

Pemanfaatan Styrofoam Sebagai *Low-Cost Mobile* Inkubator Tanpa CO₂ Untuk Kultur Sel Nyamuk C6/36

Suprihatin¹

¹ Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Suprihatin@ugm.ac.id

Submisi: 29 Desember 2023; Penerimaan: 14 Februari 2025

ABSTRAK

Inkubator adalah salah instrument laboratorium penting yang dibutuhkan untuk kultur sel karena perannya dalam menyediakan lingkungan yang dibutuhkan untuk pertumbuhan sel. Namun dalam praktiknya, banyak laboratorium yang kesulitan memfasilitasi hal ini karena ketidakmampuan untuk pengadaan dan atau pemeliharaan inkubator karena tingginya biaya yang dibutuhkan. Oleh karena itu, diperlukan adanya karya inovasi yang dapat dengan mudah diaplikasikan di laboratorium, salah satunya dengan memanfaatkan bahan limbah di kehidupan sehari-hari. Styrofoam merupakan limbah plastic ringan, sedehana yang memiliki sifat hidrofobik dan dapat mudah dimodifikasi menjadi alat pertumbuhan sel yang efisien dalam kultur. Penelitian ini bertujuan untuk memanfaatkan limbah styrofoam sebagai low-cost mobile inkubator tanpa CO₂ untuk kultur sel nyamuk C6/36. Jenis penelitian ini ialah eksperimental laboratorium dengan menghitung perbandingan viabilitas proliferasi sel C6/36 yang dinkubasi selama 1 sampai 5 hari dalam inkubator konvensional tanpa CO₂ dan styrofoam. Metode yang digunakan ialah uji trypan blue dan MTT. Analisis data dilakukan menggunakan uji statistik dengan p-value < 0,05. Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada viabilitas sel inkubasi hari ke-5 dalam uji trypan blue, sedangkan pada uji MTT ditemukan perbedaan yang signifikan pada hari ke-1 dan ke-4 pasca inkubasi. Hal ini menunjukkan bahwa styrofoam memiliki potensi untuk digunakan sebagai low-cost mobile inkubator dalam penelitian in vitro, khususnya pada penelitian yang menggunakan kultur sel nyamuk C6/36. Styrofoam dapat memberikan lingkungan yang fisiologis untuk sel dapat berproliferasi dengan baik.

Kata kunci: Styrofoam, kultur sel, sel C6/36

LATAR BELAKANG

Sel nyamuk C6/36 merupakan lini sel yang diisolasi dari larva nyamuk *Aedes albopictus* yang dapat digunakan dalam propagasi dan analisis virus yang ditransmisikan oleh nyamuk seperti *Flaviviridae*, *Tigaviridae* dan *Bunyaviridae* family. Pada umumnya, sel C6/36 banyak

digunakan untuk mempelajari pathogenesis atau pengembangan terapi dari infeksi dengue, chikungunya dan zika (Miller *et al.*, 2018). Pada proses kultur, berbeda dengan sel mamalia yang membutuhkan CO₂, sel C6/36 dapat dipertahankan dengan menggunakan media kultur selama 1-2 pada inkubator tanpa CO₂ dengan suhu

25-28°C atau pada suhu ruang dalam keadaan diam selama 14 hari (Zamree *et al.*, 2005).

Penggunaan inkubator pada kultur sel sangat diperlukan dalam proses pertumbuhan dan proliferasi sel, namun pada beberapa kondisi inkubator tidak dapat menyediakan kondisi lingkungan yang stabil dan konsisten untuk sel (Wardiansah *et al.*, 2020). Beberapa factor yang dapat mempengaruhi seperti, perbedaan suhu dalam inkubator (dipengaruhi oleh pembukaan dan penutupan inkubator secara konstan) hingga getaran pada inkubator (berpengaruh pada pertumbuhan sel dalam wadah kultur). Hal-hal ini dapat menimbulkan gangguan pada pertumbuhan sel yang dapat mengarah pada semakin lamanya waktu penelitian hingga meningkatnya biaya penelitian (Ryan, 2012). Selain itu, inkubator konvensional memiliki harga dan biaya pemeliharaan yang tinggi sehingga beberapa laboratorium memiliki keterbatasan dalam pengadaan atau pemeliharaan alat tersebut. Inkubator juga tidak dapat dimobilisasi karena memerlukan sumber listrik sehingga pada beberapa kondisi transport sel yang dibutuhkan dalam konsisi fisiologis sulit dilakukan. Oleh karena itu, diperlukan adanya model inkubator alternatif dapat diaplikasikan dengan sederhana, berbiaya rendah hingga bersifat mobile sehingga memudahkan dalam proses transportasi dan perawatan sel

Salah satu limbah yang dapat dimanfaatkan sebagai inkubator alternatif adalah styrofoam. Styrofoam merupakan salah satu limbah plastic yang mengandung <98 % polystyrene yang umumnya dalam kehidupan sehari-hari digunakan sebagai alat penyimpanan berbagai bahan makanan yang mudah didapatkan, ringan dan dapat dipakai berulang kali

(Nurkusumaprama *et al.*, 2014). Styrofoam tersusun atas bahan plastic yang memiliki koefisien panas rendah sehingga mampu mempertahankan suhu kemasan yang ada di dalamnya (Nurkusumaprama *et al.*, 2014). Dalam dunia medis sendiri Styrofoam umumnya dapat ditemukan di laboratorium karena digunakan sebagai alat transportasi bagi sampel darah, serum atau plasma dan berbagai bahan laboratorium lainnya, serta dapat digunakan sebagai bahan dasar pembuatan perangkat medis dan peralatan laboratorium karena kelembapan dan biokompatibilitasnya. Styrofoam juga diketahui memiliki sifat hidrofobik dan dapat mudah dimodifikasi menjadi alat pertumbuhan sel yang efisien dalam kultur (Insani & Handayani, 2022) (Loos *et al.*, 2014).

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian ini ialah eksperimental laboratorium dengan menghitung perbandingan viabilitas proliferasi sel C6/36 yang dinkubasi selama 1 sampai 5 hari dalam inkubator konvensional tanpa CO₂ dan styrofoam. Objek penelitian ialah sel nyamuk C6/36 yang dimiliki oleh Laboratorium Parasitologi FK-KMK, Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

Instrumen penelitian dalam studi ini meliputi styrofoam ukuran 37,5 x 27,5 x 27,5 cm dengan ketebalan 2,75 cm, T-25 flask, tip kuning 200 µl, tip biru 1000 µl, tube 15 ml, 96- wells plate, centrifuge, laminar flow, inkubator konvensional tanpa CO₂ suhu 27°C, mikroskop incuba, mikroskop inverted, waterbath, hemasitometer, mikropipet, dan ELISA reader.

Bahan penelitian untuk kultur sel terdiri dari sel nyamuk C6/36, *Minimum Essential Medium* (MEM) Sigma Aldrich, *Fetal Bovine Serum* (FBS) Sigma Aldrich,

fungizone, *penicillin-streptomycin*, tripsin, dan *Phosphate-Buffered Saline* (PBS) 1 X pH 7,4. Bahan untuk uji trypan blue terdiri 0,4% *trypan blue*, dan PBS atau serum-free medium. Bahan untuk uji MTT terdiri dari MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide), dan *Dulbecco's Phosphate Buffered Saline* (DPBS).

Sel lini nyamuk *Aedes albopictus* C6/36 diperoleh dan dipertahankan di Laboratorium Parasitologi, FK-KMK, Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Medium yang digunakan ialah *Minimal Essential Medium* (MEM) yang ditambahkan dengan 10 % Fetal Bovine Serum, 0,5 % Fungizone, dan 2 % Penicillin-Streptomycin. Sel dipertahankan dan ditumbuhkan pada T-25 flask. Stock cryo sel dari nitrogen cair dicairkan dalam waterbath 37°C selama $\pm$ 15 menit. Sel dalam cryo tube dipindahkan ke dalam tabung 15 ml dan tambahkan PBS 1x pH 7,4 sebanyak 10 ml. Sentrifuse pada 2000 rpm pada suhu 4°C selama 5 menit. Setelah sentifus, supernatan dibuang dan pelet sel ditambahkan medium penumbuh sebanyak 10 ml. Kemudian dibagi dalam 3 T-25 flask. Masing masing T-25 flask ditambahkan media MEM komplek sebanyak 4 ml. Kemudian, inkubasi sel dalam inkubator tanpa CO₂ suhu 27°C dan styrofoam. Perkembangan sel diamati setiap hari selama tiga hari menggunakan mikroskop inverted hingga sel konfluen 80 % dan siap dipanen.

Hasil Dan Pembahasan

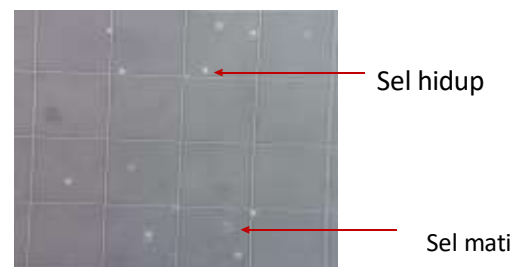
Penelitian ini telah dilakukan sejak tanggal 2 Oktober-15 November 2023 di Laboratorium Parasitologi, Departemen Parasitologi, Fakultas Kedokteran, Kesehatan Masyarakat dan Keperawatan, Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Penelitian dilakukan dengan melakukan

kultur sel C6/36 menggunakan sel stock yang disimpan dalam nitrogen cair. Sel yang telah dikultur kemudian diinkubasi pada inkubator konvensional tanpa CO₂ dan Styrofoam yang dapat dilihat pada Gambar berikut.



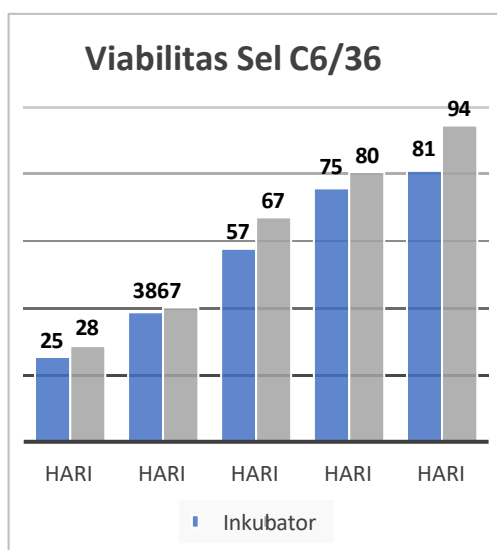
Gambar Proses kultur sel C6/36. A) Pengambil sel C6/36 dari sel stock yang disimpan pada nitrogen cair. B) Pelet sel yang mengendap setelah disentrifuge. Sel yang telah dithawing kemudian dipassage pada T25-flask dan disimpan pada C) Inkubator konvensional tanpa CO₂, dan D) Styrofoam.

Pengujian *trypan blue* pada studi ini dapat dilihat pada Gambar 3 dibawah ini.

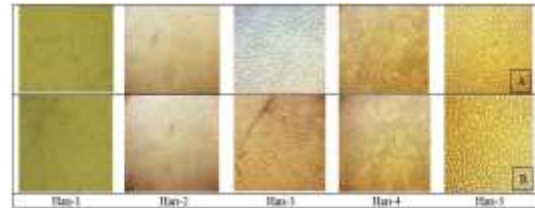


Pada studi penelitian ini, penentuan viabilitas sel menggunakan uji trypan blue menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan yang tampak pada kelompok inkubator dan Styrofoam setelah inkubasi hari ke-1 hingga ke-4, namun perbedaan yang signifikan ditemukan pada hari ke-5. Oleh karena itu, hal ini menunjukkan bahwa Styrofoam memiliki kemampuan untuk yang serupa dengan inkubator tanpa CO₂ untuk memberikan lingkungan yang homeostatis untuk pertumbuhan sel C6/36. Styrofoam diketahui merupakan polystyrene memiliki sifat hidrofobik dan dapat mudah dimodifikasi menjadi alat pertumbuhan sel yang efisien dalam kultur. Permukaan dari styrofoam dapat disterilkan dengan sinar UV atau etilen oksida tanpa menimbulkan dampak buruk pada

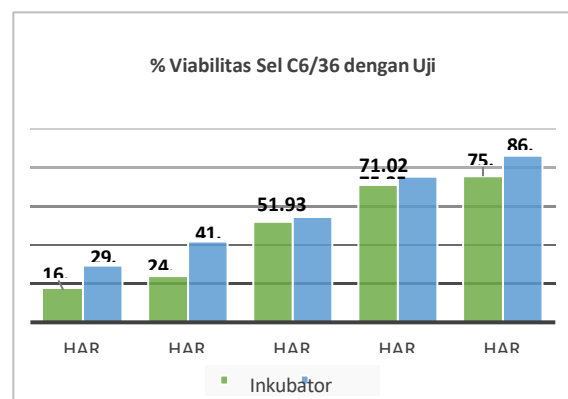
pertumbuhan sel (Loos et al., 2014). Selain itu, Styrofoam yang tersusun atas bahan plastic koefiens panas rendah sehingga mampu mempertahankan suhu yang ada di dalamnya (Nurkumaprama et al., 2014). Perbedaan viabilitas sel C6/36 yang diinkubasi pada inkubator dan Styrofoam dapat dilihat pada gambar berikut.



Perbedaan visualisasi mikroskopik proliferasi sel C6/36 yang diinkubasi pada inkubator dan Styrofoam pada studi ini dapat dilihat pada Gambar 5, sedangkan presentasi viabilitas sel dapat dilihat pada Gambar berikut.



Proliferasi sel C6/36 yang diamati menggunakan mikroskop inverted. A). Atas. Sel yang diinkubasi pada inkubator konvensional tanpa CO₂. B). Bawah. Sel yang diinkubasi pada Styrofoam.



Perbandingan % viabilitas sel dengan uji MTT pada inkubator konvensional tanpa CO₂ dan Styrofoam. Perbedaan signifikan secara statistik hanya ditemukan pada hari ke-1 dan ke-4 dengan nilai $P = 0.04$ dan 0.046 , masing-masing. (Signifikansi = $P < 0.05$).

Pada studi penelitian ini, penentuan viabilitas sel menggunakan uji MTT menunjukkan perbedaan yang signifikan pada hari ke-1 dan ke-4, sedangkan pada hari 2, 3, dan 5 tidak signifikan. Namun walaupun demikian, hal ini menunjukkan

bahwa Styrofoam secara efektif dapat memberikan lingkungan yang baik untuk sel dapat berproliferasi. Studi serupa pernah dilakukan oleh Wardiansah (2020) untuk kultur sel fibroblast namun Styrofoam yang digunakan dalam studi tersebut telah dimodifikasi dengan CO₂. Oleh karena itu, pada studi ini untuk pertama kalinya menunjukan bahwa selain dapat digunakan sebagai media transportasi sampel atau alat dan bahan laboratorium, Styrofoam juga dapat

digunakan sebagai inkubator sel. Styrofoam yang tersusun atas bahan polystyrene merupakan insulator yang baik untuk mencegah adanya perpindahan suhu atau panas internal-eksternal sehingga dapat mempertahankan kondisi fisiologis untuk pertumbuhan sel.

KESIMPULAN DAN SARAN

Styofam merupakan limbah plastik yang memiliki potensi untuk digunakan sebagai low-cost mobile inkubator dalam penelitian *in vitro*, khususnya pada penelitian yang menggunakan kultur sel nyamuk C6/36. Styrofoam dapat memberikan lingkungan yang homestatis untuk sel dapat berproliferasi dengan baik. Penelitian lebih lanjut terkait penggunaan Styrofoam untuk kultur sel lainnya atau digunakan sebagai inkubator untuk propagasi virus khususnya virus Dengue dapat dikembangkan di masa depan. Selain itu, hasil penelitian ini dapat memberikan saintifikasi baru dan mudah diterapkan dalam lingkungan laboratorium karena tidak menggunakan peralatan tambahan lainnya dan juga dapat diaplikasi pada laboratorium yang belum memiliki inkubator konvensional tanpa CO₂ atau pada laboratorium yang memiliki inkubator

konvensional tanpa CO₂ namun memiliki kerusakan tertentu.

DAFTAR PUSTAKA

- Amarullah, I. A., Sucipto, T. H., & Churrotin, S. (2021). Isolasi dan Deteksi Virus Dengue. Surabaya: Lembaga Penyakit Tropis, Universitas Airlangga.
- Bahi, M., Jacob, C., & Khairan, K. (2016). Efekt Sitotoksik Haarlem Oil terhadap HL-60 Cell Line dan *Steinernema feltiae*. Jurnal Kedokteran Hewan, 10(2), 109-114.
- Corsini, J., & Mann, E. (2005). Rapid cryopreservation of five mammalian and one mosquito cell line at -80 degrees C while attached to flasks in a serum free cryopreservative. Biological procedures online, 7, 26–30.
- Insani, I. S., & Handayani, F. (2022). Pengaruh Suhu Inkubasi pada Proses Biodegradasi Styrofoam Menggunakan *Pseudomonas* sp. Jurnal Analisis Biologi, 6(1), 6-10.
- Kamiloglu, S., Sari, G., Ozdal, T., & Capanoglu, E. (2020). Guidelines for cell viability assays. Food Frontiers, 1, 332-349.
- Loos, C., Syrovets, T., Musyanovych, A., Mailänder, V., Landfester, K., Nienhaus, G. U., & Simmet, T. (2014). Functionalized polystyrene nanoparticles as a platform for studying bio-nano interactions. Beilstein journal of nanotechnology, 5, 2403–2412.
- Miller, J. R., Koren, S., Dilley, K. A., Puri, V., Brown, D. M., Harkins, D. M., Thibaud-
- Nissen, F., Rosen, B., Chen, X. G., Tu, Z., Sharakhov, I. V., Sharakhova, M. V., Sebra, R., Stockwell, T. B., Bergman, N. H., Sutton, G. G., Phillippy, A. M., Piermarini, P. M., &

- Shabman, R. S. (2018). Analysis of the *Aedes albopictus* C6/36 genome provides insight into cell line utility for viral propagation. *GigaScience*, 7(3), 1–13.
- Nurkusumaprama, A., Darwati, E., & Purwanto, Y. A. (2014). Aplikasi Ice Gel pada Kemasan untuk Transportasi dan Penyimpanan Sementara Jamur Tiram (*Pleurotus ostreatus*). *JTEP Jurnal Keteknikaan Pertanian*, 2(2), 141-148.
- Riss, T. L., Moravec, R. A., Niles, A. L., Duellman, S., Benink, H. A., Worzella, T. J., & Monor, L. (2013). Cell Viability Assays. In: Markossian S, Grossman A, Brimacombe K, et al (Ed.), *Assay Guidance Manual*. Bethesda, MD: Eli Lilly & Company and the National Center for Advancing Translational Sciences.
- Ryan, Jhon. (2012). *Corning Guide for Identifying and Correcting Common Cell Growth Problems*. United States: Corning Incorporated.
- Segeritz, C. P., & Vallier, L. (2017). *Cell Culture: Growing Cells as Model Systems In Vitro*. Basic Science Methods for Clinical Researchers, 151–172.
- Strober W. (2015). Trypan Blue Exclusion Test of Cell Viability. *Current protocols in immunology*, 111, 1-3
- Wardiansah, Adnindya, M. R., & Hidayat, R. (2020). The Potential of CO2 Inkubator “Sriwijaya Co2 Inkubator” Against Cell Culture Proliferation in Invitro study as Samart Controlling-Based CO2 Inkubator for Cell Culture. *Bioscientia Medicina: Journal of Biomedicine & Translational Research*, 268-271
- Winarno, H., & Pujantara, R. (2015). Pengaruh Komposisi Bahan pengisi Styrofoam pada Pembuatan Batako Mortar Semen Ditinjau dari Karakteristik dan Kuat Tekan. *Jurnal Scientific Pinisi. Universitas Negeri Makassar*, 1(1), 1-12
- Zamree, I., Drakes, N., Rohani, A., & Lee, H. L. (2005). Sensitivity of *Aedes albopictus* C6/36 cells line for the detection and infectivity titration of dengue virus. *Tropical biomedicine*, 22(2), 217–219.