



**UNIVERSITAS INDONESIA**

**PENINGKATAN PROLIFERASI KULTUR SEL PUNCA MESENKIM  
ASAL DARAH TEPI MELALUI PEMAPARAN MEDAN MAGNET DISK  
PERMANEN 200 mT SELAMA DUA DAN EMPAT JAM PER HARI**

**TESIS**

**SITI JULAIHA GRÜBNER  
0906597420**

**PROGRAM PASCASARJANA  
PROGRAM STUDI TEKNOLOGI BIOMEDIS  
SALEMBA  
JULI 2011**



**UNIVERSITAS INDONESIA**

**PENINGKATAN PROLIFERASI KULTUR SEL PUNCA MESENKIM  
ASAL DARAH TEPI MELALUI PEMAPARAN MEDAN MAGNET DISK  
PERMANEN 200 mT SELAMA DUA DAN EMPAT JAM PER HARI**

**TESIS**

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Magister Sains**

**SITI JULAIHA GRÜBNER  
0906597420**

**PROGRAM PASCASARJANA  
PROGRAM STUDI TEKNOLOGI BIOMEDIS  
KEKHUSUSAN INSTRUMENTASI BIOMEDIS & PENCITRAAN  
SALEMBA  
JULI 2011**



## **SURAT PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini dengan sebenarnya menyatakan bahwa tesis ini saya susun tanpa tindakan plagiarisme sesuai dengan peraturan yang berlaku di Universitas Indonesia.

Jika di kemudian hari ternyata saya melakukan tindakan Plagiarisme, saya akan bertanggung jawab sepenuhnya dan menerima sanksi yang dijatuhkan oleh Universitas Indonesia kepada saya.



Jakarta, Juli 2011

Siti Juliaha Gruebner

## HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Tesis ini adalah hasil karya saya sendiri, dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar.

Nama : Siti Julaiha Greubner  
NPM : 0906597420  
Tanda Tangan : .....  
Tanggal : 14 Juli 2011



## HALAMAN PENGESAHAN

Tesis ini diajukan oleh :  
Nama : Siti Julaiha Greubner  
NPM : 0906597420  
Program Studi : Teknologi Biomedis  
Judul Tesis : Peningkatan Proliferasi Kultur Sel Punca  
Mesenkim Asal Darah Tepi Melalui Pemaparan  
Medan Magnet Disk Permanen 200 mT Selama  
Dua dan Empat Jam Per Hari

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Magister Sains pada Program Studi Teknologi Biomedis Program Pascasarjana Universitas Indonesia.

### DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : dr. Nurhadi Ibrahim, Ph.D (.....)  
Pembimbing II : Dr. Sastra Kusuma Wijaya (.....)  
Penguji : Drs. Anwar. S. Ibrahim, M.Eng (.....)  
Penguji : drg. Decky J. Indrani, MDSc (.....)

Ditetapkan di : Jakarta  
Tanggal : 14 Juli 2011

Oleh  
Ketua Program Studi Teknologi Biomedis  
Program Pascasarjana Universitas Indonesia

**Prof. Dr. dr. Cholid Badri, Sp.Rad**

## KATA PENGANTAR.

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT yang melimpahkan kemudahan untuk mempelajari ilmu biomedis dan membuat penulis tertarik mendalaminya. Tesis ini merupakan syarat pencapaian gelar Sarjana Magister Teknologi Biomedis Program Pascasarjana Universitas Indonesia.

Dengan penuh kehormatan, penulis mengucapkan terima kasih pada berbagai pihak atas dukungannya dari masa perkuliahan hingga penyusunan Tesis ini yaitu:

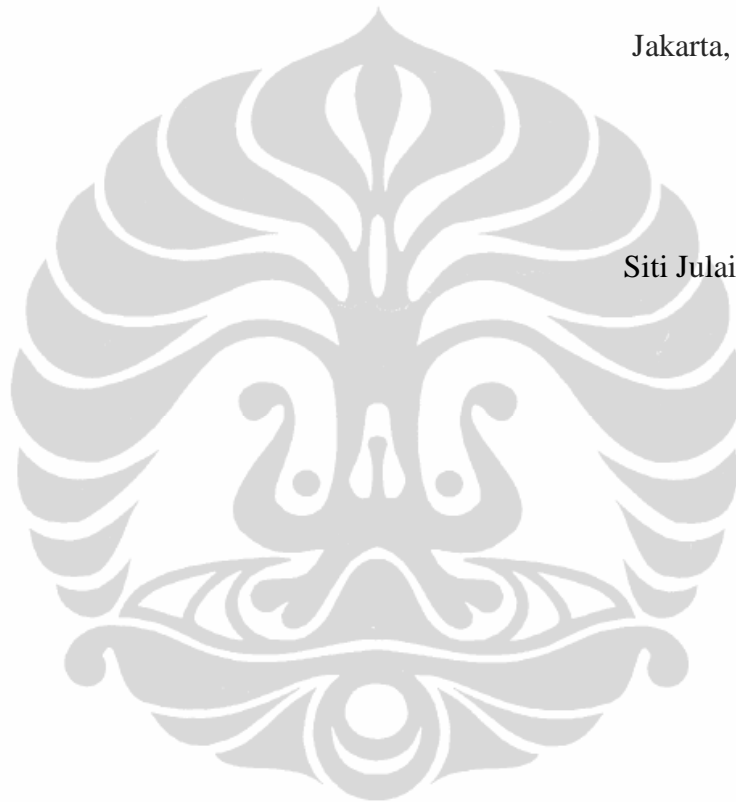
- dr. Nurhadi Ibrahim Ph.D, selaku Dosen Pembimbing yang banyak memberikan pikiran, tenaga, waktu, dan fasilitas untuk mengarahkan penulis dari awal perkuliahan hingga kelangsungan penelitian dan penyusunan tesis;
- Dr. Sastra Kusuma Wijaya, selaku Dosen Pembimbing yang memberikan banyak input pengetahuan dan membantu hingga terselesainya tesis ini.
- Prof. Dr. Ir. Tresna Priyatna Soemardi, SE, M.Sc atas dukungan moril dan motivasi serta penghargaan pada penulis, sehingga menyemangati penulis.
- Prof. Dr. dr. Cholid Badri Sp,Rad., Prof. Dr. Aniat Murni, Dr.dr.Verawati, dr. Budiman Bela, Sp.MK, Prof. Dr. drg. Tri Budi W. Rahardjo, M.S., Drs. Anwar S. Ibrahim, M.Eng., Dr.Eng. M. Rahmat Widyanto, M.Eng, drg. Decky J. Indrani, MDSc, Dr. dr. Boy S. Sabarguna, MARS, Prasandhya A. Yusuf, S.Si, M.T, yang membuka pikiran penulis mendalami ilmu biomedis.
- Manajemen-Staf Kimia Farma, Bu Endang, Pak Imam Hidayatullah, dr. Indra Kusuma, Lauda Feroniawati, Dwi, Atik, serta Penanggung Jawab Laboratorium Fisika Lanjut, Pak Lingga atas fasilitas, material dan pelatihan yang diberikan.
- Belahan hati Dirk Grübner- Raffee- Rhaynna- Bapak Mukti (Alm)- Ibu Tati, Bapak- Ibu Murtam, Ibu Murtini, Onie-Yudi, Ona-Didi, Bram-Niken, Hambali, Hikmah, Rini, Hari, Hadi, Fajar, Wisnu (Alm), Tyas, Eva, Yulita, Yani, Myrna, pendukung dan peneguh hati, penjaga moril, spirit, fisik, material, setiap saat.

- Teman seperjuangan BIRE; Donie, Ida, Asep, Robi, dan Teman seangkatan lainnya, terima kasih atas persahabatan dan kebersamaan selama di PS TBM UI.
- Mas Joko dan Hamid, atas segala bantuan teknis dan administrasinya selama ini.

Semoga Allah membalas segala kebaikansemua pihak yang telah membantu. Akhir kata, penulis berharap hasil penelitian ini bermanfaat bagi umat manusia.

Jakarta, Juli 2011

Siti Julaiha Grübner



**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS  
AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

---

---

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Siti Julaiha Grübner  
NPM : 0906597420  
Program Studi : Teknologi Biomedis  
Fakultas : Program Pascasarjana  
Jenis karya : Tesis

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia **Hak Bebas Royalti Noneksklusif** (*Non-exclusive Royalty- Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul :

**PENINGKATAN PROLIFERASI KULTUR SEL PUNCA MESENKIM  
ASAL DARAH TEPI MELALUI PEMAPARAN MEDAN MAGNET DISK  
PERMANEN 200 mT SELAMA DUA DAN EMPAT JAM PER HARI**

Beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/format-kan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Jakarta  
Pada tanggal : Juli 2011  
Yang Menyatakan

Siti Julaiha Grübner

## ABSTRAK

Nama : Siti Julaiha Greubner  
Program Studi : Teknologi Biomedis  
Judul : Peningkatan Proliferasi Kultur Sel Punca Mesenkim Asal Darah Tepi Melalui Pemaparan Medan Magnet Disk Permanen 200 mT Selama Dua dan Empat Jam Per Hari

Penelitian bersifat eksperimen paparan magnet statis pada kelompok kultur kontrol dan paparan dengan variasi rancangan dan waktu paparan untuk mengetahui efek medan magnet statis dengan besaran densitas fluks magnet statik, pada pertumbuhan kultur sel. Paparan medan magnet statis diharapkan mempercepat proliferasi sel sebagai usaha mengatasi kendala efisiensi jumlah sel, mengurangi biaya penggunaan reagen kimia serta memberikan input pada teknologi sel punca.

Pengumpulan data jumlah sel dilakukan dengan pengukuran langsung melalui alat hemositometer dan program MatLab. Distribusi data dilakukan dengan analisa statistik Microsoft Excell dengan percobaan awal sel Neuron tikus. Perhitungan jumlah sel memperlihatkan adanya percepatan proses proliferasi sel dengan bertambahnya paparan densitas fluks magnet statis dari 200 mT, ke 400 mT. Pengamatan juga mendapatkan fenomena kematian kontaminasi mikroba pada kultur dengan paparan singkat magnet namun mikroba yang bertahan hidup beradaptasi dan berkembang pesat setelah terus dipaparkan.

Percobaan sel punca Mesenkim asal darah tepi manusia dilakukan dengan paparan variasi waktu 2, 4, 6, 18 dan 24 jam per hari, dan kultur kontrol tanpa paparan memperlihatkan kenaikan jumlah sel pada paparan dibanding kultur kontrol pada paparan 2 dan 4 jam per hari, serta penurunan pH pada periode paparan maupun hari pengkulturan, juga pola osmolaritas dan kandungan ion yang mengikuti pola proliferasi sel pada periode paparan dan hari pengkulturan yang serupa.

Teknik paparan daerah magnetik dapat menjadi salah satu alternatif teknologi potensial untuk menstimulasi perkembangan sel pada kultur pada teknik *in vitro* dan menghemat biaya dari kemudahan pelaksanaannya. Pengembangan lanjut diperlukan untuk mengetahui manfaat penggunaan magnet statis ini dengan variasi besaran dan periode paparan pada jenis jenis sel baik sel punca maupun sel lainnya yang memiliki karakteristik serta sifat yang berbeda satu sama lain.

Kata kunci: Magnet Statis, Mesenkim, Proliferasi, Sel Neuron, Sel Punca

## ABSTRACT

Nama : Siti Julaiha Greubner  
Program Studi : Teknologi Biomedis  
Judul : Enhancement Peripheral Mesenchymal Stem Cell Proliferation by 200 mT Magnet Disk Permanent Exposing in Two and Four Hours per day

Neuron rat and peripheral human mesenchymal stem cell culturitation experiments presenting through the static magnets design exposing by comparative observation on control and exposure groups with design variety and time exposure for studying the effect of static magnetic fields. The culture is expected to accelerate cell proliferation, reducing the cost of the chemical reagents and provide an input on stem cell technology.

Cell amount data collection done through Hemocytometer and MatLab program with Microscope Excell statistically analysis. Neuron rat cell initial experiments suggest the existence of an accelerated process on cell proliferation with 200 to 400 mT static magnetic flux density exposed. Observations also obtained the microbial contamination death phenomenon with a short magnet exposed, but then continued surviving and thriving when kept exposing after that.

Peripheral Human Mesenchymal Stem Cell experiments are performed with time variations exposed treatment on 2,4,6,18 and 24 hours per day, and on the control culture groups without exposed. Observations showed the highest enhancement cell amount in culture cells exposure compare to control group are occurred on 2 and 4 hours magnet static exposed per day. The pH decreasing in the period and day of exposure, and the osmolarity pattern as well as the ion content, follow the cell proliferation pattern in the exposure period and culturitation days. Simply cell morphology and orientation observed to compare cell behavior among the control and exposure groups. This research thus requiring further sustainable employment to attempt the result by markers or cell assays identifiers.

Magnetic field exposed might become potential alternative technologies to stimulate cell growth in vitro and cost saving of its simplicity implementation. Further development is necessary to understand the benefits static magnet usage with a magnitude and exposure period variation to other cell types, either on stem cells or other cells with different characteristics and properties.

Key words: Neuron, Mesenchymal, Proliferation, Static Magnets, Stem cells



## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL .....	i
SURAT PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME .....	ii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS .....	iii
HALAMAN PENGESAHAN .....	iv
KATA PENGANTAR .....	v
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI .....	vii
ABSTRAK .....	viii
ABSTRACT .....	ix
DAFTAR ISI .....	xii
DAFTAR TABEL .....	xiii
DAFTAR GAMBAR .....	xvii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xviii
<b>1. PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1. Latar Belakang .....	1
1.1.1. Teknologi Sel Punca .....	1
1.1.2. Proses Kulturasasi .....	1
1.1.3. Pemaparan Medan Magnet .....	3
1.2. Perumusan Masalah .....	3
1.3. Tujuan Penelitian .....	4
1.3.1. Tujuan Umum .....	4
1.3.2. Tujuan Khusus .....	4
1.4. Manfaat Penelitian .....	5
1.5. Batasan Penelitian .....	5
1.6. Model Konseptual Penelitian .....	7
<b>2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>8</b>
2.1. Sel Punca .....	8
2.2. Teori dan Aplikasi Magnet .....	11
2.2.1. Magnet Rentan .....	13
2.2.2. Magnet Permanen .....	13
2.2.3. Magnet Solenoid .....	14
2.3. Sel dan Fungsinya .....	15
2.4. Transportasi Ion pada Membran Sel .....	17
2.4.1. Transportasi Pasif (Difusi) Sederhana .....	21
2.4.2. Transportasi Pasif (Difusi) Dipermudah .....	21
2.4.3. Transportasi Aktif .....	22
2.4.4. Osmolaritas .....	22
2.4.5. pH Sel .....	23
2.5. Pengendalian Pertumbuhan Sel .....	25
2.6. Paparan Medan Magnet .....	35
2.7. Paparan Medan Magnet Statis .....	37
2.7.1. Efek Biologis Medan Magnet .....	39
2.7.2. Efek Morfologi Sel .....	39
2.7.3. Efek Orientasi Sel .....	41

2.7.4. Efek Proliferasi sel dan distribusi siklus sel .....	43
2.7.5. Efek Osmolaritas .....	46
2.7.6. Efek Medan Magnet pada Regulasi pH Selular .....	46
2.7.7. Efek Medan Magnet pada Transportasi Ion Membran Sel ....	46
2.7.8. Efek Medan Magnet pada Transportasi Ion Kalium dan Natrium .....	47
2.8. Efek Daerah Magnet pada Mikroba (Bakteri, Jamur dan Ragi) .....	49
<b>3. METODE PENELITIAN .....</b>	<b>51</b>
3.1. Desain Penelitian .....	51
3.2. Tempat dan Waktu Penelitian .....	51
3.3. Kerangka Operasional Penelitian .....	52
3.4. Subjek Penelitian .....	52
3.5. Populasi Penelitian .....	53
3.6. Sampel dan Estimasi Besaran Sampel .....	53
3.6.1. Sampel .....	53
3.6.2. Estimasi Besar Sampel .....	53
3.7. Kriteria Penerimaan .....	54
3.8. Penentuan Karakteristik Material Magnet .....	54
3.9. Penentuan Besaran Densitas Fluks Magnet .....	55
3.10. Rancangan Pemaparan Medan Magnet .....	56
3.11. Kontruksi Pemaparan .....	56
3.12. Prosedur Pemaparan Magnet pada Kultur Sel .....	59
3.12.1. Penanaman Sel Otak Tikus .....	59
3.12.2. Pemaparan Magnet Statis pada Sel Otak Tikus .....	59
3.12.3. Isolasi dan Kulturasi Sel Mesenkim Asal Darah Tepi.....	60
3.12.4. Penggantian Media .....	60
3.12.5. Pemaparan Magnet Statis pada Sel Punca Mesenkim .....	60
3.13. Penentuan Parameter Terukur .....	61
3.14. Pengukuran dan Pengumpulan Data .....	61
3.14.1. Pengamatan Morfologi dan Orientasi Sel .....	62
3.14.2. Pengukuran Densitas Fluks Magnet .....	62
3.14.3. Pengukuran pH dan Osmolaritas .....	62
3.14.4. Pengukuran Kandungan ion Na <sup>+</sup> , K <sup>+</sup> , dan Cl <sup>-</sup> .....	62
3.14.5. Perhitungan Jumlah Sel dengan Hemositometer .....	62
3.14.6. Perhitungan Jumlah Sel dengan Program MatLab.....	64
3.14.7. Pengolahan Analisis Data .....	64
<b>4. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>66</b>
4.1. Permanen Magnet NdFeB .....	66
4.2. Perhitungan Densitas Fluks Magnet Disk terhadap Jarak Pusat Magnet .....	67
4.3. Perhitungan Densitas Fluks Magnet Plate terhadap Jarak Pusat Magnet .....	69
4.4. Karakteristik Kutub Magnet pada Rancangan .....	73
4.4.1. Karakteristik Kutub Magnet pada Rancangan Pertama .....	74
4.4.2. Karakteristik Kutub Magnet pada Rancangan Kedua .....	75
4.4.3. Karakteristik Kutub Magnet pada Rancangan Ketiga .....	76

4.4.4.	Karakteristik Kutub Magnet pada Rancangan Keempat .....	77
4.5.	Pengukuran Densitas Fluk Magnet Plate terhadap .....	78
4.5.1.	Pengukuran Densitas Fluks Magnet Plate Baru .....	78
4.5.2.	Pengukuran Densitas Fluks Magnet Plate Setelah Paparan .....	79
4.6.	Perhitungan Jumlah Sel Otak Tikus .....	83
4.6.1.	Hasil Perhitungan Jumlah Sel Rancangan Pertama .....	83
4.6.2.	Hasil Perhitungan Jumlah Sel Rancangan Kedua .....	84
4.6.3.	Hasil Perhitungan Jumlah Sel Rancangan ketiga .....	85
4.6.4.	Hasil Perhitungan Jumlah Sel Rancangan Keempat .....	86
4.6.5.	Pembahasan Hasil Perhitungan Jumlah Sel pada Rancangan .....	87
4.7.	Perhitungan Jumlah Sel Punca Mesenkim Asal Darah Tepi .....	89
4.7.1.	Perangkaian Program Perhitungan Jumlah Sel .....	90
4.7.2.	Hasil Perhitungan Jumlah Sel Punca Mesenkim Asal Darah Tepi .....	97
4.7.3.	Morfologi Paparan melalui Analisa Citra .....	103
4.8.	Pengukuran Kandungan Na <sup>+</sup> , K <sup>+</sup> dan Cl <sup>-</sup> pada Media Kultur .....	107
4.9.	Efek Medan magnet pada Transportasi Ion Kalium dan Natrium .....	113
4.10.	Efek Lain Akibat Paparan Medan Magnet .....	117
4.10.1.	Efek Orientasi Sel .....	117
4.10.2.	Efek Kontaminasi Kultur .....	118
4.10.3.	Efek Osmolaritas .....	120
4.10.4.	Efek Regulasi pH Selular .....	122
4.11.	Korelasi Gerakan Sel dan Aplikasi Daerah Magnet .....	125
4.12.	Korelasi Mekanisme Proliferasi dengan Paparan Medan Magnet ...	126
4.13.	Korelasi Hasil terhadap Penelitian Sebelumnya .....	128
<b>5.</b>	<b>KESIMPULAN DAN SARAN</b> .....	<b>134</b>
5.1.	Kesimpulan .....	134
5.2.	Saran .....	137
<b>6.</b>	<b>DAFTAR REFERENSI</b> .....	<b>140</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Pembentukan [3H]Diacylglycerol dan [3]Inositol Fosfat setelah paparan Medan Magnet pada Sel Neuron FNC-B4 .....	45
Tabel 3.1 Jadwal Kegiatan Penelitian .....	52
Tabel 4.1 Densitas Fluks terhadap Jarak pada Magnet Disk .....	68
Tabel 4.2 Densitas Fluks terhadap Jarak pada Magnet Plat1 .....	70
Tabel 4.3 Densitas Fluks terhadap Jarak pada Magnet Plat2 .....	72
Tabel 4.4 Densitas Fluks terhadap Waktu Paparan pada Magnet Disk .....	80
Tabel 4.5 Densitas Fluks terhadap Waktu Paparan pada Magnet Plat1 .....	80
Tabel 4.6 Densitas Fluks terhadap Waktu Paparan pada Magnet Plat2 .....	80
Tabel 4.7 Penurunan Densitas Fluks setelah 1 Minggu Pemaparan .....	81
Tabel 4.8 Penurunan Densitas Fluks setelah 4 Minggu Pemaparan .....	81
Tabel 4.9 Analisa F Test Two Sample untuk Varians Perhitungan Jumlah Sel .....	98
Tabel 4.10 Perhitungan Jumlah Sel berdasarkan Program Matlab .....	99
Tabel 4.11 Analisa Anova Single Factor Data Jumlah Sel .....	100
Tabel 4.12 Tingkat Kenaikan Jumlah Sel terhadap Waktu Pemaparan .....	102
Tabel 4.13 Tingkat Penurunan Jumlah Sel terhadap Waktu Pemaparan .....	130
Tabel 4.14 Kandungan Ion Natrium dalam Media Kultur .....	107
Tabel 4.15 Kandungan Ion Kalium dalam Media Kultur .....	108
Tabel 4.16 Kandungan Ion Klorida dalam Media Kultur .....	109
Tabel 4.17 Nilai Osmolaritas Media Kultur .....	121
Tabel 4.18 Nilai pH Media Kultur .....	123

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.1	Perancangan Paparan Magnet Statis pada Kultur Sel .....	7
Gambar 2.1	Model ion-ion pada membrane sel .....	20
Gambar 2.2	Aliran ion melalui Saluran Protein .....	20
Gambar 2.3	Komunikasi Sel .....	26
Gambar 2.4	Molekul Sinyal .....	27
Gambar 2.5	Aktifasi Reseptor .....	27
Gambar 2.6	Mekanisme Aktifasi Reseptor G-Protein .....	28
Gambar 2.7	Mekannisme Pengaturan oleh Reseptor G-Protein .....	29
Gambar 2.8	Mekanisme Pengaturan oleh Reseptor Enzim Tirosin Kinase	30
Gambar 2.9	Mekanisme Aktifasi Protein Ras .....	30
Gambar 2.10	Jalur Interaksi Sinyal Sel .....	31
Gambar 2.11	Siklus Sel .....	32
Gambar 2.12	Kontrol Siklus Sel .....	33
Gambar 2.13	Titik Pemeriksaan Sistem Kontrol Siklus Sel .....	33
Gambar 2.14	Protein Rb sebagai Protein Kunci Fase S .....	34
Gambar 2.15	Mekanisme Inhibitor Kinasi .....	34
Gambar 2.16	Perubahan Morfologi Sel Saraf Manusia .....	41
Gambar 2.17	Arah dan Derajat Orientasi Sel pada Daerah Magnet Statis ...	43
Gambar 2.18	Pengaruh Magnet Statis pada Thymmidin dan Endothelin	44
Gambar 2.19	Pengaruh medan magnet pada Konsentrasi ion Na <sup>+</sup> dan ion K <sup>+</sup> terhadap Waktu paparan Sel Mesenkim .....	48
Gambar 3.1	Rancangan Pertama Paparan Magnet Plat pada Cawan .....	57
Gambar 3.2	Rancangan Kedua Paparan Magnet Plat pada Cawan .....	57

Gambar 3.3	Rancangan Ketiga Paparan Magnet Plat pada Cawan .....	58
Gambar 3.4	Rancangan Keempat Paparan Magnet Plat pada Cawan .....	58
Gambar 4.1	Grafik Densitas Fluks terhadap Jarak pada Magnet Disk ....	69
Gambar 4.2	Grafik Densitas Fluks Terhadap Jarak pada Magnet Plat 1 ..	71
Gambar 4.3	Grafik Densitas Fluks Terhadap Jarak pada Magnet Plat 2 ..	72
Gambar 4.4	Garis Garis Flux Magnet Bebas .....	74
Gambar 4.5	Garis Garis Flux Magnet Rancangan 1 .....	75
Gambar 4.6	Garis Garis Flux Magnet Rancangan 2 .....	76
Gambar 4.7	Garis Garis Flux Magnet Rancangan 3 .....	77
Gambar 4.8	Garis Garis Flux Magnet Rancangan 4 .....	77
Gambar 4.9	Pengukuran Densitas Fluks dengan Gaussmeter .....	78
Gambar 4.10	Pengukuran Densitas Fluks dengan Gaussmeter pada Magnet	79
Gambar 4.11	Penurunan Densitas Fluks Magnet setelah Paparan 1 Minggu	81
Gambar 4.12	Penurunan Densitas Fluks Magnet setelah Paparan 4 Minggu	82
Gambar 4.13	Kultur Kontrol (Kiri) dan Kultur Rancangan 1 (Kanan) .....	84
Gambar 4.14	Kultur Kontrol (Kiri) dan Kultur Rancangan 2 (Kanan) .....	85
Gambar 4.15	Kultur Rancangan 2 (Kiri) dan Kultur Rancangan 3 (Kanan) ..	86
Gambar 4.16	Kultur Rancangan 3 (Kiri) dan Kultur Rancangan 4 (Kanan) ..	87
Gambar 4.17	Penempatan Magnet Disk pada Kultur Sel Punca Mesenkim ..	89
Gambar 4.18	Hasil Pembacaan File dengan Matlab Program .....	90
Gambar 4.19	Hasil Perubahan Citra Keabuan .....	91
Gambar 4.20	Hasil Pemberian Gangguan pada Citra .....	91
Gambar 4.21	Hasil Penambahan Filter pada Citra .....	92
Gambar 4.22	Hasil Penambahan Filter pada Citra Kedua .....	92

Gambar 4.23	Hasil Penafsiran Morfologi Sel pada Citra .....	93
Gambar 4.24	Perkiraan Jumlah Objek setelah Morfologi Opening .....	93
Gambar 4.25	Hasil Penyeragaman Latar Belakang Citra .....	94
Gambar 4.26	Hasil Peningkatan Kontras Citra .....	94
Gambar 4.27	Hasil Penghilangan Gangguan dan Pengidentifikasi Objek ....	95
Gambar 4.28	Hasil Pengidentifikasi Objek berdasarkan Warna .....	96
Gambar 4.29	Histogram Identifikasi Jumlah Objek berdasarkan Warna ...	97
Gambar 4.30	Jumlah Sel terhadap Waktu Pengkulturan .....	101
Gambar 4.31	Jumlah Sel terhadap Waktu Pemaparan Medan Magnet .....	101
Gambar 4.32	Penggabungan Seluruh Foto pada Cawan Kultur .....	104
Gambar 4.33	Perbandingan Morfologi Sel pada 4 Jam Paparan Magnet ...	105
Gambar 4.34	Perbandingan Morfologi Sel pada 2 Jam Paparan Magnet ...	105
Gambar 4.35	Morfologi Sel Sebelum Paparan (Kiri) dan Setelah 6 Jam Paparan Medan Magnet (Kanan) .....	106
Gambar 4.36	Kandungan Natrium Dalam Media Kultur .....	108
Gambar 4.37	Kandungan Kalium Dalam Media Kultur .....	109
Gambar 4.38	Kandungan Klorida Dalam Media Kultur .....	110
Gambar 4.39	Perbandingan Kandungan Na <sup>+</sup> dalam Media Kultur .....	111
Gambar 4.40	Perbandingan Kandungan K <sup>+</sup> dalam Media Kultur .....	112
Gambar 4.41	Perbandingan Kandungan Cl <sup>-</sup> dalam Media Kultur .....	113
Gambar 4.42	Perubahan Orientasi Sel Setelah 4 Jam Paparan .....	117
Gambar 4.43	Perubahan Hidup Mikroba Setelah 6 Jam Paparan .....	119
Gambar 4.44	Perubahan Hidup Mikroba Setelah 20 Jam Paparan .....	119
Gambar 4.45	Perbandingan Nilai Osmolaritas Media terhadap Variasi Waktu Paparan .....	121

Gambar 4.46 Nilai pH Media terhadap Variasi Waktu Paparan .....	123
Gambar 5.1 Saran Konstruksi Rancangan Magnet Disk Bertumpuk .....	138





## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Peralatan dan Bahan Dalam Pproses Perkulturn ..... 146	146
Lampiran 2 Prosedur Isolasi Sel Punca Mesenkim ..... 148	148
Lampiran 3 Perhitungan Sel Dengan Program MATLAB ..... 152	152
Lampiran 4 Biaya Riset ..... 161	161
Lampiran 5 Analisa Variasi F-Test Data Perhitungan Jumlah Sel ..... 164	164



# BAB 1

## PENDAHULUAN

### 1.1. Latar belakang

#### 1.1.1 Teknologi Sel Punca

Perkembangan teknologi ilmu rekayasa biomedis mendorong pemanfaatan berbagai bidang ilmu termasuk teknologi sel punca untuk pengobatan regeneratif sebagai alternatif terapi penyakit. Penelitian untuk memperdalam dan meningkatkan berbagai kemungkinan penyediaan terapi penyakit ini telah banyak dilakukan dalam teknik *in vivo* maupun teknik transplantasi.

Salah satu usaha untuk mengkaji upaya terapi penyakit dilakukan melalui teknologi sel punca dengan melakukan proses diferensiasi sel multipotent yang didorong menjadi sel yang dituju. Upaya ini telah dapat dilakukan pada laboratorium kultur sel.

Teknologi sel punca terutama ditujukan untuk mengetahui perkembangan organisme sel tunggal dan proses pergantian sel-sel rusak pada organisme dewasa, sehingga memungkinkan terapi dengan dasar sel untuk penyembuhan penyakit, yang disebut pengobatan regeneratif atau reparatif. Sel punca dalam perkembangan jaringan meningkatkan pembentukan sel-sel yang terspesialisasi seperti jantung, paru paru, kulit, neuron, dan pada jaringan dewasa, seperti tulang belakang, otot, dan otak. Populasi dari sel punca dewasa ini dapat menciptakan pergantian sel sel yang hilang akibat kondisi normal, luka, atau penyakit.

#### 1.1.2 Proses Kultivasi

Upaya pengembangan sel dalam suatu sistem kultur khususnya yang melibatkan proses diferensiasi dari sel progenitor atau dari sel punca membutuhkan proses kultivasi hingga diperolehnya sel potensial yang diinginkan. Namun pada perlakuan kultivasi sel, sel potensial yang diinginkan dan berasal dari sel punca manusia dewasa yang dirubah, hanya memiliki jumlah yang sangat sedikit sehingga tidak memenuhi

kebutuhannya. Terbatasnya sel punca dewasa ini menyebabkan kendala efisiensi yang rendah.

Selain itu waktu penanaman yang terhitung lama serta berbagai kebutuhan terhadap reagen kimia serta kondisi sterilitas yang tinggi menyebabkan biaya pemrosesan kultur sel punca menjadi tinggi dan sulit terjangkau, terutama dalam hal teknologi pertumbuhan sel yang membutuhkan serum faktor pertumbuhan dan diferensiasi sel yang tepat serta beberapa media kultur lainnya juga penggunaan antibiotik pada manajemen kontaminasi yang dapat mempengaruhi dan memberikan kegagalan atau keberhasilan proses pengkulturan sel setiap saat.

Penggunaan medium kultur sel yang mengandung komponen penting untuk pertumbuhan seperti glukosa, protein, vitamin dan faktor pertumbuhan pada medium khusus, berdampak pada tingginya harga medium kultur dan biaya riset. Terlebih lagi, penelitian kultur sel di daerah tropis seperti Indonesia juga mengalami kendala dengan adanya kontaminasi mikroba yang menyebabkan kerusakan kultur sel dan gagalnya tujuan penelitian yang hendak dicapai sehingga membutuhkan juga manajemen kontaminasi kultur. Hal ini terlihat pada percobaan percobaan awal yang dilakukan dengan kulturisasi sel otak tikus dengan kendala ditemukannya kontaminasi kultur berupa molekul biologi yang terlihat dan diindikasikan sebagai mikroba sejenis bakteri. Mikroba yang destruktif atau merusak ini menyebabkan kontaminasi kultur pada percobaan awal mengalami kegagalan akibat hilang atau matinya kultur sel yang akan dikembangkan sehingga proses kulturisasi tidak dapat dilakukan lebih lanjut.

Pencegahan dengan menambahkan antibiotik atau teknik komersial lainnya dalam mengatasi kontaminasi menyebabkan hilangnya waktu, biaya dan usaha dalam pengkulturan sel. Hal ini mendasari perlunya melakukan usaha dalam menanggulangi masalah rendahnya efisiensi proses kulturisasi sel punca atau sel lainnya serta tingginya biaya dan kebutuhan akan media, faktor pertumbuhan reagen, juga usaha pencegahan kontaminasi kultur sel.

### 1.1.3 Pemaparan Medan Magnet

Percepatan proses proliferasi sel saat penanaman tentu dapat menghemat waktu penanaman dan biaya penggunaan media/serum dalam usaha mendapatkan sel transplant yang potensial. Karena itu Proses kulturisasi ini membutuhkan metode atau teknologi penunjang dan prosedur yang tepat untuk kelancaran proses awal hingga diperolehnya sel potensial yang diinginkan untuk menstimulasi pertumbuhan kultur sel potensial bagi pemanfaatan terapi penyakit atau pengobatan regeneratif dengan mengoptimasi penggunaan media dan waktu dalam melakukan penelitian. Hal ini mendorong pemikiran peneliti terhadap peningkatan efisiensi kultur dengan menggunakan teknik sederhana tanpa membebani atau menjadikan biaya penelitian lebih rendah.

Beberapa penelitian terhadap penerapan daerah magnetik pada kultur sel dihipotesa berefek menstimulasi pertumbuhan sel kultur agar kebutuhan faktor pertumbuhan dapat dikurangi dan juga dihipotesa memiliki efek antibakterial secara *in vitro* dan *in vivo*. Kedua efek ini dapat digunakan untuk meningkatkan hasil kultur sel yang efektif.

Penelitian ini melakukan pemaparan permanen magnet statik untuk menghasilkan medan magnet di sekitar kultur sel. Pemaparan medan magnet divariasikan terhadap waktu hingga proses perkembangan sel dapat diamati untuk menganalisa efek paparan medan magnet terhadap pertumbuhan sel. Hasil paparan berupa jumlah sel pada kultur serta perilaku pertumbuhan sel dipantau dengan beberapa parameter lainnya.

## 1.2 Perumusan Masalah

Latar belakang di atas mendorong pemikiran peneliti terhadap peningkatan efisiensi kultur dengan menggunakan teknik sederhana yaitu pemaparan daerah magnetik dan mengetahui efek medan magnet dapat mempengaruhi proses perkembangan sel atau proliferasi pada proses pengkulturan sel. Perumusan masalah dalam penelitian ini diawali dengan perancangan paparan serta mengidentifikasi batasan permasalahan sehingga penelitian terlaksana secara sistematis, memiliki fokus yang jelas serta mencapai manfaat.

Peneliti mengembangkan teknik pemaparan medan magnet dengan percobaan awal melalui proses pengkulturan sel saraf tikus melalui perancangan pemaparan, dilanjutkan dengan pemaparan pada sel punca Mesenkim asal darah tepi manusia melalui pemaparan medan magnet yang divariasikan terhadap waktu pemaparan. Jumlah sel saat pengkulturan serta perilaku sel serta efek lain seperti kontaminasi mikroba, menjadi pengamatan untuk menganalisa efek pemaparan medan magnet pada kultur sel.

### **1.3 Tujuan Penelitian**

#### **1.3.1 Tujuan Umum**

Mengetahui efek pemaparan medan magnet yang dapat mempengaruhi proses pertumbuhan sel dalam kultur sel.

#### **1.3.2 Tujuan Khusus**

- Mengetahui rancangan pemaparan medan magnet permanen yang dapat diterapkan pada proses kulturisasi sel secara sederhana.
- Mengetahui waktu paparan medan magnet efektif yang diterapkan pada lingkungan kultur sel untuk percepatan proliferasi sel yang efektif.
- Mengetahui percepatan laju proliferasi sel atau penambahan jumlah sel pada kultur dengan adanya pengaruh pemaparan medan magnet di sekitar kultur sel.
- Mengetahui perilaku sel saat dikenakan medan magnet pada waktu tertentu.
- Mengetahui kemungkinan efek yang dapat terjadi akibat pemaparan medan magnet di sekitar lingkungan sel.
- Mengetahui keefektifan waktu penanaman kultur sel, penggunaan media, serum, dan antibiotik dengan adanya paparan medan magnet permanen pada proses pengkulturan sel.

#### 1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan informasi batasan waktu paparan dan densitas fluks medan magnet yang dapat mempercepat proses perkembangan sel dalam kultur dan juga berefek antimikroba untuk memberikan masukan bagi standarisasi laboratorium kultur sel di Indonesia.

#### 1.5 Batasan Penelitian

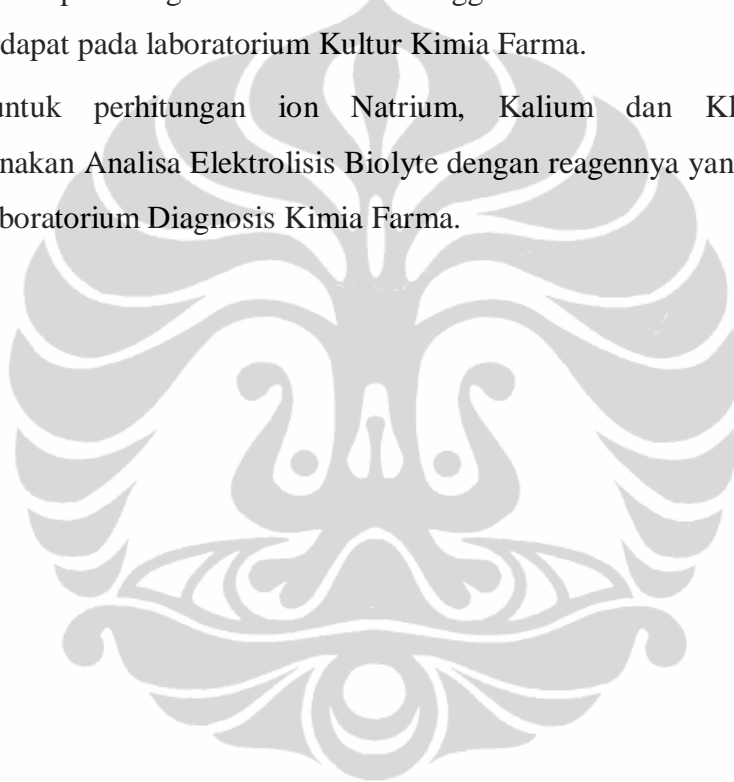
Penelitian ini dilakukan dengan waktu singkat dan rancangan anggaran berbiaya rendah karena tidak adanya pendanaan dari pihak manapun melainkan anggaran pribadi peneliti sendiri dan bantuan dari Laboratorium Kimia Farma untuk penggunaan fasilitas dan bahan kultur. Karena itu kriteria pengambilan sampel sel pada pengkulturan memperhitungkan segi waktu dan biaya yang serendah rendahnya dengan menggunakan fasilitas yang tersedia.

Batasan permasalahan dilakukan dengan memvariasikan pemaparan medan magnet statis terhadap waktu serta besaran paparan medan magnet yang dibutuhkan pada penelitian awal ditujukan untuk mengetahui pengaruhnya terhadap efek percepatan proses proliferasi atau jumlah sel.

Batasan yang dilakukan pada penelitian ini adalah :

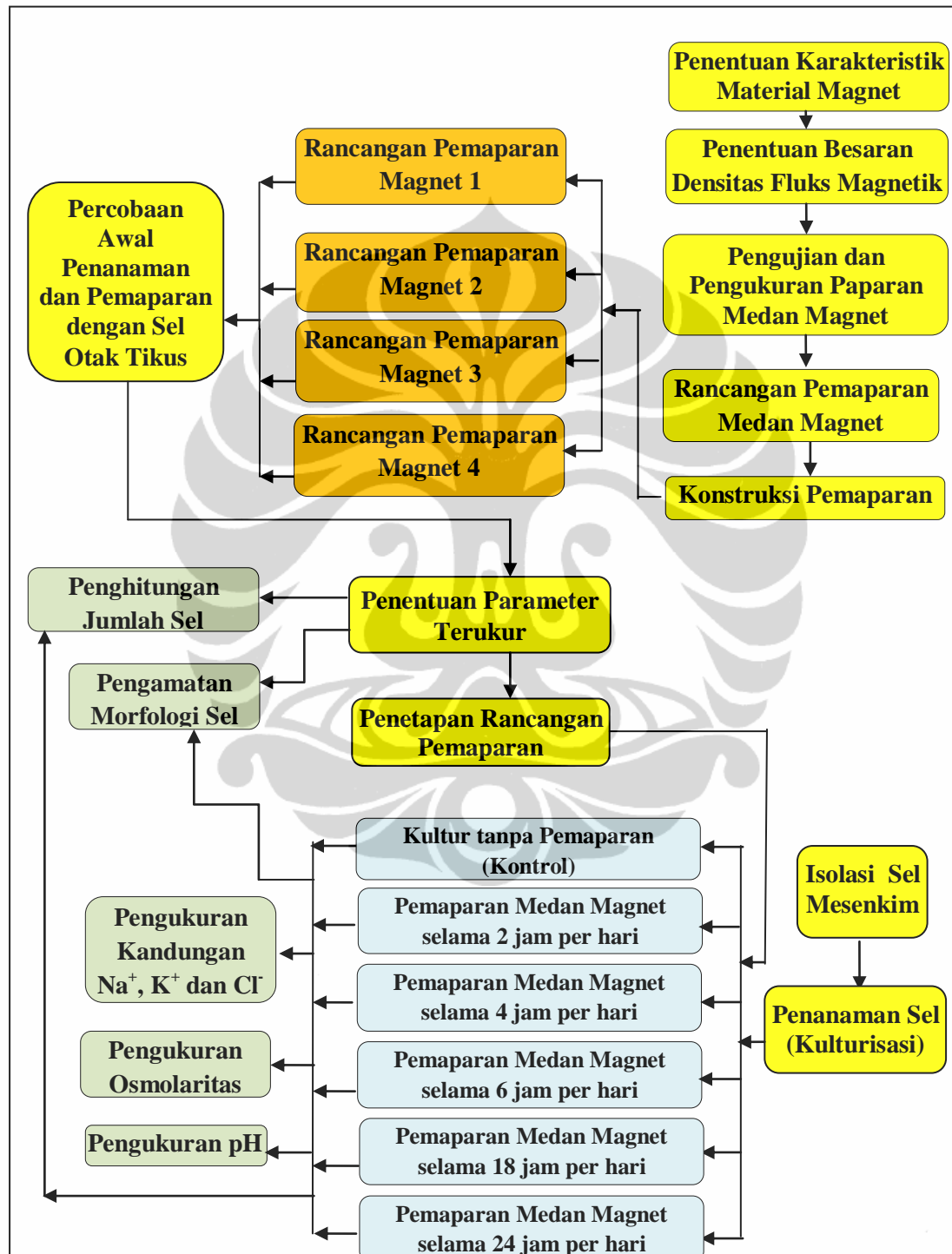
- Pada percobaan awal, Kultur sel berasal dari jaringan hipotamus otak tikus dan pada percobaan sel punca Mesenkim darah tepi dari manusia dewasa yang mudah didapat dan tidak memerlukan biaya tambahan.
- Magnet statis yang digunakan adalah magnet statis komersial yang mudah didapat dengan memperhitungkan ketersediaan yang ada di Jakarta.
- Data yang digunakan berasal dari hasil pengamatan pada Mikroskop Inverted Observer Carl Zeiss yang tersedia di Laboratorium Kultur Kimia Farma.
- Perhitungan jumlah sel pada kultur dilakukan dengan dua metode yaitu penggunaan hemositometer yang tersedia di Laboratorium Kultur Kimia Farma, dan penggunaan metode pemograman MatLab dengan melakukan pengambilan gambar atau foto langsung pada kultur sel yang sedang diamati.

- Data besaran densitas fluks medan magnet didapat dari hasil pengukuran dengan alat Gaussmeter pada Laboratorium Fisika Lanjut, Departemen Fisika, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia
- Data perhitungan pH didapat dari hasil pengamatan menggunakan kertas pH dan divalidasi dengan pH meter pada Laboratorium Kultur Kimia Farma.
- Data untuk perhitungan Osmolaritas menggunakan alat Osmometer yang terdapat pada laboratorium Kultur Kimia Farma.
- Data untuk perhitungan ion Natrium, Kalium dan Klorida menggunakan Analisa Elektrolisis Biolyte dengan reagenya yang ada pada Laboratorium Diagnosis Kimia Farma.



## 1.6 Model Konseptual Penelitian

Penjabaran model konseptual penelitian yang dilakukan tertera pada diagram di bawah ini :



Gambar 1.1 Perancangan Paparan Magnet Statis pada Kultur Sel



## **BAB 2**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

Upaya rediferensiasi sel somatik langsung menjadi sel potensial merupakan keunggulan teknologi sel punca yang menjadi alternatif bagi terapi penyakit atau pengobatan regeneratif. Kandidat yang terbaik untuk proses rediferensiasi selain sel embrionik adalah sel punca dari manusia dewasa yang memiliki sifat multipoten. Namun terbatasnya sel punca multipoten yang dihasilkan pada proses pengkulturan serta tingginya biaya penelitian maupun penerapan teknologi ini menjadi kendala bagi terciptanya pengobatan regeneratif atau terapi penyakit.

Pemanfaatan efek magnetik dihipotesa sebagai salah satu usaha untuk mendapatkan proses pengkulturan dengan nilai efisiensi yang tinggi. Namun meskipun sejumlah besar penelitian dilakukan dengan medan magnet dan elektromagnetik, tidak ada yang memberikan kepastian hasil tentang efek dari jenis rangsangan medan magnet ini pada jaringan dan organisme berbeda.

#### **2.1. Sel Punca**

Seperti yang diutarakan oleh Kelly, Evelyn B., (2007), sel punca memiliki karakteristik penting yang berbeda dari sel lain yaitu

- Merupakan sel tak terspesialisasi.

Hal ini dimungkinkan karena sifat utama sel punca tidak memiliki struktur jaringan khusus yang memungkinkan untuk melakukan fungsi khusus. Sel punca tidak dapat bekerja dengan sel lainnya seperti memompa darah melalui tubuh (sel otot jantung), membawa molekul oksigen melalui aliran darah (sel darah merah), atau memacu sinyal elektrokimia untuk sel-sel lain yang memungkinkan tubuh bergerak atau berbicara (sel saraf).

- Mampu membelah dan memperbaharui dirinya dalam waktu yang lama. Tidak seperti sel lainnya yang tidak dapat mereplikasi berkali-kali. Sel punca dapat mereplikasi berkali kali. Proses ini disebut proliferasi. Populasi awal sel punca dapat berproliferasi selama berbulan-bulan di

laboratorium menghasilkan jutaan sel. Jika sel-sel yang dihasilkan terus menjadi terspesialisasi, seperti sel punca, sel dikatakan mampu memperbaharui diri dalam jangka panjang.

➤ Memacu tumbuhnya sel-sel khusus

Sifat membedakan diri atau berdiferensiasi menjadi jenis sel sel khusus lain dalam keadaan fisiologi dan kondisi lingkungan tertentu disebabkan Sel punca adalah sel-sel primitif, yang hadir di semua organisme seperti sel-sel pada otak, jantung, otot, dan ginjal. Proses terspesialisasi yang menimbulkan sel sel khusus ini disebut diferensiasi. Sinyal di dalam dan di luar sel dapat memicu proses diferensiasi sel punca. Sinyal internal dikontrol oleh gen sel, sedangkan sinyal eksternal termasuk bahan kimia yang disekresikan oleh sel lain, kontak fisik dengan sel sekitarnya, dan molekul tertentu dalam lingkungan mikro.

Marshak, Gardner, & Gottlieb, (2001) menjelaskan ada dua jenis sel punca dengan fungsi dan karakteristik berbeda yaitu:

- **Sel Punca Embrionik**

Berasal dari embrio yang dikembangkan dari fertilisasi telur secara in vitro. Biasanya terdapat pada hari ke 4 atau ke 5 dari perkembangannya yang disebut Blastosita. Blastosita memiliki Tiga Struktur yaitu Tropoblas yang terdiri dari lapisan sel sel mengelilingi Blastosita, Blastocoels yang berada dalam lingkaran dalam Blastosita, dan Massa sel bagian dalam yang terdiri dari Kelompok 30 sel pada salah satu ujung Blastocoel.

Sel punca embrionik tumbuh dalam laboratorium kultur sel dengan mengisolasinya melalui perpindahan massa sel bagian dalam ke cawan kultur yang mengandung medium, dan kemudian membelah dan menyebar di atas permukaan cawan. Selama beberapa hari, sel-sel dari massa sel dalam berkembang biak (berproliferasi) dan memenuhi cawan. Dan ketika telah melampaui titik jenuh (konfluensi), dipindahkan dengan hati hati ke beberapa cawan kultur baru. Proses ini disebut proses replating sel. Proses replating yang dilakukan berulang kali selama berbulan-bulan disebut subkultur. Sel punca ini tumbuh dan berkembang dalam kultur sel untuk

waktu lama tanpa membedakan (berdiferensiasi) dan berpotensi majemuk (pluripoten). Sel dengan sifat genetik yang muncul secara normal disebut sebagai sel punca garis embrio (embryonic stem cell line). Selama sel-sel punca embrionik dalam cawan kultur tumbuh di bawah kondisi tertentu, mereka dapat tetap dibedakan dan dapat membedakan secara spontan. Meskipun diferensiasi spontan merupakan indikasi yang baik bahwa kultur sel-sel punca embrio yang sehat, namun bukan merupakan cara yang efisien untuk menghasilkan kultur jenis sel tertentu.

Sel punca embrionik yang diarahkan untuk berdiferensiasi menjadi sel jenis tertentu dapat menghasilkan sel-sel yang dapat dibedakan untuk mengobati penyakit seperti penyakit Parkinson, diabetes, cedera tulang belakang traumatis, degenerasi sel Purkinje, distrofi otot Duchenne, penyakit jantung, penglihatan dan kehilangan pendengaran. Dengan kata lain, sel punca embrionik membuka peluang pengembangan transplantasi sel untuk terapi. Namun masalah etika dalam penggunaan sel punca embrionik menjadi banyak kendala dalam penerapannya di bidang kesehatan.

- **Sel Punca Dewasa**

Sel punca lainnya yang dapat digunakan tanpa masalah etika adalah sel punca dewasa. Setiap manusia memiliki sel punca dewasa dalam tubuhnya yang bersifat multipoten dengan kapasitas untuk membedakan atau *transdifferentiate* menjadi sel selain jaringan asal mereka. Sel punca dewasa dan sel *progenitor* dapat ditemukan pada jaringan dewasa dan merupakan sel-sel tak terdiferensiasi. Sel punca ini dapat memperbaharui dirinya sendiri, dan dapat membedakan untuk menghasilkan jenis sel khusus. Peran utama dari sel punca dewasa dalam organisme hidup adalah untuk memelihara dan memperbaiki jaringan tempat ditemukannya. Istilah Sel punca somatik kadang-kadang digunakan sebagai pengganti kata sel punca dewasa.

Sel punca dewasa memiliki kemampuan berdiferensiasi menjadi beberapa jenis sel berbeda pada kondisi yang tepat. Sel punca dewasa

menjalani proses diferensiasi secara normal untuk membentuk sel berjenis khusus di jaringan tempatnya berada. Sel punca dewasa juga dapat menunjukkan kemampuan untuk membentuk jenis sel khusus dari jaringan lain, yang dikenal sebagai plastisitas atau transdiferensiasi. Sel punca dewasa dapat membelah dalam jangka panjang dan dapat menimbulkan jenis sel matang yang memiliki bentuk dan struktur karakteristik khusus dan fungsi dari jaringan tertentu. Contoh dari jalur diferensiasi sel punca dewasa seperti sel punca hematopoietik, sel-sel sumsum tulang stroma (sel punca mesenkim), sel-sel saraf di otak, sel punca epitel pada lapisan saluran pencernaan, sel punca kulit pada lapisan basal epidermis dan di dasar folikel rambut. Beberapa contoh plastisitas sel punca dewasa seperti sel punca hematopoietik dapat berdiferensiasi menjadi sel-sel otak, sel otot jantung dan rangka, dan sel-sel hati, sel stroma sumsum tulang dapat berdiferensiasi menjadi sel otot jantung dan rangka, sel punca otak (neuron) dapat membedakan menjadi sel-sel darah dan sel otot rangka.

Sel punca dewasa ini juga merupakan progenitor yang tidak bermasalah dalam segi estetika medis, mudah didapat, aman secara klinis, dan kompeten secara fungsional untuk ditranspalasi pada manusia.

## 2.2. Teori dan Aplikasi Magnet

Secara sederhana terdapat tiga jenis bahan magnetik yaitu Feromagnetik, Paramagnetik, dan Diamagnetik, yang memungkinkan terjadinya stimulasi magnetik. Klasifikasi jenis bahan ini didasarkan pada perilaku saat di paparkan medan magnet. Bahan berjenis feromagnetik menyediakan sifat magnetisasi mereka sendiri, jenis Paramagnetik dapat menghadirkan sifat magnetisasi sementara dan bersifat lemah bila terkena stimulasi eksternal, sedangkan jenis diamagnetik adalah jenis material yang menolak magnet (Clarke, 2008).

Jenis magnet berdasarkan sifat kemagnetannya, saat ini terbagi dalam berbagai jenis magnet, yaitu

- Magnet Suseptible/ Rentan
- Magnet Permanen/Statis
- Elektromagnet atau solenoid

Magnet Permanen dan Magnet Rentan terdapat pada alam atau dapat diproduksi dari benda logam bermagnetik. Material magnet ini sebenarnya cukup langka, karena biasanya dalam ikatan logam, atom atom berpasangan kuat sehingga hanya ada sedikit ketidakseimbangan pada muatan elektron atom dan sifat magnetismenya. Namun ada beberapa bahan magnetik saat ketidakseimbangan ini tidak terjadi dan dapat digunakan (Patpending, 2010).

Selama proses kristalisasi dalam pembentukan bahan magnetik (seperti pendinginan), bentuk kristal yang memiliki keselarasan tertentu dari atom magnetiknya memberikan kekuatan dan arah kemagnetan. Kristal-kristal ini disebut domain magnetik. Domain ini akan searah ke beberapa derajat dengan adanya kehadiran medan magnet selama pembentukan. Namun resistensi terhadap penataan kembali domain pada proses pendingin adalah yang menentukan apakah magnet bersifat permanen atau rentan.

Medan magnet disebabkan oleh pergerakan muatan elektron elektron yang mengelilingi inti atom besi atau secara sederhana berputar pada sumbunya. Atom atom yang bertindak seperti ini dikatakan memiliki Momen Magnetik. Rata rata kuat medan karena momen ini pada titik apapun disebut Magnetisasi dan diberikan dengan simbol  $\vec{M}$  (Howard, 2002). Magnetisasi didefinisikan sebagai  $\vec{M}$  = amperes per meter (A/m) dalam satuan SI dengan  $\vec{M}$  adalah total vector perjumlahan dari momen magnetik untuk semua atom atom yang diberikan pada volume  $V$  ( $m^3$ ) material.

Densitas Flux atau secara teknikal disebut kuat medan magnet, disimbolkan sebagai  $\vec{B}$  dan Kuat medan yang disimbolkan dengan  $\vec{H}$  memiliki hubungan

$$\vec{B} = \mu_0 (\vec{H} + \vec{M}) \text{ dalam satuan Tesla.}$$

$\vec{H}$  (ampere/metre ( $A m^{-1}$ )) berhubungan terhadap muatan dalam keadaan bebas, sementara  $\vec{M}$  berhubungan terhadap ikatan muatan pada elektron elektron yang mengelilingi orbit dalam magnetisasi material (Clarke, 2008).

### 2.2.1 Magnet Rentan

Kekuatan pergerakan Magnet Rentan menunjukkan kuat medan magnet sebanding dengan medan magnet (besaran vektor  $\vec{H}$ ) saat ditempatkan. Hal ini menimbulkan kuat medan magnet (besaran vektor  $\vec{M}$ ) yang dinyatakan dengan persamaan besaran Vektor di dalam magnet (Patpending, 2010) :  $\vec{M} = \mu_0 \mu_r \vec{H}$

$\vec{M}$  ( $\text{Am}^{-1}$ ) = magnetisasi = Kuat medan magnet dari magnet rentan,

$\mu_0$  = permeabilitas magnet konstan dari vakum =  $4\pi \times 10^{-7} \text{ V}\cdot\text{s}/(\text{A}\cdot\text{m})$ ,

$\mu_r$  (tak berdimensi) = permeabilitas relatif material, dan

$\vec{H}$  (Ampere/m) = Kuat medan magnet di mana magnet ditempatkan.

Formula ini memberikan densitas fluks pada daerah yang menginduksi magnet (di dalam magnet) menjadi:  $\vec{B} = \mu_0 (1 + \mu_r) \vec{H} = \text{N}\cdot\text{m}/\text{A}$  atau Tesla unit dalam besaran vector. Gaya magnet ini menyebabkan derajat penyelarasan gaya magnet dalam domain magnetik, serta besarnya momen magnetik domain individu (per satuan massa atau volume).

### 2.2.2. Magnet Permanen

Magnet permanen memiliki domain yang efektif tetap pada formasi, sehingga kutub kutubnya tetap tanpa berubah ketika ditempatkan di daerah berdekatan dengan magnet lain atau dalam medan magnet dalam kondisi normal.

Persamaan yang terkait dengan magnet rentan juga berlaku untuk magnet permanen, di mana medan magnet yang diterapkan ( $\vec{H}$ ) mengacu pada kuat medan magnet pada waktu pembentukan. Dalam kasus magnet permanen yang diproduksi, besarnya medan magnet pembentukan & suhu adalah untuk memaksimalkan gaya magnet sebelum pendingin (atau pengaturan). Saat pertama pengaturan magnet dilakukan, maka terciptalah gaya magnet tersebut. Gaya magnet mencerminkan arus melingkar bersih dari magnet, saat arah loop arus ion terkait arah magnet melalui hukum aturan tangan kanan.

Kuat medan Magnet & suhu berpengaruh pada gaya magnet dari bahan magnetik tertentu. Ketika ditempatkan pada medan magnet, densitas fluks di dalam magnet kemudian menjadi;  $\vec{B} = \mu_0 (\vec{H} + \vec{M})$ ,  $\vec{H}$  &  $\vec{M}$  dalam arah yang berbeda dan  $\vec{M}$  tidak terpengaruh oleh  $\vec{H}$  (saat magnet berada pada kondisi stabil).

Suhu merupakan hal penting berkaitan dengan magnet permanen, dalam arti bahwa ada batasan untuk jumlah getaran domain (karena adanya efek kinetik suhu) yang dapat terjadi sebelum pengaturan domain magnet secara signifikan berkurang. Setiap suhu di atas suhu Currie dari bahan magnet membatalkan gaya magnet nya (Patpending, 2010).

### 2.2.3. Magnet Solenoid

Solenoid membuat hubungan antara arus dan medan magnet, dengan melibatkan arus atom atom yang terjadi pada magnet, karena bila arus listrik mengalir di dalamnya, akan mengeluarkan sifat sifat serupadengan magnet. Magnet ini serupa saat arus loop untuk setiap domain dijumlahkan bersama-sama sejumlah arus melingkar di atas permukaan magnet, sehingga dalam kasus magnet batang panjang yang mirip dengan solenoida, arus & bidang menjadi serupa. Medan magnet ( $\vec{B}$ ) pada setiap titik di sepanjang sumbu pusat ( $z$ ) dari sebuah solenoid dengan jari-jari ( $a$ ) & panjang ( $L$ ) dapat dinyatakan dengan;

$$\vec{B} = \mu_0 \times N \times I \times \left( \frac{\left(z + \frac{L}{2}\right)^2}{a^2 \left(a^2 + \left(z + \frac{L}{2}\right)^2\right)} - \frac{\left(z - \frac{L}{2}\right)^2}{a^2 \left(a^2 + \left(z - \frac{L}{2}\right)^2\right)} \right)$$

$N$  = jumlah putaran tiap meter

$I$  = arus (amp).

Pada titik akhir solenoid (atau magnet), Kuat medan magnet terkadang menjadi berkurang. Medan magnet umumnya menurun dengan kuadrat dari jarak kutub yang berinteraksi, pada jarak yang relatif dekat (Patpending, 2010).

### 2.3. Sel dan Fungsinya

Sel mempunyai dua bagian utama yakni nukleus dan sitoplasma. Nukleus dipisah dari sitoplasma oleh membran nukleus. Sitoplasma di pisahkan dari cairan sekelilingnya oleh membran sel. Substansi–substansi yang turut membentuk sel secara keseluruhan disebut dengan protoplasma. Protoplasma ini terutama terdiri atas lima bahan dasar yaitu: Air, elektrolit, protein, lipid dan karbohidrat (Albert, et al., 2004).

- Air merupakan medium pokok atau utama bagi sel, yang terdapat pada sebagian besar sel selain sel-sel lemak.
- Elektrolit penting didalam sel adalah kalium, magnesium, fosfat, sulfat, bikarbonat dan sedikit natrium, klorida dan kalsium. Konsentrasi tertentu elektrolit di dalam intraseluler menentukan dan mengatur aktifitas berbagai reaksi yang dikatalis secara enzematik dan diperlukan untuk metabolisme sel.
- Protein dalam keadaan normal berjumlah kira-kira 10 sampai 20% dari masa sel. Protein dalam sel terdapat dalam bentuk enzim dan protein struktural.
- Lipid yang paling penting dalam sel adalah fosfolipid dan kolestrol, berfungsi untuk membentuk membran sel karena lipid ini tidak larut dalam air. Selain lipid, sel lemak juga banyak mengandung trigliserida yang disebut lemak netral. Lemak netral dalam sel lemak berfungsi sebagai energi cadangan dalam tubuh dan dapat dipergunakan bila diperlukan oleh tubuh.
- Karbohidrat berperan utama dalam nutrisi sel, karbohidrat sedikit sekali berperan dalam fungsi struktural sel.

Seluruh cairan tubuh didistribusikan di antara dua kompartemen utama yaitu: cairan ekstraseluler dan cairan intraseluler. Kemudian cairan ekstraseluler di bagi lagi menjadi cairan intersisial dan cairan plasma (intravaskular). Ada juga kompartemen cairan yang kecil yang disebut cairan transeluler, meliputi cairan sinoval, peritonium, perikardial, intraokuler dan cairan serebrospinal. Biasanya dipertimbangkan sebagai cairan ekstraseluler.



Sel tidak hanya berisi cairan, enzim, dan bahan-bahan kimia, sel juga mengandung struktur-struktur fisik yang sangat terorganisir yang disebut sebagai organel yang tersusun dalam sitoplasma yang dipenuhi oleh partikel-partikel dan organel berukuran besar dan kecil seperti membran sel, membran nukleus, ritikulum endoplasma, aparatus golgi, mitokondria, dan lisosom.

Pada dasarnya semua organel sel dibungkus oleh membran. Membran berfungsi memberikan bentuk pada sel, melekatkan sel dengan sel yang lain, sebagai pintu gerbang dari dan ke sel, sebagai penerima pengaturan dari sekitar tubuh dan mengantarkan sinyal ke dalam sel (reseptor) serta berperan dalam reaksi kekebalan. Pertukaran air, zat terlarut, nutrisi, oksigen, karbondioksida dari satu bagian ke bagian lain atau dari satu jaringan ke jaringan lain terjadi melalui membran sel atau membran kapiler. Membran sel yang menyelubungi sel merupakan struktur elastis tipis, bertebal 7.5 sampai 10 nanometer terdiri dari lapisan lipid ganda, lapisan protein dan sedikit karbohidrat. Lipid pada membran membentuk gerbang yang dapat mencegah pergerakan bebas air dan bahan yang larut dalam air dari satu ruang sel ke ruang sel yang lain, atau berfungsi sebagai gerbang bagi pergerakan molekul air dan zat terlarut antara ruang ekstraseluler dan ruang intraseluler. Lapisan lipid ganda sukar dilalui oleh cairan ekstraseluler dan cairan intraseluler. Ada beberapa zat yang dapat menembus masuk maupun keluar melalui lapisan lipid ganda ini dengan melalui bahan lipid itu sendiri, hal ini terjadi bagi zat terlarut lipid (Vaughn & Bernstam, 2000).

Lapisan protein membentuk suatu jalur khusus untuk lintasan bahan-bahan khusus melalui membran. Protein menyelip di antara susunan lapisan lipid ganda sehingga menimbulkan jalur alternatif melalui membran sel. Beberapa protein mempunyai ruangan licin yang dapat dilalui oleh molekul dan memungkinkan ion-ion atau molekul tertentu bergerak bebas, protein ini disebut protein kanal. Protein lainnya disebut protein pembawa. Protein kanal dan protein pembawa sangat selektif sehingga hanya ion atau molekul tertentu saja yang dapat melalui membran.

#### 2.4. Transportasi Ion pada Membran Sel

Zat terlarut yang ada dalam cairan tubuh terdiri dari elektrolit dan nonelektrolit. Nonelektrolit adalah zat terlarut yang tidak terurai dalam larutan dan tidak bermuatan listrik, seperti protein, urea, glukosa, oksigen, karbondioksida. Elektrolit (ion) adalah zat terlarut yang terurai dalam larutan menghasilkan partikel-partikel yang bermuatan listrik, seperti natrium ( $\text{Na}^+$ ), kalium ( $\text{K}^+$ ), kalsium ( $\text{Ca}^+$ ), magnesium ( $\text{Mg}$ ), klorida ( $\text{Cl}^-$ ), bikarbonat ( $\text{HCO}_3^-$ ), fosfat ( $\text{HPO}_4^-$ ) dan sulfat ( $\text{SO}_4^-$ ). Ion-ion yang bermuatan positif disebut Kation dan yang bermuatan negatif disebut Anion (Albert, et al., 2004).

Konsentrasi elektrolit dalam cairan tubuh bervariasi pada satu bagian dengan bagian lainnya, dan dalam keadaan normal harus berada pada bagian yang tepat dan dalam jumlah yang tepat. Kation utama pada cairan ekstraseluler adalah natrium ( $\text{Na}^+$ ), dan anion-anion utama klorida ( $\text{Cl}^-$ ) dan bikarbonat ( $\text{HCO}_3^-$ ). Konsentrasi dari elektrolit-elektrolit ini rendah dalam cairan intraseluler. Kation utama pada cairan intraseluler adalah kalium ( $\text{K}^+$ ), dan anion utama adalah fosfat ( $\text{HPO}_4^-$ ), konsentrasi elektron-elektron ini rendah dalam cairan ekstraseluler.

Membran sel dengan penggerak seluler protein dan ion ion bebas Kalsium, Natrium, Magnesium, Kalium, Klorida, Hidrogen, dan ion lain pada kedua sisinya ini dibutuhkan untuk ketahanan hidup. Ion ion ini memainkan banyak peranan penting dalam stabilisasi membran, homeostasis sel, dan transduksi proses dalam semua organisme hidup. Homeostasis atau keseimbangan dinamis adalah proses pertukaran atau pergantian cairan yang terus menerus namun komposisi volume cairan relatif stabil. Istilah homeostasis dipergunakan untuk menjelaskan pengaturan kondisi-kondisi statis atau konstan dalam lingkungan sel. Karena pada dasarnya semua organ dan jaringan tubuh berfungsi untuk membantu mempertahankan kondisi-kondisi yang tetap ini.

Ion natrium dalam cairan ekstraseluler memegang peranan penting dalam mengendalikan volume cairan tubuh total, sedangkan kalium dalam cairan intraseluler penting dalam mengendalikan volume sel. Perbedaan dalam dan diluar membran sel penting untuk menghasilkan kerja saraf dan otot, dan perbedaan konsentrasi  $\text{K}^+$  dan  $\text{Na}^+$  di dalam dan diluar membran sel penting untuk mempertahankan perbedaan muatan listrik itu. Meskipun konsentrasi ion pada tiap

bagian berbeda-beda, hukum netralitas listrik menyatakan bahwa jumlah muatan-muatan negatif harus sama dengan jumlah muatan-muatan positif (dalam satuan mili-ekivalen) dalam setiap bagian (Albert, et al., 2004).

Proses pertukaran air dan zat terlarut ini melibatkan mekanisme yang disebut dengan transportasi aktif dan transportasi pasif, transportasi aktif memerlukan energi sedangkan transportasi pasif tidak memerlukan energi. Difusi dan osmosis adalah mekanisme transportasi pasif.

Zat-zat yang larut dalam lemak dapat langsung menembus membran seperti urea, oksigen, dan karbondioksida. Hampir semua zat terlarut berpindah dengan mekanisme transportasi pasif. Beberapa faktor yang menentukan mudah tidaknya difusi zat terlarut menembus membran kapiler dan sel, yaitu permeabilitas membran, konsentrasi, potensial listrik dan perbedaan tekanan. Permeabilitas adalah perbandingan ukuran dari partikel zat yang akan lewat terhadap pori-pori membran. Partikel kecil seperti air dan ion akan mudah berdifusi melewati membran. Sedangkan partikel besar seperti asam amino dan glukosa harus melalui suatu proses untuk menembus membran.

Pergerakan ion-ion melintasi membran tidak terjadi melalui lubang celah. Hal ini terjadi dengan bantuan protein yang ada pada membran sel. Protein ini menjangkau seluruh membran, dan dengan demikian menempatkan larutan ekstraseluler pada satu sisi sel dan larutan intraseluler di sisi lain. Protein yang ada pada kedua 'celah tertutup' dan 'terbuka' dan pergerakan ion antara kondisi ini diatur oleh sel itu sendiri. Ketika kondisi 'tertutup', tidak ada ion yang diizinkan melalui membran. Ketika celah protein 'terbuka', maka terbentuk lubang silinder kecil pada membran sebagai area yang dapat dilalui ion. Biasanya, Kation dan anion mengalir melalui saluran protein yang berbeda, karena beberapa protein dapat memilih ion dengan beda muatan tertentu. Misalnya, beberapa saluran memungkinkan Natrium melewatinya tetapi tidak untuk ion Kalium untuk melewati saluran tersebut.

Ion ion seperti  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$ , mengalir bebas pada setiap membran sel, karena adanya kekuatan dari sifat ciri khas saluran protein yang menjadikannya selektif untuk melakukan transport satu atau ion atau molekul yang spesifik seperti ciri khas diameternya, bentuknya, jenis muatan listrik di sepanjang

permukaan dalamnya, serta konsentrasi ion dan gradien tegangan antara kedua sisi membran. Gerakan ion ke dalam sitoplasma dari media ekstraseluler atau sepanjang intraseluler ini dapat dicapai melalui pembukaan berbagai saluran ion permeabel, seperti saluran  $\text{Na}^+$ , saluran  $\text{Ca}^{2+}$ , saluran  $\text{K}^+$  dll (Albert, et al., 2004).

Pembukaan dan penutupan gerbang diatur dalam dua cara yaitu:

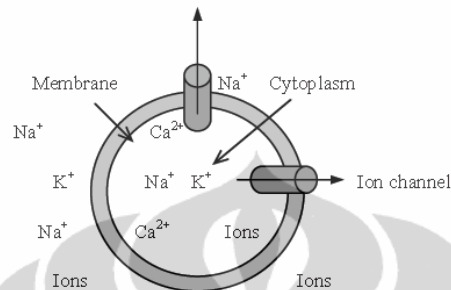
- Gerbang Voltase.

Pada saat terdapat muatan negatif kuat pada bagian dalam membran sel, gerbang dibagian luar akan tertutup rapat, sebaliknya bila bagian dalam membran kehilangan muatan negatifnya, gerbang ini akan terbuka secara tiba-tiba sehingga memungkinkan sejumlah besar ion mengalir masuk melalui pori-pori, seperti contoh gerbang saluran natrium. Sedangkan gerbang juga akan membuka bila bagian dalam membran sel menjadi bermuatan positif, seperti contoh gerbang saluran kalium (Albert, et al., 2004).

- Gerbang Kimiawi.

Gerbang saluran protein ini akan terbuka karena mengikat molekul lain dengan protein, menyebabkan perubahan pada molekul protein sehingga gerbang akan terbuka atau tertutup. Contoh saluran tersebut adalah Saluran Natrium. Saluran natrium ini secara spesifik bersifat selektif untuk transportasi ion-ion natrium. Permukaan dalam saluran bermuatan negatif kuat. Muatan negatif ini menarik ion natrium kedalam saluran kemudian ion natrium ini berdifusi kedalam sel, sehingga suasana diluar sel menjadi negatif dan didalam sel menjadi positif. Perbedaan suasana muatan negatif baru di kedua sisi membran disebut potensial membran. Pembukaan dan penutupan ini terjadi pada bagian luar saluran dari membran sel. Saluran protein lain bersifat untuk transport kalium. Konsentrasi ion kalium di dalam sel sangat tinggi sedangkan dibagian luar sangat rendah, ion kalium bermuatan positif keluar sel sehingga membuat keadaan menjadi positif diluar sel dan suasana negatif di dalam sel akibat anion-anion tidak menyertai ion kalium berdifusi keluar sel. Saluran kalium ini berukuran lebih kecil dari pada saluran natrium dan tidak bermuatan negatif sehingga tidak mempunyai daya tarik kuat untuk menarik ion-ion agar masuk kedalam saluran. Karena ukurannya yang

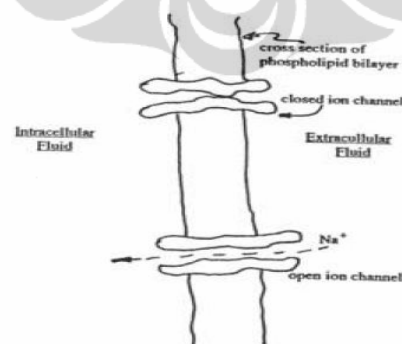
kecil dan hanya dapat dilalui oleh ion kalium, maka ion kalium dengan mudah berdifusi keluar sel. Pembukaan dan penutupan saluran ini terjadi pada bagian dalam ujung saluran (Albert, et al., 2004).



**Gambar 2.1 Model ion-ion pada membran sel.**

*Keterangan : Saluran Ion ion pada membran sel dengan ion  $Na^+$  memasuki ke dalam sel dan ion  $K^+$  keluar sel hingga mencapai kondisi hemostasis.*

Liboff & McLeod (1988) menganggap bahwa ion di saluran tersebut sudah sangat dekat ke dinding dan dipaksa melalui saluran karena struktur spiral nya. Penggambaran ion dalam sitoplasma sel dianalisis seperti gambar di bawah ini, dengan asumsi sel berbentuk bulat dan morfologi membran yang seragam, saat ion ion memposisikan diri baik pada bagian dalam dan luar membran sel, dan bergerak melalui saluran permeabel.



**Gambar 2.2 Aliran Ion melalui Saluran Protein**

Sumber : (Philips, 2010)

*Keterangan : Penggambaran saluran ion  $Na^+$  pada membran dengan dua lapisan fosfolipid saat menutup dan saat saluran terbuka sehingga memungkinkan ion memasuki atau keluar sel.*

#### **2.4.1. Transportasi Pasif (Difusi) Sederhana**

Transportasi pasif (difusi) melalui membran sel di bagi atas dua sub tipe yang disebut dengan difusi sederhana dan difusi dipermudah.

Difusi sederhana berarti bahwa gerakan kinetik molekuler dari molekul ataupun ion terjadi melalui celah membran atau ruang intermolekuler tanpa perlu berikatan dengan protein pembawa pada membran. Kecepatan difusi ditentukan oleh: jumlah zat yang tersedia, kecepatan gerak kinetik dan jumlah celah pada membran sel. Difusi sederhana ini dapat terjadi melalui dua cara yaitu melalui celah pada lapisan lipid ganda, khususnya jika bahan berdifusi terlarut lipid dan melalui saluran licin pada beberapa protein transport (Albert, et al., 2004).

Pada Difusi yang melalui lapisan lipid ganda, salah satu faktor paling penting yang menentukan kecepatan suatu zat ialah kelarutan lipid dan zat terlarut. Seperti misalnya kelarutan oksigen, nitrogen, karbon dioksida dan alkohol dalam lipid sangat tinggi, sehingga semua zat ini langsung larut dalam lapisan lipid ganda dan berdifusi melalui membran sel sama seperti halnya dengan difusi yang terjadi dalam cairan. Kecepatan zat ini berdifusi melalui membran berbanding langsung dengan sifat kelarutan lipidnya.

Pada Difusi melalui saluran protein, air tidak dapat menembus lapisan lipid ganda, air dapat menembus membran sel dengan mudah berjalan melalui saluran protein. Molekul lain yang bersifat tidak larut dalam lipid dapat berjalan melalui saluran pori protein dengan cara yang sama seperti molekul air jika ukuran molekulnya cukup kecil. Semakin besar ukurannya, maka kemampuan penetrasinya menurun secara cepat (Albert, et al., 2004).

#### **2.4.2. Transportasi Pasif (Difusi) Dipermudah**

Disebut juga dengan difusi diperantarai pembawa, artinya pembawa akan mempermudah difusi zat ke sisi lain. Zat –zat paling penting yang melintasi proses difusi yang dipermudah ialah glukose dan sebagian besar asam-asam amino. Molekul pembawa akan mentranspor glukose atau

monosakarida lainnya ke dalam sel. Insulin dapat meningkatkan kecepatan proses difusi ini sebesar 10 sampai 20 kali lipat. Ini adalah mekanisme dasar yang digunakan insulin untuk mengatur pemakaian glukose dalam tubuh (Albert, et al., 2004).

Faktor-faktor yang mempengaruhi kecepatan difusi adalah:

1. Permeabilitas membran
2. Perbedaan konsentrasi
3. Potensial listrik
4. Perbedaan tekanan.

#### **2.4.3. Transportasi Aktif**

Merupakan proses pada saat membran sel menggerakkan molekul atau ion mendaki melawan gradien konsentrasi. Transportasi aktif yang umum terjadi adalah sistem ATPase yang diaktivasi oleh NaK (yang disebut dengan pompa natrium kalium) yang berlangsung pada membran sel. Sistem NaK-ATPase ini berperan penting dalam mempertahankan konsentrasi yang benar dari Na dan K, di dalam dan di luar sel, sehingga mempertahankan elektropotensial membran. Pompa natrium kalium yaitu suatu proses transport yang memompa ion natrium keluar melalui membran sel dan pada saat bersamaan memompa ion kalium ke dalam sel. Pemompaan ini akan memompa tiga ion natrium ke luar sel setiap terjadi pemasukan dua ion kalium. Salah satu fungsi terpenting dari pompa natrium kalium ialah untuk mengatur volume sel. Tanpa fungsi pompa ini, kebanyakan sel tubuh akan membengkak sampai kemudian pecah (lisis) (Albert, et al., 2004).

#### **2.4.4. Osmolaritas**

Pertukaran antar cairan ekstraseluler dan cairan intraseluler terutama ditentukan oleh efek osmotik dari zat terlarut (natrium, klorida, dan elektrolit lainnya). Osmosis adalah difusi cairan dari tempat berkonsentrasi tinggi ketempat konsentrasi rendah. Semakin tinggi konsentrasi zat terlarut dalam larutan, semakin rendah konsentrasi air dalam larutan itu (Vaughn & Bernstam, 2000).

Membran sel bersifat relatif inpermeabel terhadap zat terlarut namun sangat permeabel terhadap air, maka air dengan mudah berdifusi melintasi membran sel menuju daerah dengan konsentrasi zat terlarut tinggi. Jika satu zat terlarut seperti natrium atau klorida di tambahkan ke dalam cairan ekstraseluler, maka air akan berdifusi dari dalam sel ke ruang ekstraseluler. Besar tekanan yang dibutuhkan untuk mencegah osmosis disebut dengan tekanan osmotik. Tekanan osmotik bukan merupakan tekanan yang menimbulkan difusi akhir air melalui membran. Sebaliknya tekanan osmotik sama dengan besar tekanan yang harus diberikan untuk mencegah difusi akhir melalui membran. Semakin tinggi tekanan osmotik suatu larutan maka konsentrasi zat terlarut semakin tinggi dan konsentrasi air semakin rendah. Jadi tekanan osmotik berbanding langsung terhadap konsentrasi partikel yang aktif secara osmotik dalam cairan dan berbanding terbalik terhadap konsentrasi air.

Osmolalitas menyatakan jumlah partikel zat terlarut per kilogram air dan Osmolaritas menyatakan jumlah partikel zat terlarut per liter larutan. Pada larutan encer seperti cairan tubuh, kedua istilah ini dapat di gunakan hampir secara sinonim karena perbedaannya yang kecil.

#### 2.4.5. pH Sel

Asam adalah setiap senyawa kimia yang melepaskan ion hidrogen ke suatu larutan atau kesenyawa biasa. Contoh asam klorida (HCl), yang berionisasi dalam air membentuk ion-ion hidrogen ( $H^+$ ) dan ion klorida ( $Cl^-$ ). Demikian juga, asam karbonat ( $H_2CO_3$ ) berionisasi dalam air membentuk ion  $H^+$  dan ion bikarbonat ( $HCO_3^-$ ). Sedangkan Basa adalah senyawa kimia yang menerima ion hidrogen. Contoh, ion bikarbonat  $HCO_3^-$ , adalah suatu basa karena dapat menerima ion  $H^+$  untuk membentuk asam karbonat ( $H_2CO_3$ ). Fosfat ( $HPO_4$ ) suatu basa karena dapat membentuk asam fosfat ( $H_2PO_4$ ) (Vaughn & Bernstam, 2000).

Protein-protein dalam tubuh juga berfungsi sebagai basa karena beberapa asam amino yang membangun protein dengan muatan akhir negatif siap menerima ion-ion hidrogen. Asam kuat adalah asam yang



berdisosiasi dengan cepat dan terutama melepaskan sejumlah besar ion  $H^+$  dalam larutan. Contohnya HCl. Asam lemah mempunyai lebih sedikit kecenderungan untuk berdisosiasi dengan ion-ionnya dan oleh karena itu kurang melepaskan  $H^+$ . contohnya  $H_2CO_3$ .

Basa kuat adalah suatu basa yang secara cepat dan kuat bereaksi dengan  $H^+$  dan oleh karena itu dengan cepat menghilangkannya dari larutan. Contohnya seperti ion hidroksil ( $OH^-$ ), yang bereaksi dengan cepat membentuk air ( $H_2O$ ). Basa lemah adalah basa yang secara lemah bereaksi dengan ion  $H^+$ , Contohnya  $HCO_3^-$ .

Pengaturan ion hidrogen yang tepat bersifat penting karena hampir semua aktifitas sistem enzim dalam tubuh dipengaruhi oleh konsentrasi ion hidrogen. Oleh karena itu perubahan konsentrasi hidrogen sesungguhnya merubah fungsi seluruh sel dan tubuh. Konsentrasi ion hidrogen dalam cairan tubuh normalnya dipertahankan pada tingkat yang rendah, dibandingkan dengan ion-ion yang lain. Karena konsentrasi ion hidrogen normalnya adalah rendah dan karena jumlahnya yang kecil ini tidak praktis, biasanya konsentrasi ion hidrogen disebut dalam skala logaritma dengan menggunakan satuan pH.

$$pH = -\log_{10} H^+ = \log_{10} \frac{1}{H^+}$$

pH berhubungan terbalik dengan konsentrasi ion hidrogen. Oleh karena itu pH rendah berhubungan dengan konsentrasi ion hidrogen yang tinggi dan pH tinggi berhubungan dengan konsentrasi ion hidrogen yang rendah. Batas rendah nilai pH seseorang dapat hidup beberapa jam adalah 6,8 dan batas atas sekitar 8,0.

Sistem lain yang bekerja dalam media untuk mempertahankan nilai pH dalam kultur adalah analogi dari system pernafasan tubuh yang mengeliminasi  $CO_2$  dan oleh karena itu  $H_2CO_3$  dari tubuh yang dianalogikan dengan paparan  $CO_2$  pada inkubator. Kedua pengaturan ini menjaga konsentrasi ion hidrogen dari perubahan yang terlalu banyak sampai pengaturan yang bereaksi lebih lambat. Penyangga adalah zat apapun yang secara terbalik dapat mengikat ion-ion hidrogen, yang segera bergabung

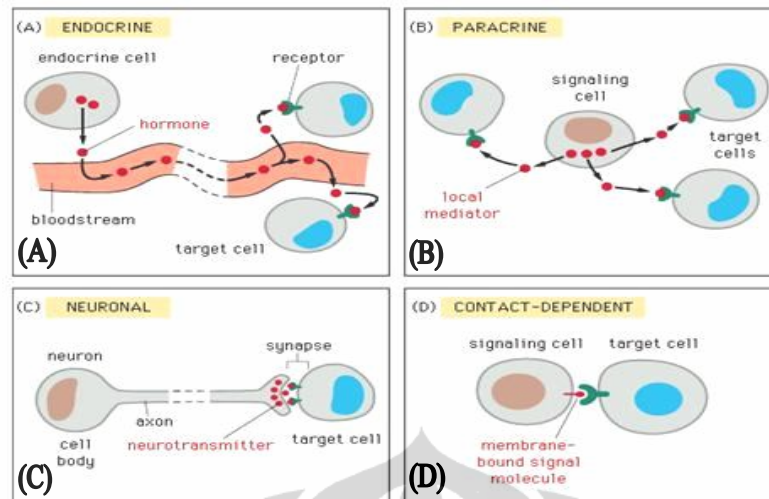
dengan asam basa untuk mencegah perubahan konsentrasi ion hidrogen yang berlebihan.

Kestabilan nilai pH dapat dipertahankan dengan penempatan kultur pada inkubator yang terpapar gas CO<sub>2</sub> sebesar 5%. Hal ini disebabkan stabilitas pH medium dipengaruhi oleh kapasitas buffer, tipe buffer, ruang bagian atas dan konsentrasi glukosa. Sistem buffer normal pada kultur sel adalah CO<sub>2</sub>-bikarbonat sistem analogi dengan kondisi didalam darah. Untuk mempertahankan sistem buffer rendah maka pKa sebaiknya berada pada nilai fisiologi yang optimum. Karena itu diperlukan penambahan CO<sub>2</sub> untuk mempertahankan nilai CO<sub>2</sub> dalam sel dengan cara mempertahankan CO<sub>2</sub> di ruang atas medium dan untuk meningkatkan ion ion hidroksil.

## 2.5. Pengendalian Pertumbuhan Sel

Pertumbuhan sel diawali dari sistem komunikasi sel yang terjadi melalui beberapa sistem yaitu:

- Komunikasi melalui sinyal kimia, seperti terjadinya komunikasi jarak jauh pada Hormon Insulin yang disekresi oleh sel Endocrine atau hormon kortisol.
- Komunikasi melalui mediator lokal yang disekresikan ke lingkungan lokal seperti pada Paracrine. Beberapa jenis Mediator lokal adalah Faktor Pertumbuhan Epidermal (*Epidermal Growth Factor/EGF*), Faktor Pertumbuhan yang berasal dari Trombosit (*Platelet Derived Growth Factor/PDGF*), Faktor Pertumbuhan Fibroblast (*Fibroblast Growth Factor /FGF*), Faktor Pertumbuhan Perubah  $\alpha$  (*Transforming Growth Factor/TGF $\alpha$* ), Sitokin, seperti Interferon, Faktor Nekrosis Tumor (*Tumor Necrosis Factor/TNF*)
- Komunikasi melalui kontak langsung antar sel seperti neuron melalui sistem sinapsenya.
- Komunikasi melalui ikatan membran,:



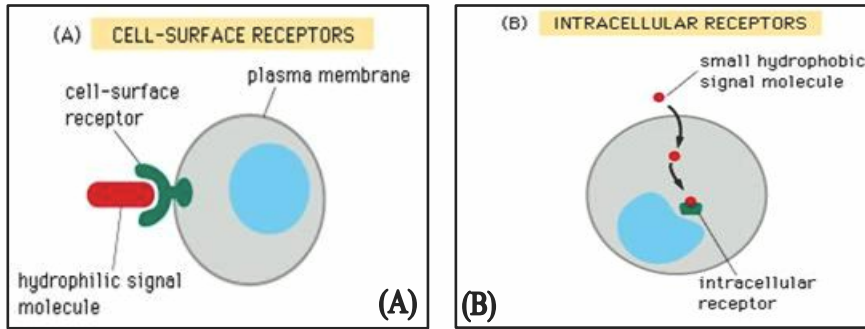
**Gambar 2.3 Komunikasi Sel**

(A) Komunikasi jarak jauh (B) Komunikasi dengan mediator lokal (C) Komunikasi langsung antar sel melalui sistem sinaps (D) Komunikasi langsung antar sel melalui molekul signal pada ikatan membrane.

Sumber : Dr Gerald Saldanha, Dept of Pathology, Leicester Warwick Medical School

Stimulasi sel terjadi ketika sinyal molekul ekstraselular mengikat suatu reseptor. Setiap protein reseptor secara spesifik akan mengenali ligan atau pasangannya. Reseptor bertindak sebagai transduser yang mengkonversi atau merubah sinyal dari satu bentuk fisik ke bentuk lainnya (Pollard & Earnshaw, 2008). Ada beberapa tipe molekul molekul sinyal yang terdapat dalam sistem komunikasi sel diantaranya:

- Molekul Sinyal terbanyak yaitu molekul yang tidak dapat melewati membran sel begitu saja, pada tipe ini, reseptor ada pada membran sel.
- Molekul sinyal hidrofobik yang berukuran kecil dan dapat berdifusi langsung ke dalam sitoplasma sel. Reseptor ada pada sitoplasma atau nucleus.



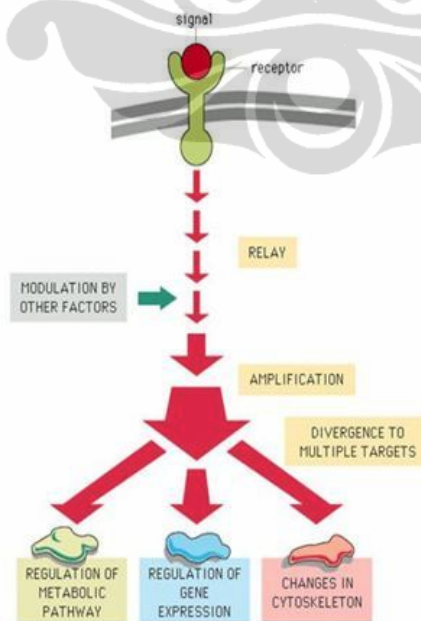
**Gambar 2.4 Molekul Sinyal**

(A) Molekul sinyal hidrofilik-Reseptor pada permukaan sel (B) Molekul sinyal Hidrofobik

Sumber : Dr Gerald Saldanha, Dept of Pathology, Leicester Warwick Medical School

Terdapat tiga kelas utama reseptor yang dapat diklasifikasikan pada system komunikasi sel yaitu:

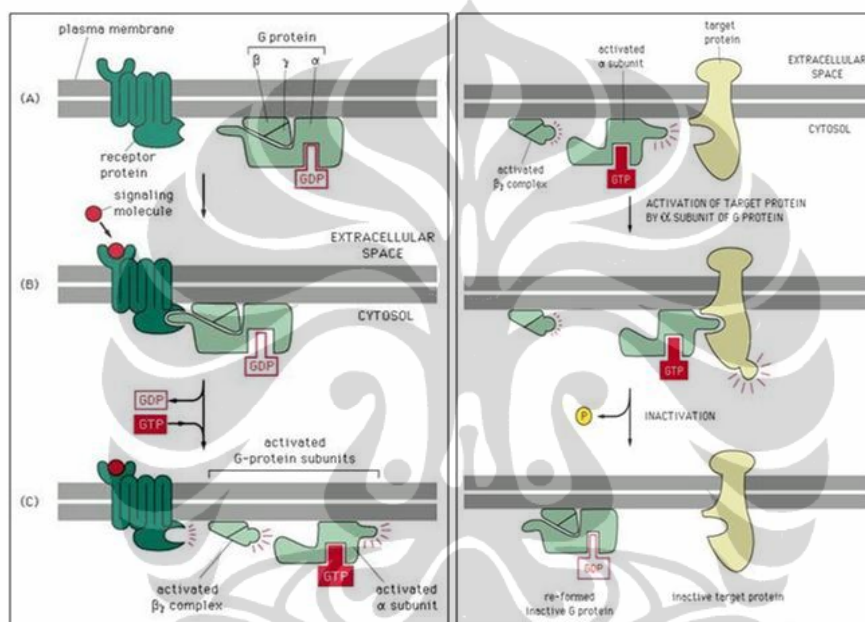
- Reseptor penghubung Saluran Ion (*Ion-channel-linked reseptor*), merupakan reseptor yang sangat penting dalam system saraf.
- Reseptor penghubung Protein G (*G-protein-linked reseptor*)
- Reseptor penghubung Enzim (*Enzyme-linked reseptor*)



**Gambar 2.5 Aktifasi Reseptor.**

Sumber : Dr Gerald Saldanha, Dept of Pathology, Leicester Warwick Medical School

Reseptor G-protein dan Enzim memberikan respon dengan mengaktifkan sinyal intraseluler. Sinyal-sinyal inilah yang mengubah perilaku sel. Reseptor G-protein mengaktifkan kelompok protein pengikat GTP (GTP-binding protein/G-protein). Protein G ini adalah molekul pengganti yang dapat diaktifkan untuk periode singkat saat terikat pada GTP. Protein G dapat menonaktifkan dirinya sendiri dengan menghidrolisi GTP menjadi GDP.

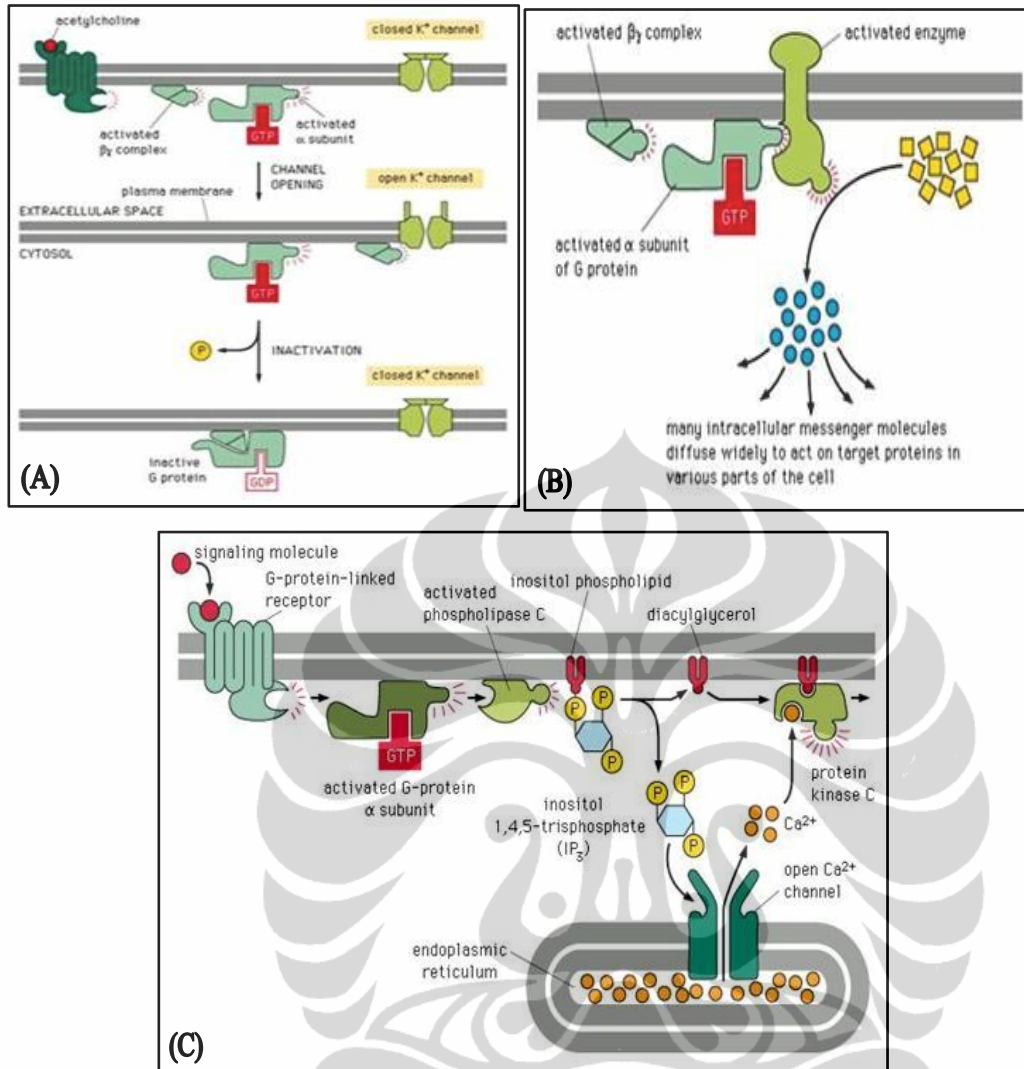


**Gambar 2.6 Mekanisme Aktifasi Reseptor G-Protein**

(Kiri) Aktifasi Reseptor G-protein ( Kanan) Non aktifasi Reseptor G-Protein

Sumber : Dr Gerald Saldanha, Dept of Pathology, Leicester Warwick Medical School

Beberapa protein G secara langsung mengatur saluran ion pada membran sementara beberapa lainnya mengaktifkan siklase adenilat (*adenylate cyclase*), sehingga meningkatkan siklik Adenosinmonophosphat intraseluler (c-AMP), juga mengaktifkan enzim fosfolipase C, sehingga meningkatkan inositol trifosfat intraseluler (IP<sub>3</sub>) dan diasilgliserol (DAG) (Pollard & Earnshaw, 2008).

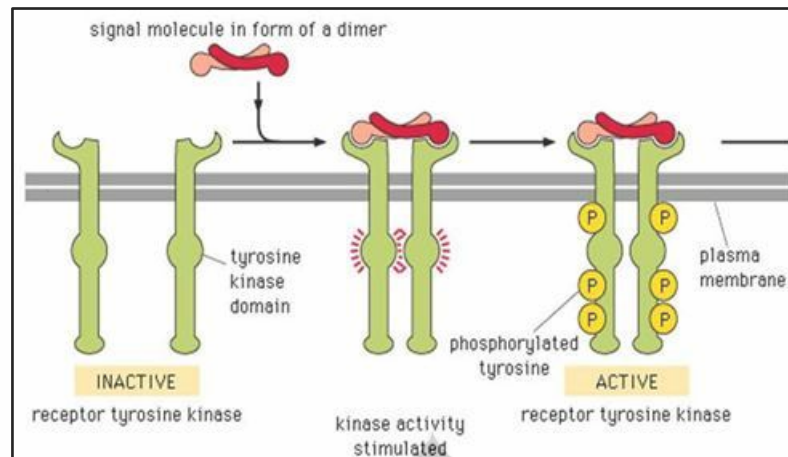


**Gambar 2.7. Mekanisme Pengaturan oleh Reseptor G-Protein**

(A) G-Protein mengaktifasi saluran ion K<sup>+</sup> (B) G-protein mengaktifasi enzim (C) G-protein mengaktifasi enzim fosfolipase

Sumber : Dr Gerald Saldanha, Dept of Pathology, Leicester Warwick Medical School

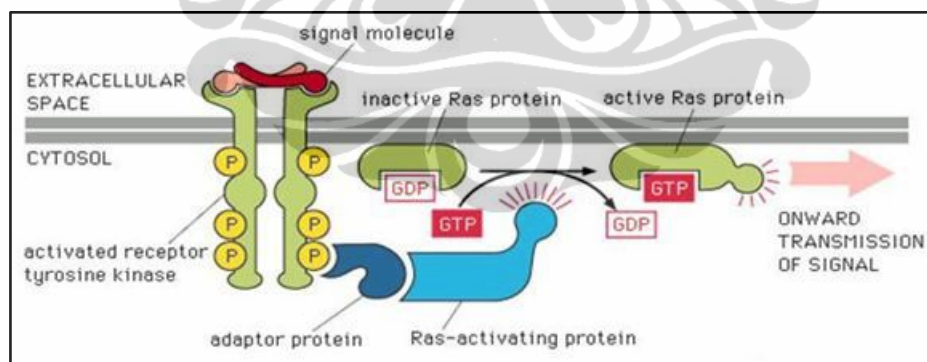
Banyak reseptor memiliki domain intraseluler dengan fungsi enzim. Sebagian besar adalah reseptor penghubung Enzim Tirosin-kinase, yang memfosforilasi residu tirosin pada protein intraseluler yang dipilih. Reseptor ini diaktifkan oleh faktor-faktor pertumbuhan, sehingga sangat penting dalam proses proliferasi sel.



**Gambar 2.8 Mekanisme Pengaturan oleh Reseptor Enzim Tirosin-kinase**

Sumber : Dr Gerald Saldanha, Dept of Pathology, Leicester Warwick Medical School

Aktivasi Reseptor tirosin kinase menghasilkan perakitan sinyal intraselular yang kompleks. Sinyal kompleks ini mengaktifkan protein GTP-pengikat yang kecil, yang disebut Ras. Ras kemudian mengaktifkan aliran protein kinase yang menghubungkan sinyal kepada inti sel. Mutasi yang membuat Ras hiperaktif adalah hal yang menyebabkan peningkatan proses proliferasi menjadi kanker.



**Gambar 2.9 Mekanisme Aktifasi Protein Ras**

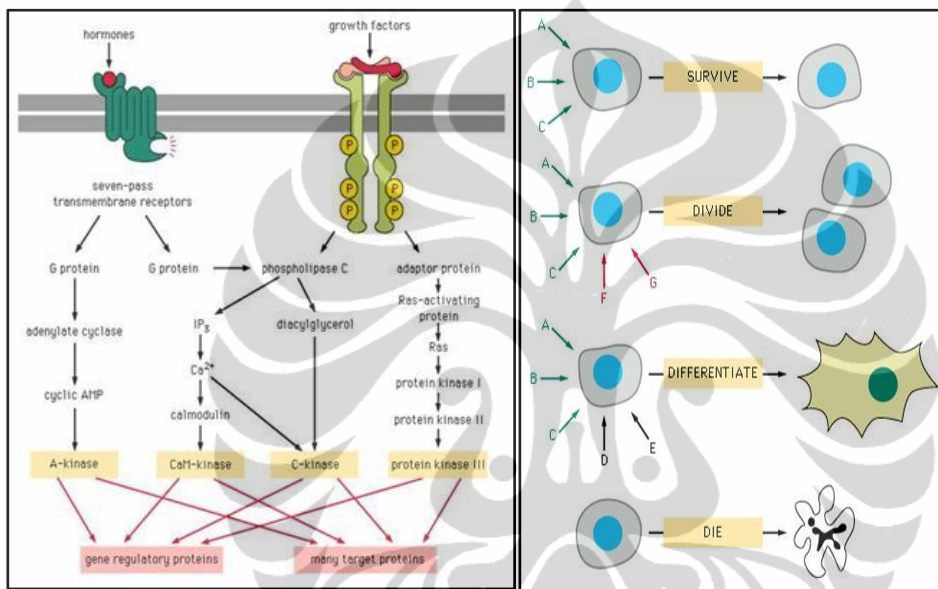
Sumber : Dr Gerald Saldanha, Dept of Pathology, Leicester Warwick Medical School

Proses sinyal sitoplasma menuju nukleus terjadi dari banyaknya aliran sinyal yang berakhir dalam aktivasi faktor transkripsi nuklir. Faktor transkripsi ini membuat proses perubahan gen ekspresi. C-Jun dan c-Fos (yang membentuk



sebuah kompleks AP1) dan c-myc adalah tiga faktor transkripsi yang penting dalam komunikasi sel (Pollard & Earnshaw, 2008).

Jalur interaksi sinyal terjadi dari molekul-molekul sinyal dan reseptor-reseptor. Sel hanya mengungkapkan subset dari reseptor-reseptor. Interaksi terjadi dari adanya jalur sinyal intraselular yang berbeda-beda. Hal ini memungkinkan sel untuk merespon dengan tepat terhadap kombinasi sinyal yang kompleks.



**Gambar 2.10 Jalur Interaksi Sinyal Sel**

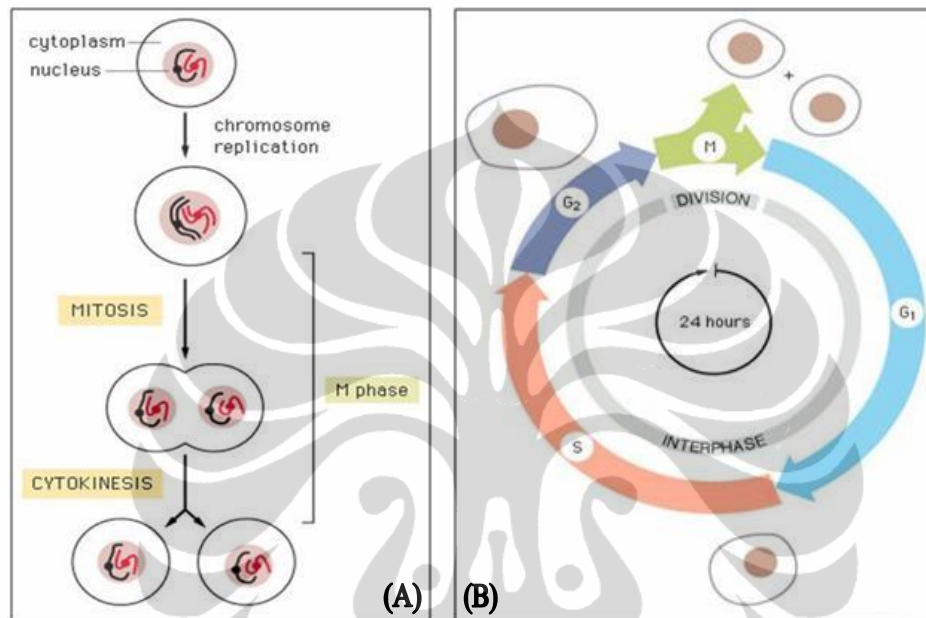
Sumber : Dr Gerald Saldanha, Dept of Pathology, Leicester Warwick Medical School

Proses proliferasi sel adalah saat sel-sel mengalami perkembangan biakan dengan adanya rangsangan oleh faktor-faktor pertumbuhan. Rangsangan ini terutama dengan adanya ikatan pada reseptor tirosin-kinase. Adanya jalur sinyal reseptor ini dapat menghentikan periode istirahat pada proses proliferasi. Penghentian ini merupakan salah satu bagian dari sistem kontrol siklus sel. Dengan demikian hal ini memastikan bahwa sel membelah hanya dalam kondisi yang sesuai (Albert, et al., 2004).

Siklus sel eukariotik itu sendiri terdiri dari beberapa tahapan yang berbeda. Peristiwa yang paling dramatis adalah pada fase M yaitu saat sel mengalami Mitosis yang merupakan pembelahan nukleus atau inti sel dan Sitokinesis yang merupakan pembelahan sitoplasma. Sisa dari siklus sel lainnya disebut interfase.



Selama fase interfase, sel akan mereplikasi DNA-nya (fase S), mentranskripsi gen, mensintesa protein, dan mengalami pertumbuhan massa selnya. Jeda antara fase M dan fase S disebut fase G<sub>1</sub>, dan jeda antara fase S dan fase M disebut fase G<sub>2</sub>. Berikut adalah penggambaran siklus sel (Albert, et al., 2004).



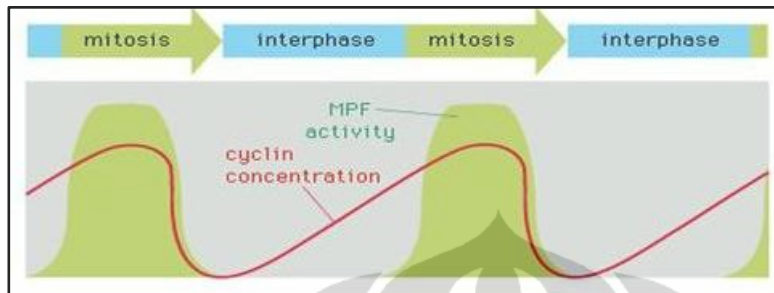
**Gambar 2.11 Siklus Sel**

(A) Siklus sel Mitosis dan Sitokinesis (B) Keseluruhan fase siklus sel

Sumber : Dr Gerald Saldanha, Dept of Pathology, Leicester Warwick Medical School

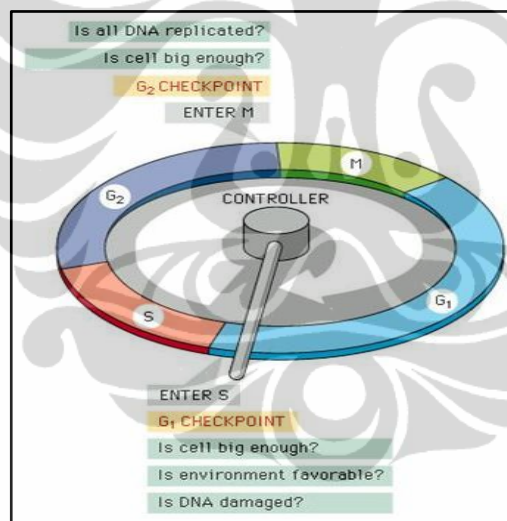
Kontrol dari siklus sel ini terutama pada protein protein yang kompleks. Kemajemukan ini terdiri dari subunit cyclin dan subunit Cdk. Cyclin memiliki fungsi regulasi atau pengaturan, sedangkan Cdk berfungsi sebagai katalitik. Ekspresi Cdk adalah konstan, tetapi konsentrasi cyclin meningkat dan menurun pada waktu tertentu dalam siklus sel. Cdks diaktifasi secara siklus oleh ikatan cyclin dan status fosforilasi. Setelah terjadi aktivasi, Cdks akan memfosforilasi protein kunci dalam sel. Siklin-Cdk kompleks yang berbeda akan memicu langkah-langkah siklus sel yang berbeda juga. Sebagian akan menggerakkan sel memasuki fase M, sedangkan yang lainnya akan menggerakkan sel menuju fase S. Sistem kontrol siklus sel memiliki molekul molekul pemecah (*in-built molecular*

*breaks*) sebagai titik pemeriksaan (checkpoint). Titik pemeriksaan memastikan bahwa fase berikutnya tidak dimulai hingga proses fase sebelumnya selesai.



**Gambar 2.12 Kontrol Siklus Sel**

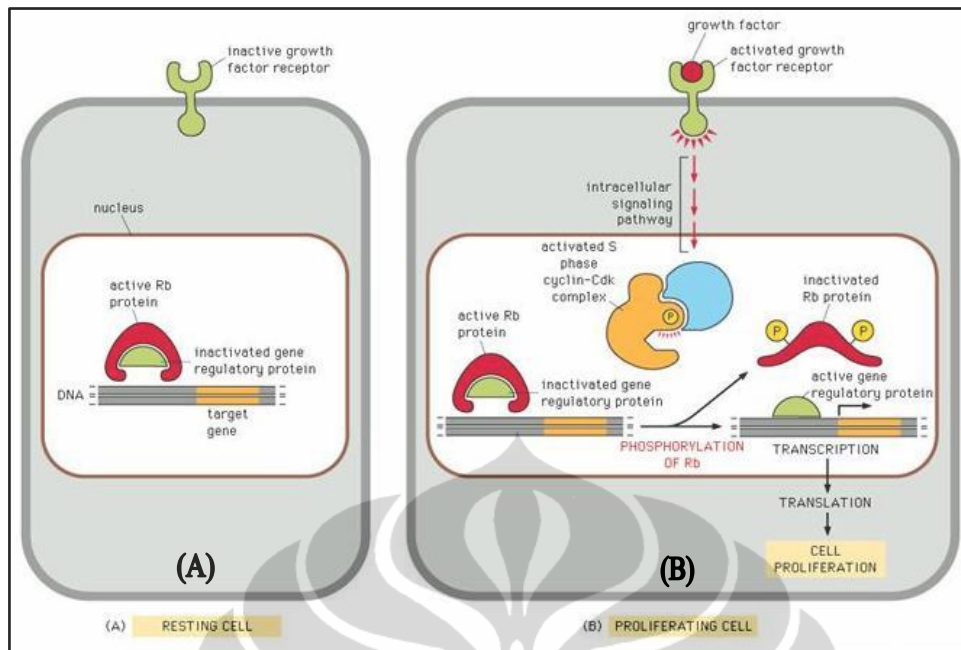
Sumber : Dr Gerald Saldanha, Dept of Pathology, Leicester Warwick Medical School



**Gambar 2.13 Titik Pemeriksaan Sistem Kontrol Siklus Sel**

Sumber : Dr Gerald Saldanha, Dept of Pathology, Leicester Warwick Medical School

Titik pemeriksaan G<sub>1</sub> telah dipelajari secara luas. Protein Retinoblastoma (Rb) memainkan peran kunci pada titik ini. Fungsi protein Rb ditentukan oleh status fosforilasi nya. Fase S siklin-Cdk yang kompleks akan melakukan fosforilasi Rb.

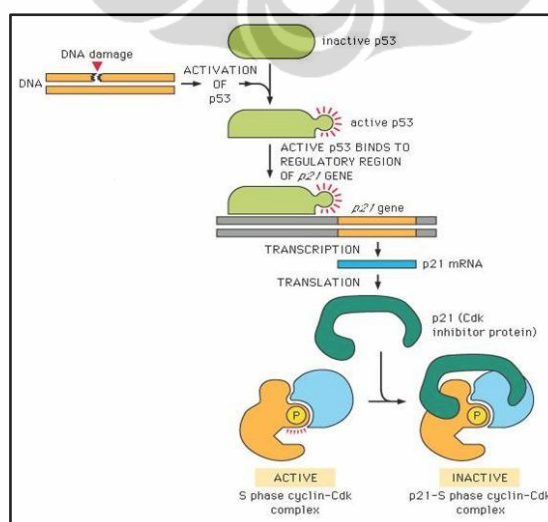


**Gambar 2.14 Protein Rb sebagai Protein Kunci Fase S**

(A) Mekanisme saat sel beristirahat (B) Mekanisme saat sel berproliferasi

Sumber : Dr Gerald Saldanha, Dept of Pathology, Leicester Warwick Medical School

Titik pemeriksaan G1 ini dipengaruhi oleh aksi cyclin yang bergantung pada inhibitor inhibitor kinase (CKIs, seperti p21, p16, atau p53 yang menandakan kerusakan DNA dan menginduksi ekspresi p21). CKIs kemudian menonaktifkan siklin-Cdk kompleks (Albert, et al., 2004).



**Gambar 2.15 Mekanisme Inhibitor Kinase**

Sumber : Dr Gerald Saldanha, Dept of Pathology, Leicester Warwick Medical School

Selular akan mengalami adaptasi saat pertumbuhan dan diferensiasi. Sel akan merespon terhadap berbagai stimulus seperti hormon, parakrin atau melalui kontak sel langsung. Rangsangan ini mungkin timbul dalam kondisi fisiologis atau patologis. Cara sel-sel beradaptasi dalam pertumbuhan dan diferensiasi bergantung pada kemampuan mereka untuk membelah.

Kapasitas proliferasi seluler tergantung pada jaringan yang dapat diklasifikasikan menurut kemampuan sel untuk membelah dan beberapa jaringan ini mengandung kelompok sel-sel yang bergerak cepat dari satu siklus sel ke siklus berikutnya. Sel sel ini disebut sel-sel labil. Beberapa sel membongkar mesin kontrol siklus selnya dan keluar dari siklus sel tersebut. Sel sel ini disebut dalam keadaan G<sub>0</sub>. Beberapa sel dapat kembali memasuki siklus sel tersebut ketika dirangsang atau stimulasi oleh misalnya faktor-faktor pertumbuhan. Sel-sel ini disebut sel-sel stabil. Sedangkan sel-sel lain yang tidak dapat masuk kembali ke dalam siklus sel disebut sel-sel permanen.

## 2.6. Paparan Medan Magnet

Medan magnet diproduksi dengan memindahkan muatan listrik dan ada di sekitar kita seperti medan magnet bumi dan sumber medan magnet buatan. Sejumlah medan magnet statis dan bolak balik yang timbul dari sumber-sumber buatan manusia dihipotesa memiliki efek biologis terhadap jaringan hidup.

Sejak *Magnetic Resonance Imaging (MRI)* digunakan secara luas untuk tujuan diagnostik dan sejak densitas fluks magnet yang digunakan meningkat, studi tentang efek biologi medan magnet statis pada tingkat sel terus menerus dilakukan, sebelum menyatakan intensitas daerah magnetik tersebut benar-benar aman bagi manusia. Daerah elektromagnetik beresilasi dengan rentang frekuensi yang sangat rendah telah diselidiki dapat memberikan efek pada sistem biologi dan dapat memberikan pengaruh pada sel melalui interaksi dengan adanya pergerakan ion. Ada banyak fungsi biologis yang dimodulasi oleh medan magnet dengan frekuensi sangat rendah yaitu *extremely low frequency magnet force (ELF)* dengan rentang frekuensi dari 3 hingga 30Hz. Namun, tidak ada cukup bukti bahwa daerah magnet ELF dapat membahayakan kesehatan manusia (Panagopoulos & Karabarounis, 2002). Meskipun demikian, medan magnet ini

memperlihatkan pengaruh proliferasi dan ekspresi faktor pertumbuhan dalam sel kultur (Koch & Sommarin, 2003) dan juga mengganggu sistem endorphinergic dan kolinergik (Liboff & McLeod, 1988).

Panagopoulos & Karabarounis (2002) membahas model biofisik untuk menjelaskan bidang tindakan pada sel, yaitu analisis force-getaran dari semua ion bebas pada permukaan membran plasma sel, yang disebabkan oleh medan osilasi eksternal. Blanchard dan Blackman (1994) telah menggunakan model resonansi ion (HKI) parametrik, yang merupakan salah satu dari serangkaian teori usulan untuk menjelaskan bagaimana frekuensi rendah medan magnet dapat mempengaruhi sistem biologi. Model ini terutama mengambil gerakan ion dengan memperhitungkan bahwa ion bisa berosilasi bolak-balik di bawah pengaruh medan magnet.

Selain medan magnet, medan listrik (*Electric Force*) juga memiliki efek biologis yang dapat mempengaruhi pertumbuhan saraf dan orientasi *in vitro*, dan telah diterapkan untuk pengobatan cedera tulang belakang dalam uji klinis (Bai & Z. Xiao, 2004). Respon sel untuk medan listrik pada dasarnya pasif dan ditentukan oleh sifat fisik sel, tetapi peneliti lain menemukan bahwa sel juga dapat aktif dalam merespon medan listrik (Wolf & A. Torselloa, 2005).

Medan elektromagnet (*Electro Magnetic Force*) dihasilkan ketika arus listrik melewati konduktor listrik seperti kabel listrik (Naarala & Hoyto, 2004). Seperti medan magnet dan medan listrik, medan elektromagnetik juga memiliki efek biologis seperti tingkat pertumbuhan sel yang berubah (Dong, Chen, & Huang, 2005), jumlah transkrip RNA dan protein yang berubah (Stange & Rowland, 2002), sifat permukaan sel yang berubah (Blank & L. Soo, 2001) dan juga berpengaruh terhadap pengembangan sel (Narita & Hanakawa, 1997).

Dalam beberapa tahun terakhir, beberapa studi telah menyarankan kemungkinan efek biologis medan magnet pada kesehatan manusia (Jolanta, Janina, Marek, Elzibieta, & Mariola, 2001). Kegagalan pada studi epidemiologis untuk menemukan korelasi pada subyek hidup terhadap kehadiran terus menerus medan magnet pada densitas fluks yang berbeda dan penampilan dari setiap patologi tertentu yang dilakukan Hatch, et al., pada tahun 1998, berlawanan dengan beberapa penyelidikan yang menunjukkan peningkatan leukimia dan

penyakit terkait lainnya pada anak-anak dari populasi yang terkena medan elektromagnet (Thomson, Michaelson, & Nguyen, 1988), serta peningkatan jumlah laporan yang menunjukkan bahwa medan magnet terlibat dalam induksi kanker sebagai faktor co-karsinogenik dan dapat meningkatkan efek dari zat mutagenik lain (Mevissen, Kietzmann, & Loscher, 1995).

## 2.7. Paparan Medan Magnet Statis

Hingga saat ini, teknologi berbasis daerah magnet statis belum berkembang untuk penggunaan klinis dan alasan untuk ini adalah skeptisisme karena perbedaan protokol paparan eksperimental dan medan magnet statis (*Static Magnet Force*) dengan variasi yang diterapkan dalam percobaan tidak memberikan kepastian hasil. Sejauh pengetahuan penulis, tidak ada berbagai standar yang disediakan pada paparan medan magnet yang dapat mempengaruhi kemampuan sel-sel punca berproliferasi dan berdiferensiasi. Tinjauan medan magnet dan pengaruhnya terhadap diferensiasi sel-sel punca yang digunakan oleh peneliti sebelumnya tidak memberikan kepastian hasil. Terlebih beberapa hasil memberikan hasil yang kontradiktif satu sama lain.

Pemantauan beberapa penelitian yang telah dilakukan untuk mengetahui efek selular terhadap daerah magnetik dijabarkan sebagai berikut:

Daerah magnet statis ditimbulkan oleh logam magnetik cakram dengan densitas fluks yang diketahui. Daerah magnet statis tidak mendorong adanya peningkatan suhu, seperti daerah yang digerakkan oleh listrik, yaitu yang dihasilkan oleh daerah magnet statis dari solenoid. (Fanelli C., et al., 1999).

Penelitian terhadap magnet *rare-earth* yang menghasilkan daerah magnet statis, juga telah digunakan sebagai 'sumber kekuatan' yang menguntungkan dalam perawatan ortodontik, seperti distalisasi molar, ekspansi palatal, dan dampak perpindahan gigi (Vardimon et al, 1989, 1991;. Bondemark dan Kurol, 1992; Noar dan Evans, 1999). Namun demikian, hanya ada sedikit bukti yang memberi keuntungan aplikasi daerah magnet statis ini, kecuali sebagai sumber kekuatan. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa daerah magnet statis dapat meningkatkan level perbaikan tulang (Darendeliler et al, 1997), deposisi tulang

baru (Darendeliler et al, 1995.), dan mencegah penurunan densitas mineral tulang yang disebabkan oleh invasi bedah atau implantasi (Yan et al., 1998).

Dalam penelitian Yamamoto, Ohsaki, Goto, A. Nakasima, & and Iijima (2003), pembentukan nodul tulang diperiksa di bawah kekuatan daerah magnet statis dari 280 atau 340 mT, dengan 2 atau 3 magnet, masing-masing, dalam tumpukan. Terlihat tidak ada perbedaan jelas, antara data yang tercatat dibandingkan dengan paparan 160 mT. Daerah magnet statis dengan kerapatan fluks 160 mT merangsang pembentukan tulang dengan meningkatkan diferensiasi dan/atau kegiatan osteoblast, yang diamati dengan menggunakan sistem kultur sel tikus Calvaria dan dua sel Osteoblast-like, ROS 17/2.8 dan UMR 106. Dari hasil percobaan ini kisaran densitas fluks magnet antara 160 mT – 340 mT dapat digunakan dalam penelitian selanjutnya.

Sehubungan dengan perbandingan antara medan elektromagnetik berdenyut dan daerah magnet statis, Darendeliler et al. (1995,1997) melaporkan bahwa daerah magnet statis dengan kerapatan fluks 4-8 mT dapat mempromosikan deposisi tulang Osteotomized baru pada rahang marmut dan juga di tulang Alveolar dengan daerah magnet statis berkerapatan fluks, 0.5 mT.

Camilleri & McDonald (1993), mengevaluasi efek daerah magnet statis kerapatan fluks, 100 mT pada remodeling tulang dan aktivitas mitosis Osteoblast Calvaria tikus, dan menyatakan bahwa daerah magnet statis tidak mempengaruhi pertumbuhan tulang, tapi menghambat serapan Timidin secara signifikan.

Amara, Abdelmelek, Salem, Abidi, & Sakly (2006), menyelidiki pengaruh medan magnet statis pada tingkat pertumbuhan, hematopoiesis, tingkat plasma protein, kadar glukosa, kegiatan Laktat Dehidrogenase (LDH) dan transaminase pada tikus jantan. Sub-akut paparan tikus selama 5 hari berturut-turut pada 128mT menyebabkan peningkatan aktivitas LDH plasma sebesar 38%(p <0,05), dan konsentrasi glukosa sebesar 31%, (p <0,05), sedangkan parameter faal darah, kadar protein, aktifitas Alanine Aminotransferase (ALT) dan Aspartate aminotransferase (AST) tetap tidak berubah.

Paparan selama 30 hari berturut-turut menurunkan secara signifikan tingkat pertumbuhan pada minggu kedua dan meningkatkan protein plasma total sebesar +62% (p <0,05), kadar hemoglobin sebesar +10%(p <0,05), sel darah

merah +7% ( $p < 0,05$ ), sel darah putih 17% ( $p < 0,05$ ), jumlah trombosit +10% ( $p < 0,05$ ), aktifitas LDH 43% ( $p < 0,05$ ), AST 41% ( $p < 0,05$ ), dan ALT 95% ( $p < 0,05$ ). Sebaliknya, konsentrasi glukosa tidak terpengaruh. Perubahan ini menegaskan bahwa paparan daerah magnet statis memberikan efek proliferasi sel darah dan melepaskan enzim dalam darah yang menunjukkan perubahan jaringan.

### 2.7.1. Efek Biologis Medan Magnet

Beberapa masalah kesehatan lingkungan yang sering menjadi perdebatan adalah mengenai paparan daerah elektromagnetik terhadap efek meningkatnya risiko penyakit. Sejak Wertheimer dan Leeper pada tahun 1979 melaporkan bahwa anak-anak yang tinggal dekat distribusi listrik memiliki kemungkinan kanker dua atau tiga kali kejadian lebih besar. Perdebatan terus terjadi sementara paparan daerah magnetik densitas fluks tinggi saat ini meningkat karena meluasnya penggunaan peralatan medis seperti Magnetik Resonansi Tomograf untuk tujuan diagnostik. Namun, menurut rekomendasi dari Uni Eropa daerah statis magnetik di bawah 0,5 T dianggap cukup aman bagi manusia dan tidak ada otorisasi diperlukan untuk instalasi dan penggunaan peralatan medis pada paparan di bawah 0,5 T, sehingga dokter umum dan ahli radiologi merekomendasikan penggunaan MR tomography sebagai alternatif aman untuk prosedur pencitraan menggunakan radiasi pengion (Sanita, 1993). Seiring hal ini, banyak penelitian mengemukakan pengaruh magnetik terhadap efek biologi manusia (Suri, 1996).

### 2.7.2. Efek Morfologi Sel

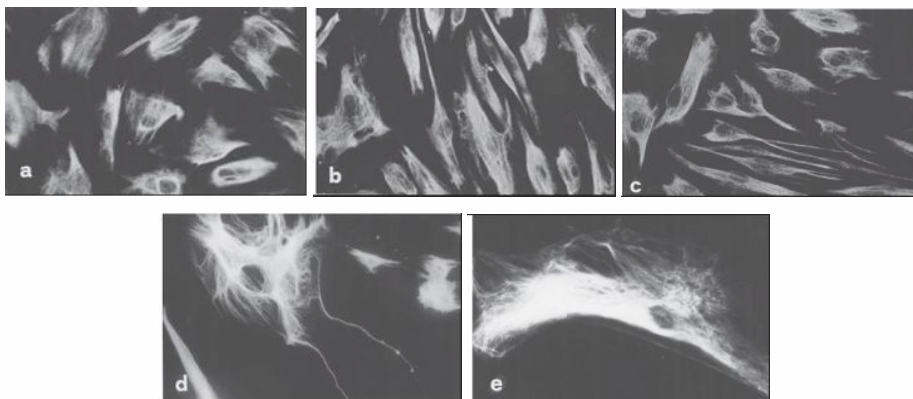
Efek morfologi medan magnet statis yang kuat pada pelekatan sel masih memerlukan pemahaman yang intensif. Pada penelitian terdahulu, sel-sel menunjukkan perubahan dramatis morfologi dan orientasi ketika dipaparkan medan magnet. Paparan magnet statis 0.2 T selama 1 jam pada sel fibroblast kulit manusia, menunjukkan Morfologi sel yang berubah seiring penurunan ekspresi beberapa residu gula dari *glycoconjugates* setelah terpaparkan medan magnet (Pacini, et al., 2003). Namun, viabilitas



sel yang dinilai oleh assay pembentukan koloni, tidak menunjukkan adanya pengaruh (Iwasaka, Yamamoto, Ando&Ueno, 2003). Dubey, Letourneau, & Ranquillo (1999), melaporkan adanya tingkat perpanjangan neurite dari Neuron Ganglia Dorsal Embrio Ayam yang ditemukan secara substansial lebih besar dibanding kultur kontrol dan perpanjangan ini meningkat dengan bertambahnya kuat medan magnet terpapar.

Pacina, et al. (1999) melakukan pemaparan magnet statis berdensitas fluks 0.2T dihasilkan Magnetik Resonansi Tomograph pada Kultur sel saraf manusia normal berasal dari epitel penciuman dan merupakan progenitor sel punca neuroblastik (FNC-B4). Hasil paparan 15 menit memperlihatkan morfologi sel yang membentuk vortexes sel dan neurites bercabang yang menampilkan sinaps sinaps. Pada saat bersamaan, Timidin dan signal lemak berkurang dramatis. Sedangkan pada kultur kontrol yaitu sel saraf tanpa paparan atau sel non-saraf (mouse leukemia, dan sel kanker payudara) tidak menunjukkan perubahan setelah terpapar. Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa daerah di bawah 0,5 T memiliki efek biologis yang significant pada sel neuron manusia.

Gambar berikut memperlihatkan pengaruh daerah magnet 0,2 T pada morfologi sel saraf manusia.



**Gambar 2.16 Perubahan Morfologi Sel Saraf Manusia**

Sumber:(Pacina, et al., 1999)

*Keterangan: Immunostain sel line FNC-B4 oleh antibodi diarahkan untuk neurofilamen (b-d). Kondisi sel terpapar daerah magnetik untuk waktu yang berbeda terlihat pada (Gambar a - c) untuk paparan 80 menit, dan Gambar (d, e) untuk paparan 150 menit. Pada Kontrol (Gambar a) paparan medan magnet selama 80 menit menunjukkan sel tetap berbentuk tile dan berposisi acak. Sedangkan pada Gambar b dan c menunjukkan perubahan morfologi sel yang memanjang dan membentuk vortexes sel setelah paparan medan magnet 60 menit dan 120 menit. Gambar d, dan e menunjukkan percabangan neurites menampilkan tombol synaptic setelah paparan medan statis selama 150 menit.*

Eksposisi neurites bercabang dan meningkatnya koneksi sinaptik ini dianggap sebagai keunggulan dari plastisitas dan diferensiasi sel neuron (Cowen & Gavazzi, 1998).

### 2.7.3. Efek Orientasi Sel

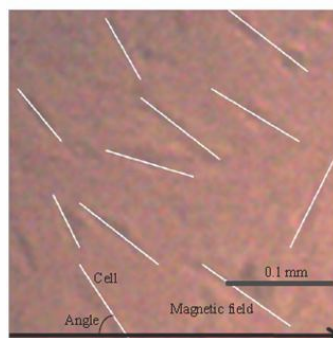
Orientasi Sel HeLa mengalami perubahan ketika dipaparkan pada medan magnet dari 6 T hingga 60 T/m pada gradient medan magnet pada aliran reversibel konveksional dengan pola distribusi sel HeLa yang menunjukkan *streamlike*-sel ke arah gradien medan magnet yang diterapkan (Iwasaka, Yamamoto, Ando, & Ueno, 2003).

Paparan magnet sebesar 0.35 T pada sel Eritrosit mengakibatkan orientasi tegak lurus eritrosit sickled terhadap medan magnet. Pada paparan medan magnet statis 1 T dan 4 T, Eritrosit berorientasi dengan plane disk sejajar dengan arah medan magnet. Efek ini terdeteksi pada 1 T dan hampir 100% memperlihatkan perubahan orientasi sel bila dipaparkan pada 4 T (Higashi, et al., 1993).

Paparan medan magnet statis 1 T juga mengakibatkan perubahan orientasi makromolekul seperti kolagen dan sel hewan *in vitro* (Torbet & Ronziere, 1984). Fibroblast kulup manusia berkolagen juga berorientasi terhadap medan magnet statis 4 T dan 4,7 T (Guide & Tranquillo, 1993), seperti halnya sel osteoblas yang juga terbukti berorientasi ke arah bawah pada paparan medan magnet statis 8 T dengan tidak adanya kolagen (Kotani, Iwasaka, & Ueno, 2000).

Orientasi akibat tingginya fluks magnet pada sel dan serat kolagen, dikonfirmasi sebagai efek dari medan magnet statis. Namun, efek ini sering bergantung pada jenis sel yang diuji dan tidak ditemukan disemua jenis sel. Sel A172 glioblastoma manusia yang tertanam dalam gel kolagen berorientasi tegak lurus terhadap arah statis medan magnet, sedangkan sel A172 yang dikultur dalam ketiadaan kolagen tidak menunjukkan adanya pola orientasi khusus setelah 7 hari terpapar medan magnet statis berkekuatan 10 T (Hirose, Nakahara, & Miyakoshi, 2003). Sakatani, Hashimoto, & Yoriki (2009) juga menunjukkan orientasi arah sel yang cenderung mengikuti arah medan magnet statis yang dipaparkan pada densitas fluks 270 mT pada Sel Myoblast Tikus.

Sakatani, Hashimoto, & Yoriki (2009), memperlihatkan hasil penelitian paparan sel sel otot pada daerah magnetik yang dirubah dari 1 hingga 4 mT pada periode 0.017 detik, cenderung memberikan arah sel menuju daerah fluks magnetik. Demikian juga pada paparan 13 mT pada periode 0.01 detik, adhesi sel sel otot pada dasar cawan kultur dipercepat dengan adanya perubahan daerah magnetik seperti yang terlihat pada gambar berikut.



**Gambar 2.17 Arah dan Derajat Orientasi Sel pada Daerah Magnet Statis**

Sumber:(Sakatani, Hashimoto, & Yoriki, 2009)

*Keterangan: Paparan daerah magnetik 13 mT pada periode 0.01 detik memperlihatkan kejelasan arah orientasi sel menuju daerah fluks magnetik. Sedangkan distribusi arah sudut pada paparan cenderung menurun dengan meningkatnya waktu paparan.*

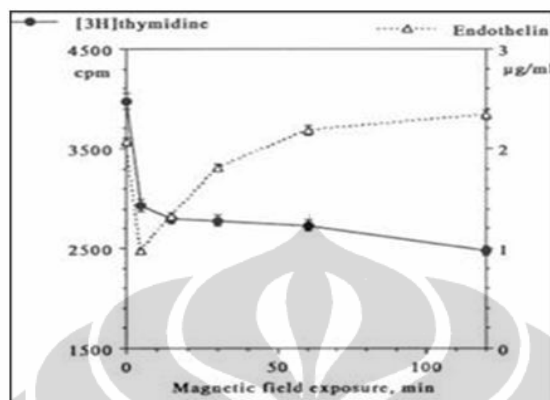
#### 2.7.4. Efek Proliferasi sel dan distribusi siklus sel

Beberapa peneliti mengamati induksi fenotipe yang dapat dibedakan pada paparan medan magnet berhubungan dengan penurunan proliferasi sel. Penghambatan proliferasi sel yang terjadi akibat paparan medan magnet, diukur sebagai penurunan penggabungan *Timidin*, yang dapat memberikan efek kerusakan sel, *apoptosis* dan / atau *nekrosis*, atau percepatan proses fisiologis seperti diferensiasi dan penuaan/*senescence*.

Sel-sel dari kultur sel FNC-B4, yang merupakan sel line kloning *Neuroblast* dengan sifat penciuman dan *Neuroendokrindari* epitel penciuman janin manusia berusia 8-12 minggu (Vannelli, 1995), memodifikasi produksi basalnya dan melepaskan *Endotelin-1* dan diikuti oleh rangsangan yang sesuai saat dipaparkan medan magnet.

Secara konsisten, Pacinia, et al. (1999) mengamati penurunan signifikan [ $^3\text{H}$ ] penggabungan timidin pada sel saraf manusia setelah terpapar daerah magnetik 0.2 T. Penghambatan proliferasi sel tampak jelas setelah 15 min terpapar pada kultur dan meningkat dengan berjalannya waktu. Hasil ini konsisten dengan pengamatan bahwa paparan daerah magnet 20 mT yang tergantung variasi waktu, menginduksi efek perkembangan pada proses diferensiasi dari sel korteks cerebellum ayam, seperti terlihat pada gambar di bawah ini (Espinar, 1997). Hasil ini

menunjukkan bahwa bahkan paparan singkat magnetik 0,2 T mempengaruhi fitur *Neuroendokrin* neuron manusia.



**Gambar 2.18 Pengaruh Magnet Statis pada Thymidin dan Endothelin**

Sumber : Espinar, 1997

*Keterangan: Pelepasan Endotelin-1 menunjukkan respon biphasic yaitu penurunan tajam setelah 5 menit paparan, diikuti oleh peningkatan puncak moderat pada 120 menit pemaparan.*

Clejan (1996) meneliti efek daerah elektromagnetik yang dipaparkan dan memperlihatkan perubahan yang cepat dalam lipid messenger kedua dengan pergeseran pada beberapa pola spesies molekul *Diasilgliserol* dan *Phosphatidate* yang dapat dikorelasikan dengan penurunan *Phosphatidylinositol*. Sedangkan Pacinia, et al., (1999) meneliti efek daerah magnetik statis pada pembentukan *Inositol fosfat* dan *Diasilgliserol* pada sel saraf manusia dengan paparan selama 15 menit pada densitas fluks 0,2 T. *Immunophenotypik* penanda seperti *Vimentin* dan *Neurolamen* terdeteksi oleh *Fluorescence immuno*, serta pelepasan *Endotelin-1* setelah terpapar daerah statis magnet juga dievaluasi oleh *Radioimmunoassay*. Hasil dari pengamatan mikroskop elektron dan dari pengukuran *Endotelin-1* menunjukkan paparan 0,2 T magnetik terlibat dengan diferensiasi dan penuaan/*senescence* dibandingkan dengan *apoptosis* dan *nekrosis*. Hasil juga menunjukkan penurunan pembentukan *second messenger* (Tabel 2.1), yaitu pengurangan *Inositol fosfat* dan *Diasilgliserol* yang dapat ditafsirkan sebagai penghambatan sinyal transmembran terkait dengan penurunan sintesis DNA dan pelepasan *Endotelin-1*. Perubahan dalam formasi messenger kedua dapat

mengubah respon sel terhadap rangsangan lingkungan dengan konsekuensi yang masih belum diketahui. Sedangkan Sel non-saraf tidak menunjukkan perubahan atau penggabungan *Timidin* atau produksi *second messenger* setelah dipaparkan daerah magnetik.

**Tabel 2.1 Pembentukan [<sup>3</sup>H]Diacylglycerol dan [<sup>3</sup>H]Inositol Fosfat setelah paparan Medan Magnet pada Sel Neuron FNC-B4**

	[ <sup>3</sup> H] diacylglycerol	[ <sup>3</sup> H]inositol phosphates
<b>Control (Sham exposed)</b>	<b>365 ±27</b>	<b>7692±381</b>
<b>0.2 T Magnetic Field</b>	<b>137 ±12</b>	<b>5384±212</b>

Sumber:(Pacina, et al., 1999)

Namun kontradiksi hasil ini juga ditunjukkan pada beberapa penelitian seperti Nakahara, Yaguchi, Yoshida, & Miyakoshi, (2002) yang menunjukkan aktifitas *Clonogenic*, sintesis DNA, siklus sel, dan kinetika proliferasi tidak mengalami perubahan saat terpaparkan daerah magnet dan paparan berulang terhadap medan magnet statis terhadap sel fibroblast paru paru janin manusia sampai dengan daerah medan magnet statis 10T. Analisis terhadap siklus sel disinkronkan dan sel *nonsynchronized fibroblast* paru janin manusia (HFLFs) juga tidak mengungkapkan perbedaan statistik yang signifikan antara sel terkena paparan medan magnet dan sel kontrol selama 5 hari berturut dengan besaran paparan 0,2 T ; 1 T dan 1,5 T dan frekuensi paparan 1 jam per hari.(Wiskirchen, et al., 2000).

Penghambatan pertumbuhan sel baris tumor manusia pada paparan medan magnet statis in vitro baru terlihat setelah dilakukan paparan terus menerus pada besaran kerapatan magnet 7 T selama lebih dari satu bulan lamanya (Raylman, Clavo, & Wahl, 1996).

Hasil penelitian pada sel punca Mesenkim asal sumsum tulang Tikus yang dilakukan oleh Tsai, Chang, Hou, & Wu (2009), menunjukkan bahwa sel magnet masih memiliki kemampuan multipoten untuk berdiferensiasi 50, 500, dan 1000 kali lebih tinggi setelah stimulasi pada daerah pulsa elektromagnetik pada tiga densitas yang berbeda yaitu 1,3 G; 2.4 G dan 3.2 G setelah dipaparkan 2 jam

per hari selama 14 hari berturut turut. Hasil penelitian yang dilakukan ini memperlihatkan proliferasi sel punca Mesenkim dipertahankan pada proliferasi lebih tinggi daripada kontrol yang tidak dipaparkan. Sedangkan efek stimulasi pulsa elektromagnetik pada 2.4 G dan 3.2 G memperlihatkan hambatan viabilitas sel Mesenkim, terutama pada densitas fluks 3.2 G.

#### **2.7.5. Efek Osmolaritas**

Paparan medan magnet juga dihipotesa meningkatkan osmolaritas seiring dengan teori bahwa penurunan proliferasi berhubungan dengan meningkatnya osmolaritas (Stange & Rowland, 2002).

#### **2.7.6. Efek Medan Magnet pada Regulasi pH Selular**

Efek pemaparan medan magnet juga diperkirakan memberikan penurunan nilai pH larutan sel. Seperti yang diamati oleh Philips (2010), pada pertumbuhan Bakteri yang dipaparkan medan magnet, penurunan pH menyebabkan kematian akibat berubahnya lingkungan hidup dengan tingkat keasaman yang lebih rendah atau pH yg lebih rendah dari lingkungan normalnya.

#### **2.7.7. Efek Medan Magnet pada Transportasi Ion Membran Sel**

Apakah medan listrik dan magnetik dapat mempengaruhi sistem biologi, dan bagaimana menyelidiki tanggapan sel untuk medan listrik dan magnet?. Sampai saat ini, mekanisme interaksi antara medan listrik atau magnet dan sistem seluler masih belum jelas terdeskripsi (Zhadin & Barnes, 2005).

Banyak teori dan data eksperimen menunjukkan bahwa medan listrik dan magnetik bertindak pada membran plasma melalui media interaksi, yang mempengaruhi aktivitas enzim dan jalur sinyal transduksi Gobba & Malagoli, 2003), (Koch, 2003).

Seperti yang diketahui, arah aliran ion melalui saluran protein dipengaruhi oleh potensial listrik dan kimia pada membran sel. Jika sel ditempatkan dalam lingkungan dengan daerah kelistrikan, maka potensi

listrik membran seluler akan terpengaruh. Kehadiran medan magnet yang kuat akan mempengaruhi lingkungan itu. Potensi ini akan mengalahkan semua potensi yang ada pada sel, dan menjadikannya tidak memiliki kontrol lagi atas pergerakan ion saat melintasi membran (Gaafar, Hanafy, Tohamy, & Ibrahim, 2006).

Namun hingga saat ini, tidak ada mekanisme yang berlaku umum untuk menjelaskan tindakan medan magnet lemah pada sel-sel. Frekuensi rendah medan listrik tidak dapat menembus membran sel karena membran plasma lipid berfungsi sebagai isolator listrik pada frekuensi rendah. Adanya medan magnet di lingkungan sel mengarahkan hipotesa bahwa sel dan medium dapat menyimpan medan magnet untuk berpenetrasi melalui membran sel dan media ekstraseluler dalam percobaan. Sehingga medan magnet frekuensi rendah umumnya dapat menembus membran sel *in vitro* (Yao & Sun, 2004). Namun investigasi lebih lanjut sangat diperlukan untuk memahami kemungkinan mekanisme interaksi sel dan medan magnet.

#### **2.7.8. Efek Medan Magnet pada Transportasi Ion Kalium dan Natrium**

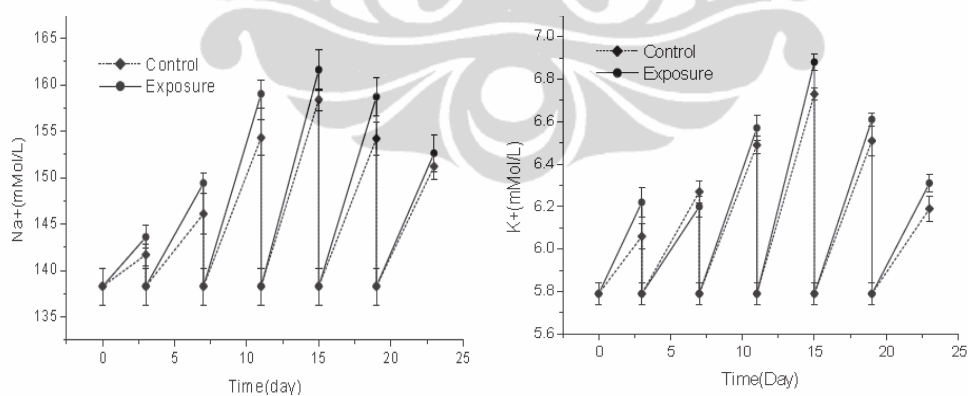
Miyamoto, Yamaguchi, Ikehara, & Kinouchi (1996), menganalogikan *Red Blood Cell (RBC)* atau sel darah merah dalam sel HeLa sebagai pengganti ion untuk mengamati metabolisme seluler yang sebagian dikendalikan oleh masuknya sel darah merah dalam percobaan seluler ini. Paparan medan magnet teramati tidak berpengaruh terhadap influx sel darah merah, baik secara aktif atau pasif ke dalam membrane sel HeLa. Namun paparan medan magnet pada sel HeLa yang diaktifkan secara intermitten/periodik sebesar 1,7 T menyebabkan penghambatan parsial dan signifikan dari masuknya/influx  $K^+$ . Penghambatan masuknya  $K^+$  disebabkan paparan menginduksi secara langsung dan/atau menghambat secara tak langsung aktivitas saluran  $K^+$  (Toshitaka & Park, 2000).

Metode patch-clamp yang digunakan untuk mengukur aliran atau arus  $Na^+$  dan arus  $K^+$  dalam trans membran sel neuroblastoma, juga tidak



menimbulkan perubahan dalam salah satu parameter potensial aksi yang dipilih dalam penelitian Sel Neuroblastoma SH-Sy5Y yang dipaparkan pada Magnet statis 0,1; 0,5; dan 7,5 mT oleh Sonnier, Kolomytkin, & Marino (2003). Namun ada sedikit pergeseran dalam hubungan arus-tegangan dan penurunan kurang dari 5% dalam arus puncak saat terpapar medan magnet dalam tegangan saluran  $\text{Na}^+$  yang diaktifkan saat terjadi proliferasi (perkembangbiakan) pada sel GH3 yang terpaparkan medan magnet 125 mT (Rosen, 2003).

Penelitian terhadap hal ini berlanjut dengan eksperimen untuk melihat pengaruh medan magnetik frekuensi rendah pada sel punca Mesenkim manusia oleh Pacinia, et al. (1999). Percobaan melihat pengaruh medan magnet melalui konsentrasi ion bebas  $\text{Na}^+$  dan konsentrasi ion  $\text{K}^+$  pada supernatan dengan paparan medan magnet 20 mT secara sinusoidal kontinu pada frekuensi 50 Hz selama 23 hari. Hasil penelitian menunjukkan bahwa medan magnet memiliki efek pada konsentrasi ion sel dan osmolaritas, yang menunjukkan bahwa medan magnet dapat menghambat pertumbuhan Sel Mesenkim atau mengakibatkan penghambatan proliferasi Sel Mesenkim.



**Gambar 2.19 Pengaruh medan magnet pada Konsentrasi ion  $\text{Na}^+$  (Kiri) dan ion  $\text{K}^+$  (Kanan) terhadap Waktu paparan Sel Mesenkim**

Sumber:(Pacini, et al., 2003)

*Keterangan : Efek medan elektromagnetik pada 20mT, 50 Hz, pada konsentrasi  $\text{Na}^+$  dan  $\text{K}^+$  pada supernatan Sel Mesenkim dengan data point yang diplot sebagai  $M \pm SD$  ( $n = 6$ ).  $P < 0.05$ . Konsentrasi  $\text{Na}^+$  dan  $\text{K}^+$  meningkat seiring waktu dan pada kelompok paparan memiliki nilai yang lebih tinggi daripada kelompok kontrol.*

Riset juga menunjukkan bahwa paparan medan elektromagnetik mempercepat reaksi  $\text{Na}^+$ , dan K-ATPase. Efek ini terjadi karena interaksi antara medan magnet yang berubah terhadap waktu pada ion intraselular.

## 2.8. Efek Daerah Magnet pada Mikroba (Bakteri, Jamur dan Ragi)

Bakteri adalah organisme bersel tunggal yang dikelilingi oleh membran-phospholipid. Membran ini mengandung organel organel sel dan penggerak selular. Pemisahan ion-ion melewati dinding sel bakteri sangat penting dan dipertahankan oleh membran impermeablephospholid.

Pemaparan efek medan magnet terhadap sel hidup mikroba dalam beberapa studi literatur juga menunjukkan pertentangan satu sama lain. Beberapa peneliti memaparkan adanya efek penghambatan populasi mikroba, sementara peneliti lain memaparkan tidak ada pengaruh terhadapnya. Paparan medan magnet juga diperkirakan mempengaruhi efek biologis bakteri. (Philips, 2010).

Penelitian efek biologis pada medan magnetik frekuensi rendah yang dihasilkan kumparan silinder transformator koil dengan arus 1,9 A, frekuensi 50Hz dan area 2.7-10 mT selama 30 menit terhadap Bakteri *Escherichia coli*, *Adecarboxyla Leclercia* dan *Staphylococcus aureus* menunjukkan penurunan Viabilitas sel terhadap meningkatnya waktu dan induksi, dan dimulai segera setelah medan magnet diaktifkan (Fojt, Ludek, Vetter, & Smarda, 2004).

Penelitian menggunakan garis flux magnetik pada membran sel Gram negatif dan Gram positif untuk pengolahan air terkontaminasi menunjukkan tidak ada bukti hidup jaringan ketika permanen magnet Nd-Fe-B dengan kerapatan Fluks 3200 dan 1200 Gauss dipenetrasi (Nasher & Hussein, 2008). Studi lain menunjukkan medan magnet tahanan listrik tinggi dengan pulsa osilasi berdensitas fluks 2-50 T selama 25 detik memiliki efek penghambatan populasi mikroba pada beberapa jenis makanan (Lipiec, Janas, & Barabas, 2004). Bakteri *Eevina Carotovora* dan *Streptomyces* terlihat lebih sensitif pada efek osilasi pulsa medan magnet. Penelitian terhadap kultur ragi *Saccharomyces Cereviase* dalam medan magnet berfrekuensi 50 Hz, paparan 10 mT selama kurang dari 30 menit menunjukkan terjadinya hambatan dan membunuh sebagian ragi. Tingkat proliferasi ragi menurun setelah 16 jam inkubasi. Perubahan proses transportasi

gas magnetis, tekanan hidrostatik, distribusi sedimentasi pada sistem pernafasan raga juga menurun dengan adanya efek magnetik (Novak, Strasak, Fojt, Slaninova, & Vetterl, 2006).

Paparan daerah magnetik juga meningkatkan resistansi bakteri pada antibiotik (Triampo, DOUNGCHAWEE, Triampo, Wong-Ekkabut, & Tang, 2004). Penelitian efek biologis frekuensi rendah pada medan elektromagnetik terhadap tiga jenis bakteri yang berbedayaitu *Escherichia Coli*, *Adecarboxylata Leclercia* dan *Staphylococcus Aureus* ke medan magnet ( $t < 30$  menit,  $B_m = 10$  mT,  $f = 50$  Hz) untuk membandingkan viabilitas mereka (jumlah unit pembentuk koloni (CFU)). Ketergantungan CFU tepat waktu paparan dan pada nilai  $B_m$  induksi medan magnet. Viabilitas menurun dengan waktu pemaparan lebih lama. Penurunan tertinggi kelangsungan hidup dan efek medan magnet terbesar diamati dengan *E. coli*. Pengaruh medan magnet terkecil muncul untuk *S. aureus*. Dari pengukuran dinamika pertumbuhan disimpulkan bahwa penurunan CFU dimulai segera setelah medan magnet diaktifkan.

Efek antimikroba dari medan magnet pulsa osilasi bukan karena pengaruh suhu, melainkan pada kemampuan untuk menyebabkan kerusakan pada sel. Studi yang dipublikasikan dalam literatur menunjukkan hasil yang bertentangan pada penghambatan mikroorganisme ketika ditempatkan dalam osilasi medan magnet.

Beberapa studi menunjukkan bahwa medan magnet yang bervariasi memiliki efek penghambatan pada populasi mikroba, sementara yang lain tidak berpengaruh catatan atau dalam beberapa kasus bahkan mempunyai efek yang merangsang atau menstimulasi pertumbuhan. Dalam satu studi, bahan makanan dengan tahanan listrik yang tinggi ditempatkan dalam kumparan magnetik di aparat dan diperlakukan dengan satu atau lebih pulsa dari osilasi medan magnet dengan densitas fluks 2 sampai sekitar 50 T, dengan waktu pemaparan dari 25 s ke beberapa ms. Pulsa tunggal medan magnet umumnya menurunkan populasi mikroba minimal 2 ukuran magnitudo (Pothakamary et al, 1993;. Ray, 2001;. Gerencser et al, 1962; Moore, 1979; Tsuchiya et al., 1996; Van Nostran et al, 1967).

## **BAB 3**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **3.1 Desain Penelitian**

Penelitian ini merupakan studi eksperimen dan observasional atau pengamatan langsung terhadap kultur sel yang diteliti dengan paparan magnet statis melalui rancangan eksperimen atau percobaan, dan perhitungan parameter juga dilakukan secara langsung oleh peneliti.

Penelitian ini difokuskan pada dua hal yaitu :

- Melakukan paparan efek medan magnet pada kultur sel untuk melihat pengaruh efek percepatan pertumbuhan sel.
- Membandingkan kultur sel dengan paparan medan magnet pada sel otak tikus dan sel punca mesokim hasil darah tepi manusia dengan kultur tanpa paparan medan magnet.

Desain penelitian ini adalah eksperimental bersifat komparatif dengan pengamatan dan pengukuran pada kelompok kultur sel yang tidak dipaparkan dan kelompok paparan yang divariasikan terhadap rancangan dan waktu.

Penelitian ini terdiri dari beberapa tahapan yaitu :

- Penentuan karakteristik material magnet
- Penentuan besaran densitas fluks magnet
- Perancangan pemaparan medan magnet
- Konstruksi pemaparan
- Pemaparan pada sel otak tikus, dan
- Pemaparan pada sel punca Mesenchymal asal darah tepi, serta
- Pengukuran, Pengumpulan dan Analisa data.

#### **3.2 Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian dilaksanakan mulai bulan Januari sampai dengan Mei 2011 mengambil tempat di Laboratorium Kultur Sel Kimia Farma, Jalan Garuda 3 Jakarta, dan Laboratorium Fisika Lanjut, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Kampus Depok, Universitas Indonesia.

**Tabel 3.1 Jadwal Kegiatan Penelitian**

No	Kegiatan	Bulan/ 2010-2011						
		Des	Jan	Feb	Mar	Apr	Mei	Jun
1.	Studi pustaka	√	√	√	√	√	√	√
2.	Persiapan alat-alat dan bahan penelitian		√	√	√	√		
3.	Penelitian			√	√	√	√	
4.	Penulisan Laporan Kemajuan Riset					√	√	
5.	Penulisan Laporan Akhir				√	√	√	√

### 3.3 Kerangka Operasional Penelitian

Dengan adanya hasil dari beberapa penelitian sebelumnya yang menunjukkan adanya pengaruh proses pertumbuhan maupun proliferasi sel dan perubahan besaran kontaminasi mikroba pada suatu sistem dengan diberikannya paparan efek magnetik di sekitar sistem tersebut, mendorong peneliti untuk mengembangkan rancangan alat dan kerja eksperimen pada laboratorium kultur yang dapat memaparkan efek magnetik pada kultur sel sehingga didapatkan sel potensial dengan waktu yang cepat dan biaya yang dapat dikurangi terhadap penggunaan media, serum, atau antibiotik.

Berdasarkan studi literatur dan data data yang telah dikumpulkan dari hasil pengukuran dan pengamatan, dapat dilakukan analisa efek paparan terhadap kultur sel yang dapat mengarahkan hasil penelitian ini terhadap keuntungan atau kerugian menggunakan paparan medan magnet untuk teknologi kultur sel dan menjadi salah satu penambah data bagi penelitian penelitian yang telah ada sebelumnya, sehingga tidak dilakukan pengulangan oleh peneliti selanjutnya.

### 3.4 Subjek Penelitian

Mengingat kurangnya konsensus mengenai efek biologis medan magnet statis, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh paparan daerah magnet statis pada kultur sel, dan penelitian difokuskan pada dua jenis subjek yaitu sel otak tikus jantan dewasa sebagai penentu rancangan paparan magnet statis

terhadap kultur sel dan sel punca Mesenkim sebagai penentu variasi waktu terhadap paparan medan magnet dengan densitas fluks yang serupa.

### **3.5 Populasi Penelitian**

Populasi penelitian ini adalah sel sel yang ditanam pada media kultur dalam cawan yaitu kultur sel otak dari jaringan hipotamus tikus yang dipaparkan pada empat jenis rancangan pemaparan, dan sel Mesenkim berasal dari darah tepi manusia dewasa yang terlebih dahulu diisolasi dan ditanam pada cawan dengan variasi waktu paparan.

### **3.6 Sampel dan Estimasi Besar Sampel**

#### **3.6.1 Sampel**

Sampel pada penelitian ini terdiri dari 2 kelompok yaitu sampel kontrol yang berfungsi menjadi data pembanding pada keadaan tanpa paparan medan magnet dan sampel untuk pengamatan yaitu kultur sel yang dipaparkan medan magnet statis. Sampel untuk sel otak berasal dari jaringan Hipotamus Tikus yang dipaparkan medan magnet setelah pasasi pertama. Selain sebagai sampel kontrol tanpa paparan, perlakuan sampel dilakukan terhadap paparan magnet statis dengan empat tipe rancangan besaran atau densitas fluks yang berbeda.

Sampel untuk sel punca Mesenkim berasal dari darah tepi manusia dewasa yang terlebih dahulu diisolasi dan dipaparkan langsung medan magnet setelah satu hari penanaman untuk menghindari stress sel pada hari pertama penanaman dengan lima variasi waktu pemaparan yang berbeda.

Cara pemilihan subjek penelitian sampel untuk sel punca Mesenkim dilakukan secara konsekutif sampling dengan subjek yang diminta datang dan memenuhi kriteria untuk pengambilan sel darah tepi.

#### **3.6.2 Estimasi Besar Sampel**

Pengambilan data untuk sel otak tikus dilakukan pada setiap pasasi dari total empat pasasi yang dilakukan, sehingga pengambilan seluruh

sampel data adalah empat kali dua cawan dengan pengukuran sebanyak tiga kali dalam setiap cawan sehingga total adalah 24 sampel.

Pada penelitian ini, sampel untuk pengukuran data sel punca Mesenkim dari subjek penelitian dikultur dengan penanaman sebanyak 2 cawan untuk setiap parameter yang diteliti. Hal ini berdasarkan penggunaan material atau bahan yang seminim mungkin dalam penelitian yang berbiaya rendah.

Pengambilan data untuk sel punca Mesenkim dilakukan setiap kali penggantian media yaitu rentang 3 hingga 4 hari dari total 28 hari penanaman, sehingga pengambilan seluruh sampel data adalah enam kali pengambilan dengan 6 parameter berbeda, dan total seluruh data adalah 36 data.

### **3.7 Kriteria Penerimaan**

Kriteria inklusi :

- Jenis Magnet yang telah ditentukan karakteristik materialnya.
- Magnet yang telah terukur besaran densitas fluksnya.
- Magnet dapat turut serta dalam proses pengkulturan dalam ruang inkubator.
- Magnet tidak terpengaruh oleh suhu  $35^{\circ}\text{C}$ - $38^{\circ}\text{C}$  dan memiliki sedikit pengaruh inkubasi dengan gas  $\text{CO}_2$  5% dan kelembaban 90%.
- Pengambilan sel darah tepi dari subjek manusia dewasa.
- Sel yang ditanam telah diisolasi terlebih dahulu dan hanya satu jenis sel dalam kultur cawan
- Kultur bebas dari kontaminasi mikroba

### **3.8 Penentuan Karakteristik Material Magnet**

Perakitan alat yang dapat membangkitkan efek daerah magnetik sekaligus mengisolasi daerah sekitar paparan agar tidak mendapatkan efek medan magnet dirancang secara sederhana dengan mempertimbangkan kriteria penerimaan, serta ruang inkubasi yang memungkinkan penggunaan material magnetik yang diperlukan untuk menciptakan daerah medan magnet. Berdasarkan hal ini, maka

ditetapkan penggunaan jenis Magnet Permanen Statis komersial Rare Earth serta pendukung rancangan dari jenis PVC Akrilik yang juga berfungsi sebagai tempat pelekatan magnet.

### 3.9 Penentuan Besaran Densitas Fluks Magnet

Peneliti Azizil & Jatendra, pada tahun 2009, memberikan prediksi kuat medan magnet untuk dapat digunakan sebagai pemicu proses diferensiasi sel punca atau sebaliknya dalam percobaan *in vitro*, dan untuk menghindari pengulangan terhadap peneliti sebelumnya yang telah melakukan percobaan sejenis, maka penggambaran prediksi kekuatan magnet pada percobaan *in vitro* dirangkum sebagai berikut:

- Densitas Fluks Magnet yang dapat mempengaruhi diferensiasi sel punca berada antara  $600\mu\text{T}$  dan  $9.4\text{T}$
- Diferensiasi sel tidak akan terjadi dengan densitas fluks kurang dari  $10\mu\text{T}$ .
- Densitas Fluks lebih dari  $12\text{T}$  akan menyebabkan kematian punca sel.
- Batas efek densitas fluksmagnet terhadap diferensiasi sel punca terletak diantara  $10\mu\text{T}$  dan  $600\mu\text{T}$ .
- Batas densitas fluks Magnet yang dapat menyebabkan kematian sel-sel punca terletak di antara  $9,4\text{T}$  dan  $12\text{T}$ .

Berdasarkan hasil rangkuman di atas dan juga terutama berdasarkan ketersediaan magnet statis komersial di Jakarta, maka penelitian ini menggunakan Magnet Statis berdimensi Plate dan Disk dalam rentang  $100\text{ mT}$  hingga  $500\text{ mT}$ .

Densitas Fluks magnet diukur melalui alat Gauss meter yang ada pada Laboratorium Fisika Lanjut Universitas Indonesia. Saat perhitungan awal, medan magnet terukur menunjukkan densitas fluks rata-rata berkisar  $200\text{ mT}$  untuk magnet disk dan satu jenis magnet plate, dan  $400\text{ mT}$  untuk jenis magnet plate lainnya, namun mengalami penurunan saat ditempatkan pada ruang inkubator selama proses kulturisasi, seperti yang dijabarkan pada Sub Bab 4.5

Pengukuran dan perhitungan besaran densitas fluks medan magnet dilakukan terhadap jarak sesuai teori medan magnet Maxwell, seperti hasil perhitungan pada sub bab 4.2, sehingga didapatkan jarak pemisah tepi-ke-tepi



cawan kultur yang tidak dapat mempengaruhi daerah lain yang berdekatan dengan daerah paparan.

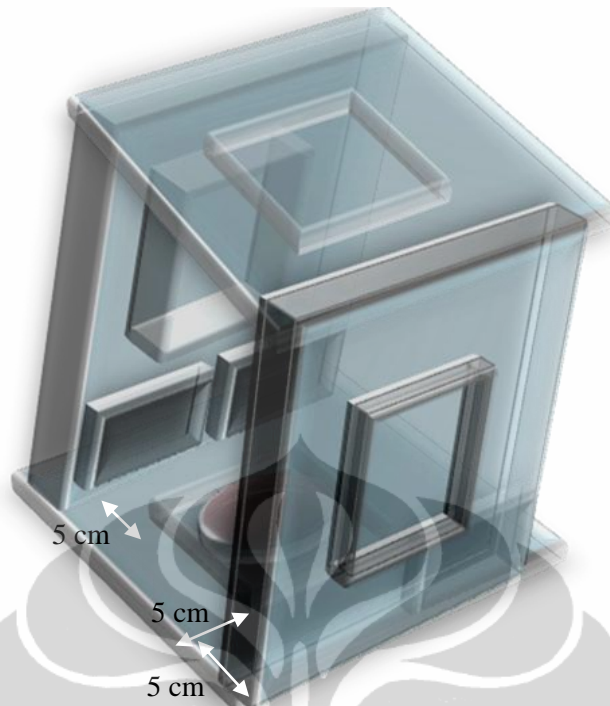
### **3.10 Rancangan Pemaparan Medan Magnet**

Pengerjaan perancangan alat meliputi:

- Perancangan alat yang dapat membangkitkan efek daerah magnetik sekaligus mengisolasi daerah sekitar paparan yang tidak ingin mendapatkan efek medan magnet dengan rancangan sederhana memenuhi kriteria penerimaan, dalam hal ini ditetapkan penggunaan Magnet Permanen Statis tersedia di Jakarta.
- Perancangan alat magnet meliputi perancangan bentuk, konstruksi, ukuran, jenis magnet serta besaran magnitudo magnet yang akan digunakan.
- Perancangan awal sel otak dilakukan dengan variasi rancangan dan besaran densitas fluks daerah magnetik yang dipaparkan untuk melihat efek pemaparan terhadap perilaku sel dan proses proliferasi, selanjutnya melalui sel Mesenkim darah tepi dilakukan berdasarkan penentuan parameter variasi waktu paparan yang terukur.

### **3.11 Konstruksi Pemaparan**

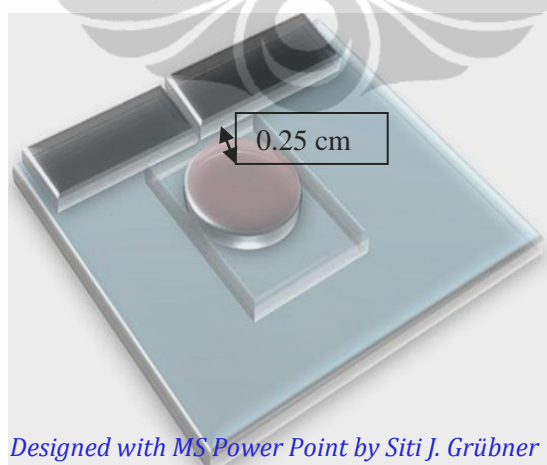
Beberapa desain yang dirancang untuk pemaparan magnet pada cawan kultur dibahas di bawah ini. Sedangkan cawan kontrol tanpa paparan medan magnet ditempatkan dalam ruang inkubator yang sama berdasarkan batasan perhitungan dan pengukuran jarak yang dilakukan sebelumnya. Berikut adalah empat rancangan alat pemaparan medan magnet yang dicobakan pada kultur sel otak tikus:



*Designed with MS Power Point by Siti J. Grübner*

### **Gambar 3.1 Rancangan Pertama Paparan Magnet Plat pada Cawan**

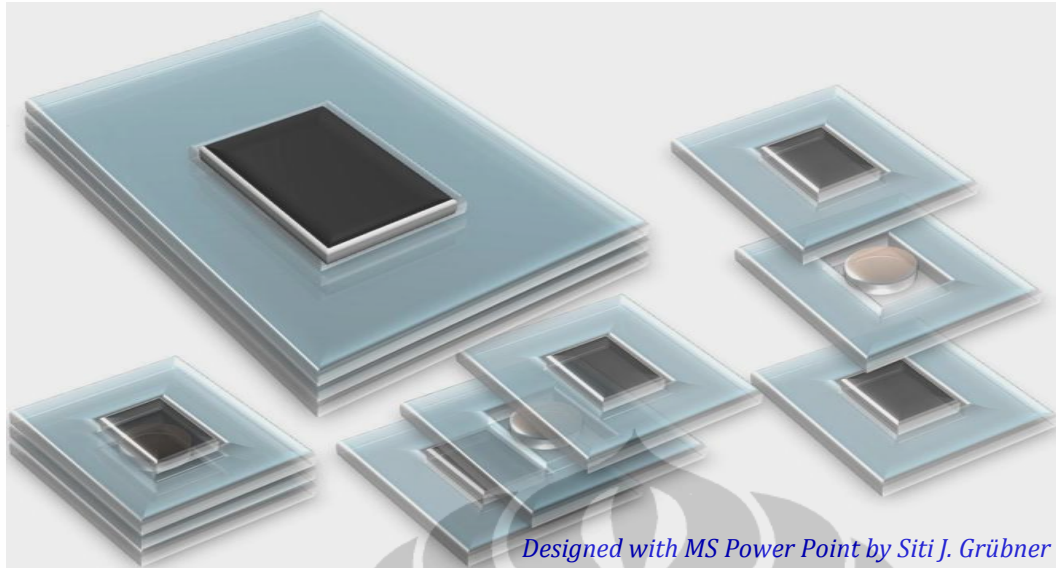
*Keterangan: Representasi diagram dari penempatan magnet dan distribusi fluks magnet pada kultur. Cawan kultur yang dikenakan paparan berada pada bagian bawah rancangan dan 4 buah magnet statis plate dengan densitas fluks 200 mT ditempatkan pada masing masing sisi kutub utara dan selatan cawan kultur.*



*Designed with MS Power Point by Siti J. Grübner*

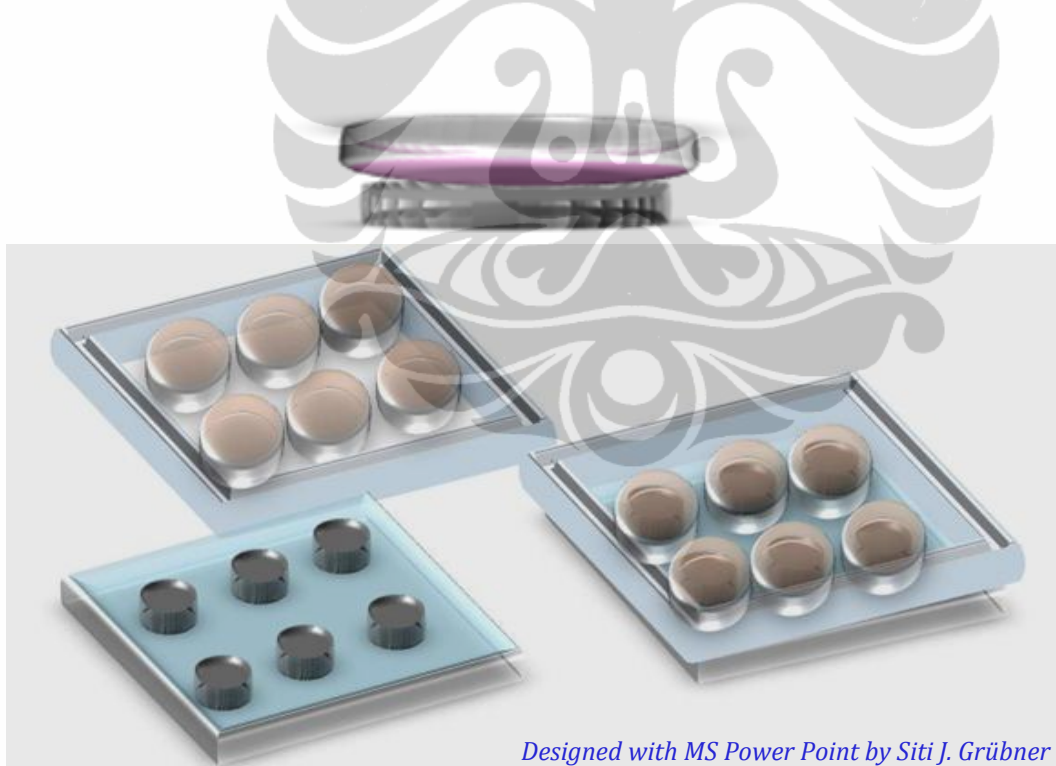
### **Gambar 3.2 Rancangan Kedua Paparan Magnet Plat pada Cawan**

*Keterangan: Rancangan lebih sederhana dengan menempatkan dua buah magnet NdFeB masing masing dengan densitas fluks sekitar 400 Gauss magnet pada sisi atas atau sisi bawah cawan kultur untuk mengekspos salah satu sisi kutub medan magnet pada kultur.*



**Gambar 3.3 Rancangan Ketiga Paparan Magnet Plat pada Cawan**

*Keterangan: Dua pasang magnet NdFeB dengan densitas fluks serupa yaitu masing masing sekitar 200 Gauss, ditempatkan dibagian bawah dan atas cawan kultur sehingga kultur tertutupi Medan Magnet.*



**Gambar 3.4 Rancangan Keempat Paparan Magnet Disk pada Cawan**

*Keterangan : Enam buah magnet disk NdFeB dengan densitas fluks serupa yaitu sekitar 200 Gauss, ditempatkan langsung dibagian bawah dari masing masing cawan kultur sehingga setiap kultur tertutupi Medan Magnet.*

### **3.12 Prosedur Pemaparan Magnet pada Kultur Sel**

#### **3.12.1 Penanaman Sel Otak Tikus**

Sel otak tikus berasal untuk penelitian awal paparan medan magnet ini merupakan hasil pasasi pertama peneliti lain dari isolasi sel sel Hipotamus Otak yang diselenggarakan dalam Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) Mix dengan 1:1 Nutrien Ham's F-12 dengan konsentrasi 10M sebanyak 2 mL, dan penambahan antibiotik 20  $\mu$ L penisilin 100 g/mL pada penanaman dengan suhu ruang inkubator 37 °C dan kelembaban 90% serta paparan CO<sub>2</sub> 5%.

Penggantian media dilakukan setiap dua hingga tiga hari sekali dengan pembuangan media lama serta penambahan media baru. Pemanenan dilakukan dengan membuang seluruh media pada cawan kultur. Kemudian Pencucian dengan larutan PBS (Phosphate Buffer saline) atau HBSS (Hank's Balanced salt solution) sebanyak dua kali masing masing 1 mL. Pelepasan sel dari cawan dilakukan menggunakan Trypsine 1mL. Kemudian penjentikan dilakukan untuk memudahkan pelepasan sel dari cawan kultur saat sebelum dan sesudah proses Inkubasi 8–10 menit. Peninaktifasi Trypsine dengan menambahkan Media DMEM12 sebanyak 1 mL, kemudian pemeriksaan mikroskop agar memastikan pelekatan sel pada cawan. Jika banyak sel melekat maka pelepasan sel diulangi sekali lagi. Selanjutnya suspensi disentrifugasi 5 menit dengan kecepatan 16 rpm. Selesai sentrifugasi, pengambilan sel supernatan terkumpul pada dasar tabung dilakukan dengan membuang larutan suspensi pada bagian atas dan sedikit larutan tersisa dijentikkan hingga sel yang melekat pada tabung terlepas. Serum media DMEM12 dengan perbandingan 1:1 ditambahkan pada sisa suspensi tabung, dan suspensi siap ditanamkan kembali setelah perhitungan sel didapatkan.

#### **3.12.2 Pemaparan Magnet Statis Pada Sel Otak Tikus**

Subyek penelitian yaitu kultur sel otak tikus dipaparkan magnet statis dalam kelompok kontrol (n=2) dan kelompok paparan (n=2) terhadap Variasi Rancangan pertama hingga keempat.

Dengan menurunnya densitas fluks daerah magnet statis terhadap kuadrat jarak, maka densitas fluks daerah magnet dihitung atau diukur dengan mempertimbangkan ketebalan cawan bagian bawah cawan petri yaitu 1,2 mm dan jarak antara cawan petri yang di simpan pada inkubator.

Pada kelompok yang dipaparkan medan magnet statis, sel-sel mengalami paparan magnet statis terus-menerus, sedangkan pada kelompok kontrol, tidak diberlakukan paparan medan magnet sama sekali. Kelompok kontrol diletakkan pada jarak saat densitas fluks medan magnet pada kelompok paparan tidak mempengaruhi lingkungan sekitarnya atau bernilai kurang dari 1 mT (hampir mendekati nol). Kedua Kelompok disimpan dalam kondisi yang sama pada ruang inkubasi yaitu pada suhu 37-38°C, Kelembaban 90% dan Paparan CO<sub>2</sub> 5%.

### **3.12.3 Isolasi dan Kultivasi Sel Mesenkim Asal Darah Tepi**

Isolasi Sel Punca Mesenkim dilakukan dengan darah dari manusia dewasa untuk mendapatkan endapan supernatan yang merupakan sumber sel punca Mesenkim. Prosedur lengkap tertera pada LAMPIRAN 2. Prosedur Isolasi Sel Punca Mesenkim.

### **3.12.4 Penggantian Media**

Penggantian media pertama setelah penanaman dilakukan pada hari ke-5, dan selanjutnya setiap 3 atau 4 hari sekali. Penggantian media dilakukan dengan membuang 1 ml media pada cawan petri dengan memakai mikropipet 1000 µl, lalu 1 ml media baru ditambahkan pada cawan kultur yaitu DMED LG dengan 20%FBS untuk sel punca Mesenkim atau DMEM-12 untuk sel otak tikus, beserta antibiotik Penisilin+Streptomisin 20 µl dan 20 µl Glutamine.

### **3.12.5 Pemaparan Magnet Statis Pada Sel Punca Mesenkim**

Subyek penelitian yaitu kultur sel Mesenkim dari darah tepi dipaparkan pada magnet statis dengan berbagai Variasi Waktu yaitu

- Kelompok Pemaparan 0 jam per hari atau Tanpa Pemaparan Sama Sekali yang merupakan Kelompok Kontrol.

- Kelompok Pemaparan 2 jam per hari
- Kelompok Pemaparan 4 jam per hari
- Kelompok Pemaparan 6 jam per hari
- Kelompok Pemaparan 18 jam per hari
- Kelompok Pemaparan 24 jam per hari atau Terus menerus

Pemaparan Magnet Statis menggunakan Rancangan ke-empat yang telah ditetapkan sebelumnya yaitu peletakan magnet di bawah cawan kultur dengandensitas fluks daerah magnet statis dihitung berdasarkan ketebalan cawan bagian bawah cawan petri yaitu 1,2 mm.

### **3.13 Penentuan Parameter Terukur**

Parameter terukur berdasarkan tinjauan pustaka terhadap efek efek magnet pada kultur sel. Percobaan awal dengan sel otak Tikus parameter ditentukan dengan mengamati morfologi sel dan perhitungan jumlah sel dalam setiap perlakuan untuk melihat efek proliferasi yang terjadi.

Percobaan selanjutnya dengan sel mesenkim darah tepi menentukan beberapa parameter yang dapat terukur yaitu:

- Pengamatan Morfologi dan Orientasi Sel
- Pengukuran pH
- Pengukuran Osmolaritas
- Pengukuran Kandungan ion Natrium, Kalium, dan Klorida dalam media kultur
- Perhitungan Jumlah sel

Pengambilan data dilakukan pada setiap pergantian media.

### **3.14 Pengukuran dan Pengumpulan Data**

Setelah masing-masing dua jenis sel yaitu sel otak tikus dan sel Mesenkim asal darah tepi dikultur, keberhasilan akan ditentukan oleh pengukuran yang dilakukan. Setelah sifat magnetik ditentukan untuk masing-masing jenis sel, dan berbagai variasi rancangan medan magnet serta variasi waktu diterapkan, serta perkembangan dan kelangsungan hidup sel diamati, maka kisaran nilai dari sifat

magnetik dari setiap jenis sel akan dibandingkan dan akan berfungsi sebagai landasan yang kuat bagi penelitian lebih lanjut.

#### **3.14.1 Pengamatan Morfologi dan Orientasi Sel**

Kultur sel diamati dan didokumentasikan dengan penggunaan mikroskop Inverted phase-contrast microscope Inverted untuk pencitraan tegas.

#### **3.14.2 Pengukuran Densitas Fluks Magnet**

Pengukuran yang dilakukan dengan menggunakan alat Gaussmeter pada Laboratorium Fisika Lanjut Universitas Indonesia.

#### **3.14.3 Pengukuran pH dan Osmolaritas**

Pengukuran dilakukan pada Laboratorium Kultur Kimia Farma, Jakarta dengan menggunakan Alat pH meter dan Osmometer.

#### **3.14.4 Pengukuran Kandungan ion $\text{Na}^+$ , $\text{K}^+$ , dan $\text{Cl}^-$**

Pengukuran dilakukan dengan menggunakan Alat Analisa Elektrolyte yang ada pada Laboratorium Analisis PT. Kimia Farma, Jakarta.

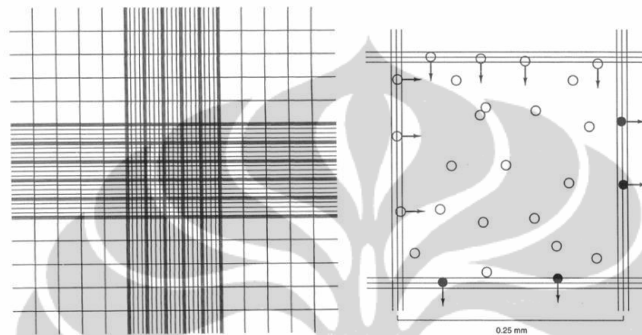
#### **3.14.5 Perhitungan Jumlah Sel dengan Hemositometer**

Perhitungan sel dilakukan pada saat pemanenan sel yaitu saat sel-sel pada cawan kultur mengalami masa konfluensi paling tidak 90% dari luas cawan kultur, yaitu sekitar 7 hari untuk sel otak tikus dan 28 hari untuk sel Mesenkim asal darah tepi. Berikut metode perhitungan sel dengan alat Hemositometer:

- Goyang perlahan suspensi sel agar merata dan, masukkan 200  $\mu\text{L}$  suspensi sel dalam tube berisi 600  $\mu\text{L}$  PBS/HBSS lalu tambahkan 200  $\mu\text{L}$  0,1% Trypan Blue dan kocok dengan membalikkan tube 3-5 kali.
- Bersihkan hemocytometer dan coverslip dengan tissue nonabrasive. Sisipkan cover slip. Tambahkan sejumlah

kecil suspensi sel (10  $\mu\text{L}$ ) pada setiap ruangan dengan pipet pasteur, menggunakan daya kapilaritas, jangan sampai berlebihan dibawah mikroskop cahaya dengan pembesaran x40-x100.

Hitung jumlah sel yang bright clear (viable) dan kebiruan (non viable) pada seluruh ruangan (1  $\text{mm}^2$ ) minimal.



Kalkulasi jumlah sel viable dan non viable dengan rumus berikut :

Rata rata jumlah sel viable	= A
Rata rata jumlah sel non-viable	= B
Faktor dilusi	= C = 5
Faktor koreksi	= $10^4$
Konsentrasi sel viable (per mL)	= A x C x D
Konsentrasi sel non-viable (per mL)	= B x C x D
Total jumlah sel viable	= [sel viable] x Vol
Total jumlah sel	= jumlah sel viable + Jumlah sel non viable
Persentase viabilitas	= (Jumlah sel viable x 100)/ total jumlah sel

Pada percobaan awal yaitu kulturisasi sel otak tikus, perhitungan hasil antara rancangan bangun yang dibuat, dibandingkan satu sama lain. Peningkatan besaran kerapatan Fluk magnetik dianalisa untuk mengetahui hingga besaran nilai tertentu terjadi percepatan pertumbuhan sel dan penghilangan kontaminasi serta memperhatikan efek efek lain yang



mungkin terjadi dengan adanya paparan daerah magnetik di lingkungan sekitar kultur sel.

### **3.14.6 Perhitungan Jumlah Sel dengan program MATLAB**

Data yang diambil berdasarkan jumlah sel yang berasal dari perhitungan dengan menggunakan hemositometer memerlukan pasasi pada setiap pengerjaannya. Namun dalam pengamatan tanpa pasasi, tidak dimungkinkan untuk menghitung jumlah sel dengan alat hemositometer.

Berdasarkan hal ini, peneliti mencoba merangkai dan menjalankan prinsip prinsip Pencitraan Medis untuk diterapkan dalam menghitung jumlah sel berdasarkan analisa morfologi sel dalam citra yang dikumpulkan dari penyimpanan citra langsung sel pada cawan kultur dengan Mikroskop Inverted Axio Scope, melalui perangkaian program dengan software MATLAB.

Pada setiap sampel yaitu kelompok cawan kontrol dan kelompok cawan paparan diambil pencitraan pada seluruh cawan dengan 5 atau 10 kali pembesaran. Pengambilan citra dilakukan pada setiap penggantian media pada kedua kelompok sampel. Data efisiensi proses kultur didapat dengan membandingkan data jumlah sel yang dipaparkan terhadap waktu dan jumlah selkelompok kontrol tanpa paparan dengan menghitung jumlah sel terhadap hari (waktu) hingga mencapai konfluensi kultur sel yang siap dipasasi. Pengamatan juga dilakukan terhadap efek efek lain seperti pH, Osmolaritas, morfologi, orientasi, atau kontaminasi pada sel kultur, untuk mendapatkan efisiensi parameter pada kulturisasi sel.

### **3.14.7 Pengolahan dan Analisa Data**

Nilai numerik dinyatakan sebagai rata rata + SD,  $n = 2$  per kelompok. Dalam studi awal dengan penanaman otak tikus, empat percobaan dengan empat rancangan berbeda dilakukan untuk setiap percobaan. Perbedaan statistik antara kelompok-kelompok eksperimental dievaluasi dengan analisis varian dilanjutkan dengan uji Anova dan F Test; nilai  $p < 0,05$  dianggap signifikan secara statistik.

Data statistik dapat dipresentasikan sebagai rata rata dari standar deviasi. Test-F digunakan untuk menganalisa hasil perhitungan hemositometer dan MatLAB. Analisa perbedaan dengan nilai F ( $0 < F < 1$ ) dipertimbangkan untuk mengvalidasi hasil. Hasil pengolahan dilakukan dengan Analisa Data dari Microsoft Excel 2007.



## BAB 4

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian ini didasarkan pada urutan pengerjaan penelitian seperti yang tercantum pada diagram konsep penelitian.

#### 4.1 Permanen Magnet NdFeB

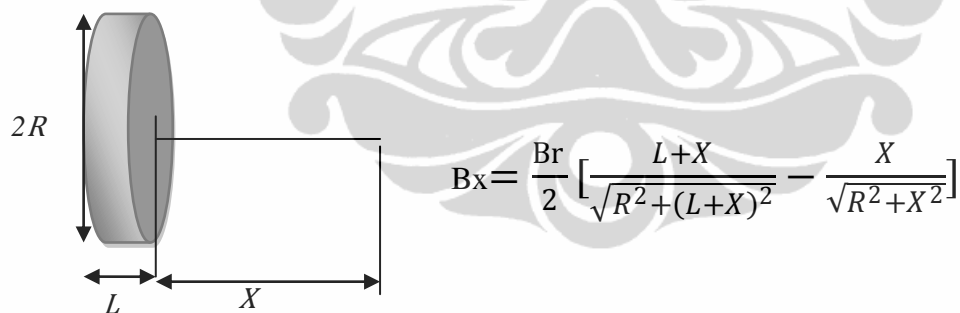
Pada penelitian ini Permanen magnet dengan sifat magnetisnya yang bertahan lama dan sifat bahan Feromagnetik digunakan karena kemudahan mendapatkannya. Permanen magnet komersial yang dikenal dengan istilah “*Rare Earth* (merupakan bagian dari unsur material bumi yang tertera pada tabel periodik)”, diantaranya Keramik, Samarium Cobalt (SmCo), Aluminium Nikel Cobalt (Alnico), Neodymium-Iron-Boron (NdFeB), Titanium Cobalt Nikel Aluminium (Ticonal), dan Magnet permanen flexible. Penelitian ini menggunakan permanen magnet NdFeB yang biasanya dilapisi oleh logam lain seperti nikel, perak atau emas, untuk menghindari adanya korosi atau karat. Permanen magnet NdFeB ini merupakan magnet terkuat yang ada di dunia ini.

Magnet *Rare-Earth* NdFeB ini juga lebih stabil dalam pengukuran densitas fluksnya, dan berdensitas fluks terbesar dibanding pada jenis material lain, selain juga tidak memerlukan penangangan khusus dibanding jenis magnet pulsa berosilasi, yang menjadi kendala dalam penempatannya pada proses penanaman sel karena tidak tersedianya ruang inkubator yang dilengkapi dengan sambungan saluran listrik AC dan juga penggunaan ruang inkubator secara bersamaan dengan peneliti lain sehingga ruangan tidak mencukupi bila rancangan pemaparan medan magnet menggunakan saluran listrik DC untuk mendapatkan medan magnet yang ditimbulkan dari hasil arus listrik pulsa berosilasi atau membangkitkan medan elektromagnetik serta mempengaruhi kultur peneliti lain. Magnet Neodymium Iron Boron memiliki keterbatasan temperatur operasi pada 176°F (80°C), sehingga penggunaannya pada suhu 37-38°C dalam ruang inkubator tidak mempengaruhi sifat kemagnetan material ini. Selama tidak mengalami kerusakan fisik atau beroperasi dalam standar yang ditetapkan, magnet ini tidak mudah mengalami kehilangan magnetismenya.

Untuk dimensi Magnet yang digunakan, peneliti memilih dua dimensi disk dan magnet batang atau plat dibanding jenis dimensi lainnya seperti tapak kuda, silinder/rod, dan ring untuk memudahkan penempatannya pada lingkungan di sekitar cawan kultur. Tipe material berdimensi disk (bundar) dan batangan (plat) juga didasarkan pada kemudahan mendapatkan magnet permanen statis komersial di Jakarta, tanpa perlu memasok dari negara atau daerah lain, juga dimensi magnet plat dengan ukuran 19.7 x 7.9 x 4 mm dan 40 x 7 x 5.6 mm, mudah dalam perancangan dan penempatannya di lingkungan sekitar kultur. Sedangkan Magnet statis berdimensi disk dengan diameter 25 mm disesuaikan dengan penempatannya pada cawan kultur sel berdimensi bulat dengan diameter 35 mm.

#### 4.2 Perhitungan Densitas Fluks Magnet Disk terhadap Jarak Pusat Magnet

Pada material magnet seperti NdFeB, sangat memungkinkan untuk menghitung densitas fluks pada suatu jarak  $X$  dari permukaan kutub, saat diperhitungkan  $X=0$  pada titik pusat kutub. Berikut adalah perumusan dan perhitungan densitas fluks terhadap jarak untuk magnet berbentuk disk.

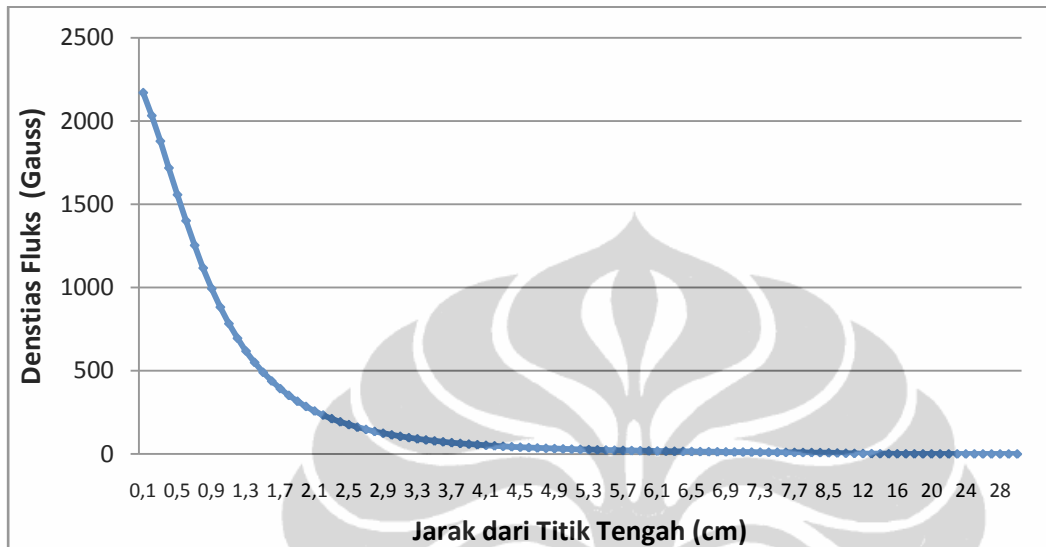


Hasil perhitungan magnet disk permanen yang digunakan pada penelitian ini berdiameter 2.5 cm dengan nilai Densitas Fluk Residual ( $B_r$ ) yang ditetapkan sebesar 12300 Gauss, sehingga hasil perhitungan pada jarak yang ditentukan dengan memperhitungkan dimensi jari jari atau  $R= 1.25$  cm, Ketebalan  $L = 0.5$  cm dan Nilai  $B_r = 12300$  Gauss, adalah pada tabel berikut ini:

**Tabel 4.1 Densitas Fluks terhadap Jarak pada Magnet Disk**

Jarak (cm)	Bx (Gauss)	Jarak (cm)	Bx (Gauss)	Jarak (cm)	Bx (Gauss)
0.1	2170.86	3.6	72.93	7.1	11.62
0.2	2033.27	3.7	68.00	7.2	11.17
0.3	1879.94	3.8	63.49	7.3	10.74
0.4	1719.10	3.9	59.37	7.4	10.34
0.5	1557.82	4.0	55.58	7.5	9.95
0.6	1401.57	4.1	52.11	7.6	9.58
0.7	1254.16	4.2	48.91	7.7	9.24
0.8	1117.94	4.3	45.97	7.8	8.90
0.9	994.04	4.4	43.25	7.9	8.59
1	882.69	4.5	40.74	8.0	8.28
1.1	783.49	4.6	38.42	8.5	6.97
1.2	695.68	4.7	36.27	9.0	5.92
1.3	618.30	4.8	34.27	9.5	5.07
1.4	550.30	4.9	32.42	10	4.37
1.5	490.63	5.0	30.69	11	3.32
1.6	438.30	5.1	29.08	12	2.58
1.7	392.40	5.2	27.59	13	2.04
1.8	352.12	5.3	26.19	14	1.64
1.9	316.71	5.4	24.88	15	1.34
2	285.54	5.5	23.66	16	1.11
2.1	258.05	5.6	22.52	17	0.93
2.2	233.76	5.7	21.45	18	0.79
2.3	212.26	5.8	20.44	19	0.67
2.4	193.17	5.9	19.50	20	0.58
2.5	176.20	6.0	18.61	21	0.50
2.6	161.06	6.1	17.78	22	0.43
2.7	147.54	6.2	16.99	23	0.38
2.8	135.43	6.3	16.25	24	0.34
2.9	124.56	6.4	15.55	25	0.30
3	114.79	6.5	14.89	26	0.26
3.1	105.98	6.6	14.27	27	0.24
3.2	98.02	6.7	13.68	28	0.21
3.3	90.81	6.8	13.12	29	0.19
3.4	84.28	6.9	12.59	30	0.17
3.5	78.34	7.0	12.09		

Grafik jarak terhadap Densitas Fluks digambarkan dalam persamaan Eksponensial sebagai berikut:



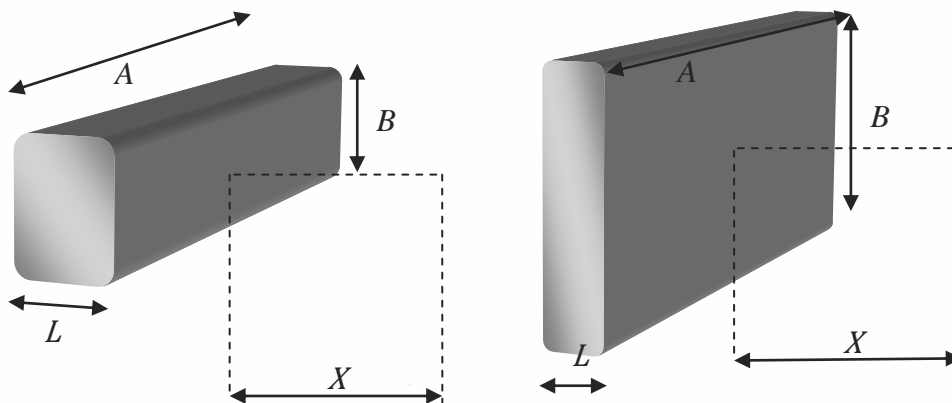
**Gambar 4.1 Grafik Densitas Fluks Terhadap Jarak pada Magnet Disk**

*Keterangan: Densitas fluks semakin menurun terhadap jarak pusat magnet dan mulai mendekati nilai 0 pada jarak sekitar 15-20 cm.*

#### 4.3 Perhitungan Densitas Fluks Magnet Plate terhadap Jarak Pusat Magnet

Perhitungan Densitas Fluks terhadap jarak untuk magnet plat yang digunakan pada penelitian ini mengacu pada perumusan:

$$B_x = \frac{B_r}{\pi} \left( \tan^{-1} \frac{AB}{2X\sqrt{4X^2+A^2+B^2}} - \tan^{-1} \frac{AB}{2(L+X)\sqrt{4(L+X)^2+A^2+B^2}} \right)$$



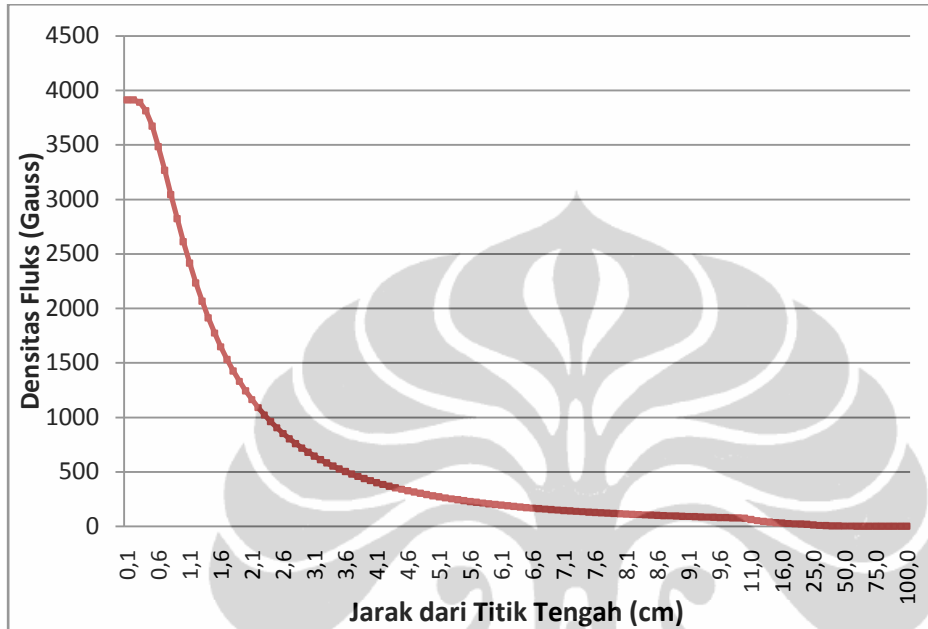
Hasil perhitungan magnet plat permanen NdFeB tipe pertama yang digunakan pada penelitian ini berdimensi lebar  $A=4$  cm dengan ketebalan  $L=0.79$  cm dan panjang  $B=1.97$  cm dengan nilai Densitas Fluk Residual (Br) yang ditetapkan sebesar 12300 Gauss, sehingga hasil perhitungan pada jarak yang ditentukan adalah pada tabel berikut:

**Tabel 4.2 Densitas Fluks terhadap Jarak pada Magnet Plat1**

Jarak (cm)	Bx (Gauss)	Jarak (cm)	Bx (Gauss)	Jarak (cm)	Bx (Gauss)
0.1	3914.5	3.6	503.1	7.1	145.9
0.2	3913.4	3.7	480.1	7.2	142.0
0.3	3891.8	3.8	458.5	7.3	138.3
0.4	3814.7	3.9	438.3	7.4	134.8
0.5	3673.5	4.0	419.4	7.5	131.4
0.6	3484.2	4.1	401.6	7.6	128.1
0.7	3268.7	4.2	384.9	7.7	124.9
0.8	3044.6	4.3	369.2	7.8	121.8
0.9	2823.8	4.4	354.3	7.9	118.9
1.0	2613.1	4.5	340.4	8.0	116.0
1.1	2415.9	4.6	327.2	8.5	103.2
1.2	2233.7	4.7	314.7	9.0	92.4
1.3	2066.4	4.8	302.9	9.5	83.2
1.4	1913.6	4.9	291.8	10.0	75.3
1.5	1774.2	5.0	281.2	11.0	62.5
1.6	1647.3	5.1	271.2	12.0	52.6
1.7	1531.8	5.2	261.7	13.0	45.0
1.8	1426.5	5.3	252.7	14.0	38.9
1.9	1330.5	5.4	244.1	15.0	33.9
2.0	1242.9	5.5	236.0	16.0	29.8
2.1	1162.9	5.6	228.2	17.0	26.5
2.2	1089.6	5.7	220.8	18.0	23.6
2.3	1022.5	5.8	213.8	19.0	21.2
2.4	960.9	5.9	207.0	20.0	19.2
2.5	904.3	6.0	200.6	25.0	12.3
2.6	852.2	6.1	194.5	30.0	8.5
2.7	804.1	6.2	188.6	35.0	6.3
2.8	759.7	6.3	183.0	40.0	4.8
2.9	718.7	6.4	177.7	45.0	3.8
3.0	680.7	6.5	172.5	50.0	3.1
3.1	645.5	6.6	167.6	60.0	2.1
3.2	612.8	6.7	162.9	70.0	1.6
3.3	582.4	6.8	158.4	80.0	1.2

3.4	554.1	6.9	154.0	90.0	1.0
3.5	527.7	7.0	149.9	100.0	0.8

Berikut persamaan Eksponensial yang didapat dari hasil data pengukuran:

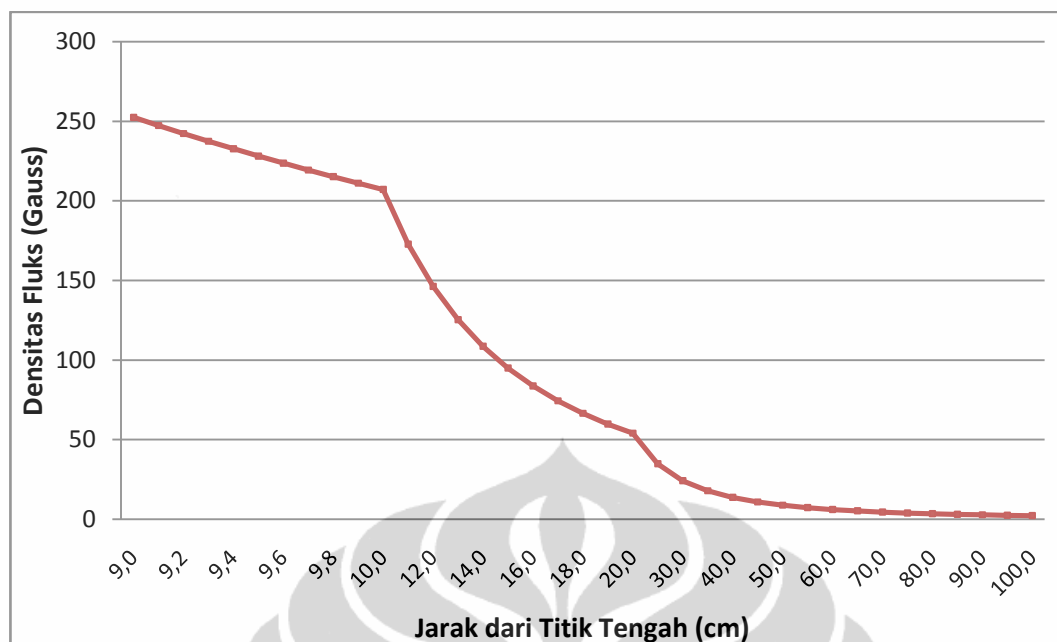


**Gambar 4.2 Grafik Densitas Fluks Terhadap Jarak pada Magnet Plat1**

*Keterangan: Densitas fluks semakin menurun terhadap jarak pusat magnet dan mulai mendekati nilai 0 pada jarak sekitar 100 cm.*

Sedangkan hasil perhitungan magnet plat permanen NdFeB tipe kedua yang digunakan pada penelitian ini berdimensi lebar  $A = 5.6$  cm dengan ketebalan  $L = 0.7$  cm dan panjang  $B = 4$  cm dengan nilai Densitas Fluk Residual (Br) yang ditetapkan sebesar 12300 Gauss, sehingga hasil perhitungan pada jarak yang ditentukan adalah pada grafik dan tabel berikut:





**Gambar 4.3 Grafik Densitas Fluks Terhadap Jarak pada Magnet Plat2**

*Keterangan: Densitas fluks semakin menurun terhadap jarak pusat magnet dan mulai mendekati nilai 0 pada jarak sekitar 100 cm.*

**Tabel 4.3 Densitas Fluks terhadap Jarak pada Magnet Plat2**

Jarak (cm)	Bx (Gauss)	Jarak (cm)	Bx (Gauss)	Jarak (cm)	Bx (Gauss)
0.1	3914.2	3.6	1184.5	7.1	390.0
0.2	3914.3	3.7	1138.7	7.2	380.3
0.3	3914.1	3.8	1095.3	7.3	371.0
0.4	3911.9	3.9	1054.1	7.4	361.9
0.5	3901.9	4.0	1014.9	7.5	353.2
0.6	3877.2	4.1	977.7	7.6	344.8
0.7	3833.1	4.2	942.4	7.7	336.7
0.8	3768.4	4.3	908.8	7.8	328.9
0.9	3684.7	4.4	876.8	7.9	321.3
1	3585.1	4.5	846.3	8.0	314.0
1.1	3473.4	4.6	817.3	8.5	280.7
1.2	3353.3	4.7	789.7	9.0	252.4
1.3	3228.0	4.8	763.4	9.5	228.1
1.4	3100.3	4.9	738.2	10.0	207.1
1.5	2972.3	5.0	714.2	11.0	172.8
1.6	2845.8	5.1	691.3	12.0	146.3
1.7	2722.1	5.2	669.4	13.0	125.3
1.8	2601.9	5.3	648.5	14.0	108.6
1.9	2485.9	5.4	628.5	15.0	94.9
2	2374.5	5.5	609.3	16.0	83.7
2.1	2267.9	5.6	591.0	17.0	74.3

2.2	2166.2	5.7	573.4	18.0	66.4
2.3	2069.4	5.8	556.6	19.0	59.7
2.4	1977.4	5.9	540.5	20.0	54.0
2.5	1890.0	6.0	525.0	25.0	34.7
2.6	1807.1	6.1	510.2	30.0	24.2
2.7	1728.6	6.2	495.9	35.0	17.8
2.8	1654.2	6.3	482.2	40.0	13.6
2.9	1583.7	6.4	469.1	45.0	10.8
3	1517.0	6.5	456.5	50.0	8.7
3.1	1453.8	6.6	444.3	60.0	6.1
3.2	1394.0	6.7	432.6	70.0	4.5
3.3	1337.3	6.8	421.3	80.0	3.4
3.4	1283.6	6.9	410.5	90.0	2.7
3.5	1232.7	7.0	400.1	100.0	2.2

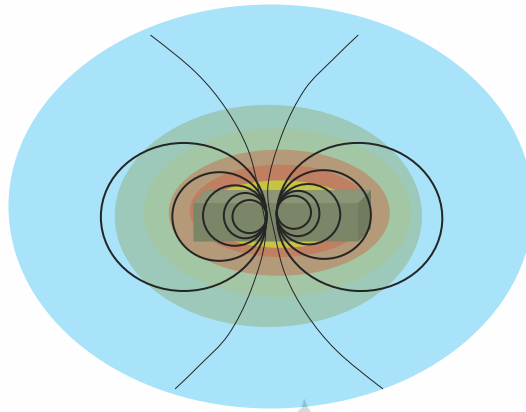
Berdasarkan hasil perhitungan diatas perbandingan antara magnet plat tipe pertama dan kedua serta magnet disk, memperlihatkan bahwa Densitas Fluks yang hampir mencapai nilai 0 pada magnet plat tipe pertama berada pada jarak lebih dari 100 cm, demikian pula pada magnet plat tipe kedua. Sedangkan pada magnet disk Densitas Fluks mulai mendekati nilai 0 pada jarak lebih dari 20 cm.

Pada hasil plot grafik, nilai Regresi plot titik titik perhitungan Densitas Fluks terhadap jarak X menunjukkan nilai Regresi tertinggi adalah magnet permanen disk yaitu sebesar 0.96, sedangkan magnet plat tipe pertama dan kedua hanya mencapai nilai regresi plot 0.89 dan 0.94.

Berdasarkan hal ini, peneliti mempertimbangkan untuk meneruskan percobaan kedua dengan pengkulturan sel punca Mesenkim asal darah tepi menggunakan magnet disk permanen.

#### 4.4 Karakteristik Kutub Magnet pada Rancangan

Karakteristik kutub pada permanen magnet dibedakan menjadi kutub utara dan selatan. Hal yang paling penting pada garis garis fluks ini adalah jarak gap atau spasi antara garis garis fluks yang berdekatan. Berikut adalah penggambaran garis garis fluks magnet pada keadaan bebas. Pada permanen magnet, daerah magnet diasumsikan sebagai orientasi kutub dengan aliran arus daerah magnet mengalir dari kutub utara ke kutub selatan.



**Gambar 4.4 Garis Garis Flux Magnet Bebas**

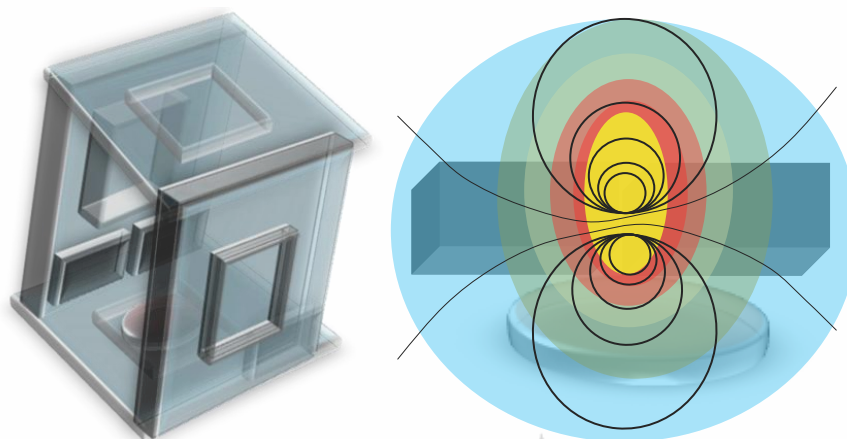
*Keterangan: Semua efek magnetis timbul dari dua kecenderungan yang berlawanan. Garis garis flux selalu saling meluruskan satu sama lain untuk menyeimbangkan kecenderungan ini. Gaya magnet bekerja melewati jarak karena garis garis flux menyebar satu sama lain sebanyak mungkin.*

Garis garis flux menghubungkan kutub utara dan kutub selatan magnet. Secara imajinasi garis garis menunjukkan daerah path magnetism. Karakteristik dari daerah magnetik adalah

- Garis garis flux diusahakan sependek mungkin, mendekati besi karena besi bekerja seperti path beresistansi rendah untuk elektron dan juga menyediakan petunjuk untuk daerah magnetik.
- Garis garis Flux saling tolak menolak, menyebar dari garis garis fluk lain sebanyak banyaknya. Baik dalam udara terbuka, udara atau besi, garis garis flux menyebar untuk mengisi segala kemungkinan ruang.

#### **4.4.1 Karakteristik Kutub Magnet pada Rancangan Pertama**

Rancangan pertama ini kurang dapat memenuhi tujuan pemaparan. Jarak 5 cm dari sisi sisi ujung cawan tidak akan memberikan keseragaman densitas fluks medan magnet pada seluruh sel yang ditanam. Selain itu jarak 5 cm dari sisi ujung atas atau bawah cawan akan menurunkan densitas fluks paparan magnet permanen statis dari densitas fluks pusat kutub yang sebesar 200 mT.



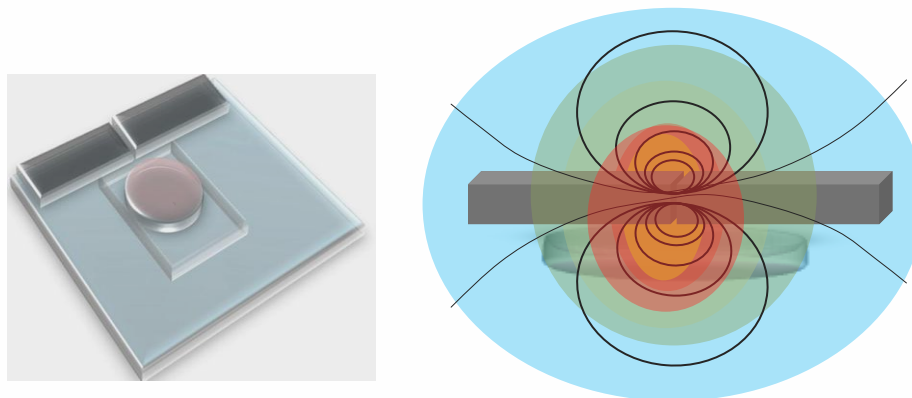
**Gambar 4.5 Garis Garis Flux Magnet Rancangan 1**

*Keterangan: Garis garis flux (Gambar kanan) pada rancangan ini (Gambar kiri) tidak secara seragam mengenakan kultur karena adanya jarak antara magnet dan kultur sebesar 5 cm.*

Rancangan awal ini juga sulit diimplementasikan karena terjadinya gaya tarik menarik antara kutub utara dan selatan magnet yang bersisian dan berhadapan menyebabkan akumulasi densitas fluks medan magnet semakin besar, sehingga tidak memungkinkan untuk menempatkan magnet terpisah satu sama lain, melainkan saling melekat kuat dan sulit dipisahkan atau diposisikan pada tempat tertentu.

#### **4.4.2 Karakteristik Kutub Magnet pada Rancangan Kedua**

Pada Rancangan kedua ini, dua buah magnet NdFeB dengan densitas fluks masing masing 400 Gauss ditempatkan dengan jarak kurang dari 0.25 cm pada sisi ujung atas atau bawah cawan kultur. Berdasarkan arah kutub yang menggambarkan densitas fluks magnet, sisi ujung bawah dengan jarak lebih dari 5 cm (jarak ditambah dengan diameter cawan sebesar 3,5 cm) juga tidak memungkinkan untuk mendapatkan keseragaman densitas fluks magnet pada seluruh sel yang ditanam pada cawan kultur.

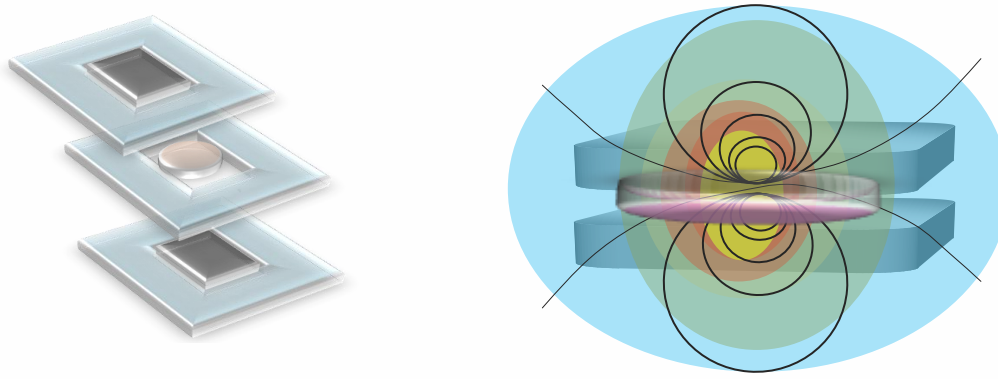


**Gambar 4.6 Garis Garis Flux Magnet Rancangan 2**

*Keterangan: Garis garis flux (Gambar kanan) pada rancangan ini (Gambar kiri) hanya mengenai salau satu sisi pada cawan kultur sehingga tidak mengenai sel sel yang tertanam pada seluruh kultur.*

#### **4.4.3 Karakteristik Kutub Magnet pada Rancangan Ketiga**

Pada Rancangan ketiga, magnet NdFeB dengan densitas fluks masing masing 200 Gauss menempel di bagian atas dan bawah kultur dengan jarak densitas fluks magnet ke sel yang ditanam pada cawan petri berdasarkan ketinggian cawan petri yaitu sekitar 0.125 cm. Namun keseragaman densitas fluks juga sulit didapat karena densitas fluks medan magnet di bagian atas tidak seragam dengan densitas fluks medan magnet pada cawan petri di bagian bawah. Selain itu sulit secara tepat mengetahui densitas fluks magnet yang mengenai sel pada cawan. Berikut adalah penggambaran arah kutub densitas fluks medan magnet. Selain itu peneliti menemukan kesulitan saat akan mengamati perilaku sel atau penggantian media, dikarenakan kesulitan memisahkan magnet yang bertumpuk di antara cawan.

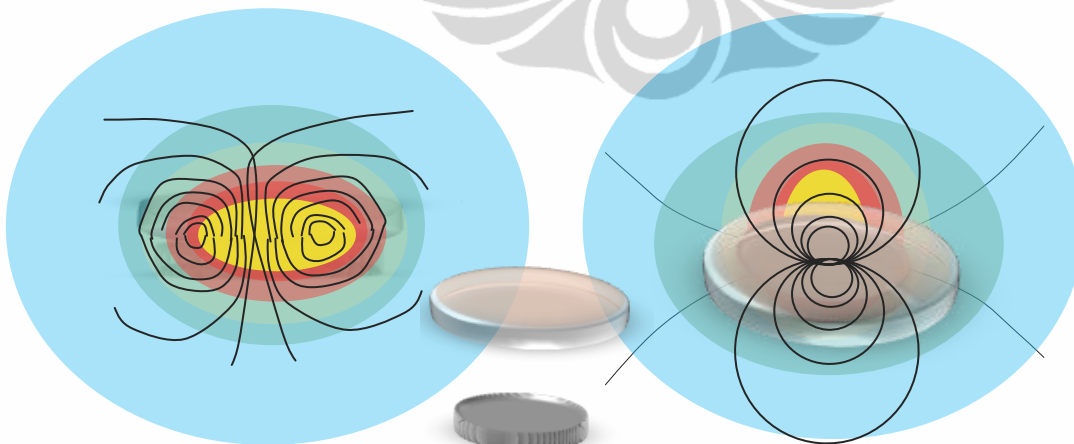


**Gambar 4.7** Garis Garis Flux Magnet Rancangan 3

*Keterangan: Garis garis flux (Gambar kanan) pada rancangan ini (Gambar kiri) dapat mengenai seluruh sisi cawan kultur, namun terjadi ketidakseragaman garis garis fluks pada magnet atas dan bawah karena memiliki jarak yang tidak sama sehingga diperlukan keakuratan perhitungan besaran densitas fluks yang terpapar.*

#### 4.4.4 Karakteristik Kutub Magnet pada Rancangan Kempat

Pada Rancangan terakhir, magnet NdFeB berbentuk disk berdensitas fluks masing masing 200 Gauss menempel di bagian bawah kultur dengan jarak sesuai ketebalan cawan petri yaitu 0,125 cm. Diameter magnet berdimensi 2,5 cm lebih kecil dari diameter cawan kultur dengan dimensi 3,5 cm. Garis fluks magnetik pada rancangan ini mengenai sel sel pada cawan kultur dengan titik pusat pada titik tengah cawan dan menyebar ke dinding cawan di seluruh radius cawan.



**Gambar 4.8** Garis Garis Flux Magnet Rancangan 4

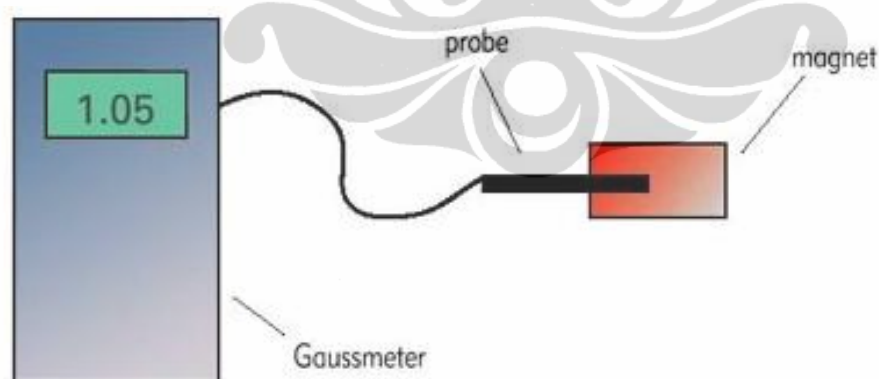
*Keterangan: Garis garis flux pada rancangan ini dapat mengenai seluruh sisi cawan kultur dan mudah memisahkan cawan dengan magnet pada saat pengamatan.*

Berdasarkan analisa garis garis fluks magnetik terhadap rancangan, peneliti berpendapat bahwa rancangan pemaparan yang ke empat yaitu pemaparan magnet disk permanen yang ditempatkan di bawah cawan kultur merupakan rancangan yang paling sesuai dibanding tiga rancangan lainnya karena garis fluks medan magnet pada rancangan ini mengenai seluruh cawan. Karena itu pada percobaan kedua menggunakan sel Mesenkim asal darah tepi, pemaparan ditetapkan dengan menggunakan rancangan ke empat ini.

#### 4.5 Pengukuran Densitas Fluk Magnet Plate terhadap Waktu Pemaparan

Pengukuran densitas fluks secara langsung pada magnet permanen menggunakan alat ukur Gaussmeter dan probenya. Probe mengandung alat Efek Hall dengan output voltage proporsional terhadap densitas fluks yang ditemui.

Terdapat dua kontruksi probe yaitu Axial, saat garis garis fluks berjalan secara paralel terhadap holder probe, dan tipe Melintang/transverse saat garis garis fluks berjalan secara tegak lurus terhadap holder probe. Hal ini memungkinkan pengukuran densitas fluks magnet pada konfigurasi yang bervariasi. Penempatan probe terhadap magnet sangat kritikal untuk mendapatkan pengukuran yang dapat dibandingkan antara magnet. Hal ini harus dilakukan secara hati hati agar posisi magnet dan probe tetap.



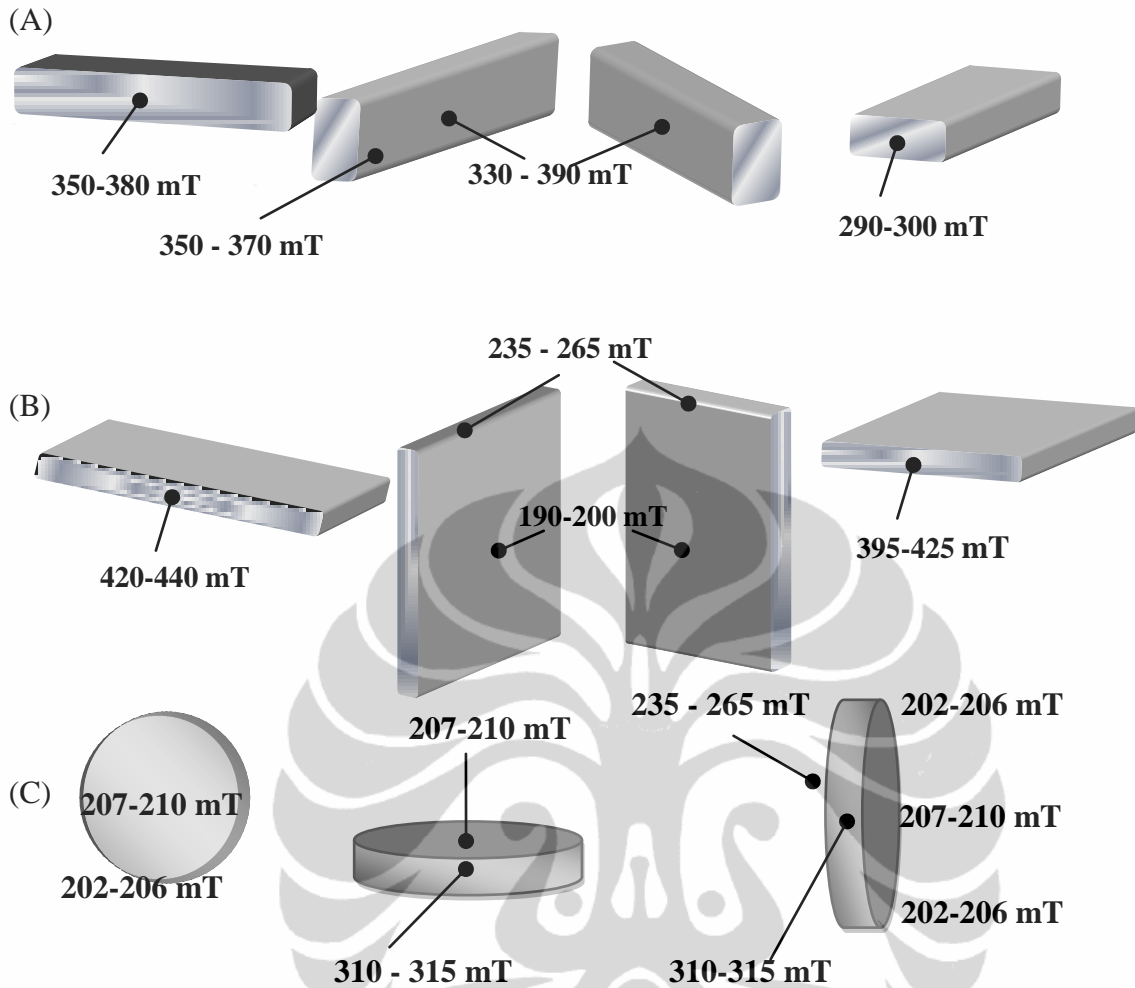
**Gambar 4.9 Pengukuran Densitas Fluks dengan Gaussmeter**

*Keterangan: Penempatan Probe pada Magnet pada alat Gaussmeter untuk mendapatkan hasil yang akurat.*

##### 4.5.1 Pengukuran Densitas Fluks Magnet Plat Baru

Pengukuran besaran densitas fluks magnet statis pada titik pusat bidang magnet didapatkan sebagai berikut :





**Gambar 4.10 Pengukuran Densitas Fluks dengan Gaussmeter pada Magnet**

*Keterangan: Pengukuran Densitas Fluks dalam keadaan baru untuk (A) Magnet Batang Jenis : NdFeB dengan dimensi: 19.7 x 7.9 x 40 mm (B) Magnet Batang Jenis : NdFeB dengan dimensi: 40 x 7 x 56 mm (C) Magnet Disk Jenis : NdFeB dengan Diameter 25 mm. Pada beberapa titik pengukuran yaitu Bagian Alas Atas dan Alas Bawah, Bagian Kutub dan Bagian Sisi.*

#### 4.5.2 Pengukuran Densitas Fluks Magnet Plat Setelah Paparan

Pengukuran densitas fluks Magnet plat tipe 1 setelah proses pengkulturan dalam Inkubator selama 1 Minggu dan 4 Minggu adalah sebagai berikut:



**Tabel 4.4 Densitas Fluks terhadap Waktu Paparan pada Magnet Disk**

Densitas Fluks Magnet Disk (mT)			
Posisi	Baru	Papar 1 Minggu	Papar 4 Minggu
Alas Atas	207	200	190
	210	205	200
Kutub	202	200	190
	206	204	200
Sisi	310	305	300
	315	310	305
Alas Bawah	235	230	225
	265	260	250

**Tabel 4.5 Densitas Fluks terhadap Waktu Paparan pada Magnet Plat1**

Densitas Fluks Magnet Plat Tipe 1 (mT)			
Posisi	Baru	Papar 1 Minggu	Papar 4 Minggu
Alas Atas	330	295	275
	390	350	315
Kutub	350	345	310
	370	365	350
Sisi	350	335	330
	380	365	355
Alas Bawah	290	275	270
	300	295	285

**Tabel 4.6 Densitas Fluks terhadap Waktu Paparan pada Magnet Plat2**

Densitas Fluks Magnet Plat Tipe 2 (mT)			
Posisi	Baru	Papar 1 Minggu	Papar 4 Minggu
Alas Atas	190	175	135
	200	190	145
Kutub	235	215	200
	265	260	240
Sisi	420	405	400
	440	435	420
Alas Bawah	395	375	370
	425	410	395

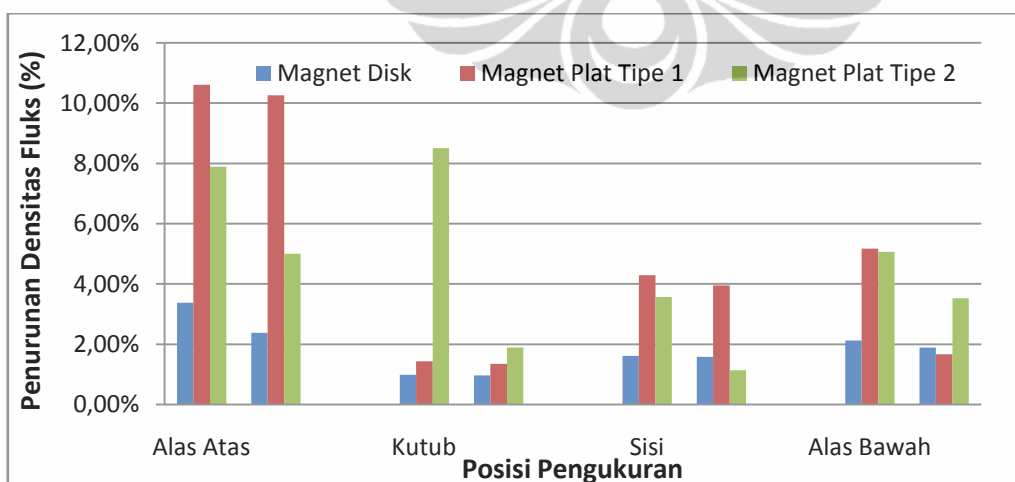
Pada Saat 1 dan 4 Minggu digunakan untuk proses paparan dalam inkubator, besaran densitas fluks magnet mengalami fluktuasi dan pengurangan nilai densitas fluksnya. Berikut adalah penurunan densitas fluks untuk paparan waktu terukur:

**Tabel 4.7 Penurunan Densitas Fluks setelah 1 Minggu Pemaparan**

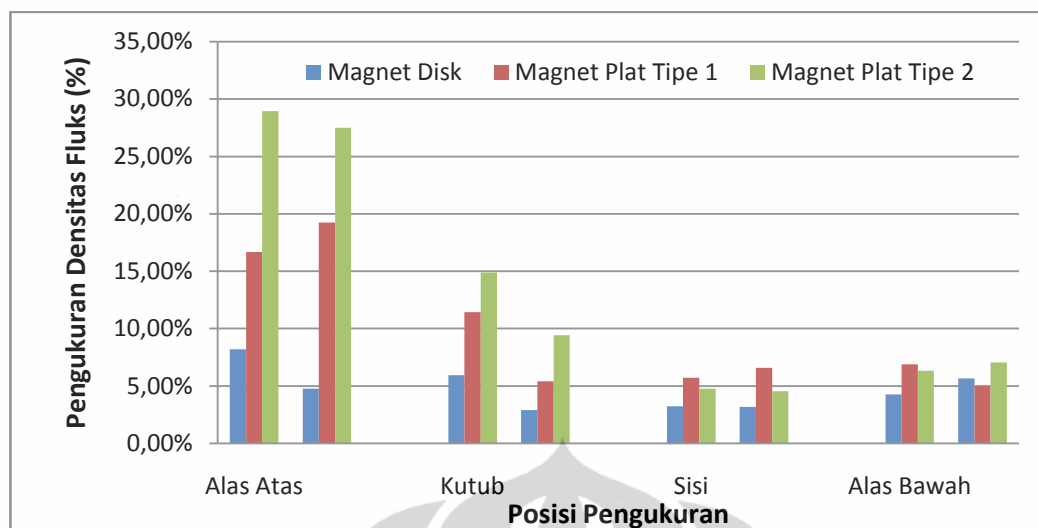
Penurunan Paparan 1 Minggu (%)				
Posisi	Magnet Disk	Magnet Plat Tipe 1	Magnet Plat Tipe 2	Average
Alas Atas	3.38%	10.61%	7.89%	7.29%
	2.38%	10.26%	5.00%	5.88%
Kutub	0.99%	1.43%	8.51%	3.64%
	0.97%	1.35%	1.89%	1.40%
Sisi	1.61%	4.29%	3.57%	3.16%
	1.59%	3.95%	1.14%	2.22%
Alas Bawah	2.13%	5.17%	5.06%	4.12%
	1.89%	1.67%	3.53%	2.36%
Average	1.87%	4.84%	4.57%	3.76%

**Tabel 4.8 Penurunan Densitas Fluks setelah 4 Minggu Pemaparan**

Penurunan Paparan 4 Minggu (%)				
Posisi	Magnet Disk	Magnet Plat Tipe 1	Magnet Plat Tipe 2	Average
Alas Atas	8.21%	16.67%	28.95%	17.94%
	4.76%	19.23%	27.50%	17.16%
Kutub	5.94%	11.43%	14.89%	10.75%
	2.91%	5.41%	9.43%	5.92%
Sisi	3.23%	5.71%	4.76%	4.57%
	3.17%	6.58%	4.55%	4.77%
Alas Bawah	4.26%	6.90%	6.33%	5.83%
	5.66%	5.00%	7.06%	5.91%
Average	4.77%	9.62%	12.93%	9.11%

**Gambar 4.11 Penurunan Densitas Fluks Magnet setelah Paparan 1 Minggu**

*Keterangan: Pengukuran Densitas Fluks setelah paparan 1 Minggu pada 4 posisi pengukuran pada magnet memperlihatkan penurunan terendah pada magnet disk dan posisi alas atas mendidiki penurunan tertinggi.*



**Gambar 4.12 Penurunan Densitas Fluks Magnet setelah Paparan 4 Minggu**

*Keterangan: Pengukuran Densitas Fluks setelah paparan 41 Minggu pada 4 posisi pengukuran pada magnet memperlihatkan penurunan terendah pada magnet disk dan posisi alas atas mendidiki penurunan tertinggi.*

Hasil pengukuran menunjukkan derajat penurunan pada setiap pengukuran densitas fluks magnet saat digunakan. Penurunan densitas fluks yang rendah ditandai dengan nilai presentase penurunan yang rendah. Hal ini menunjukkan derajat kestabilan magnet pada saat digunakan dalam pemaparan kultur di inkubator yang bersuhu 37-38 °C dengan paparan gas CO<sub>2</sub> sebanyak 5%.

Penurunan besaran densitas fluks terutama terjadi pada daerah Alas Atas atau titik tengah permukaan magnet setelah melakukan pemaparan pada kultur yaitu sekitar 17% untuk ketiga jenis magnet. Hal ini menandakan magnet kehilangan densitas fluksnya akibat pemaparan terutama pada titik tengah yang dijadikan alat tempat kultur sel dibiakkan.

Berdasarkan hasil perbandingan pengukuran antara magnet plat tipe pertama dan kedua serta magnet disk terlihat bahwa penurunan densitas fluks magnetis pada magnet disk mencapai nilai terkecil yaitu 1.8% pada minggu pertama dan 4.8% pada minggu keempat, dibandingkan dua tipe magnet lain. Dengan demikian permanen disk yang digunakan memiliki tingkat kestabilan densitas fluks lebih tinggi dibanding tipe magnet lainnya. Berdasarkan hal ini, peneliti menetapkan magnet disk permanen digunakan untuk percobaan berikutnya yaitu pemaparan medan magnet pada sel Mesenkim asal darah tepi manusia dewasa.

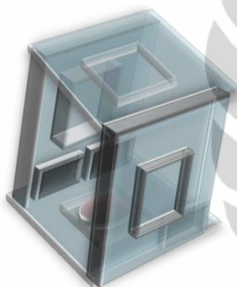
#### 4.6 Perhitungan Jumlah Sel Otak Tikus

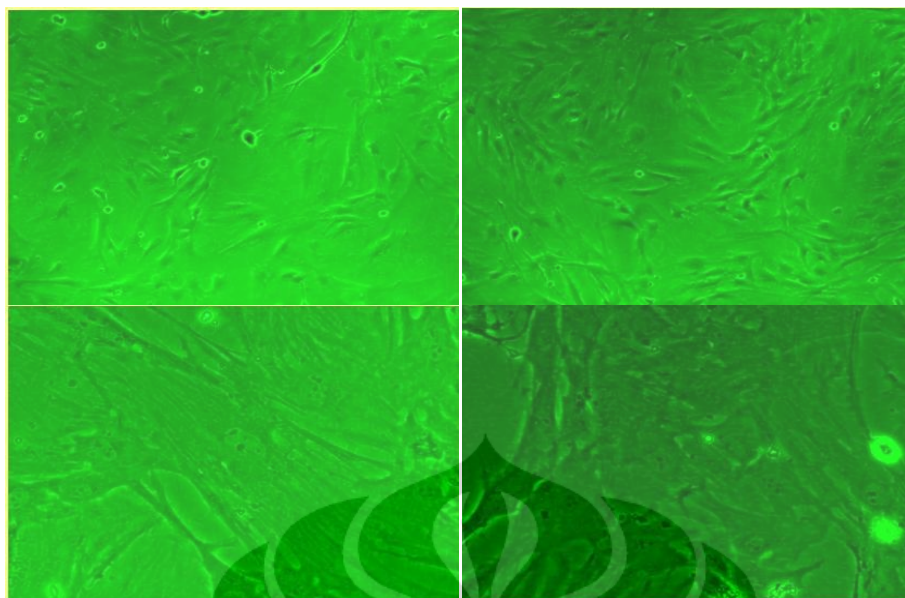
Setelah perancangan pemaparan magnet disiapkan, percobaan kultur tahap awal dilakukan dengan menggunakan sel otak tikus yang didapat dari hasil pasasi pertama peneliti lain. Setiap rancangan magnet melakukan pemaparan pada sel otak tikus, kemudian pada setiap pasasi dilakukan perhitungan jumlah sel dalam kultur dengan menggunakan metode/alat hemositometer yang ada pada laboratorium Kultur Kimia Farma.

Hasil perhitungan jumlah sel dijabarkan pada sub bab –sub bab berikut ini.

##### 4.6.1 Hasil Perhitungan Jumlah Sel Rancangan Pertama

- Metode penanaman dengan membandingkan kultur kontrol tanpa paparan medan magnet dengan kultur kelompok yang dipaparkan medan magnet dengan rancangan pertama.
  - Jumlah kultur sel saat penanaman : 2000 sel/mL.
  - Waktu penanaman : 7 Hari.
  - Perhitungan jumlah sel rata rata pada kultur kontrol : 4500 sel/mL.
  - Perhitungan jumlah sel rata rata pada kultur sampel : 8500 sel/mL.
- Laju proliferasi sel neuron tikus pada kultur kontrol meningkat lebih dari 2 kali lipat dari 2000 hingga 4500/mL.
- Laju proliferasi sel neuron tikus pada kultur sampel paparan medan magnet rancangan pertama meningkat lebih dari 4 kali lipat dari 2000 sel/mL menjadi 8500 sel/mL.
- Peningkatan laju proliferasi sel antara kultur yang dipaparkan medan magnet rancangan pertama dengan kultur tanpa paparan adalah 2 kali lipat.

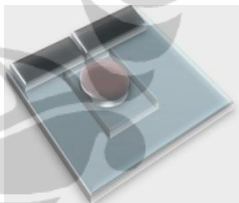


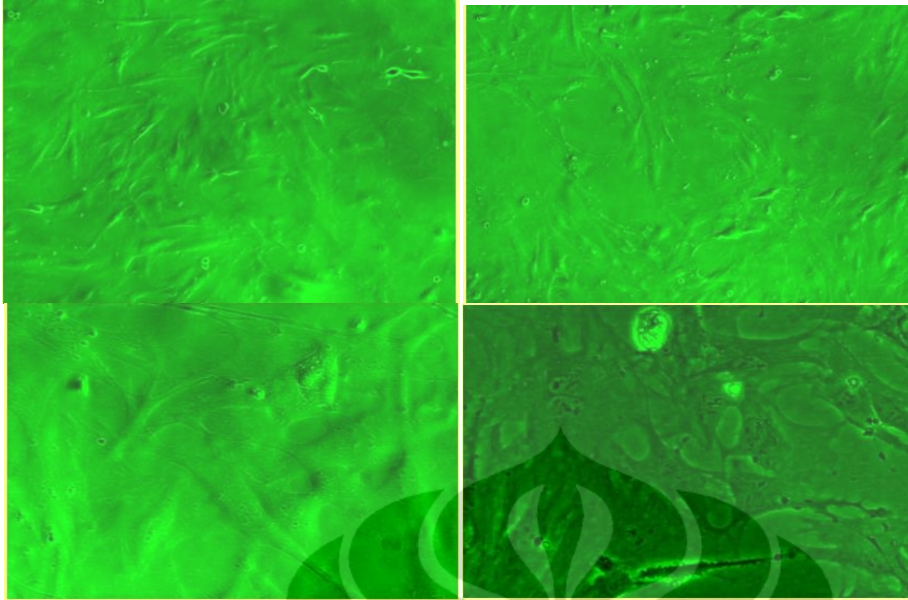


**Gambar 4.13 Kultur Kontrol (Kiri) dan Kultur Rancangan 1 (Kanan)**

*Keterangan: Pengamatan Kultur Kontrol (Kiri) dan Kultur Rancangan 1 (Kanan) pada pembesaran mikroskop 5X (Atas) dan Pembesaran 20X (bawah) memperlihatkan Kultur Rancangan lebih padat daripada Kultur Kontrol.*

#### 4.6.2 Hasil Perhitungan Jumlah Sel Rancangan Kedua

- Metode penanaman dengan membandingkan kultur kontrol tanpa paparan medan magnet dengan kultur kelompok yang dipaparkan medan magnet dengan rancangan magnet kedua. 
- Jumlah kultur sel saat pananaman : 500 sel/mL.
- Waktu penanaman : 7 Hari.
- Perhitungan jumlah sel rata rata pada kultur kontrol : 2500 sel/mL.
- Perhitungan jumlah sel rata rata pada kultur sampel: 5500 sel/mL.
- Laju proliferasi sel neuron tikus pada kultur kontrol meningkat 5 kali lipat dari 500 hingga 2500/mL.
- Laju proliferasi sel neuron tikus pada kultur sampel paparan medan magnet rancangan kedua meningkat 11 kali lipat dari 500 sel/mL menjadi 5500 sel/mL.
- Peningkatan laju proliferasi sel antara kultur yang dipaparkan medan magnet rancangan kedua dengan kultur tanpa paparan adalah 2 kali lipat.

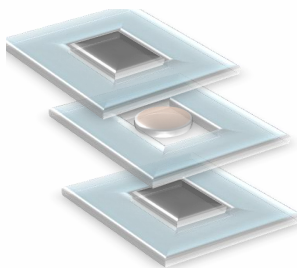


**Gambar 4.14 Kultur Kontrol (Kiri) dan Kultur Rancangan 2 (Kanan)**

*Keterangan: Pengamatan Kultur Kontrol (Kiri) dan Kultur Rancangan 2 (Kanan) pada pembesaran mikroskop 5X (Atas) dan Pembesaran 20X (bawah) memperlihatkan Kultur Rancangan lebih padat daripada Kultur Kontrol.*

#### 4.6.3 Hasil Perhitungan Jumlah Sel Rancangan Ketiga

- Metode penanaman dengan membandingkan kultur kontrol dengan rancangan paparan medan magnet kedua dengan kultur kelompok yang dipaparkan medan magnet dengan rancangan magnet ketiga.
- Perhitungan jumlah sel rata rata pada kultur rancangan kedua : 4600 sel/mL.
- Perhitungan jumlah sel rata rata pada kultur rancangan ketiga : 5500 sel/mL.



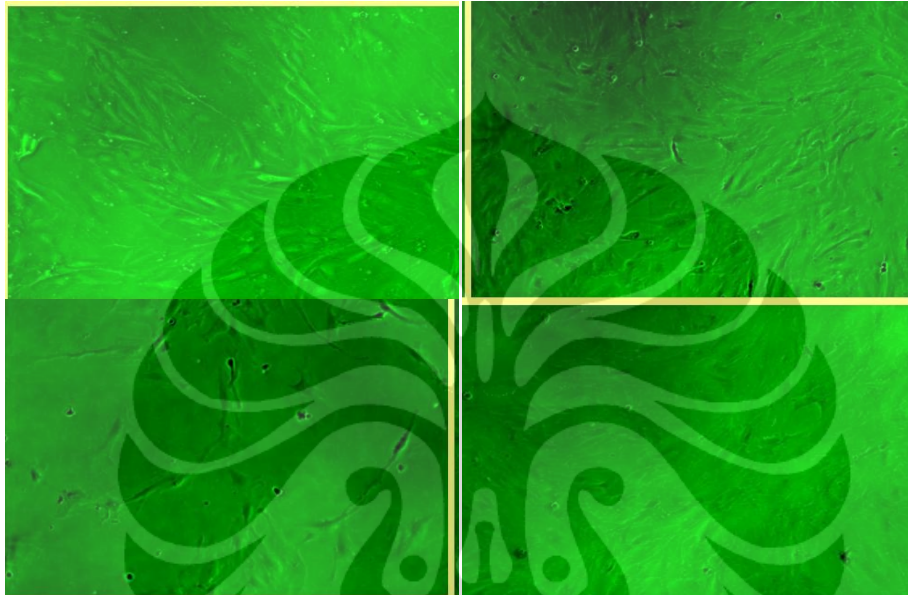
- Jumlah kultur sel saat pananaman : 325 sel/mL.
- Waktu penanaman : 7 Hari.



- Laju proliferasi sel neuron tikus pada kultur paparan rancangan kedua meningkat 14,1 kali lipat dari 325 hingga 4600/mL.
- Laju proliferasi sel neuron tikus pada kultur paparan medan magnet rancangan ketiga meningkat 16,9 kali lipat dari 325 sel/mL menjadi 5400 sel/mL.



- Laju proliferasi sel neuron tikus pada kultur sampel paparan medan magnet rancangan ketiga lebih besar dari rancangan kedua.
- Peningkatan laju proliferasi sel antara kultur yang dipaparkan medan magnet rancangan ketiga dengan rancangan kedua sebanyak 1.2 kali lipat.



**Gambar 4.15 Kultur Rancangan 2 (Kiri) dan Kultur Rancangan 3 (Kanan)**

*Keterangan: Pengamatan Kultur Rancangan 2 (Kiri) dan Kultur Rancangan 3 (Kanan) pada pembesaran mikroskop 5X (Atas) dan Pembesaran 20X (bawah) memperlihatkan Kultur Rancangan hampir sama padat daripada Kultur Kontrol.*

#### 4.6.4 Hasil Perhitungan Jumlah Sel Rancangan Keempat

- Metode penanaman dengan membandingkan kultur kontrol dengan rancangan paparan medan magnet ketiga dengan kultur kelompok yang dipaparkan medan magnet dengan rancangan magnet keempat.
- Jumlah kultur sel saat penanaman: 500sel/mL.
- Waktu penanaman : 7 Hari.
- Perhitungan jumlah sel rata rata pada kultur rancangan ketiga :6100 sel/mL.
- Perhitungan jumlah sel rata rata pada kultur rancangan keempat:4900 sel/mL.
- Laju proliferasi sel neuron tikus pada kultur paparan rancangan ketiga meningkat 12,2 kali lipat dari 500 hingga 6100/mL.



- Laju proliferasi sel neuron tikus pada kultur paparan rancangan keempat meningkat 9,8 kali lipat dari 500 hingga 4900/mL.
- Laju proliferasi sel neuron tikus pada kultur sampel paparan medan magnet rancangan ketiga lebih besar terhadap rancangan keempat.
- Peningkatan laju proliferasi sel antara kultur yang dipaparkan medan magnet rancangan ketiga terhadap rancangan keempat berbeda 1.24 kali lipat.



**Gambar 4.16 Kultur Rancangan 3(Kiri) dan Kultur Rancangan 4 (Kanan)**

*Keterangan: Pengamatan Kultur Rancangan ke-3 (Kiri) dan Kultur Rancangan ke-4 (Kanan) pada pembesaran mikroskop 5X (Atas) dan Pembesaran 20X (bawah) memperlihatkan Kultur Rancangan hampir sama padat daripada Kultur Kontrol.*

#### **4.6.5 Pembahasan Hasil Perhitungan Jumlah Sel pada Rancangan**

Hasil perhitungan jumlah sel rancangan paparan medan magnet menunjukkan bahwa rancangan ketiga memiliki nilai laju proliferasi yang lebih tinggi dibandingkan rancangan paparan lainnya yaitu sebesar 16 kali dan 12,2 kali saat satu minggu dipaparkan. Jika dibandingkan terhadap rancangan kedua, rancangan ketiga memiliki laju proliferasi lebih besar 1,2 kali lipat dan bila dibandingkan dengan rancangan keempat memiliki laju proliferasi lebih besar 1,24 kali lipat. Namun peneliti mempertimbangkan beberapa faktor lain selain perhitungan jumlah sel ini untuk melakukan serangkain percobaan berikutnya



dengan menggunakan sel punca Mesenkim asal darah tepi. Beberapa yang menjadi pertimbangan peneliti telah dijabarkan pada sub bab sebelumnya yaitu terhadap :

- Faktor perhitungan densitas fluks terhadap jarak, terlihat hasil plot grafik untuk nilai Regresi tertinggi adalah magnet permanen disk yaitu sebesar 0.96 dibanding dua tipe magnet yang ditempatkan pada rancangan 1 hingga tiga.
- Faktor kestabilan besaran densitas fluks medan magnet terhadap waktu saat digunakan dalam ruang inkubator dengan temperatur 37-38 oC, terlihat magnet disk pada rancangan keempat menunjukkan kestabilan yang lebih tinggi dibanding dua tipe magnet lain yang ditempatkan pada rancangan 1 hingga tiga setelah waktu paparan 1 minggu dan 4 minggu.
- Faktor keseragaman garis densitas fluks yang mengenai paparan sel pada cawan kultur pada setiap rancangan menjadi pertimbangan peneliti dengan memperhitungkan keseragaman garis fluks mengenai seluruh sel pada cawan, dan menganggap rancangan keempat paling sesuai dibanding rancangan lain. Medan magnet permanen tipe disk dapat dianggap homogen, karena densitas fluks bervariasi tidak lebih dari 1 cm serta mencakup seluruh area sel pada kultur berdiameter 2,5 cm yang ditempatkan pada bagian bawah cawan berdiameter 3,5 cm.
- Faktor biaya penelitian yaitu bila paparan dilakukan terhadap percobaan selanjutnya yaitu 6 kali variasi waktu terhadap 2 kelompok sampel dan kontrol, maka diperlukan 12 rancangan untuk 12 buah paparan cawan kultur.

Perhitungan biaya rancangan ketiga untuk 12 cawan paparan adalah

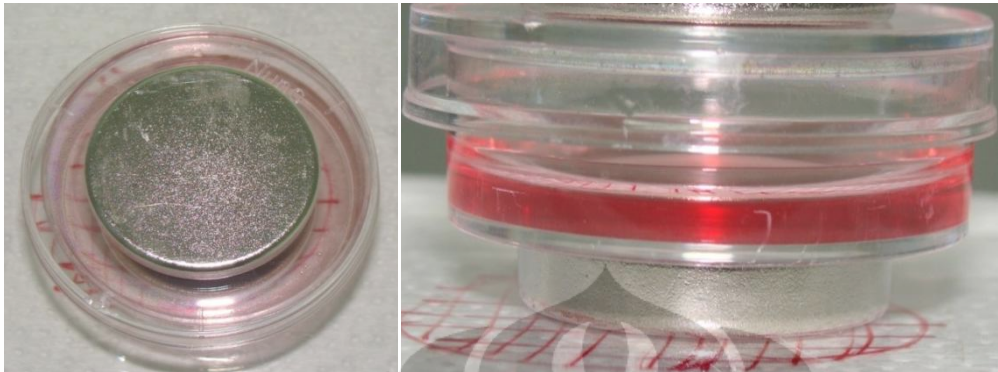
$$2 \times 12 \text{ cawan} \times \text{Rp.}80.000, = \text{Rp.} 1.920.000,-$$

Perhitungan biaya rancangan keempat untuk 12 cawan paparan adalah

$$1 \times 12 \text{ cawan} \times \text{Rp.}60.000, = \text{Rp.} 720.000,-$$

Berdasarkan faktor - faktor pertimbangan diatas, peneliti menetapkan percobaan berikutnya menggunakan Rancangan Paparan Keempat dengan

menggunakan magnet disk permanen besaran densitas fluks sekitar 200 mT untuk dipaparkan pada sel punca Mesenkim asal darah tepi.



**Gambar 4.17 Penempatan Magnet Disk pada Kultur Sel Punca Mesenkim**

*Keterangan: Penempatan Magnet Disk pada Kultur Sel Punca Mesenkim Magnet Disk, posisi terbalik (kiri) dan posisi paparan (kanan). Magnet disk diletakan pada bagian bawah Cawan dengan beberapa titik pengamatan ditera pada bagian bawah cawan.*

#### 4.7 Perhitungan Jumlah Sel Punca Mesenkim Asal Darah Tepi

Paparan daerah medan magnet berpotensi untuk digunakan sebagai pemicu proses proliferasi sel. Pemanfaatan daerah magnetik diharapkan juga dapat meningkatkan efisiensi induksi sel punca. Selain itu diferensiasi sel juga diharapkan terbantu dengan hal ini.

Pemaparan medan magnet pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan Rancangan keempat yaitu penempatan Magnet Disk Permanen berdiameter 25 cm tepat di bawah cawan kultur berdiameter 35 cm. Pemaparan dilakukan terhadap dua kelompok sampel yaitu kelompok sampel kontrol dan kelompok sampel paparan yang divariasikan terhadap waktu paparan yaitu :

- Kelompok sampel kontrol tanpa paparan
- Kelompok sampel paparan magnet 2 jam per hari
- Kelompok sampel paparan magnet 4 jam per hari
- Kelompok sampel paparan magnet 6 jam per hari
- Kelompok sampel paparan magnet 18 jam per hari
- Kelompok sampel paparan magnet 24 jam per hari atau paparan terus menerus.

Untuk melihat perkembangan jumlah sel tiap periodik waktu penanaman, maka metode hemositometer tidak dimungkinkan untuk dilakukan setiap saat, kecuali bila kultur dipasasi dan dipindahkan ke cawan kultur yang baru.

Untuk mengatasi hal ini, maka peneliti melakukan cara perhitungan dengan menggunakan Perhitungan jumlah sel melalui pemograman MATLAB dan prinsip prinsip Pencitraan Medis berdasarkan analisa morfologi sel dalam citra yang dikumpulkan dari penyimpanan citra langsung sel pada cawan kultur dengan Mikroskop Inverted Axio Scope pada besaran 5X dan perangkaian program software MATLAB.

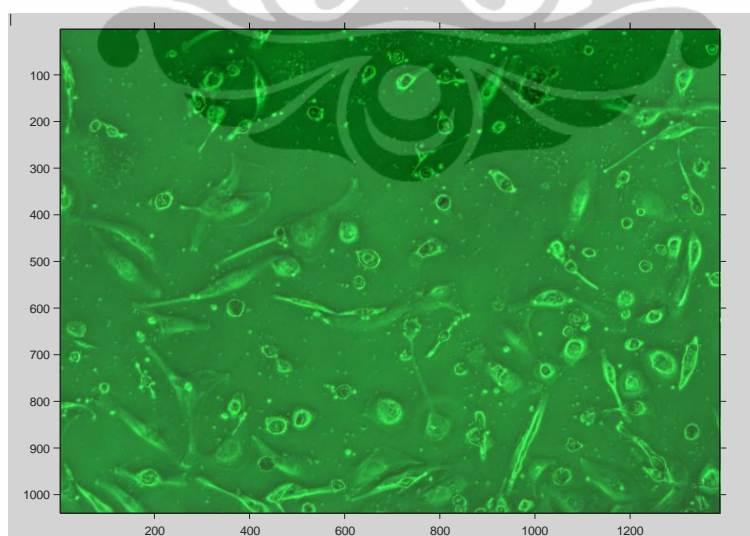
#### 4.7.1 Perangkaian Program Perhitungan Jumlah Sel

Program dengan software MatLab, dimulai dengan melakukan pembacaan file yaitu file yang berasal dari penyimpanan citra dari Microscop Inverted Axio Observer A1 pada pembesaran 5X dalam bentuk “.jpg”.

Sebagai contoh salah satu perangkaian program untuk satu file citra adalah sbb:

- Pembacaan File

```
>> I=imread('SNAP-144049-0058.jpg'); figure,imshow(I);
```

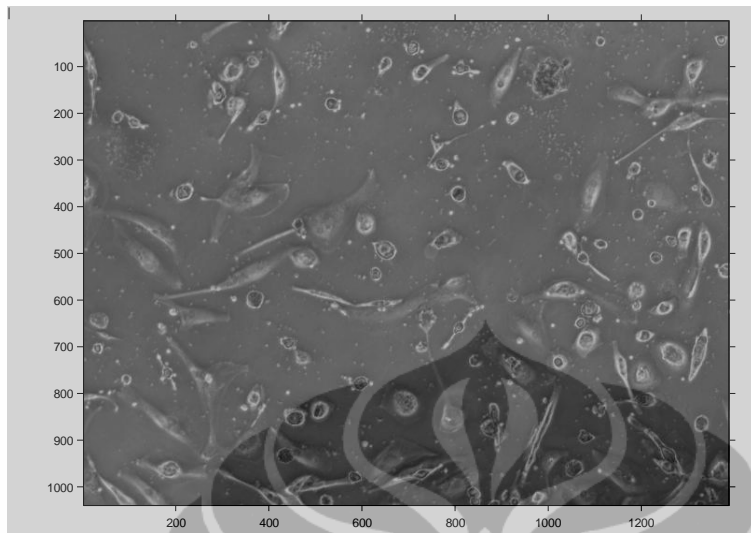


**Gambar 4.18 Hasil Pembacaan File dengan Matlab Program**

*Keterangan: Citra asli yang didapat dari Microscop Inverted*

- Perubahan tipe file dari RGB menjadi Keabuan

```
>>J = rgb2gray(I); figure, imshow(J);
```

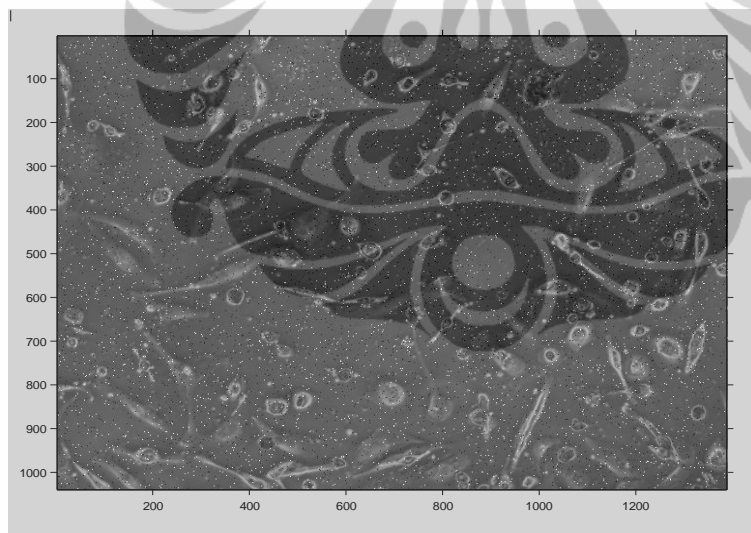


**Gambar 4.19 Hasil Perubahan Citra Keabuan**

*Keterangan: Citra diubah dari warna menjadi keabuan*

- Penghilangan gangguan/Noise

```
>>K = imnoise(J,'salt & pepper',0.02); figure, imshow(K);
```

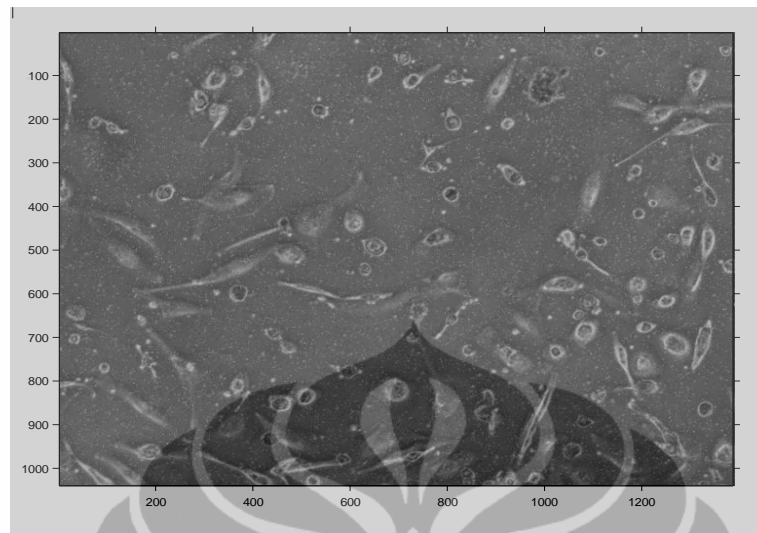


**Gambar 4.20 Hasil Pemberian Gangguan pada Citra**

*Keterangan: Citra dianalisa untuk penghilangan gangguan*

- Penambahan filter

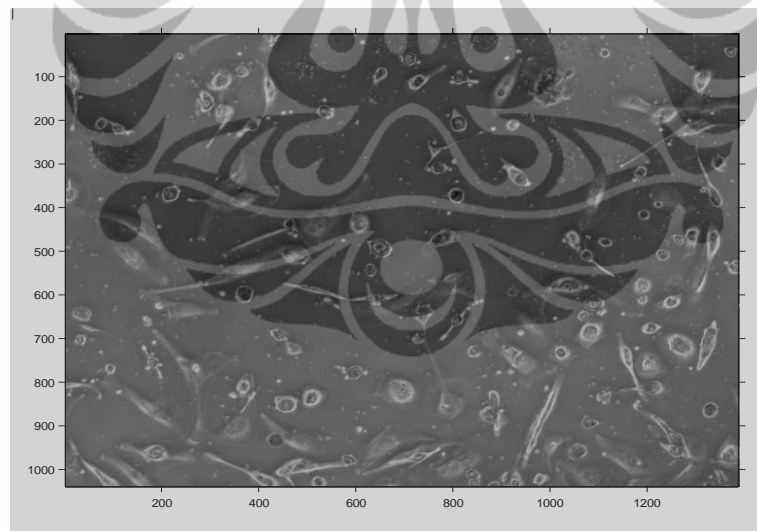
```
>>L = filter2(fspecial('average',3),K)/255; figure, imshow(L)
```



**Gambar 4.21 Hasil Penambahan Filter pada Citra**

*Keterangan: Penambahan saringan/filter untuk penghilangan gangguan*

```
>>M = medfilt2(K,[3 3]); figure, imshow(M);
```



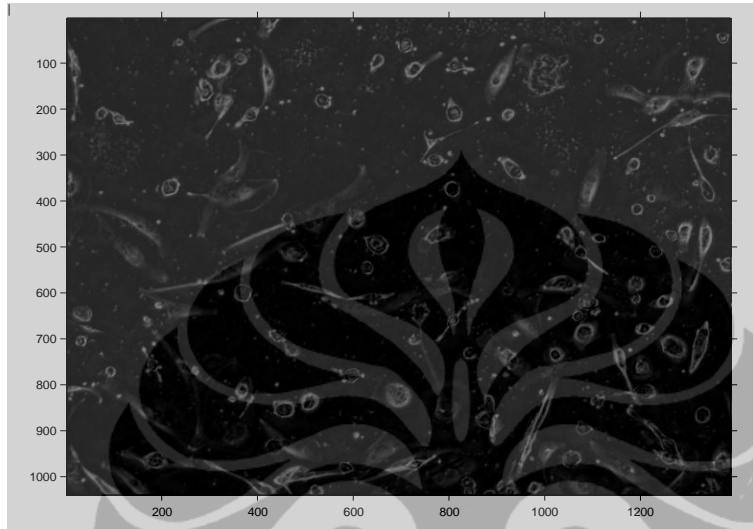
**Gambar 4.22 Hasil Penambahan Filter Kedua pada Citra**

*Keterangan: Penambahan saringan/filter kedua untuk penghilangan gangguan*



- Pentafsiran Morfologi Sel

```
>>se = strel(ones(3,3),magic(3));getheight(se) ; NHOOD = getnhood(se)
>>se = strel(eye(5));se = strel('disk',20);
>>N = imtophat(M,se); figure, imshow(N);
```

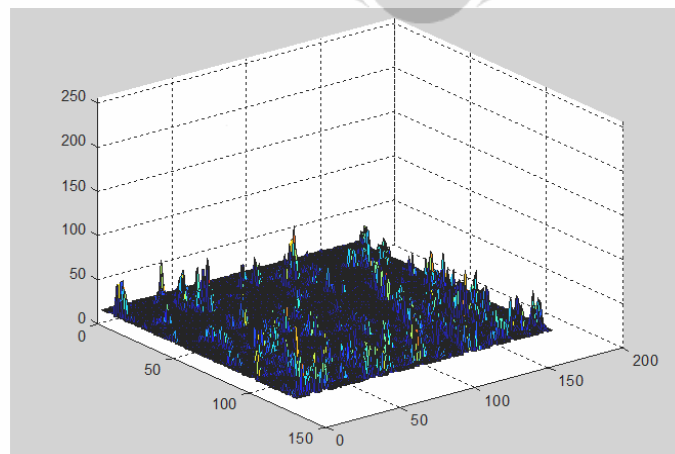


**Gambar 4.23 Hasil Penafsiran Morfologi Sel pada Citra**

*Keterangan: Pengfokusan citra pada morfologi objek objek tiga dimensi yang ada*

- Penggunaan Morfologi opening untuk memperkirakan latar belakang citra

```
>>background = imopen(N,strel('ball',5,15));
>>figure, surf(double(background(1:8:end,1:8:end))),zlim([0 255]);
>>set(gca,'ydir','reverse');
```

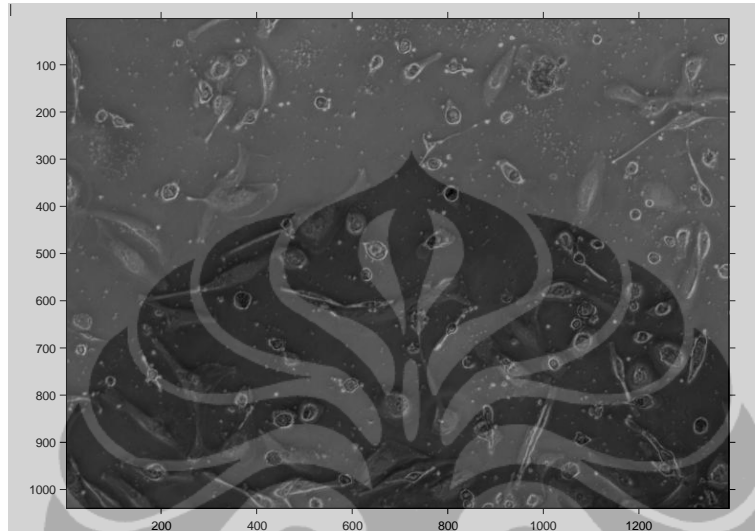


**Gambar 4.24 Perkiraan Jumlah Objek setelah Morfologi Opening**

*Keterangan: Latar belakang di hilangkan untuk mendapatkan Objek objek tiga dimensi*

- Penciptaan latar belakang citra yang lebih seragam, yaitu pengurangan latar belakang citra yang dilakukan dari citra awal

`>>P = J - background; figure, imshow(P);`

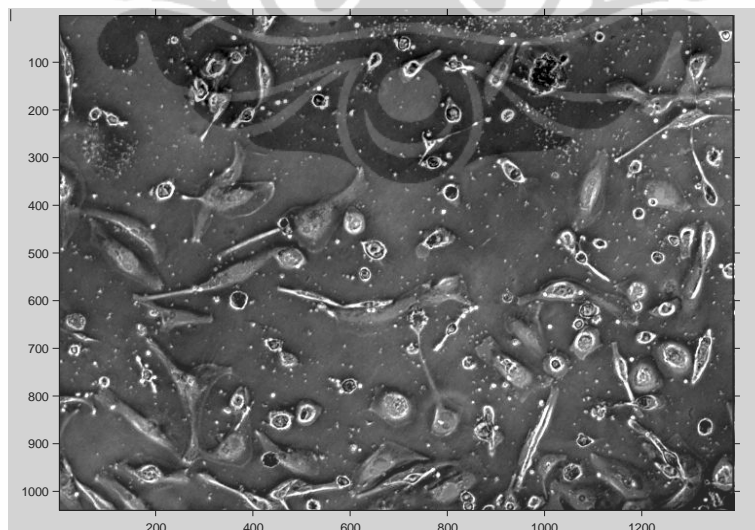


**Gambar 4.25 Hasil Penyeragaman Latar Belakang Citra**

*Keterangan: Latar belakang diseragamkan*

- Peningkatan Kontras Citra

`>>Q = imadjust(P); figure, imshow(Q);`



**Gambar 4.26 Hasil Peningkatan Kontras Citra**

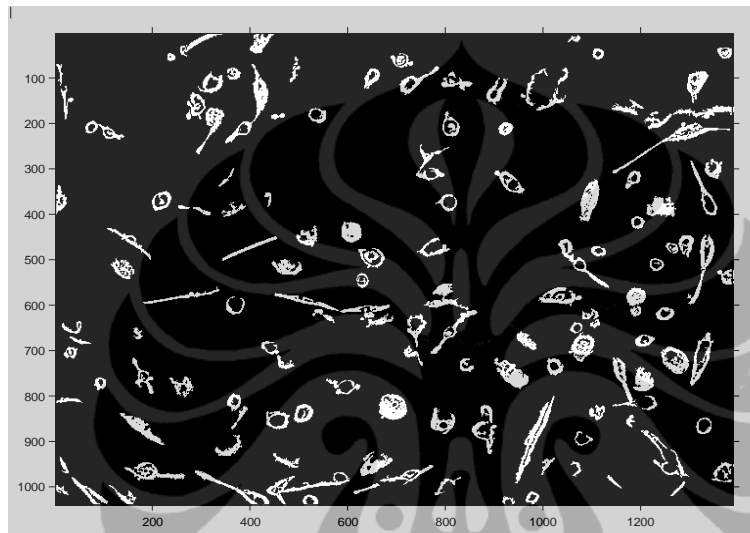
*Keterangan: Objek objek dimunculkan dengan meningkatkan kontras setelah penyeragaman latar belakang*

- Perubahan Citra keabuan menjadi citra Binari dengan menggunakan thresholding. Fungsi secara otomatis menghitung threshold yang sesuai untuk mengubah citra keabuan.

```
>>level = graythresh(Q);bw = im2bw(Q,level);
```

- Penghilangan Gangguan pada Latar Belakang

```
>>bw = bwareaopen(bw, 200); figure, imshow(bw)
```



**Gambar 4.27 Hasil Penghilangan Gangguan dan Pengidentifikasi Objek**

*Keterangan: Citra dirubah menjadi citra binary untuk mendapatkan ukuran objek.*

- Pengidentifikasian objek pada citra dilakukan dengan fungsi `bwconncomp` yang menemukan koneksi antara komponen pada citra binari. Keakuratan hasil tergantung pada ukuran objek, konektifitas parameter (4,8,arbitrary), dan kedekatan antara objek (saling berdekatan/menempel satu sama lain). Identifikasi objek sel ini juga menghasilkan jumlah sel yang terdapat pada satu citra dengan mengklasifikasi besaran diameter sel atau panjang sel, yang menjadi kunci keakuratan pada step sebelumnya yaitu step Penafsiran Morfologi Sel. Pada hasil koneksi komponen citra binari ini berhubungan dengan penafsiran morfologi sel, sehingga didapatkan jumlah objek yang menandakan jumlah sel, seperti hasil pembacaan program berikut:



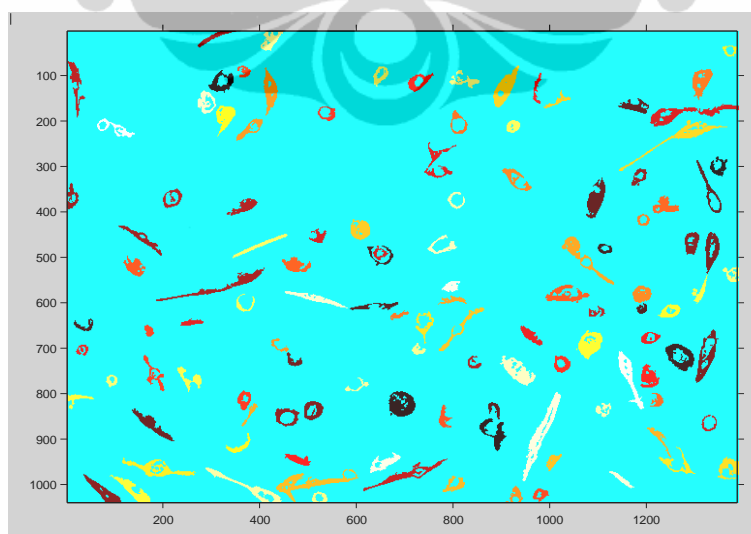
```
>>cc = bwconncomp(bw, 26)
cc =
Connectivity: 26
ImageSize: [1038 1388]
NumObjects: 142
PixelIdxList: {1x142 cell}
```

Perhitungan jumlah sel selesai pada langkah ini, namun akan lebih menarik bila sel sel juga dapat dibedakan melalui morfologinya. Berdasarkan keterbatasan dana penelitian, maka perbedaan dapat juga dilakukan melalui pemrograman Matlab secara sederhana.

Perbedaan jenis sel pada MATLAB dapat dilakukan melalui identifikasi warna dan luas area dari beberapa jenis sel yang telah dibedakan pewarnaannya seperti langkah berikut, juga dapat dipaparkan melalui diagram Histogram.

- Pengidentifikasian objek pada citra berdasarkan morfologi bentuk sel.

```
>>grain = false(size(bw));grain(cc.PixelIdxList{50}) = true;
>>labeled = labelmatrix(cc);
>>RGB_label = label2rgb(labeled, @hot, 'c', 'shuffle');
>>Figure, imshow(RGB_label);
```

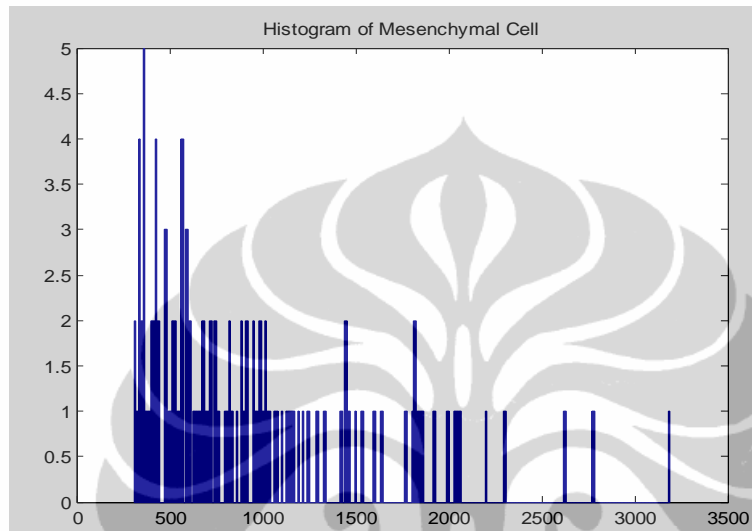


**Gambar 4.28 Hasil Pengidentifikasian Objek berdasarkan Warna**

*Keterangan: Objek objek dapat diidentifikasi berdasarkan perbedaan warna*

- Pengidentifikasian objek pada citra berdasarkan morfologi bentuk sel.

```
>>graindata = regionprops(cc, 'basic'); graindata(50).Area;
>> grain_areas = [graindata.Area];[min_area, idx] = min(grain_areas);
>>grain = false(size(bw));nbins = 226;
>>figure, hist(grain_areas, nbins),title('Histogram of Mesenchymal Cell');
```



**Gambar 4.29 Histogram Identifikasi Jumlah Objek berdasarkan Warna**

*Keterangan: histogram jumlah objek yang telah diidentifikasi dengan perbedaan warna*

Penentuan visiabilitas sel dengan metode perhitungan program Matlab ini dapat juga diakomodir melalui perbedaan kontras dan kecerahan (brightness) antara sel hidup dan sel mati. Sel sel hidup memiliki kontras dan kecerahan yang lebih tinggi dibanding sel yang mati pada penyinaran Mikroskop Inverted, sehingga hal ini dapat ditentukan melalui pengaturan kontras dan kecerahan citra yang seragam pada sel hidup. Kesalahan 5 hingga 10% dalam penentuan visiabilitas sel ini dapat ditolerir.

#### 4.7.2 Hasil Perhitungan Jumlah Sel Punca Mesenkim Asal Darah Tepi

Perhitungan sel melalui pencitraan ini memerlukan tingkat kesabaran yang tinggi, terutama saat pengambilan citra melalui mikroskop inverted agar dapat mencakup seluruh permukaan cawan kultur. Untuk hal ini diperlukan sekitar 600-700 foto dengan pembesaran mikroskop 5 kali pada setiap cawan kulturnya.

Pemograman Matlab dapat dilakukan secara simultan tanpa menampilkan setiap step atau citra pada setiap langkah program melainkan langsung menampilkan langkah pada tampilan jumlah sel saja. Perhitungan sel sel pada citra dalam satu cawan kultur kemudian ditambahkan satu sama lain dan menghasilkan jumlah sel dalam cawan kultur.

Keakuratan hal ini divalidasi dengan perhitungan manual pada tiga orang penghitung terhadap 500 citra yang terkumpul dan analisa statistik *F-Test Two Sample for Variance* digunakan untuk membandingkan performansi perhitungan manual masing masing personal terhadap perhitungan otomatis Matlab. Analisa ini menyediakan hasil test untuk hipotesa nol bahwa kedua jenis perhitungan berasal dari distribusi varians yang sama atau alternative bahwa distribusi variansnya tidak serupa. Hasil Analisa ditampilkan pada tabel di bawah ini:

**Tabel 4.9 Analisa F Test Two Sample untuk Varians Perhitungan Jumlah Sel**

F-Test Two-Sample for Variances		
	<i>Personal A</i>	<i>Matlab</i>
Mean	51.672	50.626
Variance	1054.28499	1004.326778
Observations	500	500
df	499	499
<b>f</b>	<b>1.04974298</b>	
P(F<=f) one-tail	0.29393943	
F Critical one-tail	1.15882659	
	<i>Personal B</i>	<i>Matlab</i>
Mean	49.808	50.626
Variance	1006.86487	1004.326778
Observations	500	500
df	499	499
<b>f</b>	<b>1.00252715</b>	
P(F<=f) one-tail	0.48876073	
F Critical one-tail	1.15882659	
	<i>Personal C</i>	<i>Matlab</i>
Mean	49.554	50.626
Variance	963.738561	1004.326778
Observations	500	500
df	499	499
<b>f</b>	<b>0.95958664</b>	
P(F<=f) one-tail	0.32257498	
F Critical one-tail	0.86294188	

Analisa ini menghitung nilai  $f$  dari F-Statistik (atau F-rasio). Nilai  $f$  yang mendekati 1 bermakna untuk membuktikan bahwa varians populasi adalah serupa terhadap kelompok yang dibandingkan. Jadi Perhitungan dengan manual perorangan terhadap perhitungan dengan menggunakan Matlab adalah serupa Jika  $f < 1$ , maka “ $P(F \leq f)$  one tail“ memberikan probabilitas data dari F-statistik kurang dari  $f$  jika varians populasi adalah serupa dan “F Critical one-tail“ memberikan nilai kritikal kurang dari 1 untuk tingkat signifikan yang dipilih. Jika  $f > 1$ , maka “ $P(F \leq f)$  one tail“ memberikan probabilitas data dari F-statistik lebih besar dari  $f$  jika varians populasi adalah serupa dan “F Critical one-tail“ memberikan nilai kritikal lebih besar dari 1 untuk tingkat signifikan yang dipilih.

Untuk meneliti efek daerah magnet statis pada sel, pengembangan sel ditunggu hingga kultur mencapai konfluensi atau titik jenuh pada hari ke 5-6, dan perkembangan sel mesenkim dapat dilihat pada hari ke 8 atau 9. Karena itu saat minggu pertama penanaman sel Mesenkim belum dapat terlihat pengembangan sel Mesenkim dan masih sulit dilakukan perhitungan. Pengambilan foto kemudian baru dapat dilakukan pada Hari ke-9, Hari ke-12, Hari ke-16, Hari ke-23 dan hingga hari terakhir periode penanaman yaitu Hari ke-28.

Seluruh hasil perhitungan Cawan dituangkan pada tabel berikut :

**Tabel 4.10 Perhitungan Jumlah Sel berdasarkan Program Matlab**

	Hari ke-9	Hari ke-12	Hari ke-16	Hari ke-19	Hari ke-23	Hari ke-28
KONTROL	534612	635904	908316	395888	167821	13377
2 JAM	503187	856980	996084	400028	364228	23754
4 JAM	517334	954684	1093788	481911	409860	31429
6 JAM	470166	621828	791568	266892	18068	3797
18 JAM	410964	521640	705456	300495	291870	8710
24 JAM	267089	696348	714564	250976	117007	22367

Untuk menganalisa data yang didapat, maka digunakan analisa data varians sederhana dengan menggunakan Anova: Single Factor. Analisa ini memperhatikan test dari hipotesa bahwa setiap data yang didapatkan berada pada distribusi probabilitas yang sama terhadap hipotesa alternative distribusi

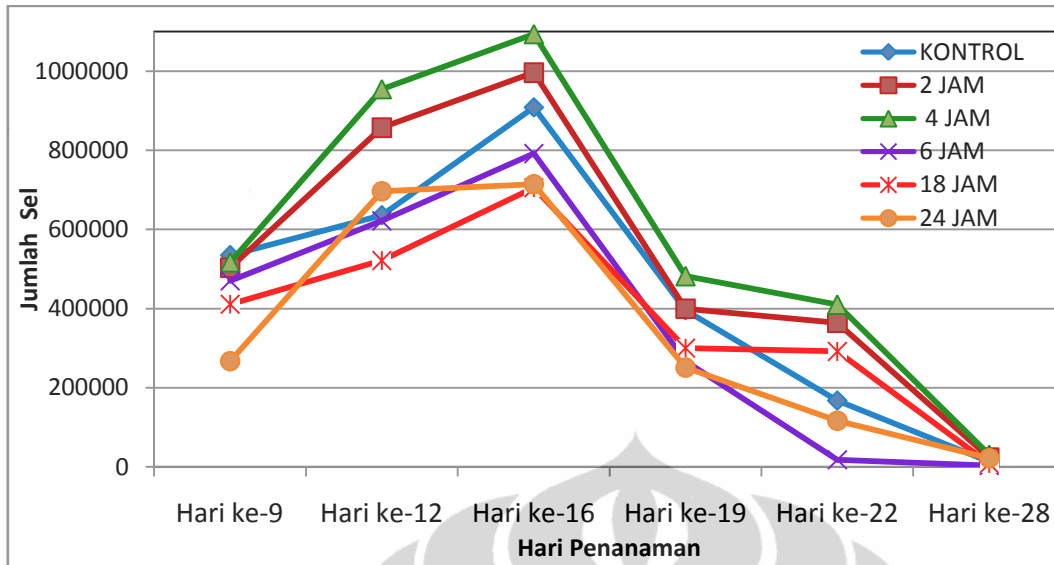
probabilitas yang tidak serupa untuk semua data. Karena terdapat lebih dari 2 kelompok data, maka digunakan Anova Single Factor ini dengan hasil berikut:

**Tabel 4.11 Analisa Anova Single Factor Data Jumlah Sel**

SUMMARY						
<i>Groups</i>	<i>Count</i>	<i>Sum</i>	<i>Average</i>	<i>Variance</i>		
KONTROL	6	2655917.05	442652.8409	1.04928E+11		
2 JAM	6	3144260.93	524043.4881	1.25063E+11		
4 JAM	6	3489006.73	581501.1222	1.49556E+11		
6 JAM	6	2172319.14	362053.1905	1.03877E+11		
18 JAM	6	2239135	373189.1667	55721629631		
24 JAM	6	2068350.89	344725.1488	86201220582		
ANOVA						
<i>Source of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Between Groups	2.801E+11	5.000E+00	5.602E+10	0.5375	0.7462	2.5336
Within Groups	3.127E+12	3.000E+01	1.042E+11			
Total	3.40685E+12	35				

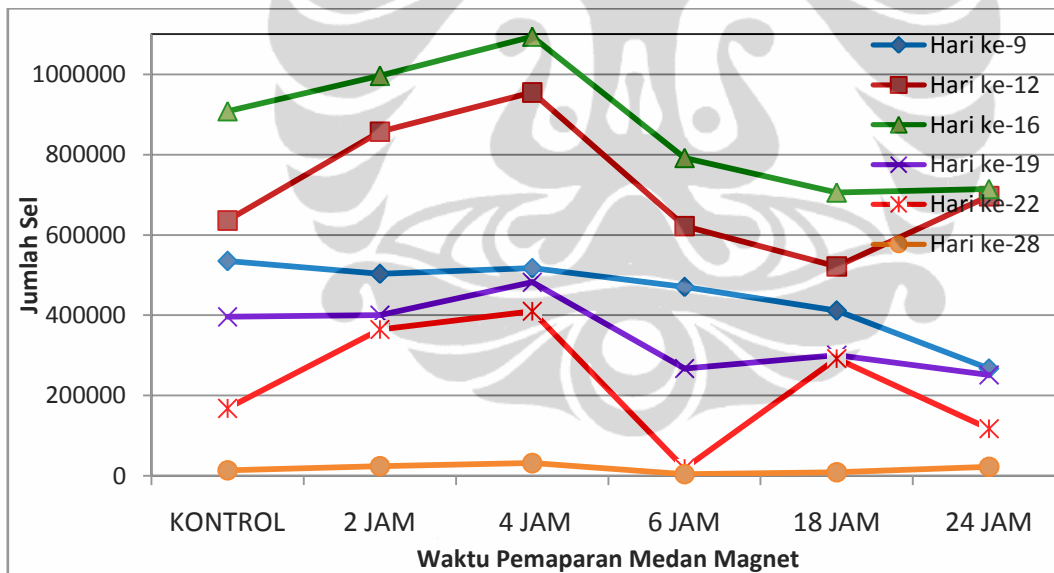
Dengan nilai  $P > 0.05$  maka data data dari keenam kelompok yang didapat ini signifikan berbeda satu sama lain.

Untuk Penggambaran grafik pertumbuhan sel dilihat dari jumlah sel per hari pengamatan adalah sebagai berikut:



**Gambar 4.30 Jumlah Sel terhadap Waktu Pengkulturan**

*Keterangan: Jumlah sel meningkat untuk semua groups hingga hari ke 16 dan menurun setelahnya. Peningkatan tertinggi terlihat pada paparan 4 jam dan paparan 2 jam.*



**Gambar 4.31 Jumlah Sel terhadap Waktu Pemaparan Medan Magnet**

*Keterangan: Jumlah sel tertinggi untuk semua groups terlihat pada hari ke-16 dan setiap grafik mencapai puncaknya pada paparan 4 jam.*

Pada hasil plot grafik, seluruh kultur mengalami peningkatan terus menerus selama periode penanaman, dan terus meningkat hingga hari ke-16.

- Peningkatan jumlah sel kelompok eksperimen kontrol tanpa paparan meningkat 1,7 kali lipat dari hari ke-9 hingga hari ke-16, dan 0,7 kali lipat dari hari ke-12 hingga hari ke-16.
- Peningkatan jumlah sel kelompok paparan 2 jam/hari meningkat 1,98 kali lipat dari hari ke-9 hingga hari ke-16, dan 0,86 kali lipat dari hari ke-12 hingga hari ke-16.
- Peningkatan jumlah sel kelompok paparan 4 jam/hari meningkat 2,1 kali lipat dari hari ke-9 hingga hari ke-16 dan 0,87 kali lipat dari hari ke-12 hingga hari ke-16.
- Peningkatan jumlah sel kelompok paparan 6 jam/hari meningkat 1.68 kali lipat dari hari ke-9 hingga hari ke-16 dan 0,78 kali lipat dari hari ke-12 hingga hari ke-16.
- Peningkatan jumlah sel kelompok paparan 18 jam/hari meningkat 1.7 kali lipat dari hari ke-9 hingga hari ke-16 dan 0,74 kali lipat dari hari ke-12 hingga hari ke-16.
- Peningkatan jumlah sel kelompok paparan 24 jam/hari meningkat 2,67 kali lipat dari hari ke-9 hingga hari ke-16 dan 0,97 kali lipat dari hari ke-12 hingga hari ke-16.

**Tabel 4.12 Tingkat Kenaikan Jumlah Sel terhadap Waktu Pemaparan**

	<b>Tingkat Kenaikan (Kali Lipat)</b>		
	Hari ke-9 / Hari ke-16	Hari ke-9 / Hari ke-12	Hari ke-12 / Hari ke-16
KONTROL	1.70	1.19	0.70
2 JAM	1.98	1.70	0.86
4 JAM	2.11	1.85	0.87
6 JAM	1.68	1.32	0.79
18 JAM	1.72	1.27	0.74
24 JAM	2.68	2.61	0.97
Average All	1.98	1.66	0.82
Average w/o Control	2.03	1.75	0.85

Hampir semua kelompok eksperimen paparan meningkat lebih cepat daripada kelompok kontrol. Selanjutnya, peningkatan yang signifikan di atas nilai

rata rata dalam perbandingan terhadap variasi waktu paparan terlihat pada kelompok sampel paparan 2 jam, 4 jam dan 24 jam, hingga hari ke-16 penanaman. Penurunan jumlah sel dimulai dari hari ke 16 atau 17 hingga hari terakhir penanaman, dengan penurunan signifikan di atas nilai rata rata terjadi pada Kelompok sampel paparan 6 jam per hari dan 18 jam per hari, terutama dibandingkan terhadap hari puncak jumlah sel yaitu hari ke-16.

**Tabel 4.13 Tingkat Penurunan Jumlah Sel terhadap Waktu Pemaparan**

	<b>Tingkat Penurunan (Kali Lipat)</b>					
	Hari ke-16/ Hari ke-28	Hari ke-16/ Hari ke-22	Hari ke-16/ Hari ke-19	Hari ke-19/ Hari ke-22	Hari ke-19/ Hari ke-28	Hari ke-22/ Hari ke-28
KONTROL	67.90	5.41	2.29	2.36	29.59	12.55
2 JAM	41.93	2.73	2.49	1.10	16.84	15.33
4 JAM	34.80	2.67	2.27	1.18	15.33	13.04
6 JAM	208.47	43.81	2.97	14.77	70.29	4.76
18 JAM	80.99	2.42	2.35	1.03	34.50	33.51
24 JAM	31.95	6.11	2.85	2.14	11.22	5.23
Average All	77.67	10.53	2.54	3.76	29.63	14.07
Average w/o Control	79.63	11.55	2.58	4.04	29.64	14.37

Berdasarkan tingkat kenaikan jumlah sel, dapat diketahui bahwa pada saat sel mengalami siklus perkembangan yaitu dari hari pertama penanaman hingga hari ke -16, terlihat Paparan magnet 2 jam per hari dan Paparan magnet 4 jam per hari mengalami peningkatan jumlah sel yang cukup signifikan dibanding kelompok kontrol dan kelompok paparan lainnya. Dan pada saat siklus sel mengalami penurunan kelangsungan hidupnya, terlihat penurunan drastis terjadi pada kelompok paparan magnet 6 jam per hari. Sedangkan paparan magnet 2 jam dan 4 jam per hari menduduki peringkat penurunan yang cukup rendah dibanding kelompok kontrol dan kelompok paparan lainnya.

#### 4.7.3 Morfologi Paparan melalui Analisa Citra

Salah satu penggabungan seluruh foto pada salah satu cawan sampel paparan magnet 4 jam per hari ditunjukkan pada gambar berikut ini:



Pengambilan Gambar Dalam Satu Cawan berkisar 600 hingga 700 foto. Penggabungan seluruh foto dilakukan dengan Microsoft Office Excel 2007.



**Gambar 4.32 Penggabungan Seluruh Foto pada Cawan Kultur**

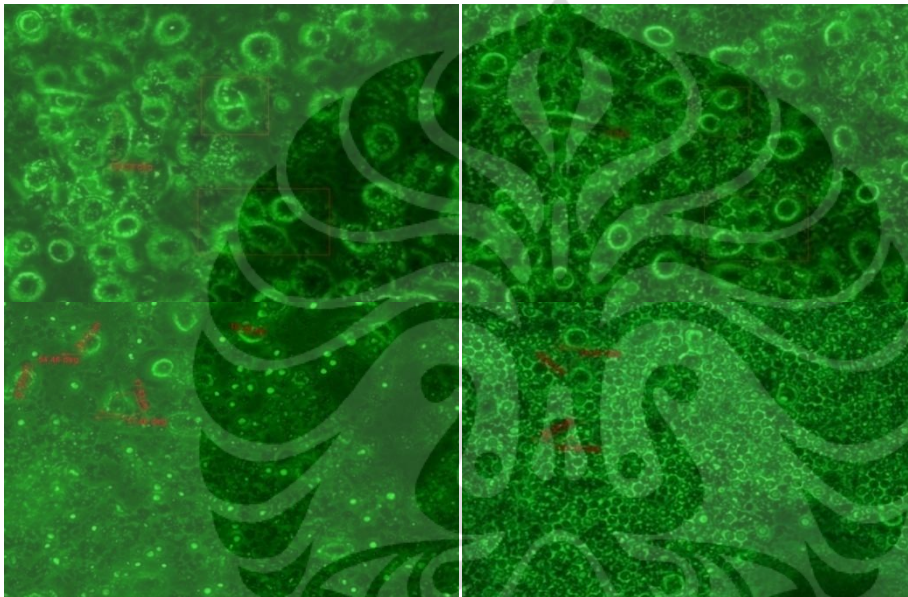
*Keterangan: Penggabungan foto menjadi kesatuan satu cawan kultur setelah penyimpanan secara simultan pada setiap titik pelacakan citra.*

Pada hasil perangkaian citra kembali untuk keseluruhan citra cawan kultur, walaupun tidak menunjukkan kesempurnaan hasil pengambilan citra namun hasil kekurangan 5 hingga 10% dapat peneliti anggap mengakomodasi hasil perhitungan jumlah sel pada cawan petri.

Jika diperhatikan pada bagian tengah cawan terlihat warna cawan yang lebih gelap, hal ini menandakan pada bagian citra berdensitas fluks warna lebih gelap memiliki jumlah sel yang lebih banyak dibanding citra berdensitas cerah. Bagian tengah memiliki intensitas warna yang lebih gelap seiring dengan penempatan magnet pada bagian cawan kultur yang berdiameter 2,5 cm,

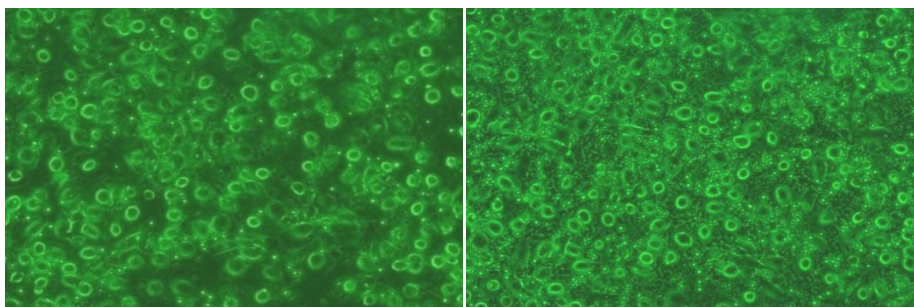
menyisakan masing masing 0.5 cm pada bagian sisi sisi cawan kultur. Pada bagian saat magnet disk ditempatkan inilah, media pada kultur mengalami efek daerah koloni sel yang mengikuti bentuk magnet yaitu bulat atau disk pada bagian tengah kultur seperti yang terlihat saat citra digabungkan membentuk kembali citra keseluruhan satu cawan kultur.

Hal ini dapat diperhatikan lebih lanjut seperti yang terlihat pada gambar berikut:



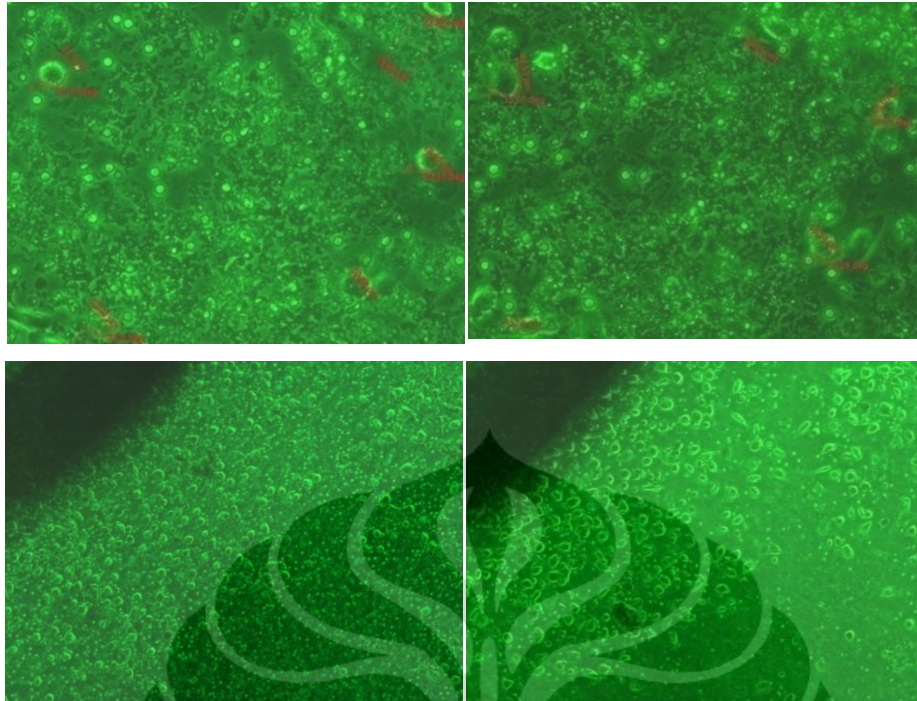
**Gambar 4.33 Perbandingan Morfologi Sel pada 4 jam Paparan Magnet**

*Keterangan: Citra sel sebelum paparan (Kiri) dan setelah 4 jam paparan (kanan) dengan kepadatan yang tinggi setelah paparan pada pembesaran 20x(atas) dan 10x(bawah).*



**Gambar 4.34 Perbandingan Morfologi Sel pada 2 Jam Paparan Magnet**

*Keterangan: Citra Sel sebelum paparan (Kiri) dan Setelah 2 jam Paparan (Kanan) memperlihatkan kepadatan yang tinggi setelah 2 jam paparan.*



**Gambar 4.35 Morfologi Sel Sebelum Paparan (Kiri) dan Setelah 6 Jam Paparan Medan Magnet (Kanan)**

*Keterangan: Citra sel sebelum paparan (Kiri) dan setelah 6 jam paparan (kanan) memperlihatkan kejelasan morfologi sel setelah paparan pada pembesaran 20x(atas) dan 10x(bawah).*

Citra diamati pada tempat yang sama dengan menelusuri tanda yang dibuat di bawah cawan, pada Gambar Atas dengan pembesaran mikroskop yang sama terlihat perbedaan antara kultur yang belum terpapar dan yang terpapar 2 jam. Dapat diperhatikan adanya perbedaan kepadatan sel sel setelah terjadinya paparan. Medan magnet menstimulasi keaktifan sel sel berdiameter kecil untuk berkembang sehingga teraktifasi untuk membentuk sel Mesenkim. Larutan media juga terlihat teraktifasi dengan adanya paparan medan magnet ini.

Demikian juga terlihat pada paparan medan magnet 4 jam, sel sel yang semula terlihat tidak aktif, mengalami aktifasi dan perkembangan bentuk saat terjadi paparan. Sel sel kecil yang diperkirakan adalah trombosit sebelum paparan, terlihat mengalami perkembangan yang disinyalir menjadi sel sel Mesenkim setelah paparan 4 jam. Namun validasi hal ini perlu diteliti lebih lanjut. Karena penelitian ini tidak memvalidasi jenis sel yang berkembang setelah paparan, melainkan hanya secara kasat mata membandingkan keadaan morfologi sel sebelum dan setelah paparan.

Pada paparan 6 jam, terlihat pertumbuhan sel yang semakin besar, yang kemungkinan secara normal, hal ini terjadi, namun terlihat media pertumbuhan yang lebih bersih dari adanya sel sel kecil trombosit, sehingga peneliti mensinyalir bahwa sel sel trombosit tersingkirkan dengan adanya paparan medan magnet, atau tidak bertahan hidup, melainkan hanya sel sel Mesenkim yang bertahan hidup.

#### 4.8 Pengukuran Kandungan $\text{Na}^+$ , $\text{K}^+$ dan $\text{Cl}^-$ pada Media Kultur

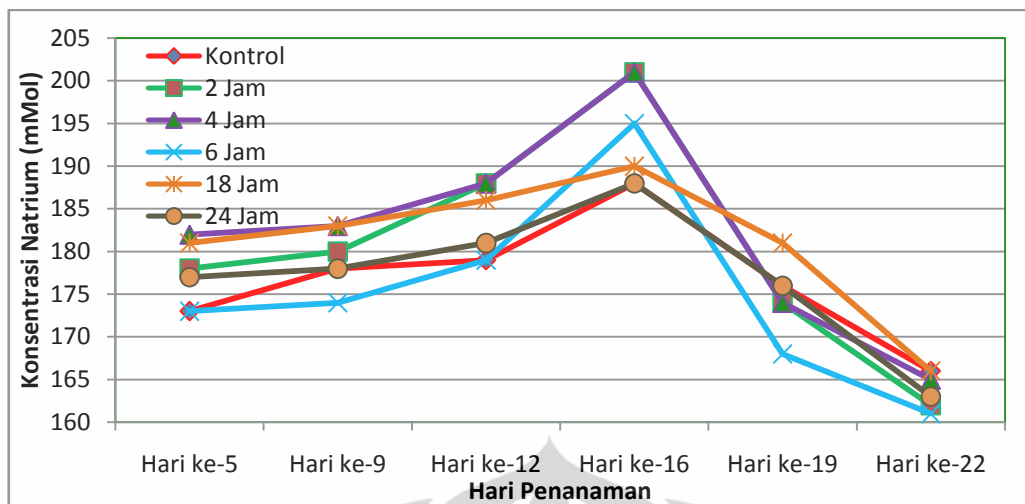
Pengukuran kandungan Natrium, Kalium, dan Klorida dilakukan pada setiap pergantian media kultur dengan menggunakan alat Elektrolisis Analizer Biolyte yang ada di Laboratorium Analisis Kimia Farma, Jakarta. Pengukuran ini dilakukan dengan mengukur setiap kandungan ion ion dalam media pada setiap pergantian media cawan kultur kelompok sampel dan kelompok paparan.

Pengukuran ini dilakukan setelah pergantian media pada kultur yang telah dipaparkan medan magnet. Hasil pengukuran tercantum pada tabel berikut:

**Tabel 4.14 Kandungan Ion Natrium dalam Media Kultur**

Kandungan Natrium dalam Media Kultur (mMol)						
Variasi Paparan	Hari ke-5	Hari ke-9	Hari ke-12	Hari ke-16	Hari ke-19	Hari ke-23
Kontrol	173	178	179	188	176	166
2 Jam	178	180	188	201	174	162
4 Jam	182	183	188	201	174	165
6 Jam	173	174	179	195	168	161
18 Jam	181	183	186	190	181	166
24 Jam	177	178	181	188	176	163



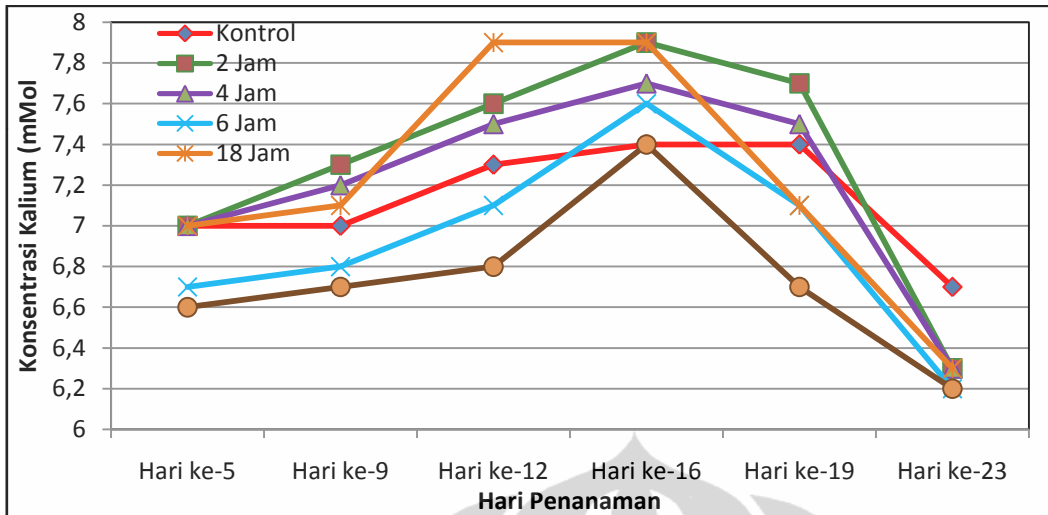


**Gambar 4.36 Kandungan Natrium Dalam Media Kultur**

*Keterangan: Kandungan ion  $\text{Na}^+$  menunjukkan grafik tertinggi pada hari ke-16 dan paparan 4 dan 2 jam berada pada posisi lebih tinggi dibanding kultur group lainnya.*

**Tabel 4.15 Kandungan Ion Kalium dalam Media Kultur**

Variasi Paparan	Kandungan Kalium dalam Media Kultur (mMol)					
	Hari ke-5	Hari ke-9	Hari ke-12	Hari ke-16	Hari ke-19	Hari ke-23
Kontrol	7	7	7.3	7.4	7.4	6.7
2 Jam	7	7.3	7.6	7.9	7.7	6.3
4 Jam	7	7.2	7.5	7.7	7.5	6.3
6 Jam	6.7	6.8	7.1	7.6	7.1	6.2
18 Jam	7	7.1	7.9	7.9	7.1	6.3
24 Jam	6.6	6.7	6.8	7.4	6.7	6.2

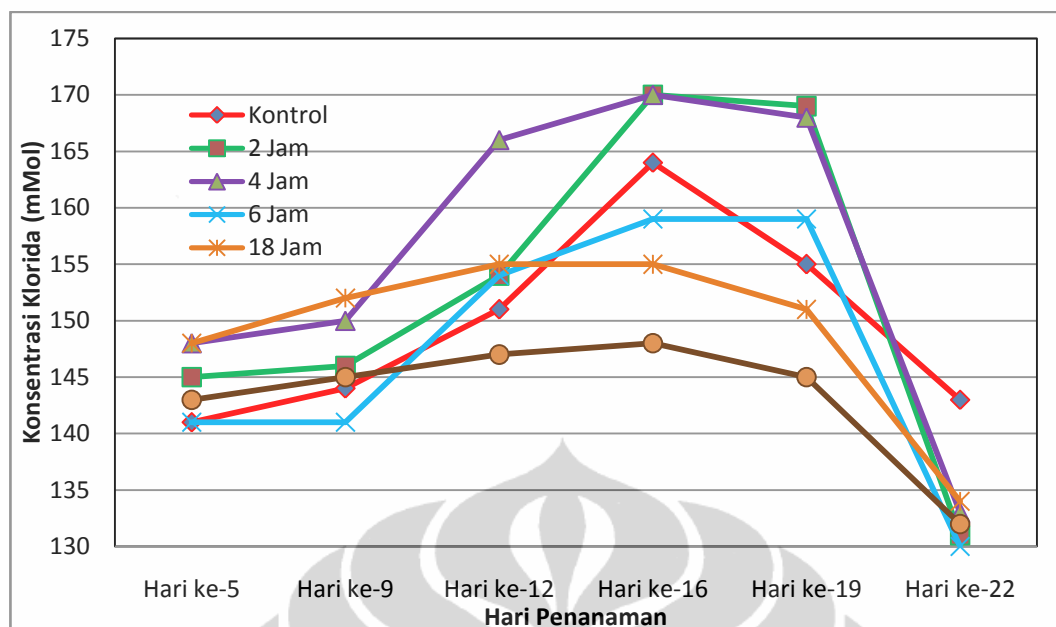


**Gambar 4.37 Kandungan Kalium Dalam Media Kultur**

*Keterangan: Kandungan ion  $K^+$  menunjukkan grafik tertinggi pada hari ke-16 dan paparan 4 dan 2 jam berada pada posisi lebih tinggi dibanding kultur group lainnya.*

**Tabel 4.16 Kandungan Ion Klorida dalam Media Kultur**

Variasi Paparan	Kandungan Klorida dalam Media Kultur (mMol)					
	Hari ke-5	Hari ke-9	Hari ke-12	Hari ke-16	Hari ke-19	Hari ke-23
Kontrol	141	144	151	164	155	143
2 Jam	145	146	154	170	169	131
4 Jam	148	150	166	170	168	133
6 Jam	141	141	154	159	159	130
18 Jam	148	152	155	155	151	134
24 Jam	143	145	147	148	145	132



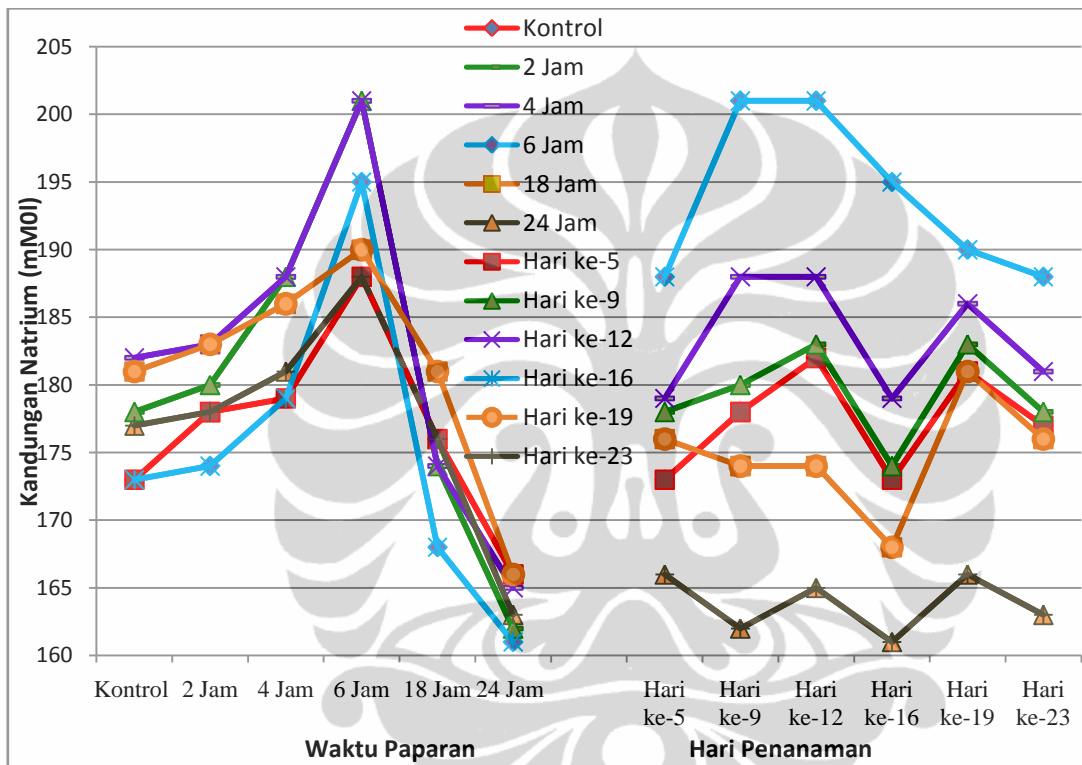
**Gambar 4.38 Kandungan Klorida dalam Media Kultur**

*Keterangan: Kandungan ion  $Cl^-$  menunjukkan grafik tertinggi pada hari ke-16 dan paparan 4 dan 2 jam berada pada posisi lebih tinggi dibanding kultur group lainnya.*

Pada plot hasil pengukuran terlihat bahwa ion ion Natrium, Kalium, dan Klorida dalam media kultur mengalami peningkatan seiring dengan peningkatan jumlah sel dalam kultur yaitu mengalami peningkatan dan mencapai puncaknya pada hari ke-16 kemudian menurun setelahnya.

Dari grafik perbandingan antara kelompok kontrol dan kelompok paparan pada kandungan ion Natrium, menunjukkan hasil yang seiring dengan peningkatan jumlah sel dalam kultur yaitu kultur 4 jam menduduki kandungan ion tertinggi, disusul dengan kelompok sampel paparan 2 jam, 18 jam, 24 jam, kelompok kontrol, dan kelompok 6 jam pada posisi terakhir.

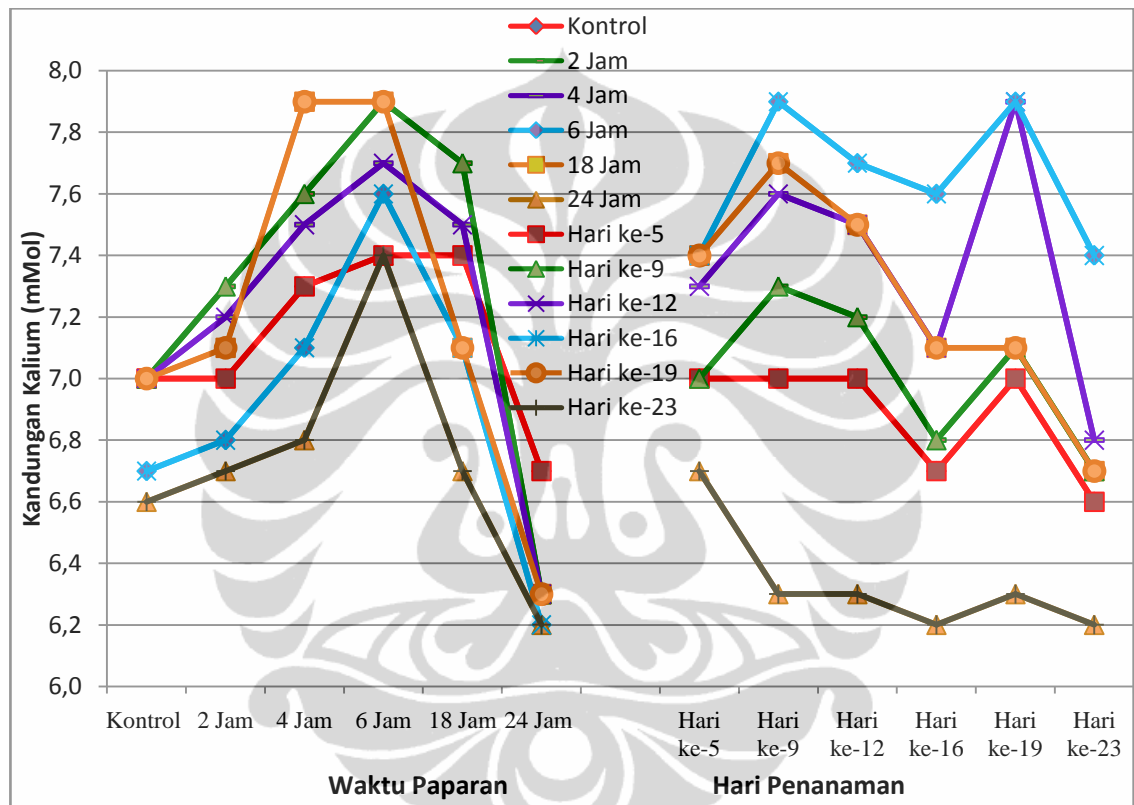
Sedikit perbedaan pada pengukuran ion ion Kalium, terlihat kelompok paparan 2 jam menduduki peringkat tertinggi, disusul kelompok paparan 4 jam, kelompok kontrol, dan terakhir 6 jam, dan 24 jam. Sedangkan kelompok paparan 18 jam mengalami meningkat sebelum hari ke-16, namun setelahnya mengalami penurunan drastis sehingga tingkat kandungan kaliumnya kurang daripada kelompok 2 dan 4 jam paparan. Pada pengukuran ion Klorida, kelompok kultur sampel paparan 4 jam dan 2 jam berada pada posisi paling tinggi disusul kelompok kontrol sedangkan kultur paparan 24 jam dalam kandungan terendah.



**Gambar 4.39 Perbandingan Kandungan  $\text{Na}^+$  dalam Media Kultur**

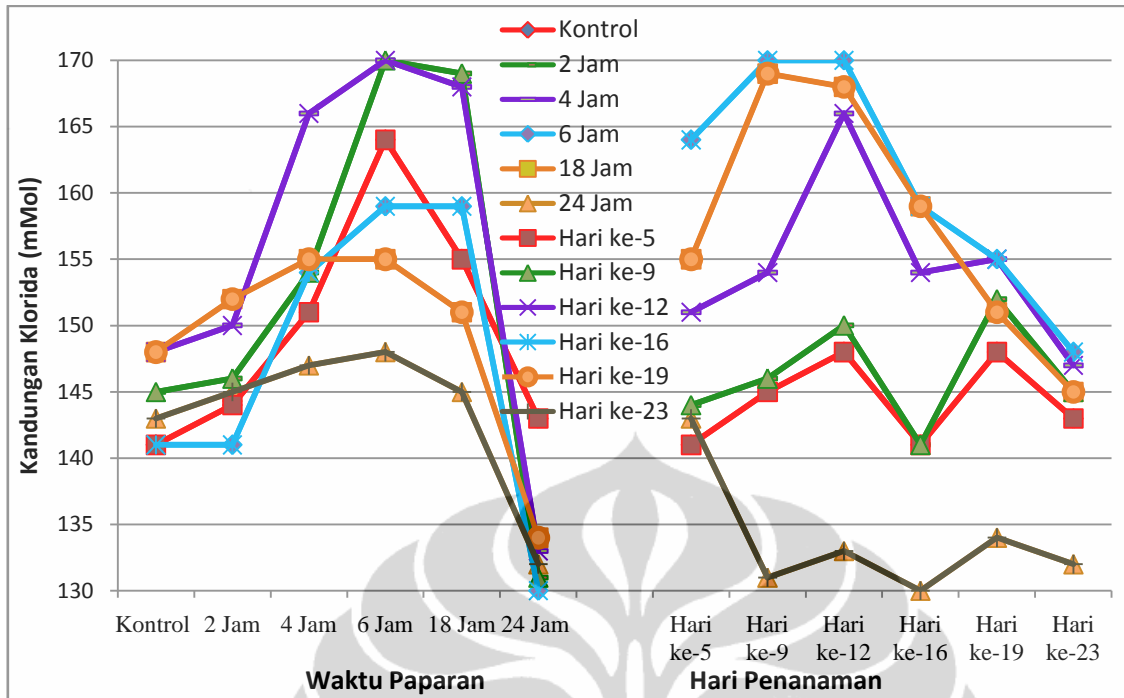
*Keterangan: Kandungan ion  $\text{Na}^+$  dalam media kultur terhadap waktu penanaman (Kiri) dan terhadap variasi waktu paparan (Kanan) menunjukkan hari ke-16 dan paparan 4 dan 2 jam sebagai grafik tertinggi dibanding hari dan group lainnya.*





**Gambar 4.40 Perbandingan Kandungan  $K^+$  dalam Media Kultur**

*Keterangan: Kandungan ion  $K^+$  dalam media kultur terhadap waktu penanaman (Kiri) dan terhadap variasi waktu pemaparan (Kanan) menunjukkan hari ke-16 dan paparan 4 dan 2 jam sebagai grafik tertinggi dibanding hari dan kultur lainnya.*



**Gambar 4.41 Perbandingan Kandungan  $Cl^-$  dalam Media Kultur**

*Keterangan: Kandungan ion  $Cl^-$  dalam media kultur terhadap waktu penanaman (Kiri) dan terhadap variasi waktu pemaparan (Kanan) menunjukkan hari ke-16 dan paparan 4 dan 2 jam sebagai grafik tertinggi dibanding hari dan kultur lainnya.*

#### 4.9 Efek Medan magnet pada Transportasi Ion Kalium dan Natrium

Zat terlarut yang ada dalam cairan tubuh terdiri dari elektrolit dan nonelektrolit. Nonelektrolit adalah zat terlarut yang tidak terurai dalam larutan dan tidak bermuatan listrik. Nonelektrolit terdiri dari protein, glukose, karbondioksida. Elektrolit (ion) adalah zat terlarut yang dalam larutan dan bermuatan listrik. Elektrolit tubuh mencakup natrium ( $Na^+$ ), kalium ( $K^+$ ), kalsium ( $Ca^+$ ), magnesium ( $Mg^{++}$ ), klorida ( $Cl^-$ ), bikarbonat ( $HCO_3^-$ ), fosfat ( $HPO_4^-$ ) dan sulfat ( $SO_4^-$ ). Konsentrasi elektrolit dalam cairan tubuh bervariasi pada satu bagian dengan bagian lainnya, dan dalam keadaan normal mereka harus berada pada bagian yang tepat dan dalam jumlah tepat.

Kation utama pada cairan ekstraseluler adalah Natrium dan anion utama adalah klorida dan bikarbonat, konsentrasi ini rendah pada cairan intraseluler. Pada cairan intraseluler kalium adalah kation utama dan fosfat adalah anion utama, dan sebaliknya konsentrasi elektrolit ini rendah pada cairan ekstraseluler.

Natrium sebagai partikel terbanyak pada cairan ekstraseluler memegang peranan penting dalam mengendalikan volume cairan tubuh total. Sedangkan kalium penting dalam pengendalian volume sel. Perbedaan konsentrasi kalium dan natrium di dalam dan di luar membran sel penting untuk mempertahankan perbedaan muatan listrik.

Berdasarkan teoritis membran sel, pemisahan beban atau muatan yang melintasi membran dapat menciptakan dua gaya penggerak terpisah dari ion-ion yang terdapat pada media intra dan ekstraselular. Hal ini terjadi karena:

- Terjadinya gaya penggerak elektrik akibat bagian dalam sel bermuatan lebih negatif daripada bagian luar sel. Dalam hal ini, jika membran terbuka, maka ion bermuatan positif [kation] akan tertarik ke dalam sel dan ion bermuatan negatif [anion] akan ditolak dari bagian dalam sel.
- Pemisahan muatan yang terjadi menciptakan gaya penggerak kimia. Dalam kasus ini, ion yang mengalir melalui bukaan membran menuju arah gradien rendah konsentrasinya. Sebagai contoh, ion natrium dan klorida akan mengalir dari luar ke dalam sel saat konsentrasi ion di luar sel sangat tinggi dan konsentrasi ion di dalam sel lebih rendah. Jika semua charge positif (+) dan (-) pada bagian dalam dan luar sel di jumlahkan secara terpisah, maka terdapat charge negatif bersih pada permukaan membrane intraselular. Sehingga bagian dalam sel lebih negatif daripada bagian luar sel.
- Sebaliknya ion Kalium, yang lebih terkonsentrasi dalam sel, akan keluar sel sehingga bagian luar sel menjadi bermuatan lebih positif. Dengan kata lain, Konsentrasi ion Kalium lebih tinggi pada bagian dalam daripada bagian luar, dan sebaliknya ion Natrium dan Klorida berkonsentrasi lebih rendah pada bagian dalam sel.

Pada kinerja sel, muatan listrik dan arus yang terjadi di dalamnya adalah karena adanya gerakan ion. Bagian Ekstraselular dan pusat sel bermuatan negatif akibat kehadiran asam amino, protein dan molekul glycolipids. Muatan positif terletak dekat dengan membran sel, yang mengandung natrium, kalium dan ion kalsium. Daerah ini, pada setiap sisi membran, menentukan dan mempertahankan perilaku listrik dari sel-sel tersebut.

Untuk penjabaran efek biologis terhadap medan magnet, teori utama tentang efek biologis terhadap medan magnet didasarkan pada kemungkinan adanya efek permeabilitas pada saluran saluran ion yang terdapat di membran. Hal ini dapat memberikan dampak terhadap pertumbuhan sel dan menyebabkan adanya perubahan biologis pada organisme.

Berdasarkan penelitian Panagopoulos & Karabarbounis (2002), nilai Permeabilitas magnetik relatif dari jaringan tissue adalah 1. Karena itu densitas fluks daerah magnetik di dalam sel hampir serupa dengan densitas fluks di luar sel.

Beberapa kemungkinan terhadap adanya dampak pertumbuhan sel dari paparan medan magnet yaitu:

- Adanya formasi dari radikal radikal bebas pada sel sel yang dipaparkan medan magnet.
- Adanya perubahan konsentrasi ion ion pada sel di bawah paparan medan magnet.

Blank & L.Soo (2001), menyatakan bahwa setiap perubahan dalam kegiatan transportasi membran terdeteksi oleh gerakan molekul dan ion yang melintasi membran plasma. Gerakan ini dapat menyebabkan perubahan pada aktivitas metabolik.

Potensial membran terjadi karena ion  $K^+$  menembus keluar membran sel, sedangkan muatan negatif terutama fosfat terlalu besar untuk bisa ikut menembus keluar. Ion  $Na^+$  juga berdifusi ke dalam sel mengikuti perbedaan konsentrasinya, tapi jauh lebih lambat dari ion  $K^+$ .

Efek daerah magnet memungkinkan adanya pengaturan aliran masuk kation melalui saluran saluran membran. Jika depolarisasi aliran masuk dilakukan oleh ion  $Na^+$ , maka ion  $Na^+$  akan ditolak secara terus menerus dengan mengkonsumsi energi ion Na, yaitu yang dilakukan oleh K-ATPase. Seleksi alam akan memilih larutan yang berbeda. Depolarisasi arus yang melewati membran sel dibawa oleh ion  $K^+$ , akan meninggalkan selnya dengan melakukan difusi melalui saluran basal K and saluran K lainnya. Ion  $K^+$  kemudian dikumpulkan oleh sel sel yang sesuai, kemungkinan dengan adanya cotransporter K-Cl seperti KCC4 (Boettger et al, 2002) dan KCC3 (Boettger et al, 2003), dan menyebar melalui

sistem gap junction (Kikuchi et al, 2000). Tidak satupun dari langkah-langkah pengangkutan mineral ini membutuhkan input langsung dari energi metabolisme seperti perpindahan ion secara pasif sepanjang gradient elektrokimia (gabungan)nya. Untuk memungkinkan depolarisasi influx atau aliran masuk  $K^+$  melalui saluran kation sel, maka diperlukan sesuatu yang menjadikan keadaan kaya atau “rich” ion  $K^+$  (~140mM) dan tertahan pada potensial positif 80 hingga ~100mV terhadap area ekstraselular normal (Hibino and Kurachi, 2006; Wangemann,2006).

Berdasarkan hal ini, peneliti berpendapat bahwa dengan adanya paparan medan magnet, perubahan konsentrasi ion yang terjadi juga menciptakan perubahan gerakan ion pada ekstraselular yang melintasi membran plasma, sehingga dapat dihipotesa bahwa paparan medan magnet meningkatkan percepatan pergerakan ion ion melalui daerah densitas fluks magnetik. Bidang yang terpapar medan magnet akan menghasilkan kekuatan pada ion ion untuk bergerak dan secara aktif terikat pada saluran protein dan mempengaruhi kondisi pembukaan gerbang saluran. Getaran akibat adanya garis densitas fluks medan magnet pada suatu waktu akan melebihi beberapa nilai kritis, sehingga terjadi perputaran atau pergerakan ion ion yang dapat memberikan signal palsu terhadap gerbang saluran pada membran sel, dan menyebabkan kesalahan pada keseimbangan elektrokimia membran sel serta kesinambungannya terhadap keseluruhan fungsi sel.

Gerakan ion ion  $Na^+$ ,  $K^+$  ke medium dari sitosol intraseluler dapat dicapai melalui pembukaan berbagai variasi saluran permeabel  $Na^+$  dan  $K^+$ , sehingga akan meningkatkan konsentrasi ion ekstraselular.

Peneliti membuktikan hal ini dari hasil pengukuran jumlah sel, terlihat adanya pergerakan aktif morfologi sel serta peningkatan pengukuran kandungan ion  $Na^+$ ,  $K^+$ , dan  $Cl^-$  pada media kultur. Daerah magnetik karenanya dapat memberikan efek pada konsentrasi ion ion sel.

Peningkatan yang signifikan terjadi pada faktor faktor di atas bervariasi tergantung paparan magnet yang dipaparkan. Kelompok terpapar 2 jam dan 4 jam terlihat memiliki konsentrasi ion  $Na^+$  lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol

dan paparan lainnya yang diukur pada hari yang sama. Kecenderungan hasil pengukuran konsentrasi ion  $K^+$  dan  $Cl^-$  serupa dengan konsentrasi ion  $Na^+$ .

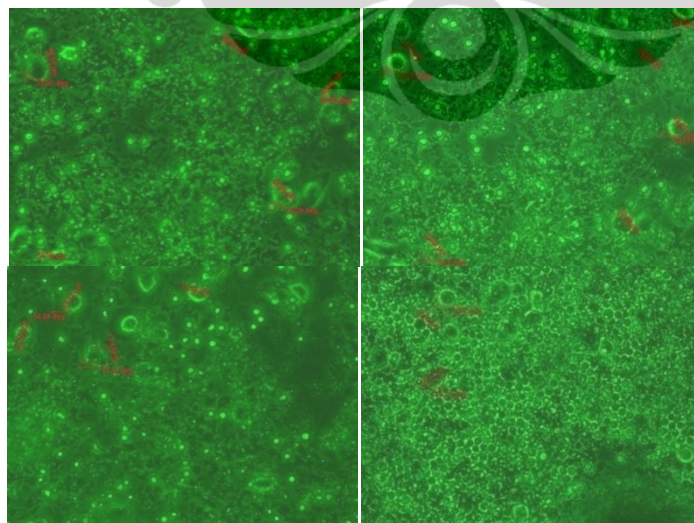
Puncak konsentrasi ion ion pada hari ke-16 menandakan adanya interaksi sel sel yang sangat aktif sehingga meningkatkan pengeluaran dan pemasukan ion ion  $Na^+$ ,  $K^+$  dan  $Cl^-$  dan mengakibatkan peningkatan konsentrasi ion ionekstraseluler yang terukur pada media kultur. Hasil ini menghubungkan pertumbuhan sel sel in vitro dan tertera pada hasil perhitungan jumlah sel.

#### 4.10 Efek Lain Akibat Paparan Medan Magnet

Selain mengamati dan mengukur laju proliferasi dan jumlah sel pada kultur kontrol dan sampel, peneliti juga mengamati beberapa efek lain yang disebabkan akibat adanya paparan medan magnet seperti

##### 4.10.1 Efek Orientasi Sel

Peneliti mengamati properti sel yang melekat pada bagian bawah kultur yang dipaparkan medan magnet, setelah pemaparan 2 jam dan 4 jam, peneliti mengamati adanya kecenderungan sel untuk memiringkan morfologi arah pertumbuhannya ke arah medan magnet statis yang berdensitas fluks 200 mT, seperti yang terlihat pada pengamatan berikut:



**Gambar 4.42 Perubahan Orientasi Sel Setelah 4 Jam Paparan**

*Keterangan: Citra Sel sebelum paparan (Kiri) dan Setelah 4 jam Paparan (Kanan) memperlihatkan perubahan orientasi sel pada pembesaran 20x (Atas) dan 10x (bawah).*

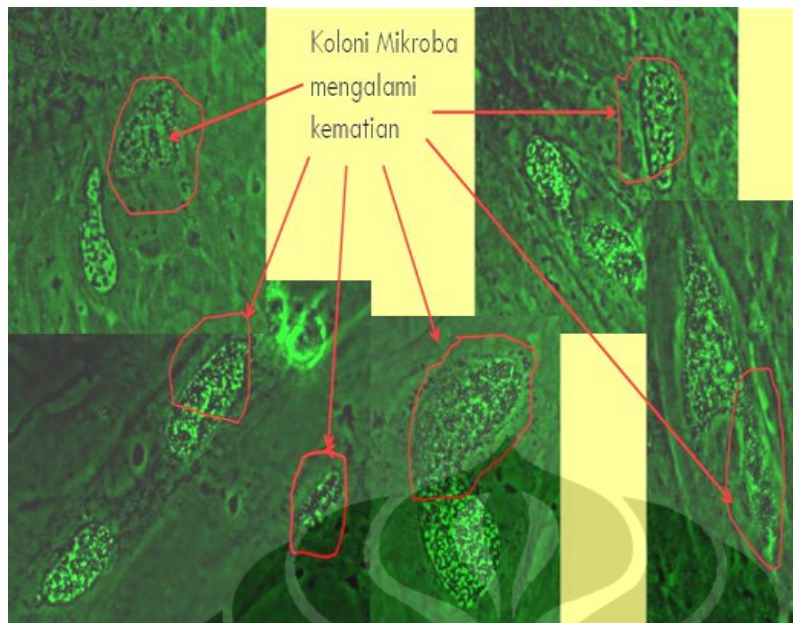
#### 4.10.2 Efek Kontaminasi Kultur

Penerapan teknologi juga perlu dipertimbangkan dalam mencegah kontaminasi kultur seperti penggunaan densitas fluks medan magnet yang memberikan respons terhadap mikroba. Metode sterilisasi dengan mengenakan efek medan magnet pada kultur dapat dipertimbangkan sebagai metode teknis yang secara sederhana digunakan untuk menghilangkan kontaminasi. Metode fisik ini dapat diandalkan untuk menghemat biaya dibandingkan dengan pemaparan antibiotik pada kultur yang banyak memberikan efek samping dan tambahan biaya yang tidak diperlukan.

Pada percobaan awal menggunakan sel otak tikus, ditemukan adanya kontaminasi pada kultur sel yang ditanam setelah lebih dari lima kali pasasi. Peneliti mengamati adanya fenomena saat ditemukan mikroba pada sampel desain ke-4 di hari kedua pada pagi hari.

Namun saat pengkulturan tetap dilanjutkan dengan paparan medan magnet plat1, terlihat fenomena yang memperlihatkan adanya sebagian kematian dari koloni mikroba yang terbentuk pada pengamatan sore hari atau sekitar 6 jam setelah pemaparan medan magnet. Walau tidak memvalidasi hasil melalui serangkaian tes bakteri, namun terlihat dari pengamatan mikroskop tidak adanya pergerakan pada sebagian koloni dan tidak adanya pergerakan pada sel sel mikroba yang diamati, seperti pada gambar berikut ini:

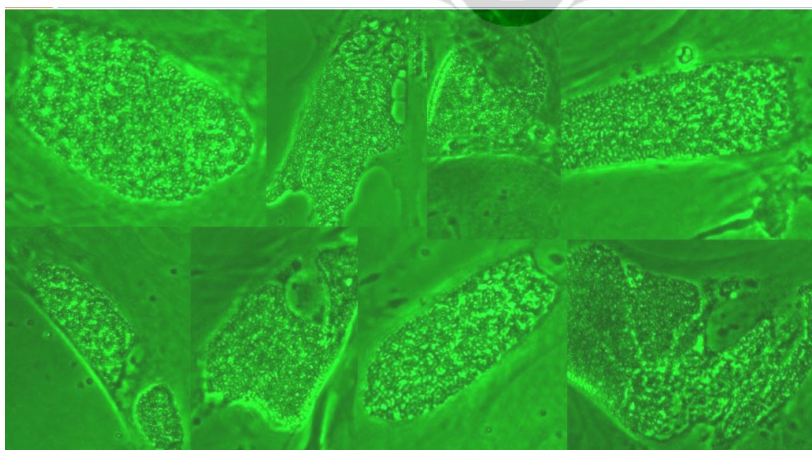




**Gambar 4.43 Perubahan Hidup Mikroba Setelah 6 Jam Paparan**

*Keterangan: Mikroba yang mengalami kematian ditandai dengan lingkaran merah pada setiap koloni mikroba yang diamati (Citra pada pembesaran 32x).*

Fenomena lain terjadi kembali saat dilakukan pengamatan pada keesokan harinya yaitu hari ke-3 kultur sel otak tikus, dimana terlihat koloni mikroba yang bertahan hidup pada 14-20 jam pada pengamatan sebelumnya, menunjukkan pertumbuhan yang pesat kembali saat pemaparan terus dilanjutkan (simultansi) hingga 20 jam setelah ditemukan sebagian koloni yang mengalami kematian. Hal ini terlihat pada pertumbuhan koloni mikroba berikut:



**Gambar 4.44 Perubahan Hidup Mikroba Setelah 20 Jam Paparan**

*Keterangan: Koloni Mikroba yang tersisa atau bertahan hidup berkembang lebih pesat dan terus hidup pada kultur (Citra pada pembesaran 32x).*



Peneliti berpendapat bahwa pemaparan medan magnet pada suatu titik waktu pemaparan akan menyebabkan terjadinya kematian mikroba, namun setelah melewati titik kritis tersebut, mikroba yang bertahan hidup adalah koloni mikroba yang telah beradaptasi fisiologis dengan lingkungan barunya sehingga terjadinya sel sel mutasi pada fase pertumbuhan yang berkembang pesat dan menyebabkan mikroba menjadi lebih rentan terhadap paparan medan magnet.

Jadi bakteri juga memiliki perbedaan perilaku terhadap paparan magnet pada setiap variasi waktu dan besaran densitas fluksnya.

Terhadap hal ini, hipotesa paparan medan magnet mempengaruhi kematian bakteri hingga paparan 6 jam dimungkinkan dengan hipotesa bahwa bakteri dan beberapa mikroorganisma mengembangkan hidupnya dengan mengontrol kondisi pH mereka. Hal ini terjadi melalui cara seperti menfungsikan molekul Buffer. Molekul intraseluler yang disebut buffer berfungsi untuk mengikat proton jika konsentrasi terlalu tinggi dan melepaskan proton jika konsentrasi terlalu rendah. Molekul buffer ini dapat diatur dengan mudah, dan mudah menjadi jenuh. Ketika kejenuhan terjadi konsentrasi proton menjadi sangat tinggi, molekul ini dapat dengan mudah ditransfer pada seluruh sel membran melalui saluran, sehingga menyebabkan pH larutan menjadi lebih asam akibat konsentrasi proton  $H^+$  yang meningkat. Keasaman pH ini menyebabkan matinya organisma organisma hidup seperti bakteri.

#### **4.10.3 Efek Osmolaritas**

Pengamatan terhadap nilai Osmolaritas media yang dilakukan setiap kali pergantian media. Pada penggambaran hasil pengukuran ini didapatkan bahwa nilai osmolaritas menurun hingga hari ke-16 dan kemudian mengalami kenaikan pada hari berikutnya. Hasil pengukuran ini berbanding terbalik dengan perhitungan jumlah sel yang mencerminkan laju proliferasi sel selama proses paparan medan magnet dilakukan.

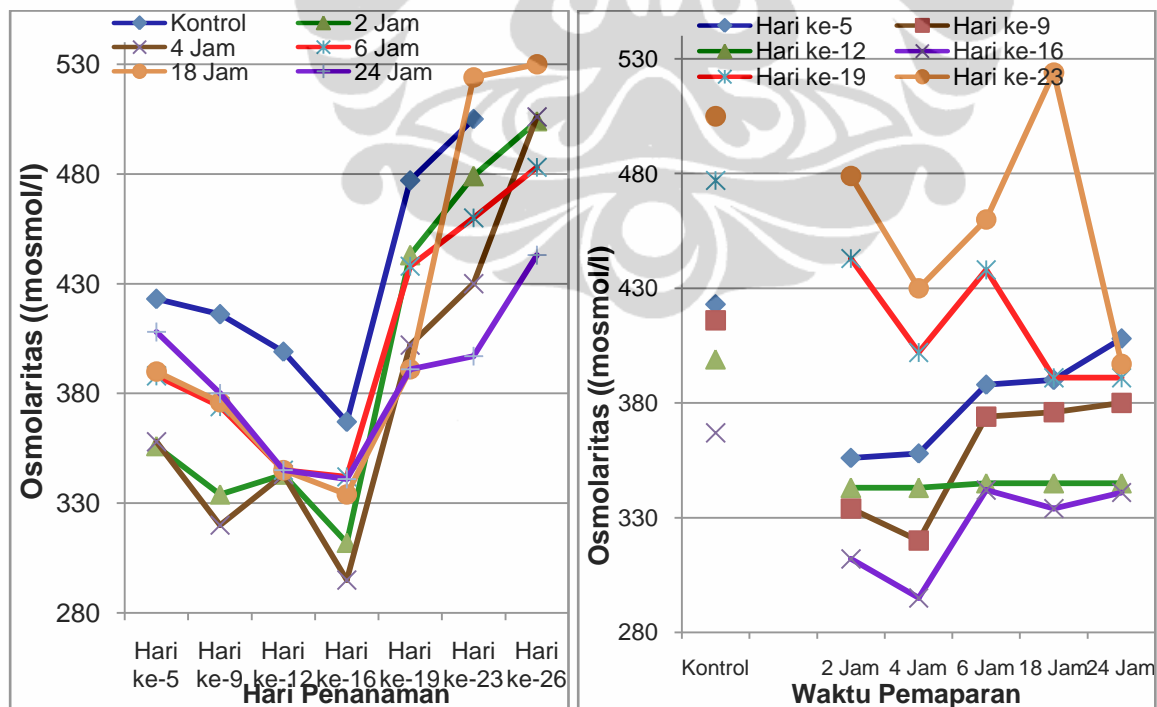
Nilai osmolaritas untuk Paparan 4 jam menempati kurva terendah disusul dengan nilai paparan 2 jam.

Peneliti berpendapat dengan adanya paparan magnet pergerakan ion mengalami perubahan. Pada suatu kondisi perpindahan dan pergerakan ion yang

melintasi membran sel terjadi sedemikian cepat sehingga terjadi perbedaan osmolaritas antara kedua kompartemen membran. Membran sel yang berinteraksi dengan lingkungan sangat rentan terhadap rangsangan eksternal seperti medan magnet, yang kemudian dapat menyebabkan perubahan fungsi penting sel. Semakin lama paparan diberikan semakin banyak radikal radikal ion bebas yang terlepas, sehingga semakin besar partikel partikel yang terukur dalam larutan. Hal ini dapat dipresentasikan dengan nilai osmolaritas yang menyatakan jumlah partikel zat terlarut per liter larutan.

**Tabel 4.17 Nilai Osmolaritas Media Kultur (mosmol/l)**

Lama Paparan	Kontrol	2 Jam	4 Jam	6 Jam	18 Jam	24 Jam
Hari ke-5	423	356	358	388	390	408
Hari ke-9	416	354	350	374	376	380
Hari ke-12	399	343	343	345	345	345
Hari ke-16	367	312	295	342	334	341
Hari ke-19	477	443	402	438	391	391
Hari ke-23	505	479	430	460	524	397
Hari ke-26	515	504	506	483	530	443



**Gambar 4.45 Perbandingan Nilai Osmolaritas Media terhadap Variasi Waktu Paparan**

*Keterangan: Nilai Osmolaritas dalam media kultur terhadap hari penanaman (Kiri) dan terhadap variasi waktu pemaparan (Kanan) menunjukkan hari ke-16 dan paparan 4 dan 2 jam pada posisi terendah dibanding hari dan kultur lainnya.*

Dalam keadaan normal, perbedaan osmolaritas ini dikoreksi dalam waktu detik atau menit untuk mencapai keseimbangan osmotik. Perubahan konsentrasi yang relatif kecil pada zat terlarut dalam cairan ekstraseluler, dapat menimbulkan tekanan osmotik yang besar, dan karenanya dibutuhkan kekuatan yang besar untuk memindahkan air agar dapat melintasi membran sel bila cairan ekstraseluler dan intraseluler tidak dalam keadaan keseimbangan osmotik.

Hal ini tercermin dari hasil pengukuran kandungan ion ion  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  dan  $\text{Cl}^-$ , yang mengalami peningkatan hingga hari ke-16, Demikian juga terhadap pengukuran osmolaritas yang mengalami penurunan hingga hari ke-16. Pengukuran osmolaritas pada larutan media dianalogikan kepada pengukuran cairan ekstraseluler sel, dimana kondisi air jika zat terlarut seperti  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  dan  $\text{Cl}^-$  berada pada kandungan nilai osmolaritas yang semakin besar, maka air akan berdifusi dari dalam sel ke ruang ekstraseluler. Tekanan osmotik yang terjadi untuk mengimbangi difusi air yang semakin meningkat, sehingga konsentrasi partikel yang aktif juga meningkat.

#### **4.10.4 Efek Regulasi pH Selular**

Regulasi pH selular merupakan hal yang paling penting dalam pertahanan sel biologis. pH pada nilai 7 adalah pH pada keadaan netral makhluk hidup, idealnya pH untuk kultur sel berada pada nilai 7,4 namun beberapa peneliti dapat mengatur lingkungan hidup sel pada kisaran pH 7 atau sedikit di bawahnya. pH medium kisaran 6,8 di bawah mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan sel.

pH dari larutan berhubungan langsung terhadap konsentrasi proton atau larutan secara positif dimuati oleh atom atom hidrogen. Semakin tinggi konsentrasi ion  $\text{H}^+$ , maka semakin rendah pH dan begitu juga kebalikannya.

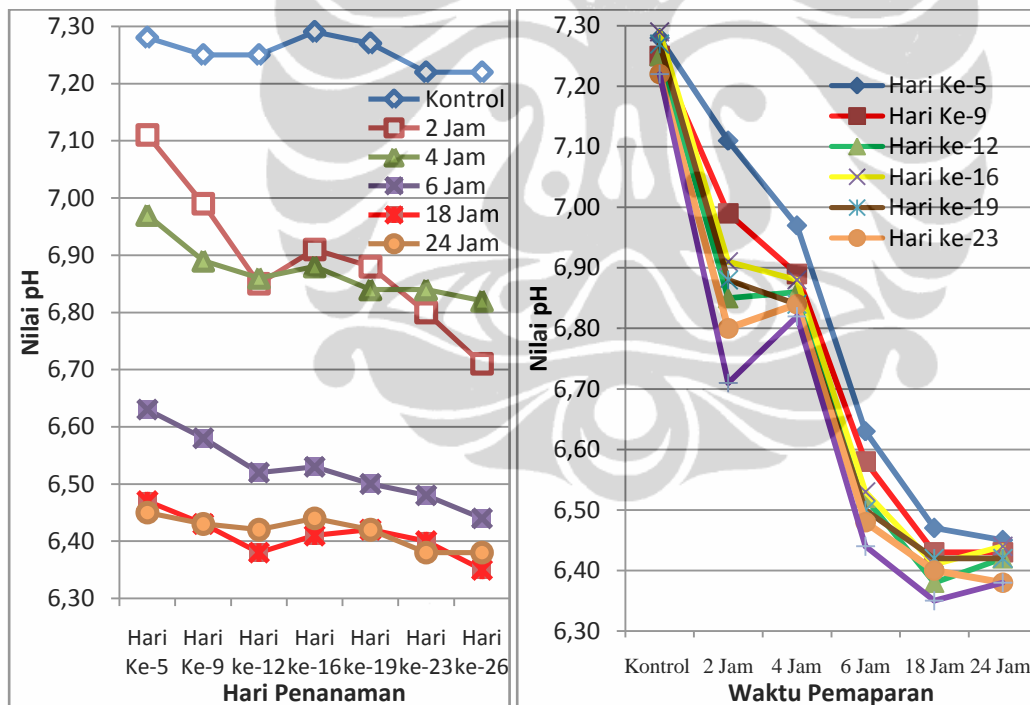
Celah Transport protein yang berbeda menyebabkan ion ion yang berbeda melewati membran biologis. Salah satu ion yaitu proton atau atom hidrogen  $\text{H}^+$  memiliki muatan positif. Laju proton proton yang melawati celah ion pada membran sel dapat dianalisa untuk mengontrol pH pada larutan intraselular. Jika pH larutan selular lebih tinggi atau lebih rendah, maka integritas struktur protein intraselular menjadi terganggu. Hal ini pada gilirannya membuat protein tidak mampu menjalankan tugas yang normal, yang sebagian

besar dibutuhkan untuk berperan dalam mengkatalisasi reaksi selular untuk mempertahankan sel tetap hidup. Sel yang tidak dapat mengontrol pH nya berkemungkinan besar tidak dapat bertahan hidup dan menjadi sel mati.

Berikut pengukuran nilai pH yang dilakukan pada setiap pergantian media:

**Tabel 4.18 Nilai pH Media Kultur**

	Hari Ke-5	Hari Ke-9	Hari ke-12	Hari ke-16	Hari ke-19	Hari ke-23	Hari ke-26
Kontrol	7.28	7.25	7.25	7.29	7.27	7.22	7.22
2 Jam	7.11	6.99	6.85	6.91	6.88	6.80	6.71
4 Jam	6.97	6.89	6.86	6.88	6.84	6.84	6.82
6 Jam	6.63	6.58	6.52	6.53	6.50	6.48	6.44
18 Jam	6.47	6.43	6.38	6.41	6.42	6.40	6.35
24 Jam	6.45	6.43	6.42	6.44	6.42	6.38	6.38



**Gambar 4.46 Nilai pH Media terhadap Variasi Waktu Papanan**

*Keterangan: Nilai pH dalam media kultur terhadap hari penanaman (Kiri) dan terhadap variasi waktu pemaparan (Kanan) menunjukkan penurunan terus menerus dari hari pertama hingga hari ke-16 dan paparan 4 dan 2 jam pada posisi terendah dibanding hari dan kultur lainnya.*

Saat terjadi perubahan dalam konsentrasi ion hidrogen, sistem penyangga cairan bekerja dalam waktu singkat untuk menimbulkan perubahan-perubahan ini.

Sistem penyangga yang tersedia dalam media kultur tidak mengeliminasi ion-ion hidrogen dari sel atau menambahnya kedalam sel tetapi hanya menjaga agar mereka tetap terikat sampai keseimbangan tercapai kembali.

Pada kasus pemaparan medan magnet yang terlalu lama, dalam penelitian ini adalah pada saat pemaparan lebih dari 4 jam, terjadinya penurunan jumlah menurunnya jumlah sel atau meningkatnya kematian. Hal ini diakibatkan paparan medan magnet lebih dari 4 jam dapat menyebabkan terjadinya reaksi:



dengan \* mengindikasikan bahwa atom memiliki elektron tak berpasangan pada nilai valensinya yang menciptakan pembentukan dua pasangan ion  $\text{H}^+$  dan  $\text{OH}^-$  dan dua radikal bebas ( $\text{OH}^*$  dan  $\text{H}^*$ ). Reaksi ini menyebabkan terjadinya gangguan keseimbangan asam-basa.

Medium sebagian besar terdiri dari molekul molekul water yang dapat berdisosiasi menjadi ion ion hidroksil ( $\text{OH}^-$ ) dan ion hidronium ( $\text{H}^+$ ). Selain ion ion pada membran plasma, kedua ion ini akan bergerak jika dipaparkan pada daerah bermedan magnet atau listrik seperti hukum gerak ibu jari Maxwell. Namun ion hidronium akan melakukan gerakan pada frekuensi yang lebih tinggi daripada ion hidroksil karena massanya yang lebih rendah daripada ion hidroksil.

Ketika daerah magnetik mengalami perubahan kekuatannya, daerah magnetik baru diciptakan dengan arah dari sudut kanan pada arah daerah magnet awal pada lokasinya. Magnet mengakibatkan gerakan atau getaran ion ion hidroksil dan hidronium namun kemungkinan setiap sel memiliki perilaku berbeda dan bervariasi pada besaran magnet saat medan magnet dapat menstimulasi gerakan gerakan ionnya. Pada paparan yang semakin lama, terjadinya radikal radikal bebas ion hidronium menyebabkan larutan ekstraselular menjadi lebih bermuatan positif, sehingga nilai pH menjadi semakin rendah, hingga batas tertentu saat sel dapat bertahan hidup. Berkurangnya nilai pH hingga kurang dari 6.8 menyebabkan kematian sel dan berkurangnya jumlah sel.

Terganggunya laju proton proton pada sel juga dapat menyebabkan kematian sel. Kerusakan gradient elektrokimia proton proton sama dengan kerusakan terhadap kemampuan untuk mengeluarkannya dari sel. Ketika

konsentrasi ion hidrogen meningkat, sel tidak dapat mengeluarkan ion ion ke lingkungannya, dan pH menjadi lebih rendah hingga tingkat yang tidak dapat ditoleransi. Seperti teramati oleh paparan lebih dari 6, 18, dan 24 jam yang mengalami penurunan drastis jumlah sel setelah paparan hari ke-16.

#### **4.11 Korelasi Gerakan Sel dan Aplikasi Daerah Magnet**

Pada pemaparan kultur sel dengan medan magnet. Peneliti berpendapat pergerakan ion bergerak lebih cepat dengan adanya paparan. Dan hal ini menyebabkan interaksi antara ion menjadi lebih cepat.

Berdasarkan hasil pengamatan, pada paparan magnet melebihi 4 jam, yaitu 6 jam, 18 jam, dan 24 jam, terjadi penurunan jumlah sel atau laju proliferasi yang tinggi dibanding paparan 2 dan 4 jam. Hal ini dimungkinkan karena paparan daerah magnet statis yang terlalu lama dapat menjadikan sel menjadi rusak dan kehilangan fungsi normalnya. Penulis berhipotesa bahwa efek magnet statis dapat berperilaku terhadap pengurangan kemampuan sel untuk bertahan hidup dan memungkinkan kelangsungan hidup sel bermutasi, serta mendukung mekanisme perkembangan sel abnormal.

Penulis juga berpendapat medan magnet statis meningkatkan kapasitas masuknya ion ion  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ , dengan segera dan menyebabkan terjadinya efek reversibel, tanpa mempengaruhi mobilisasi ion ion  $\text{Na}^+$  dari cadangan intraselular dan mempengaruhi homeostasis secara umum. Dalam analisa penulis, paparan medan magnet statis dapat menyebabkan terjadinya perpindahan ion pada sel yang dianalogi dengan kandungan ion pada medium tempat tumbuhnya sel. Massa sel, muatan ion, densitas fluks medan magnet dan kecepatan awal pergerakan ion diduga menentukan amplitudo perpindahan ion ion pada sel. Bila amplitudo getaran ion ion melebihi beberapa nilai kritis pada suatu kondisi tertentu, ion ion yang bergerak dapat memberikan sinyal palsu untuk saluran gerbang/channel ion pada membran, sehingga mengganggu keseimbangan elektrokimia dari membran plasma dan karenanya dapat mengganggu keseluruhan fungsi sel.

Secara teoritis, pada pergerakan ion ion, terjadi gerakan memutar dan berulang. Gerakan berulang ini didefinisikan sebagai :

$$F = \frac{QB}{2M} \text{ dengan}$$

F adalah jumlah setengah lingkaran putaran yang dilakukan oleh partikel partikel yang bermuatan setiap detik.

Q adalah magnitud atau besaran muatan partikel (ion),

B adalah nilai absolut dari kuat medan magnet, dan

M adalah massa partikel yang bermuatan.

Partikel partikel bermuatan dilukiskan sebagai partikel yang bebas bergerak pada daerah gerak lingkarannya tanpa berinteraksi atau koalisi dengan partikel lainnya. Penulis menduga dengan adanya paparan medan magnet terjadi interaksi yang tinggi dan kepadatan tinggi molekul molekul pada media kultur dengan adanya interaksi ini.

Jika dibayangkan partikel partikel positif dan negatif secara elastis berpasangan sehingga tidak dapat dipisahkan satu sama lain, membangkitkan muatan dipole. Selama muatan muatan ion secara kuat berpasangan, mereka akan selalu memiliki kecenderungan untuk melakukan gerakan memutar, namun dengan berpasangan ion ion ini akan lebih ketat berputar pada amplitudo atau gerakan osilasi (perpindahan setengah lingkaran).

Pergerakan padat ini menyebabkan perpindahan ion dari intraselular dan ekstraselular maupun sebaliknya akan mengalami akselerasi hingga menyebabkan sel mengalami percepatan dalam metabolismenya hingga titik tertentu saat sel mengalami titik jenuh ion dan percepatan metabolisme bukan lagi mendukung kehidupan sel melainkan menyebabkan kerusakan fungsi sel sel itu sendiri.

#### **4.12 Korelasi Mekanisme Proliferasi dengan Paparan Medan Magnet**

Multi-selular organisme tergantung pada pembelahan sel / proliferasi. Hampir setiap populasi sel dalam organisme multisel orang dewasa ditentukan oleh kapabilitas sel itu sendiri dan faktor lingkungan yang mempengaruhinya. Sel dapat mengerahkan potensinya untuk tumbuh dan membelah melampaui wilayah dan pola naturalnya. Dalam mekanisme normal, proliferasi tergantung pada ketersediaan jenis faktor pertumbuhan spesifik, yang akan memberikan sinyal pertumbuhan. Proliferasi juga memerlukan interaksi protein transmembran

(integrin) dengan komponen matriks ekstraseluler (ECM). Integrin secara spesifik mengenali molekul tertentu pada matriks ekstraselular. Jalur proliferasi yang normal mengandung umpan balik negatif atau elemen-elemen sinyal relaksasi, sehingga hasil akhirnya tergantung pada pemeliharaan terus menerus dari sinyal faktor pertumbuhan.

Respon seluler terhadap medan magnet dihipotesa oleh adanya interaksi membran yang berfungsi sebagai mekanisme utama transduksi medan. Pertimbangan ini memperkuat pentingnya membran sel dalam penerimaan pengaruh medan magnet dalam memperkuat daerah ekstraselular membran. Menurut peneliti, adanya distribusi medan magnet memberi efek transduksi sinyal biologis dalam lapisan bermuatan tinggi ganda listrik yang ada pada permukaan sel.

Pengikatan satu molekul ke reseptor spesifik dalam membran, peneliti hipotesa dapat memicu peristiwa yang melibatkan pergeseran konformasi dalam membran-protein terkait. Penulis menghipotesa medan magnet juga memicu dimulainya peristiwa elektrokimia dalam membran sel yang merupakan elemen penting dari transduksi sinyal utama dan proses amplifikasi proliferasi sel. Peristiwa ini, pada gilirannya, menyebabkan transduksi sinyal dan amplifikasi respons jalur sinyal menuju sitoplasma seperti radikal radikal bebas ion dan protein fosforilasi yang mengatur transkripsi DNA dan biosintesis protein. Adanya peristiwa perubahan ikatan pada molekul permukaan membran dapat memperkuat sinyal yang disampaikan ke sitoplasma pada tingkat yang dapat menghasilkan efek kuat untuk sintesis makromolekul dan tanggapan seluler yang melibatkan perubahan signifikan pada fungsi dan fase fase proliferasi. Karenanya interaksi medan magnet dengan membran biologis dapat menyebabkan perubahan dalam setiap komponen proses sinyal yang terjadi. Efek medan magnet juga kemungkinan dapat merubah urutan fase atau peristiwa yang mengaktifkan kerja protein dan molekul pada permukaan membran sitoplasma:

Paparan medan magnet juga peneliti hipotesa menyebabkan perubahan yang cepat dalam potensial membran yang berhubungan dengan semua sel. Transmembran potensial muncul dari tindakan gabungan dari berbagai saluran dan pompa, yang memisahkan ion ion pada permukaan sel dalam keadaan gradien konsentrasi dan muatan. Potensial membran sangat penting sebagai kunci



pengatur proliferasi, yang diperlukan pada fase fase proliferasi. Peningkatan gerakan pada saluran ion ion dalam sel-sel mengakibatkan perubahan ekspresi dari sejumlah protein, yang terlibat dalam kontrol siklus sel. Peningkatan ini juga mempengaruhi periode mitosis.

Proliferasi sel erat terkait dengan perubahan dalam kapasitas sel untuk berkembang. Perubahan ini berhubungan dengan aliran saluran saluran ion yang dapat mempercepat proses proliferasi itu sendiri. Peraturan komunikasi pada sel membran juga sangat penting dalam mengontrol proliferasi sel. Dengan adanya perubahan potensial membran maka terjadi juga perubahan pada fungsi saluran ion selama siklus sel dan peningkatan ekspresi saluran ini mempengaruhi kegiatan pada fase fase proliferasi atau seluruh tahap siklus sel.

Peningkatan gerakan ion pada saluran ion juga mengakibatkan peningkatan fluks ion tersebut. Hubungan dua arah yang kompleks antara fungsi transporter ion dan siklus sel menunjukkan mekanisme fisiologis sel selama pembentukan mekanisme kontrol pembelahan sel.

Kontrol fungsi perkembangan sel dengan perubahan tegangan membran memberikan umpan balik pada saluran atau pompa atau gap junction ion-ion yang menentukan potensi transmembran itu sendiri, juga pengaruh pH dan tegangan-sensitif, yang menyebabkan efek yang kompleks pada proliferasi sel mengalami perubahan.

#### **4.13 Korelasi Hasil terhadap Penelitian Sebelumnya**

Beberapa hasil yang dilakukan pada peneliti peneliti sebelumnya, dapat dibandingkan dengan hasil penelitian ini seperti yang diuraikan di bawah ini:

- **Jumlah Sel**

Pada hasil penelitian ini, dapat ditunjukkan bahwa dengan adanya variasi rancangan pemaparan medan magnet pada kisaran densitas fluks 200 mT hingga 400 mT, jumlah sel pada kultur baik pada kultur sel otak tikus maupun kultur sel punca Mesenkim mengalami kenaikan dalam arti paparan medan magnet mempengaruhi pertumbuhan sel.

Penelitian ini selaras dengan hasil penelitian (Koch & Sommarin, 2003) yang menyatakan adanya pengaruh proliferasi dan ekspresi faktor pertumbuhan

dalam sel kultur pada penelitiannya dengan studi biologi model sistem vesikel membran plasma pada daerah statis magnetik berdensitas fluks 27 hingga 37 T.

Medan magnet juga dihipotesa dapat mempengaruhi pertumbuhan sel saraf tulang belakang seperti hasil peneliti Bai & Z. Xiao, 2004, dan merangsang pertumbuhan kultur sel Osteoblast tikus pada penelitian Yamamoto, Ohsaki, Goto, A. Nakasima, & and Iijima (2003), dengan kisaran densitas fluks yang hampir serupa dengan penelitian ini yaitu 160 mT – 340 mT, namun dengan metode pemaparan yang sedikit berbeda yaitu dua atau tiga buah magnet statis yang ditumpuk pada kultur. Promosi pertumbuhan sel osteoblast tulang rahang marmut juga dilakukan oleh Darendeliler et al (1995, 1997) dengan kerapatan fluks yang relatif rendah yaitu 4 hingga 7 mT . Sementara di sisi lain Camilleri & McDonald (1993), tidak menemukan pengaruh pertumbuhan tulang dengan paparan daerah magnet statis dengan kerapatan fluks 100 mT pada remodeling tulang dan aktivitas mitosis Osteoblast Calvaria tikus. Pengaruh daerah magnet statis terhadap pembentukan tulang dengan demikian merupakan subjek yang kontroversial.

Perbedaan paparan pada tipe magnet elektromagnetik dan statis dilakukan oleh peneliti Narita & Hanakawa (1997) pada sel line leukimia HL-60. Paparan Elektromagnetik 45mT dengan frekuensi rendah selama satu jam pada penelitiannya justru menyebabkan terjadinya apoptosis dan kematian sedangkan pada paparan dengan menggunakan magnetik statik pada 180mT selama 3.5 jam tidak menyebabkan kematian sel tersebut. Hasil ini memberikan perbandingan antara paparan magnet statis dan elektromagnetik yang berbeda satu sama lain.

Penelitian pada sel mesenkim dengan paparan elektromagnetik hanya peneliti temukan pada Dong, Chen & Huang pada tahun 2005 dan 2010 dengan paparan Elektromagnetik berfrekuensi rendah pada sel Mesenkim, serta peneliti Eskemaya, Canseven & Seyhan (2010) pada paparan elektromagnetik sel darah yang diperlakukan dengan  $FeCl_3$ . Keduanya memberikan hasil peningkatan pertumbuhan sel sebanding dengan hasil penelitian ini.

Sistem paparan magnet statis pada sel Mesenkim hanya peneliti temukan pada penelitian sel punca Mesenkim asal sumsum tulang tikus yang dilakukan Tsai, Chang, Hou, & Wu (2009) dengan densitas 1,3 G; 2.4 G dan 3.2 G setelah

dipaparkan 2 jam per hari selama 14 hari berturut turut mengalami peningkatan proliferasi , hasil yang hampir serupa dengan penelitian ini, hanya densitas fluks yang berbeda, dan hasil peneliti sebelumnya ini tidak memberikan perbandingan dengan variasi paparan waktu lainnya, juga tidak memberikan informasi terjadinya penurunan jumlah sel saat hari pengkulturan.

Penelitian dengan magnet statis dilakukan oleh Pacinia Pacinia, et al. (1999) dan Espinar (1997) pada paparan daerah magnetik 0.2 T dan 20mT sel korteks cerebellum ayam menjelaskan adanya peningkatan proliferasi sel dengan berjalannya waktu.

Metode hasil perhitungan jumlah sel dengan menggunakan program Matlab tidak dapat peneliti bandingkan dengan peneliti lain setelah menelaah bahwa metode ini belum digunakan oleh peneliti lain dalam kaitannya untuk menghitung jumlah sel dalam keseluruhan cawan petri. Bahkan hasil penelitian ini dapat dikatakan lebih unggul dengan adanya metode perhitungan program Matlab disamping juga saran peneliti untuk penggunaannya dalam mengklasifikasikan jenis sel berdasarkan warna dan morfologi sel pada citra yang diolah.

Pengambilan data setiap pergantian media pada hari penanaman ke-9 hingga hari penanaman ke 28 juga belum peneliti temukan pada peneliti sebelumnya, mengingat pada peneliti sebelumnya metoda perhitungan jumlah sel berdasarkan immunostaining dan array proliferasi yang membutuhkan proses pemanenan sel pada cawan.

Penelitian terhadap kultur sel Mesenkim bervariasi antara satu metode dengan metode lainnya, tergantung pada medium yang digunakan, juga sumber sel Mesenkim yang didapat, serta perlakuan lainnya. Hasil penelitian menunjukkan terjadinya peningkatan dari hari pertama penanaman hingga punca hari ke-16 dan menurun hingga hari pemanenan pada seluruh kelompok kontrol dan paparan, hal ini menunjukkan hasil yang sedikit berbeda dengan hasil isolasi sel Mesenkim oleh peneliti Neagu, Suci, Ordodi, & Unescu, (2005) yang menunjukkan konfluensi terjadi pada hari ke 21, serupa dengan peneliti Zangi, Kassis; Rivkin; Levdansky; Samuel; Marx; Gorodetsky tahun 2006 dengan konfluensi pada hari ke-21. Dengan demikian dapat dihipotesa bahwa paparan medan magnet statis dapat mempercepat konfluensi kultur sel.

Berdasarkan perbandingan penelitian-penelitian ini dapat diketahui bahwa paparan medan magnet statis bervariasi tergantung pada jenis sel, besar, dan lama paparan yang diterapkan, dan hasil penelitian ini dapat dibandingkan dengan peneliti sebelumnya dari segi pro dan kontra hasil penelitian sebelumnya.

- **Kandungan  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  dan  $\text{Cl}^-$  pada Media Kultur**

Hasil penelitian menunjukkan peningkatan kandungan  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  dan  $\text{Cl}^-$  seiring dengan peningkatan jumlah sel dalam kultur yaitu kandungan ion mencapai puncaknya pada hari ke-16 dan menurun setelahnya dengan nilai kandungan tertinggi pada paparan 2 dan 4 jam. Daerah magnetik karenanya dapat memberikan efek pada konsentrasi ion ion sel. Hasil ini berlawanan dengan hasil peneliti Miyamoto, Yamaguchi, Ikehara, & Kinouchi (1996) yang menyatakan tidak adanya pengaruh terhadap influx ion  $\text{K}^+$ , dalam paparan medan magnet homogen dengan kerapatan fluk kurang dari 1,6 T, dan bahkan paparan pada 1,7 T menyebabkan penghambatan parsial influx ion  $\text{K}^+$  seperti hasil yang diutarakan Toshitaka & Park (2000).

Namun hasil penelitian ini didukung dengan hasil penelitian Pacinia, et al. (1999) yang memperlihatkan pengaruh medan magnet melalui peningkatan konsentrasi ion bebas  $\text{Na}^+$  dan konsentrasi ion  $\text{K}^+$  pada supernatan dengan paparan medan magnet 20 mT secara sinusoidal kontinu, dengan frekuensi 50 Hz selama 23 hari.

- **Orientasi Sel**

Penelitian menunjukkan adanya kecenderungan sel untuk memiringkan morfologi arah pertumbuhannya ke arah medan magnet statis, hasil ini sebanding dengan peneliti Iwasaka, Yamamoto, Ando, & Ueno, (2003) dengan paparan magnet 6 hingga 60 T pada sel Hela, peneliti Higashi, et al (1993) dengan paparan 1 dan 4T pada sel eritrosit, peneliti Guide & Tranquillo, (1993) dengan paparan medan magnet statis 4T dan 4,7T pada sel Fibroblast kulup manusia, peneliti Kotani, Iwasaka, & Ueno, (2000) pada paparan medan magnet statis 8 T, Peneliti Hirose, Nakahara, & Miyakoshi, (2003) pada medan magnet statis 10T sel glioblastoma, dan peneliti Sakatani, Hashimoto, & Yoriki (2009) yang menunjukkan orientasi arah sel cenderung mengikuti arah medan magnet statis dengan paparan 270 mT pada Sel Myoblast Tikus.

- **Kontaminasi Kultur**

Peneliti mengamati bahwa pemaparan medan magnet pada suatu titik waktu pemaparan akan menyebabkan terjadinya kematian mikroba, namun setelah melewati titik kritis tersebut, mikroba yang bertahan hidup adalah koloni mikroba yang telah beradaptasi fisiologis dengan lingkungan barunya sehingga terjadinya sel sel mutasi pada fase pertumbuhan yang berkembang pesat dan menyebabkan mikroba menjadi lebih rentan terhadap paparan medan magnet.

Dalam hal ini dapat disimpulkan mikroba memiliki perbedaan perilaku terhadap paparan magnet berdasarkan variasi waktu dan besaran densitas fluks yang dipaparkan.

Peneliti lain yang sependapat dengan hal ini adalah Philips (2010), begitu juga dengan peneliti Nasher & Hussein, (2008) dengan membran sel Gram negatif dan Gram positif pada paparan permanen magnet Nd-Fe-B berkerapatan Fluks 3200 dan 1200 Gauss yang menunjukkan kematian bakteri dan beberapa peneliti lain yang sebagian besar menggunakan jenis elektromagnetik dalam paparannya.

- **Osmolaritas**

Penggambaran hasil pengukuran mendapatkan penurunan nilai osmolaritas hingga hari ke-16 dan kemudian mengalami kenaikan pada hari berikutnya, berbanding terbalik dengan penggambaran jumlah sel.

Peneliti menemukan hasil yang selaras terhadap penemuan Stange & Rowland (2002), yang berpendapat bahwa paparan medan magnet dihipotesa meningkatkan osmolaritas seiring dengan teori bahwa penurunan proliferasi berhubungan dengan meningkatnya osmolaritas.

- **pH**

Penggambaran pH hasil pengukuran mendapatkan penurunan nilai terus menerus hingga hari pemanenan.

Menurut Philips (2010) dalam artikelnya tentang efek medan magnet pada bakteri, dipaparkan bahwa pemaparan medan magnet diperkirakan membuat aliran proton terganggu. Kehancuran gradien elektrokimia proton ini menyebabkan kehancuran kemampuan sel. Saat konsentrasi ion hidrogen meningkat, pH larutan sel diturunkan dan kondisi pH yang jauh dari skala netral

menyebabkan protein tidak mampu melaksanakan tugas normalnya yang sebagian besar melibatkan reaksi katalis selular untuk mempertahankan kehidupan sel.

Dalam hal ini, peneliti juga mengamati perilaku yang selaras dengan pernyataan di atas yaitu menurunnya nilai pH secara logaritma dengan meningkatnya waktu paparan medan magnet pada kultur.



## BAB 5

### KESIMPULAN DAN SARAN

Sel punca Mesenkim, yang memiliki kapasitas pembaharuan diri dan potensi multipoten diferensiasi, adalah salah satu terapi sel punca yang menjanjikan untuk penerapannya di bidang ilmu kesehatan, penyembuhan, dan terapi atau pengobatan penyakit. Namun, jumlah Sel Punca Mesenkim masih merupakan masalah utama dalam hal besaran populasi yang dapat dihasilkan pada proses pengkulturannya dari jaringan dewasa.

Problem efisiensi rendah yang menjadi kendala produksi sel punca Mesenkim untuk skala yang lebih besar dihipotesis dapat diatasi dengan menggunakan efek magnetik. Efek magnetik dihipotesa berperan dalam meningkatkan laju proliferasi atau perkembangan sel.

Tujuan utama penelitian ini adalah untuk meningkatkan Laju Proliferasi atau Jumlah Sel Mesenkim *in vitro* dengan menggunakan ransangan fisik, yaitu stimulasi daerah medan magnet disk statis dengan densitas fluks 200 mT yang ditempatkan di bawah cawan kultur.

#### 5.1 Kesimpulan

Dari hasil hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa paparan Medan Magnet pada kulturisasi sel punca mesenkim asal darah tepi selain berpengaruh terhadap jenis atau tipe sel, jugaberpengaruh pada waktu atau periode paparan dan tergantung pada densitas fluks Medan Magnet yang digunakan.

Hasil awal penelitian ini menunjukkan magnet disk pada rancangan keempat merupakan rancangan yang dapat diimplementasikan pada penelitian berikutnya berdasarkan pertimbangan:

- Pada perhitungan densitas fluks magnet terhadap jarak pusat magnet untuk melihat pengaruh garis fluk magnet terhadap paparan kultur yang berdekatan, menyimpulkan magnet disk lebih baik digunakan karena besaran densitas fluks mencapai nilai mendekati 0 (nol) saat jarak paparan 15-20 cm, lebih kecil dibandingkan magnet plat tipe 1 dan 2 dengan jarak 100 cm dan sulit untuk pengaturan dalam ruang inkubator dengan jumlah paparan kultur sel yang banyak.

- Rancangan keempat dengan penempatan magnet disk langsung pada bagian bawah kultur paparan merupakan rancangan yang tepat menurut peneliti untuk diimplementasikan karena memberikan laju proliferasi tertinggi dibanding ketiga rancangan lainnya selain itu garis garis fluks magnetik pada rancangan ini mengenai hampir seluruh sel sel pada cawan kultur dengan titik pusat pada cawan kultur serupa dengan titik pusat magnet disk.
- Magnet disk mencapai nilai derajat penurunan terkecil pada perbandingan pengukuran dengan magnet lainnya dalam hal penurunan besaran densitas fluks selama waktu paparan. Hal ini menunjukkan kestabilan magnet disk yang digunakan dibanding magnet tipe lainnya.

Jumlah Sel Punca Mesenkim pada penelitian ini diperkirakan melalui metode pemograman Matlab dan metode hemositometer pada pasasi akhirnya. Metode pemograman Matlab dianggap sesuai karena dapat dilakukan tanpa mengadakan pasasi pada sel kultur namun membutuhkan kesabaran yang lebih tinggi dalam melaksanakannya.

Hasil perhitungan menunjukkan sel Mesenkim asal Darah Tepi pada paparan 2 jam dan 4 jam memiliki kemampuan berproliferasi atau meningkatkan jumlah selnya lebih tinggi dibandingkan pada paparan pada variasi waktu 6 jam, 18 jam, dan 24 jam, atau bila dibandingkan terhadap kultur kontrol tanpa paparan, selama total periode penanaman 28 hari.

Sel Mesenkim pada kelompok kontrol menunjukkan pertumbuhan signifikan lebih cepat daripada sel yang terpapar. Kelompok eksposur dan kelompok kontrol mencapai jumlah sel pada puncaknya saat hari ke-16 secara bersamaan, sedangkan jumlah sel kelompok paparan 4 jam mencapai 2,1 kali lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok paparan lainnya, dan kemudian mengikuti pola penurunan. Paparan 2 jam juga mengalami peningkatan hingga 1,98 kali lipat sebelum terjadi penurunan setelah penanaman hari ke-16.

Penurunan proliferasi disejajarkan dengan peningkatan yang signifikan dari konsentrasi ion ekstraselular. Konsentrasi ion ekstraselular  $\text{Na}^+$  dan konsentrasi ion  $\text{K}^+$  pada sel supernatan dibandingkan dengan kelompok kontrol tanpa paparan. Konsentrasi ion  $\text{Na}^+$ , dan  $\text{K}^+$  dalam supernatan secara signifikan mengikuti pola pertumbuhan jumlah sel.



Secara ringkas, peningkatan proliferasi berhubungan dengan meningkatnya konsentrasi ion ion. Dengan penerapan daerah magnet statis, cawan yang terpapar akan mengalami peningkatan konsentrasi ion dan jumlah sel pada suatu waktu tertentu hingga batasan ketidakseimbangan elektrokimia membran sel yang menyebabkan terjadinya penurunan konsentrasi dan jumlah sel. Pada penelitian ini, terlihat batasan pada paparan 2 jam dan 4 jam. Sehingga dapat disimpulkan Paparan 4 jam merupakan batasan paparan kultur sel untuk mencapai laju proliferasi dan jumlah sel yang optimum.

Hal ini menunjukkan bahwa ransangan secara fisik yaitu paparan medan magnet statis memungkinkan untuk menambah jumlah sel punca Mesenkim untuk dapat digunakan bagi berbagai tujuan kesehatan.

Radikal radikal bebas yang terjadi akibat efek paparan medan magnet sangat cepat bereaksi dengan ion ion untuk menghasilkan air, atau jika pada perkiraan tertentu, reaksi ini menciptakan ikatan dengan molekul molekul DNA untuk membentuk kerusakan tidak langsung pada sel. Kerusakan itu sendiri tentu tergantung pada tipe dan kondisi tertentu seperti besaran densitas fluks paparan dan variasi waktu paparan.

Hal ini dapat menjelaskan bahwa paparan lebih dari 4 jam akan menciptakan kerusakan pada sel sel seperti mutasi, karsinogenesis atau hal hal lain dan juga dapat berakhir pada kematian sel sel itu sendiri karena

- Aplikasi dari daerah magnetik memungkinkan terjadinya perubahan konformasi molekul, yang juga dapat merubah fungsinya. Ion ion dan ikatan molekulnya mungkin mengalami perubahan interaksi karena terjadinya perbedaan karakteristik ikatan seperti ikatan hidrogen yang berpengaruh pada molekul air ataupun molekul protein pada sel dan berefek langsung terhadap medan magnet, hal ini secara langsung menyebabkan perubahan tingkat atau jumlah radikal radikal bebas pada sel.
- Aplikasi daerah magnetik dapat menyebabkan terjadinya perubahan pada membran sel, seperti halnya membran pada dinding sel, terutama pada saluran saluran ion yang terdapat pada membran. Hal ini dapat berefek pada tingkat pertukaran ion antara larutan intra dan ekstraselular, yang menjadi efek sangat penting pada seluruh fungsi sel.

- Daerah magnetik dapat merubah ikatan atom Hidrogen. Hal ini terjadi jika ikatan ikatan hidrogen pada molekul menjadi lebih kuat, maka kemungkinan terputusnya ikatan ikatan DNA dan terjadinya pembentukan radikal radikal bebas menjadi berkurang. Sementara berlawanan dalam hal ini jika ikatan ikatan ini diperlemah, maka kemungkinan menyebabkan terbentuknya radikal radikal bebas dan meningkatkan kerusakan pada ikatan ikatan DNA.
- Aplikasi medan magnet juga dapat menyebabkan distribusi muatan elektron dan proton mengalami perubahan. Hal ini kemungkinan disebabkan karena molekul molekul pada daerah magnetik dengan adanya momen magnetik dapat diperkuat searah dengan daerah eksternal atau distribusi muatan dan molekul berubah searah dengan daerah eksternal atau memungkinkan terjadinya perubahan pada struktur energi internal molekul.
- Perubahan fisik dapat menyebabkan penguatan atau pemisahan ikatan ikatan Hidrogen, yang dapat menyebabkan perubahan sistem biologis seperti perubahan pada nilai pH dan osmolaritas sehingga dapat juga menyebabkan kematian mikroba pada suatu waktu tertentu.
- Dengan bertambahnya waktu paparan medan magnet, pembentukan radikal radikal bebas ion menjadi lebih tinggi seperti ion hidrogen, sehingga menyebabkan larutan ekstraselular menjadi lebih bermuatan positif, dan menstimulasi nilai nilai pH larutan menjadi semakin rendah. Rendahnya nilai pH (kurang dari 6.8) menyebabkan sel tidak dapat melangsungkan hidupnya lebih lama dalam lingkungan ber pH rendah.
- Nilai Osmolalitas secara signifikan mempengaruhi produktifitas kultur sel. Peningkatan osmolalitas medium berhubungan dengan menurunnya jumlah sel pada kultur.

## 5.2 Saran

Teknik paparan daerah magnetik yang merupakan teknik sederhana ini dapat menjadikan salah satu alternatif teknologi potensial untuk menstimulasi perkembangan sel pada laboratorium kultur sel dengan teknik in vitro untuk menghemat biaya dan kemudahannya pelaksanaannya.

Namun karena penelitian tidak detail membedakan waktu antar 0 hingga 2 jam, dan 2 jam hingga 4 jam, serta seterusnya, maka membutuhkan lebih banyak lagi variasi waktu untuk mendapatkan hasil yang lebih spesifik.

Penelitian lebih lanjut dapat juga dikembangkan dengan menggunakan variasi jumlah magnet permanen disk berdimensi 2,5 cm yang digunakan untuk pemaparan kultur sel pada cawan petri 3,5 cm ataupun jenis pemaparan berdasarkan rancangan lain, seperti penggunaan magnet disk bertumpuk dua untuk menciptakan kehomogenan besaran densitas fluks medan magnet yang mengenai keseluruhan kultur sel dalam cawan petri seperti yang terlihat berikut:



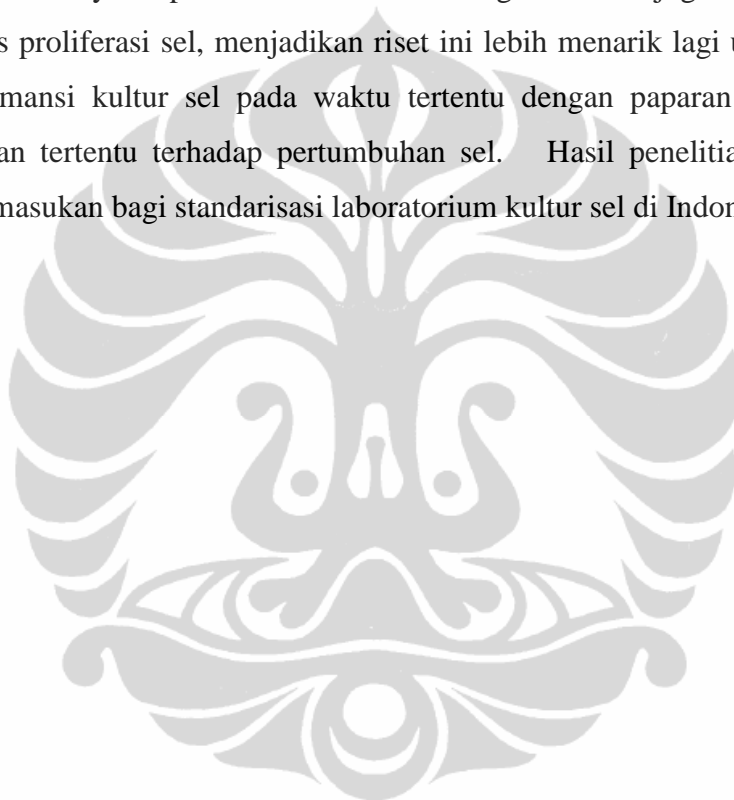
**Gambar 5.1 Saran Konstruksi Rancangan Magnet Disk Bertumpuk**

Penelitian ini juga membuka peluang untuk lebih mengetahui efek pemaparan medan magnet hingga tahap differensiasi sel Punca Mesenkim ataupun Sel Punca lainnya, yang mendorong terjadinya sel potensial yang diinginkan sehingga penggunaan paparan medan magnet dapat lebih lanjut digunakan pada Teknologi Sel Punca. Penidentifikasi sel Punca Mesenkim juga diperlukan dengan menggunakan metode immunostaining atau PCR atau metode lain yang akurat, dengan mempertimbangkan anggaran penelitian.

Pendekatan pada penelitian ini akan mendorong pengurangan kebutuhan suplemen media, serum, antibiotik, maupun pengurangan waktu penanaman dan hal lain yang dapat mengurangi biaya dan waktu serta membuka peluang badan

riset dengan biaya terbatas untuk memanfaatkannya pada teknik kulturisasi industri bioteknologi.

Tantangan untuk menjadikan efek magnetik sebagai salah satu upaya sederhana dalam manajemen kultur sel menjadikan riset ini sangat menarik karena adanya penggabungan ilmu fisika, kedokteran serta mikrobiologi dalam kolaborasi ilmu rekayasa biomedis untuk menunjang penerapan ilmu rekayasa biomedis yang belum lama berdiri di Universitas Indonesia. Selain itu keuntungan dengan adanya hipotesa bahwa efek magnetik ini juga dapat mempercepat proses proliferasi sel, menjadikan riset ini lebih menarik lagi untuk menganalisa performansi kultur sel pada waktu tertentu dengan paparan efek magnet pada besaran tertentu terhadap pertumbuhan sel. Hasil penelitian ini dapat memberikan masukan bagi standarisasi laboratorium kultur sel di Indonesia.



## DAFTAR REFERENSI

- Albert, B., Bray, D., Hopkin, K., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., et al. (2004). *Essential Cell Biology (2nd Edition)*. Abingdon, UK: Garland Science, Taylor & Francis Group.
- Aldinucci, C., Garcia, J., Palmi, M., Sgaragli, G., Benocci, A., Meini, A., et al. (2003). *Bioelectromagnetics* 24 , 373.
- Amara, S., Abdelmelek, H., Salem, M. B., Abidi, R., & Sakly, M. (2006). Effects of Static Magnetic Field Exposure on Hematological and Biochemical Parameters in Rats. *Brazilian Archives of Biology and Technology, An International Journal* , 889-895.
- Azizil, M., & Jatendra, U. (2009). A Numerical Study on Magnetic Fields Effects on Stem Cell Differentiation. *International Journal of Integrated Engineering (Issue on Electrical and Electronic Engineering)* .
- Bai, X., & Xiao, Z. (2004). Cartilage-Derived Morphogenetic Protein-1 Promotes The Differentiation of Mesenchymal Stem Cells into Chondrocytes. *Biochemical and Biophysical Research Communications, Vol.325* , 465-460.
- Blanchard, J., & Blackman, C. (1994). Clarification and Application of an Ion Parametric Resonance Model for Magnetic Field Interactions with Biological Systems. *Bioelectromagnetics, Vol.15* , 217-238.
- Blank, M., & Soo, L.(2001).Optimal Frequencies in Magnetic Field Acceleration of Cytochrome Oxidase and Na, K-ATPase Reactions. *Bioelectrochemistry Vol.53*, 171-174.
- Camilleri, S., & McDonald, F. (1993). Static Magnetic Field Effects on the Sagittal Suture in Rattus Norvegicus. *J Orthod Dentofacial Orthop* 103 , 240-246.
- Clarke, R. (2008, 8 2). *Magnetic properties of materials*. Retrieved 1 9, 2011, from info.ee.surrey.ac.uk: info.ee.surrey.ac.uk/.../index.html
- Clejan, S. I. (1996). Electromagnetic Field Induces Changes of Lipid Second Messengers. *Mediat. Cell Signal., Volume 13* , 301-324.
- Cowen, T., & Gavazzi, I. (1998). Plasticity in Adult and Ageing Sympathetic Neurons. *Prog. Neurobiol.* 54 , 249 - 288.
- Darendeliler, M., & Sinclair, P. (1995). The Effects of Samarium-Cobalt Magnets and Pulsed Electromagnetic Fields on Tooth Movement. *Journal Orthod Dentofacial Orthop Volume 107.* , 578-588.
- Darendeliler, M., Sinclair, P., & Kusy, R. (1997). Effects of Static Magnetic & Pulsed Electromagnetic Fields on Bone Healing. *Int J Adult Orthod Orthognath Surg Vol 12*, 43-53.

- Dong, L., Chen, Y., & Huang, L. (2005). Effects of Extremely Low Frequency Magnetic Field on Growth, Metabolism and Differentiation of Human Mesenchymal Stem Cells. *8th Annual Tissue Engineering Society International (TESI) Conference & Exposition* (p. Abstract 588). Shanghai, P.R. China: TESI.
- Dubey, N., Letourneau, P., & Tranquillo, R. (1999). *Europe Neurology* 158 , 338.
- Esmekaya, M. A., Canseven, A. G., & Seyhan, N. (2010). Effects of Extremely Low Frequency (ELF) Magnetic Fields and Ferric Chloride (FeCl<sub>3</sub>) treatment on the Hemolytic Activity of Human Red Blood Cells (hRBCs). *6th International Workshop on Biological Effects of Electromagnetic Fields*, (S. 67). Bodrum, Turkey.
- Espinar, A. P. (1997). Histological Changes during Development of The Cerebellum in The Chick Embryo Exposed to a Static Magnetic Field. *J.Magnetism, Volume 18* , 36-46.
- Fanelli, C., Coppola, S., Barone, R., Colussi, C., Gualandi, G., Volpe, P., et al. (1999). Magnetic Fields Increase Cell Survival by Inhibiting Apoptosis via Modulation of Ca<sup>2+</sup> Influx. *The FASEB Journal Volume 3, 13*, 95-103.
- Fanelli, C., Coppola, S., Barone, R., Colussi, C., Gualandi, G., Volpe, P., et al. (1999). Magnetic Fields Increase Cell Survival by Inhibiting Apoptosis Via Modulation of Ca<sup>2+</sup> Influx. *The FASEB Volume 96* .
- Fojt, L., Ludek, S., Vetter, V., & Smarda, J. (2004). Comparison of the Low Frequency Magnetic Fields Effects on Bacteria Eschericia Coli, Leclercia Adecarboxylata and Staphylococcus Aureus. *Bioelectrochemistry* 63 , 337-341.
- Gaafar, E.-S., Hanafy, M. s., Tohamy, E., & Ibrahim, M. H. (2006). Stimulation and Control of E.Colli by Using an Extremely Low Frequency Magnetic Field. *Romanian J. Biophysic, Vol 16. No. 4* , 283-296.
- Gobba, F., & Malagoli, D. (2003). Effects of 50 Hz Magnetic Fields on fMLP-Induced Shape Changes in Invertebrate Immunocytes: The Role of Calcium Ion Channels. *Bioelectromagnetics, Vol.24* , 277-282.
- Guide, S., & Tranquillo, R. (1993). *Journal Cell Science Volume 105.* , 317-331.
- Hatch, E. E., Linet, M. S., Kleinerman, R. A., Tarone, R. E., Hartsock, C., Haines, C., et al. (1998). Association between Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia and Use of Electrical Appliances during Pregnancy and Childhood during . *Epidemiology* , 234-245.
- Higashi, T., Yamagishi, A., Takeuchi, T., Kawaguchi, N., Sagawa, S., Onishi, S., et al. (1993). *Blood Volume 82* , 1328.
- Hirose, H., Nakahara, T., Zhang, Q., Yonei, S., & Miyakoshi, J. (2003). In Vitro Cell. *Dev. Biol. Anim. Volume 39* , 348.
- Howard, J. (2002). Magnetism, Retrieved 04-19, 2007, from <http://faculty.salisbury.edu/Magnetism: http://faculty.salisbury.edu/~jwhoward/Physics123/html/ch20.htm>

- Huang, L., Dong, L., Qi, H. C., & Xiao, D. (2005, December 16-18). Analyzing the Action of Low Frequency Magnetic Field on Human Mesenchymal Stem Cells. In I. J. Engineering) (Ed.), *Proceeding of the 5th WSEAS/IASME Int. Conference on Electric Power Systems, High Voltage, Electric Machines, International Journal of Integrated Engineering (Issue on Electrical and Electronic Engineering)* (pp. 219-225). Tenerife, Spain: WSEAS/IASME.
- Iwasaka, M., Miyakoshi, J., & Ueno, S. (2003). In Vitro Cell Development. *Biol-Animal Volume 39* , 120.
- Jolanta, J., Janina, G., Marek, Z., Elzbieta, R., & Mariola, S. a. (2001). Influence of 7mT Static Magnetic Field and Irons Ions on Apoptosis and Necrosis in Rat Blood Lymphocytes. *J. Accup. Health*, 43 , 379-381.
- Kelly, Evelyn B. (2007). *Stem Cells - Health and Medical Issues Today*. Westport, Connecticut London: Greenwood Press.
- Koch, C., & Sommarin, M. (2003). Interaction Between Weak Low Frequency Magnetic Fields and Cell Membranes. *Bioelectromagnetics. Vol.24* , 395-402.
- Kotani, H., Iwasaka, M., & Ueno, S. (2000). *Journal Applied Physics Volume 87* , 6191.
- Liboff, A., & McLeod, B. (1988). Kinetics of Channelized Membrane Ions in Magnetic Fields. *Bioelectromagnetics, Vol.9* , 39-51.
- Lipiec, J., Janas, P., & Barabas, W. (2004). Effect of Oscillating Magnetic Field Pulses on Survival of Selected Microorganism. *International Agrophysics Vol 18* , 325-328.
- Marshak, D. R., Gardner, R. L., & Gottlieb, D. (2001). Introduction: Stem Cell Biology. In D. R. Marshak, R. L. Gardner, & D. Gottlieb, *Stem Cell Biology* (pp. 1-16). Maryland, USA: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- McGraw-Hill. (8th Edition, (c) 1997). *McGraw-Hill Encyclopedia of Science & Technology*. McGraw-Hill.
- Mevissen, M., Kietzmann, M., & Loscher, W. (1995). In Vivo Exposure of Rats to a Weak Alternating Magnetic Field Increases Omithine Decarboxylase Activity in the Mammary Gland by a Similar Extent as the Carcinogen DMBA. *Cancer Lett.*, 90 , 207-214.
- Miyakoshi, J. (2006). The Review of Cellular Effects of A Static Magnetic Field. *Science and Technology of Advanced Materials* , 7, 305-307.
- Miyamoto, H., Yamaguchi, H., Ikehara, T., & Kinouchi, Y. i. (1996, p.101). *Biological Effects of Magnetic and Electromagnetic Fields*. New York: Plenum Press.
- Naarala, J., & Hoyto, A. (2004). Cellular Effects of Electromagnetic Field. *Atla-Alternatives To Laboratory Animals, Vol. 32* , 335-360.
- Nakahara, T., Yaguchi, H., Yoshida, M., & Miyakoshi, J. (2002). Effects of Exposure of CHO-K1 Cells to a 10 T Static Magnetic Field. *Radiology 224* , 817-822.

- Narita, K., & Hanakawa, K. (1997). Induction of Apoptotic Cell Death in Human Leukemic Cell Line, HL-60, by Extremely Low Frequency Electric Magnetic fields: Analysis of The Possible Mechanisms in Vitro. *In Vivo*, Vol.11 , 329-336.
- Nasher, S.H., & Hussein, A.A. (2008). Effect of Magnetic Field on the Growth of Escherichia Coli and Staphylococcus Aureus. *Engineering & Technic* Vol 26 No. 4 , 458-462.
- Neagu, M., Suci, E., Ordodi, V., & Unescu, V. (2005). Human Mesenchymal Stem Cells as Basic Tools for Tissue Engineering: Isolation and Culture. *Romanian J. Biophys.* Vol 15 No. 1-4, Bucharest , 29-34.
- Novak, J., Strasak, L., Fojt, L., Slaninova, I., & Vetterl, V. (2006). Effects of Low frequency magnetic fields on the Viability of Yeast Saccharomyces Cerevisiae. *Bioelectrochemistry* 06069 , 1-7.
- Okonogi, H., Nakagawa, M., Tsuji, Y., & Tohoku. (1996). *J. Exp. Med.* 180 , 209.
- Pacini, S., Gulisano, M., Peruzzi, B., Sgambati, E., Gheri, G., Bryk, S., et al. (2003). *Cancer Detect. Prev.* 27 , 327.
- Pacina, S., Vannella, G. B., Barnia, T., Ruggiero, M., Sardic, I., Pacina, P., et al. (1999). Effect of 0.2T Static Magnetic Field on Human Neurons; Remodelling and Inhibition of Signal Transduction without Genome Instability. *Neuroscience Letters* Volume 267 , 185-188.
- Panagopoulos, D., & Karabarbounis, A. (2002). Mechanism for Action of Electromagnetic Fields on Cells. *Biochemical And Biophysical Research Communications*, Vol.298 , 95-102.
- Patpending. (2010, 10 11). *The Physcial Principles of Magnets in their Role of Power Generation Potent Inventions*. Retrieved 6 2011, from [http://www.bukisa.com/http://www.bukisa.com/articles/371629\\_the-physcial-principles-of-magnets-in-their-role-of-power-generation-potent-inventions#ixzz19fQXkWAQ](http://www.bukisa.com/http://www.bukisa.com/articles/371629_the-physcial-principles-of-magnets-in-their-role-of-power-generation-potent-inventions#ixzz19fQXkWAQ)
- Philips, M. S. (2010, December 12). *www.debugamericalatina.com/Why Bacteria Hate Magnets?* (DE-BUG America Latina) Retrieved March 15, 2011, from [www.debugamericalatina.com](http://www.debugamericalatina.com).
- Pollard, T. D., & Earnshaw, W. (2008). *Cell Biology*. USA: Saunders Elsevier.
- Raylman, R., Clavo, A., & Wahl, R. (1996). *Bioelectromagnetics* 17 , 358.
- Rosen, A. (2003). *Bioelectromagnetics* Volume 24 , 517.
- Ryan, J. (2008). *Understanding and Managing Cell Culture Contamination*. Acton, MA: Technical Bulletin Corning Incorporated Life Sciences.
- Sakatani, Y., Hashimoto, S., & Yoriki, J. (2009). *Effect of Static Magnetic Field on Muscle Cells in Vitro*. Osaka, Japan: Osaka Institute of Technology.



- Sanita, M. d. (1993). *Decreto del 03.08.93, art. 2. n. 187 del 11.08.93, serie generale n. 137*. Departemen of Health. Italia: Department of Health, Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana.
- Sonnier, H., Kolomytkin, O., & Marino, A. (2003). *Neurosci. Lett.* 337 , 163.
- Stange, B., & Rowland, R. (2002). ELF Magnetic Fields Increase Amino Acid Uptake Into Vicia faba L. Roots and Alter Ion Movement Across the Plasma Membrane. *Bioelectromagnetics, Vol.23* , 347-354.
- Suri, A. d. (1996). A 3 milliTesla 60 Hz Magnetic Field is Neither Mutagenic Nor Co-Mutagenic in The Presence of Menadione and NMU in a Transgenic Rat Cell Line. *Mutat. Res., Vol. 372* , 23-31.
- Thomson, R. A., Michaelson, S. M., & Nguyen, Q. A. (1988). Influence of 60-Hertz Magnetic Fields on Leukemia. *Bioelectromagnetics Vol.9* , 149-158.
- Torbet, J., & Ronziere, M. (1984). *Biochemical Journal Volume 219* , 1057.
- Toshitaka, I., & Park, K. (2000). Effects on Rb+(K+) Uptake of HeLa Cells in a High K+ Medium of Exposure to a Switched 1.7 Tesla Magnetic Field. *Bioelectromagnetics, Vol.21* , 228-237.
- Triampo, W., Doungchawee, G., Triampo, D., Wong-Ekkabut, J., & Tang, I.-M. (2004). Effects of Static Magnetic Field on Growth of Leptospira, Leptospira interrogans serovar canicola: Immunoreactivity and Cell Division. *Journal of Bioscience and Bioengineering Vol. 98 No.3* , 182-186.
- Tsai, M.-T., Chang, W., Hou, R.-J., & Wu, D.-W. (2009). Effect Of Single Pulsed Electromagnetic Fields Stimulation on The Proliferation of Mesenchymal Stem Cells. *Bone Tissue Engineering Research Center* .
- Vaughn, F., & Bernstam, L. (2000). *Methods in Molecular Biology : Basic Cells Protocols*. New York: Humana Press.
- Wiskirchen, J., Gronewaller, E., Heinzelmann, F., Kehlbach, R., Rodegerdts, E., Wittau, M., et al. (2000). *Radiology* 215 , 858.
- Wolf, F., & A. Torselloa, A. (2005). 50-Hz Extremely Low Frequency Electromagnetic fields Enhance Cell Proliferation and DNA damage: Possible Involvement of a Redox Mechanism. *Biochimical et Biophysica Acta, Vol.1743* , 120-129.
- Yamamoto, Y., Ohsaki, Y., Goto, T., A. Nakasima, A., & and Iijima, T. (2003). Effects of Static Magnetic Fields on Bone Formation in Rat Osteoblast Cultures. *Int. & American Associations for Dental Research (Journal of Dental Research) Vol. 82* , 962-966.
- Yao, C., & Sun, C. (2004, August 4). Experimental Studies on Killing and Inhibiting Effects of Steep Pulsed Electric Field (SPEF) to Target Cancer Cell and Solid Tumor. *IEEE Transactions on Plasma Science, Vol.32* , 1626-1633.

Zangi, K., Rivkin, Levdansky, Samuel, Marx, & Gorodetsky. (2006). Isolation of Mesenchymal Stem Cells from G-CSF-mobilized Human Peripheral Blood using Fibrin Microbeads. *Bone Marrow Transplantation* 37 , 967-976.

Zhadin, M., & Barnes, F. (2005). Frequency and Amplitude Windows in the Combined Action of DC and Low Frequency AC Magnetic Fields on Ion Thermal Motion in a Macromolecule: Theoretical Analysis. *Bioelectromagnetics*, Vol.26 , 323-330.



## Lampiran 1. Peralatan dan bahan dalam proses perkulturan

- Peralatan

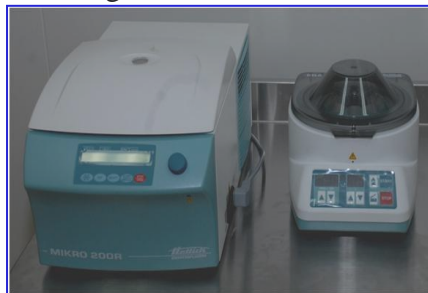
1. Biosafety Cabinet level II



2. Inkubator dengan suhu 36 - 37 °C, dengan kelembaban 90%, dan 5% CO<sub>2</sub>



3. Cawan kultur jaringan 35 mm, Omnitray
4. Cell Counter/Hemocytometer
5. Pipet serologi 1, 2, 10, 25 dan 50 ml
6. Pipet Tips 1000 µl, 200 µl, dan 20 µl.
7. Electrolyte Analysis Biolyte
8. Micropipette
9. Vacuet EDTA
10. Syringe 50 ml, 10 ml
11. Easypet
12. Disposable sterile filter system (0,22 µm)
13. 1.5 , 15 dan 50 ml Falcon Tube
14. Sentrifuge



15. Gaussmeter Leybold GmbH Germany

16. Inverted phase-contrast microscope Inverted Axio Observer A1 Carl Zeiss (IPCM) dan Mikroskop cahaya



17. Pada setiap sampel yaitu kelompok cawan kontrol dan kelompok cawan paparan diambil pencitraan pada seluruh cawan dengan 5 atau 10 kali pembesaran. Pengambilan citra dilakukan pada setiap penggantian media pada kedua kelompok sampel
18. pH meter Thermo Scientific, Orion 3 Star



19. Osmometer Merk SLAMED, Germany



- **Bahan**

1. Sample darah vena dalam Heparin usia  $\pm 1$  jam sebanyak  $\pm 30$  cc
2. DMEM LG dengan Serum FBS 20%
3. Phospate Buffer Saline (PBS)
4. Ficol HistoPague densitas 1.077
5. Antibiotik Penicilin+Streptomycin
6. L-Glutamine
7. 0,05 (w/v) trypsin/ 0,53 mM EDTA
8. Tryphan Blue
9. Heat inactivated FBS (Fetal bovine serum)

## Lampiran 2 . Prosedur isolasi sel punca mesenkim

- Stock DMEM LG 20% diambil dengan menggunakan pipet serologi 50 ml dimasukkan ke dalam syringe 50 ml yang sudah dihubungkan dengan filter 0,22  $\mu\text{m}$  yang di tampung dalam tabung falcon 50 ml.
- Stock PBS diambil dengan menggunakan pipet serologis 50 ml dimasukkan ke dalam syringe 50 ml yang sudah dihubungkan dengan filter 0,22  $\mu\text{m}$  yang ditampung dalam tabung falcon 50 ml.
- Stock Ficol Histopague diambil dengan menggunakan pipet serologi 10 ml dimasukan kedalam syringe 10 ml yang sudah dihubungkan dengan filter 0,22  $\mu\text{m}$  yang ditampung dalam tabung falcon 10 ml
- Pengambilan darah pada manusia dewasa dengan Menggunakan Vacuet EDTA 2 mm



- Sample darah diambil dengan menggunakan pipet serologi 2 ml/5 ml digabungkan dalam tabung falcon 15 ml.



- Campurkan 5 ml darah dengan 5 ml PBS dengan menggunakan pipet serologi 10 ml, kemudian campuran dimasukkan dalam tabung 15 ml dan selanjutnya dilakukan homogenisasi

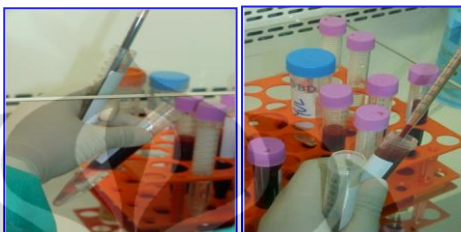


- Ambil 5 ml Ficol Histopague dengan menggunakan pipet serologi 5 ml dan ditempatkan pada tabung 15 ml



Siti J. Grübner Property

- Campuran sample darah + PBS sebanyak 10 ml dengan menggunakan pipet serologi 10 ml lalu dimasukkan kedalam tabung yang sudah berisi larutan Ficol Histopague melalui dinding tabung secara hati – hati agar tidak tercampur. Lakukan cara di atas dengan tabung yang lain



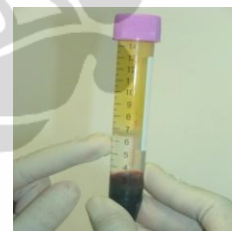
Siti J. Grübner Property

- Lakukan sentrifuge selama 30 menit dengan kecepatan 2000 rpm untuk menghasilkan buffy coat yang mengandung sel mononuklear.



Siti J. Grübner Property

- Saat selesai disentrifuge, dalam tabung akan terbentuk 3 lapisan yaitu serum lapisan interfase dan larutan ficol



Siti J. Grübner Property

- Cairan serum dibuang dengan menggunakan pipet serologi hingga tersisa 2 ml serum



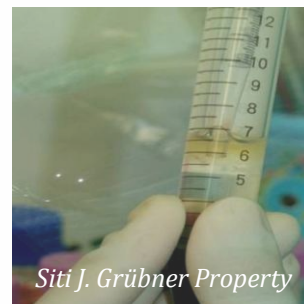
Siti J. Grübner Property



Siti J. Grübner Property



- Lakukan penghisapan larutan interfase terhadap partikel – partikel didalamnya dengan menggunakan pipet serologi 10 ml secara hati-hati agar tidak menghisap serum dan larutan ficolnya



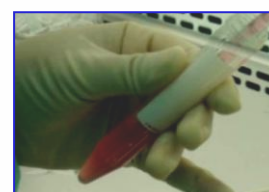
- Larutan interfase yang sudah dihisap ditampung ke dalam tabung falcon 15 ml lalu ditambahkan dengan PBS sampai menjadi 10 ml



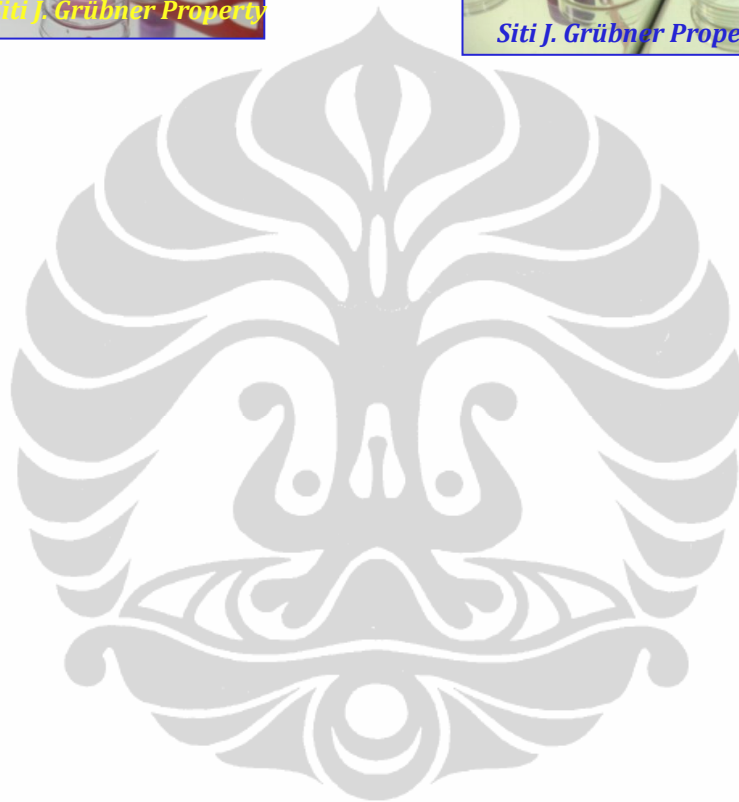
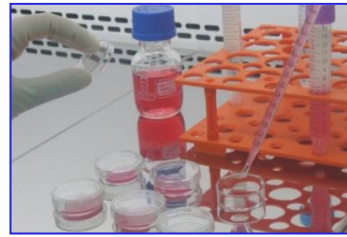
- Lakukan pencucian larutan interfase dengan sentrifuse 10 menit berkecepatan 1200-1600 rpm lalu buang supernatant, lakukan penjentikan pada suspensi lalu tambahkan PBS sebanyak 10 ml. Langkah ini diulang sebanyak 3 kali.
- Hasil pencucian dibuang larutan supernatannya, Kemudian masukkan medium DMEM LG -20% FBS ke dalam tabung sesuai dengan kebutuhan. Lakukan penjentikkan kembali pada suspensi yang terbentuk



- Tambahkan medium DMEM LG yang mengandung FBS 20% sampai 2 ml, tambahkan Antibiotik Penstreph 20  $\mu$ l dan Glutamin 20  $\mu$ l



- Terakhir, suspensi dipindahkan ke cawan petri 35 mm untuk penanaman



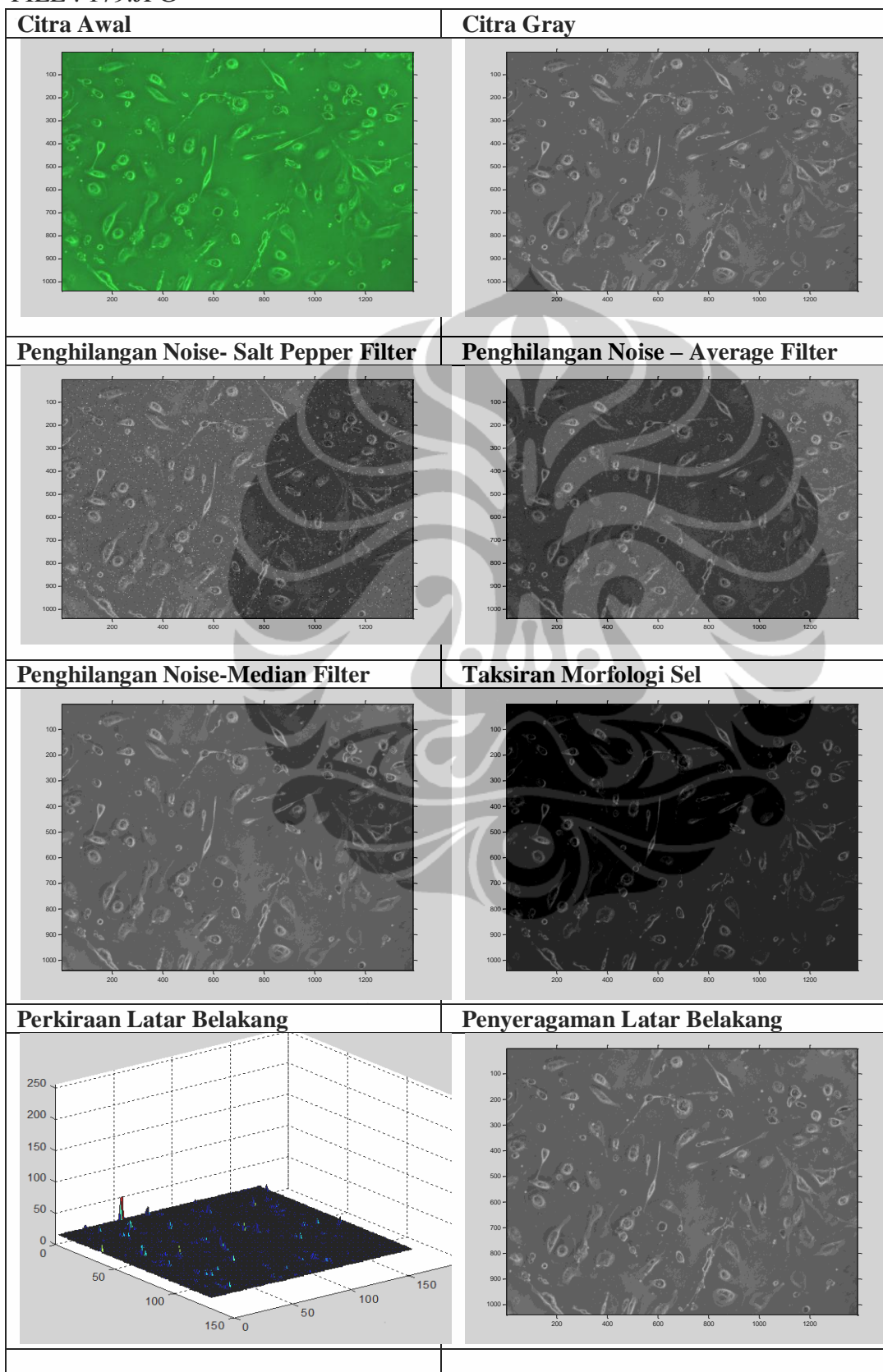


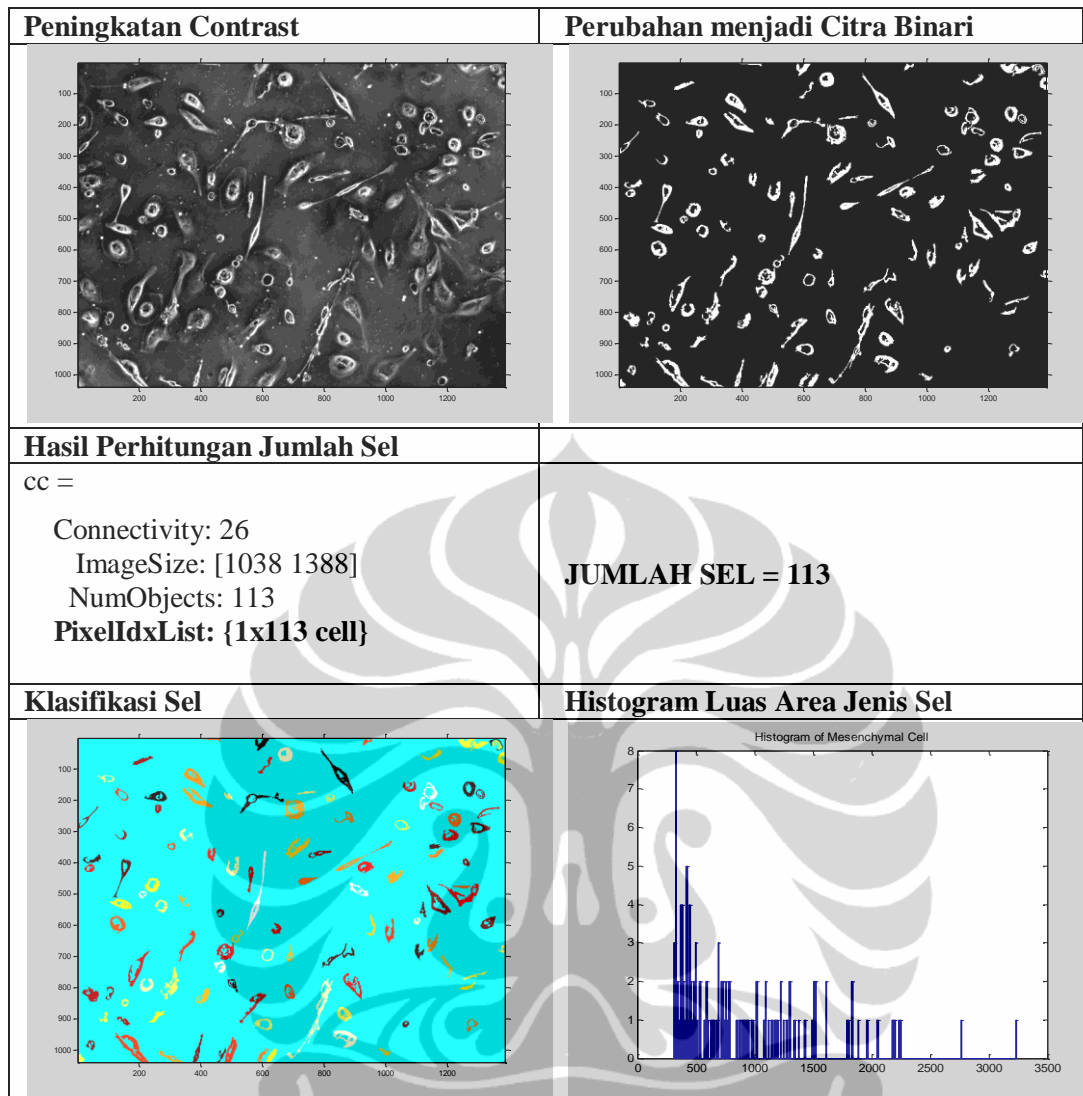
### Lampiran 3. Perhitungan sel dengan program MatLab Syntax program yang dijalankan

```
➤ I=imread('179.jpg'); figure, imshow(I)
➤ J = rgb2gray(I); figure, imshow(J);
➤ K = imnoise(J,'salt & pepper',0.02); figure, imshow(K);
➤ L = filter2(fspecial('average',3),K)/255; figure, imshow(L)
➤ M = medfilt2(K,[3 3]); figure, imshow(M);
➤ se = strel(ones(3,3),magic(3));
➤ getheight(se)
➤ NHOOD = getnhood(se)
➤ se = strel(eye(5));
➤ se = strel('disk',20);
➤ N = imtophat(M,se); figure, imshow(N);
➤ background = imopen(N,strel('ball',5,15));
➤ figure, surf(double(background(1:8:end,1:8:end))),zlim([0 255]);
➤ set(gca,'ydir','reverse');
➤ P = J - background; figure, imshow(P);
➤ Q = imadjust(P); figure
➤ level = graythresh(Q);
➤ bw = im2bw(Q,level);
➤ bw = bwareaopen(bw, 300); figure, imshow(bw);
➤ cc = bwconncomp(bw, 26)
➤ grain = false(size(bw));
➤ grain(cc.PixelIdxList{50}) = true;
➤ labeled = labelmatrix(cc);
➤ RGB_label = label2rgb(labeled, @hot, 'c', 'shuffle'); figure, imshow(RGB_label);
➤ graindata = regionprops(cc, 'basic')
➤ graindata(50).Area;
➤ grain_areas = [graindata.Area];
➤ [min_area, idx] = min(grain_areas);
➤ grain = false(size(bw));
➤ grain(cc.PixelIdxList{idx}) = true;
➤ nbins = 226;
➤ figure, hist(grain_areas, nbins),title('Histogram of Mesenchymal Cell') ;
```

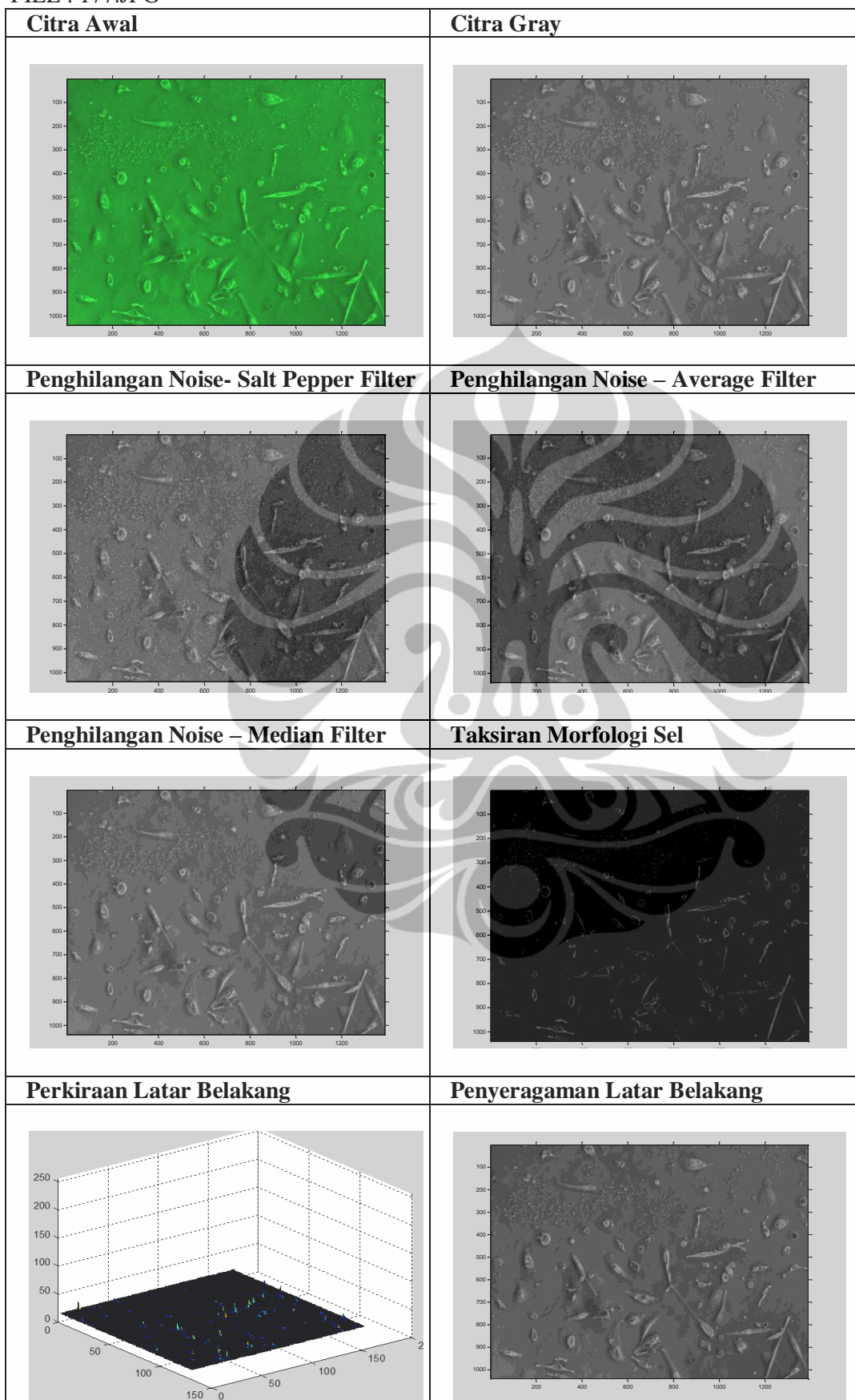
Beberapa contoh perjalanan Program MatLab

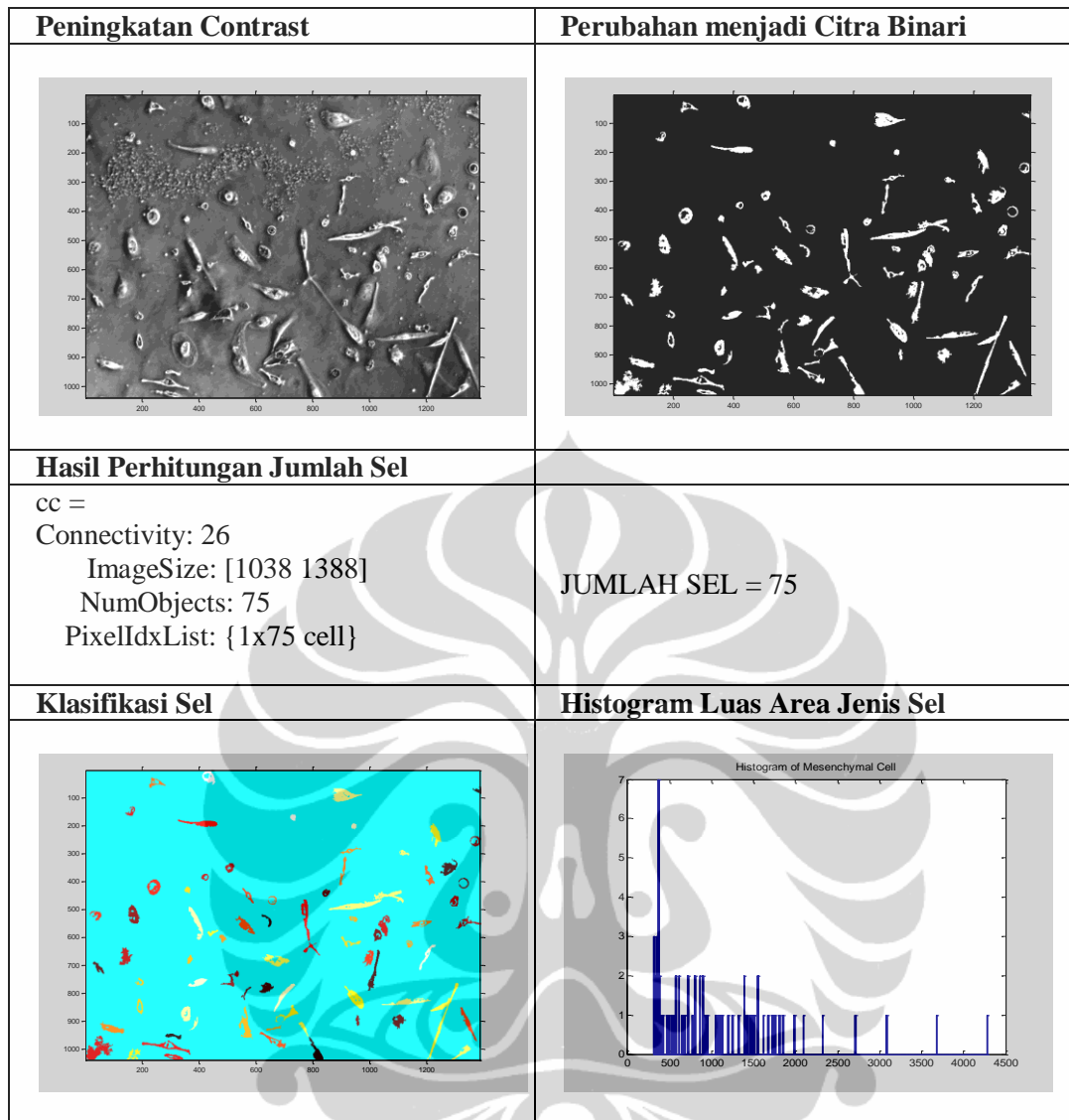
FILE : 179.JPG



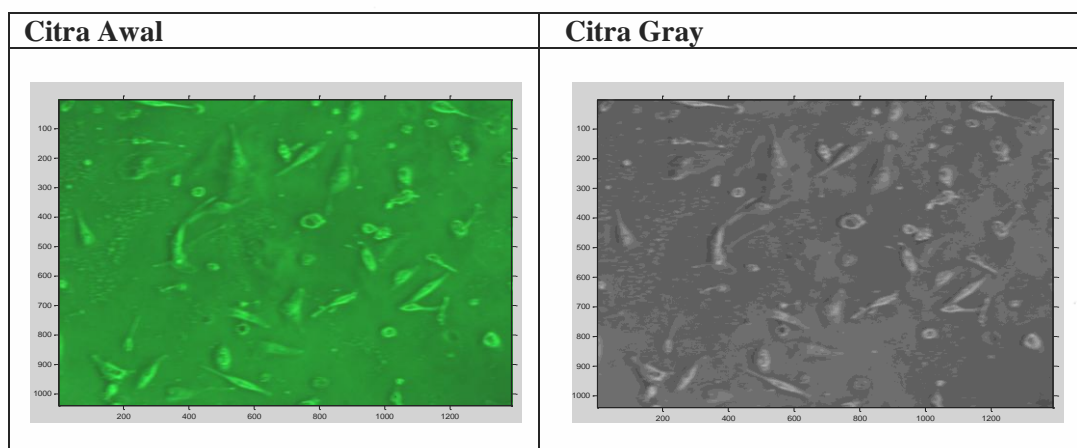


FILE : 177.JPG

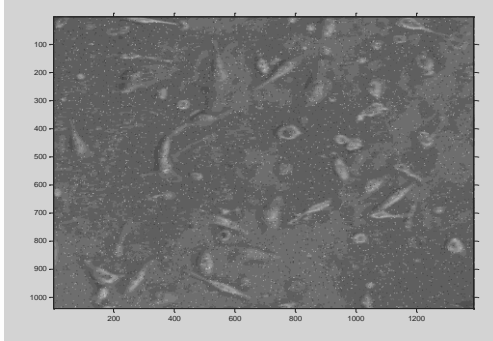
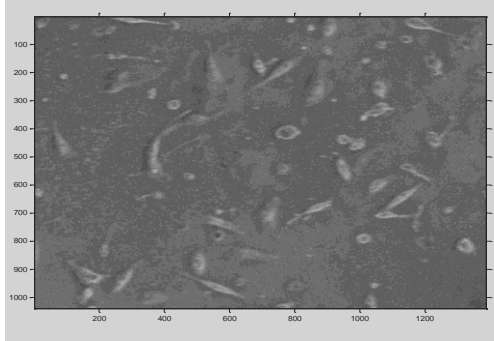
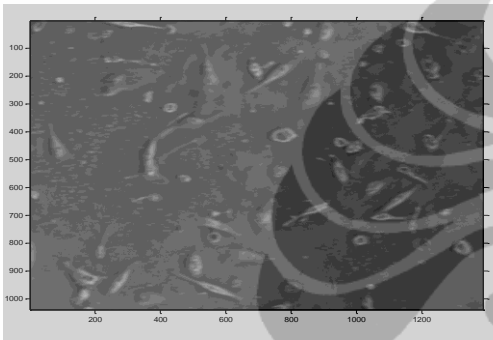
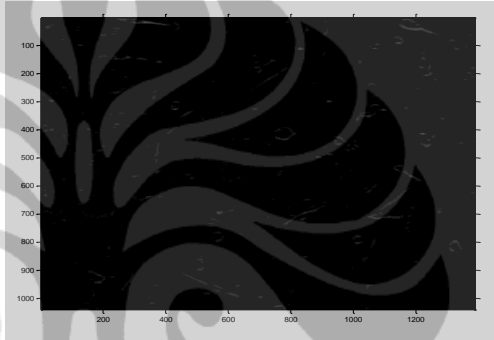
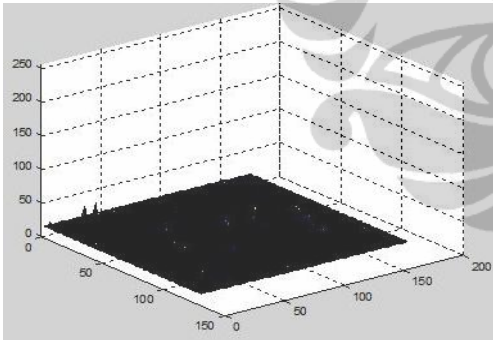
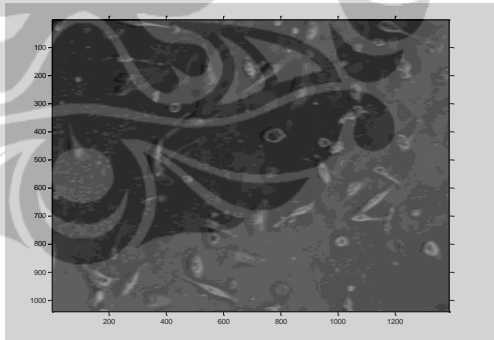
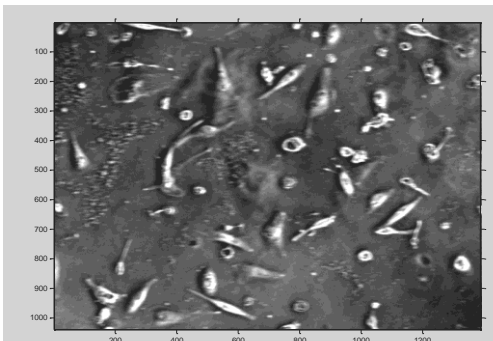
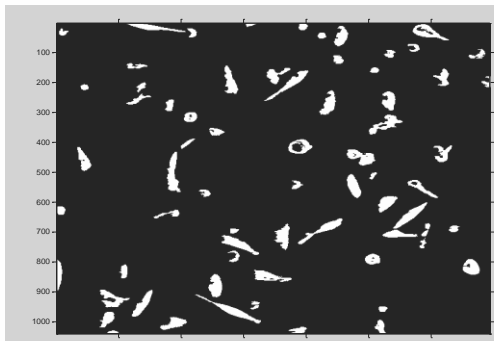


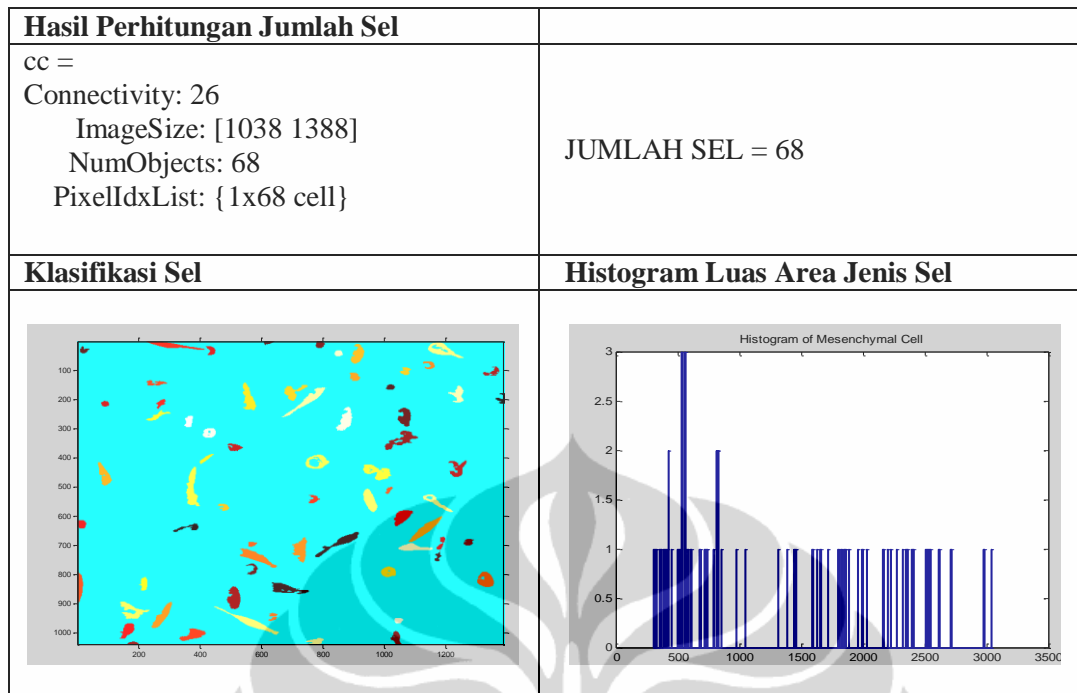


FILE :SNAP-143305-0168.jpg

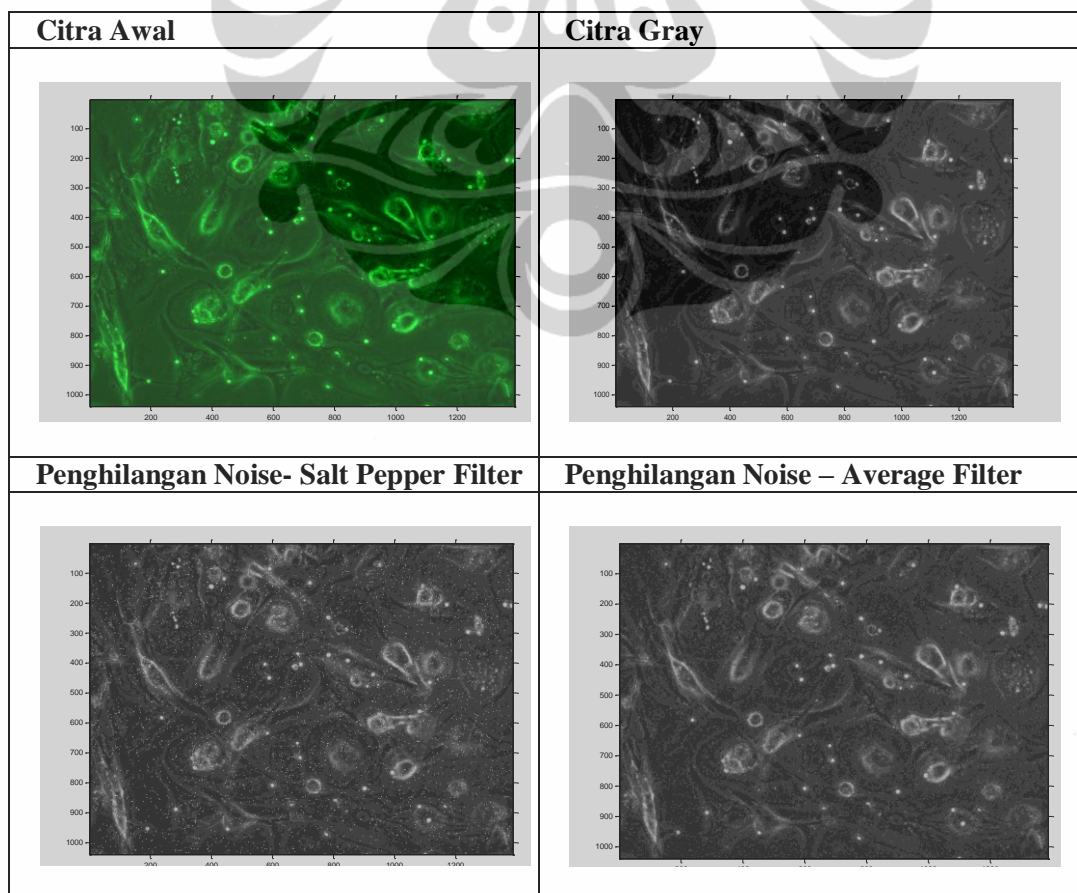


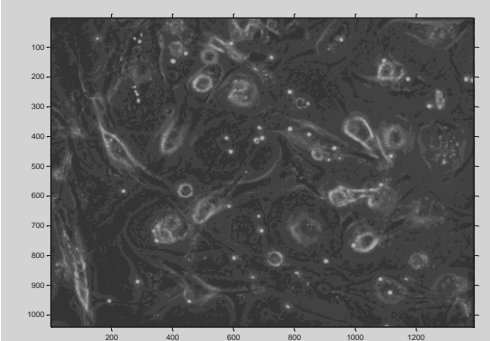
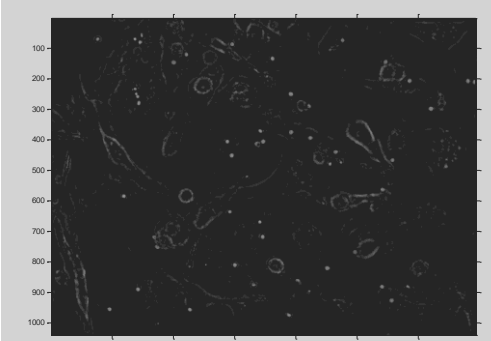
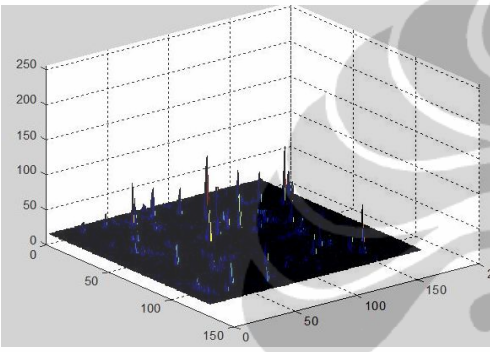
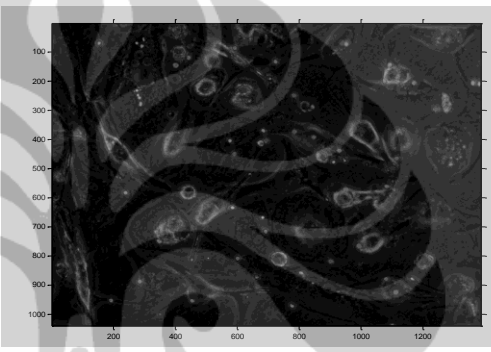
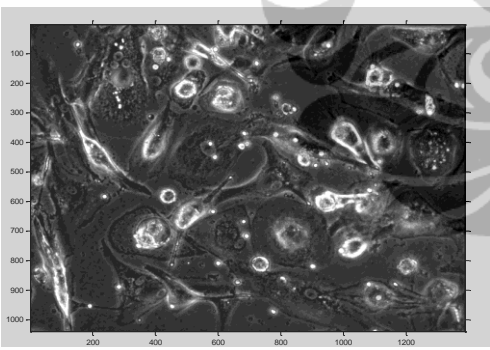
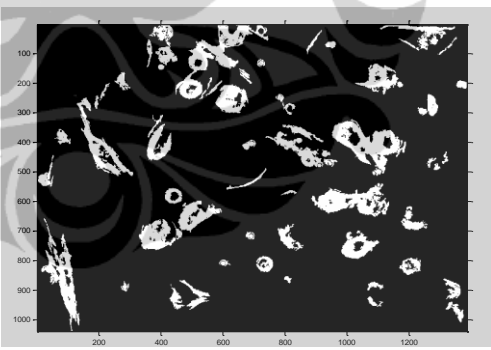


<p><b>Penghilangan Noise- Salt Pepper Filter</b></p> 	<p><b>Penghilangan Noise – Average Filter</b></p> 
<p><b>Penghilangan Noise – Median Filter</b></p> 	<p><b>Taksiran Morfologi Sel</b></p> 
<p><b>Perkiraan Latar Belakang</b></p> 	<p><b>Penyeragaman Latar Belakang</b></p> 
<p><b>Peningkatan Contrast</b></p> 	<p><b>Perubahan menjadi Citra Binari</b></p> 

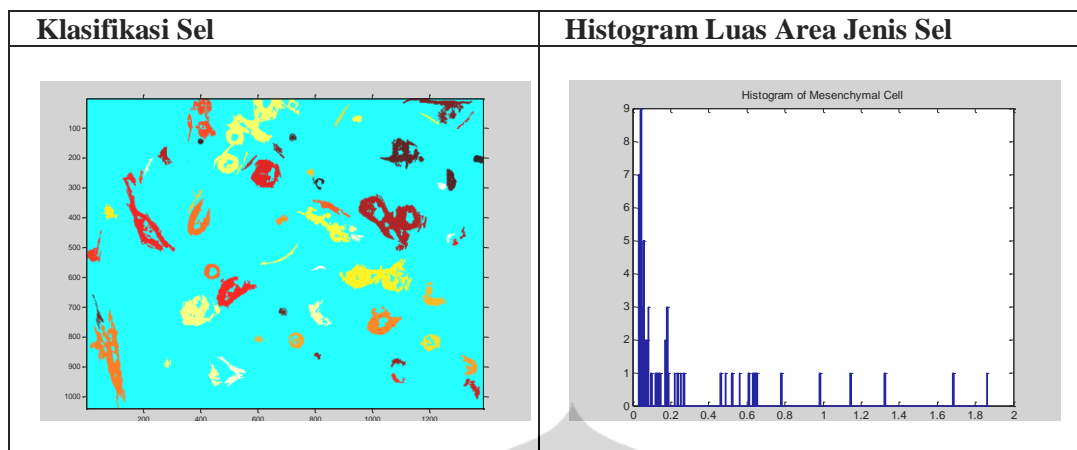


FILE : 'SNAP-144540-0211.jpg'



<p><b>Penghilangan Noise – Median Filter</b></p> 	<p><b>Taksiran Morfologi Sel</b></p> 
<p><b>Perkiraan Latar Belakang</b></p> 	<p><b>Penyeragaman Latar Belakang</b></p> 
<p><b>Peningkatan Contrast</b></p> 	<p><b>Perubahan menjadi Citra Binari</b></p> 
<p><b>Hasil Perhitungan Jumlah Sel</b></p> <p>cc =  Connectivity: 26  ImageSize: [1038 1388]  NumObjects: 60  PixelIdxList: { 1x60 cell }</p>	<p><b>JUMLAH SEL = 60</b></p>





**Lampiran 4: Biaya riset**

**URAIAN PEMAKAIAN BAHAN/ALAT SAAT KULTURISASI**

<b>KULTURISASI SEL TIKUS</b>	<b>KULTURISASI SEL MESENKIM</b>
<p>4 Kali Pasasi, setiap penanaman 2 Cawan Kontrol dan 2 Cawan Paparan Waktu Penanaman setiap kultur = 7 Hari Penggantian Media 2-3 Hari Sekali, Setiap Set Percobaan = 2 kali</p>	<p>1 Kali Isolasi dan penanaman, setiap penanaman 1 Kontrol dan 5 Kelompok Paparan masing masing 2 cawan=16 Cawan Waktu Penanaman setiap kultur = 28 Hari Penggantian Media 3-4 Hari, Total ganti media = 6 kali Sampel Darah 30 ml . Tanpa pasasi</p>
<p><u>Penggantian Media</u> DMEM 12 = 2 ml x 4 Cawan x 4 Pasasi x 2 Kali Ganti Media = 64 ml Pipet 1 ml = 2 x 4 pasasi = 8 buah Penstrep=20 µlx4 Cawan x2 Kali = 160 µl Tabung Falcon 50 ml Tempat DMEM 12 Pipet Serologi 25 ml = 1 buah</p>	<p><u>Penggantian Media</u> DMEM LG=1mlx12 Cawanx 6 Kali Ganti Media = 72 ml ≈ 80 ml FBS 20% = 0.2 x 80 ml = 16 ml Penstrep =20µlx12 Cawanx6 Kali = 1440 µl Glutamin=20µlx12 Cawan x6 Kali= 1440 µl Pipet1 ml=6 sampel x 6 Kali Ganti=36 buah</p>
<p><u>Pasasi dan Perhitungan Hemositometer</u> Pipet 1 ml untuk Ambil Media= 2 buah x 4 pasasi x 2 Kali Ganti Media = 16 buah Pipet 1 ml untuk Cuci dengan HBSS = 1 buah x 4 pasasi = 4 buah HBSS cuci=2 mlx4 Cawanx4 Pasasi= 32 ml Pipet 1 ml setelah Cuci HBSS = 4 buah Trypsine=1mlx4 Cawan x 4 Pasasi = 16 ml DMEM 12 untuk penginaktifasi=1 mlx4Cawan x4 Pasasi= 16 ml HBSSsentrifuse=1mlx4Cawanx4Pasasi=16ml Tabung Sentrifuse 15 ml=4 Cawan x 4 Pasasi = 16 buah Pipet 1 ml setelah sentrifuse = 4 buah DMEM 12=1 mlx4 Cawan x 4 Pasasi = 16 ml Tripan Blue=200µlx4Cawanx4Pasasi= 3.2 ml HBSS = 600µl x 4 Cawan x 4 Pasasi = 9.6 ml Pipet 100 ml =2x2Sampelx4 Pasasi = 16 buah Pipet 10µl = 2x2 sampel x 4 Pasasi = 16 buah DMEM 12 untuk penanaman = 2 ml x 4 Cawan x 4 Pasasi = 32 ml Penstrep=20 µl x 4 Cawan x 4 Pasasi = 320 µl Transport Tube 5 ml = 6 buah Pipet Serologi 25 ml = 1 buah Cawan Petri = 4 Cawan x 4 Pasasi = 16 buah</p>	<p><u>Isolasi dan Perhitungan Hemositometer</u> Pipet Serologi 25 ml Stock DMEM =1 buah Syringe 50 ml = 1 buah Filter 0.22 µm = 1 buah Pipet Serologi 25 ml Stock FBS= 1 buah Pipet Serologi 10 ml Stock Ficol= 1 buah Syringe 10 ml = 1 buah Filter 0.22 µm = 1 buah Transport Tube 10 ml = 1 buah Ficol = 5 ml x 6 tabung = 30 ml Pipet Serologi 2 ml Sampel Darah = 1 buah Tabung Sentrifuge 15 ml = 6 buah PBS = 5 ml x 6 tabung = 30 ml Pipet Serologi 10 ml untuk PBS = 1 buah Pipet Serologi 5 ml untuk Ficol= 1 buah Pipet Serologi 10 ml campuran = 1 buah Tabung Sentrifuge 15 ml campuran = 6 buah Pipet Serologi 5 ml buang campuran=1 buah</p>

	<p>Pipet Serologi 5 ml supernatan = 1 buah          Tabung Sentrifuge 15 ml tampungan= 2 buah          PBS Cuci 3 x=10 mlx2 tabungx3 kali = 60 ml          DMEM LG 20% FBS homogenisasi= 2 ml x 2 tabung = 4 ml          DMEM LG 20% FBS untuk penanaman = 2 ml x 12 cawan = 24 ml          Penstrep = 20 µl x 12 Cawan = 240 µl          Glutamin = 20 µl x 12 Cawan = 240 µl          Pipet 1 ml untuk Ambil Media= 1 buah          Pipet 1 ml untuk Cuci dengan PBS = 1 buah          PBS untuk cuci = = 2 ml x 12 = 24 ml          Pipet 1 ml setelah Cuci PBS = 1 buah          Trypsine = 1 ml x 12 Cawan = 12 ml          DMEM LG inaktifasi =1mlx12Cawan=12 ml          PBS sentrifuse =1 mlx12 Cawan= 12 ml          Tabung Sentrifuse 15 ml = 6 buah          Pipet 1 ml setelah sentrifuse = 6 buah          DMEM LG perhitungan =1mlx6 tube = 6 ml          Tripan Blue = 200µl x 6 tabung= 1.2 ml          PBS perhitungan = 600µl x 6 tabung = 3.6 ml          Pipet 100 ml = 2 x 6 Sampel = 12 buah          Pipet 10µl = 2 x 6 sampel = 12 buah          Microtube 1.5 ml = 12 buah          Pipet Serologi 25 ml = 1 buah          Cawan Petri = 12 Cawan</p>
	<p>Analisa Elektrolit, pH, Osmolaritas          Microtube 1.5 ml = 12 buah* 6 kali ukur = 72 buah</p>
<p><b>Total Pemakaian</b>          DMEM LG = 64 ml + 16 ml + 16 ml + 32 ml = 128 ml ≈ 130 ml          HBSS = 32 ml + 16 ml + 10 ml = 58 ml ≈ 60 ml          Trypsine = 16 ml          Tripan Blue = 6 ml          Penstrep = 480 µl          Cawan Petri = 16 buah          Tabung Falcon 50 ml = 1 buah          Transport Tube 5 ml = 6 buah          Tabung Sentrifuge 15 ml= 16 buah          Pipet Serologi 25 ml = 2 buah          Pipet 1 ml = 16 +8+ 4 +4 +4 buah = 36 buah          Pipet 100 ml = 2 x 2 Sampel x 4 Pasasi = 16</p>	<p><b>Total Pemakaian:</b>          DMEM LG = 80 ml + 4 ml + 24 ml + 12 ml + 6 ml = 128 ml ≈ 130 ml          PBS = 30 ml + 60 ml + 24 ml + 12 ml + 3.6 ml = 125.6 ml ≈ 130 ml          FBS 20% = 0.2 x 130 ml = 26 ml          Ficol = 30 ml          Trypsine = 12 ml          Tripan Blue = 1.2 ml          Penstrep = 1440+ 240 = 1680 µl≈ 2 ml          Glutamin = 1440+ 240 = 1680 µl≈ 2 ml          Cawan Petri = 12 buah          Tabung Sentrifuge 15 ml=6+6+2+6=</p>

buah Pipet 10 $\mu$ l = 2 x 2 sampel x 4 Pasasi = 16 buah	20 buah Pipet Serologi 25 ml = 1 buah Pipet Serologi 10 ml = 1+1+1= 3 buah Pipet Serologi 5 ml = 1+1+1= 3 buah Pipet Serologi 2 ml = 1 buah Pipet 1 ml = 36+1+1+1+6 = 45 buah Transport Tube 10 ml = 1 buah Pipet 100 ml = 12 buah Pipet 10 $\mu$ l = 12 buah Microtube 1.5 ml = 12+94 = 72 buah Pipet Serologi 25 ml = 1 buah Cawan Petri = 12 Cawan Syringe 50 ml = 1 buah Filter 0.22 $\mu$ m = 1 buah
--	--

No.	Uraian	Unit	Biaya Satuan	Pemakaian	Biaya (Rp)	Sumber Dana
1	DMEM/F12 1:1	100 ml	Rp. 600,000	130 ml	Rp. 780,000	Lab KF
2	DMEM High Glucose	100 ml	Rp. 1,200,000	130 ml	Rp. 1,560,000	Lab KF
3	Fetal Bovine Serum	100 ml	Rp. 1,200,000	26 ml	Rp. 312,000	Lab KF
4	Ficoll Hystopaque	100 ml	Rp. 1,000,000	30 ml	Rp. 300,000	Lab KF
5	Penisilin-Streptomycin	100 ml	Rp. 360,000	3 ml	Rp. 10,800	Lab KF
6	L-Glutamin	100 ml	Rp. 440,000	2 ml	Rp. 8,800	Lab KF
7	Trypsin/EDTA 0,25%	100 ml	Rp. 250,000	28 ml	Rp. 70,000	Lab KF
8	Tryphan blue	100 ml	Rp. 250,000	10 ml	Rp. 25,000	Lab KF
9	HBSS	100 ml	Rp. 75,000	60 ml	Rp. 45,000	Lab KF
10	Reagen Na <sup>+</sup> K <sup>+</sup> Cl <sup>-</sup> Biolyte Electrode Serum	1 Kit (600 Test) + Service	Rp. 6,600,000	12 Test	Rp. 132,000	Lab KF
11	Sterile container	1 pak	Rp. 50,000	1 pak	Rp. 50,000	Lab KF
12	Sterile material (Tisu, Alkohol, Aquadest)				Rp. 100,000	Lab KF
13	Culture Dish 35 mm	1 pak (20 buah)	Rp. 85,000	16 buah	Rp. 68,000	Lab KF
14	Syringe Filter, 50 mm	1 pak (50 buah)	Rp. 1,400,000	1 buah	Rp. 28,000	Lab KF
15	Centrifuge Tube 15 ml	1 pak (25 buah)	Rp. 95,000	11 buah	Rp. 41,800	Lab KF
16	Microtube 1.5 ml Flatcp	1 pak (500 buah)	Rp. 195,000	72 buah	Rp. 28,080	Lab KF
17	Transport Tube 5 ml	1 pak (25 buah)	Rp. 66,000	6 buah	Rp. 15,840	Lab KF
18	Transport Tube 10 ml	1 pak (25 buah)	Rp. 68,000	1 buah	Rp. 2,720	Lab KF
19	Pipet tips (1000 $\mu$ l)	1 pak (96 buah)	Rp. 200,000	80 buah	Rp. 146,789	Lab KF
20	Pipet tips (200 $\mu$ l)	1 pak (96 buah)	Rp. 200,000	28 buah	Rp. 58,333	Lab KF
21	Pipet tips (0.1-10 $\mu$ l)	1 pak (96 buah)	Rp. 180,000	28 buah	Rp. 52,500	Lab KF
22	Pipet serologi 25 ml	1 pak (50 buah)	Rp. 420,000	3 buah	Rp. 25,200	Lab KF
23	Pipet serologi 10 ml	1 pak (50 buah)	Rp. 260,000	3 buah	Rp. 15,600	Lab KF
24	Pipet serologi 5 ml	1 pak (50 buah)	Rp. 220,000	3 buah	Rp. 13,200	Lab KF
25	Pipet serologi 2 ml	1 pak (100 buah)	Rp. 280,000	1 buah	Rp. 2,800	Lab KF
26	ATK				Rp. 200,000	Lab KF
	<b>JUMLAH</b>			<b>Rp. 4,092,462</b>		<b>Lab KF</b>
27	Phospat Bovine Serum	100 ml	Rp. 75,000	130 ml	Rp. 97,500	Peneliti
28	Culture Dish 35 mm	1 pak (20 buah)	Rp. 85,000	12 buah	Rp. 51,000	Peneliti
29	Vacuet EDTA	1 buah	Rp. 2,000	15 buah	Rp. 30,000	Peneliti
30	Tabung Falcon 50 ml	1 pak (25 buah)	Rp. 160,000	2 buah	Rp. 12,800	Peneliti
31	Centrifuge Tube 15 ml	1 pak (25 buah)	Rp. 95,000	1 pak (25 buah)	Rp. 95,000	Peneliti
32	Magnet Plate 1	4 buah	Rp. 80,000	4 buah	Rp. 320,000	Peneliti
33	Magnet Plate 2	6 buah	Rp. 80,000	6 buah	Rp. 320,000	Peneliti
34	Magnet Disk	12 buah	Rp. 60,000	12 buah	Rp. 720,000	Peneliti
35	Akrilik/Peralatan Penunjang Rancangan				Rp. 400,000	Peneliti
36	Kertas pH				Rp. 90,000	Peneliti
37	Reagen Na <sup>+</sup> K <sup>+</sup> Cl <sup>-</sup> Biolyte Electrode Serum	1 Kit (600 Test) + Service	Rp. 6,600,000	42 Test	Rp. 462,000	Peneliti
	<b>JUMLAH</b>			<b>Rp. 2,598,300</b>		<b>Peneliti</b>
	<b>TOTAL ANGGARAN LABORATORIUM KULTURISASI</b>				<b>Rp 6,690,762</b>	

### Lampiran 5: Analisa variasi F-Test data perhitungan jumlah sel

No.	Personal A	Personal B	Personal C	Matlab	No.	Personal A	Personal B	Personal C	Matlab	No.	Personal A	Personal B	Personal C	Matlab
1	44	39	41	41	51	32	30	32	32	101	25	22	25	25
2	35	38	33	38	52	31	31	31	31	102	23	23	23	23
3	52	48	48	48	53	32	32	32	32	103	27	26	26	26
4	23	41	44	44	54	32	34	34	34	104	31	29	33	31
5	54	55	55	55	55	45	44	38	44	105	17	15	17	17
6	62	58	49	55	56	45	36	40	40	106	13	13	13	13
7	21	18	18	18	57	37	37	37	37	107	11	11	11	11
8	43	46	48	46	58	32	32	32	32	108	21	21	23	21
9	52	54	54	54	59	35	35	38	38	109	26	25	25	25
10	66	62	56	62	60	50	46	50	50	110	28	28	28	28
11	62	59	59	59	61	41	40	40	40	111	27	27	27	27
12	41	45	48	48	62	34	34	34	34	112	31	31	31	31
13	47	44	38	44	63	37	33	36	36	113	35	32	32	32
14	52	34	38	38	64	36	36	36	36	114	31	28	28	28
15	37	34	34	34	65	47	45	49	47	115	26	23	24	23
16	34	25	27	25	66	43	43	43	43	116	27	27	27	27
17	37	38	38	38	67	33	32	32	32	117	36	31	33	33
18	37	34	36	34	68	35	33	33	33	118	26	23	23	23
19	41	32	32	32	69	38	38	38	38	119	23	20	22	20
20	35	24	24	24	70	26	31	34	34	120	27	27	27	27
21	34	34	34	34	71	28	28	28	28	121	15	15	15	15
22	37	32	34	34	72	23	19	22	22	122	25	25	27	25
23	35	32	32	32	73	36	35	30	35	123	22	21	21	21
24	40	41	40	38	74	25	21	25	25	124	25	25	25	25
25	52	52	52	52	75	35	36	36	36	125	33	45	40	45
26	59	54	56	56	76	21	24	26	26	126	33	30	33	33
27	45	58	58	58	77	37	32	32	32	127	27	27	27	27
28	52	42	40	45	78	25	20	22	20	128	20	20	20	20
29	46	48	43	48	79	19	19	19	19	129	25	25	26	25
30	52	49	49	49	80	18	18	18	18	130	31	25	28	28
31	57	62	62	62	81	26	27	27	27	131	27	27	27	27
32	45	45	45	45	82	20	21	23	21	132	36	32	36	36
33	58	51	55	55	83	41	38	38	38	133	26	25	25	25
34	56	56	60	60	84	30	23	27	27	134	28	25	29	28
35	53	52	52	52	85	32	32	32	32	135	27	27	27	27
36	32	38	32	38	86	34	30	36	34	136	16	16	16	16
37	63	57	59	59	87	41	38	38	38	137	29	29	30	29
38	43	43	43	43	88	36	33	33	33	138	29	27	27	27
39	52	47	41	47	89	38	35	33	38	139	56	49	53	53
40	40	37	37	37	90	41	41	41	41	140	37	37	37	37
41	27	33	33	33	91	48	41	45	43	141	46	42	41	46
42	26	33	35	33	92	42	42	42	42	142	19	19	19	19
43	26	27	27	27	93	31	31	31	31	143	21	19	21	21
44	26	20	20	20	94	25	25	27	25	144	20	20	20	20
45	24	23	23	23	95	31	28	31	31	145	42	42	42	42
46	23	23	22	27	96	36	35	35	35	146	66	60	58	63
47	32	35	35	35	97	32	32	32	32	147	56	55	55	55
48	46	41	41	41	98	27	24	24	24	148	34	34	34	34
49	28	23	25	25	99	52	49	46	52	149	28	22	25	25
50	40	35	39	37	100	21	20	20	20	150	24	21	21	21

No.	Personal A	Personal B	Personal C	Matlab	No.	Personal A	Personal B	Personal C	Matlab	No.	Personal A	Personal B	Personal C	Matlab
151	36	33	28	33	201	33	31	34	34	251	73	69	71	71
152	26	26	26	26	202	26	26	26	26	252	93	93	88	93
153	21	21	22	21	203	33	33	33	33	253	127	126	121	126
154	22	22	22	22	204	44	37	35	41	254	113	113	113	113
155	31	29	29	29	205	44	44	44	44	255	151	139	133	139
156	26	23	24	23	206	47	46	46	46	256	156	153	153	153
157	17	17	17	17	207	42	42	36	42	257	166	158	154	160
158	21	18	20	20	208	35	33	35	35	258	132	130	132	132
159	23	22	22	22	209	42	37	39	39	259	150	153	150	155
160	24	20	25	24	210	50	47	42	47	260	135	127	127	127
161	26	20	23	23	211	36	33	33	33	261	130	127	127	127
162	16	16	16	16	212	34	34	34	34	262	104	97	101	101
163	19	19	19	19	213	41	40	41	40	263	83	83	78	83
164	23	17	20	20	214	38	38	33	38	264	81	86	86	86
165	68	65	60	65	215	42	38	42	42	265	84	81	84	84
166	29	29	29	29	216	35	35	36	35	266	93	92	87	92
167	28	28	28	28	217	25	28	28	28	267	56	53	56	56
168	33	31	33	33	218	18	18	18	18	268	51	48	49	48
169	34	32	28	34	219	51	52	50	56	269	33	33	33	33
170	51	46	48	48	220	28	28	28	28	270	61	56	50	56
171	35	35	29	35	221	61	58	59	58	271	62	60	62	62
172	33	30	30	30	222	58	55	55	55	272	61	59	54	59
173	31	37	37	37	223	81	76	78	78	273	68	65	65	65
174	29	29	29	29	224	86	85	85	85	274	101	95	99	99
175	26	26	26	26	225	84	84	78	84	275	59	59	54	59
176	21	17	21	21	226	90	87	87	87	276	62	62	62	62
177	39	40	35	40	227	73	76	67	73	277	75	66	70	70
178	43	40	38	43	228	156	141	144	144	278	69	63	66	66
179	43	42	42	42	229	145	161	156	161	279	100	97	91	97
180	53	50	50	50	230	135	138	135	135	280	149	149	146	146
181	43	43	37	43	231	105	109	104	109	281	147	144	142	147
182	54	54	54	54	232	100	95	99	99	282	156	148	148	148
183	49	47	43	49	233	96	93	90	96	283	122	118	112	118
184	51	58	58	58	234	127	126	126	126	284	91	88	88	88
185	31	28	28	28	235	131	125	123	129	285	52	52	53	52
186	53	46	45	50	236	66	60	63	63	286	61	58	58	58
187	55	52	52	52	237	56	55	55	55	287	39	36	36	36
188	37	37	37	37	238	42	38	41	41	288	28	28	23	28
189	26	19	18	23	239	58	60	54	60	289	23	24	24	24
190	16	16	16	16	240	47	46	46	46	290	31	22	21	26
191	28	25	28	28	241	63	60	61	60	291	33	30	30	30
192	37	37	38	37	242	52	52	52	52	292	19	16	17	16
193	31	28	30	30	243	71	70	65	70	293	25	25	25	25
194	19	20	20	20	244	51	52	52	52	294	29	25	29	28
195	38	32	36	35	245	30	30	31	30	295	37	36	36	36
196	38	37	37	37	246	52	49	52	52	296	59	59	53	59
197	29	29	23	29	247	52	49	49	49	297	92	89	92	92
198	39	37	39	39	248	32	28	33	32	298	132	132	126	132
199	56	60	55	60	249	35	31	34	34	299	174	169	166	171
200	28	28	28	28	250	32	32	32	32	300	193	186	188	188

No.	Personal A	Personal B	Personal C	Matlab	No.	Personal A	Personal B	Personal C	Matlab	No.	Personal A	Personal B	Personal C	Matlab
301	190	191	188	188	351	69	63	67	66	401	41	40	44	43
302	204	203	203	203	352	63	62	62	62	402	66	63	63	63
303	155	140	139	144	353	95	88	86	91	403	75	75	66	72
304	110	105	99	105	354	96	93	93	93	404	73	69	72	72
305	59	68	68	68	355	83	79	82	82	405	135	126	117	123
306	66	66	60	66	356	65	62	62	62	406	34	34	34	34
307	37	34	34	34	357	70	70	70	70	407	15	12	14	14
308	41	41	41	41	358	95	88	86	92	408	16	16	16	16
309	66	63	67	66	359	90	78	72	78	409	18	16	18	18
310	81	72	72	72	360	80	76	76	76	410	28	26	26	26
311	66	63	66	66	361	48	46	48	48	411	35	34	35	34
312	48	45	40	45	362	35	34	34	34	412	38	34	38	38
313	52	50	52	52	363	51	42	42	42	413	42	42	42	42
314	51	48	49	48	364	50	52	52	52	414	66	62	62	62
315	43	42	42	42	365	80	82	77	82	415	75	67	64	70
316	56	56	56	56	366	72	72	74	74	416	70	69	69	69
317	66	56	61	60	367	88	86	86	86	417	80	77	72	77
318	55	55	55	55	368	81	75	74	79	418	71	65	68	68
319	72	68	68	68	369	135	123	117	123	419	53	53	54	53
320	49	48	49	48	370	50	48	48	48	420	66	62	62	62
321	26	23	26	26	371	26	25	19	25	421	50	51	48	53
322	47	44	44	44	372	51	39	42	42	422	41	36	36	36
323	48	46	42	48	373	46	43	43	43	423	16	16	17	16
324	71	66	68	68	374	37	34	35	34	424	16	19	16	16
325	82	77	72	77	375	41	47	44	44	425	25	22	22	22
326	188	173	176	176	376	41	38	38	38	426	25	24	24	24
327	164	161	161	161	377	46	43	46	46	427	39	38	39	38
328	171	170	165	170	378	51	42	36	42	428	55	44	48	48
329	106	103	103	103	379	40	42	46	46	429	42	43	43	43
330	69	66	66	66	380	36	34	29	34	430	55	53	49	55
331	56	56	57	56	381	85	81	82	81	431	39	38	38	38
332	62	58	59	58	382	103	97	100	100	432	36	33	36	36
333	55	53	53	53	383	91	87	82	87	433	41	38	32	38
334	49	45	49	49	384	85	84	84	84	434	27	26	26	26
335	71	69	63	69	385	60	65	59	65	435	16	16	17	16
336	77	77	77	77	386	25	22	25	24	436	32	29	32	32
337	63	62	59	65	387	38	38	38	38	437	24	24	26	24
338	62	61	61	61	388	67	64	65	64	438	41	42	42	42
339	50	48	43	48	389	63	62	62	62	439	43	39	38	43
340	56	53	53	53	390	29	26	22	28	440	38	38	38	38
341	52	52	52	52	391	32	32	32	32	441	42	42	42	42
342	58	58	58	58	392	18	18	18	18	442	40	38	40	40
343	123	117	109	114	393	16	16	16	16	443	27	24	24	24
344	138	138	135	135	394	22	20	22	22	444	29	28	28	28
345	101	99	93	99	395	22	22	17	22	445	38	46	40	46
346	61	66	66	66	396	41	38	42	42	446	40	40	42	40
347	81	70	66	72	397	60	56	56	56	447	33	33	34	33
348	61	58	62	62	398	35	44	39	44	448	36	30	33	33
349	51	55	53	52	399	41	44	45	44	449	33	30	24	30
350	32	33	33	33	400	33	31	34	34	450	33	33	33	33

No.	Personal A	Personal B	Personal C	Matlab
451	33	32	32	32
452	38	33	36	36
453	48	44	39	44
454	33	31	33	33
455	45	45	45	45
456	44	44	38	44
457	38	46	46	46
458	55	52	52	52
459	55	51	56	55
460	56	56	51	56
461	42	39	42	42
462	51	50	51	50
463	52	50	52	52
464	69	72	66	72
465	101	94	98	98
466	62	59	62	62
467	61	61	61	61
468	46	55	55	55
469	53	52	47	52
470	34	29	31	31
471	63	62	62	62
472	92	92	92	92
473	88	85	79	85
474	63	58	62	62
475	29	23	26	26
476	66	72	66	72
477	47	44	46	46
478	39	36	36	36
479	42	42	42	42
480	33	32	32	32
481	34	32	36	34
482	27	26	21	26
483	65	62	64	64
484	87	86	80	86
485	65	64	59	64
486	26	19	23	23
487	49	46	48	46
488	22	22	16	22
489	61	56	54	60
490	61	51	51	51
491	25	25	25	25
492	77	73	71	76
493	26	25	25	25
494	26	24	21	26
495	27	26	26	26
496	62	62	66	62
497	64	62	59	64
498	85	82	76	82
499	29	26	26	26
500	49	46	41	46

## F-Test Two-Sample for Variances

	<i>Personal A</i>	<i>Matlab</i>
Mean	51.672	50.626
Variance	1054.28499	1004.326778
Observations	500	500
df	499	499
<b>f</b>	<b>1.04974298</b>	
P(F<=f) one-tail	0.29393943	
F Critical one-tail	1.15882659	

	<i>Personal B</i>	<i>Matlab</i>
Mean	49.808	50.626
Variance	1006.86487	1004.326778
Observations	500	500
df	499	499
<b>f</b>	<b>1.00252715</b>	
P(F<=f) one-tail	0.48876073	
F Critical one-tail	1.15882659	

	<i>Personal C</i>	<i>Matlab</i>
Mean	49.554	50.626
Variance	963.738561	1004.326778
Observations	500	500
df	499	499
<b>f</b>	<b>0.95958664</b>	
P(F<=f) one-tail	0.32257498	
F Critical one-tail	0.86294188	