

Kultur limfosit dengan medium air kelapa hijau

Nur Anisah

Bagian Histologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

ABSTRACT

Nur Anisah - *Culture of lymphocytes with a medium of green coconut juice*

The study was aimed at investigating whether there were any difference on lymphocyte growth in *in vitro* by using RPMI 1640 and green coconut juice as medium. Lymphocytes were collected from spleen and bone marrow of 8 weeks old albino rats (*Rattus norvegicus*). Rats were sacrificed, subsequently spleen and bone marrow were taken and prepared for single cell suspension. Cells were counted using vital dye (Tripan biru) at 5×10^6 cells/ml. Twenty petri dishes were used. Half of them were used for spleen and the rest for bone marrow cell culture. In every group of those cells, petri were divided into two groups. One group used RPMI 1640 and the other a green coconut juice. Every petri dish was filled with 2 ml of suspension in cell media. All of the petri dishes were incubated in the incubator at 37°C, 5% CO₂ for seven days. After 48 hours and 72 hours culture cells were examined and the percentage of viable cells was counted. Analysis of the viable cells between lymphocyte culture and bone marrow cells using RPMI 1640 and a green coconut juice was compared using Student's t-test and Anava. The results showed the increase of proliferation of viable cells from lymphocyte culture and bone marrow culture in both media hours were observed an after 72. As conclusion there is no significant difference between the growth of lymphocyte and bone marrow using RPMI 1640 and a green coconut juice ($p > 0,05$).

Key words: lymphocytes - cell culture - coconut juice - spleen cells - bone marrow cells

(B.I.Ked, Vol. 27, No. 4:191-200, Desember 1995)

PENGANTAR

Media yang digunakan untuk kultur jaringan seperti RPMI 1640, DMEM, TC 199 dan lainnya merupakan media yang harganya relatif mahal, dan pemesanannya memerlukan waktu lama. Apalagi bila disuplemen dengan FCS/FBS, antibiotika dan bahan lainnya, harganya menjadi sangat mahal. Kultur sel atau jaringan pada umumnya memerlukan waktu yang lama, sehingga media yang dipakai juga banyak. Berdasarkan atas kenyataan tersebut maka perlu diupayakan suatu modifikasi medium/medium alternatif yang bahannya mudah didapat dan harganya murah.

Menurut Homma cit. Kriswari *et al.*¹ air kelapa dapat digunakan sebagai media kultur sel dan media pertumbuhan bakteri. Dalam penelitiannya,

Homma cit. Kriswari *et al.*¹ menggunakan sel primer fibroblast anak ayam dan virus yang diinokulasikan adalah virus polio tipe 1, 2, dan 3.

Kriswari *et al.*¹ melaporkan bahwa air kelapa hijau dapat digunakan untuk pertumbuhan sel C6/36. Sel C6/36 yang tumbuh pada media air kelapa hijau dapat diinfeksi virus dengue dan virus dengue dapat hidup dalam sel tersebut. Menurut Sisson cit. Suhardiyono², komposisi kimia air kelapa yaitu: *specific gravity* 1,02% , bahan padat 4,71%, gula 2,56%, abu 0,46%, minyak 0,74%, protein 0,55% dan senyawa klorida 0,17%. Child³ melaporkan bahwa kandungan dan komposisi zat yang terdapat di dalam air kelapa mirip dengan kandungan dan komposisi zat pada media standar DMEM, antara lain asam amino, gula, vitamin, mineral, ion-ion organik, dan *growth factor* yang diperlukan untuk memacu pertumbuhan sel. Sterilitas air kelapa hijau dapat dijaga selama air kelapa hijau tersebut

masih berada di dalam tempurung kelapanya dan juga proses pengambilan air kelapa dilakukan secara aseptik.

Media yang biasanya digunakan untuk kultur limfosit adalah RPMI 1640 dan DMEM⁴ sedangkan Lahmudin⁵ lebih senang menggunakan media RPMI 1640 dan TC199 untuk media kromosom dari kultur limfosit. Penelitian yang telah dilakukan oleh Mubarika *et al.*⁶ memperoleh hasil bahwa analisis sitogenetika menunjukkan tidak ada perbedaan antara kultur limfosit dan gambaran kromosom dengan menggunakan media kromosom KIT dan media buatan sendiri.

Media yang digunakan untuk kultur limfosit yaitu RPMI 1640, DMEM, dan TC 199 harganya relatif mahal, sedangkan media alternatif air kelapa hijau harganya lebih murah, mudah diperoleh, dan dapat digunakan untuk media kultur sel dan bakteri. Masalah yang timbul adalah: apakah ada perbedaan penggunaan media komersial RPMI 1640 dengan media alternatif air kelapa hijau terhadap pertumbuhan limfosit *in vitro*? Penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan penggunaan media alternatif yang murah (air kelapa hijau) untuk kultur limfosit. Pada penelitian lebih lanjut diharapkan akan diperoleh hasil kondisi optimal media alternatif yang murah (air kelapa hijau) untuk kultur limfosit, sehingga dapat digunakan untuk pengembangan analisis kromosom.

CARA PENELITIAN

Bahan & materi penelitian

1. Sampel limfosit: diambil dari limpa dan sumsum tulang tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur LMR, umur 8 minggu.
2. *Tripan blue* dengan pengenceran 1 ul *tripan blue* dalam 99 ul salin.
3. Larutan HBSS (*Hanks Balance Salt Solution*), pH 7,4.
4. Medium Kultur:
 - 1) RPMI 1640 yang merupakan serbuk kering dari GIBCO, Cleveland, Ohio, USA, dilarutkan dalam air suling (207,8 gr untuk 20 liter). Ditambahkan sodium bikarbonat (2 gr/l) dan media dibuat pH 7,2 dengan menambahkan HCl pekat.

Larutan disaring dengan menggunakan *millipore* 0,22 ul dan disimpan dalam suhu 4°C.

- 2) Media air kelapa hijau: kelapa hijau yang masih muda dibersihkan dari sabutnya. Kelapa yang sudah bersih diusap dengan alkohol 70% secara merata di seluruh permukaannya. Dalam *laminar hood* steril, mata tunas kelapa dilubangi dengan skalpel. Saring air kelapa hijau dan tampung dengan gelas beker, media dibuat pH 7,2 - 7,4. Jika pH air kelapa terlalu asam dapat ditambah NaOH, dan jika terlalu basa dapat ditambah HCl. Kemudian larutan disaring dengan menggunakan *millipore* 0,22 ul dan disimpan dalam suhu 4°C.
5. FCS dari GIBCO, N.Z. Ltd, Auckland dan disimpan pada -15°C. Sebelum dipakai diinaktifkan dengan cara diinkubasi dalam *water bath* 56°C selama 30 menit.
6. Penstrep 100.000 unit/ml dari Sigma
7. Fungizone dari Sigma

Komposisi media:

HBSS 1 x	
Aquadest steril	887 ml
Hanks 10 x	100 ml
NaHCO ₃ (7,5 %)	7 ml
Phenol red (0,5 %)	4 ml
Penisilin 100.000 unit/ml	1 ml
Streptomisin 100.000 unit/ml	1 ml
dibuat pH 7,0 - 7,2	

Media RPMI 1640

RPMI 1640	94 ml
FCS (10 %, <i>heat inactivated</i>)	5 ml
Penisilin/Streptomisin 100.000 unit/ml	2 ml

Media air kelapa

Hanks 1 x	748 ml
Air kelapa (steril)	230 ml
FCS (10 %, <i>heat inactivated</i>)	20 ml
Penstrep 100.000 unit/ml	2 ml

Alat

1. Alat operasi kecil
2. *Laminar flow hood*
3. Lampu spiritus
4. Centrifuge

5. Inkubator CO₂
6. *Inverted microscope*.

Cara Kerja

1. Alat gelas
Alat gelas direndam semalam dalam air yang mengandung deterjen, kemudian direndam dalam HCl 0,06% dan dibilas dengan air bebas mineral.
2. Sterilisasi
Alat gelas dan larutan yang stabil pada pemanasan yang digunakan untuk kultur sel disterilkan dengan autoclaf pada 100 Kpa selama 20 menit. Larutan lainnya disterilkan dengan jalan di filtrasi menggunakan membran filter *millipore*.
3. Preparasi suspensi sel:
 - 1) Percobaan I: Isolasi limfosit dari jaringan limpa. Tikus dibunuh, jaringan limpa diambil secara aseptik. Di dalam *hood* limpa dicuci dengan HBSS steril, dicacah atau dipencet dengan dua pinset steril sehingga sel limpa terlepas dari kapsula atau jaringan ikatnya. Sel dikeluarkan dengan hati-hati di dalam cawan petri yang sudah ada medianya dengan cara menekannya berkali-kali dengan pinset. Untuk mendapatkan suspensi sel tunggal, suspensi diaspirasi berkali-kali dengan pipet steril, sel dibuat homogen. Sel yang diperoleh dimasukkan ke dalam tabung dan endapan dibuang.
 - 2) Percobaan II: Isolasi limfosit dari sumsum tulang. Tikus dibunuh, tulang paha atau tibia diambil sebagai sumber limfosit. Tulang disiangi, dibersihkan dari otot dan tendo yang melekat, dimasukkan ke dalam 10 ml medium. Di dalam *hood*, ujung-ujungnya dipotong dengan gunting steril, sumsum tulang dikeluarkan dengan memasukkan jarum 19 G ke dalam sumsum dan disuntik dengan media sebanyak 5 - 10 ml ke dalamnya. Dari ujung yang lain dilakukan hal yang serupa. Suspensi sel dibuat dengan mengaspirasi jaringan sumsum berkali-kali melalui *syringe*.
4. Suspensi sel dicuci dengan cara disentrifus pada 1500 rpm, 4°C selama 10 menit. Su-

pernatam dibuang, kemudian *pellet* diresuspensi larutan HBSS sebanyak 5 ml dua kali dan sentrifus lagi sampai larutan kelihatan jernih. Supernatan dibuang, diganti dengan medium RPMI 1640 yang sudah dicampur dengan 10 % serum (FCS) dan Penstrep 1 % pada tabung centrifus 15 cc sebanyak 3 ml pada setiap tabung.

5. Penghitungan sel dengan menggunakan hemositometer di bawah mikroskop fase kontras. Jumlah sel adalah jumlah yang dihitung dalam 4 kotak hemositometer (dirata-rata) dikalikan 100 (pengenceran) dikali 10³.
6. Suspensi sel dibuat 10⁷ sel/ml.
7. Disiapkan 20 cawan petri steril, 5 cawan petri untuk percobaan I dan 5 cawan petri untuk percobaan II diisi dengan medium RPMI 1640 2 ml dan ditambahkan suspensi steril dari sel yang telah dipreparasi, 5 cawan petri untuk percobaan I dan 5 cawan petri untuk percobaan II diisi suspensi sel dengan 2 ml media air kelapa hijau dan ditambahkan suspensi steril dari sel yang dipreparasi.
8. Diinkubasikan dalam inkubator 37°C, 5 % CO₂ selama 48 jam, dan 7 hari.
9. Setelah inkubasi, sel diamati dan dibandingkan antara sel yang dikultur dengan media RPMI 1640 dan sel yang dikultur dengan media air kelapa hijau secara *photo microscopy*.

Analisis hasil

Setelah kultur limfosit di dalam inkubator 37°C, 5% CO₂ selama 48 jam dan 72 jam, sel diamati dan dibandingkan antara sel yang dikultur dengan media RPMI 1640 dan sel yang dikultur dengan media air kelapa hijau secara fotomikrografik. Data kultur limfosit dianalisis di bawah *inverted microscope* dan pengamatan terhadap sel-sel yang hidup, kemudian dihitung. Pengamatan di bawah mikroskop, sel hidup tampak menempel pada dasar cawan petri dan tidak melayang-layang walaupun cawan petri digoyang-goyang. Apabila tampak sel melayang-layang atau inti sel piknotik, berarti sel tersebut mati. Cara penghitungan sel hidup atau sel mati adalah sebagai berikut: Dari 5 buah cawan petri yang telah dipilih, untuk 1 buah cawan petri diambil 5 daerah yang diamati, hitung berapa jumlah sel

hidup dan sel mati, kemudian dicari harga rerata untuk sel hidup dan sel mati. Persentase sel yang hidup dihitung dengan cara sebagai berikut:

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{\text{Jumlah sel hidup}}{\text{Total sel hidup} + \text{sel mati}} \times 100 \%$$

Uji statistik untuk mengetahui perbedaan jumlah sel hidup dari kultur sel limpa dan sumsum tulang dengan menggunakan media RPMI 1640 dan media air kelapa hijau digunakan uji-t dan Anava dengan taraf signifikansi 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengamatan di bawah mikroskop pada percobaan I: kultur limfosit dari limpa tikus putih dengan menggunakan media RPMI 1640 dan media air kelapa hijau menunjukkan bahwa pada hari ke-1 setelah penanaman (48 jam) tampak pertumbuhan sel belum padat, hal ini disebabkan jumlah sel yang mengalami mitosis belum banyak. Koloni-koloni sel yang tumbuh berasal dari satu sel, dan sel yang sehat mempunyai ukuran lebih besar bila dibandingkan dengan limfosit. Bentuk sel yang memanjang menunjukkan sel mengalami mitosis atau terjadi proliferasi limfosit, dijumpai perbedaan bentuk dan kegelapan warna dari sel yang satu dengan lainnya (GAMBAR 1 dan 2).

Pada hari ke-3 setelah penanaman (72 jam) pertumbuhan sel lebih padat dibandingkan dengan pertumbuhan sel pada hari ke-1 setelah penanaman. Hal ini mungkin disebabkan karena jumlah sel yang membelah lebih banyak. Sel-sel tampak mulai konfluen (merata). Kultur sel limpa dengan medium air kelapa hijau pada GAMBAR 1, tampak ada beberapa jenis sel yaitu: limfosit, limfoblas, dan sel adheren misalnya fibroblas. Menurut Craigmyle jumlah limfosit berkisar 20% sampai 30% dari jumlah total leukosit⁷. Limfosit ada yang besar (10 um), sedang (8 - 10 um), dan kecil (6 - 8 um). Tetapi hanya limfosit kecil saja yang terdapat dalam darah, dengan inti besar dan bulat, hampir mengisi seluruh bagian sel. Pada limfosit sedang, jumlah sitoplasma lebih banyak, kromatin tersebar di perifer dan dijumpai adanya mitokondria. Sedangkan Hudson dan Hay⁸ mel-

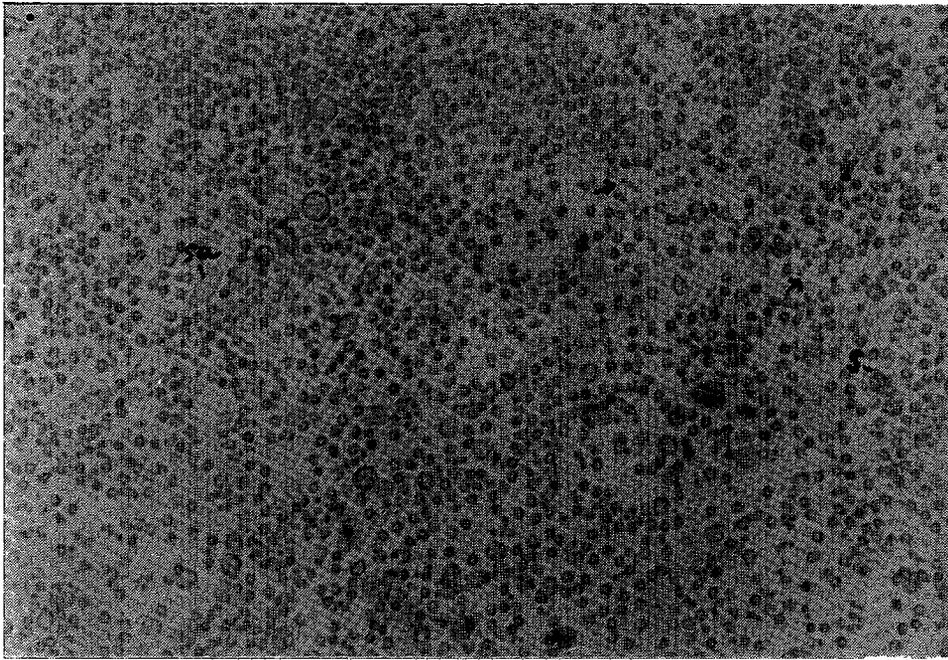
porkan bahwa tipe limfosit kecil merupakan sel berdiameter 10 um dengan rasio nucleus lebih besar dibanding dengan sitoplasma; dan merupakan tipe sel istirahat (G_0). Dengan teknik pewarnaan May Grunwald/Giemsa, tampak sel dengan inti tercat lebih gelap, kromatin padat dan sitoplasma tercat biru. Limfosit dewasa yang ada dalam peredaran darah adalah kecil (6 - 10 um), dengan inti yang dikelilingi sitoplasma sedikit. Bila distimulasi limfosit berubah menjadi sel yang menyerupai sel blas yang mirip dengan sel primitif. Keseluruhan ukuran bertambah, inti menjadi lebih besar dan lebih padat, dan sitoplasmanya juga bertambah banyak.

Hasil penghitungan uji-t menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna ($p > 0,01$) terhadap jumlah sel yang hidup antara kultur limfosit dalam media RPMI 1640 dan media air kelapa hijau. Hal ini menunjukkan bahwa pertumbuhan sel limpa dalam media RPMI 1640 dan media air kelapa hijau relatif sama. Pada penanaman selama 72 jam jumlah sel yang hidup menunjukkan peningkatan dibanding penanaman selama 48 jam (TABEL 1).

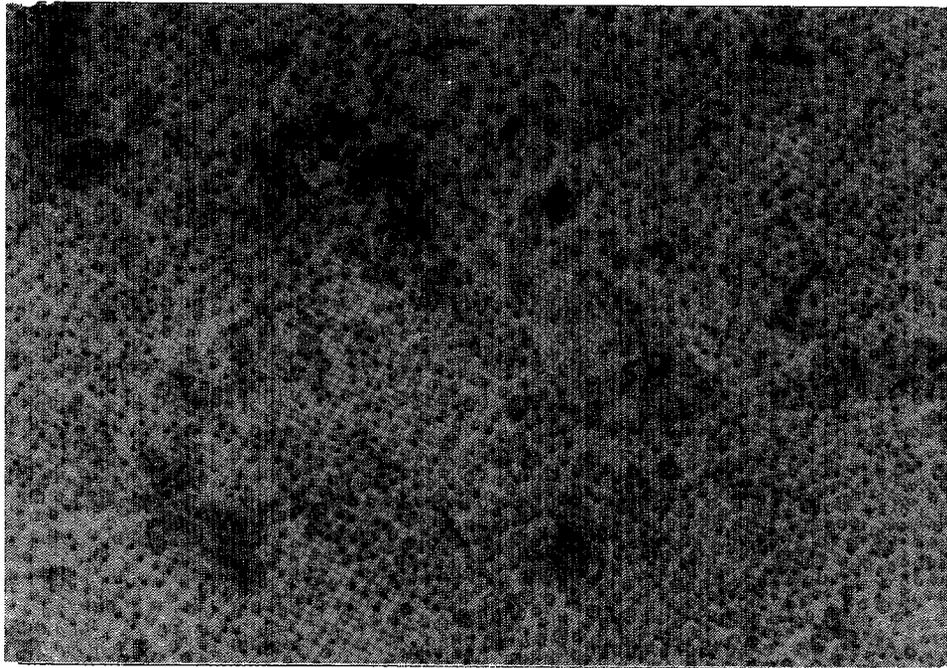
Penanaman sel yang berasal dari organ limfosit mempunyai viabilitas sel yaitu pada timus 95%, limpa 80 - 90% dan nodus limfatikus 70 - 80%⁸.

Jumlah sel per ml berkisar 100.000 - 250.000 sel/ml. Sel disuspensikan dalam media penumbuh dengan jumlah sel per ml yang diinginkan. Medium penumbuh perlu diganti menurut keperluan, untuk mempertahankan pH optimum dan menjaga agar zat makanan yang diperlukan senantiasa cukup. Sel selapis yang konfluen biasanya terjadi dalam waktu satu minggu^{4,9}. Menurut Goding apabila sel menjadi sangat padat mereka mulai tampak tidak sehat, dan viabilitas sel meurun¹⁰. Kejadian tersebut dapat berlangsung secara tiba-tiba jika kultur sel sangat padat setelah penanaman 1 hari, maka hari berikutnya banyak sel yang mati. Pertumbuhan sel limfosit biasanya sangat jelek atau banyak sel yang mati jika berada dalam kondisi *low density*. Keadaan ini tidak diketahui dengan pasti, tetapi mungkin karena adanya toksik dari kultur.

Hasil pengamatan di bawah mikroskop pada percobaan II: kultur limfosit dari sumsum tulang tikus putih dengan menggunakan media RPMI 1640 dan media air kelapa hijau menunjukkan



GAMBAR 1. – Kultur sel limpa dengan media RPMI 1640 (48 jam). S, sel sehat. Sel yang mengalami mitosis (tanda panah). Sa, sel adheren. Perbesaran objektif 40 x.



GAMBAR 2. – Kultur sel limpa dengan media air kelapa hijau (48 jam). Sm, sel mati. Perbesaran objektif 40 x.

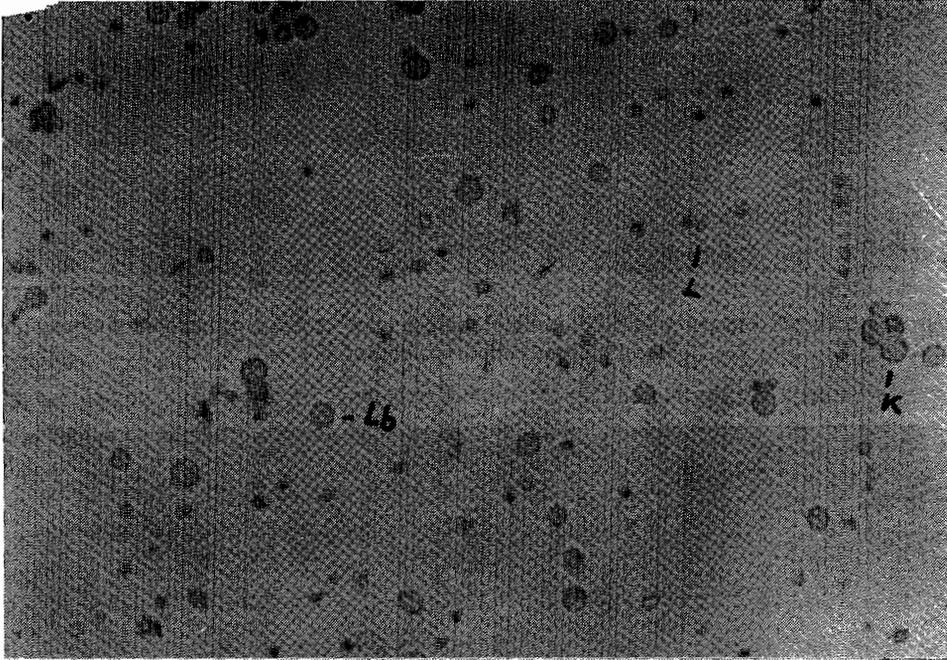
bahwa pada hari ke-1 setelah penanaman (48 jam) tampak pertumbuhan sel belum padat, seperti halnya yang dijumpai pada percobaan kultur limfosit dari sel limpa. Pada GAMBAR 5 & 6 tampak sel membentuk koloni-koloni, limfoblas mempunyai ukuran lebih besar dibanding lim-

fosit, dan sel mengalami mitosis atau terjadi proliferasi sel.

Pada hari ke-3 setelah penanaman (72 jam), tampak pertumbuhan sel menjadi lebih padat bila dibanding dengan penanaman selama 48 jam. Sel-sel banyak yang membentuk koloni sel,

TABEL 1. - Perbandingan nilai rerata jumlah sel hidup dari kultur sel limpa dengan media RPMI 1640 dan media air kelapa hijau selama 48 jam dan 72 jam (%)

No. cawan petri	Sel + medium RPMI 1640		Sel + medium air kelapa hijau	
	48 jam (%)	72 jam (%)	48 jam (%)	72 jam (%)
1	86,00	91,67	87,72	88,14
2	87,72	90,00	89,13	92,19
3	81,39	87,50	86,15	89,58
4	89,13	95,08	87,30	91,11
5	89,39	93,18	84,75	93,18
Rerata ± SD	86,73 ± 3,27	91,49 ± 2,91	87,01 ± 1,65	90,84 ± 2,02



GAMBAR 3. - Kultur sel limpa dengan media RPMI 1640 (72 jam). L, limfosit; Lb, limfoblas; K, koloni sel. Perbesaran objektif 40 x.

limfoblas berukuran besar dengan inti padat, dan sitoplasma sedikit.

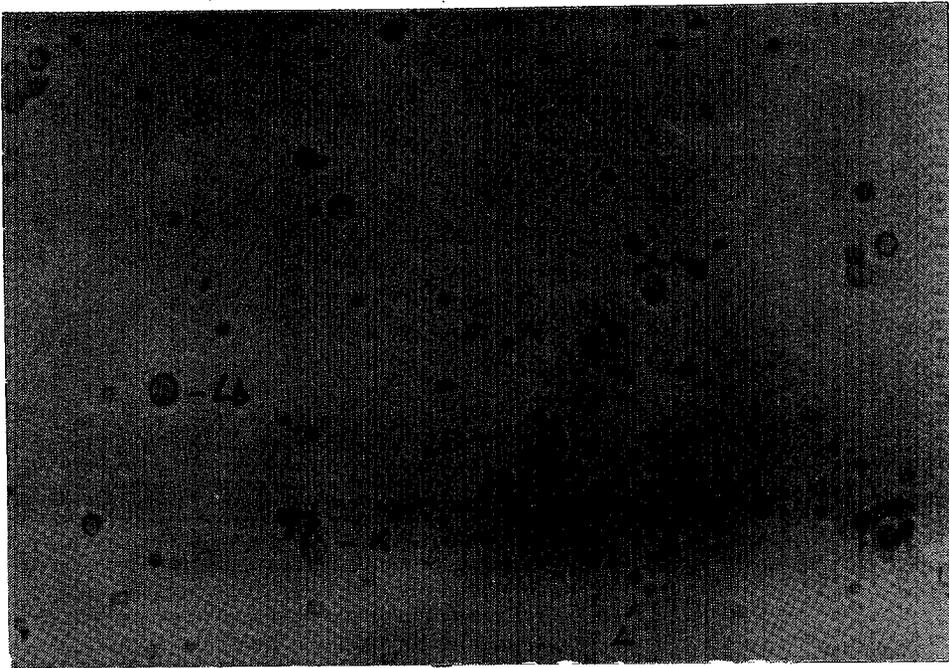
Pengamatan pertumbuhan sel pada hari ke-6 setelah penanaman tampak lebih padat bila dibandingkan dengan penanaman selama 48 jam dan 72 jam, sehingga dapatlah dikatakan pertumbuhan sel sumsum tulang relatif sama dengan per-

tumbuhan sel limpa yang menggunakan baik media RPMI 1640 maupun media air kelapa hijau.

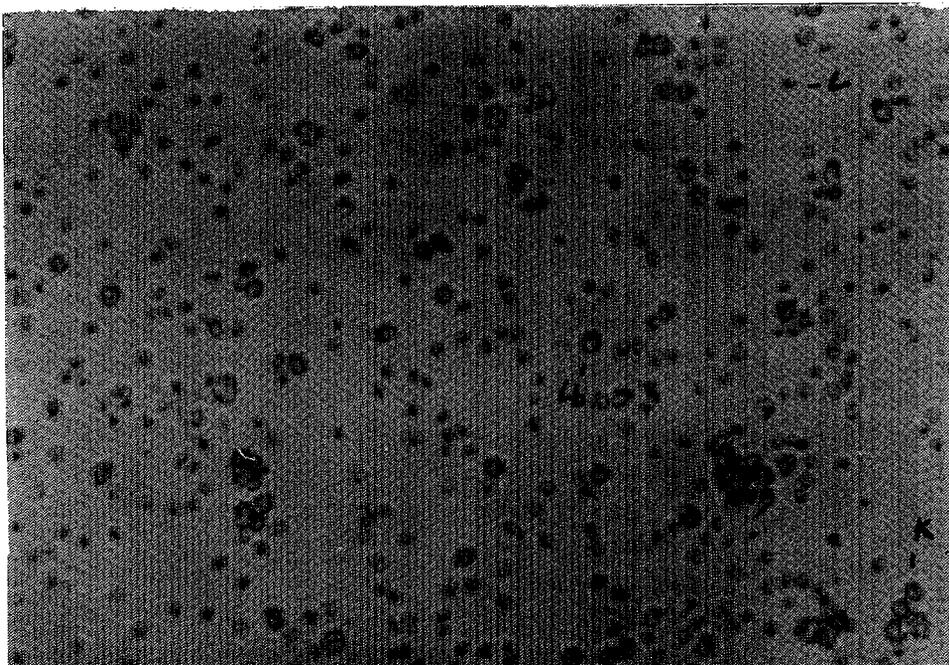
Suspensi limfosit dapat dibuat dari organ limfoid misalnya: limpa, nodus limfatikus, bursa, timus, dan sebagainya. Jumlah sel limfosit limpa mencit berkisar $1 - 2 \times 10^8$ sel, sedangkan pada sumsum tulang $1 - 2 \times 10^7$ sel⁸. Supargiyono me-

TABEL 2. - Perbandingan nilai rerata jumlah sel hidup dari kultur sel sumsum tulang dengan media RPMI 1640 dan media air kelapa hijau selama 48 jam dan 72 jam (%)

No. cawan petri	Sel + medium RPMI 1640		Sel + medium air kelapa hijau	
	48 jam (%)	72 jam (%)	48 jam (%)	72 jam (%)
1	82,22	89,58	84,00	89,23
2	82,00	94,83	89,36	91,49
3	85,00	91,38	85,00	90,00
4	90,00	91,18	84,60	91,38
5	88,33	90,00	82,50	88,14
Rerata ± SD	85,51 ± 3,59	91,39 ± 2,07	85,09 ± 2,57	90,05 ± 1,43



GAMBAR 4. - Kultur sel limpa dengan media air kelapa hijau (72 jam). L, limfosit; Lb, limfoblas; K, koloni sel. Perbesaran objektif 40 x.



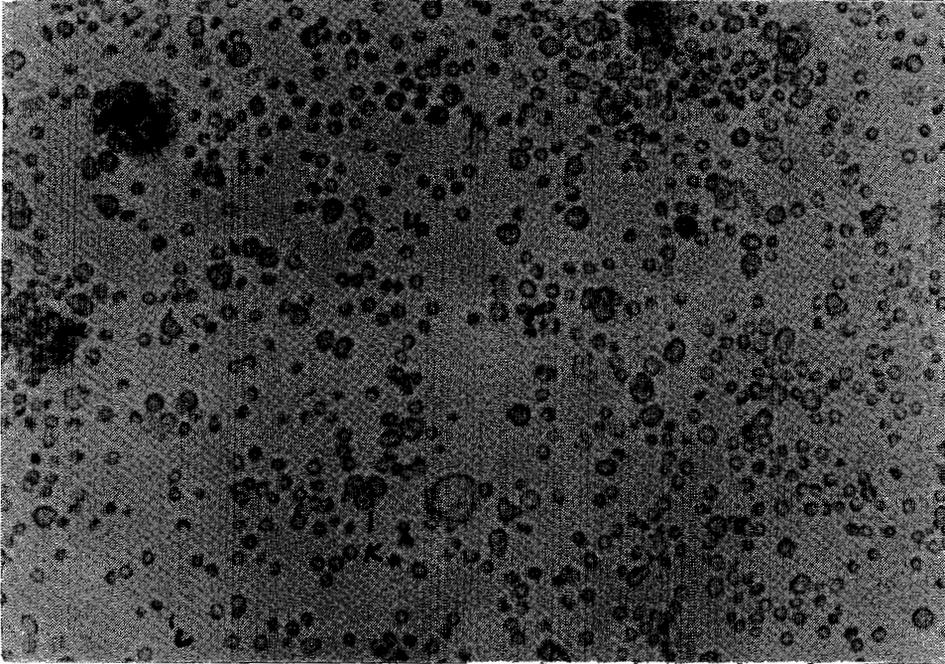
GAMBAR 5. - Kultur sel sumsum tulang dengan media RPMI 1640 (48 jam). L, limfosit; Lb, limfoblas; K, koloni sel. Perbesaran objektif 40 x.

laporkan bahwa pada 2 femur mencit mengandung total sel sumsum tulang $\pm 11,8\%$ ¹¹, sedangkan Freshney⁴ menyatakan 1 femur mencit mengandung $1,5 - 2,0 \times 10^7$ sel.

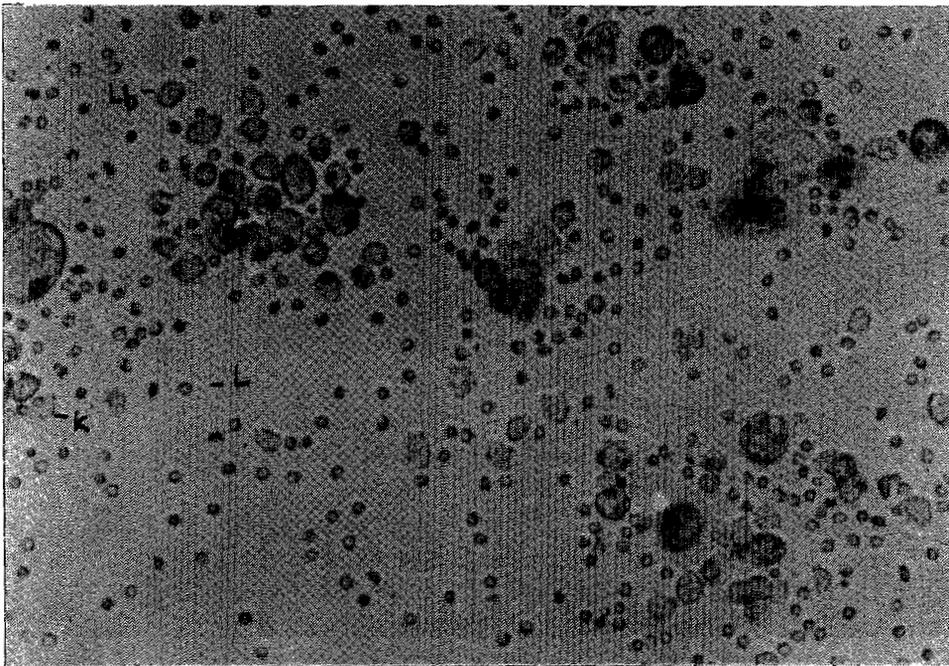
Hasil penghitungan uji-t menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna ($p > 0,01$) jumlah

sel yang hidup dalam kultur limfosit sumsum tulang dengan media RPMI 1640 dibanding dalam media air kelapa hijau pada penanaman selama 48 jam dan 72 jam (TABEL 2).

Hasil analisis variansi terhadap jumlah sel yang hidup antara percobaan kultur limfosit dari



GAMBAR 6. - Kultur sel sumsum tulang dengan media air kelapa hijau (48 jam). L, limfosit; Lb, limfoblas; K, koloni sel. Perbesaran objektif 40 x.

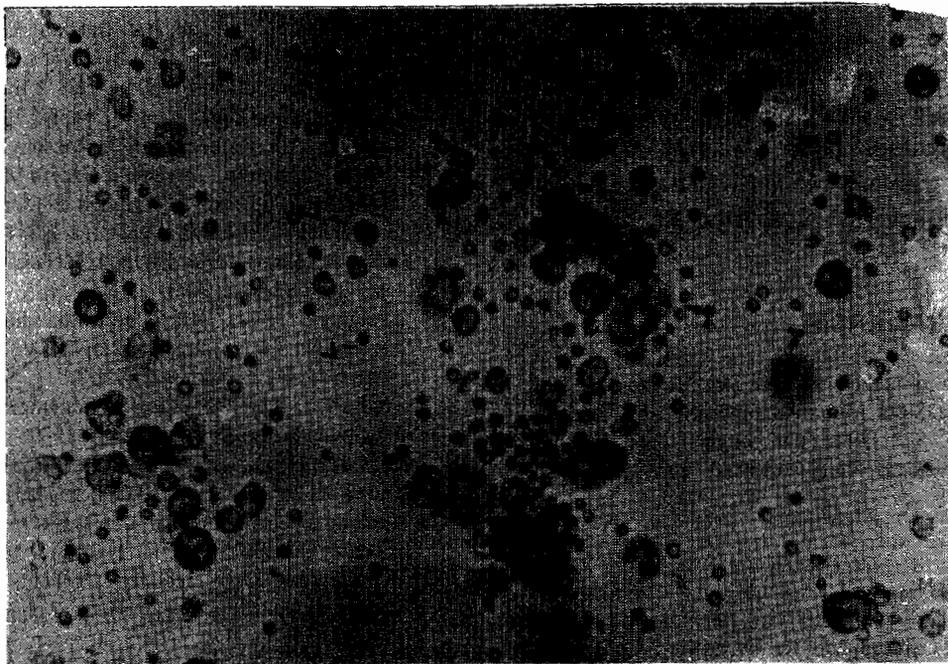


GAMBAR 7. - Kultur sel sumsum tulang dengan media RPMI 1640 (72 jam). L, limfosit; Lb, limfoblas; K, koloni sel. Perbesaran objektif 40 x.

limpa dan sumsum tulang dengan menggunakan media RPMI 1640 dan air kelapa hijau setelah penanaman selama 48 jam dan 72 jam tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p > 0,05$).

Kriswari *et al.*¹ melaporkan bahwa pertumbuhan sel C6/36 dalam media air kelapa tanpa

ditambah FBS ternyata secara mikroskopik tidak berbeda dengan media lain yang di tambah FBS. Hal ini disebabkan karena adanya *growth factor* dalam air kelapa. Bukti penelitian yang mendukung, air kelapa dapat memacu pertumbuhan embrio *Datura stramonium*³ dan pernah



GAMBAR 8. – Kultur sel sumsum tulang dengan media air kelapa hijau (72 jam). L, limfosit; Lb, limfoblas; K, koloni sel. Perbesaran objektif 40 x.

digunakan sebagai media tambahan untuk menumbuhkan sel primer fibroblas ayam, yang kemudian dapat ditumbuhi virus polio.

Dalam pertumbuhannya kultur memerlukan kondisi lingkungan yang menyerupai kondisi lingkungan *in vivo*. Oleh karena itu harus diperhatikan bejana (tempat biakan) yang akan dipakai dalam biak sel, temperatur dan media. Tempat biakan umumnya mempunyai ukuran dan bentuk yang sama, terbuat dari kaca dan dari plastik (*polystyrene*). Dan penggunaan media ditentukan untuk mempertahankan kehidupan sel dalam jangka pendek dan jangka panjang, dan untuk pertumbuhan sel agar dapat tumbuh dan memperbanyak diri^{4,12}. Kondisi optimum yang ideal air kelapa hijau sebagai media alternatif untuk pertumbuhan sel tidak diketahui secara pasti, oleh karena di dalam penelitian ini tidak dilakukan analisis komposisi kimiawi air kelapa hijau yang digunakan sebagai medium untuk kultur limfosit. Tetapi berdasarkan pengamatan selama penelitian dilakukan, kemungkinan jenis kelapa dan umur kelapa hijau ikut juga menentukan kualitas dari air kelapa hijau yang digunakan sebagai medium untuk pertumbuhan sel.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang diperoleh dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Limfosit dari sel limpa dan sumsum tulang tikus dapat tumbuh baik dalam medium air kelapa hijau. Pada penanaman sel selama 72 jam pertumbuhan sel lebih padat bila dibandingkan dengan penanaman sel selama 48 jam, jumlah sel yang membelah lebih banyak, sel membentuk koloni-koloni, limfoblas berukuran besar dengan inti padat, dan sitoplasma sedikit.
2. Air kelapa hijau dapat digunakan sebagai media alternatif dari media RPMI 1640 untuk pertumbuhan sel limpa dan sumsum tulang tikus.
3. Pertumbuhan sel limpa ataupun sumsum tulang tikus dengan menggunakan media RPMI 1640 dan media air kelapa hijau selama 48 jam dan 72 jam tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p > 0,05$).

Saran

Perlu penelitian lebih lanjut untuk mengetahui:

1. Jenis kelapa, umur kelapa hijau, dan komposisi kimia air kelapa hijau yang digunakan sebagai medium kultur.
2. Apakah medium air kelapa hijau dapat digunakan untuk analisis kromosom ?

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih ditujukan kepada Drg. Retno PA atas kerjasamanya. dr. Sofia Mubarika MMedSc, PhD dan dr. Hari Kusnanto J. SU, DrPh (staf pengajar pada Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada) atas saran dan bimbingannya.

KEPUSTAKAAN

1. Kriswari A, Lazuardi ML, Ratnaningsih T, Cahyani A, Paryanto. Air kelapa hijau (*Cocos nucifera* L. Rump) sebagai media alternatif sel C6/36 untuk menumbuhkan virus dengue. Yogyakarta: Fakultas Kedokteran, Universitas Gadjah Mada, 1994.
2. Suhardiyono L. Tanaman kelapa. Budidaya dan Pemanfaatannya. Yogyakarta: Penerbit Kanisius, 1994.
3. Child R. Coconut. 2nd ed., London: Longman Ltd., 1974.
4. Freshney RI. Culture of animal cell. A manual of basic technique. New York: Alan R Liss Inc, 1987.
5. Lahmudin D. Pemeriksaan kromosom. Yogyakarta: PAU Bioteknologi, Universitas Gadjah Mada, 1991.
6. Mubarika S, Suryadi E, Pardjono E, Sutaryo. Analisis Sitogenetika Penderita Leukemia Di DIY dan Sekitarnya. Yogyakarta: Fakultas Kedokteran, Universitas Gadjah Mada, 1993.
7. Craigmyle MBL. Atlas berwarna histologi. Alih bahasa, Jan Tambayong. Edisi ke-2, CV. EGC, Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran, 1990
8. Hudson L, Hay FC. Practical immunology. London: Blackwell Scientific Publications. 1989.
9. Sardjono B. Biakan Sel Hewan. Yogyakarta: PAU Bioteknologi, Universitas Gadjah Mada, 1988.
10. Goding JW. Monoclonal antibodies principles and practice. Orlando: Academic Press Inc. 1983.
11. Supargiyono. Cell mediated immunity in malaria: Changes in numbers of mononuclear phagocyte during *Plasmodium vinckei* petteri infection in immunized and non-immunized mice. BIKed, 1995; 27(1).
12. Retno PA. Kegiatan proyek magang dalam negeri bidang: kultur jaringan. Yogyakarta: PAU Bioteknologi, Universitas Gadjah Mada, 1992.