

## Ketahanan Eksplan Embrio Ayam Dalam Media In Vitro

Atik Kurniawati\*, Dwi Listyorini

Poltekkes Kemenkes Malang, Jawa Timur, Indonesia

Universitas Negeri Malang, Jawa Timur, Indonesia

E-mail: atiecc85@gmail.com

Paper submit: 7 Juli 2020; Paper publish: September 2021

**Abstract** – Science has implemented the cell cultures as the primary for research such as a model system, toxicity tests, cancer, viruses, cell-based industries, genetic counseling, genetic engineering, gene therapy, drug screening and the latest is invitro meat. The purpose of this study was to determine the resistance of chicken embryo eksplan cells in invitro media. The research design was in the form of laboratory experiments. Explants taken 4 day old chick embryos, which were cultured in MEM media + serum. The results showed fibroblast cell cultures which survive 2 days. The most influential factor is the environment that is less supportive of the growth of explant chicken embryo cell

**Keywords:** Resistance, Fibroblast, Invitro

**Abstrak** – Ilmu sains telah menerapkan kultur sel sebagai metode utama untuk penelitian seperti sistem model, uji toksisitas, kanker, virus, industri berbasis sel, konseling genetik, teknik genetika, terapi gen, screening obat dan bahkan daging in vitro. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui ketahanan eksplan embrio ayam dalam media invitro. Desain penelitian berupa eksperimen laboratorik. Eksplan diambil embrio ayam umur 4 hari, yang dikultur di media MEM+serum. Hasil kultur berupa sel fibroblas yang bertahan hidup 2 hari. Faktor yang paling berpengaruh adalah lingkungan yang kurang mendukung pertumbuhan dari eksplan sel embrio ayam

**Kata kunci:** Ketahanan, Fibroblast, Invitro

### PENDAHULUAN

Kultur sel adalah suatu usaha menempatkan sel hidup kedalam media yang dapat menghantarkannya untuk berkembang biak atau bertumbuh secara invitro. Pertumbuhan sel tersebut dilakukan secara mitosis melalui proses yang dimulai dari interfase, profase, metafase, anafase, dan telofase (Ma'at, 2019).

Kultur sel menjadi salah satu alat utama yang digunakan dalam ilmu sains sekarang ini (Ryan, 2008). Berbeda dengan organisme lainnya, sel hewan lebih sulit untuk dibudidayakan secara invitro, hal ini karena sel hewan memerlukan lebih banyak nutrisi dan biasanya tumbuh hanya ketika melekat pada permukaan yang dilapisi khusus. Meskipun dengan kesulitan-kesulitan ini, berbagai jenis sel-sel hewan,

termasuk yang *undifferentiated* dan *differentiated*, berhasil dibudidayakan (Lodish *et al*, 2000). Beberapa manfaat penting kultur sel diantaranya sebagai sistem model, menguji toksisitas, penelitian tentang kanker, virus, industri berbasis sel, konseling genetik, teknik genetika, terapi gen, *screening* obat (Ryan, 2008) dan daging invitro (Schmidinger, 2012).

Faktor-faktor penting dalam pertumbuhan sel yang di kultur dalam media invitro adalah substrat, oksigen, pH, buffer, osmolaritas, suhu, viskositas, asam amino dan vitamin, ion dan glukosa, antibiotik dan antifungi, suplemen organik dan serum (Syahidah, dkk., 2016). Tujuan penelitian untuk mengetahui ketahanan sel dari embrio ayam pada media invitro.

## METODE PENELITIAN

### 1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Hewan Universitas Negeri Malang pada bulan November 2016.

### 2. Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain eksperimen laboratorik, dimana dilakukan penelitian terhadap jaringan embrio ayam usia 4 hari untuk memproduksi daging secara in-vitro. Adapun prosesnya antara lain sterilisasi alat, pembuatan medium, inokulasi.

### 3. Pembuatan Medium MEM

Menyiapkan alat dan bahan yang digunakan, menimbang bubuk M199 1,06 gram,  $\text{NaHCO}_3$  0,22 gram, Penisilin 0,01 gram, Streptomycin 0,01 gram. dilarutkan dalam 100 ml aquades, kemudian dihomogenkan hingga semua bahan larut. Pindahkan ke tabung centrifuge. Ambil syringe 20 ml dan saring dalam beaker glass.

### 4. Pembuatan Kultur Primer

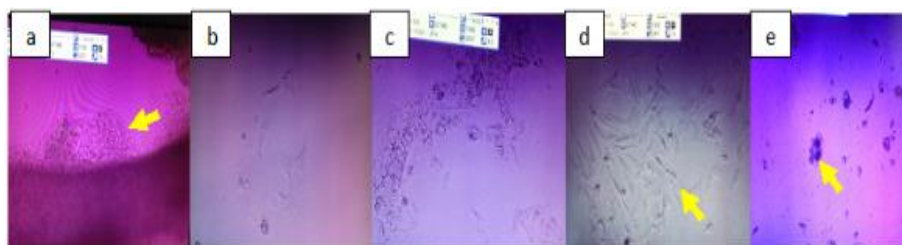
Menyiapkan embrio ayam berumur 4 hari. Keluarkan embrio ayam dari cangkangnya. Masukkan embrio ke dalam larutan garam seimbang. Pindahkan embrio ayam ke dalam wadah lain yang berisi larutan garam seimbang segar. Ambil cawan kultur

yang telah diisi dengan media+serum. Pastikan bakal organ berada terendam oleh media. Peliharalah organ tersebut di dalam inkubator pada suhu  $39^\circ\text{C}$ . Amati perkembangannya mulai 24 jam setelah penanaman. Ganti medium 3-4 jam sekali.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Kultur jaringan hewan merupakan suatu teknik untuk mempertahankan kehidupan sel di luar tubuh organisme. Lingkungan sel dibuat sedemikian rupa, sehingga menyerupai lingkungan asal dari sel yang bersangkutan. Sel yang dipelihara bisa berupa sel tunggal (kultur sel), sel di dalam jaringan (kultur jaringan), maupun sel di dalam organ (kultur organ) (Listyorini, 2011)

Pada penelitian yang telah dilakukan dapat diketahui bahwa sel eksplan yang berasal dari embrio ayam usia 4 hari ketika di inokulasikan ke media MEM+serum pada hari pertama sudah terlihat sel fibroblas. Hal ini sesuai dengan Ryan (2005), ketika sel diangkat dari jaringan awalnya kemudian ditempatkan di lingkungan yang cocok, sel tersebut akan melekat, membelah dan tumbuh. Inilah yang disebut dengan kultur primer. Setelah beberapa hari sel-sel individu akan berpindah keluar dari eksplan ke permukaan tempat sel-sel itu tumbuh.



Gambar 1. Perkembangan kultur primer embrio ayam secara invitro  
a,b,c) hari ke-1, tanda panah menunjukkan eksplan yang belum menempel  
d) hari ke-2, tanda panah menunjukkan sel fibroblas yang sehat dan  
e) hari ke-3, tanda panah menunjukkan sel fibroblas yang mengalami kematian

Hari kedua kultur, terlihat bahwa sel sudah banyak keluar dari eksplan, namun tidak sampai ke monolayer. Hanya beberapa bagian saja yang nampak menyebar, hal ini karena kemungkinan sudah mulai terkontaminasi oleh bakteri.

Kultur sel biasanya dideskripsikan berdasarkan morfologi atau karakteristik fungsionalnya. Dimana ada 3 (tiga) morfologi dasar antara lain sel epitel, sel limfoblast dan sel fibroblast. Penelitian ini menunjukkan bahwa eksplan ini berkembang serupa sel fibroblast, ciri-ciri sel fibroblast yaitu menempel di substrat, memanjang dan bipolar, dan sering membentuk pusaran di kultur yang padat. Fibroblas merupakan sel yang banyak didapat pada jaringan ikat terutama pada kulit. Fibroblas terlibat dalam pertumbuhan normal, proses penyembuhan luka dan aktifitas fisiologis dari tiap jaringan dan organ dalam tubuh (Freshney, 2005).

Hari ketiga pada kultur sel terjadi kematian pada sel-sel tersebut, seperti terlihat di Gambar 1 diketahui bahwa sel fibroblas mengerut dan menghitam, banyak terjadi kontaminasi oleh bakteri. Seperti dalam Ryan (2005), terdapat 2 (dua) tipe utama kontaminasi sel kultur, kimia dan biologi. Kontaminasi kimiawi sangat sulit terdeteksi agen penyebabnya, contohnya endotoksin, ion metal atau sisa desinfektan yang tidak terlihat. Kontaminasi biologi seperti pertumbuhan *yeast*, fungi dan bakteri biasanya memiliki dampak nyata terhadap kultur (perubahan pH medium). Kontaminasi bakteri biasanya berasal dari cara perlakuan yang tidak steril, seperti pada penggantian medium, memindah kultur dari inkubator ke LAF dan sebagainya.

Faktor yang mempengaruhi kondisi kultur pada penelitian ini antara lain suhu, meskipun menggunakan inkubator akan tetapi suhu yang tidak stabil mempengaruhi kondisi kultur. Suhu inkubator biasanya diatur sama dengan suhu tubuh *host* dimana sel itu diambil. Untuk hewan berdarah dingin suhu berkisar 18-25°C. Kebanyakan mammalia berkisar 36-37 °C. Kisaran temperatur inilah yang harus diperhatikan dengan memeriksa teratur suhu inkubator.

Faktor lain adalah pengaturan pH dan osmolaritas dan ketersediaan gas esensial seperti O<sub>2</sub> dan CO<sub>2</sub>, nutrisi dalam media. Porsi “makan” dari medium kultur terdiri dari asam amino, vitamin, mineral dan karbohidrat. Komposisi ini akan membuat sel membangun protein baru dan komponen esensial untuk pertumbuhan dan fungsionalnya seperti menyediakan energi untuk metabolisme sel itu sendiri. Disamping itu medium seharusnya menjaga kisaran pH kultur dan menjadi buffer bila terjadi perubahan pH yang mendadak. Hal ini biasanya dapat diatasi dengan penggunaan inkubator CO<sub>2</sub> *controls set* untuk menyediakan atmosfer antara 2% dan 10% CO<sub>2</sub>. Begitu pentingnya inkubator CO<sub>2</sub> ini untuk kelangsungan hidup kultur sel.

## SIMPULAN

Berdasarkan penelitian ini dapat diambil kesimpulan bahwa kultur sel dari eksplan embrio ayam telah berhasil menghasilkan sel fibroblas yang bertahan selama 2 hari. Faktor ini dipengaruhi oleh adanya kontaminasi oleh bakteri, suhu inkubator, pH, nutrisi pada medium dan gas esensial (O<sub>2</sub> dan CO<sub>2</sub>).

## DAFTAR PUSTAKA

- Ferguson MWJ, Leigh IM. (1998). *Wound healing*. Dalam: Champion RH, Burton JL, Burns DA, Breathnach SM, editor. *Textbook of Dermatology*. Edisi ke-6. London: Blackwell Science Ltd.; 337-43
- Freshney RI. (2005). *Culture of animal cells: a manual of basic technique*. 5th ed. Wiley and Son, Inc.

- Kadim, I. T., Mahgoub, O., Baqir, S., Faye, B., & Purchas, R. (2015). Cultured meat from muscle stem cells: A review of challenges and prospects. *Journal of Integ-rative Agri culture*, 4(2), 222-233.
- Listyorini, Dwi. (2011). *Kultur Jaringan Hewan: Metode Pengamatan dan Perlakuan Sel, Jaringan dan Organ Hewan secara In Vitro (Edisi Revisi)*. Jakarta: FMIPA UM
- Lodish, H., Berk, A., Zipursky, S. L., Matsudaira, P., Baltimore, D., & Darnell, J. (2000). Molecular cell biology 4<sup>th</sup> edition. *National Center for Biotechnology Information, Bookshelf*, 9.
- Ma'at, S. (2019). *Teknik dasar kultur sel*. Airlangga University Press.
- Ryan, J. A. (2008). Introduction to Animal Cell Culture. Corning Incorporated. *Life Sciences, Chelmsford St*, 3-8.
- Winterman, D. (2012). Future foods: what will we be eating in 20 years' time. *BBC News Magazine*, 30th July, (accessed August 14, 2013), [available at [www.bbc.co.uk/news/magazine](http://www.bbc.co.uk/news/magazine)].
- Syahidah, H. N., & Hadisaputri, Y. E. (2016). Media yang Digunakan pada Kultur Sel. *Farmaka*, 14(3), 27-36.