

## BAB II

### KAJIAN PUSTAKA

#### 2.1 Vitamin E

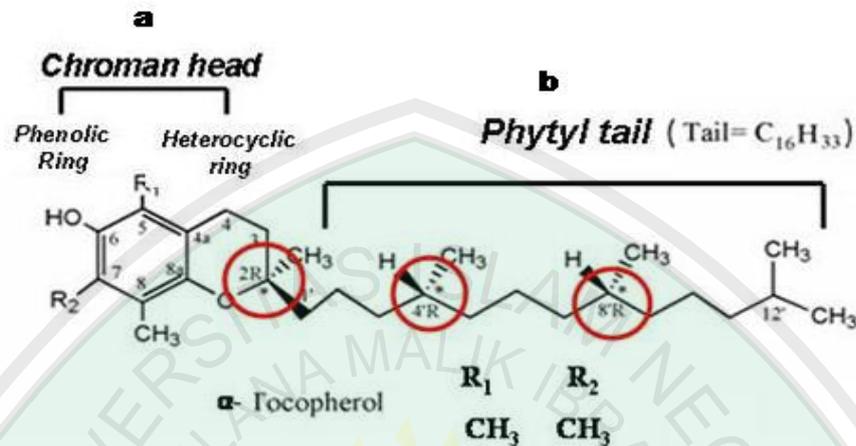
##### 2.1.1 Struktur Kimia Vitamin E ( $\alpha$ -Tokoferol)

Vitamin E adalah istilah umum bagi delapan macam substansi alami yang bersifat lemak, yaitu : 4 *tocopherol* dan 4- *tocotrienol*. Diantara delapan macam substansi tersebut substansi  *$\alpha$ -tocopherol* adalah jenis yang mempunyai aktivitas biologi yang tertinggi dan terdapat dalam jumlah besar dalam jaringan tubuh. Vitamin E merupakan istilah yang menunjukkan kelompok senyawa trienol dimana senyawa yang paling aktif dari kelompok ini adalah  $\alpha$ -tokoferol (Goodman's and Gillman's, 1991).

Sifat fisik vitamin E yaitu: semua bentuk vitamin E adalah minyak yang tidak dapat dikristalkan. Minyak ini mempunyai viskositas yang tinggi, larut dalam lemak dan zat pelarut lemak. Vitamin E stabil terhadap suhu, alkali, dan asam (Sediaoetama, 2006). Sedangkan sifat kimia vitamin E berdasarkan jumlah gugus metil pada inti aromatik tokotrienol, dikenal 6 jenis tokoferol, yaitu  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\delta$ ,  $\gamma$ ,  $\epsilon$ , dan Z. diantara keenam bentuk tokoferol tersebut, yang paling efektif adalah  $\alpha$ -tokoferol (Winarsi, 2007).

Tokoferol mengandung cincin aromatik tersubstitusi dan rantai panjang isoprenoid sebagai rantai samping (Lehninger, 1982). Struktur kimia vitamin E terdiri atas rantai samping gugus merupakan nukleus methylated 6-chromanol (3,4-dihydro-2H-1-benzopyran-6-ol), kemudian 3 unit isoprenoid, dan ikatan ester

atau hidroksil bebas pada C-6 dari nukleus chromanol (Mustacich *et al*, 2007 dan Sareharto, 2010).



Gambar 2.1 Struktur kimia vitamin E, a. Bagian kepala disebut chroman memiliki cincin *phenol* dan cincin *heterocyclic*, b. Bagian ekor disebut *phytyl* memiliki 3 isoprenoid (Winarsi, 2007)

### 2.1.2 Peran Vitamin E ( $\alpha$ -Tokoferol) dalam Media Kultur

Pemberian vitamin E dalam media kultur dapat mempercepat proses penempelan eksplan mencit pada cawan kultur (Steele, 1990). Vitamin E dalam media kultur memberi pengaruh positif terhadap proliferasi sel *dentate gyrus* pada tikus dewasa (Cuppini, 2001). Penambahan Kandungan vitamin E, karoten, dan fenolat pada minyak palm phenolik dapat mempercepat viabilitas sel pada kultur *Baby Hamster Kidney* (BHK) sel line dan juga dapat menghambat pertumbuhan sel tumor (Sekaran, 2010).

Menurut Olson dan Seidel (2000), vitamin E yang ditambahkan dalam media kultur memberi pengaruh positif terhadap perkembangan proliferasi sel embrio sapi yang dikultur *in vitro*. Vitamin E yang ditambahkan dalam media

kultur juga dapat meningkatkan viabilitas embrio mencit yang dipapar panas, hal tersebut dibuktikan dengan pewarnaan (Arechiga, 1994).

Vitamin E dalam media kultur mempunyai peran penting, diantaranya adalah untuk mempertahankan integritas membran sel, sehingga kondisi sel tersebut seimbang dan dapat melakukan proliferasi. Keseimbangan yang terjadi di dalam sel, ternyata juga tercermin dalam firman Allah Swt. Alqur'an surat al-Mulk ayat 3-4, yaitu:

مَا تَرَىٰ فِي خَلْقِ الرَّحْمَنِ مِن تَفْوُتٍ ۖ فَارْجِعِ الْبَصَرَ هَلْ تَرَىٰ مِن فُطُورٍ ۚ ثُمَّ  
 ارْجِعِ الْبَصَرَ كَرَّتَيْنِ يَنقَلِبْ إِلَيْكَ الْبَصَرُ خَاسِئًا وَهُوَ حَسِيرٌ ۝

*"Kamu sekali-kali tidak melihat pada ciptaan Tuhan Yang Maha Pemurah sesuatu yang tidak seimbang. Maka lihatlah berulang-ulang, Adakah kamu lihat sesuatu yang tidak seimbang? Kemudian pandanglah sekali lagi niscaya penglihatanmu akan kembali kepadamu dengan tidak menemukan sesuatu cacat dan penglihatanmu itupun dalam keadaan payah"* (Qs. Al-Mulk: 3-4).

Ayat tersebut menunjukkan bahwa segala sesuatu diciptakan Allah Swt. dalam keadaan seimbang, bahkan bagian terkecil dari makhluk hidup yaitu sel diciptakan dengan seimbang. Kondisi sel yang seimbang, akan melakukan proses metabolisme untuk melakukan pertumbuhan. Sel yang melakukan pertumbuhan, akan mengalami ekspansi, membelah menjadi banyak, sehingga sel dapat berproliferasi. Kondisi sel yang tidak seimbang, akan menimbulkan gangguan yang berakibat pada kerusakan membran sel. Kerusakan membran dapat mengakibatkan pembengkakan sel, lisis, dan akhirnya sel akan mengalami

kematian. Sel agar tidak mengalami kematian secara cepat, maka diberi suplementasi vitamin E yang mampu menjaga keseimbangan intra sel, sehingga integritas membran dapat dipertahankan.

### 2.1.3 Peran Vitamin E ( $\alpha$ -Tokoferol) Sebagai Antioksidan dalam Sel

Antioksidan merupakan agen protektif yang menonaktifkan spesies oksigen reaktif (ROS) sehingga secara signifikan dapat mencegah kerusakan oksidatif (Stiphanuk, 2000). Antioksidan dapat bekerja sebagai antioksidan pencegah, dengan cara mencegah terjadinya radikal hidroksil dan terhimpunnya senyawa-senyawa oksidan berlebihan, serta antioksidan pemutus rantai, mencegah reaksi rantai berlanjut dengan memutus rantai oksidan (Suryohudoyo, 2000 dan Bast. A, 1991).

Oksidan adalah senyawa penerima elektron (*electron acceptor*), yaitu senyawa-senyawa yang dapat menarik elektron. Oksidan dapat mengganggu integritas sel karena dapat bereaksi dengan komponen-komponen sel yang penting untuk mempertahankan kehidupan sel, baik komponen struktural (misalnya, molekul-molekul penyusun membran) maupun komponen-komponen fungsional (misalnya, enzim-enzim dan DNA) (Fessenden dan Fessenden, 1986).

Vitamin E berfungsi sebagai antioksidan, terutama untuk asam lemak tidak jenuh pada fosfolipid dalam membran sel. Vitamin E mempunyai kemampuan untuk melindungi membran sel dari radikal bebas. Pada membran sel vitamin E mengumpulkan radikal bebas sehingga melindungi polyunsaturated fatty acid (PUFA), protein dari kerusakan oksidatif (Linder, 1992). Vitamin E berperan

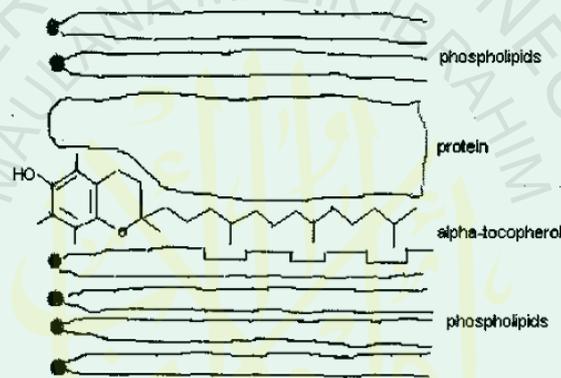
dalam menangkap radikal peroksil yang berfungsi untuk menjaga integritas dari rantai panjang asam lemak tak jenuh ganda pada membran sel sehingga dapat mempertahankan bioaktivitas sel (Traber *et al.*, 2007 dan Singha, 2008).

Vitamin E sebagai antioksidan dapat mencegah proses oksidasi terhadap komponen-komponen sel yang penting dan mencegah terbentuknya hasil oksidasi yang toksik, sebagai contoh adalah hasil peroksidasi asam lemak tidak jenuh. Selain itu vitamin E juga berfungsi menjaga stabilitas dan integritas membran sel serta melindungi sel dan komponen-komponennya dari toksisitas berbagai macam obat, logam berat dan zat kimia lain yang akan membentuk radikal bebas (Goodman's and Gillman's, 1991).

Radikal bebas didefinisikan sebagai atom yang mengandung satu atau lebih electron yang tidak berpasangan (Fessenden dan Fessenden, 1986). Radikal bebas cenderung sangat reaktif mencari pasangannya berupa molekul lain di dalam sel dan akan membentuk radikal yang baru lagi apabila menjumpai molekul lain, sehingga terjadi reaksi rantai dan bersifat merusak (Winarsi, 2007).

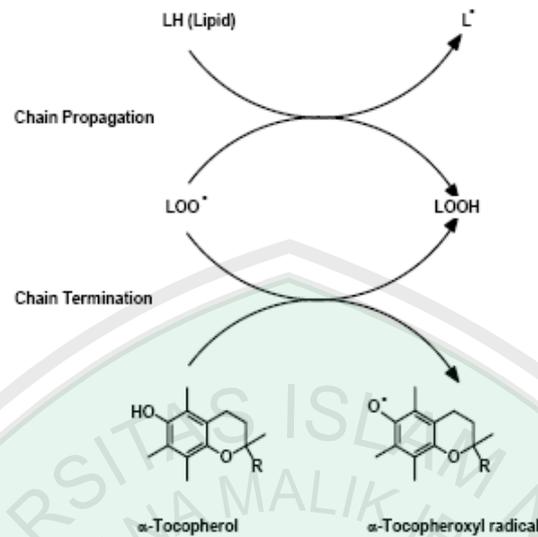
Vitamin E merupakan antioksidan yang efektif karena kelarutannya dalam lipid dan aktivitas antioksidannya tinggi (Chow, 1979; Miller, 1993 Olson and Seidel, 2000). Vitamin E juga *scavenger* radikal bebas dan berfungsi melindungi sel terhadap stress oksidatif (Martin, 1999). Stress oksidatif adalah ketidakseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan yang dipicu oleh kondisi umum yaitu kurangnya antioksidan dan kelebihan produksi radikal bebas (Pavlovic *et al.*, 2005).

Vitamin E berada di dalam lapisan fosfolipid membran sel dan berfungsi melindungi asam lemak jenuh ganda dan komponen membran sel lain dari oksidasi radikal bebas dengan memutuskan rantai peroksida lipid yang banyak muncul karena adanya reaksi antara lipid dan radikal bebas dengan cara menyumbangkan satu atom hidrogen dari gugus OH pada cincinnya ke radikal bebas, sehingga terbentuk radikal vitamin E yang stabil dan tidak merusak (Hariyatmi, 2004).



Gambar 2.2 Letak vitamin E ( $\alpha$ -tokoferol) dalam struktur membran (Pekiner, 2003)

Mekanisme penghambatan peroksidasi lipid oleh vitamin E dimulai pada saat lipid (LH) kehilangan satu hidrogen dan menjadi produk radikal ( $L\bullet$ ), yang bereaksi dengan oksigen bebas untuk menghasilkan radikal peroksil ( $LOO\bullet$ ). Dengan adanya reaksi radikal peroksil selanjutnya akan diikuti reaksi berantai, hal ini sering terjadi misalnya dalam selaput sel yang dapat mengganggu integritas struktural membran. Vitamin E dapat mengganggu reaksi berantai oleh interaksi dengan peroksil lipid membentuk radikal hydroperoksida ( $LOOH$ ), sehingga radikal menjadi stabil (Landes, 2005).

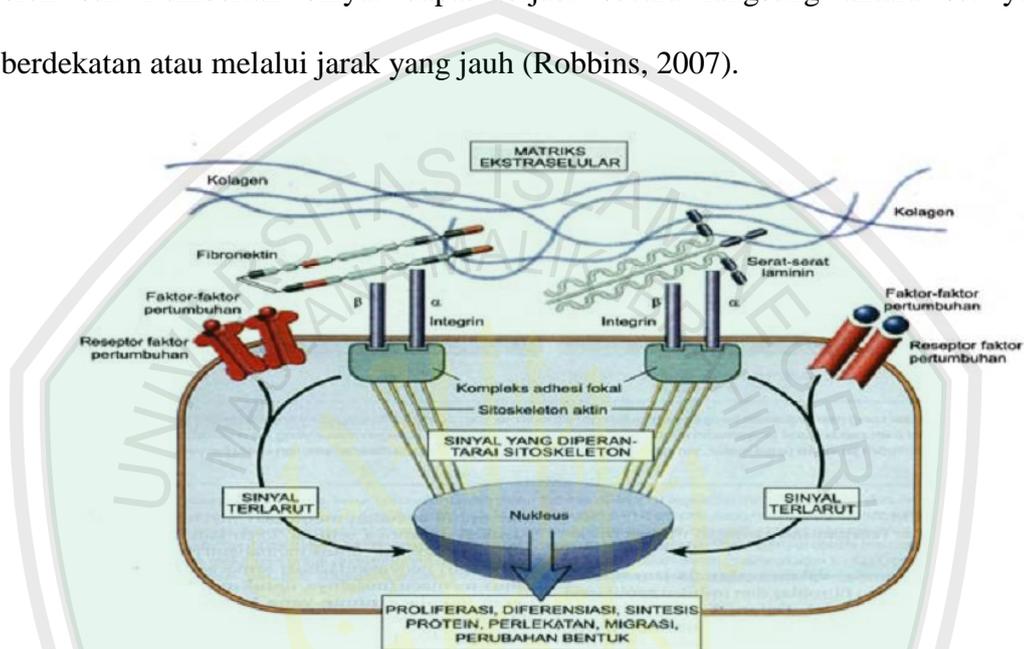


Gambar 2.3 Mekanisme penghambatan peroksidasi lipid oleh vitamin E (Landes, 2005)

#### 2.1.4 Pengaruh Vitamin E terhadap Proliferasi Sel Ginjal Fetus Hamster

Masuknya vitamin E ke dalam sel yang *in vivo* dapat terjadi melalui proses yang dibantu oleh reseptor (LDL membawa vitamin ini ke dalam sel), atau melalui proses yang dibantu oleh lipoprotein lipase (vitamin E dilepaskan dari kilomikron dan VLDL). Di dalam sel, transpor intraseluler dari tokoferol membutuhkan protein pengikat tokoferol intraseluler. Vitamin E sebagian besar terdapat pada membran sel dimana dapat dimobilisasi (Mahan *et al.*, 2004 dan Sareharto, 2010). Lipoproteins merupakan alat transportasi plasma vitamin E sehingga sel ginjal dapat berinteraksi dengan reseptor khusus. Interaksi ini diawali oleh *Low Density Lipoprotein* (LDL) sebagai reseptor vitamin E (Traber *et al.*, 2007). Sel ginjal juga dapat berinteraksi dengan *High Density Lipoprotein* (HDL), dan *Very Low Density Lipoprotein* (VLDL) (Guthmann *et al.*, 1997).

Pertumbuhan sel juga dipengaruhi oleh sinyal ekstra sel dan matrik ekstra seluler. Mediator kimiawi yang mempengaruhi pertumbuhan adalah faktor pertumbuhan polipeptida yang beredar didalam serum atau diproduksi secara lokal oleh sel. Pemberian sinyal dapat terjadi secara langsung antara sel yang berdekatan atau melalui jarak yang jauh (Robbins, 2007).



Gambar 2.4 Sinyal ekstrinsik untuk pertumbuhan sel (Robbins, 2007)

Pertumbuhan sel melibatkan dua jenis sinyal yang bekerja secara bersamaan. Sinyal pertama berasal dari molekul terlarut, seperti faktor pertumbuhan dan penghambat pertumbuhan polipeptida. Sinyal yang kedua melibatkan unsur tidak terlarut pada ekstra seluler matrik yang berintegrasi dengan integrin sel (Robbins, 2007 dan Kleinsmith, 1988).

Vitamin E yang ditambahkan dalam media kultur mempunyai sifat hidrofobik sehingga dapat melewati membran sel. Vitamin E juga mampu bertranslokasi di membran sel karena vitamin E mempunyai *phytyl* yang terdiri dari 3 isoprenoid, sehingga dapat berikatan dengan membran sel. Proliferasi sel

dibangkitkan oleh suatu stimulus atau ligan. Ligan yang berikatan dengan reseptor akan mengaktifasi reseptor tersebut. Reseptor yang teraktifasi akan mengakibatkan teraktifasinya beberapa molekul transduktor membran. Selanjutnya molekul transduktor sinyal yang telah teraktifasi bersama-sama dengan vitamin E akan menstimulasi aktifitas molekul transduktor di sitosol yang biasanya merupakan enzim protein kinase (Purnomo, 2009).

Enzim protein kinase yang teraktifasi pada gilirannya akan mengaktifasi protein faktor transkripsi. Adanya aktifasi protein faktor transkripsi akan mengakibatkan protein tersebut berikatan dengan segmen pemicu (*enhancer*) atau segmen promotor, yang akan memicu proses transkripsi yang selanjutnya mengaktifkan siklus sel (Purnomo, 2009).

## **2.2 Media DMEM**

### **2.2.1 Komponen Media DMEM (*Dulbecco's Modified Eagle's Medium*)**

Pertumbuhan sel kultur memerlukan media. Salah satu media yang bisa digunakan untuk kultur sel adalah media DMEM. DMEM merupakan media basal yang terdiri dari vitamin, asam amino, garam, glukosa dan indikator pH. Media DMEM tidak mengandung protein, oleh karena itu diperlukan suplemen sebagai pelengkap media, dan biasanya dilengkapi dengan 5-10% Fetal Bovine Serum (FBS) (Djati, 2006).

DMEM menggunakan sistem penyangga sodium bikarbonat (3,7 g/L) dan karena itu memerlukan tingkat CO<sub>2</sub> untuk mempertahankan pH yang diperlukan. Komponen DMEM di antaranya terdiri dari garam organik dan asam amino

(Walkersville, 2007). DMEM mengandung glukosa lebih (4500 mg/L) dari MEM (1000 mg/L) dan RPMI (2000 mg/L) (Shuler dan Kargi, 2002).

Komponen Media DMEM dapat mempengaruhi aktivitas sel kultur. Adapun komponen DMEM adalah: asam amino, vitamin, garam, glukosa, dan suplemen organik. Yang pertama yaitu asam amino, terdapat sepuluh jenis asam amino yang tidak dapat disintesis oleh tubuh dan sistein serta tirosin diperlukan oleh sel yang dikultur. Kadar asam amino tersebut dapat berpengaruh pada kelangsungan hidup dan kecepatan tumbuh sel (Trenggono, 2009).

Vitamin pada umumnya terdapat di dalam setiap medium atau biasanya terdapat dalam serum. Pada kultur kelengkapan vitamin sangat dibutuhkan dan sangat esensial terutama dari kelompok vitamin B, walaupun di dalam medium telah terdapat serum, vitamin sangat mempengaruhi kelangsungan hidup dan kecepatan tumbuh pada sel kultur. Pada medium bebas serum sering ditambahkan vitamin yang larut di dalam lemak (Shuler dan Kargi, 2002).

Garam merupakan komponen utama dalam menentukan osmolalitas ialah  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ , dan  $\text{HCO}_3^-$ . Glukosa dalam medium dipakai sebagai sumber energi. Glukosa mengalami glikolisis untuk membentuk piruvat, yang kemudian diubah menjadi laktat atau asetoasetat lalu masuk ke dalam siklus asam sitrat untuk membentuk  $\text{CO}_2$  (Trenggono, 2009). Suplemen Organik, media yang kompleks memiliki berbagai senyawa seperti nukleosida-nukleosida, yang merupakan produk antara siklus asam sitrat piruvat, dan lipid. (Shuler dan Kargi, 2002).

### **2.2.2 Peran Media DMEM Dalam Kultur Sel**

Medium berperan sebagai mediator pertumbuhan bagi sel yang dikultur dan pemberian nutrisi bagi sel yang akan dikultur. Salah satu faktor yang penting dalam teknik kultur jaringan adalah medium. Teknik kultur jaringan akan berhasil bila pemilihan medium yang digunakan tepat karena dalam medium terdapat kebutuhan dari sel yang dikulturkan. Medium yang digunakan didasarkan pada sel yang akan digunakan dalam kultur sel tersebut (Wetter and Constabel, 1991).

Fungsi media DMEM adalah sebagai sumber nutrisi dan respirasi serta untuk memberi dukungan pada kehidupan sel yang dibiakkan agar dapat tumbuh dan berkembang biak (Trenggono, 2009). Konsentrasi glukosa, asam amino dan vitamin pada (DMEM) mempengaruhi pertumbuhan (Shuler and Kargi, 2002). Dalam sistem kultur, sel memerlukan media sebagai sumber nutrisi yang berguna untuk proses proliferasi sel. Sel akan mengalami proses pembelahan apabila kebutuhannya terpenuhi. Oleh karena itu pengontrolan media dalam media kultur harus selalu dilakukan sampai sel mencapai konfluen (Trenggono, 2009).

### **2.3 Kultur Primer Sel Ginjal Hamster**

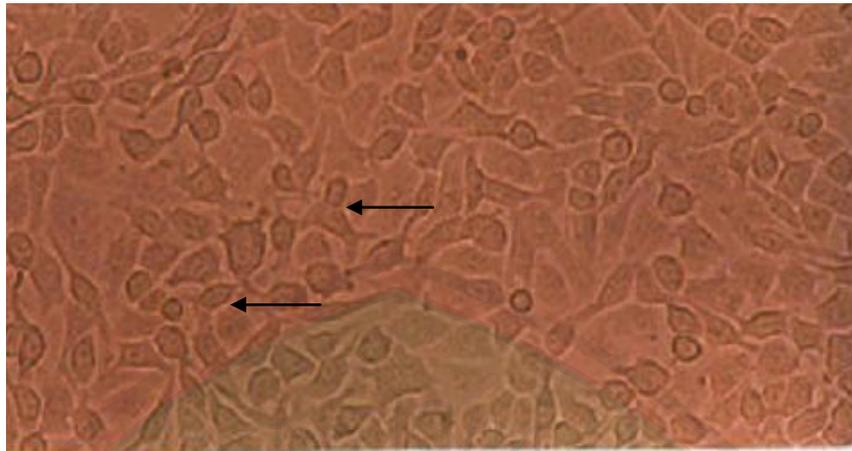
Kultur jaringan atau kultur sel primer dapat diperoleh dengan cara menumbuhkan sel dari potongan jaringan atau fragmen jaringan disebut eksplan primer, atau menggunakan sel dari hasil disagregasi fragmen jaringan menggunakan enzim atau diperoleh secara mekanik. Pada eksplan primer akan terjadi seleksi berdasarkan kemampuan sel untuk migrasi dari eksplan dan tumbuh menjadi kultur sel primer. Kultur sel primer mempunyai sifat dapat bertahan

hidup setelah dilakukan disagregasi dan mempunyai sifat adhesif yaitu mampu melekat pada substrat (Trenggono, 2009).

Kultur sel ginjal penting dalam mekanisme dan proses transportasi. Ginjal bertindak sebagai organ ekskresi yang mempunyai berbagai jenis sel, sehingga ginjal merupakan organ yang kompleks. Kultur sel ginjal banyak dilakukan dalam laboratorium untuk meneliti kajian biologi sel dan molekular untuk memeriksa sel pada tingkat *single cell* (Brenner, 1996). Ginjal pada bagian tubulus proksimal adalah target untuk senyawa nefrotoksik, karena kemampuannya untuk mengangkut dan mengumpulkan xenobiotik, metabolit serta merupakan seperangkat organ selektif enzim biotransformasi (Gowder, 2010).

#### **2.4 Karakteristik Sel Ginjal Hamster**

Karakteristik sel *in vitro* dapat diidentifikasi dengan cara yang paling sederhana dan langsung dapat dipakai dalam identifikasi sel, adalah morfologi sel, tetapi mempunyai kelemahan dan penyimpangan-penyimpangan yang perlu diperhatikan. Hal ini ada hubungannya dengan plastisitas morfologi sel dalam kondisi yang berbeda. Sebagian sel epitel yang tumbuh di tengah-tengah sel selapis yang konfluen mempunyai morfologi yang teratur, berbentuk polygonal dengan batas jelas sedang sel epitel yang tumbuh di bagian tepi sel selapis yang belum konfluen, mempunyai morfologi yang tidak teratur, bentuk sedikit memanjang, bahkan bila mengalami transformasi bentuknya berubah menjadi fibroblastoid (Trenggono, 2009).



Gambar 2.5 Karakteristik Kultur Sel BHK (*Baby Hamster Kidney*) berbentuk fibroblastoid ( Sekaran, 2010)

Kultur sel fibroblast pada ginjal hamster, mempunyai bentuk multipolar atau bipolar menyebar pada permukaan cawan kultur, setelah sel selapis menjadi konfluen sel tersebut menjadi bipolar dan tidak menyebar. Sel fibroblast tersusun sejajar satu sama lain dengan beberapa susunan menyerupai pusaran air yang terlihat dengan jelas (Trenggono, 2009).

## 2.5 Proliferasi Sel Ginjal Fetus Hamster

Sel merupakan unit dasar struktural maupun fungsional dari semua makhluk hidup. Untuk itu sel mengandung sistem molekuler dan biokimia yang sangat terorganisir sehingga mampu menyimpan informasi, menterjemahkan informasi ke dalam sintesis suatu molekul seluler, serta menggunakan sumber-sumber energi untuk menjalankan aktivitasnya. Kemampuan sel yang paling mendasar adalah kemampuannya untuk tumbuh. Pada tingkat seluler, pertumbuhan ini disertai dengan penambahan molekul-molekul protein, asam nukleat, karbohidrat, lipid, serta komponen seluler lainnya (Trenggono, 2009).

Pertumbuhan sel ginjal ditentukan oleh waktu generasinya. Waktu generasi adalah periode antara suatu pembelahan sel dengan pembelahan sel berikutnya yang disebut waktu pembentukan, atau waktu pengendalian sel. Lamanya waktu generasi untuk tipe sel tertentu berbeda dengan tipe sel lain. Waktu generasi sel mamalia kira-kira 20 jam sedangkan generasi sel ginjal hamster kira-kira 12 jam setelah inkubasi (Trenggono, 2009). Dan dalam waktu 48 jam sel ginjal sudah melekat pada substrat, 72 jam setelah inkubasi sel ini sudah hampir konfluen (Rahman, 2007).

Pertumbuhan sel dalam sistem kultur secara umum dibagi menjadi 3 fase, yaitu : *lag phase*, *log phase*, dan *plateu phase*. *Lag phase* merupakan masa dimana belum terdapat peningkatan jumlah sel. Pada fase ini merupakan periode adaptasi, dimana sel mengalami pelekatan pada substrat dan penyebaran sel. *Log Phase* merupakan fase terjadinya peningkatana jumlah sel secara eksponensial dan saat pertumbuhan mencapai konfluen. Pada *log phase* fraksi pertumbuhan akan mencapai 90% - 100%. *Plateu phase* merupakan fase terjadinya penurunan dan berkurangnya kemampuan sel untuk tumbuh apabila sel telah mencapai konfluen. Pada fase ini fraksi pertumbuhan akan mencapai 0-10% (Budiono, 2002).

Proliferasi sel merupakan proses pertumbuhan dan perkembangan sel yang meliputi pembelahan sel secara aktif (Willey, 2005). Proliferasi sel dibutuhkan untuk beberapa proses termasuk embriogenesis, perkembangan, perbaikan luka, respon imun, dan pergantian sel yang hilang. Banyak dari peristiwa proliferasi sel yang terjadi sebagai respon terhadap adanya faktor pertumbuhan (Albert dkk, 1994).

Proliferasi sel dapat dipengaruhi oleh suatu stimulus atau ligan. Ligan berikatan dengan reseptor pada membran sel, kemudian mengaktifkan beberapa protein di dalam sel melalui fosforilasi. Transduksi sinyal tersebut diteruskan ke dalam inti sel untuk mengaktifkan faktor transkripsi yang selanjutnya dapat mengaktifkan siklus sel (Purnomo, 2009).

Siklus sel terdiri dari fase G1 (Gap 1), merupakan fase terpanjang setelah mengalami mitosis dan persiapan sel untuk sintesis DNA. Sel tumbuh membesar dan berfungsi normal dan sebagai kontrol mitosis selanjutnya. Fase S (Sintesis) merupakan fase replikasi DNA sehingga terbentuk 2 kromatid yang identik. Di fase ini terdapat 2 fase penting yaitu transkripsi dan translasi (Fabre, 2004).

Fase G2 (Gap2) antara fase S dan Mitosis. Persiapan mitosis, fase ini lebih pendek dibanding G1. Pada saat ini sentriol/sentrosom mengalami duplikasi. Pada saat ini sel mengecek hasil sintesis protein yang telah dibuat pada fase sintesis. Bila ada kerusakan DNA maka akan diperbaiki oleh gen DNA polimerase atau diprogram apoptosis. Fase mitosis, fase ini juga terdiri dari 4 fase, yaitu fase profase, metafase, anafase dan telofase. Fase sintesis, fase G1 dan fase G2 disebut fase interfase yang merupakan 90% dari siklus sel (Fabre, 2004).

Tahap profase, DNA bersama dengan protein pendukungnya mengubah bentuk DNA untai panjang menjadi bentuk yang terkondensasi seperti bentuk X. Kromatid mengalami kondensasi menjadi lebih pendek dan lebih padat sehingga terbentuk kromosom. Sentrosom yang telah menduplikasi, mulai memproduksi mikrotubulus. Mikrotubulus terus diproduksi ke segala arah, sebagian mikrotubulus dari kutub yang berlawanan bertemu dan berikatan,

mendorong sentrosom bergerak ke kutub sel. Kromosom terus mengalami kondensasi. Membran nukleus menghilang, pecah menjadi fragmen kecil sehingga kromosom terapung di dalam sitoplasma setelah itu nukleolus menghilang. Setiap kromosom membentuk kinetokor pada setiap sisi sentromer (Beeker; Raven, 1986; dan Kleinsmith, 1988).

Sentromer merupakan kompleks protein, tempat melekatnya mikrotubulus pada kromosom. Kinetokor memiliki molekul motor yang menggunakan ATP untuk menarik mikrotubulus. Mikrotubulus terus memanjang sehingga ujung mikrotubulus bertemu dengan mikrotubulus dari kutub lain menjadi mikrotubulus polar membentuk mitotik spindle. Mikrotubulus yang menempel pada kinetokor disebut mikrotubulus kinetokor (Beeker; Raven, 1986; dan Kleinsmith, 1988).

Tahap metaphase, Kromosom akan berjajar di garis tengah gelondong (equatorial plane), mikrotubulus kinetokor saling tarik menarik. Setiap kinetokor harus berhubungan dengan mikrotubulus. Bila ada yang terlewat, kinetokor akan memberikan sinyal sehingga proses mitosis tidak berlanjut ke tahap selanjutnya (Beeker; Raven, 1986; dan Kleinsmith, 1988).

Tahap anaphase terjadi 2 peristiwa, yaitu protein yang mengikat 2 kromatid terputus dan mikrotubulus kinetokor memendek menarik kromatid ke arah kutub sel. Mikrotubulus polar terus memanjang untuk persiapan sitokinesis. Pada akhir anafase terjadi peristiwa sitokinesis. Pada tahap telofase, mikrotubulus kinetokor menghilang, mikrotubulus polar terus memanjang untuk persiapan sitokinesis. Kromosom mencapai kutub sel kemudian mulai membentuk membran inti dengan menggunakan fragmen membran inti sel induk yang kemudian

menyelubungi kromosom. Selanjutnya muncul nukleolus dan kromosom mengalami penguraian (Beeker; Raven, 1986; dan Kleinsmith, 1988).

### **2.5.1 Konfluenitas, Viabilitas, dan Abnormalitas Sel Ginjal Fetus Hamster**

Pertumbuhan sel kultur dapat dilihat dari konfluen sel, viabilitas sel, dan abnormalitas sel. Konfluen sel merupakan tumbuh homogen atau meratanya sel sebagai sel monolayer sampai menutupi cawan kultur (Wulandari, 2003). Menurut Budiono (2002), konfluen sel adalah permukaan substrat untuk pertumbuhan sel sudah terpakai dan sel saling berhubungan antara sel yang satu dengan sel yang lainnya.

Viabilitas sel merupakan perbandingan jumlah sel yang hidup dan sel yang mati (Wulandari, 2003). Viabilitas sel dapat didefinisikan sebagai jumlah sel-sel yang sehat dalam sampel, baik sel-sel secara aktif berproliferasi atau tidak (Willey, 2005). Viabilitas sel ditentukan dari kemampuan sel untuk hidup dan menjalankan metabolismenya, hal ini merupakan faktor yang mempengaruhi keberhasilan kultur sel (Prihastanti, 1999).

Abnormalitas sel merupakan tumbuhnya sel secara tidak normal, misalnya berukuran melebihi ukuran sel normal dan mengalami perubahan bentuk dari asalnya, terkontaminasi oleh bakteri dan jamur (Djati, 2006). Menurut Brenner (1996), menyatakan bahwa ukuran normal pada sel ginjal adalah 0,5-2,0 $\mu$ m. Abnormalitas sel yang sering muncul pada kultur sel ditandai dengan adanya sel raksasa (*giant cell*) yaitu sel yang volume selnya, DNA, RNA, serta massa protein bertambah hingga 20-200 kali lipat dari sel normal (Freshney, 2000).