lebih rendah terjadinya pembentukan teratoma, lebih aman menurut etika daripada *embryonic stem cell*, mudah diisolasi, dan dapat bermigrasi ke jaringan yang rusak (Han *et al.*, 2019). Perkembangan saat ini terkait pemanfaatan SPM telah menjangkau beberapa pertumbuhan, pemeliharaan, perkembangan dan perbaikan sel maupun jaringan di otak, kulit darah, otot, saraf, tulang dan organ tubuh lainnya. Kemampuan tersebut sangat potensial untuk dikembangkan

sebagai pengobatan regeneratif berbagai penyakit seperti diabetes melitus, stroke, dan hipertensi (Widhiastuti, 2020). Terapi sel dimanfaatkan untuk menyembuhkan dan meringankan penyakit melalui transplantasi sel hidup dan intak. Sel punca mesenkimal dapat membantu dalam penyembuhan luka pada terapi kulit dan mengurangi jaringan parut dengan cara bermigrasi ke daerah kulit yang cedera, meningkatkan potensi proliferasi dan diferensiasi sel epidermis, fibroblas, dan sel endotel serta menghambat reaksi inflamasi. Sel punca mesenkimal juga dapat diaplikasikan untuk peremajaan kulit sebagai anti-aging melalui kemampuannya dalam re-epitelisasi yang efisien dan sekresi beberapa *growth factor*. Hal ini sangat berperan dalam regenerasi kulit. Selain itu, SPM dapat merangsang proliferasi dan migrasi sel papila dermal dengan mendorong tahap anagen pada pertumbuhan rambut pada model tikus. Hal ini dimanfaatkan dalam terapi pada rambut rontok (Mi *et al.*, 2022).

Studi terbaru menemukan bahwa media terkondisi pada SPM memiliki dampak positif pada terapi sel punca. Sebagai contohnya pada proses homeostasis sel ginjal yang mengalami fibrosis melalui penurunan deposisi matriks ekstraseluler dan infiltrasi sel inflamasi sehingga mencegah proses apoptosis pada gagal ginjal maupun nefropati diabetik. Media terkondisi pada SPM juga diaplikasikan pada terapi diabetes melitus. Terapi sel punca dengan media terkondisi dapat menurunkan kadar glukosa darah dan dibuktikan pada pemeriksaan histopatologi yaitu pankreas mengalami peningkatan jumlah sel-sel langerhans setelah dilakukan transplantasi (Widhiastuti, 2020).

Terapi sel punca dengan memanfaatkan sifat imunomodulator mulai berkembang. Secara fisiologis, SPM memiliki sifat imunomodulator yang baik. Studi terbaru mengenai pemanfaatan sifat tersebut pada terapi *Covid-19*. Pada penelitian Shu *et al.*, 2020 pemanfaatan SPM tali pusat manusia sebagai antiinflamasi dengan merilis sitokin IL-10 dan IL-4, menurunkan fase reaktan akut, CRP, meningkatkan konsolidasi inflamasi paru, meningkatkan indeks oksigenasi, dan waktu *recovery* serta dapat meningkatkan tingkat kelangsungan hidup pada pasien *covid-19* (Winarta *et al.*, 2022).

Terapi SPM juga dimanfaatkan untuk melawan kanker melalui modifikasi molekul-molekul reseptor CD8+ yaitu antigen *receptor T-Cell* (CART-*cell*) (Hilbertina & Pawitan, 2021; Mahendra, 2022). Terapi genetik merupakan implementasi terapi SPM terbaru. Konsep terapi genetik dengan mengganti lokus gen abnormal penyebab kelainan dengan gen normal, hal ini diterapkan pada penyakit kelainan genetik yang tidak bisa diobati melalui medikamentosa pada umumnya (Mahendra, 2022).

4. Starvasi

Nutrisi pada makhluk hidup sangat penting dalam metabolisme tubuh untuk menunjang kehidupan (Aghababazadeh & Kerachian, 2014). Pada tingkat seluler, nutrisi berperan pada pertumbuhan sel dan metabolisme sel. Secara *in vitro* kultur sel mengandung media pertumbuhan yang berisi substrat nutrisi seperti asam amino, vitamin, mineral dan sumber karbon yaitu glukosa dan penambahan serum (Gibco, 2020). Kultur SPM memerlukan kondisi media yang terstandarisasi dan kualitasnya baik. Tiga tingkatan media pertumbuhan pada kultur sel yaitu media basal, media serum tereduksi dan media tanpa serum. Secara universal media basal harus ditambahkan dengan serum. Serum yang sering digunakan pada penambahan media basal adalah *fetal bovine serum* (FBS). Hal ini, disebabkan FBS mengandung *gamma globulin*, faktor pertumbuhan lebih tinggi, dan memiliki lebih protein pelengkap. Peran serum dalam kultur sel sangat penting yaitu sebagai sumber pertumbuhan dan adhesi, permeabilitas membran sel, enzim, mikronutrien, lipid, hormon dan mineral pada media basal (Gibco, 2020).

Media serum tereduksi adalah pengurangan serum pada media basal. Sedangkan, media tanpa serum merupakan media basal tanpa serum yang sering disebut sebagai starvasi serum pada media kultur (Gibco, 2020). Starvasi diibaratkan fenomena puasa dalam makhluk hidup. Pada tingkat seluler starvasi nutrisi akan segera direspon sebagai kekurangan nutrisi sehingga akan menginduksi respon adaptasi pada sel (Aghababazadeh & Kerachian, 2014).

Sel punca akan menghemat sumber nutrisi dan energi serta memperlambat metabolisme sel selama kondisi starvasi (Maldonado & Pinedo, 2011).

Kondisi starvasi merupakan upaya prekondisi sel punca sebelum transplantasi sel untuk mengoptimalkan terapi (Giannasi *et al.*, 2023). Kelebihan dari starvasi serum menjadikan media pertumbuhan yang selektif, misalnya pada SPM yang mampu beradaptasi dalam kondisi starvasi, tidak mengalami apoptosis, proliferasi yang berlebihan, dan memperpanjang kelangsungan hidup SPM. Selain itu, manfaat dari starvasi serum yaitu menjaga performa SPM lebih konsisten, meningkatkan produktivitas, baik untuk evaluasi fungsi seluler, kontrol yang lebih baik terhadap respon fisiologis, dan meningkatkan deteksi mediator seluler. Namun, kelemahan dari prekondisi starvasi membutuhkan formulasi media yang spesifik dalam mempertahankan pertumbuhan sel, memperlambat pertumbuhan, serta mengakibatkan respon *autophagy* (Nuschke *et al.*, 2016; Gibco, 2020). Selain itu sumber nutrisi dari kultur sel yang dapat dimodifikasi adalah asam amino. Asam amino merupakan penyusun protein sel seperti sitoskeleton yang berperan pada migrasi sel. Peran asam amino pada kultur sangat penting untuk menunjang pertumbuhan seluler (Salazar *et al.*, 2016).

a. Perubahan fisiologis pada kondisi starvasi

Sel punca mesenkimal (SPM) yang diinkubasi dalam media basal dengan starvasi serum dapat menyebabkan proliferasi sel menjadi homogen serta menginduksi SPM dalam fase *quiescence* G0/G1 (Pirkmajer & Chibalin, 2011). Pengaruh starvasi serum pada siklus sel banyak diteliti untuk meminimalisir keterbatasan sel punca dalam terapi. Hal ini berkaitan dengan tantangan terapi sel punca yaitu rejeksi respon imun tubuh resipien dengan sel donor. Sehingga, keberhasilan terapi sel punca dipengaruhi oleh lingkungan mikro intraseluler maupun ekstraseluler (Menshikov *et al.*, 2021). Oleh karena itu, perlunya upaya untuk mensinkronisasi fase siklus SPM melalui media kultur terkondisi seperti prekondisi starvasi. Prekondisi starvasi nutrisi pada kultur sel direspon oleh sel punca sebagai kondisi

kelaparan. Kekurangan nutrisi seperti serum dan asam amino dapat mempengaruhi sintesis protein dan pertumbuhan sel melalui jalur mTOR. Akhir dari mekanisme tersebut adalah menghambat inisiasi translasi pada siklus sel (Pirkmajer dan Chibalin, 2011).

Prekondisi starvasi SPM akan menginduksi degradasi molekul penyimpanan ATP seperti glikogen, peningkatan proteolisis hingga mengalami *autophagy* (Maldonado & Pinedo, 2011; Pirkmajer & Chibalin, 2011). *Autophagy* merupakan respon homeostasis untuk mempertahankan siklus sel pada kondisi starvasi. Saat kondisi starvasi menyebabkan kadar ATP rendah sehingga akan mengaktivasi *Adenosine Monophosphate Protein Kinase* (AMPK) sebagai sensor kadar nutrisi pada sel. AMPK berfungsi mengatur transkripsi dan promotor gen serta regulasi ekspresi gen biosintesis. AMPK akan menghambat aktivitas mitokondria dengan tujuan menghemat ATP yang dikeluarkan sehingga kemampuan proliferasi dan pertumbuhan sel menurun. Sedangkan, pada starvasi asam amino dapat menghambat jalur mTOR. Protein mTOR berperan dalam proliferasi sel melalui peningkatan sintesis protein. Penghambatan jalur mTOR mempengaruhi siklus sel menjadi inaktif. Starvasi serum maupun starvasi asam amino, keduanya menyebabkan aktivasi AMPK serta penghambatan jalur mTOR sehingga menghentikan siklus sel G0/G1 (*quiescence*) (Maldonado & Pinedo, 2011). Selain itu, starvasi SPM dapat mempengaruhi diferensiasi sel melalui aktivasi *autophagy* sebagai respon homeostasis sel untuk menjaga siklusnya dalam kondisi *quiescence* (Ceccariglia *et al.*, 2020).

Pada penelitian *in vitro*, starvasi intermiten *earle's balanced salt solution* (EBSS) dapat menginduksi maturasi pada stem cell embrionik derivat kardiomyosit manusia. Hal ini merujuk pada penelitian *in vivo* bahwa EBSS menginduksi pematangan kardiomyosit pada neonatus setelah lahir. Pada kondisi tersebut, neonatus mengalami kekurangan nutrisi cukup berat dan membentuk autofagosom secara masif pada jantung selama

perkembangan. Penelitian tersebut menjelaskan bahwa mekanisme *autophagy* dan *protein recycle* merupakan respon dari starvasi nutrisi, stress, dan hipoksia. (Jang *et al.*, 2018; Cai *et al.*, 2019; Chen *et al.*, 2012; Pirkmajer & Chibalin, 2011).

b. Potensi pemanfaatan starvasi sel punca mesenkimal

Starvasi serum dimanfaatkan sebagai prosedur rutin prekondisi sel punca sebelum dilakukan intervensi pengoptimalan pengobatan berbasis sel punca (Aghababazadeh & Kerachian, 2014). Starvasi SPM sudah diterapkan pada kombinasi terapi kemoterapi pada pasien kanker. Intervensi pengurangan nutrisi seperti serum sebagai sumber glukosa dapat melindungi sel-sel normal yang terpapar kemoterapi pada percobaan sel-sel mamalia. Penelitian tersebut telah membuktikan jika starvasi nutrisi dapat menginduksi regenerasi pada kerusakan DNA dan sebagai immunosupresi (Buono & Longo, 2018).

Starvasi serum tidak hanya dimanfaatkan dalam bentuk transplantasi sel tetapi pemanfaatan sekretom sel punca kini tengah berkembang. Sekretom sel merupakan sekumpulan biomolekul imunohistokimia, seperti marker aktivitas parakrin, sitokin pro inflamasi, protein, asam nukleat dan vesikel ekstraseluler lainnya yang disekresikan oleh SPM (Chouaib *et al.*, 2023). Pada penelitian Li *et al.*, 2021 menjelaskan adanya peningkatan ekspresi Notch1, Jagged1, DII4 dan Hes1 pada mikrovaskular sel endotelial (MSE) otak tikus dan sel embrionik (SE) tikus setelah dilakukan starvasi serum. Selain itu, starvasi serum juga menghambat proliferasi MSE. Starvasi serum membantu membuktikan bahwa terdapat proses stres pada MSE yang mengakibatkan kerusakan endotelial ditandai dengan peningkatan jalur notch1 sebagai mediator angiogenesis vaskular. Marker tersebut dimanfaatkan untuk mendeteksi *Brain arteriovenous malformation* (BAVM) (Li *et al.*, 2021).

Pemanfaatan sekretom sel punca lainnya yaitu sebagai marker kekambuhan dan dormansi pada sel kanker epitelial ovarium secara *in vitro*.

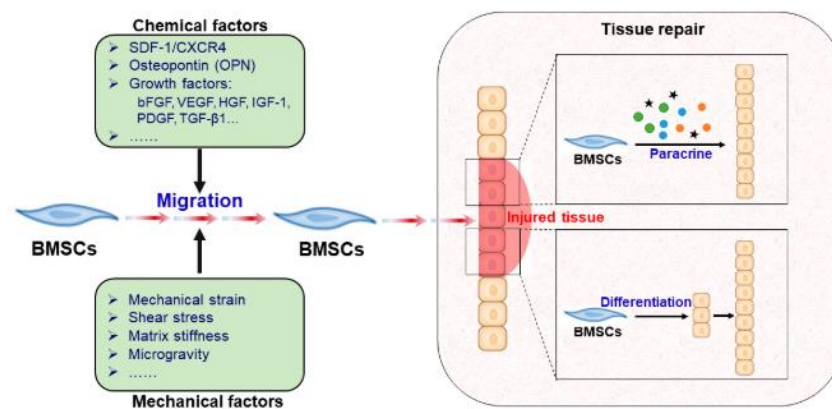
Hal tersebut dapat membantu klinisi untuk mendeteksi kekambuhan dan menilai efektivitas keberhasilan terapi. Pada penelitian Rutecki *et al.*, (2023) menunjukkan bahwa intervensi starvasi serum selama 72 jam menyebabkan berhentinya siklus sel kanker epitelial ovarium pada fase G0/G1 ditandai dengan penurunan sekresi ki67. Selain itu, uji pengembalian proliferasi ditandai dengan peningkatan fenotipe ERK1/2 dan penurunan aktivitas MAPK p38. Marker tersebut dimanfaatkan untuk mendeteksi kekambuhan kanker epitelial ovarium dengan intervensi pemberian kembali serum FBS 5% (Rutecki *et al.*, 2023). Selain itu, starvasi glukosa dan penambahan metformin dapat menghambat migrasi sel karsinoma hepatoselular. Penelitian tersebut menunjukkan bahwa metformin dan starvasi bisa menjadi pilihan terapi pada karsinoma hepatoseluler (Ferretti *et al.*, 2019).

5. Migrasi sel punca

Sel punca mesenkimal (SPM) memiliki kemampuan untuk bermigrasi, berperan penting menjaga homeostasis dan perbaikan jaringan dewasa. Proses migrasi sel punca sangat berperan krusial terhadap terapi sel punca. Kemampuan migrasi dimulai dari embriogenesis, bahwa sel punca akan membelah, bermigrasi jauh menuju dan menetap di lokasi baru dan berdiferensiasi menjadi organ yang terspesialisasi (Lucas *et al.*, 2018). SPM mampu menuju lokasi cedera mendorong regenerasi jaringan. Salah satu contoh turunan SPM adalah sel otot rangka, sel tersebut memiliki kapasitas besar untuk beregenerasi dan bermigrasi dalam miogenesis. Hal tersebut menjadi dasar teori pemanfaatan migrasi SPM pada pengobatan penyakit tulang. Namun, apabila proses migrasi SPM menyimpang dapat memberi dampak sebaliknya yaitu menimbulkan berbagai penyakit tulang (Su *et al.*, 2018).

Regulasi migrasi sel punca mesenkimal dipengaruhi beberapa faktor, baik faktor kimia maupun faktor mekanis. Faktor kimia yang mempengaruhi adalah kemokin yaitu *stromal derived factor-1* (SDF-1)/*chemokine receptor 4* (CXCR4), sitokin (osteopontin), *growth factor* (bFGF, VEGF, HGF, IGF-1,

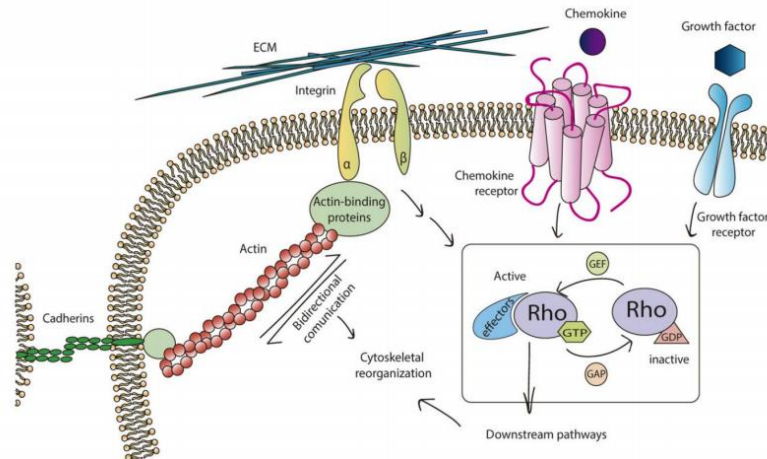
PDGF, TGF- β 1) dan faktor mekanis yaitu seperti tegangan mekanis jaringan akibat dari cedera dan tegangan matriks maupun pembuluh darah (Fu *et al.*, 2019). Selain itu adapun faktor lingkungan mikro ekstraseluler *in vitro* yang dapat mempengaruhi migrasi seperti hipoksia, kekurangan nutrisi, pH, dan kontaminasi bakteri atau virus (Lucas *et al.*, 2018; Iwasa *et al.*, 2017). Faktor-faktor tersebut perlu diperhatikan, sehingga SPM dapat bermigrasi dan berdiferensiasi menjadi sel yang sesuai, contohnya pada proses perbaikan jaringan dilihat pada Gambar 2.6 (Fu *et al.*, 2019). Mekanisme tersebut memerlukan adhesi sel matriks serta kombinasi kontraktilitas sitoskeleton aktin untuk mengenali perubahan *extracellular matrix* (ECM) akibat jaringan yang rusak misalnya, pada kondisi peradangan akut, terdapat perubahan kondisi ECM menyebabkan perekrutan sitokin dan kemokin. Faktor proinflamasi tersebut akan dikenali oleh sel *T like receptor* (TLR) kemudian menginduksi migrasi SPM pada lokasi cedera (Lucas *et al.*, 2018; Fu *et al.*, 2019).



Gambar 2. 7 Faktor-Faktor Mikroseluler Migrasi Pada Perbaikan Jaringan (Fu *et al.*, 2019).

Proses migrasi dimulai ketika adanya rangsangan mekanis seperti jaringan yang terluka. Rangsangan tersebut diterima oleh reseptor kemokin dan faktor pertumbuhan. Selanjutnya, diteruskan kepada reseptor *integrine* dan *cadherine*. Kemudian rangsangan mekanis tersebut mengaktifkan kaskade persinyalan yang diterima oleh famili Rho dari GTPase. Protein tersebut berperan mengatur reorganisasi sitoskeleton aktin, mengontrol pertumbuhan sel

dan regulasi transkripsional. Selain itu, RhoA akan mengaktifkan Rho kinase (ROCK) untuk meningkatkan aktivitas miosin II. Protein miosin II berfungsi mempertahankan tegangan sebagai rangsangan mekanis sehingga migrasi akan terus berlangsung hingga terdapat perbaikan jaringan yang cedera dapat dilihat Gambar 2.8 (Lucas *et al.*, 2018; Nam *et al.*, 2020).



Gambar 2. 8 Regulasi Migrasi Sel Punca (Lucas *et al.*, 2018).

Proses migrasi berperan penting pada proses fisiologis perbaikan jaringan dengan konsep meregenerasi sel dirinya sendiri (*self-regenerated/self renew*). Pada mekanisme penyembuhan luka, migrasi berperan pada fase proliferasi dimana terjadi migrasi fibroblas, deposisi matriks ekstraseluler dan pembentukan jaringan granulasi yang merangsang proses epitelisasi serta penguatan jaringan melalui peran fibroblas yang memproduksi kolagen (Widhiastuti, 2020). Mekanisme tersebut memberikan peluang pemanfaatan terapi sel punca terutama pada penyakit-penyakit degeneratif yang melibatkan kerusakan sel atau jaringan secara *irreversible*. Misalnya, pada kerusakan tulang bahwa proses migrasi osteoprogenitor menjadi awal proses angiogenesis pada lokasi yang cedera. Keberhasilan regenerasi sel punca tentunya bergantung pada proses migrasi yang berlangsung dengan baik. Contoh pemanfaatan migrasi pada penyakit lain, diantaranya diabetes melitus, stroke, infark miokard, gangguan ginjal dan rheumatoid arthritis (Widhiastuti, 2020).

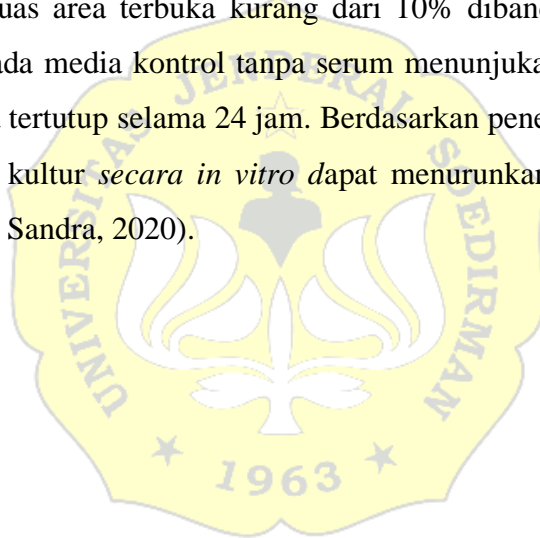
Pemanfaatan proses migrasi telah diujikan pada deteksi dan pengobatan kanker. Pada pengobatan kanker berbasis sel punca, kemampuan motilitas dan kapasitas migrasi yang tinggi menjadi prasyarat terapi sel punca pada pengobatan kanker. Prasyarat tersebut diharapkan dapat menuju lokasi anatomi yang ditargetkan. Selain itu, kemampuan migrasi yang tinggi dimanfaatkan sebagai pengangkutan agen onkolitik dalam terapi kanker (Danielyan *et al.*, 2020). Proses migrasi sel punca dapat dijadikan sebagai marker migrasi sel punca kanker kolorektal mencakup Oct4, Sox2, c-Myc dan Klf4. Diketahui bahwa, marka tersebut menunjukkan adanya metastasis malignansi yang menggambarkan adanya proses migrasi yang menyimpang. (Hilbertina & Pawitan, 2021).

6. Hubungan starvasi dengan migrasi sel punca

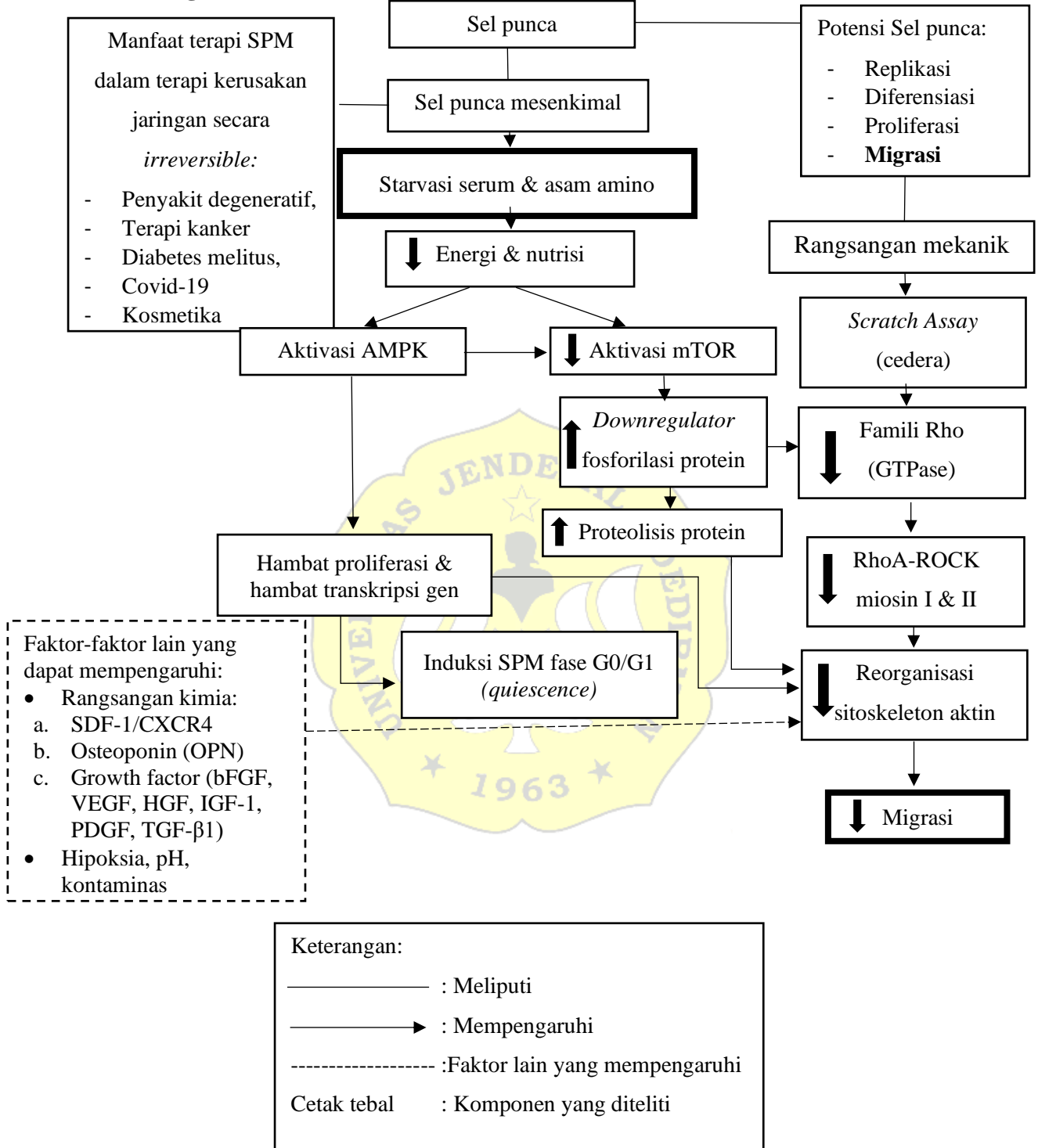
Keterbatasan penerapan terapi sel punca terdiri dari rejeksi pasien terhadap sel donor dan komplikasi yang dapat terjadi setelah transplantasi sel. Berkaitan dengan isu tersebut, semakin berkembangnya riset media terkondisi pada sel punca sebagai upaya meminimalisir keterbatasan terapi sel punca. media terkondisi dirancang mengandung berbagai metabolit aktif yang mampu mengoptimalkan kehidupan sel punca secara *in vitro* (Widhiastuti, 2020). Sama halnya pada proses migrasi sel punca tergantung pada faktor lingkungan mikrosel seperti kemotaksis, substrat pertumbuhan dan rangsangan mekanik. Pada penelitian *in vitro*, manipulasi lingkungan mikroseluler terhadap migrasi sel punca mesenkimal pulpa dentis merilis faktor turunan stroma 1 (SDF1). SDF1 merupakan kemokin yang dilepaskan oleh jaringan yang cedera. Sehingga SDF1 dapat dijadikan marker pada cedera jaringan (Lampiasi, 2023).

Starvasi merupakan upaya pengurangan nutrisi dan dapat menciptakan kondisi hipoksia pada media sel punca mesenkimal (SPM). Starvasi akan menginduksi stres internal dan pemberhentian siklus sel pada fase G0/G1 pada sel, sehingga dapat memperlambat proses migrasi yang dapat dipertahankan serta menghindari apoptosis (Pirkmajer & Chibalin, 2011). Pada penelitian sebelumnya, menjelaskan bahwa kemampuan migrasi sel *Adipose-derived stem*

cells (ADSC) optimal pada media pertumbuhan rendah glukosa yang mengandung *fetal bovine serum* (FBS) dan penambahan *L-Ascorbic Acid* (LAA) dengan konsentrasi 3% dan 6%. Penutupan luas luka pada tiga kelompok media dengan penambahan LAA 3% terjadi peningkatan 2,02x, 2,86x, 1,81x pada jam ke 0 dibandingkan dengan media kontrol DMEM tanpa serum (Karina *et al.*, 2020). Hal tersebut menunjukkan adanya proses migrasi yang lambat pada media DMEM tanpa serum. Penelitian lain berkaitan dengan uji migrasi secara *in vitro* menyebutkan peningkatan penutupan luas area luka pada kelompok sel dermal fibroblas manusia yang diberi glukosa 25mM, 30mM, dan maksimal pada dosis glukosa 50 mM. Kelompok tersebut hanya menyisakan luas area terbuka kurang dari 10% dibandingkan area tertutup. Sedangkan pada media kontrol tanpa serum menunjukkan area terbuka sekitar 90% dari area tertutup selama 24 jam. Berdasarkan penelitian tersebut, starvasi nutrisi media kultur *secara in vitro* dapat menurunkan kemampuan migrasi SPM (Hadi & Sandra, 2020).



B. Kerangka Pemikiran Penelitian

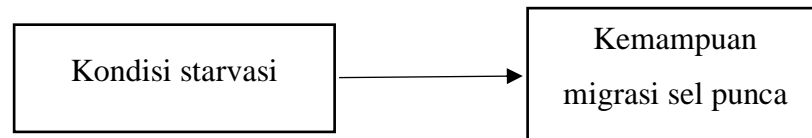


Gambar 2. 9 Kerangka Pemikiran Penelitian

C. Kerangka Konsep Penelitian

Variabel independen

Variabel dependen



D. Hipotesis

1. Terdapat perbedaan kemampuan migrasi sel punca mesenkimal tali pusat manusia pada media MK, BASAL, dan HBSS pada 4 jam pertama secara *in vitro*
2. Terdapat perbedaan kemampuan migrasi sel punca mesenkimal tali pusat manusia pada media MK, BASAL, dan HBSS pada 8 jam pertama secara *in vitro*
3. Terdapat perbedaan kemampuan migrasi sel punca mesenkimal tali pusat manusia pada media MK, BASAL, dan HBSS pada 24 jam pertama secara *in vitro*
4. Terdapat perbedaan kemampuan migrasi sel punca mesenkimal tali pusat manusia pada media MK, BASAL, dan HBSS pada 48 jam pertama secara *in vitro*
5. Terdapat perbedaan rata-rata kemampuan migrasi sel punca mesenkimal tali pusat manusia pada media MK pada jam 4, 8, 24, 48 jam secara *in vitro*.
6. Terdapat perbedaan rata-rata kemampuan migrasi sel punca mesenkimal tali pusat manusia pada media BASAL pada jam 4, 8, 24, 48 jam secara *in vitro*.
7. Terdapat perbedaan rata-rata kemampuan migrasi sel punca mesenkimal tali pusat manusia pada media HBSS pada jam 4, 8, 24, 48 jam secara *in vitro*.

III. METODE PENELITIAN

A. Rancangan penelitian

Rancangan penelitian ini merupakan studi eksperimental laboratorium metode *quasi experimental* dengan pendekatan “*post test only with control group*” untuk mengetahui pengaruh starvasi serum terhadap kemampuan migrasi sel punca mesenkimal tali pusat manusia.

B. Materi dan Bahan

1. Alat

Biosafety cabinet (BSC) (*Thermo Scientific*), pipet mikro (SOCOREX), *multi well culture plate 6-wells* (Biologix), *incubator CO₂ 5%* (Esco), omnipet, *centrifuge* (JOANLAB), *inverted microscope* (Miotic AE 2000), mesin sentrifugal (NEST), *yellow tip*.

2. Bahan

Kultur sel punca mesenkimal tali pusat manusia (*Stem Cell and Cancer Institute* (SCI)-Kalbe), media kultur *Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM)* (Gibco), *Hank's Balanced Salt Solution (HBSS)* (Gibco), *Fetal Bovine Serum (FBS)* (Sigma-Aldrich), *Phosphate buffer saline (PBS)* (Gibco), *Trypsin+EDTA* (Sigma-Aldrich), Penisilin/streptomisin (Elabsience), Alkohol 70%, *blue tip* (Onemed), *sterile disposable serological pipet* (Sigma-Aldrich), *Trypan Blue* (Gibco).

C. Rancangan Percobaan

Subjek populasi penelitian ini merupakan sel punca mesenkimal (SPM) tali pusat manusia SCI-Kalbe. Peneliti mendapatkan subjek penelitian dari laboratorium riset Fakultas Kedokteran UNSOED yang telah dibiakkan. Subjek penelitian sudah dipastikan memenuhi kriteria inklusi yaitu terdapat minimal kriteria yaitu bila dikultur dalam dish dapat melekat pada permukaan (*plastic detachment*) gambaran bentuk sel berupa *fibroblast-like cell* dan mampu berproliferasi ketika dilakukan kultur pada media komplit dalam CO₂ *incubator* 37°C (Noviantari & Khariri, 2020). Subjek yang mengalami kontaminasi pada SPM telah dikeluarkan dari subjek dan dilakukan pengulangan kultur. Sampel yang

digunakan pada penelitian ini adalah sampel gambar pengamatan area migrasi melalui mikroskop inversi sebanyak 4 lapang pandang disetiap goresan pada masing-masing jam pengamatan pada 3 kelompok perlakuan.

Pada penelitian ini sampel dibagi menjadi 3 kelompok terdiri dari media DMEM + FBS sebagai media komplit (MK), media DMEM *only* sebagai starvasi serum (BASAL) dan media HBSS sebagai starvasi asam amino (HBSS). Perlakuan migrasi menggunakan metode *scratch assay* dilanjutkan pengukuran luas penutupan area migrasi dalam persentase berdasarkan waktu dan membandingkan kemampuan migrasi pada masing-masing kelompok media. Peneliti melakukan pengukuran persentase luas penutupan migrasi setiap jam pengamatan menggunakan *software imageJ*. Perlakuan diulang satu kali untuk meminimalisir data yang tidak berdistribusi normal dan homogen. Hasil data di analisis melalui SPSS base 25.0.0.1.

Pembagian kelompok perlakuan adalah sebagai berikut:

Tabel 3. 1 Kelompok Perlakuan

Kelompok Perlakuan		Jam Pengamatan	Jumlah pengambilan Gambar Mikroskop
Media Komplit (MK/Kontrol)	Media	Jam ke-4	8 foto
	DMEM +	Jam ke-8	8 foto
	FBS (MK)	Jam ke-24	8 foto
		Jam ke-48	8 foto
Media Starvasi	Media	Jam ke-4	8 foto
	starvasi	Jam ke-8	8 foto
	DMEM <i>only</i>	Jam ke-24	8 foto
	(BASAL)	Jam ke-48	8 foto
Media starvasi asam amino (HBSS)	Media	Jam ke-4	8 foto
	starvasi asam	Jam ke-8	8 foto
	amino	Jam ke-24	8 foto
	(HBSS)	Jam ke-48	8 foto

D. Variabel Penelitian

Variabel Bebas : Starvasi serum FBS (*fetal bovine serum*) dan asam amino

Variabel Terikat : Kemampuan migrasi sel punca mesenkimal tali pusat manusia

E. Definisi Operasional Variabel

Tabel 3. 2 Definisi Operasional

Variabel	Definisi	Nilai	Skala
Starvasi serum dan asam amino	Pengondisian kultur SPM dengan mengurangi sumber nutrisi pada media pertumbuhan. Dilakukan pengurangan serum (FBS) dan asam amino (menggunakan media HBSS) pada media kultur selama 4, 8, 24 dan 48 jam.	- Media DMEM + 10% FBS (Media Komplit/MK) - Media DMEM tanpa serum (BASAL) - Media HBSS	Kategorik (nominal)
Kemampuan migrasi sel punca mesenkimal tali pusat	Pengamatan pengaruh kemampuan migrasi SPM akan diukur melalui luas area terbuka SPM setelah dilakukannya <i>scratch assay</i> dengan cara mengambil gambar dengan <i>inverted microscope</i> kemudian dikuantifikasi menggunakan <i>software imageJ</i> . Masing- masing kelompok akan dibandingkan luas penutupan migrasi sel dengan mengukur area terbuka setelah dilakukan <i>scratch</i> . Seluruh perlakuan masing masing kelompok diulang 1 kali. Sel punca mesenkimal tali pusat merupakan sel yang diisolasi dari jaringan tali pusat manusia. Pada penelitian ini, menggunakan sel punca mesenkimal tali pusat yang sudah diisolasi dan berada didalam <i>cryotube</i>	Dalam satuan %	Numerik (rasio)

Varibel	Definisi	Nilai	Skala
	yang dibekukan di <i>freezer</i> -80°C sehingga dapat dilanjutkan untuk dikultur sebagai subjek penelitian.		

F. Tata Urutan Kerja

1. Pengajuan Ethical Clearance

Dilakukan Pengajuan *ethical clearance* kepada Komite Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Soedirman.

2. Persiapan dan pembuatan media

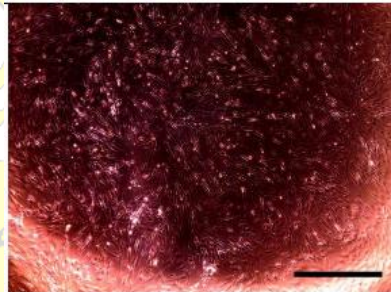
Persiapan dilakukan dengan sterilisasi alat dan bahan dengan melakukan *thawing* pada larutan PBS (*phosphate buffer saline*) FBS (*fetal bovine serum*) dalam *water bath* selama 30 menit. Seluruh proses eksperimen dilakukan dalam *Biosafety cabinet* (BSC). Peneliti memastikan alat-alat yang digunakan di dalam BSC telah disterilisasi dengan alkohol desinfektan. Dilanjutkan dengan pembuatan media komplit dan basal. Media komplit dibuat dengan memasukan 5 ml *fetal bovine serum* (FBS), 500 µl antibiotik penisilin/streptomisin tambahkan 44 ml+500 µl DMEM pada 50 ml *tube*.

3. Kultur sel

Kultur sel dimulai mempersiapkan *dish* kultur steril, *thawing* media komplit dan sel punca mesenkimal (SPM) tali pusat diambil dari *cryofile* yang disimpan dalam freezer -80°C. Kemudian, SPM disamakan dengan suhu ruangan hingga mencair. SPM dimasukkan dalam *conical* yang sudah berisi 5 ml media komplit, dilanjutkan sentrifugasi dengan kecepatan 400 *relative centrifuge force* (rcf) selama 8 menit, kemudian filtrat dibuang, tambahkan kembali media komplit sebanyak 3 ml, diletakkan *dish* 6 cm kemudian inkubasi sel dengan suhu 37°C dengan konsentrasi CO₂ sebesar 5%. Dalam pemeliharaan, media kultur sel diganti setiap hari dan dipantau untuk mencegah pertumbuhan yang berlebih dan kontaminasi.

4. Subkultur

Subkultur dilakukan ketika sel mencapai kerapatannya 80-90%. Pada penelitian ini, subkultur dilakukan 3 kali. Subkultur yang terakhir dilakukan penggantian media untuk perlakuan. Subkultur dimulai dengan penghilangan media awal yang digunakan, kemudian sel tersebut dicuci dengan *phosphate buffer saline* (PBS) sebanyak dua kali. Proses pelepasan sel dari *well-plate* (*detachment*) menggunakan *trypsin*+EDTA sebanyak 300 μ l lalu diinkubasi selama 3 menit. Sel ditambahkan dengan media komplit sebanyak 5 ml pada *conical* kemudian, disentrifugasi dengan kecepatan 400 rcf dalam waktu 8 menit. Selesai di sentrifugasi, filtrat dibuang, tambahkan media komplit sebanyak 300 μ l pada *conical*, kemudian melarutkan peletsel. Selanjutnya, 2 ml media komplit diletakkan pada masing-masing 3 *well* lalu tambahkan hasil sentrifugasi setiap 100 μ l ke dalam *well-plate* secara merata. Subkulturi diinkubasi dengan suhu optimal 37°C dan 5% CO₂.

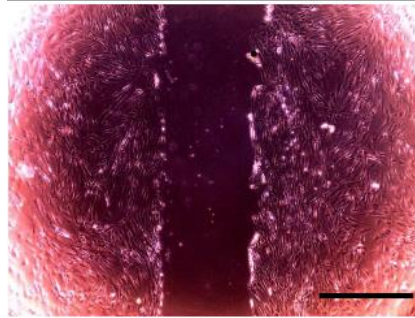


Gambar 3. 1 Contoh Gambar SPM Konfluens 80-90% (Karina *et al.*, 2020).

5. *Scratch assay*

Perlakuan *scratch assay* atau goresan manual dilakukan ketika ketiga subkultur telah mencapai konfluens 80-90%. Goresan dilakukan pada permukaan subkultur sel yang memiliki kepadatan yang sama pada ketiga subkultur. Selanjutnya, membuat goresan menggunakan ujung pipet 200 μ l dengan cara menempatkan ujung pipet di samping dinding sumuran sehingga tegak lurus dengan dasar sumuran, lalu menarik ujung pipet ke sisi lain sumuran sambil memberikan tekanan yang lembut. Sel kemudian dicuci dengan PBS

sebanyak 1 ml dan 2 kali pengulangan. Media kultur ditambahkan pada masing-masing kelompok sesuai perlakuan.



Gambar 3. 2 Contoh Gambar *Scratch Assay* Pada SPM (Karina *et al.*, 2020).

6. Perlakuan starvasi

Setelah dilakukan *scratch assay*, media diganti dengan media starvasi menggunakan mikropipet. *Well* pertama diberikan media DMEM + FBS 10% + antibiotik-antimikotik 1%, sebagai kelompok MK, *well* kedua diberikan media DMEM + antibiotik-antimikotik 0,8% sebagai kelompok BASAL, *well* ketiga diberikan media HBSS + antibiotik-antimikotik 0,8 % sebagai kelompok BASAL. Ketiga *well* tersebut dengan jumlah masing-masing volume 2,3 ml, diinkubasi dengan suhu optimal 37°C dan 5% CO₂.

7. Pengambilan sampel

Pengambilan gambar dalam bentuk foto mikroskopis sel melalui mikroskop inversi dengan lensa objektif 4x. Pengambilan gambar dimulai pada jam ke-0 ($t = 0h$) setelah dilakukan goresan. Sampel diambil dari 4 lapang pandang setiap goresan. Setiap lapang pandang diberi tanda garis untuk memastikan pengambilan gambar pada tempat yang sama. Pengambilan gambar dilakukan setiap pengamatan jam ke-4, 8, 24, dan 48 ($\Delta h(t)$).

8. Pengukuran dan perhitungan luas penutupan migrasi

Sampel gambar diedit dan dikuantifikasi menggunakan *imageJ* (National Institutes of Health, USA). Persentase luas penutupan migrasi sel punca mesenkimal (SPM) tali pusat manusia didapatkan dari pengukuran luas *free cell area* (FCA) pada daerah yang dilakukan goresan. Perhitungan luas

penutupan migrasi menggunakan luas goresan manual berupa area kosong pada dish di jam ke-0 dikurangi dengan luas penutupan migrasi setelah jam ke-4,8,24,48 kemudian dibagi dengan luas awal area kosong goresan awal dikali 100%.

Rumus penutupan goresan “*scratch assay*” pada SPM tali pusat sebagai berikut:
(Suarez-Arnedo *et al.*, 2020)

$$\text{Luas penutupan SPM (\%)} = \frac{\text{Luas Area } 0h - \text{Luas Area } \Delta h(t)}{\text{Luas Area } 0h} \cdot 100\%$$

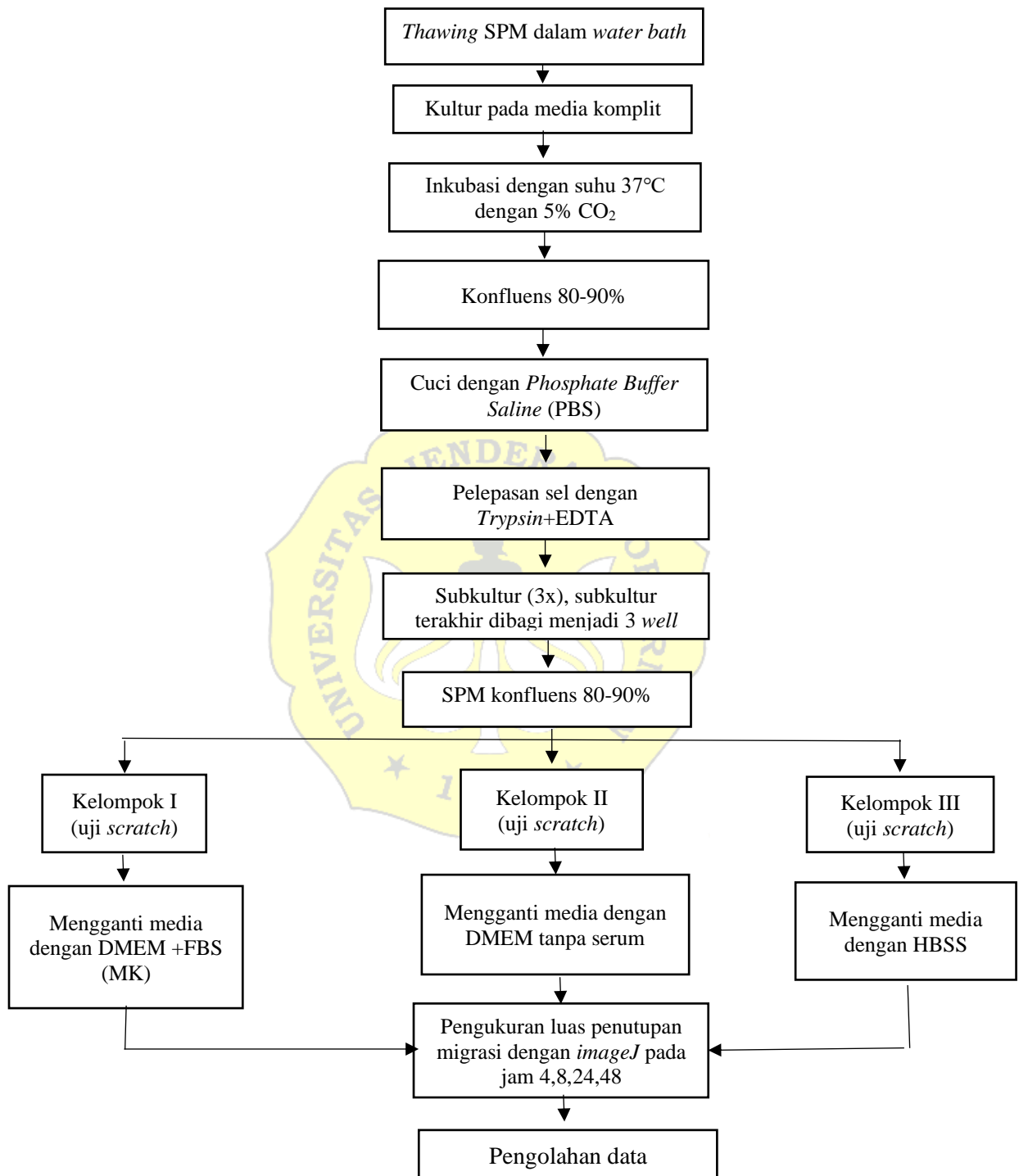
Keterangan:

- $\Delta h(t)$: Luas area terbuka yang diukur setelah dilakukan goresan pada jam-4,8, 24 dan 48
- $0h$: Luas area terbuka yang diukur setelah dilakukan goresan pada jam ke-0

9. Pengolahan dan analisis data

Data migrasi SPM yang didapatkan akan diolah dan dianalisis secara univariat dan bivariat menggunakan IBM SPSS Statistic 25.0.0.1.

G. Alur Penelitian



Gambar 3. 3 Alur Penelitian

H. Analisis Data

1. Analisis Univariat

Analisis univariat dilakukan dengan tujuan mengetahui deskripsi nilai rerata, minimum, maksimum dan standar deviasi sebagai parameter persebaran data persentase luas kemampuan migrasi setelah dilakukan *scratch assay* pada masing-masing kelompok yang disajikan melalui tabel.

2. Analisis bivariat

Persentase luas penutupan area migrasi sel pada masing-masing kelompok perlakuan dan kelompok menurut waktu pengamatan dapat diketahui melalui analisis bivariat. Uji hipotesis pada penelitian ini melalui uji komparatif skala numerik pada lebih dari 2 kelompok dan tidak berpasangan. Analisis bivariat dimulai dengan uji normalitas menggunakan *Shapiro Wilk* karena sampel yang digunakan <50 dinilai dari jumlah sampel foto yang diambil di setiap kelompok perlakuan. Data luas penutupan sel punca mesenkimal (SPM) tali pusat manusia yang tidak berdistribusi normal pada kelompok MK dengan durasi pengamatan 24 jam sehingga dilakukan transformasi. Jenis transformasi data ditentukan melalui penyajian data histogram dengan hasil *moderate negative skewness*, sehingga dilakukan transformasi data SQRT (k-x). Semua kelompok berhasil dilakukan transformasi, sehingga data berdistribusi normal dengan nilai $p > 0,05$. Selanjutnya dilakukan uji homogenitas menggunakan *Levene test*. Hasil dari uji tersebut, menunjukkan data media starvasi pada 24 dan 48 jam tidak homogen dengan nilai signifikansi $p < 0,05$. Uji parametrik tetap dapat dilakukan dengan *One-way ANOVA* dengan hasil nilai signifikan bervariasi setiap kelompok. Selanjutnya, dilakukan uji *Post-Hoc Games Howell* setelah mendapatkan hasil dari *One-way ANOVA* karena syarat data homogen tidak terpenuhi, uji ini bertujuan untuk mengetahui kelompok yang memiliki perbedaan yang berarti terhadap satu dengan yang lainnya. Tingkat kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$) sebagai signifikansi statistik pada analisis data penelitian ini.

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

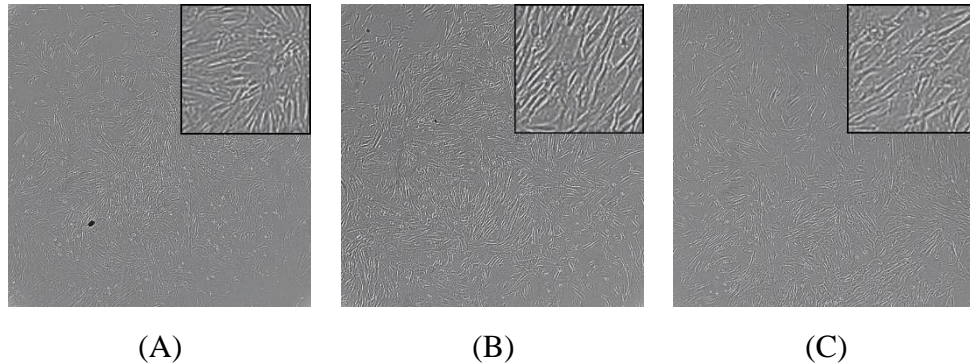
Penelitian mengenai pengaruh starvasi terhadap migrasi SPM tali pusat manusia dengan metode *scratch assay* telah mendapatkan persetujuan dari Komite Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Soedirman berdasarkan surat persetujuan etik dengan nomor 021/KEPK/PE/I/2024. Penelitian ini dimulai sejak bulan September 2024 hingga Januari 2025 yang dilaksanakan di Laboratorium Riset Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Soedirman.

1. Karakteristik Sampel dan Kultur

Sampel penelitian didapatkan dari sel punca mesenkimal (SPM) tali pusat manusia SCI-Kalbe. Sampel dilakukan kultur pada media komplit (DMEM+FBS) di inkubasi 24 jam hingga menunjukkan kerapatannya mencapai 80-90%, kemudian dilanjutkan subkultur menjadi 3 *well*. Perlakuan dimulai ketika syarat kerapatannya SPM pada masing-masing *well* terpenuhi. Selanjutnya dilakukan uji migrasi dengan metode *scratch assay* yaitu teknik goresan menggunakan mikropipet 200 μ l tegak lurus sebanyak 2 goresan, kemudian masing-masing *well* diberikan media berdasarkan kelompok yaitu media komplit DMEM+FBS (MK), DMEM only (BASAL), HBSS (HBSS).

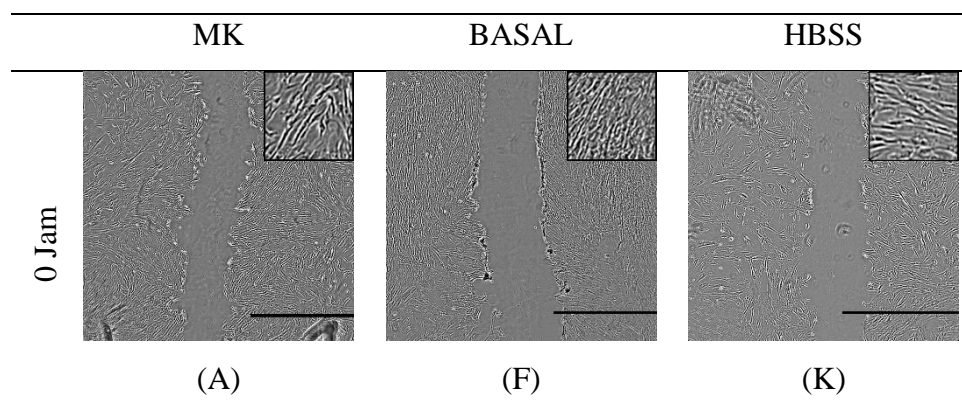
Pengamatan SPM tali pusat manusia menggunakan mikroskop inversi (Miotic AE 2000) dengan lensa objektif 4x. Pengamatan secara mikroskopis untuk menilai kepadatan sel sebagai penanda kesiapan perlakuan, mengamati morfologi sel sebagai tanda kesehatan SPM sebelum dan sesudah dilakukan perlakuan termasuk memastikan sel tidak kontaminasi dari berbagai sumber seperti, jamur, bakteri dan *mycoplasma*, serta untuk mengamati penutupan luas penutupan migrasi SPM tali pusat manusia. Sebelum perlakuan, didapatkan kepadatan di masing-masing *well* 80-90%, tampak area yang padat, dan jarak sel yang rapat dapat dilihat pada Gambar 4.1. Morfologi sel sebelum dilakukan perlakuan berbentuk

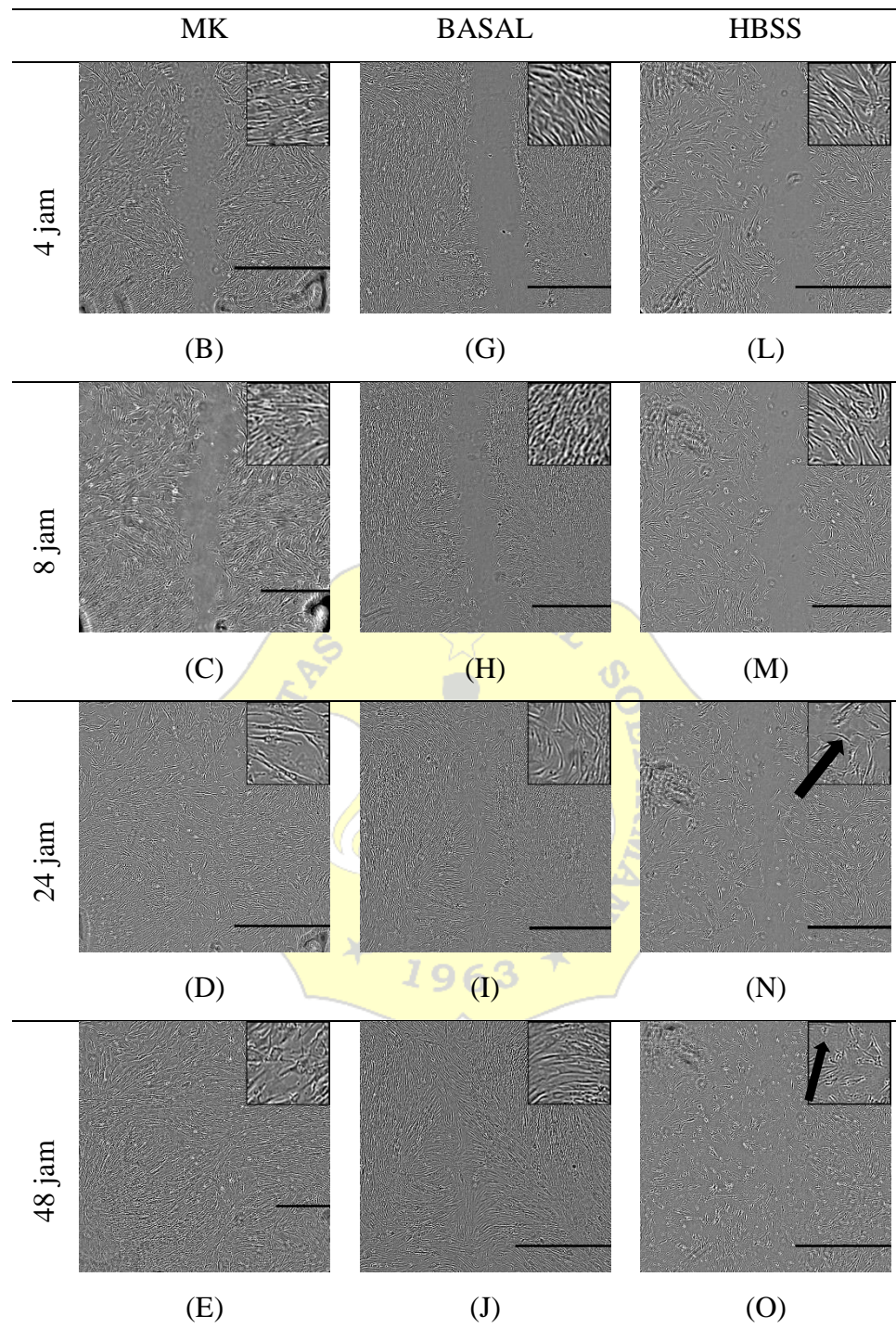
spindle-shaped cells, dengan variasi bentuk yang heterogen, monolayer melekat pada plastik cawan (*plastic-adherent*), dan bebas kontaminan sehingga dapat dilakukan pengamatan selanjutnya.



Gambar 4. 1 Morfologi Sel Punca Mesenkimal Sebelum Perlakuan
Keterangan: (A) *well* 1 untuk persiapan kelompok MK, (B) *well* 2 untuk persiapan kelompok BASAL, (C) *well* 3 untuk persiapan kelompok HBSS. Gambar mikroskop cahaya pada perbesaran 40x dalam skala abu-abu, dengan ketajaman, kecerahan dan kejernihan ditingkatkan melalui editing *ImageJ*.

Pengamatan selanjutnya dilakukan setelah perlakuan *scratch assay* atau goresan manual pada jam ke-4, 8, 24 dan 48 jam. Selama 48 jam inkubasi kelompok MK dan BASAL tidak menunjukkan perubahan morfologi, kerapatan sel tetap $\pm 90\%$ dan tidak terjadi kontaminasi. Tetapi, pada kelompok HBSS terjadi perubahan morfologi dimulai pada 24 jam inkubasi dan terus berlanjut pada 48 jam. Morfologi sel mulai mengalami penyusutan dan sebagian berbentuk bulat berfragmentasi, serta tidak terdapat kontaminasi dapat dilihat pada Gambar 4.2.



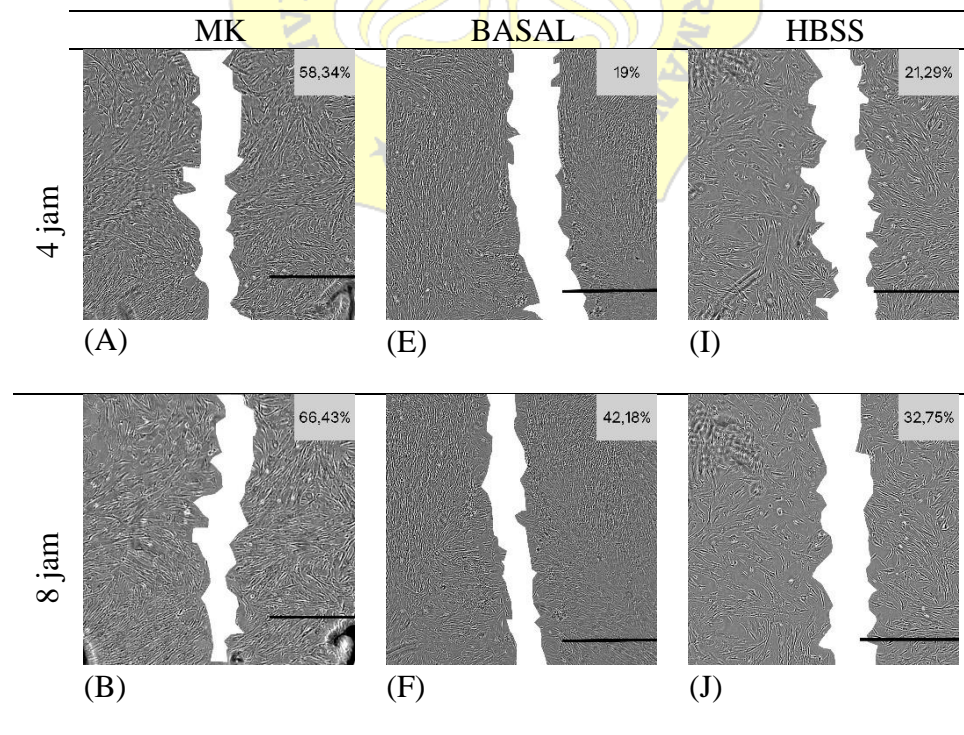


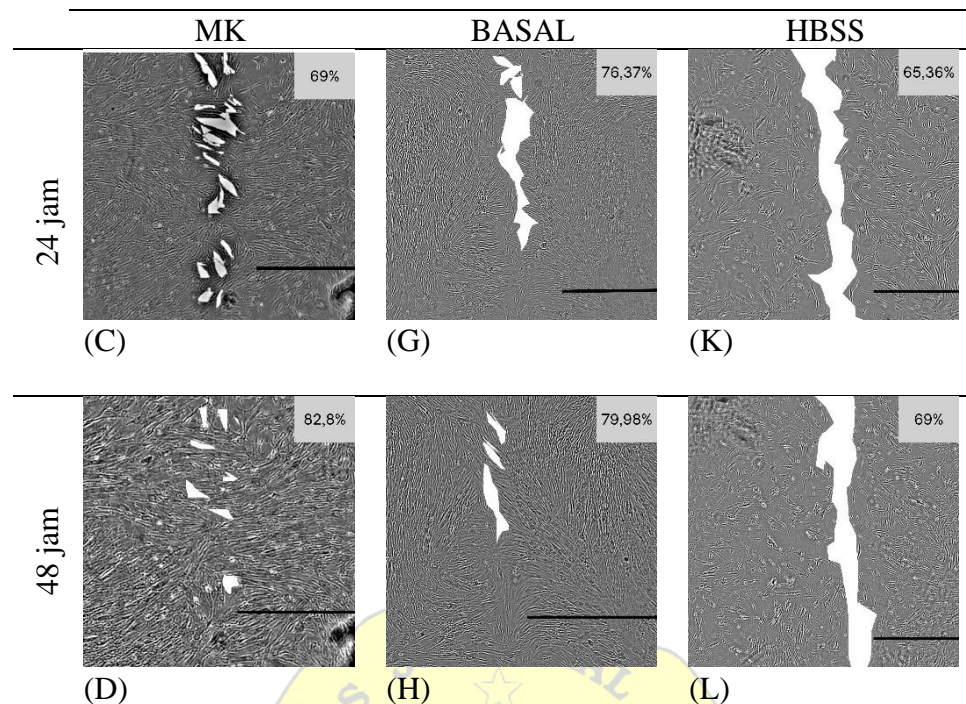
Gambar 4. 2 Morfologi Sel Punca Mesenkimal setelah dilakukan perlakuan
 Keterangan: (A) MK 0 jam; (B) MK 4 jam ; (C) MK 8 jam; (D) MK 24 jam; (E) MK 48 jam; (F) BASAL 0 jam; (G) BASAL 4 jam; (H) BASAL 8 jam; (I) BASAL 24 jam; (J) BASAL 48 jam; (K) HBSS 0 jam; (L) HBSS 4 jam; (M) HBSS 8 Jam; (N) HBSS 24 jam tanda panah menunjukkan sel menyusut berbetuk spindel tipis; (O) HBSS 48 jam tanda panah menunjukkan sel mulai berbentuk bulat berfragmentasi.

Gambar mikroskop cahaya pada perbesaran 40x dalam skala abu-abu, dengan ketajaman, kecerahan, dan kejernihan ditingkatkan menggunakan *imageJ*.

2. Migrasi SPM Tali Pusat Manusia

Pengamatan migrasi sel punca mesenkimal (SPM) tali pusat manusia melalui mikroskop inversi (Miotic AE 2000), kemudian perhitungan persentase luas penutupan area migrasi menggunakan *software imageJ*. Tampak *free cell area* (FCA) setelah dilakukan goresan manual. Area tersebut mempresentasikan seberapa luas penutupan migrasi SPM. Sampel gambar didapatkan dari mikroskop inversi sebanyak 4 lapang pandang di setiap goresan di masing-masing kelompok media. Pengambilan gambar dilakukan sepanjang durasi inkubasi dan dilakukan pengulangan sebanyak 1 kali, sehingga sebanyak 120 gambar yang akan diedit dan dikuantifikasi melalui *ImageJ*. Data yang telah terkumpul, selanjutnya dianalisis secara statistik dengan menggunakan IBM SPSS statistic 25.0.0.1. Sampel gambar luas penutupan migrasi mikroskop SPM tali pusat manusia di masing-masing kelompok dapat dilihat pada Gambar 4.3.





Gambar 4. 3 Sampel Gambar Mikroskop SPM Tali Pusat Setiap Kelompok Perlakuan

Keterangan: (A) MK 4 jam; (B) MK 8 jam; (C) MK 24 jam; (D) MK 48 jam; (E) BASAL 4 jam; (F) BASAL 8 jam; (G) BASAL 24 jam; (H) BASAL 48 jam; (I) HBSS 4 jam; (J) HBSS 8 jam; (K) HBSS 24 jam; (L) HBSS 48 jam. Gambar mikroskop cahaya pada perbesaran 100x dalam skala abu-abu, dengan ketajaman, kecerahan, dan kejernihan ditingkatkan.

a. Analisis Univariat Persentase Luas Penutupan Migrasi SPM Tali Pusat

Analisis univariat dalam penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perhitungan rata-rata, nilai minimum, nilai maksimum, dan standar deviasi sebagai indikator penyebaran data persentase luas area migrasi sel punca mesenkimal (SPM) tali pusat manusia, nilai minimum dan maksimum. Data tersebut disajikan dalam bentuk Tabel 4.1. Rata-rata tertinggi persentase luas penutupan migrasi SPM pada kelompok media MK durasi inkubasi 48 jam dengan nilai sebesar 82,80%, sedangkan rerata terendah pada kelompok media HBSS durasi inkubasi 4 jam dengan nilai sebesar 21,29%. Nilai terkecil persentase luas penutupan migrasi SPM

yaitu 1,83% pada kelompok MK durasi inkubasi 24 jam. Nilai terbesar persentase luas penutupan migrasi SPM yaitu 97,37% pada media MK dengan durasi inkubasi 48 jam. Hal ini menunjukkan pada media MK dengan durasi 48 jam, FCA hampir sepenuhnya tertutup oleh SPM sehingga dapat dikatakan media terbaik untuk menunjang kemampuan migrasi adalah MK. Selain itu, standar deviasi terbesar terdapat pada kelompok MK durasi inkubasi 24 jam dengan nilai 29,93. Standar deviasi paling rendah ditemukan pada kelompok media BASAL dengan nilai 8,44.

Tabel 4. 1 Hasil Luas Penutupan Migrasi Pada Kelompok Media Starvasi

Kelompok Perlakuan	Waktu	Rerata±SD	Min-Max
MK	4	58.34±23.56	17.43-91.57
	8	66.43±24.15	22.65-94.48
	24	69.00±29.93	1.83-92.97
	48	82.80±16.43	52.76-97.37
BASAL	4	19.00±8.44	54.24-75.04
	8	42.18±15.89	12.74-63.07
	24	76.37±10.29	58.65-89.33
	48	79.98±9.87	60.43-91.94
HBSS	4	21.29±8.45	5.17-32.13
	8	32.75±11.98	10.82-45.23
	24	65.36±11.12	53.31-81.33
	48	69.01±10.03	56.07-83.33

Tabel 4. 2 Hasil Luas Penutupan Migrasi Berdasarkan Waktu Pengamatan

Waktu	Kelompok media	Rerata±SD	Min-Max
4 Jam	MK	58.34±23.56	17.43-91.57
	BASAL	19.00±8.44	54.24-75.04
	HBSS	21.29±8.45	5.17-32.13
8 Jam	MK	66.43±24.15	22.65-94.48

Waktu	Kelompok media	Rerata±SD	Min-Max
	BASAL	42.18±15.89	12.74-63.07
	HBSS	32.75±11.98	10.82-45.23
24 Jam	MK	69.00±29.93	1.83-92.97
	BASAL	76.37±10.29	58.65-89.33
	HBSS	65.36±11.12	53.31-81.33
	48 Jam	MK	82.80±16.43
BASAL		79.98±9.87	60.43-91.94
	HBSS	69.01±10.03	56.07-83.33

b. Analisis Bivariat Persentase Luas Penutupan Migrasi SPM Tali Pusat Manusia

Hasil uji normalitas pada pada setiap media starvasi dan jam pengamatan menggunakan *Saphiro Wilk* dan uji homogenitas data menggunakan *levene test*. Hasil Uji normalitas data menunjukkan hanya pada kelompok media MK 24 jam tidak berdistribusi normal dengan nilai signifikansi ($p=0,013$) sehingga dilakukan transformasi data menggunakan SQRT ($k-x$). Uji transformasi data berdasarkan hasil nilai histogram yang menunjukkan kurva *moderate negative skewness*. Setelah dilakukan transformasi data nilai signifikansi kelompok tersebut ($p=0,676$) artinya data terdistribusi normal. Dilanjutkan dengan uji homogenitas *levene test*, pada kelompok media starvasi pada pengamatan 24 dan 48 jam didapatkan nilai signifikansi $p<0,05$ sehingga data tidak homogen.

Analisis statistik dilanjutkan uji *One-Way Anova*, Hasil data dikelompokkan menjadi media starvasi dan durasi starvasi. Berdasarkan hasil yang didapatkan bahwa terdapat perbedaan kemampuan migrasi sel punca mesenkimal (SPM) tali pusat manusia pada media MK, BASAL dan HBSS pada 4 jam ($p=0,000$) dan 8 jam ($p=0,004$) secara *in vitro* artinya bahwa terdapat

perbedaan luas penutupan migrasi SPM di ketiga kelompok media pada durasi starvasi jam ke-4 dan ke-8. Selain itu, terdapat perbedaan rata-rata kemampuan migrasi SPM tali pusat manusia pada media BASAL ($p=0,000$) dan HBSS ($p=0,000$) pada jam 4, 8, 24, dan 48 secara *in vitro* artinya bahwa masing-masing kelompok media starvasi serum dan asam amino memiliki kemampuan penutupan migrasi yang berbeda sepanjang durasi starvasi. Hasil rata-rata luas penutupan migrasi pada Lampiran 3 menunjukkan bahwa laju penutupan migrasi SPM pada media BASAL (19%, 42,18%, 76,37%, 79,98%) dan HBSS (21,29%, 32,75%, 65,36%, 69%) cenderung menurun seiring bertambahnya durasi starvasi, Hal ini dapat diasumsikan bahwa terdapat penurunan kemampuan migrasi SPM seiring dengan peningkatan lama durasi starvasi.

Tabel 4. 3 Migrasi SPM setelah starvasi 4 jam

	Kondisi starvasi	n	Nilai p (ANOVA)
Migrasi	MK	8	0,000*
	BASAL	8	
	HBSS	8	

Tanda * nilai yang signifikan $p<0,005$

Tabel 4. 4 Migrasi SPM setelah starvasi 8 jam

	Kondisi starvasi	n	Nilai p (ANOVA)
Migrasi	MK	8	0,004*
	BASAL	8	
	HBSS	8	

Tanda * nilai yang signifikan $p<0,005$

Tabel 4. 5 Migrasi SPM setelah starvasi 24 jam

	Kondisi starvasi	n	Nilai p (ANOVA)
Migrasi	MK	8	0,403
	BASAL	8	
	HBSS	8	

Tanda * nilai yang signifikan $p<0,005$

Tabel 4. 6 Migrasi SPM setelah starvasi 48 jam

	Kondisi starvasi	n	Nilai p (ANOVA)
Migrasi	MK	8	0,089
	BASAL	8	
	HBSS	8	

Tanda * nilai yang signifikan $p < 0,005$

Tabel 4. 7 Migrasi SPM pada media MK

	Durasi starvasi	n	Nilai p (ANOVA)
Migrasi	4 jam	8	0,253
	8 jam	8	
	24 jam	8	
	48 jam	8	

Tanda * nilai yang signifikan $p < 0,005$

Tabel 4. 8 Migrasi SPM pada media DMEM

	Durasi starvasi	n	Nilai p (ANOVA)
Migrasi	4 jam	8	0,000*
	8 jam	8	
	24 jam	8	
	48 jam	8	

Tanda * nilai yang signifikan $p < 0,005$

Tabel 4. 9 Migrasi SPM pada media HBSS

	Durasi starvasi	n	Nilai p (ANOVA)
Migrasi	4 jam	8	0,000*
	8 jam	8	
	24 jam	8	
	48 jam	8	

Tanda * nilai yang signifikan $p < 0,005$

Penelitian ini memerlukan hasil uji mengenai perbedaan yang bermakna antara kelompok-kelompok perlakuan dengan jumlah 30 perbandingan menggunakan uji *Post-Hoc Games Howell*. Pengujian dilakukan pada kelompok media starvasi dan durasi inkubasi. Hasil tersebut disajikan pada Tabel 4.10 dan 4.11. Hasil yang didapatkan perbandingan yang bermakna pada durasi inkubasi yang sama dengan media starvasi yang berbeda yaitu pada durasi inkubasi 4 jam terdapat perbedaan pada kelompok media MK terhadap media HBSS dengan nilai ($p=0,006$) dan kelompok

media DMEM terhadap HBSS dengan nilai ($p=0,000$). Sedangkan pada durasi inkubasi 8 jam terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok media MK terhadap HBSS dengan nilai ($p=0,013$).

Uji *Post-Hoc Games Howell* juga dilakukan untuk mengetahui perbandingan antara kelompok media yang sama dengan durasi inkubasi yang berbeda. Hasil yang didapatkan dari uji tersebut yakni bahwa terdapat perbandingan yang bermakna pada media BASAL pada jam ke-4 terhadap jam ke-8 dengan nilai ($p= 0,014$), jam ke-4 terhadap jam ke-48 dengan nilai ($p=0,048$), jam ke-8 terhadap 24 dengan nilai ($p= 0,001$), dan jam ke-8 terhadap jam ke-48 dengan nilai ($p=0,001$). Sedangkan pada media HBSS terdapat perbandingan bermakna antara kelompok jam ke-4 terhadap jam ke-24 dengan nilai ($p=0,000$), jam ke-4 terhadap 48 jam dengan nilai ($p=0,000$), jam ke-8 terhadap jam ke-24 dengan nilai ($p= 0,000$), dan jam ke-8 terhadap jam ke-48 dengan nilai ($p=0,000$).

Tabel 4. 10 Hasil *Post-Hoc* Luas Penutupan Migrasi Berdasarkan Media Starvasi

Kelompok	Perlakuan	Perbedaan Rerata	IK 95%		P-value
			Lower Bound	Upper Bound	
4 Jam	MK vs DMEM	-8.15500	-32.9824	16.6724	0.641
	MK vs HBSS	37.05125*	12.2228	61.8797	0.006*
	DMEM vs HBSS	45.20625*	34.1469	56.2656	0.000*
8 Jam	MK vs DMEM	24.25000	-2.9867	51.4867	0.083
	MK vs HBSS	33.68000*	7.6570	59.7030	0.013*
	DMEM vs HBSS	9.43000	-9.1539	28.0139	0.399
24 Jam	MK vs DMEM	0.09663	-3.1276	3.3209	0.996
	MK vs HBSS	-1.15131	-4.3563	2.0537	0.593
	DMEM vs HBSS	-1.24794	-2.8508	0.3550	0.140
48 Jam	MK vs DMEM	2.81375	-15.3814	21.0089	0.910

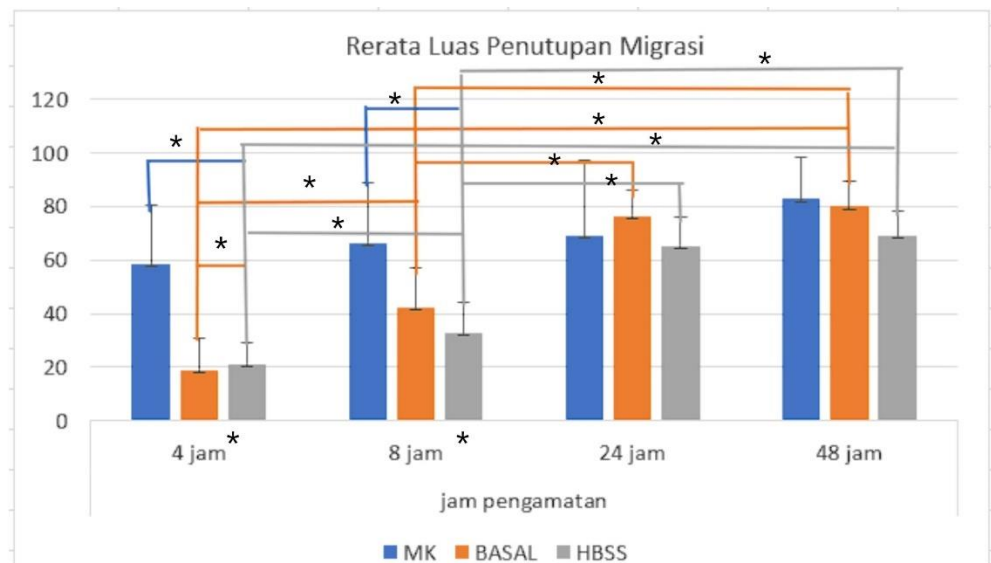
Kelompok Perlakuan	Perbedaan		IK 95%		P-value
	Rerata	Lower Bound	Upper Bound		
MK vs HBSS	13.78875	-4.4585	32.0360	0.150	
DMEM vs HBSS	10.97500	-2.0515	24.0015	0.105	

Tanda * nilai yang signifikan $p < 0,005$

Tabel 4. 11 Hasil *Post-Hoc* Luas Penutupan Migrasi Berdasarkan Waktu Pengamatan

Kelompok Perlakuan	Perbedaan	IK 95%		P-value	
		Rerata	Lower Bound		Upper Bound
MK	4 Jam vs 8 Jam	-8.08625	-42.7589	26.5864	0.904
	4 Jam vs 24 Jam	-10.66000	-50.0802	28.7602	0.857
	4 Jam vs 48 Jam	-24.45625	-54.4268	5.5143	0.126
	8 Jam vs 24 Jam	-2.57375	-42.3191	37.1716	0.997
	8 Jam vs 48 Jam	-16.37000	-46.9034	14.1634	0.421
	24 Jam vs 48 Jam	-13.79625	-50.2005	22.6080	0.672
BASAL	4 Jam vs 8 Jam	24.31875*	5.0636	43.5739	0.014*
	4 Jam vs 24 Jam	-9.87125	-23.6191	3.8766	0.203
	4 Jam vs 48 Jam	-13.48750*	-26.8830	-0.0920	0.048*
	8 Jam vs 24 Jam	-34.19000*	-54.0709	-14.3091	0.001*
	8 Jam vs 48 Jam	-37.80625*	-57.5261	-18.0864	0.001*
	24 Jam vs 48 Jam	-3.61625	-18.2772	11.0447	0.889
HBSS	4 Jam vs 8 Jam	-11.45750	-26.7482	3.8332	0.173
	4 Jam vs 24 Jam	-44.07375*	-58.5613	-29.5862	0.000*
	4 Jam vs 48 Jam	-47.71875*	-61.2496	-34.1879	0.000*
	8 Jam vs 24 Jam	-32.61625*	-49.4306	-15.8019	0.000*
	8 Jam vs 48 Jam	-36.26125*	-52.3861	-20.1364	0.000*
	24 Jam vs 48 Jam	-3.64500	-19.0562	11.7662	0.900

Tanda * nilai yang signifikan $p < 0,005$



Gambar 4. 4 Diagram *Error Bar* Rerata Persentase Luas Penutupan Migrasi

Keterangan: Diagram berwarna biru adalah kelompok MK. Diagram berwarna *orange* adalah kelompok Basal. Diagram berwarna abu-abu adalah kelompok HBSS. Tanda * menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok.

B. Pembahasan

1. Karakteristik Sampel dan Kultur

Pada penelitian ini, sampel yang digunakan sel punca mesenkimal (SPM) berasal dari jaringan tali pusat manusia yang bersifat multipoten. Berdasarkan hasil pengamatan pada mikroskop inversi kultur SPM sebelum dilakukan subkultur dapat tumbuh dengan baik pada media komplit yang berisi DMEM+10% Fetal bovine serum (FBS), antibiotik/antimikotik dengan kondisi suhu 37°C, dalam incubator 5% CO₂. Morfologi SPM yang didapatkan berbentuk menyerupai spindel dan melekat pada cawan petri, serta tidak adanya kontaminasi. Hal ini sesuai dengan kriteria minimal yang dirilis oleh *Mesenchymal and Tissue Stem Cell Committee of the International Society for Cellular Therapy (ISCT)* bahwa SPM yang dapat diisolasi berbentuk spindle-shaped cell dan mampu melekat dalam kultur jaringan standar penelitian. Selain itu, selaras dengan penelitian (Siburian & Inayati, 2021) SPM yang berhasil di

kultur pada media komplit yaitu SPM yang memiliki karakteristik morfologi berbentuk spindel dan panjang serta melekat pada tempat tumbuhnya. Hal ini dapat disimpulkan bahwa SPM sebelum perlakuan dapat bertumbuh baik di media komplit yang kaya akan nutrisi dan faktor pertumbuhan.

Sel punca mesenkimal (SPM) segera dilakukan subkultur setelah mencapai kerapatannya hingga $\pm 90\%$ pada inkubasi 24 jam. Hal ini sesuai dengan teori tata cara kultur sel bahwa SPM disarankan dilakukan subkultur setelah 24 jam inkubasi, karena kondisi kerapatan sel sudah optimal mencapai $\pm 90\%$ (Gibco, 2020). SPM dilakukan subkultur pada tiga media yang berbeda yaitu MK, BASAL, dan HBSS. Pada jam ke-0 setelah dilakukan perlakuan, morfologi pada ketiga media tersebut tidak ada perubahan. Sedangkan pada jam ke-48 hanya kelompok media MK dan DMEM yang mampu mempertahankan morfologi SPM. Hal ini menunjukkan bahwa kondisi media kultur sangat mempengaruhi kesehatan dari pertumbuhan SPM. Menurut Gibco (2020) bahwa komponen media komplit menyediakan berbagai nutrisi, *growth factor*, dan hormon pertumbuhan yang dapat menunjang pertumbuhan SPM dengan baik. Selain itu, media komplit yang digunakan pada penelitian ini mengandung *fetal bovine serum* (FBS). Serum merupakan komponen terpenting sebagai sumber faktor pertumbuhan dan adhesi, hormon, mineral dan lipid dalam media basal. FBS mengandung *gamma globulin* sebagai *growth factor* sehingga SPM dapat mempertahankan morfologinya lebih lama (Gibco, 2020).

Sama halnya pada media starvasi serum (BASAL) masih dapat mempertahankan morfologinya hingga 48 jam, hal ini selaras dengan penelitian Giannasi *et al.*, (2023) bahwa starvasi serum dengan durasi 72 jam tidak mempengaruhi morfologi khas sel seperti spindel dan *fibroblastic*. Secara fisiologis sel memiliki respon metabolisme sebagai bentuk respon adaptasi sel. Saat terjadi kondisi kekurangan nutrisi pada lingkungan media, SPM akan memicu perubahan metabolisme mitokondria untuk menghemat energi yang dilepaskan. Starvasi serum menyebabkan stres oksidatif pada sel yang dapat mempengaruhi penurunan aktivitas *suksinat dehydrogenase* sehingga

mengganggu kemampuan mitokondria dalam sintesis ATP. Pada penelitian ini, hasil yang didapatkan bahwa kelompok BASAL masih dapat mempertahankan morfologi SPM yang sehat hingga 48 jam dikarenakan pada media BASAL masih mengandung nutrisi yang cukup seperti glukosa, sehingga dapat mendukung SPM untuk merespon stres oksidatif dengan mempertahankan ekspresi antioksidan *superoxide dismutase* (SOD) yaitu SOD 1 dan 3 sehingga mampu melindungi sel dalam kondisi starvasi serum (Giannasi *et al.*, 2023).

Sedangkan pada media starvasi asam amino (HBSS) morfologi SPM mengalami perubahan dimulai pada jam ke-24 dan terus berlanjut pada jam ke-48. SPM mengalami penyusutan menjadi semakin tipis dan sebagian berbentuk bulat berfragmentasi sehingga jarak antar sel terlihat jelas. Hal ini sesuai dengan penelitian Fikriyah, (2024) yaitu adanya perubahan morfologi pada kelompok SPM dengan media HBSS pada durasi kultur dimulai 8 hingga 24 jam. Pada media HBSS kondisi SPM kekurangan nutrisi seperti asam amino, serum dan faktor pertumbuhan lainnya yang menyebabkan SPM tidak mampu untuk menghadapi stres oksidatif yang dihasilkan dari kondisi starvasi tersebut (Thoyalil *et al.*, 2023). Hal ini sesuai dengan penelitian Li *et al.*, (2019) sel punca *nucleus pulposus* mengalami penyusutan dan berubah bentuk menjadi bulat setelah dikultur dalam media *DMEM Low glucose* rendah serum selama 48 jam. Kemudian dibuktikan melalui *flow cytometry* pewarnaan ganda dengan *Hoechst 33342* dan *Pyronin Y* bahwa siklus sel berada pada status G₀. Selain itu pada analisis *western blot* menunjukkan bahwa perubahan morfologi pada sel akibat kondisi sel berada pada siklus *quiescence* serta menghasilkan ekspresi gen P27 secara signifikan.

Morfologi SPM yang mengalami penyusutan dan berubah bentuk menjadi bulat berfragmentasi pada media HBSS dapat diduga bahwa sel mengalami proses *quiescence* akibat pengaruh dari kurangnya kandungan nutrisi pada media yang digunakan. Siklus *quiescence* merupakan siklus sel yang inaktif sebagai fase G₀ artinya tidak terdapat pergerakan siklus sel. Sel dapat memasuki siklus ini karena distimulasi oleh tidak adanya *growth factor* dan

minimnya nutrisi yang menyebabkan stimulus molekul sinyal ekstraseluler pengatur *quiescence* menjadi aktif. Siklus ini bersifat sementara dan masih memiliki peluang untuk memasuki siklus kembali, apabila nutrisi dan lingkungan ekstraseluler yang mendukung (Putra, 2019). Pada kondisi starvasi SPM akan mengalami perubahan metabolisme sel yaitu membatasi respirasi mitokondria dan melakukan glikolisis aerob hingga anaerob yang dapat mempengaruhi siklus sel. Hal ini dibuktikan pada penelitian Liang *et al.*, (2020) melalui pemeriksaan imunofenotip bahwa sel punca hematopoietik dalam keadaan *quiescence* memiliki kadar MMP dan ROS yang tinggi, diukur dengan probe fluoresensi kationik berkorelasi positif dengan aktivitas mitokondria. Selain itu, starvasi juga menginduksi sel mengalami autofagi, sel secara aktif mengalami autofagosom yaitu menelan protein dan mitokondria yang rusak untuk didegradasi dan didaur ulang untuk mempertahankan homeostasis seluler. Autofagi ini berperan penting mempertahankan sel dalam kondisi *quiescence* dengan menekan metabolisme mitokondria yang aktif dan sehat (Li *et al.*, 2019; Liang *et al.*, 2020).

Pada penelitian ini, perubahan morfologi sel pada media HBSS dapat diduga karena siklus sel terhenti. Namun, tidak dapat dipastikan bahwa siklus SPM telah masuk fase *quiescence* atau *senescence*. Maka dari itu, dibutuhkan penelitian selanjutnya berupa pemeriksaan protein gen *quiescence* atau *senescence* pada pengaruh media HBSS terhadap siklus sel. Fase *senescence* yaitu kondisi sel yang inaktif dalam jangka waktu yang panjang dan bersifat irreversible. Hal ini diakibatkan sel berada pada fase G0 dalam waktu lama yang distimulasi beberapa faktor seperti proses penuaan, stres oksidatif dan sinyal *mitogenic* eksternal (Kumari & Jat, 2021; Putra, 2019).

2. Migrasi SPM Tali Pusat dengan Metode *Scratch Assay*

a. Pengaruh media terhadap kemampuan migrasi SPM

Pada penelitian ini, kami mengkaji pengaruh media terhadap kemampuan migrasi sel punca mesenkimal. Kemampuan migrasi didapatkan dari hasil pengukuran luas *free cell area* (FCA) setelah

dilakukan *scratch assay*. Kemampuan migrasi ini penting karena dapat mempengaruhi efektivitas sel punca dalam proses penyembuhan atau regenerasi jaringan. Kemampuan migrasi dinilai melalui *metode scratch assay* dengan prinsip proses penyembuhan luka. Terdapat 3 media yang kami uji untuk mengetahui pengaruh media terhadap kemampuan migrasi sel punca mesenkimal (SPM). Hasil penelitian kami menunjukkan bahwa ada perbedaan yang signifikan pada kemampuan migrasi SPM yang dikulturkan dalam media MK, BASAL, dan HBSS. Analisis dilakukan pada 4 waktu pengamatan yaitu 4, 8, 24 dan 48 jam. Pada waktu pengamatan jam ke-4 ($p < 0,000$) dan 8 ($p < 0,0000$) ditemukan perbedaan yang signifikan antara ketiga media. Hal ini menunjukkan adanya respons yang berbeda pada SPM untuk melakukan migrasi pada awal starvasi, tergantung pada kondisi media yang digunakan. Ketersediaan nutrisi pada ketiga media sangat mempengaruhi kemampuan SPM pada awal durasi starvasi. Hasil menunjukkan bahwa kelompok MK dan BASAL cenderung dapat mempertahankan kemampuan migrasinya di awal starvasi. Hal ini diperkuat pada uji *Post-Hoc* bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna pada kelompok MK dan BASAL, artinya baik pada media MK maupun BASAL memiliki respon yang serupa dalam mempertahankan kemampuan migrasi pada awal starvasi.

Media yang digunakan adalah Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) yang mengandung glukosa, asam amino, vitamin, dan *sodium pyruvate*. Glukosa merupakan sumber nutrisi utama bagi sel karena berperan sebagai bahan dasar metabolisme sel untuk menghasilkan ATP. Selain itu, asam amino berperan penting untuk sintesis protein matriks ekstraseluler yang berperan pada migrasi. Vitamin dan sodium pyruvate merupakan komponen dalam DMEM yang membantu sel menghasilkan energi melalui jalur metabolisme aerobik sehingga mendukung ketahanan sel terhadap stres oksidatif serta memfasilitasi kemampuan migrasi (ATCC, 2022; Gibco, 2020).

Pada kelompok media MK yaitu media basal yang diperkaya oleh *fetal bovine serum* (FBS) memiliki kemampuan migrasi yang paling tinggi dibandingkan dengan 2 kelompok lainnya. Hal ini disebabkan ketersediaan nutrisi kelompok MK lebih baik karena mengandung serum (FBS). FBS mengandung berbagai faktor pertumbuhan seperti *fibroblast growth factor* (FGF), *insulin-like growth factor* (IGF), *vascular endothelial growth factor* (VEGF), dan *epidermal growth factor* (EGF). Faktor-faktor tersebut mendukung proliferasi (Gibco, 2020), viabilitas dan proses migrasi melalui jalur sinyal yang terkait. FBS akan mengaktifkan jalur P13K/Akt mempengaruhi pengaturan migrasi sel melalui reorientasi sitoskeleton dan regulasi adhesi sel. Selain itu, FBS juga mempengaruhi produksi dan pemeliharaan matriks ekstraseluler (ECM) yang memfasilitasi kemampuan migrasi sel dengan mendukung integritas adhesi sel. Hal ini selaras dengan penelitian Karina *et al.*, (2020) bahwa pada kelompok MK yang ditambahkan *L-Ascorbic Acid* (LAA) tidak terjadinya perubahan metabolisme yang meningkatkan aktivitas mitokondria sehingga terjadinya penurunan ROS. Selain itu serum dan nutrisi tambahan lain seperti LAA merupakan sebagai suplemen antioksidan sehingga dapat menurunkan ROS. Penurunan ROS pada sel dapat meningkatkan produksi ekspresi gen proliferasi dan migrasi seperti AKT dan ERK 1/2 yang mengaktifkan tirosin fosfatase dan tirosin kinase, sehingga proses penutupan SPM pada FCA tetap stabil (Karina *et al.*, 2020; Putra, 2019).

Berdasarkan hasil penelitian starvasi serum pada media DMEM *only*, kemampuan migrasi masih dapat dipertahankan pada awal starvasi. Hal ini dapat diduga karena kandungan glukosa pada media DMEM sebanyak 25 μm sangat mencukupi sel untuk beradaptasi. Sesuai dengan penelitian pengaruh glukosa tinggi terhadap proliferasi dan migrasi sel fibroblas pada kadar glukosa 25-50 μm sel fibroblast masih dapat mempertahankan kemampuan migrasi, proliferasi dan pluripotensi. Sedangkan kadar glukosa yang lebih tinggi dapat meningkatkan

metalloproteinase MMPs yang dapat menurunkan kadar protein miosin, integrin, dan aktin yang menentukan viskoselastisitas *extracellular matrix* (ECM) sebagai komponen pendukung proses migrasi. Apabila kondisi ECM tidak stabil akan menurunkan kemampuan migrasi sel (Hadi & Sandra, 2020). Pada kondisi starvasi serum sel akan merespon dengan perubahan metabolisme dengan melakukan degradasi simpanan glukosa untuk menghasilkan ATP sehingga dapat memfasilitasi proses migrasi. Secara mikroskopis luas penutupan migrasi SPM pada kelompok basal lebih rendah dibandingkan kelompok MK. Penelitian ini selaras dengan penelitian Pawar *et al.*, (2022) dengan nilai signifikan $p < 0,001$ bahwa starvasi serum menurunkan proses diferensiasi dan menyebabkan perubahan sel, serta selaras dengan penelitian Karina *et al.*, (2020) bahwa kemampuan migrasi pada media DMEM tanpa serum mengalami penurunan dibandingkan dengan media komplet lainnya yang ditambahkan dengan LAA pada inkubasi.

Starvasi serum dianggap sebagai lingkungan stressor ekstraseluler yang menyebabkan sinkronisasi siklus sel. Pada starvasi serum siklus sel berhenti di *S-phase*. Starvasi serum akan memproduksi ekspresi *cyclin inhibitors* yang tinggi dengan peningkatan *factor transkripsi Forkhead box O-3a* (FOXO3a) yang memediasi faktor gen ekspresi apoptosis dan penghambatan proliferasi. Ekspresi FOXO3 diatur oleh sensor nutrisi *activated protein kinase* (AMPK), yang dimana pada kondisi starvasi serum AMPK akan teraktivasi sebagai regulasi metabolik sel yang terganggu dan menurunkan respon *mTOR pathway* sehingga sintesis protein terganggu dan meningkatkan proteolisis secara bersamaan sehingga akan menurunkan kemampuan migrasi (Ferretti *et al.*, 2019; Pirkmajer & Chibalin, 2011). Hasil uji menunjukkan bahwa luas penutupan migrasi SPM pada media BASAL mengalami penurunan, dilihat dari laju penutupan migrasi SPM sepanjang durasi starvasi. Jika dibandingkan dengan kelompok MK, kandungan nutrisi BASAL sedikit dan tidak

tersedianya faktor pertumbuhan sehingga dapat menurunkan kemampuan migrasi SPM.

Pada kelompok starvasi asam amino HBSS menunjukkan kemampuan migrasi lebih rendah dibandingkan 2 kelompok lainnya, hal ini didukung pada uji *Post-Hoc* bahwa terdapat perbedaan bermakna antara media MK terhadap HBSS dan media BASAL terhadap HBSS. penurunan kemampuan migrasi pada media HBSS dapat diduga karena komponen nutrisi dalam media HBSS hanya mengandung garam ionik untuk mempertahankan kestabilan osmotik dan pH, tetapi tidak memiliki nutrisi yang kompleks seperti faktor pertumbuhan atau serum, glukosa, faktor pengatur sitoskeleton dan protein matriks sehingga menghambat kemampuan migrasi sel yang mendukung aktivitas seluler termasuk kemampuan migrasi (Li *et al.*, 2017).

Pada kondisi starvasi asam amino juga akan mengaktifkan AMP-activated protein kinase (AMPK) yang akan mempengaruhi jalur mTOR menjadi terhambat sehingga pengaturan pertumbuhan dan metabolisme sel tidak stabil. Hal ini sesuai dengan penelitian Fikriyah, (2020) bahwa terjadi penurunan viabilitas akibat penurunan proliferasi pada media HBSS pada 24 jam. Hal tersebut juga selaras dengan penelitian Giannasi *et al.*, (2023) bahwa starvasi asam amino dapat mempengaruhi viabilitas dan proses metabolisme sel adiposa selama 72 jam. Pada kondisi starvasi gula, serum, dan asam amino memicu jalur autofagi dan mengaktifkan metabolisme mitokondria. Pada kondisi starvasi memungkinkan ROS meningkat dan mempengaruhi fungsi mitokondria untuk menghasilkan ATP hal ini dibuktikan dengan analisis ekspresi gen intraseluler FGF21 merupakan penanda stress mitokondria (Giannasi *et al.*, 2023). Hal ini sesuai dengan teori bahwa media yang dapat menunjang kemampuan migrasi SPM adalah media yang mengandung nutrisi yang cukup, mineral, keseimbangan ionik, pH, kaya akan faktor pertumbuhan, vitamin dan sitokin (Widhiastuti, 2020).

Starvasi dapat mempengaruhi mekanisme pengaturan siklus sel. Starvasi serum dan asam amino pada SPM menyebabkan sumber nutrisi terbatas, sel akan mengurangi aktivitasnya di fase G1. Fase G1 merupakan fase pertama dari siklus sel yang membutuhkan banyak energi untuk persiapan pembelahan sel. Pada kondisi starvasi akan mempengaruhi siklus sel mengarah pada fase G0 yaitu fase *quiescence*, yaitu sel tidak melakukan pembelahan lagi secara reversible. Menurut Pawar et al., (2022) bahwa hasil penelitiannya menunjukkan sel punca mesenkimal yang dilakukan starvasi serum dan glukosa menyebabkan siklus sel terhenti pada fase S. Hal tersebut dibuktikan adanya ekspresi rendah siklin spesifik mitosis, siklin B, siklin E, siklin D yang masing-masing tersebut berperan pada siklus sel. Selain itu, adanya ekspresi tinggi penghambat kinase CDKN1A (p21) dan CDKN1B (p27) pada kondisi starvasi serum (Chen *et al.*, 2012).

Siklus sel dapat mempengaruhi kemampuan migrasi. Sel yang berada dalam siklus sel fase aktif seperti G1 atau fase S cenderung lebih aktif dalam merespons rangsangan migrasi. Namun, ketika sel masih dalam kondisi adaptasi akibat starvasi yang menginduksi fase G0 akan menurunkan kemampuan migrasi. Hal ini, disebabkan karena pada fase G0, sel akan mengurangi kebutuhan sel untuk bergerak dan memperlambat transisi sel dari satu tahap siklus ke tahap berikutnya termasuk migrasi akibat terganggu reorganisasi sitoskeleton (Rutecki *et al.*, 2023; Aghababazadeh & Kerachian, 2014; Giannasi *et al.*, 2023). Secara keseluruhan, temuan ini mengindikasikan bahwa media kultur yang digunakan sangat berpengaruh terhadap kemampuan migrasi sel punca mesenkimal. Secara fisiologis, media MK memberikan kondisi yang lebih baik untuk mendukung proses migrasi SPM, yang memiliki potensi besar dalam aplikasi medis terutama terapi regeneratif dan penyembuhan jaringan (Widhiastuti, 2020). Sedangkan starvasi serum dan asam amino dapat menurunkan kemampuan migrasi SPM.

b. Pengaruh durasi starvasi terhadap kemampuan migrasi SPM

Starvasi atau kekurangan nutrisi dalam media kultur merupakan salah satu kondisi yang dapat mempengaruhi perilaku dan kemampuan migrasi sel punca mesenkimal (SPM). SPM memiliki potensi untuk berpindah atau bermigrasi ke area yang membutuhkan perbaikan jaringan, baik itu dalam kondisi normal maupun dalam situasi stress seperti starvasi. Durasi starvasi yang mengacu pada lamanya sel punca mengalami kekurangan nutrisi, dapat mempengaruhi kemampuan migrasi sel tersebut. Uji ini untuk mengetahui pengaruh durasi starvasi terhadap kemampuan migrasi sel punca mesenkimal, khususnya pada berbagai media yang digunakan dalam kultur sel.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada media MK tidak terdapat perbedaan yang signifikan dalam rata-rata kemampuan migrasi sel punca mesenkimal tali pusat manusia di seluruh periode waktu pengamatan secara *in vitro*. Dari hasil ini, dapat diasumsikan bahwa kemampuan migrasi SPM tetap stabil sepanjang periode waktu yang diamati. Temuan ini didukung oleh pengamatan mikroskopis yang menunjukkan bahwa *free cell area* (FCA) *scratch assay* hampir menutup (82,8%) pada jam ke-48. Penelitian ini, selaras dengan penelitian Karina *et al.*, (2020) bahwa tidak terdapat perbedaan signifikan kemampuan migrasi sel punca pada media komplet dengan penambahan *L-Ascorbic Acid* (LAA) 1% -3% pada 24 jam. Sedangkan, pada media BASAL dan media HBSS, kemampuan migrasi sel punca mesenkimal (SPM) tali pusat manusia mengalami penurunan seiring bertambahnya durasi starvasi. Hal ini didukung dengan uji *Post-Hoc* bahwa terdapat perbedaan yang bermakna pada media BASAL pada jam ke-4 terhadap jam ke-8, 24,48 dan jam ke-8 terhadap jam ke-24 dan 48 dengan masing-masing nilai ($p < 0,05$). Penurunan kemampuan migrasi ini mengindikasikan bahwa durasi starvasi sangat mempengaruhi kemampuan migrasi SPM pada kedua media tersebut.

Pada media HBSS tidak ditemukan perbedaan yang signifikan dalam kemampuan migrasi SPM antara periode waktu jam ke-4 dan jam ke-8, serta antara jam ke-24 dan jam ke-48. Pada awal starvasi (jam ke-4 dan jam ke-8), SPM cenderung dapat mempertahankan kemampuan migrasinya sebagai respons adaptasi didalam media HBSS. Namun pada jam ke-24 dan ke-48, kemampuan migrasi SPM mengalami penurunan yang serupa sehingga tidak ada perbedaan yang signifikan antara kedua waktu tersebut. Berdasarkan hasil tersebut menunjukkan bahwa durasi starvasi memiliki pengaruh terhadap kemampuan migrasi SPM dalam kedua media starvasi. Hal ini selaras dengan penelitian (Ferretti *et al.*, 2019) bahwa starvasi glukosa dan serum menyebabkan penurunan kemampuan migrasi pada sel hepatokarsinoma dengan durasi waktu 24 jam. Selain itu selaras dengan penelitian (Pawar *et al.*, 2022) bahwa starvasi serum dan glukosa menurunkan kemampuan proliferasi, aktivitas mitokondria dan menginduksi siklus sel menjadi inaktif dalam durasi 24 jam. Ketika SPM terpapar starvasi dalam jangka waktu yang lama regulasi protein akan terganggu, SPM akan mengalami penurunan aktivitas protein untuk membentuk sitoskeleton seperti focal adhesion kinase (FAK) dan integrin sehingga menghambat kemampuan sel untuk bergerak. Selain itu, starvasi juga akan mengaktifkan factor transkripsi *hypoxia-inducible factor 1 alpha* (HIF-1 α) yang berperan dalam mengatur sel untuk merespon kekurangan oksigen dan nutrisi, namun dalam jangka panjang pengaruhnya terhadap migrasi sel dapat terbatas, karena sel akan lebih berfokus pada adaptasi dan bertahan hidup (Iwasa *et al.*, 2017; Lucas *et al.*, 2018; Lampiasi, 2023) .

Pada jam ke-24 dan 48 tidak terdapat perbedaan kemampuan migrasi sel punca mesenkimal (SPM) tali pusat manusia di ketiga kelompok media. Temuan ini, sejalan dengan penelitian Karina *et al.*, (2020) bahwa tidak terdapat perbedaan signifikan kemampuan migrasi sel punca pada media komplit dengan penambahan *L-Ascorbic Acid* (LAA)

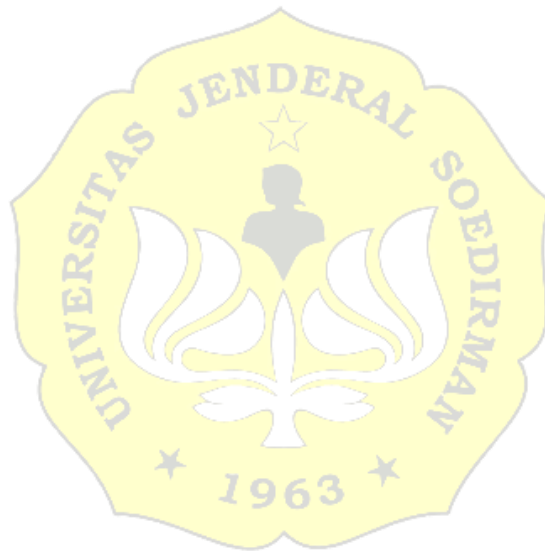
1% -3% pada 24 jam. Hal ini menunjukkan bahwa SPM pada ketiga media tersebut telah mengalami adaptasi dalam jangka waktu yang panjang (*long-term stress*) dan kemampuan migrasi SPM di ketiga media sama-sama menurun sehingga hilangnya perbedaan yang signifikan pada jam ke-24 dan jam ke-48. Pada kondisi adaptasi, sel akan memasuki fase G0 sehingga siklus sel menjadi inaktif, akibatnya kemampuan migrasi sel menurun. (Rutecki *et al.*, 2023; Aghababazadeh & Kerachian, 2014; Giannasi *et al.*, 2023). Durasi starvasi yang panjang akan menginduksi siklus sel menjadi inaktif dalam jangka waktu yang lama sehingga dapat menyebabkan SPM memasuki keadaan *senescence* akibat paparan stress oksidatif intraseluler dan ekstraseluler yang ekksesif (Yang *et al.*, 2021; Putra, 2019).

Durasi starvasi yang panjang juga dapat menurunkan kemampuan migrasi dan menyebabkan perubahan morfologi SPM yang menunjukkan siklus sel menjadi inaktif (G0) terutama pada media yang tidak mengandung serum dan asam amino. Meskipun demikian, tidak ditemukan pengaruh yang signifikan pada media MK, karena pada media tersebut memiliki kandungan nutrisi yang lengkap sehingga dapat menunjang kemampuan migrasi SPM tetap stabil di sepanjang periode waktu pengamatan. Hasil ini memberikan wawasan mengenai adaptasi sel punca mesenkimal terhadap kondisi kekurangan nutrisi, yang dapat berimplikasi pada aplikasi terapi berbasis sel punca. Potensi starvasi untuk sinkronisasi sel dapat diaplikasikan dalam dunia klinis kedokteran mengenai prekondisi transplantasi. Namun, masih memerlukan penelitian selanjutnya secara *in vivo* agar penelitian ini dapat terus berlanjut. Maka dari itu, diharapkan penelitian ini dapat menjadi dasar teori untuk penelitian selanjutnya.

c. Keterbatasan Penelitian

Keterbatasan penelitian ini, bahwa replikasi eksperimen hanya dilakukan satu kali yang dimana idealnya 3 kali replikasi pada penelitian eksperimen sehingga dapat mengantisipasi distribusi data sampel yang tidak normal dan homogen. Selain itu, variasi data dengan standar deviasi

tinggi bisa disebabkan karena pengambilan gambar mikroskop yang secara manual menggunakan kamera *smartphone*, sehingga tidak dapat memastikan gambar yang diambil tepat sama tetapi sudah diantisipasi dengan marker symbol pada *well-plate*. Selain itu pengolahan perhitungan persentase penutupan SPM dilakukan secara manual baik pengeditan maupun perhitungan. Pertumbuhan sel pada *well-plate* tidak merata di seluruh permukaan sehingga pengambilan sampel foto hanya 8 setiap *well-plate*.



V. KESIMPULAN DAN SARAN

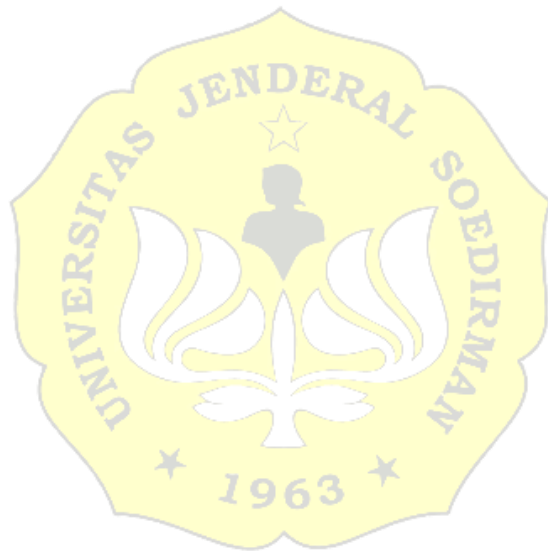
A. Kesimpulan

1. Terdapat perbedaan kemampuan migrasi sel punca mesenkimal tali pusat manusia.
2. Terdapat perbedaan yang signifikan kemampuan migrasi sel punca mesenkimal tali pusat manusia pada media MK, BASAL, dan HBSS pada 4 jam pertama secara *in vitro*.
3. Terdapat perbedaan yang signifikan kemampuan migrasi sel punca mesenkimal tali pusat manusia pada media MK, BASAL, dan HBSS pada 8 jam pertama secara *in vitro*.
4. Tidak terdapat perbedaan kemampuan migrasi sel punca mesenkimal tali pusat manusia pada media MK, BASAL, dan HBSS pada 24 jam pertama secara *in vitro*.
5. Tidak terdapat perbedaan kemampuan migrasi sel punca mesenkimal tali pusat manusia pada media MK, BASAL, dan HBSS pada 48 jam pertama secara *in vitro*.
6. Tidak terdapat perbedaan rata-rata kemampuan migrasi sel punca mesenkimal tali pusat manusia pada media MK pada jam 4,8,24 dan 48 jam secara *in vitro*.
7. Terdapat nilai perbedaan yang signifikan rata-rata kemampuan migrasi sel punca mesenkimal tali pusat manusia pada media BASAL pada jam 4,8,24 dan 48 secara *in vitro*.
8. Terdapat nilai perbedaan yang signifikan rata-rata kemampuan migrasi sel punca mesenkimal tali pusat manusia pada media HBSS pada jam 4,8,24 dan 48 secara *in vitro*.

B. Saran

1. Perlu dilakukan penelitian terkait ekspresi gen siklus sel, *senescence*, *quiescence*, dan apoptosis setelah dilakukan migrasi selama 48 jam
2. Perlu dilakukan Starvasi pada rendah glukosa untuk mengetahui pengaruh kemampuan migrasi SPM

3. Perlu dilakukan starvasi lipid sebagai komponen nutrisi SPM untuk mengetahui pengaruhi kemampuan migrasi SPM.



DAFTAR PUSTAKA

- Aghababazadeh, M. and Kerachian, M.A., 2014. Cell Fasting: Cellular Response and Application of Serum Starvation. *Journal of Fasting and Health*, 2(4): 147–150.
- Anas, I., Kurniawaty, E. and Jausal, A.N., 2019. Peran Sel Punca Mesenkimal dalam Penyembuhan Luka pada Ulkus Kaki Diabetik. *Majority*, 8(2): 325–331.
- ATCC, 2022. *ATCC Stem Cell Culture Guide 2022nd ed.*, university boulevard Manassas, Virginia, United States America.
- Boru Haloho, A. and Legiran, 2022. Potensi Mesenchymal Stromal Cells (MSCs) sebagai Terapi Novel pada Penyakit Kritis. *Majalah Anestesia & Critical Care*, 40(3): 179–186.
- Buono, R. and Longo, V.D., 2018. Starvation, Stress Resistance, and Cancer. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 29(4): 271–280.
- Cai, W. et al., 2019. An Unbiased Proteomics Method to Assess the Maturation of Human Pluripotent Stem Cell-Derived Cardiomyocytes. *Circulation Research*, 125(11): 936–953.
- Ceccariglia, S., Cargnoni, A., Silini, A.R. and Parolini, O., 2020. Autophagy: A Potential Key Contributor to the Therapeutic Action of Mesenchymal Stem Cells. *Autophagy*, 16(1): 28–37.
- Chen, M. et al., 2012. Serum starvation induced cell cycle synchronization facilitates human somatic cells reprogramming. *PLoS ONE*, 7(4).
- Chouaib, B. et al., 2023. Towards the Standardization of Mesenchymal Stem Cell Secretome-Derived Product Manufacturing for Tissue Regeneration. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(16): 1–15.
- Danielyan, L. et al., 2020. Cell Motility and Migration as Determinants of Stem Cell Efficacy. *EBioMedicine*, 60(102989): 1–15.
- Eleuteri, S. and Fierabracci, A., 2019. Insights Into the Secretome of Mesenchymal Stem Cells and Its Potential Applications. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(18): 1–22.

- Ferretti, A.C. et al., 2019. Metformin and Glucose Starvation Decrease the Migratory Ability of Hepatocellular Carcinoma Cells: Targeting AMPK Activation to Control Migration. *Scientific Reports*, 9(1): 1–14.
- Fikriyah, N., 2024. *Pengaruh Starvasi Terhadap Viabilitas Sel Punca Mesenkimal Tali Pusat*. Universitas Jenderal Soedirman , Purwokerto.
- Fu, X. et al., 2019. Mesenchymal Stem Cell Migration and Tissue Repair. *Cells*, 8(8): 1–18.
- Giannasi, C. et al., 2023. Serum Starvation Affects Mitochondrial Metabolism of Adipose-Derived Stem/Stromal Cells. *Cytotherapy*, 25(7): 704–711.
- Gibco, 2020. *Cell Culture Basic Handbook*, Thermo Fisher Scientific, Massachusetts.
- Grada, A. et al., 2017. Research Techniques Made Simple: Analysis of Collective Cell Migration Using the Wound Healing Assay. *Journal of Investigative Dermatology*, 137(2): 11–16.
- Hadi, R.S. and Sandra, Y., 2020. Pengaruh Glukosa Tinggi terhadap Proliferasi, Migrasi dan Ekspresi Gen OCT-4 pada Kultur Sel Dermal Fibroblast Manusia The Effects of High Glucose on Proliferation, Migration and Expression of OCT-4 in Human Dermal Fibroblast Cell Culture. *Majalah Kesehatan PharmaMedika*, 12(1): 32–38.
- Han, Yu et al., 2019. Mesenchymal Stem Cells for Regenerative Medicine. *Cells*, 8(8): 1–32.
- Harada, H., 2019. A Culture System Similar to the Embryonal Microenvironment Supports Transdifferentiation in Human Leiomyoma Cells. *Jurnal UOEH*, 41(2): 193–201.
- Hilbertina, N. and Pawitan, J.A., 2021. Sel punca Kanker Kolorektal. *Cerdika: Jurnal Ilmiah Indonesia*, 1(4): 414–426.
- Iwasa, S.N., Babona-Pilipos, R. and Morshead, C.M., 2017. Environmental Factors That Influence Stem Cell Migration: An “Electric Field.” *Stem Cells International*, 2017(1): 1–19.
- Jang, M. et al., 2018. AMPK contributes to autophagosome maturation and lysosomal fusion. *Scientific Reports*, 8(1).

- Kalra, K. and Tomar, P.C., 2014. Stem Cell: Basics, Classification and Applications. *Jurnal Al-Azhar Indonesia Sei Sains dan Teknologi*, 5(4): 175–181. Available at: www.ajpct.org.
- Karina, K. et al., 2020. Pengaruh Penambahan Berbagai Konsentrasi L-Ascorbic Acid Terhadap Kemampuan Migrasi Adipose-Derived Stem Cells Asal Manusia. *Jurnal Al-Azhar Indonesia Seri Sains Dan Teknologi*. 5(4): 175-181.
- Kumar, vinay, abbas, abul, K. and Aster, J.C., 2019. *Robbins Basic Pathology Ninth.*, ELSEVIER, Philadelphia, PA.
- Kumari, R. and Jat, P., 2021. Mechanisms of Cellular Senescence: Cell Cycle Arrest and Senescence Associated Secretary Phenotype. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 9.
- Kyllönen, L. et al., 2013. Effects of different serum conditions on osteogenic differentiation of human adipose stem cells in vitro. *Stem Cell Research and Therapy*, 4(1).
- Lampiasi, N., 2023. The Migration and the Fate of Dental Pulp Stem Cells. *Biology*, 12(5): 1–14.
- Le, H.A. and Mayor, R., 2023. Cell–matrix and cell–cell interaction mechanics in guiding migration. *Biochemical Society Transactions*, 51(4): 1733–1745.
- Li, B. et al., 2019. Autophagy Mediates Serum Starvation-Induced Quiescence In Nucleus Pulposus Stem Cells by the Regulation of P27. *Stem Cell Research and Therapy*, 10(1).
- Li, L. et al., 2021. Effects of Serum Starvation and Vascular Endothelial Growth Factor Stimulation on the Expression of Notch Signalling Pathway Components. *Science Progress*, 104(3): 1–19.
- Li, P. et al., 2017. Mesenchymal stem cell-conditioned medium promotes MDA-MB-231 cell migration and inhibits A549 cell migration by regulating insulin receptor and human epidermal growth factor receptor 3 phosphorylation. *Oncology Letters*, 13(3): 1581–1586.

- Li, Y., Ma, L., Liu, J. and Wang, M., 2020. Long-Term Nutrient Starvation Inhibits the Migration of Human Mesenchymal Stem Cells. *Journal of Cellular Physiology*, 253(3): 2189–2197.
- Liang, R. et al., 2020. Restraining Lysosomal Activity Preserves Hematopoietic Stem Cell Quiescence and Potency. *Cell Stem Cell*, 26(3): 359-376.e7.
- Lucas, B., Pérez, L.M. and Gálvez, B.G., 2018. Importance and Regulation of Adult Stem Cell Migration. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 22(2): 746–754.
- Mahendra, C., 2022. Terapi Berbasis Sel: Perkembangan Terkini. *Cermin Dunia Kesehatan*, 49(3): 138–142.
- Maldonado, A.C. and Pinedo, C.M., 2011. Dying for Something to Eat: How Cells Respond to Starvation. *The Open Cell Signaling Journal*, 3(1): 42–51.
- Mas-Bargues, C. and Borrás, C., 2021a. Importance of stem cell culture conditions for their derived extracellular vesicles therapeutic effect. *Free Radical Biology and Medicine*, 168: 16–24.
- Mas-Bargues, C. and Borrás, C., 2021b. Importance of Stem Cell Culture Conditions for Their Derived Extracellular Vesicles Therapeutic Effect. *Free Radical Biology and Medicine*, 168: 16–24.
- Menshikov, M., Zubkova, E., Stafeev, I. and Parfyonova, Y., 2021. Autophagy, Mesenchymal Stem Cell Differentiation, and Secretion. *Biomedicines*, 9(9): 1–15.
- Mi, L. et al., 2022. The Mechanism of Stem Cell Aging. *Stem Cell Reviews and Reports*, 18(4): 1281–1293.
- Nam, D. et al., 2020. Coordinated Regulation of Mesenchymal Stem Cell Migration by Various Chemotactic Stimuli. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(22): 1–13.
- Nikolits, I. et al., 2021. Towards Physiologic Culture Approaches to Improve Standard Cultivation of Mesenchymal Stem Cells. *Cells*, 10(4): 1–33.
- Ningrum, A.P. and Kurniawaty, E., 2019a. Peran Sel Punca Mesenkimal Dalam Memperbaiki Kerusakan Parenkim Paru. *Majority*, 8(1):201–205.

- Noviantari, A. and Febrianti, T., 2021. Kajian: Aplikasi Sel Punca Mesenkim pada Tata Laksana Klinis Penyakit Stroke. *Media Penelitian dan Pengembangan Kesehatan*, 31(4): 301–318.
- Noviantari, A. and Khariri, 2020. Harapan Baru Pengobatan Penyakit Tidak Menular Dengan Memanfaatkan Sel Punca. *Prosiding Seminar Nasional Biologi Indonesia*, pp.386–391. Available at: <http://journal.uin-alauddin.ac.id/index.php/psb/>.
- Nuschke, A. et al., 2016. Mesenchymal Stem Cells/Multipotent Stromal Cells (MSCs) are Glycolytic and thus Glucose is A Limiting Factor of In Vitro Models of MSC Starvation. *Stem Cell Research and Therapy*, 7(1): 1–9.
- Pawar, M. et al., 2022. Glucose and Serum Deprivation Led to Altered Proliferation, Differentiation Potential and AMPK Activation in Stem Cells from Human Deciduous Tooth. *Journal of Personalized Medicine*, 12(1): 1–16.
- Pirkmajer, S. and Chibalin, A. V., 2011. Serum starvation: caveat emptor. *J Physiol Cell Physiol*, 301: 272–279. Available at: www.ajpcell.org.
- Putra, A., 2019. *Basic Molecular Stem Cell* 1st ed. Soebandrio, A. and Kusnadi, Y., (eds.), Unissula Press, Semarang.
- Rutecki, S. et al., 2023. Serum Starvation-Based Method of Ovarian Cancer Cell Dormancy Induction and Termination In Vitro. *Biology Methods and Protocols*, 8(1): 1–11.
- Salazar, A., Keusgen, M. and Von Hagen, J., 2016. Amino acids in the cultivation of mammalian cells. *Amino Acids*, 48(5): 1161–1171.
- Schäfer, R. et al., 2020. Modulating Endothelial Adhesion and Migration Impacts Stem Cell Therapies Efficacy. *EBioMedicine*, 60: 1–14.
- SenGupta, S., Parent, C.A. and Bear, J.E., 2021. The principles of directed cell migration. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 22(8): 529–547.
- Siburian, M. and Inayati, N.S., 2021. Penambahan Interleukin-6 Pada Media Kultur Meningkatkan Konsentrasi Protein Pada Media Terkondisi Sel Punca Mesenkimal. *Biomedika*. 13(2): 144–152.

- Sohni, A. and Verfaillie, C.M., 2013. Mesenchymal stem cells migration homing and tracking. *Stem Cells International*.
- Su, P. et al., 2018. Mesenchymal Stem Cell Migration during Bone Formation and Bone Diseases Therapy. *International Journal of Molecular Sciences*. 19(8): 1–18.
- Suarez-Arnedo, A. et al., 2020. An image J plugin for the high throughput image analysis of in vitro scratch wound healing assays. *PLoS ONE*. 15.
- Thoyalil, M. et al., 2023. The Comparative Analysis of the Effectiveness of Four Different Storage Media (Placentex, Propolis 10%, Pomegranate Juice 5%, and Hank's Balanced Salt Solution) in Preserving the Viability of Periodontal Ligament Cells: An In Vitro Study. *Cureus*.
- Trisnadi, Setyo., Fauzi, M.R.N. and Hussana, A., 2021. Latar Belakang, Pengetahuan dan Sikap Pemberi Layanan Kesehatan Tentang Terapi Stem cell. *Jurnal Penelitian Kesehatan Suara Fotrikes*, 12(3): .299–302.
- Widhiastuti, S.S., 2020. Aplikasi Media Terkondisi Sel Punca Mesensimal dalam Terapi Penyakit Degeneratif dan Penyembuhan Luka. *Biota : Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati*, 5(1): 48–60.
- Winarta, S., Nawing, M.J. and Go, R., 2022. The Analysis Of Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells As A Promising Therapy In Overcoming Cytokine Storm In Covid-19 Patients. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kedokteran Indonesia*, 9(3): 64–71.
- Yang, J. et al., 2021. Intermittent Starvation Promotes Maturation of Human Embryonic Stem Cell-Derived Cardiomyocytes. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 9.
- Zakrzewski, W., Dobrzyński, M., Szymonowicz, M. and Rybak, Z., 2019. Stem cells: Past, Present, and Future. *Stem Cell Research and Therapy*, 10(1): 1–22.

LAMPIRAN

Lampiran 1 Protokol Penelitian

Protokol penelitian pengaruh starvasi terhadap kemampuan migrasi sel punca mesenkimal tali pusat

A. Alat:

- a. *Biosafety cabinet (BSC)* (Thermo scientific)
- b. Omnipet
- c. Pipet mikro (SOCOREX)
- d. Cawan kultur 6 *well-plate* (Biologix)
- e. Mesin sentrifugal (NEST) ukuran 15 ml dan 50ml
- f. Tabung mikro (SuperClear).
- g. *Inverted microscope* (Miotic AE2000)
- h. *Yellow tip*
- i. *CO₂ incubator* (ESCO)

B. Bahan:

- a. Sel punca mesenkimal tali pusat manusia (*Stem Cell and Cancer Institute (SCI)-Kalbe*)
- b. Media kultur: *Dulbecco Modified Eagle Medium (DMEM)* (Gibco), *Hank's Balanced Salt Solution (HBSS)* (Gibco), *Fetal Bovine Serum (FBS)* (Sigma-Aldrich),
- c. *Phosphate buffer saline (PBS)*
- d. *Trypsin+EDTA* (Sigma-Aldrich)
- e. Penisilin/streptomisin (Elabscience)
- f. *Aquadest*
- g. *Blue tip (Onemed)*
- h. Alkohol 70%
- i. *Sterile disposable serological pipet* (Sigma-Aldrich)
- j. *Trypan blue* (Gibco).

C. Komposisi media kultur

1. Media DMEM (Thermo Fisher Scientific Inc., 2024)

Komponen	Massa Molekuler	Konsentrasi (mg/L)	mM
<i>Asam Amino</i>			
<i>Glycine</i>	75.0	30.0	0.4
<i>L-Arginine hydrochloride</i>	211.0	84.0	0.39810428
<i>L-Cystine 2HCl</i>	313.0	63.0	0.20127796
<i>L-Glutamine</i>	146.0	584.0	4.0
<i>L-Histidine hydrochloride-H₂O</i>	210.0	42.0	0.2
<i>L-Isoleucine</i>	131.0	105.0	0.8015267
<i>L-Leucine</i>	131.0	105.0	0.8015267
<i>L-Lysine hydrochloride</i>	183.0	146.0	0.07978142
<i>L-Methionine</i>	149.0	30.0	0.20134228
<i>L-Phenylalanine</i>	165.0	66.0	0.4
<i>L-Serine</i>	105.0	42.0	0.4
<i>L-Threonine</i>	119.0	95.0	0.79831934
<i>L-Tryptophan</i>	204.0	16.0	0.078431375
<i>L-Tyrosine disodium salt dihydrate</i>	261.0	104.0	0.39846742
<i>L-Valine</i>	117.0	94.0	0.8034188
<i>Vitamins</i>			
<i>Choline chloride</i>	140.0	4.0	0.028571429
<i>D-Calcium pantothenate</i>	477.0	4.0	0.008385744
<i>Folic Acid</i>	441.0	4.0	0.009070295
<i>Niacinamide</i>	122.0	4.0	0.032786883
<i>Pyridoxal hydrochloride</i>	206.0	4.0	0.019417476
<i>Riboflavin</i>	376.0	0.4	0.0010638298
<i>Thiamine hydrochloride</i>	337.0	4.0	0.011869436
<i>i-Inositol</i>	180.0	7.2	0.04
<i>Inorganic Salts</i>			

Komponen	Massa Molekuler	Konsentrasi (mg/L)	mM
<i>Calcium Chloride (CaCl₂) (anhyd.)</i>	111.0	200.0	1.8018018
<i>Ferric Nitrate (Fe(NO₃)₃·9H₂O)</i>	404.0	0.1	2.4752476E-4
<i>Magnesium Sulfate (MgSO₄) (anhyd.)</i>	120.0	97.67	0.8139166
<i>Potassium Chloride (KCl)</i>	75.0	400.0	5.3333335
<i>Sodium Bicarbonate (NaHCO₃)</i>	84.0	3700.0	44.04762
<i>Sodium Chloride (NaCl)</i>	58.0	6400.0	110.344826
<i>Sodium Phosphate monobasic (NaH₂PO₄·H₂O)</i>	138.0	140.0	1.0144928
Other components			
<i>D-Glucose (Dextrose)</i>	180.0	4500.0	25.0
<i>Phenol Red</i>	376.4	15.0	0.039851222

2. Fetal Bovine Serum (FBS)

No.	Komponen
1.	Factor pertumbuhan
2.	Lipid
3.	Hormon
4.	Vitamin
5.	Glukosa
6.	Elektrolit
7.	Protein (Enzim)
8.	Protein carrier

No.	Komponen
9.	Protein binding

3. Hank's Balanced Solution Salt (HBSs)

Komponen	Massa Molekuler	Konsentrasi (mg/L)	mM
<i>Inorganic Salts</i>			
<i>Calcium Chloride (CaCl₂) (anhyd.)</i>	111.0	140.0	1.2612612
<i>Magnesium Chloride (MgCl₂-6H₂O)</i>	203.0	100.0	0.49261084
<i>Magnesium Sulfate (MgSO₄-7H₂O)</i>	246.0	100.0	0.40650406
<i>Potassium Chloride (KCl)</i>	75.0	400.0	5.3333335
<i>Potassium Phosphate monobasic (KH₂PO₄)</i>	136.0	60.0	0.44117647
<i>Sodium Bicarbonate (NaHCO₃)</i>	84.0	350.0	4.1666665
<i>Sodium Chloride (NaCl)</i>	58.0	8000.0	137.93103
<i>Sodium Phosphate dibasic (Na₂HPO₄) anhydrous</i>	142.0	48.0	0.33802816
<i>Other components</i>			
<i>D-Glucose (Dextrose)</i>	180.0	1000.0	5.5555553
<i>Phenol Red</i>	376.0	10.0	0.026567481

D. Protokol penelitian

- Persiapan
 1. Sterilisasi alat dan bahan
 2. Thawing *phosphate buffer saline* (PBS) dan *fetal bovine serum* (FBS) dalam water bath 30 menit.

3. Memastikan alat yang telah disterilisasi dengan alkohol disinfektan.
- Membuat media komplit
 1. Masukkan:
 - a. 5 ml FBS
 - b. 500 μ l antibiotik penisilin/streptomisin
 - c. 44 ml+500 μ l media DMEM pada 50 ml *tube*
 2. Campur media dengan baik,
 3. Inkubasi CO₂ 5%.
 - Membuat media basal
 1. Siapkan DMEM
 2. Inkubasi CO₂ 5%, suhu 37°C
 - Media HBSS
 1. Siapkan HBSS
 2. Inkubasi CO₂ 5%, suhu 37°C
 - Kultur sel
 1. *Thawing* sel dalam *water bath* dan masukkan dalam 5 ml media komplit
 2. Sentrifugasi dengan kecepatan 1500 g selama 5 menit
 3. Filtrat dibuang
 4. Tambahkan kembali media komplit
 5. Taruh sel dalam 6 *well-plate* dengan total 3 ml
 6. Simpan pada inkubator 37°C dengan konsentrasi CO₂ 5%.
 - Subkultur
 1. Setelah melalui kultur primer selama 24 jam
 2. Menghilangkan media awal
 3. Sel dicuci dengan *phosphate buffer saline* (PBS) sebanyak 2x
 4. Pelepasan sel menggunakan *trypsin*+EDTA sebanyak 500 μ l
 5. Inkubasi selama 3 menit
 6. Tambahkan media komplit dan sel dengan total 5 ml
 7. Sentrifugasi dengan 1500g selama 5 menit
 8. Filtrat dibuang

9. Tambahkan 300 μ l sel media komplit
10. Tambahkan 4 ml media komplit pada masing-masing 3 dish. Kemudian tambahkan hasil sentrifugasi masing-masing 100 μ l secara merata.
11. Inkubasi suhu optimal 37°C dan CO₂ 5%.
12. Biarkan 24 jam

- *Scratch Assay*

1. Memeriksa kepadatan sel selama 24 jam setelah subkultur
2. Membuat goresan menggunakan ujung pipet 200 μ l dengan menempatkan ujung pipet di disamping dinding sumuran sehingga tegak lurus dengan dasar sumuran
3. Tarik ujung pipet ke sisi lain sumuran dengan tekanan lembut
4. Sel dicuci dengan phosphate buffer saline (PBS) sebanyak 2x untuk melepaskan sel-sel yang tergores dari dasar sumuran.
5. Tambahkan media kultur sel sesuai dengan intervensi.
6. Letakkan pada inkubator 37°C selama 24 jam
7. Ambil gambar pada jam ke 0, 4, 8, dan 24 jam
8. Hitung luas tutupan goresan

- Intervensi starvasi

1. Selah dilakukan *scratch assay*
2. Cuci sel dengan PBS 2 ml 2x
3. Aspirasi PBS tambahkan 5 ml media α -MEM+FBS, α -MEM, atau HBSS.
4. Letakkan pada inkubator 37°C selama 24 jam
5. Amati kemampuan migrasi sel punca mesenkimal tali pusat manusia setelah dilakukan starvasi.

Lampiran 2 *Ethical clearance*

KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN RISET DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS JENDERAL SOEDIRMAN

FAKULTAS KEDOKTERAN

Jl. dr. Gumbreg No. 1 Merui Purwokerto 53122 Telp. (0281) 622022 Fax. (0281) 624990
Laman : <http://fk.unsoed.ac.id> Email : fk@unsoed.ac.id

**PERSETUJUAN ETIK
(ETHICAL APPROVAL)**

Ref: 021/KEPK/PE/I/2024

Judul usulan penelitian <i>Title of research proposal</i>	: Pengaruh Starvasi pada Perubahan Fisiologi Sel Punca Mesenkimal (Penelitian Lanjutan Tahun ke-2)
Peneliti Utama <i>Principle Investigator</i>	: dr. SINDHU WISESA Ph.D
Anggota tim peneliti <i>Members of research team</i>	: 1. OCTAVIA PERMATA SARI 2. WAHYU DWI KUSDARYANTO 3. RIZKI AMELIA SINENSIS 4. DALRI MUHAMMAD SUHARTOMO 5. PUSPITA TRI YULIANA 6. KAYLA SALSABILA
Dokumen yang disetujui <i>Documents approved</i>	: • Protokol Penelitian (Research Protocol) Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Soedirman
Tanggal persetujuan <i>Date of approval</i>	: 17 Mei 2024

Komite Etik Penelitian Kedokteran FK Unsoed menyatakan bahwa protokol penelitian tersebut telah memenuhi kaidah etik yang tertera dalam Deklarasi Helsinki 2008 dan dapat dilaksanakan. Komite Etik Penelitian berhak memantau kegiatan penelitian tersebut sewaktu-waktu. Para peneliti bertanggungjawab menyerahkan laporan akhir atau laporan kemajuan jika diperlukan telaah lebih lanjut. Dokumen ini berlaku untuk satu tahun terhitung sejak tanggal persetujuan.

The Research Ethics Committee states that the above protocol meets the ethical principle outlined in the Declaration of Helsinki 2008 and therefore can be carried out. The Committee has the right to monitor the research activities at any time. The investigator(s) is/are obliged to submit a final report upon the completion of the study or a progress report in case a continuing review is needed. This document is valid for one year beginning from the date of approval.

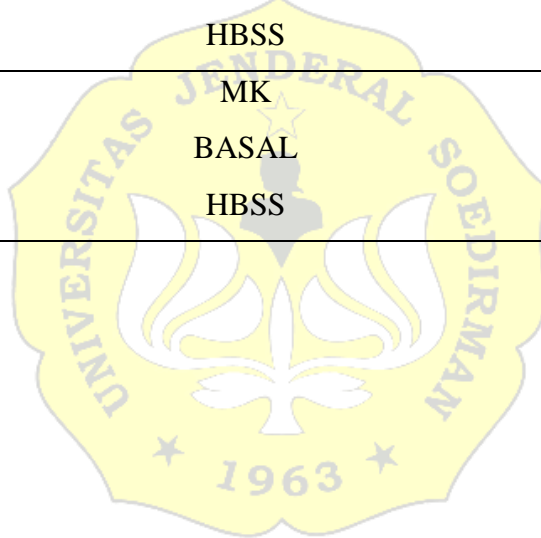


Ketua Komite Etik Penelitian Kesehatan,
Chair,

Dr. dr. Anton B. Darmawan, M.Kes., Sp. THT-KL(K)
NIP 19740323200501 1001

Lampiran 3 Data Rerata Hasil Pengukuran Luas Penutupan Migrasi

Durasi Starvasi	Kelompok Perlakuan	Penutupan luas migrasi
4 jam	MK	58.34%
	BASAL	19%
	HBSS	21.29%
8 jam	MK	66.43%
	BASAL	42.18%
	HBSS	32.75%
24 jam	MK	69%
	BASAL	76.37%
	HBSS	65.36%
48 jam	MK	82.8%
	BASAL	79.98%
	HBSS	69%



Lampiran 4 Pengolahan Data Hasil Penelitian

A. Analisis Univariat Presentase Penutupan Luas Migrasi

Case Processing Summary

	Kelompok	Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
4 Jam	MK	8	100.0%	0	0.0%	8	100.0%
	DMEM	8	100.0%	0	0.0%	8	100.0%
	HBSS	8	100.0%	0	0.0%	8	100.0%
8 Jam	MK	8	100.0%	0	0.0%	8	100.0%
	DMEM	8	100.0%	0	0.0%	8	100.0%
	HBSS	8	100.0%	0	0.0%	8	100.0%
24 Jam	MK	8	100.0%	0	0.0%	8	100.0%
	DMEM	8	100.0%	0	0.0%	8	100.0%
	HBSS	8	100.0%	0	0.0%	8	100.0%
48 Jam	MK	8	100.0%	0	0.0%	8	100.0%
	DMEM	8	100.0%	0	0.0%	8	100.0%
	HBSS	8	100.0%	0	0.0%	8	100.0%

Descriptives

	Kelompok	Statistic	Std. Error
4 Jam	MK	Mean	58.3400
		95% Confidence Interval for Lower Bound	38.6420
		Mean Upper Bound	78.0380
		5% Trimmed Mean	58.7667
		Median	55.8150
		Variance	555.151
		Std. Deviation	23.56164
		Minimum	17.43
		Maximum	91.57
		Range	74.14
		Interquartile Range	33.10

		Skewness	-.091	.752
		Kurtosis	.516	1.481
DMEM		Mean	66.4950	2.98632
		95% Confidence Interval for Lower Bound	59.4335	
		Mean Upper Bound	73.5565	
		5% Trimmed Mean	66.7011	
		Median	67.3000	
		Variance	71.345	
		Std. Deviation	8.44659	
		Minimum	54.24	
		Maximum	75.04	
		Range	20.80	
		Interquartile Range	16.50	
		Skewness	-.350	.752
		Kurtosis	-1.776	1.481
HBSS		Mean	21.2888	2.98948
		95% Confidence Interval for Lower Bound	14.2198	
		Mean Upper Bound	28.3577	
		5% Trimmed Mean	21.5819	
		Median	21.4950	
		Variance	71.496	
		Std. Deviation	8.45552	
		Minimum	5.17	
		Maximum	32.13	
		Range	26.96	
		Interquartile Range	11.17	
		Skewness	-.781	.752
		Kurtosis	.855	1.481
8 Jam	MK	Mean	66.4263	8.53741

	95% Confidence Interval for	Lower Bound	46.2385	
	Mean	Upper Bound	86.6140	
	5% Trimmed Mean		67.2997	
	Median		59.9750	
	Variance		583.099	
	Std. Deviation		24.14745	
	Minimum		22.65	
	Maximum		94.48	
	Range		71.83	
	Interquartile Range		34.12	
	Skewness		-.501	.752
	Kurtosis		.106	1.481
DMEM	Mean		42.1762	5.62065
	95% Confidence Interval for	Lower Bound	28.8855	
	Mean	Upper Bound	55.4670	
	5% Trimmed Mean		42.6158	
	Median		43.6450	
	Variance		252.734	
	Std. Deviation		15.89761	
	Minimum		12.74	
	Maximum		63.70	
	Range		50.96	
	Interquartile Range		22.62	
	Skewness		-.671	.752
	Kurtosis		.604	1.481
HBSS	Mean		32.7463	4.23769
	95% Confidence Interval for	Lower Bound	22.7257	
	Mean	Upper Bound	42.7668	
	5% Trimmed Mean		33.2708	

		Median	34.2850	
		Variance	143.664	
		Std. Deviation	11.98600	
		Minimum	10.82	
		Maximum	45.23	
		Range	34.41	
		Interquartile Range	18.65	
		Skewness	-.781	.752
		Kurtosis	-.130	1.481
24 Jam	MK	Mean	69.0000	10.58249
		95% Confidence Interval for Lower Bound	43.9764	
		Mean Upper Bound	94.0236	
		5% Trimmed Mean	71.4000	
		Median	75.0400	
		Variance	895.913	
		Std. Deviation	29.93181	
		Minimum	1.83	
		Maximum	92.97	
		Range	91.14	
		Interquartile Range	27.50	
		Skewness	-1.900	.752
		Kurtosis	4.130	1.481
	DMEM	Mean	76.3663	3.63857
		95% Confidence Interval for Lower Bound	67.7624	
		Mean Upper Bound	84.9701	
		5% Trimmed Mean	76.6303	
		Median	78.3750	
		Variance	105.913	
		Std. Deviation	10.29142	

		Minimum	58.65	
		Maximum	89.33	
		Range	30.68	
		Interquartile Range	16.67	
		Skewness	-.716	.752
		Kurtosis	-.288	1.481
HBSS		Mean	65.3625	3.93198
		95% Confidence Interval for Lower Bound	56.0648	
		Mean Upper Bound	74.6602	
		5% Trimmed Mean	65.1461	
		Median	62.5150	
		Variance	123.684	
		Std. Deviation	11.12132	
		Minimum	53.31	
		Maximum	81.31	
		Range	28.00	
		Interquartile Range	23.23	
		Skewness	.612	.752
		Kurtosis	-1.146	1.481
48 Jam	MK	Mean	82.7962	5.80938
		95% Confidence Interval for Lower Bound	69.0592	
		Mean Upper Bound	96.5333	
		5% Trimmed Mean	83.6553	
		Median	90.9000	
		Variance	269.991	
		Std. Deviation	16.43141	
		Minimum	52.76	
		Maximum	97.37	
		Range	44.61	

	Interquartile Range	26.71	
	Skewness	-1.024	.752
	Kurtosis	-.257	1.481
DMEM	Mean	79.9825	3.49181
	95% Confidence Interval for Lower Bound	71.7257	
	Mean Upper Bound	88.2393	
	5% Trimmed Mean	80.4044	
	Median	80.8850	
	Variance	97.542	
	Std. Deviation	9.87634	
	Minimum	60.43	
	Maximum	91.94	
	Range	31.51	
	Interquartile Range	12.89	
	Skewness	-1.086	.752
	Kurtosis	1.387	1.481
HBSS	Mean	69.0075	3.54650
	95% Confidence Interval for Lower Bound	60.6214	
	Mean Upper Bound	77.3936	
	5% Trimmed Mean	68.9306	
	Median	68.4000	
	Variance	100.621	
	Std. Deviation	10.03101	
	Minimum	56.07	
	Maximum	83.33	
	Range	27.26	
	Interquartile Range	20.34	
	Skewness	.123	.752
	Kurtosis	-1.002	1.481

Lampiran 5 Hasil Uji Normalitas *Shapiro-Wilk*

1. Uji normalitas data sebelum transformasi

Tests of Normality

	Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
4 Jam	MK	.240	8	.196	.912	8	.371
	DMEM	.216	8	.200*	.870	8	.149
	HBSS	.167	8	.200*	.953	8	.743
8 Jam	MK	.222	8	.200*	.884	8	.206
	DMEM	.137	8	.200*	.974	8	.925
	HBSS	.211	8	.200*	.909	8	.344
24 Jam	MK	.292	8	.043	.770	8	.013
	DMEM	.189	8	.200*	.941	8	.616
	HBSS	.185	8	.200*	.884	8	.207
48 Jam	MK	.265	8	.102	.844	8	.084
	DMEM	.224	8	.200*	.926	8	.477
	HBSS	.141	8	.200*	.935	8	.560

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

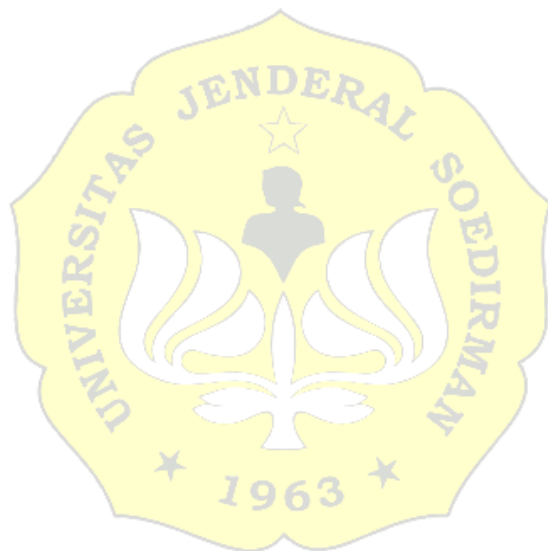
2. Uji normalitas data setelah dilakukan transformasi

	Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
4 Jam	MK	.240	8	.196	.912	8	.371
	DMEM	.216	8	.200*	.870	8	.149
	HBSS	.167	8	.200*	.953	8	.743
8 Jam	MK	.222	8	.200*	.884	8	.206
	DMEM	.137	8	.200*	.974	8	.925
	HBSS	.211	8	.200*	.909	8	.344
Transform 24 Jam	MK	.185	8	.200*	.946	8	.676
	DMEM	.137	8	.200*	.978	8	.951
	HBSS	.217	8	.200*	.853	8	.102
48 Jam	MK	.265	8	.102	.844	8	.084

DMEM	.224	8	.200*	.926	8	.477
HBSS	.141	8	.200*	.935	8	.560

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction



Lampiran 6 Uji Statistik Homogenitas (*Levene's Test*)

		Test of Homogeneity of Variances			
		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4 Jam	Based on Mean	2.250	2	21	.130
	Based on Median	2.117	2	21	.145
	Based on Median and with adjusted df	2.117	2	8.773	.178
	Based on trimmed mean	2.331	2	21	.122
8 Jam	Based on Mean	1.737	2	21	.200
	Based on Median	.902	2	21	.421
	Based on Median and with adjusted df	.902	2	13.470	.429
	Based on trimmed mean	1.876	2	21	.178
Transform 24 Jam	Based on Mean	4.853	2	21	.019
	Based on Median	4.667	2	21	.021
	Based on Median and with adjusted df	4.667	2	13.250	.029
	Based on trimmed mean	4.844	2	21	.019
48 Jam	Based on Mean	2.623	2	21	.096
	Based on Median	.820	2	21	.454
	Based on Median and with adjusted df	.820	2	13.478	.461
	Based on trimmed mean	2.314	2	21	.124

Lampiran 7 Analisis Bivariat *One-Way ANOVA* Presentase Luas Penutupan area migrasi SPM Tali Pusat

1. One-Way Anova uji hipotesis 1-4

		ANOVA				
		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
4 Jam	Between Groups	9287.745	2	4643.872	19.960	.000*
	Within Groups	4885.940	21	232.664		
	Total	14173.685	23			
8 Jam	Between Groups	4830.213	2	2415.106	7.397	.004*
	Within Groups	6856.484	21	326.499		
	Total	11686.697	23			
Transform 24 Jam	Between Groups	7.713	2	3.856	.949	.403
	Within Groups	85.349	21	4.064		
	Total	93.062	23			
48 Jam	Between Groups	849.327	2	424.663	2.721	.089
	Within Groups	3277.081	21	156.051		
	Total	4126.408	23			

Tanda * = nilai signifikan $p < 0,05$

2. One-Way ANOVA uji hipotesis 5-7

		ANOVA				
		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
MK	Between Groups	2484.138	3	828.046	1.437	.253
	Within Groups	16129.083	28	576.039		
	Total	18613.221	31			
DMEM	Between Groups	6964.203	3	2321.401	17.602	.000
	Within Groups	3692.740	28	131.884		
	Total	10656.943	31			
HBSS	Between Groups	13485.666	3	4495.222	40.915	.000
	Within Groups	3076.254	28	109.866		
	Total	16561.919	31			

Tanda * = nilai signifikan $p < 0,05$

Lampiran 8 Hasil Uji *Post-Hoc Games Howell* Presentase Luas Penutupan Area Migrasi SPM Tali Pusat.

1. Uji *Post-Hoc Games Howell* hipotesis 1-4

Multiple Comparisons

Games-Howell

Dependent Variable	(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
4 Jam	MK	DMEM	-8.15500	8.84940	.641	-32.9824	16.6724
		HBSS	37.05125*	8.85047	.006	12.2228	61.8797
	DMEM	MK	8.15500	8.84940	.641	-16.6724	32.9824
		HBSS	45.20625*	4.22553	.000	34.1469	56.2656
	HBSS	MK	-37.05125*	8.85047	.006	-61.8797	-12.2228
		DMEM	-45.20625*	4.22553	.000	-56.2656	-34.1469
8 Jam	MK	DMEM	24.25000	10.22151	.083	-2.9867	51.4867
		HBSS	33.68000*	9.53129	.013	7.6570	59.7030
	DMEM	MK	-24.25000	10.22151	.083	-51.4867	2.9867
		HBSS	9.43000	7.03916	.399	-9.1539	28.0139
	HBSS	MK	-33.68000*	9.53129	.013	-59.7030	-7.6570
		DMEM	-9.43000	7.03916	.399	-28.0139	9.1539
Transform 24 Jam	MK	DMEM	.09663	1.16464	.996	-3.1276	3.3209
		HBSS	-1.15131	1.14789	.593	-4.3563	2.0537
	DMEM	MK	-.09663	1.16464	.996	-3.3209	3.1276
		HBSS	-1.24794	.61168	.140	-2.8508	.3550
	HBSS	MK	1.15131	1.14789	.593	-2.0537	4.3563
		DMEM	1.24794	.61168	.140	-.3550	2.8508
48 Jam	MK	DMEM	2.81375	6.77803	.910	-15.3814	21.0089
		HBSS	13.78875	6.80636	.150	-4.4585	32.0360
	DMEM	MK	-2.81375	6.77803	.910	-21.0089	15.3814
		HBSS	10.97500	4.97699	.105	-2.0515	24.0015
	HBSS	MK	-13.78875	6.80636	.150	-32.0360	4.4585
		DMEM	-10.97500	4.97699	.105	-24.0015	2.0515

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

2. Uji *Post-Hoc Games Howell* Hipotesis 5-7

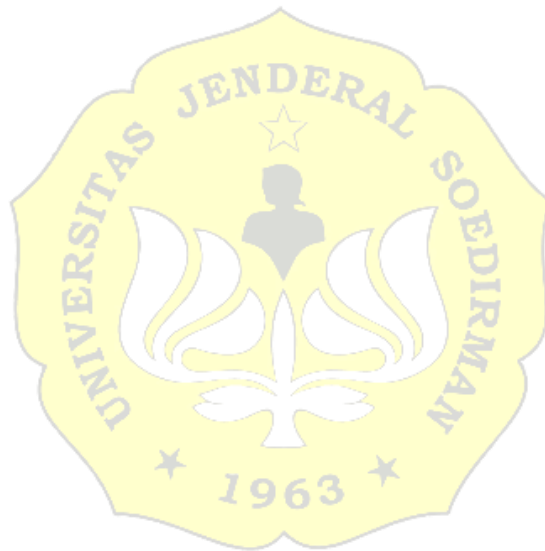
Multiple Comparisons

Games-Howell

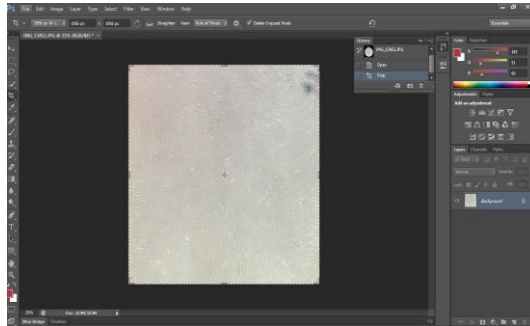
Dependent Variable	(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
			Difference (I-J)			Lower Bound	Upper Bound
MK	4 Jam	8 Jam	-8.08625	11.92817	.904	-42.7589	26.5864
		24 Jam	-10.66000	13.46785	.857	-50.0802	28.7602
		48 Jam	-24.45625	10.15592	.126	-54.4268	5.5143
	8 Jam	4 Jam	8.08625	11.92817	.904	-26.5864	42.7589
		24 Jam	-2.57375	13.59693	.997	-42.3191	37.1716
		48 Jam	-16.37000	10.32649	.421	-46.9034	14.1634
	24 Jam	4 Jam	10.66000	13.46785	.857	-28.7602	50.0802
		8 Jam	2.57375	13.59693	.997	-37.1716	42.3191
		48 Jam	-13.79625	12.07220	.672	-50.2005	22.6080
	48 Jam	4 Jam	24.45625	10.15592	.126	-5.5143	54.4268
		8 Jam	16.37000	10.32649	.421	-14.1634	46.9034
		24 Jam	13.79625	12.07220	.672	-22.6080	50.2005
DMEM	4 Jam	8 Jam	24.31875*	6.36474	.014	5.0636	43.5739
		24 Jam	-9.87125	4.70715	.203	-23.6191	3.8766
		48 Jam	-13.48750*	4.59466	.048	-26.8830	-.0920
	8 Jam	4 Jam	-24.31875*	6.36474	.014	-43.5739	-5.0636
		24 Jam	-34.19000*	6.69559	.001	-54.0709	-14.3091
		48 Jam	-37.80625*	6.61699	.001	-57.5261	-18.0864
	24 Jam	4 Jam	9.87125	4.70715	.203	-3.8766	23.6191
		8 Jam	34.19000*	6.69559	.001	14.3091	54.0709
		48 Jam	-3.61625	5.04301	.889	-18.2772	11.0447
	48 Jam	4 Jam	13.48750*	4.59466	.048	.0920	26.8830
		8 Jam	37.80625*	6.61699	.001	18.0864	57.5261
		24 Jam	3.61625	5.04301	.889	-11.0447	18.2772
HBSS	4 Jam	8 Jam	-11.45750	5.18604	.173	-26.7482	3.8332
		24 Jam	-44.07375*	4.93938	.000	-58.5613	-29.5862
		48 Jam	-47.71875*	4.63838	.000	-61.2496	-34.1879
	8 Jam	4 Jam	11.45750	5.18604	.173	-3.8332	26.7482

	24 Jam	-32.61625*	5.78087	.000	-49.4306	-15.8019
	48 Jam	-36.26125*	5.52591	.000	-52.3861	-20.1364
24 Jam	4 Jam	44.07375*	4.93938	.000	29.5862	58.5613
	8 Jam	32.61625*	5.78087	.000	15.8019	49.4306
	48 Jam	-3.64500	5.29510	.900	-19.0562	11.7662
48 Jam	4 Jam	47.71875*	4.63838	.000	34.1879	61.2496
	8 Jam	36.26125*	5.52591	.000	20.1364	52.3861
	24 Jam	3.64500	5.29510	.900	-11.7662	19.0562

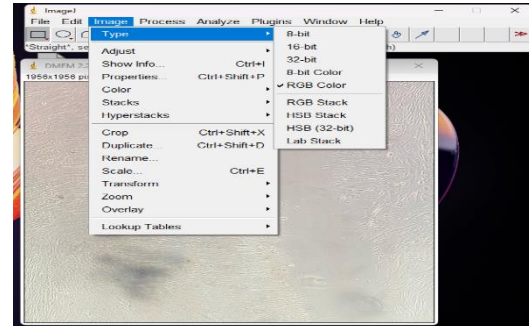
*. The mean difference is significant at the 0.05 level.



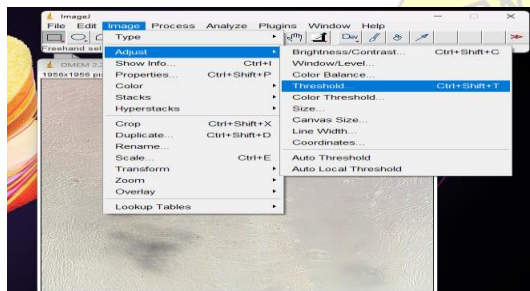
Lampiran 9 Tahapan Pengolahan Gambar Mikroskop dan Perhitungan Proliferasi SPM Tali Pusat



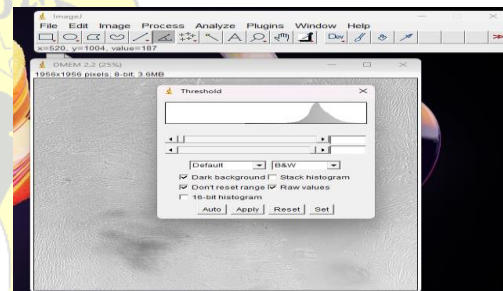
1. Perubahan rasio gambar menjadi 1956x1956 pixel.



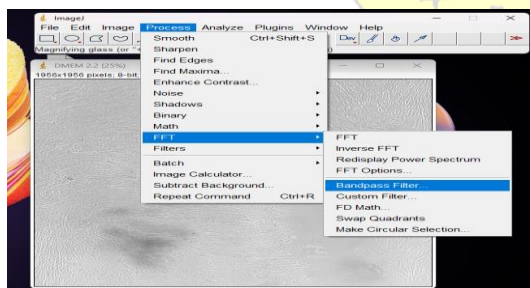
2. Edit melalui *ImageJ* ubah gambar menjadi 8 bit



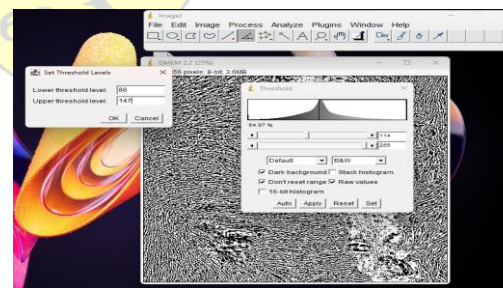
3. Atur *Threshold*



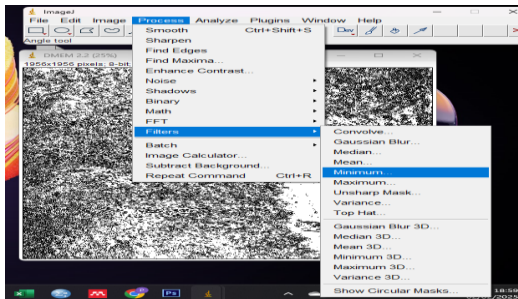
4. Ubah *Threshold* → *Reset*



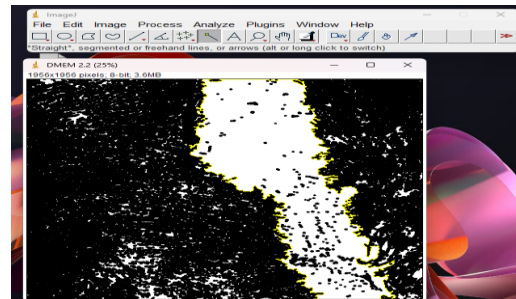
5. *Process* → *FFT* → *Bandpass Filter*



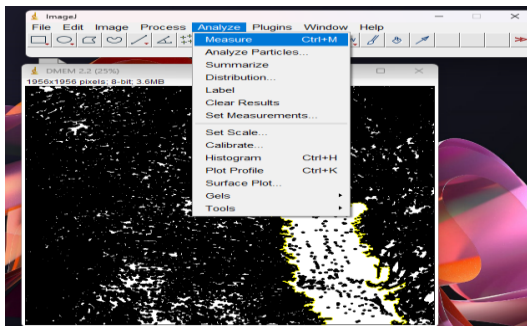
6. Atur *Threshold* → *Set* → lower threshold “88”, Upper threshold “147”



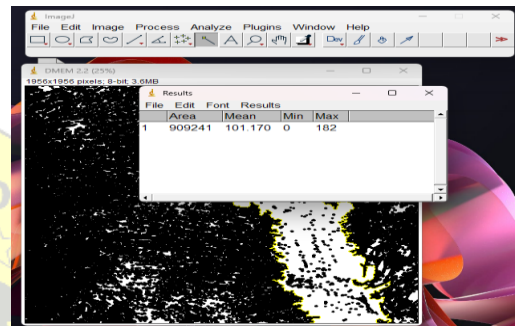
7. Process → Filter → Minimum
“7.0”



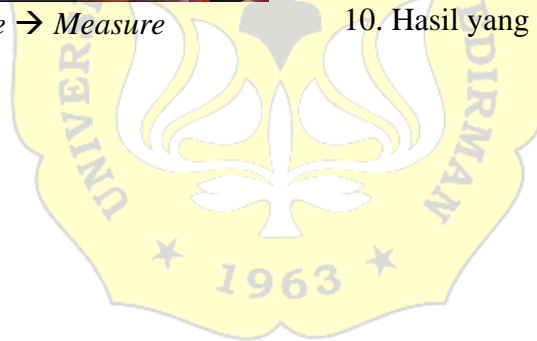
8. Tekan Wand tracing tool pada area yang akan diukur



9. Pilih Analyze → Measure



10. Hasil yang dipilih pada “area”



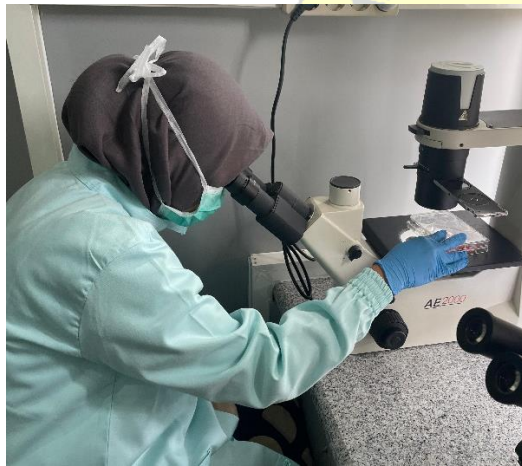
Lampiran 10 Dokumentasi Penelitian



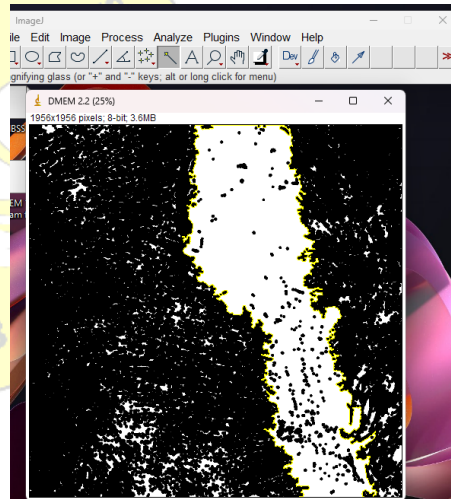
Proses kultur dan subkultur



Gambar sel setelah migrasi



Proses pengamatan dengan mikroskop
inversi



Proses pengolahan gambar

Lampiran 11 Riwayat Hidup Penulis

RIWAYAT HIDUP PENULIS



A. Data Pribadi

1. Nama : Puspita Tri Yuliana
 Tempat, Tanggal Lahir : Batang, 25 Juli 2003
 Jenis Kelamin : Perempuan
 Agama : Islam
 Kewarganegaraan : Indonesia
 Alamat : Jl. Sultan Agung, Gg. Bimo Seno 1 RT
 001/RW004 Ds. Klidang Wetan, Batang,
 Jawa Tengah
 Nomor Handphone : 085865947616
 Email : puspitatriyuliana25@gmail.com
 Judul Penelitian : Pengaruh Starvasi Terhadap Kemampuan
 Migrasi Sel Punca Mesenkimal Tali Pusat
 Manusia Dengan Metode *Scratch Assay*

B. Riwayat Pendidikan

- 2007 - 2009 : TK Pamardisiwi
 2009 - 2015 : SDN 1 Klidang Wetan, Batang
 2015 - 2018 : SMP N 2 Batang

2018-2021 : SMA N 1 Batang
2021-sekarang : Pendidikan Dokter Universitas Jenderal Soedirman

C. Riwayat Organisasi

2022-2023 : Devisi *Training and Development* (TRADEV)
Tim Bantuan Medis (TBM) FK Unsoed
(anggota)
2021-2023 : Pengurus Harian Himpunan Mahasiswa
Jurusan FK UNSOED (staff departemen
social)
2022-2023 : Adiutores Anatomium 2020 (Asisten Anatomi
FK UNOSED (Asisten dosen Anatomi)

