

Studi Komparatif Kondisi Inkubasi Lembab dan Kering terhadap Jumlah dan Viabilitas Sel Punca Mesenkimal pada Pasase 6–9

Galuh RISMAWAN, Dewi RAHMAWATI, Rina ADRIANY, Eddy YUSUF, Rizky Farmasita
BUDIASTUTI*

Department of Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Jakarta Global University, Depok, West Java, Indonesia 16412

*Corresponding author: farmasita@jgu.ac.id

ABSTRAK: Kondisi mikro-lingkungan kultur, khususnya kelembaban inkubator, merupakan faktor fisik penting yang dapat memengaruhi stabilitas fisiologis dan performa pertumbuhan sel *in vitro*. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh kondisi kelembaban inkubator terhadap jumlah dan viabilitas sel punca mesenkimal (Mesenchymal Stem Cell, MSC) pada pasase 6 hingga 9. Sel merupakan MSC manusia yang berasal dari jaringan lemak donor dewasa yang telah dikarakterisasi positif terhadap penanda CD73, CD90, dan CD105 dan dikultur dalam media α -MEM yang diperkaya *human platelet lysate* serta antibiotik 1% penicillin-streptomycin pada kondisi normoksia (37°C, 5% CO₂). Dua kondisi inkubasi dibandingkan, yaitu kelembaban tinggi (RH $\pm$ 95%) dan kelembaban rendah (RH <80%). Parameter yang diukur meliputi jumlah total sel, viabilitas sel menggunakan pewarnaan Trypan Blue, dan Population Doubling Time (PDT). Hasil menunjukkan bahwa kelembaban tinggi memberikan hasil yang signifikan terhadap peningkatan jumlah sel dan viabilitas ($p < 0,05$). Rata-rata jumlah sel akhir pada kondisi lembab mencapai $23,36 \times 10^6$ dengan viabilitas 90,23%, sedangkan pada kondisi kering hanya $5,56 \times 10^6$ dengan viabilitas 81,13%. Perbedaan kelembaban juga memengaruhi PDT, di mana kondisi lembab menghasilkan pertumbuhan lebih cepat (0,33 hari⁻¹) dibandingkan kondisi kering (0,54 hari⁻¹). Dengan demikian, kelembaban tinggi berperan penting dalam menjaga stabilitas fisiologis dan mempercepat proliferasi MSC *in vitro*. Keterbatasan penelitian ini adalah tidak dilakukannya pengukuran langsung osmolaritas media selama inkubasi.

KEYWORDS: sel punca mesenkimal, kultur sel, kelembaban inkubator, viabilitas, proliferasi

© 2025. Published by Faculty of Pharmacy Jakarta Global University, in coordination with Directorate for Research and Community Service (LPPM) of Jakarta Global University. DOI: <https://doi.org/10.56904/jgpr.v1i02.175> Received: December 2025, accepted: December 2025, published: December 2025

PENDAHULUAN

Mesenchymal Stem Cell (MSC) merupakan salah satu jenis sel punca dewasa yang memiliki kemampuan untuk memperbarui diri dan berdiferensiasi menjadi berbagai jenis sel seperti osteosit, kondrosit, dan adiposit. Potensi regeneratif dan imunomodulatornya menjadikan MSC sebagai kandidat utama dalam terapi berbasis sel, terutama untuk penanganan penyakit degeneratif dan gangguan jaringan. Berbagai penelitian pra-klinis dan klinis telah menunjukkan bahwa MSC berperan penting dalam memperbaiki jaringan tulang, tulang rawan, serta organ yang mengalami kerusakan permanen. Seiring berkembangnya teknologi terapi regeneratif, kebutuhan akan produksi MSC dalam skala besar dengan kualitas yang konsisten menjadi semakin penting.

Penelitian sel punca di Indonesia menunjukkan kemajuan pesat, khususnya dalam pemanfaatan sel punca mesenkimal untuk terapi berbasis riset, meskipun penggunaannya sebagai sistem penghantar obat (*drug delivery system*) masih dalam tahap awal. Berdasarkan Permenkes No. 32 Tahun 2014, terdapat 11 rumah sakit rujukan terapi sel punca, termasuk RSUP dr. Cipto Mangunkusumo, RSUP dr. Sardjito, dan RS Kanker Dharmas, yang tersebar di berbagai wilayah Indonesia. Untuk mendukung layanan terapi ini, rumah sakit perlu dilengkapi dengan instalasi pengolahan sel punca, fasilitas penyimpanan, pusat riset terintegrasi, serta

tenaga medis yang terlatih. Pengolahan sel dapat dilakukan di dalam atau di luar rumah sakit. Oleh karena itu, optimasi kondisi kultur menjadi aspek krusial untuk menjamin konsistensi kualitas dan keamanan produk MSC yang akan digunakan dalam terapi.

Kondisi lingkungan kultur *in vitro* memiliki pengaruh signifikan terhadap proliferasi, viabilitas, dan potensi diferensiasi MSC. Parameter seperti suhu, pH, tekanan osmotik, kadar CO₂, dan kelembapan relatif (Relative Humidity, RH) berperan dalam menjaga stabilitas fisiologis sel. Inkubator CO₂ modern umumnya dirancang dengan RH tinggi (~95%) untuk mencegah evaporasi media. Namun, dalam praktik kultur jangka panjang atau pada kondisi inkubator dengan kelembapan rendah, evaporasi media dapat meningkat, menyebabkan peningkatan osmolalitas dan perubahan komposisi ionik yang dapat mengganggu fungsi seluler. Studi terdahulu menunjukkan bahwa peningkatan osmolalitas media dapat menurunkan proliferasi dan viabilitas sel, serta memicu stres osmotik yang berdampak pada morfologi dan metabolisme MSC [1].

Beberapa panduan teknis dan publikasi terkini menyoroti pentingnya pengendalian RH dalam kultur sel, karena perubahan kecil dalam kelembapan dapat menyebabkan variasi besar dalam hasil kultur. Ibidi [2] dan Thermo Fisher Scientific [3] melaporkan bahwa evaporasi media akibat rendahnya RH dapat meningkatkan konsentrasi garam hingga 10–15%, sehingga memengaruhi keseimbangan ionik dan tekanan osmotik medium. Penelitian lain menunjukkan bahwa fluktuasi osmolaritas secara langsung mengubah aktivitas biologis sel melalui jalur osmoregulasi [4]. Namun demikian, hingga saat ini belum terdapat kajian eksperimental sistematis yang secara langsung membandingkan efek kelembapan tinggi dan rendah pada MSC pasase lanjut, padahal tahap pasase lanjut diketahui lebih sensitif terhadap stres kultur dan penurunan kapasitas proliferaatif.

Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini dilakukan untuk menganalisis pengaruh perbedaan kelembapan inkubasi terhadap jumlah dan viabilitas sel punca mesenkimal pada pasase 6 hingga 9. Hipotesis yang diajukan adalah bahwa kondisi kelembapan rendah (RH <80%) menyebabkan peningkatan evaporasi media dan osmolalitas yang berujung pada penurunan proliferasi serta viabilitas MSC dibandingkan dengan kondisi kelembapan tinggi (RH 95%). Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan pemahaman yang lebih mendalam mengenai efek fisiologis RH terhadap kultur MSC dan menjadi dasar bagi standarisasi kondisi kultur pada proses produksi sel punca.

METODE

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Sel Terapi (CTU Lab, Stem Cell Cancer Institute) menggunakan sampel sel punca mesenkimal yang telah mencapai pasase 6 hingga pasase 9. Sampel dibagi menjadi dua kelompok: Sampel A diinkubasi dalam kondisi normoksia basah (RH ±95%, CO₂ 5%) dan Sampel B dalam kondisi normoksia kering (RH <80%, CO₂ 5%). Penelitian menggunakan metode enzimatik, dengan pewarnaan Trypan Blue untuk mendeteksi viabilitas sel. Proses kultur dan pemeliharaan sel dilakukan secara aseptis dalam biosafety cabinet, menggunakan media α-MEM yang diperkaya dengan *human platelet lysate* serta bahan dan alat laboratorium standar seperti cryovial, mikroskop inverted, hemocytometer, dan alat pengukur lingkungan kultur. Teknik pencucian sel dilakukan menggunakan PBS dan proses tripsinasi menggunakan Tryple Select.

Data diperoleh melalui observasi primer terhadap berbagai tahapan kultur sel, mulai dari proses thawing, seeding, ganti media, hingga harvesting pada masing-masing pasase. Seluruh prosedur dilaksanakan secara terjadwal dari hari pertama hingga hari ke-26. Data dianalisis melalui tahap editing, coding, dan tabulasi, kemudian dievaluasi untuk menilai keberhasilan kultur serta pertumbuhan sel dalam dua kondisi inkubasi yang berbeda. Perhitungan jumlah sel dilakukan menggunakan hemocytometer dan rumus estimasi total sel berdasarkan rerata jumlah sel, faktor pengenceran, dan volume sampel. Penelitian ini bertujuan mengevaluasi pengaruh kondisi kelembapan terhadap hasil kultur sel punca mesenkimal.

RESULTS

1. Thawing dan Seeding

Proses pencairan sel atau disebut *thawing* dilakukan di dalam *waterbath* dengan suhu 37 °C selama 1 menit 20 detik. Kemudian hasil kultur di tanam atau *seeding* dengan densitas ± 4000 sel/cm² ke dalam tc dish. Hasil kultur sel MSC di hari pertama di simpan di dalam inkubator normoksia dengan suhu 37 °C dan kadar CO₂

5%. Dalam tahap ini belum dilakukan perlakuan terhadap kelembaban inkubator, untuk mengetahui apakah sel berhasil tumbuh. Proses inkubasi kering dilakukan di pasase 7 hari ke-7.

Tabel 1. Jumlah Sel, Viabilitas Sel, Seeding Sel Hasil Kultur Sel SPM Thawing

No	Hasil kultur sel	Hasil
1	Jumlah sel	$5,44 \times 10^6$ sel
2	Viabilitas sel	94,34%
3	Jumlah sel yang ditanam	0,040 ml densitas (3.959 sel/cm^2)

Berdasarkan tabel 1 diketahui bahwa jumlah sel yang didapatkan dari hasil *thawing* adalah 5.443.333 sel, dengan viabilitas sel 94,34% dan jumlah sel yang ditanam adalah sebanyak 0,040 ml densitas (3958 sel/cm^2).

2. Pergantian Media hari ke-4 dan pasase 7 hari ke-7

Proses pengamatan pertumbuhan sel hari ke-4 diamati melalui *inverted microscope* di setiap proses. Hasil pengamatan sel pada tc dish A dan B keduanya dapat tumbuh dan berproliferasi dengan baik.

Pada Pasase 7 hari ke-7 adalah subkultur 1 tc dish A dan 1 tc dish B yang telah di inkubasi di inkubator normoksia 37°C dan kadar CO_2 5%.

Tabel 2. Jumlah Sel, Viabilitas Sel, Seeding Sel Hasil Kultur Sel SPM Pasase 7

No	Hasil kultur sel	Hasil tc dish A	Hasil tc dish B
1	Jumlah sel	$1,55 \times 10^6$ sel	$1,69 \times 10^6$ sel
2	Viabilitas sel	93,56%	95,51%
3	Jumlah sel yang ditanam	0,142 ml densitas (4.010 sel/cm^2) $0,22 \times 10^6$ sel	0,130 ml densitas (4.002 sel/cm^2) $0,22 \times 10^6$ sel

Berdasarkan tabel 2. diketahui bahwa jumlah sel yang didapatkan dari hasil pasase 7 untuk tc dish A adalah $1,55 \times 10^6$ sel, dengan viabilitas sel 93,56% dan jumlah sel yang ditanam adalah sebanyak 0,142 ml densitas (4.010 sel/cm^2). Tc dish B adalah $1,69 \times 10^6$ sel dengan viabilitas sel 95,51% dan jumlah sel yang ditanam adalah sebanyak 0,130 ml densitas (4.002 sel/cm^2).

3. Pergantian Media hari ke-10 dan pasase 8 hari ke-13

Proses pengamatan pertumbuhan sel hari ke-10 diamati melalui *inverted microscope*. Hasil pengamatan sel dapat tumbuh dan berproliferasi dengan baik pada tc dish A, sedangkan tc dish B terlihat hasil pengamatan konfluensi sel yang lebih sedikit dibandingkan tc dish A.

Pada Pasase 8 hari ke-13 adalah subkultur 2 tc dish A di inkubasi di inkubator normoksia 37°C dan kadar CO_2 5%, Kelembaban > 95% dan 2 tc dish B di inkubasi di inkubator normoksia 37°C dan kadar CO_2 5%, Kelembaban < 80 %.

Tabel 3. Jumlah Sel, Viabilitas Sel, Seeding Sel Hasil Kultur Sel SPM Pasase 8

No	Hasil kultur sel	Hasil tc dish A	Hasil tc dish B
1	Jumlah sel	$3,55 \times 10^6$ sel	$1,42 \times 10^6$ sel
2	Viabilitas sel	92,62%	75,66%
3	Jumlah sel yang ditanam	0,062 ml densitas (4.002 sel/cm^2) $0,22 \times 10^6$ sel	0,155 ml densitas (4.002 sel/cm^2) $0,22 \times 10^6$ sel

Berdasarkan tabel 3 diketahui bahwa jumlah sel yang didapatkan dari hasil pasase 8 untuk tc dish A adalah $3,55 \times 10^6$ sel, dengan viabilitas sel 92,62% dan jumlah sel yang ditanam adalah sebanyak 0,062 ml densitas (4.002 sel/cm^2). Tc dish B adalah $1,42 \times 10^6$ sel dengan viabilitas sel 75,66% dan jumlah sel yang ditanam adalah sebanyak 0,155 ml densitas (4.002 sel/cm^2).

4. Pergantian Media hari ke-16 dan pasase 9 hari ke-19

Proses pengamatan pertumbuhan sel hari ke-16 diamati melalui *inverted microscope*. Hasil pengamatan sel dapat tumbuh dan berproliferasi dengan baik pada tc dish A, sedangkan tc dish B terlihat hasil pengamatan konfluensi sel yang lebih sedikit dibandingkan tc dish A.

Pada Pasase 9 hari ke-19 adalah subkultur 4 tc dish A di inkubasi di inkubator normoksia 37 °C dan kadar CO₂ 5%, Kelembaban > 95% dan 4 tc dish B di inkubasi di inkubator normoksia 37 °C dan kadar CO₂ 5%, Kelembaban < 80%.

Tabel 4. Jumlah Sel, Viabilitas Sel, Seeding Sel Hasil Kultur Sel SPM Pasase 9

No	Hasil kultur sel	Hasil tc dish A	Hasil tc dish B
1	Jumlah sel	5,87 x 10 ⁶ sel	1.99 x 10 ⁶ sel
2	Viabilitas sel	92,24%	75,69%
3	Jumlah sel yang ditanam	0,04 ml densitas (4.272 sel/cm ²) 0,23 x 10 ⁶	0,110 ml densitas (3.990 sel/cm ²) 0,22 x 10 ⁶

Berdasarkan tabel 4 diketahui bahwa jumlah sel yang didapatkan dari hasil pasase 9 untuk tc dish A adalah 5,88 x 10⁶ sel dengan viabilitas sel 92,24% dan jumlah sel yang ditanam adalah sebanyak 0,04 ml densitas (4.272 sel/cm²). Tc dish B adalah 1,99 x 10⁶ sel dengan viabilitas sel 75,69% dan jumlah sel yang ditanam adalah sebanyak 0,110 ml densitas (3.990 sel/ cm²).

5. Pergantian Media hari ke-22 dan Harvest hari ke-26

Proses pengamatan pertumbuhan sel hari ke-22 diamati melalui *inverted microscope*. Hasil pengamatan sel dapat tumbuh dan berproliferasi dengan baik pada tc dish A, sedangkan tc dish B terlihat hasil pengamatan konfluensi sel yang lebih sedikit dan tidak jauh berbeda dari pasase sebelumnya dibandingkan dengan tc dish A.

Pada *Harvest* hari ke-26 adalah proses panen 8 tc dish A di inkubasi di inkubator normoksia 37 °C dan kadar CO₂ 5%, Kelembaban > 95% dan 8 tc dish B di inkubasi di inkubator normoksia 37 °C dan kadar CO₂ 5%, Kelembaban < 80 %. Proses ini adalah tahapan akhir dari penelitian ini dimana jumlah sel yang dihasilkan dari kedua kondisi inkubasi bisa dihitung jumlah sel dan viabilitas sel yang dikultur.

Pada tahap akhir penelitian ini dilakukan panen sel yang berjarak 4 hari dari proses penggantian media dengan tujuan mendapatkan hasil panen sel yang lebih banyak. Faktor pengenceran sel yang digunakan pada tc dish A adalah 1:10 dengan volume 2 ml, sedangkan untuk tc dish B menggunakan pengenceran sel 1:2 dengan volume 2 ml.

Tabel 5 Jumlah Sel, Viabilitas Sel Hasil Panen Sel SPM Pasase 9

No	Hasil kultur sel	Hasil tc dish A	Hasil tc dish B
1	Jumlah sel	23.4 x 10 ⁶ sel	5,6 x 10 ⁶ sel
2	Viabilitas sel	90,23%	81,13%

Berdasarkan tabel 5 diketahui bahwa jumlah sel yang didapatkan dari hasil panen sel untuk tc dish A adalah 23,4 x 10⁶ sel dengan viabilitas sel 90,23% dan jumlah Tc dish B adalah 5,6 x 10⁶ sel dengan viabilitas sel 81,13%. Hasil panen yang didapatkan tc dish A lebih besar dibandingkan dengan Tc dish B. Pemilihan media, penentuan angka densitas sel dan tehknik kultur mempengaruhi hasil akhir dari panen sel punca disamping kondisi kelembaban saat proses inkubasi.

Secara umum sel membutuhkan jumlah densitas tertentu untuk bisa tumbuh dengan baik, karena sel punca membutuhkan *cell signaling* dari sel-sel lainnya. Namun apabila sudah sampai ke densitas yang tinggi sel normal juga memiliki *Cell growth inhibition* yang memperlambat laju pertumbuhan sel karena tempat tumbuh sel yang semakin sedikit.

DISKUSI

1. Hasil Perhitungan Total sel

Population doubling time (PDT) adalah waktu yang dibutuhkan sel untuk menggandakan diri. Perhitungan PDT biasa digunakan untuk melihat waktu yang diperlukan sel tumbuh secara eksponensial. Penelitian ini menghasilkan PDT per hari 0,33; 0,34; 0,35; 0,43 (Tc dish A) dan 0,34; 0,40; 0,43; 0,54 (Tc dish B) pada p6, p7, p8, p9 pada konfluensi $\pm 90\%$. Dalam penelitian sebelumnya oleh Dian median et al. (2015), p6, p7, dan p8 memiliki PDT 1,73; 1,98; 1,61 pada konfluensi 30% [5]. Penelitian lainnya menunjukkan penurunan nilai MSC-PDT dari $85 \pm 7,2$ jam (3,54 per hari). PDT pada p0 menggunakan media DMEM-10% FBS sampai mencapai konfluensi 100% dan jumlah sel dihitung selama fase log [6].

Penelitian lain menggunakan media DMEM 10% FBS dalam kultur UCMSC hingga p15 dan memperoleh nilai $\text{mean} \pm \text{SD}$ PDT p1–p15 sebesar $3,1 \pm 0,4$ per hari. Penurunan laju proliferasi dan pertumbuhan sel terjadi dengan nilai CPD $\text{mean} \pm \text{SD}$ sebesar $33,7 \pm 2,1$ doublings selama masa kultur $160,9 \pm 6,9$ hari dari jumlah pasase $21,0 \pm 1,0$ [7].

Suhu inkubasi ($\pm 37^\circ\text{C}$), kelembaban ($\pm 95\%$ RH), dan atmosfer gas 5% CO_2 di sekitar sel berhubungan dengan pH media kultur serta sistem buffer bikarbonat. Parameter tersebut idealnya konstan dan tidak menjadi sumber variasi eksperimental [8]. Apabila variasi terjadi, kondisi ini dapat menimbulkan stres seluler dengan respons yang bergantung pada jenis sel, sifat stres, dan durasinya, mulai dari aktivasi jalur survival hingga inisiasi kematian sel.

Kelembaban $>80\%$ RH memengaruhi viabilitas sel pada TC dish, di mana lebih banyak sel mengalami apoptosis sehingga viabilitas menurun. Warna pH diukur dengan membandingkan sampel dengan standar indikator phenol red. Perubahan pH yang terjadi tidak terlalu memengaruhi kultur sel dalam penelitian ini karena adanya sistem dapar pada media yang menjaga stabilitas pH. Nilai pH masih berada dalam rentang normal (7,0–7,4) yang umum digunakan dalam kultur sel [9]. Nilai pH $<6,8$ dapat menyebabkan pertumbuhan sel terganggu dan viabilitas menurun [10]. Dengan demikian, penurunan pertumbuhan sel pada penelitian ini bukan disebabkan oleh pH media, melainkan oleh metode inkubasi kering yang menurunkan jumlah hasil kultur.

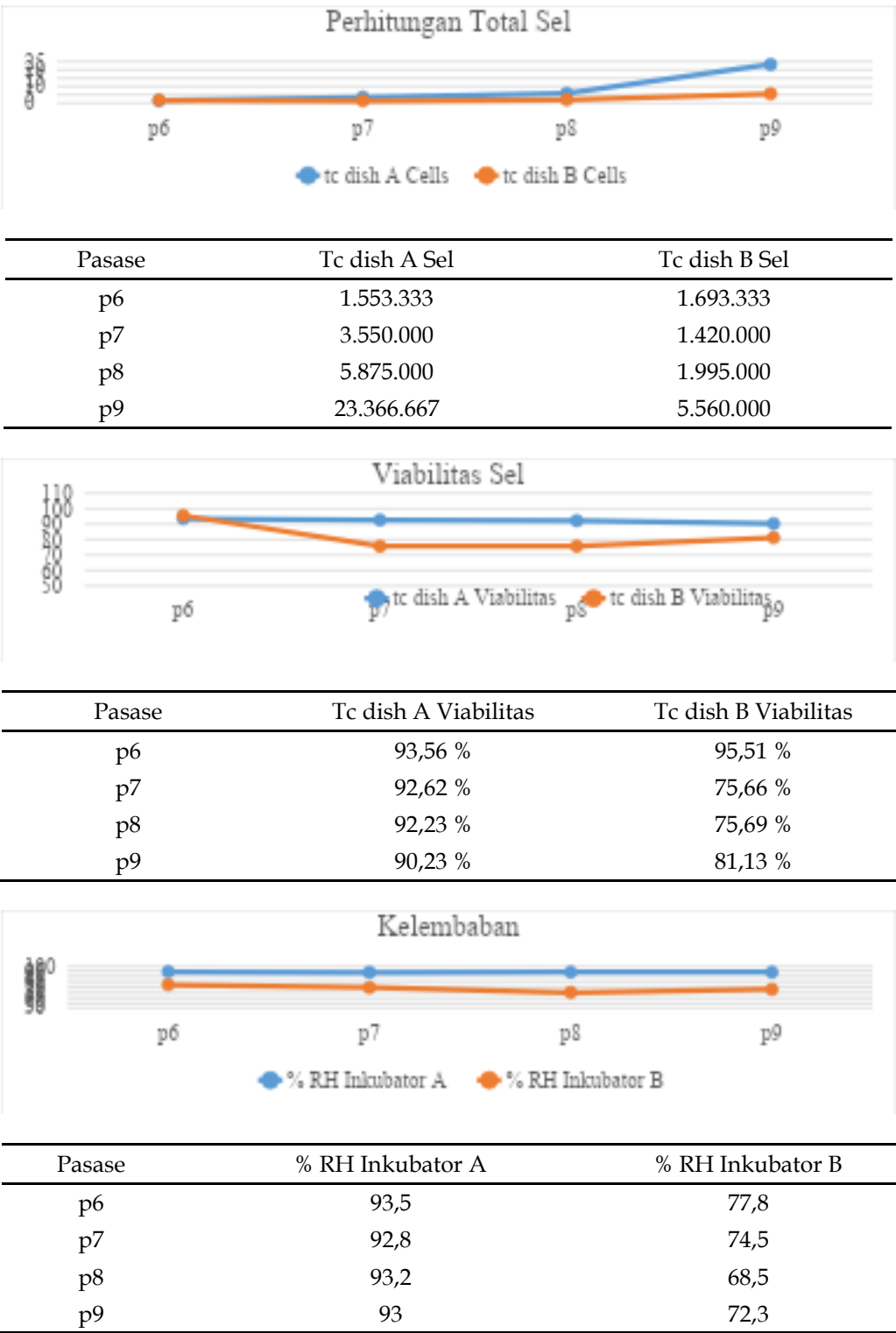
Osmolaritas tidak diukur dalam penelitian ini karena keterbatasan fasilitas. Namun, berkurangnya volume media selama inkubasi menunjukkan adanya evaporasi pada kondisi inkubasi kering, sedangkan pada inkubasi kelembaban tinggi tidak ditemukan penurunan volume yang berarti. Stres hiperosmotik akibat media dengan osmolaritas >300 mOsm dapat menyebabkan perubahan fisikokimia tekanan osmotik sel sehingga menurunkan viabilitas dan fungsionalitas sel [11]. Dugaan perubahan osmolaritas ini didukung oleh banyaknya sel nekrotik dan rendahnya viabilitas pada Tc dish B.

Berbagai faktor dapat memengaruhi laju proliferasi sel, termasuk jenis media, metode panen enzimatik (misalnya TrypLE Select), serta interval waktu antara seeding dan pasase [12]. Media kultur pada penelitian ini menunjukkan hasil PDT lebih baik dibandingkan penelitian sebelumnya. Salah satu faktor yang berperan adalah penggunaan human platelet lysate (HPL), yang dilaporkan lebih unggul dibandingkan FBS karena bersifat xeno-free, tidak berbasis hewani, memiliki risiko rejeksi lebih rendah, dan tidak tumorigenik [13]. HPL-CM mengandung 10% human platelet lysate dalam 500 mL α -MEM yang berfungsi meningkatkan laju proliferasi sel [14]. Pada kondisi inkubasi kering, pertumbuhan sel tetap terjadi meskipun jumlah sel yang dihasilkan lebih rendah.

Lingkungan lembab di dalam inkubator merupakan kondisi ideal untuk proliferasi sel. Namun, salah satu masalah yang sering dihadapi laboratorium kultur sel adalah kontaminasi inkubator oleh patogen udara yang dapat masuk melalui reservoir air inkubator [15]. Kondisi kelembaban tinggi menghasilkan jumlah sel panen lebih baik dibandingkan inkubasi kering, tetapi risiko kontaminasi juga meningkat. Oleh karena itu, seluruh proses kultur dilakukan dengan teknik aseptik ketat pada setiap tahap prosedur.

2. Total Sel, Viabilitas dan Kelembaban Hasil Penelitian Tc Dish A dan B

Tabel 6 Grafik Total Sel, Viabilitas dan Kelembaban Hasil Penelitian Tc Dish A dan B



Tc dish A menunjukkan peningkatan signifikan jumlah sel dari pasase ke pasase. Dimulai dari 1,55 juta (p6) hingga mencapai 23,36 juta (p9) pada saat panen sel. Tc dish B juga menunjukkan peningkatan, namun jauh lebih rendah dan tidak secepat Tc dish A. Diawali dengan 1,69 juta (p6) sampai 5,56 juta (p9) yang diperoleh saat panen sel. Pertumbuhan sel pada Tc dish A jauh lebih optimal dibandingkan dengan Tc dish

B. Hal ini disebabkan oleh kondisi kelembaban inkubator yang optimal pada Tc dish A.

Viabilitas Sel Tc dish A menunjukkan viabilitas sel yang cukup stabil dan tinggi, sedikit menurun dari 93,56% (p6) ke 90,23% (p9). Tc dish B mengalami penurunan viabilitas tajam dari 95,51% (p6) ke 75,66% (p7 dan p8), lalu sedikit meningkat ke 81,13% (p9). Sel pada Tc dish A tidak hanya tumbuh dalam jumlah yang lebih besar, tapi juga tetap sehat (viabilitas tinggi). Sebaliknya, Tc dish B menghadapi stres lingkungan atau media yang kurang optimal, disebabkan oleh teknik inkubasi kering sehingga viabilitasnya menurun.

Kelembaban Inkubator A mempertahankan kelembaban yang cukup stabil dan tinggi sekitar 93% di semua pasase. Inkubator B memiliki kelembaban yang jauh lebih rendah dan fluktuatif, turun hingga 68,5% (p8), lalu naik lagi ke 72,3% (p9). Kondisi kelembaban pada penelitian ini sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan dan viabilitas sel. Inkubator A dengan kelembaban lebih stabil dan tinggi mendukung pertumbuhan dan kesehatan sel lebih baik dibandingkan Inkubator B.

Reservoir air di inkubator berfungsi menjaga kelembaban tinggi (RH ~90–95%), mencegah penguapan media kultur dan menstabilkan suhu dan gas (CO₂/O₂). Tanpa reservoir air menyebabkan RH turun drastis seperti yang terlihat pada data (p8: hanya 68,5% pada Inkubator B). Kondisi ini menyebabkan media lebih cepat menguap dan secara teoritis meningkatkan osmolaritas, menyebabkan stres osmotik pada sel, sehingga sel lebih cepat mengalami dehidrasi, kehilangan fungsi, bahkan kematian dini. Penghilangan reservoir air di Inkubator B merupakan penyebab utama penurunan viabilitas dan lambatnya pertumbuhan Tc dish B. Pada penelitian ini, kelembaban rendah (<70%) terbukti memperlambat proliferasi dan memperburuk kesehatan sel.

Pengaruh kelembaban Inkubator terhadap pertumbuhan dan viabilitas Sel pada penelitian ini menunjukkan hasil adanya perbedaan signifikan antara pertumbuhan dan viabilitas sel pada Tc dish A dan Tc dish B, yang dikulturkan dalam dua kondisi inkubasi berbeda. Tc dish A dikultur dalam inkubator dengan reservoir air aktif, sedangkan Tc dish B di inkubasi dalam inkubator tanpa sistem humidifikasi atau inkubasi kering. Berdasarkan data, kelembaban relatif (%RH) di Inkubator A berada pada rentang 92,8–93,5%, sementara Inkubator B hanya 68,5–77,8%. Perbedaan ini berkorelasi langsung dengan viabilitas sel viabilitas Tc dish A tetap stabil di atas 90% di seluruh pasase sedangkan Tc dish B mengalami penurunan viabilitas signifikan, dengan nilai terendah 75,66% pada pasase ke-7 dan ke-8.

Hal ini mengindikasikan bahwa kelembaban rendah berdampak negatif terhadap integritas membran sel, metabolisme, dan kelangsungan hidup sel. Seiring penguapan media yang lebih cepat di kelembaban rendah, osmolaritas meningkat, menyebabkan stres osmotik yang menghambat pertumbuhan dan meningkatkan kematian sel. Selain viabilitas, jumlah total sel juga menunjukkan perbedaan yang mencolok. Tc dish A mengalami pertumbuhan eksponensial dari 1,55 juta sel (p6) menjadi 23,36 juta sel (p9). Sebaliknya, Tc dish B hanya mencapai 5,56 juta sel pada p9.

KESIMPULAN

Kondisi kelembaban inkubator sel sangat mempengaruhi fisiologis kultur dan laju pertumbuhan sel punca mesenkimal. Pemilihan media yang digunakan, suhu, kelembaban, termasuk osmolaritas yang berubah karena kondisi pengaruh kelembaban metode inkubasi yang digunakan mempengaruhi hasil dari pertumbuhan sel punca yang di kultur. Teknik aseptis dalam proses kultur menjadi salah satu aspek penting dalam penelitian ini. Dengan proses aseptis yang digunakan dalam metode ini, meminimalisir potensi kontaminasi pada saat proses kultur berlangsung.

Acknowledgements: This research was supported by Faculty of Pharmacy, Jakarta Global University.

Author contributions: Concept – R.F.B, D.R; Design – R.F.B, D.R; Supervision – R.F.B, D.R, R.A, E.Y; Resources – R.F.B, R.A; Materials – R.F.B, R.A; Data Collection and/or Processing – G.R; Analysis and/or Interpretation – G.R, R.F.B, D.R; Literature Search – G.R; Writing – G.R; Critical Reviews – G.R, R.F.B, D.R, R.A, E.Y.

Conflict of interest statement: The authors have no conflict of interest to declare.

REFERENSI

1. Liu X, Zhang Y, Wang L, Chen Y, Zhao H. Environmental humidity modulates mesenchymal stem cell metabolism and senescence in vitro. *Stem Cell Res Ther.* 2023;14(1):215. doi:10.1186/s13287-023-03445-2
2. Zhao H, Zhang Y, Wang L, Liu X, Chen Y. Humidity control enhances mesenchymal stem cell proliferation and maintains stemness via osmotic homeostasis. *Cell Biol Int.* 2021;45(7):1485–1493. doi:10.1002/cbin.11636
3. Capelli C, Gotti E, Morigi M, Rota C, Weng L, Dazzi F, et al. Human platelet lysate as a substitute of fetal bovine serum for mesenchymal stem cell expansion: a safe and efficient approach. *Cytotherapy.* 2007;9(5):498–505. doi:10.1080/14653240701316336
4. Liang H, Zhou S, Zhang C, Wang L, Xu H. Osmotic stress regulates mesenchymal stem cell proliferation and differentiation through the p38 MAPK pathway. *Front Cell Dev Biol.* 2020;8:585529. doi:10.3389/fcell.2020.585529
5. Zhang H, Li W, Wu YH, Zhang S, Li J, Han L, et al. Effects of changes in osmolarity on the biological activity of human nucleus pulposus mesenchymal stem cells. *Stem Cells Int.* 2022;2022:1121064. doi:10.1155/2022/1121064