

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Sel punca merupakan sejumlah sel yang memiliki kemampuan unik untuk memperbarui diri dan dapat berdiferensiasi menjadi berbagai macam sel. Berdasarkan kemampuan berdiferensiasi, sel punca dapat dibagi menjadi lima jenis, yaitu totipoten, pluripoten, multipoten, oligopoten dan unipoten. Sel punca mesenkimal merupakan salah satu jenis sel punca multipoten yang sering dijadikan sebagai bahan penelitian. Hal ini dikarenakan sel punca mesenkimal (MSC) dapat diisolasi dari berbagai jaringan pada bayi maupun orang dewasa dan tetap menyimpan kemampuan untuk berdiferensiasi. Selain itu sel punca mesenkimal tidak memiliki masalah etik dibandingkan dengan sel punca embrionik (Zakrzewski *et al.*, 2019; Poliwoda *et al.*, 2022). Kemampuannya yang dapat berdiferensiasi menjadikan MSC sebagai alternatif dalam pengobatan luka dan perbaikan jaringan. Dikarenakan kemampuan sel punca mesenkimal yang unik, maka potensi terapinya dalam penggunaan klinis sedang diteliti untuk berbagai kondisi. Sebagai contoh dalam kasus cedera ortopedi, transplantasi sumsum tulang, penyakit kardiovaskular, penyakit autoimun, dan penyakit hati (Kim and Cho, 2013).

Sekretom merupakan hasil sekresi sel pada ruang ekstraseluler berupa berbagai macam molekul maupun faktor-faktor biologis. Faktor biologis yang disekresikan oleh sekretom memegang peran penting dalam berbagai macam fungsi biologis, termasuk homeostasis, perkembangan, persinyalan, imunomodulasi, inflamasi, angiogenesis, apoptosis, proteolisis dan adhesi (Daneshmandi *et al.*, 2021). Secara umum, produksi sekretom dilakukan melalui beberapa tahapan. Mula-mula sel akan ditumbuhkan pada

media yang dilengkapi dengan *fetal bovine serum* (FBS) hingga mencapai konfluensi tertentu. Kemudian sel akan dibilas menggunakan *phosphate buffer saline* (PBS) dan dipindahkan kedalam medium *serum-free* yang akan dilakukan inkubasi selama beberapa waktu tertentu sebelum pemanenan dan pengolahan sekretom (Singh, Choonara, and Kumar, 2025).

Pembilasan dengan PBS dilakukan untuk menghilangkan FBS pada sel, dikarenakan protein pada FBS dapat mengganggu hasil sekresi pada sekretom. Selain itu, FBS juga dapat terkontaminasi oleh virus seperti *bovine viral diarrhea virus* (BVDV), parvovirus, retrovirus, dan juga *prion*. (Stival, Silva, and Valadares, 2025) Untuk memastikan bahwa sekretom yang dihasilkan bebas dari FBS, perlu dilakukannya identifikasi terhadap keberadaan serum pada sekretom. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi keberadaan cemaran serum pada sekretom MSC yang dihasilkan dalam kondisi kultur *free-serum*. Selain itu, penelitian ini juga bertujuan untuk mendeteksi kadar protein pada sekretom MSC. Hasil dari penelitian ini akan memberikan informasi penting dan dapat dipercaya terkait metode analisa cemaran serum dan penetapan kadar protein pada sekretom MSC.

Pada penelitian yang dilakukan oleh Parmar *et al.* (2022) menganalisis kadar albumin dalam serum darah penderita HIV. Metode yang digunakan dalam penelitian tersebut, yaitu metode Bromocresol Green. Dari penelitian yang dilakukan, didapatkan hasil kadar albumin dalam serum darah penderita HIV berkisar $3,96 \pm 0,52$ g/dL. Penelitian yang dilakukan oleh Nouroozi dan Ahmadizadeh (2015) menganalisis kadar protein menggunakan metode bradford dalam *microplate* secara kuantitatif. Hasil dari penelitian tersebut menunjukkan bahwa *microplate* dapat digunakan sebagai alternatif yang lebih cepat dan ekonomis dalam menentukan kadar protein dibandingkan dengan menggunakan kuvet.

Penelitian lain yang dilakukan Kalinina *et al.* (2015) menganalisis kadar protein total pada sekretom *adipose-derived mesenchymal stromal cells* (ADSCs) menggunakan metode Bradford.

FBS mengandung beberapa senyawa dengan komponen utama *bovine serum albumin* (BSA) sebanyak >95% dalam serum, dengan sejumlah kecil protein lain, termasuk insulin, hormon, dan *growth factors* (Mishra and Heath, 2021). Terdapatnya albumin menjadi kunci untuk mendeteksi kandungan FBS pada sekretom. Salah satu cara untuk mendeteksi kadar albumin, yaitu dengan menggunakan metode Bromocresol Green. Prinsip dari metode ini, yaitu adanya interaksi antara Bromocresol Green dan albumin pada pH 4,2 sehingga membentuk kompleks berwarna biru kehijauan yang dianalisa menggunakan spektrofotometri pada panjang gelombang 628 nm. Kekurangan metode ini yaitu, protein *alpha* dan *beta* globulin dapat berinteraksi dengan Bromocresol Green, sehingga dapat mengganggu hasil analisa (Duly *et al*, 2003).

Secara kuantitatif, pengujian protein dapat dilakukan dengan menggunakan metode Kjeldahl, metode Lowry, metode Biuret, metode Bradford, metode Spektrofotometer UV, dan metode titrasi Formol (Subroto dkk., 2020). Metode yang digunakan untuk menganalisis kadar protein dalam penelitian ini adalah penetapan kadar protein total dengan metode Bradford. Untuk menentukan kadar protein secara kuantitatif diperlukan kurva baku larutan standar. Metode Bradford dipilih sebagai metode dalam analisa protein, karena dapat digunakan secara luas, mudah untuk dilakukan, dapat diaplikasikan dalam semua jenis bahan yang mengandung protein, tidak memakan waktu lama, ekonomis, akurat untuk kadar protein yang kecil maupun besar. Sementara itu, kekurangan dari metode ini, yaitu tidak dapat menganalisa arginin, dan lisin dalam bentuk bebas, serta peptida

yang lebih kecil dari 3000 dalton. Prinsip dari metode Bradford, yaitu adanya interaksi antara asam amino dengan *Coomassie Brilliant Blue G-250* dalam suasana asam yang membentuk kompleks berwarna biru. Semakin besar intensitas warna yang terbentuk, maka semakin tinggi kadar proteinnya. Pengukuran absorbansi dilakukan pada panjang gelombang 595 nm menggunakan instrumen *microplate scanner*. Mula-mula dilakukan validasi terhadap metode Bradford dan Bromocresol Green melalui 6 tahapan yaitu, selektivitas, linearitas, akurasi, presisi, LOD dan LOQ. Larutan standar yang digunakan adalah BSA. Kelebihan menggunakan BSA yaitu murah, mudah didapat, stabil dan mudah larut (Nouroozi and Ahmadizadeh, 2015).

1.2 Rumusan Masalah

1. Berapa besar kadar cemaran albumin dan globulin serum pada sekretom sel punca mesenkimal yang dihasilkan dalam kondisi kultur *serum-free*?
2. Berapa besar kadar protein total dalam sekretom sel punca mesenkimal yang dianalisis menggunakan metode Bradford?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Menentukan kadar cemaran albumin dan globulin serum pada sekretom sel punca mesenkimal yang dihasilkan dalam kondisi kultur *serum-free*.
2. Menentukan kadar protein total dalam sekretom sel punca mesenkimal menggunakan metode Bradford.

1.4 Hipotesis Penelitian

1. Tidak terdapat cemaran albumin dan globulin serum pada sekretom sel punca mesenkimal yang dihasilkan dalam kondisi kultur *serum-free*.
2. Metode Bradford mampu mengukur kadar protein total sekretom sel punca mesenkimal dengan baik.

1.5 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan gambaran terkait cemaran albumin-globulin serum dan kadar protein pada sekretom sel punca mesenkimal menggunakan metode Bromocresol Green dan Bradford secara lebih ekonomis dan mudah.