

Artikel Lengkap-converted

by Rosidi Azis

Submission date: 16-Jun-2021 03:24AM (UTC-0500)

Submission ID: 1607384506

File name: Artikel_Lengkap-converted.docx (128.71K)

Word count: 2736

Character count: 18587

Pengaruh Jenis Substrat dan Serum Terhadap Aktivitas Penempelan, proliferasi, dan Diferensiasi Kultur Sel Myoblast C2C12

Martina Kurnia Rohmah

¹STIKES Rumah Sakit Anwar Medika, Sidoarjo, email: martina.kurniarohmah@gmail.com
email korespondensi: martina.kurniarohmah@gmail.com

ABSTRAK

Kultur sel myoblast sering digunakan dalam berbagai penelitian seperti organogenesis, regenerasi jaringan otot, serta terapi perbaikan otot. Kemampuan proliferasi dan diferensiasi yang baik, sangat menentukan keberhasilan kultur sel myoblast. Tujuan dari penelitian adalah untuk mengetahui pengaruh jenis substrat dan serum terhadap aktivitas proliferasi dan diferensiasi guna mengoptimalkan metode kultur myoblast. Penelitian merupakan jenis penelitian eksperimental laboratorium menggunakan sel myoblast C2C12 dengan medium DMEM. Jenis substrat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: SuI (polysterene plate), SuII (polysterene plate + collagen coated), SuIII (glass bottom slide), dan SuIV (glass bottom slide + collagen coated). Adapun serum yang digunakan pada penelitian ini adalah: Sro (tanpa medium), SrI (10% HS), SrII (10% FBS), dan SrIII (10% HS + 10% FBS). Pengamatan kultur dilakukan pada hari ke-0, 3, 5, 7, 9, dan 12. Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa pengelupasan sel (*detach*) pada kultur dengan substrat SuI, SuII, SuIII, dan SuIV berturut-turut pertama kali teramati pada hari ke 3, 5, 9, dan 12. Jenis serum juga berpengaruh terhadap aktivitas proliferasi dan diferensiasi. Berdasarkan analisis *One Way Anova* diketahui bahwa terdapat perbedaan antar setiapperlakuan ($p=0.000$) dengan persentase pertumbuhan sel tertinggi terdapat pada kultur kelompok SrII (90%), diikuti oleh SrIII (72.5%), SrI (35.6%), dan Sro (17.4%). Pada pengamatan diferensiasi menunjukkan bahwa mytube paling banyak terbentuk pada SrI, diikuti SrIII, SrII, dan Sro. Penelitian ini menunjukkan jenis substrat paling baik untuk kultur myoblast adalah dengan bahan glass bottom slide dengan collagen coated. Serum yang paling baik untuk aktivasi proliferasi adalah 10%FBS sedangkan untuk diferensiasi adalah 10%HS.

Kata kunci: myoblast; substrat;serum;proliferasi;diferensiasi

ABSTRACT

Myoblast cell culture is often used in various studies such as organogenesis, muscle tissue regeneration, and muscle repair therapy. Good proliferation and differentiation ability, greatly determines the success of myoblast cell culture. This study aims to determine the effect of substrate and serum types on proliferation and differentiation activities in order to optimize myoblast culture methods. This study is laboratory experimental research using C2C12 myoblast cells with DMEM medium. We varied 4 types of substrates: SuI (polysterene plate), SuII (polysterene + coated collagen plate), SuIII (bottom slide glass), and SuIV (collagen coated + slide bottom glass). The serum used in this study were: Sro (without media), SrI (10% HS), SrII (10% FBS), and SrIII (10% HS + 10% FBS). Culture observations were carried out on days 0, 3, 5, 7, 9, and 12. The result show that the first cell detach on SuI, SuII, SuIII, and SuIV culture subsequently is 3, 5, 9, and 12th day. The type serum also affects the proliferation and differentiation activity. Based on the One Way Anova analysis, it is known that there is a difference between each treatment ($p = 0.000$) with the highest percentage of cell growth found in the culture of the SrII group (90%), followed by SrIII (72.5%), SrI (35.6%), and Sro (17.4 %). The differentiation observations show that the most mytube formed in SrI, followed by SrIII, SrII, and Sro. This study shows that the best type of substrate for myoblast culture is glass bottom slide with collagen coated. The best serum for proliferation activation is 10% FBS while for differentiation is 10% HS.

Key words: : myoblast, substrate, serum, proliferation, differentiation

PENDAHULUAN

Kultur sel merupakan teknik perbanyakkan sel yang didapatkan dengan cara mengisolasi dari hewan ataupun tumbuhan yang ditumbuhkan pada medium tertentu dengan kondisi laboratorium yang disesuaikan dengan kondisi aslinya (Coecke *et al.*, 2005). Kultur sel digolongkan menjadi 3 jenis yaitu: 1) *primary culture*, 2) *cell line*, dan 3) *cell strain*. *Primary culture* atau kultur primer merupakan kultur pertama yang langsung diperoleh dari hewan maupun tumbuhan. *Cell line* merupakan sub kultur atau sub klon dari *primary culture*. *Cell strain* merupakan sub kultur *cell line* yang telah mengalami modifikasi genetik (Verma *et al.*, 2020)

Kultur sel telah digunakan secara luas untuk berbagai tujuan, baik dalam studi dan penelitian maupun produksi. Kultur sel adalah salah satu alat utama yang digunakan dalam biologi seluler dan molekuler, menyediakan sistem model yang sangat baik untuk mempelajari fisiologi normal dan biokimia sel (misalnya, studi metabolisme, penuaan), efek obat-obatan dan senyawa beracun pada sel, dan mutagenesis. dan karsinogenesis. Kultur Sel juga digunakan dalam pengembangan obat, dan pembuatan senyawa biologis dalam skala besar (misalnya, vaksin, protein terapeutik). Keuntungan utama menggunakan kultur sel untuk salah satu aplikasi ini adalah konsistensi dan reproduktifitas hasil yang dapat diperoleh dari penggunaan sekumpulan sel klonal (Hernandez *et al.*, 2014).

C2C12 merupakan jenis *cell line* myoblast (sel otot) yang diperoleh dari otot rangka mencit. C2C12 merupakan *cell line* untuk model penelitian *in vitro* yang sangat baik terutama untuk melihat perkembangan sel otot, kerusakan dan terapi pada sel otot (Lee *et al.*, 2009). C2C12 merupakan jenis sel fibroblast. Sel fibroblast merupakan jenis sel yang memiliki ciri dapat berupa bipolar dan multipolar, berbentuk memanjang dan menempel pada substrat. Integritas jenis sel fibroblast dapat dilihat dari kemampuan adhesinya. Integritas sel menjadi salah satu indikator dalam *Good Cell Culture Practice* (Coecke *et al.*, 2005). Salah satu yang mempengaruhi kemampuan adesi sel adalah jenis substrat yang digunakan. Penelitian ini bertujuan untuk melihat pengaruh jenis substrat polysterene plate dengan glass bottom slide baik

yang diberi kolagen maupun tidak terhadap integritas C2C12.

Pengamatan proliferasi dan diferensiasi sering dijadikan parameter dalam penelitian biomedik maupun perkembangan organ. Pada pengamatan secara *in vitro*, kualitas kultur sel juga dapat mempengaruhi hasil pertumbuhan sel. Untuk itu perlu adanya optimasi kondisi kultur sel dengan *Good Cell Culture Practice*. Dalam hal pertumbuhan sel baik itu proliferasi maupun diferensiasi, faktor nutrisi menjadi faktor yang sangat menentukan. Selain terdapat dalam media, faktor nutrisi dan pertumbuhan juga terdapat pada serum. Saat ini harga serum untuk sel kultur tergolong mahal, sehingga pemilihan serum yang tepat juga dapat menjadi pertimbangan dalam hal efisiensi.

Serum mengandung berbagai asam amino, vitamin, senyawa organik, hormon dan faktor pertumbuhan. Fetal Bovine Serum (FBS) 10% dan Horse Serum (HS) 10% merupakan dua jenis serum yang sering digunakan dalam kultur sel fibroblast termasuk pada sel C2C12. Namun belum ada penelitian yang melihat bagaimana perbandingan antara proliferasi dan diferensiasi antara kultur yang diberi dengan FBS 10%, HS 10% maupun kombinasi FBS dan HS 10%. Selain melihat kualitas kultur sel C2C12 dari sisi integritas C2C12 sebagai model *in vitro* pada penelitian perkembangan sel otot, kerusakan, maupun terapi kerusakan sel otot, penelitian ini juga melihat pengaruh serum terhadap proliferasi dan diferensiasi sel C2C12 sehingga dapat memberikan gambaran faktor substrat dan serum yang optimal dalam pengamatan perkembangan dan terapi kerusakan sel otot dengan C2C12 model.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental yang dilakukan di Laboratorium Kultur Sel *Bioelectric Research Center* Universitas Kumamoto Jepang. Penelitian ini menggunakan lini sel C2C12 (*C2C12 cell line*) (ATCC®). Untuk pengamatan integritas kultur sel, maka digunakan 4 jenis substrat yang berbeda yaitu: 1) SuI (polysterene plate), 2) SuII (polysterene plate + collagen coated), 3) SuIII (glass bottom slide), dan 4) SuIV (glass bottom slide + collagen coated). Sel C2C12 dikultur pada medium α -MEM (WAKO®) dengan serum FBS 10% (Equitech Bio®) dan antibiotik Penicillin-Streptomycin x100 (WAKO®) pada 96 well

microplate (bahan polysteren). Kultur sel diinkubasi pada suhu 37°C dengan kadar CO₂ 5%. Pengamatan integritas sel dilakukan dengan melihat ada tidaknya pengelupasan sel (*detach*) dari substrat dan mencatat pertama kali terjadinya.

Pengamatan proliferasi dan diferensiasi juga menggunakan sel C2C12 (ATCC®) dengan jumlah sel awal sebanyak 2 x 10⁵ sel/ ml menggunakan medium α-MEM (WAKO®). Sel diberi 4 perlakuan serum yang berbeda yaitu: 1) Sro (tanpa medium), 2) SrI (10% HS), 3) SrII (10% FBS), dan 4) SrIII (10% HS + 10% FBS). Pengamatan kultur dilakukan pada hari ke-0, 3, 5, 7, 9, dan 12. Pengamatan proliferasi sel dilakukan dengan menghitung jumlah sel pada hari pengamatan menggunakan *cell counter* (*cell counter coulter Z.I*®) berupa suspensi sel dalam buffer PBS dengan pengenceran 100x. Adapun rumus pertumbuhan sel yaitu:

$$\text{Jumlah sel} = A \times \text{pengenceran (sel/ml)}$$

^{*)}A: jumlah sel pada *Cell Counter Coulter*

Pengamatan diferensiasi dilakukan dengan menggunakan mikroskop fase kontras untuk kultur sel dengan fokus pengamatan pada terbentuknya juluran miotubulus dari mioblas.

Data hasil pengamatan integritas sel dan diferensiasi sel dilakukan secara deskriptif kualitatif, sedangkan data proliferasi dianalisis secara statistik (SPSS) menggunakan *One Way Anova* dengan taraf signifikansi 5% (p=0.05).

HASIL

1. Pengaruh Perbedaan Substrat Terhadap Integritas Kultur Sel C2C12

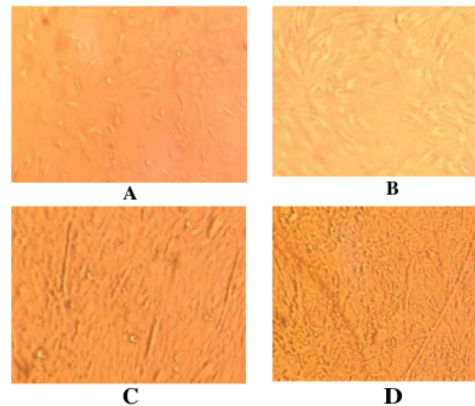
Berdasarkan hasil pengamatan yang dilakukan selama 12 hari, integritas kultur sel C2C12 pada substrat yang berbeda dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil pengamatan hari terjadinya pengelupasan (*detach*) pada berbagai jenis substrat

Jenis Substrat	Hari Pengamatan (Hari ke-)											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
SuI (polysterene plate)	-	-	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
SuII (polysterene plate + collagen coated)	-	-	-	-	*	*	*	*	*	*	*	*
SuIII (glass bottom slide)	-	-	-	-	-	-	-	-	*	*	*	*
SuIV (glass bottom slide)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	*

Keterangan: (*) terjadi pengelupasan sel dari substrat (*detach*)

Gambar morfologi sel C2C12 pada berbagai substrat di hari ke-12 dapat dilihat pada Gambar 1 berikut:



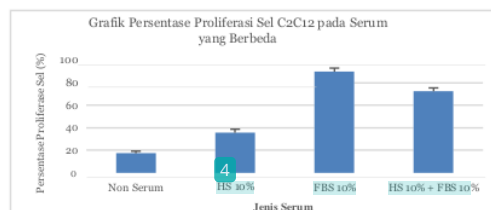
Gambar 1. Gambaran Integritas Sel C2C12 yang ditunjukkan dengan adhesi (penempelan) sel pada substrat yang diikuti dengan densitas (kerapatan sel). Gambar A) kultur sel C2C12 pada substrat polysterene plate, B) kultur sel C2C12 pada substrat polysterene plate dengan collagen coated, C) kultur sel C2C12 pada substrat glass bottom slide, D) kultur sel C2C12 pada substrat glass bottom slide dengan collagen coated (P:400x)

2. Pengaruh Perbedaan Serum Terhadap Proliferasi Sel C2C12

Pengamatan proliferasi sel C2C12 dilakukan dengan cara mengkultur sel C2C12 selama 12 hari kemudian diamati pertumbuhannya berdasarkan perubahan jumlah sel pada hari ke-0 hingga hari ke-12. Hasil pengamatan proliferasi sel C2C12 ditunjukkan pada tabel 2 dan grafik pada gambar 1.

Tabel 2. Proliferasi sel C2C12 pada berbagai jenis serum

Jenis Serum	Rata-Rata ± SD
Non Serum	17.4% ± 1,84
HS 10%	35.6% ± 3,17
FBS 10%	90% ± 3,41
HS 10% + FBS 10%	72.5% ± 3,02

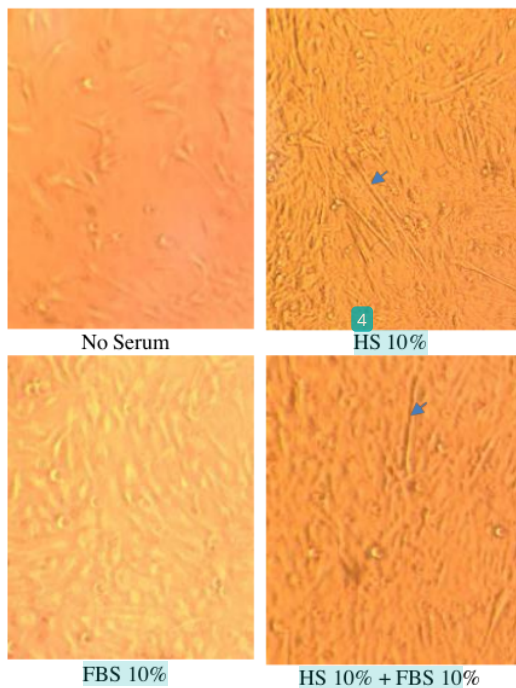


Gambar 2. Grafik persentase proliferasi sel C2C12 pada Serum yang berbeda

Berdasarkan analisis *One way Anova* diketahui terdapat perbedaan yang signifikan antara proliferasi sel C2C12 pada SI, II, III, dan IV ($F_{hit} > F_{hit}$) dengan nilai signifikansi $p=0.000$ ($p < 0.05$). Berdasarkan rata-rata persentase proliferasi diketahui bahwa Serum FBS 10% (SII) memberikan pengaruh proliferasi paling tinggi yaitu sebesar $90\% \pm 3,41$, disusul oleh perlakuan dengan HS 10% + FBS 10% (SIII) dengan persentase proliferasi sebesar $72,5 \pm 3,02$, lalu serum HS 10% (SI) dengan persentase proliferasi sebesar $35,6 \pm 3,17$, dan tanpa serum (So).

3. Pengaruh Perbedaan Serum Terhadap Diferensiasi Sel C2C12

Berdasarkan hasil pengamatan diferensiasi, maka pengaruh perbedaan serum terhadap aktivitas diferensiasi sel C2C12 dapat dilihat pada gambar 3.



Gambar 3. Gambar Morfologi Sel C2C12 pada Serum yang Berbeda. Juluran sel merupakan bentuk Myoblast C2C12 yang telah berdiferensiasi menjadi Myotube. Panah biru menunjukkan bentuk myotube (myoblast yang telah berdiferensiasi)

PEMBAHASAN

Good Cell Culture Practice akan memberikan hasil kultur yang baik untuk mendukung studi, penelitian, dan produksi material biologis. Hal ini didukung oleh berbagai faktor di antaranya medium yang digunakan, jenis substrat, serum, pH, temperature, kadar oksigen, dan seluruh nutrisi yang terkandung di dalam serum. Faktor daya dukung terhadap aktivitas seluler dapat menjadi penentu dalam integritas dan pertumbuhan sel serta aktivitas sel di dalam kultur sebagai salah satu model penelitian *in vitro*.

Substrat merupakan salah satu penentu integritas kultur sel. Substrat adalah tempat penempelan (adesi) dan penyebaran (spreading) bagi jenis sel fibroblastik (Garland *et al.*, 2014). Sel C2C12 yang digunakan dalam penelitian ini merupakan sel myoblast dengan karakteristik sel fibroblastik. Substrat yang sesuai dapat memberikan induksi bagi sel untuk melepaskan faktor adhesinya.

Jenis bahan yang digunakan sebagai substrat sangat berpengaruh pada kemampuan adesi sel. Beberapa bahan yang sering digunakan sebagai substrat adalah polysterene plate dan glass bottom slide. Polysterene plate merupakan jenis substrat dari bahan plastik, sedangkan glass bottom slide merupakan bahan gelas.

Substrat biasanya juga dilapisi oleh substansi Matriks Ekstraseluler seperti kolagen, fibronektin, dan laminin. Matriks Ekstraseluler biasanya terdiri dari struktur glikosaminoglikan (GAG) yang berkonjugasi dengan protein dalam bentuk proteoglikan dan protein berserat. Matriks Ekstraseluler merupakan substansi ekstraseluler yang mendukung elastisitas sel, daya rentang dan pematangan sel, mendukung bentuk sel, kelangsungan hidup sel, perkembangbiakan sel, dan polaritas sel. Matriks ekstraseluler memiliki fungsi struktural dan juga sebagai faktor adesif (Zorlutuna *et al.*, 2013).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, daya adesi kultur sel pada substrat berbahan gelas lebih baik dibandingkan dengan substrat berbahan plastik (polysterene plate). Bahan gelas memiliki karakteristik optik dan kerapatan yang lebih baik dibandingkan dengan polysterene plate yang berbahan plastik. Karakteristik optik dan kerapatan yang lebih tinggi pada gelas membuat jenis substrat ini mendukung daya adesi (perlekatan) sel yang lebih baik dibandingkan dengan bahan

polysteren plate (Freshney, 2010). Penelitian ini serupa dengan penelitian sebelumnya yang menyebutkan bahwa sel L929 fibroblastik dapat tumbuh lebih baik pada substrat berbahan gelas seperti CC2, DAPS, dan Soda Lime dibandingkan dengan berbahan plastik seperti polysterene. Substrat berbahan gelas memiliki energy ikatan permukaan lebih dari 40 dynes/cm² sedangkan substrat berbahan plastik kurang dari 40 dynes/cm² (Scholz, 2010).

Modifikasi substrat dengan bahan matriks ekstraseluler memberikan pengaruh yang lebih baik dalam hal kemampuan adesi sel pada substrat terutama untuk sel monolayer seperti sel fibroblast. Berdasarkan penelitian ini diketahui bahwa pemberian kolagen dapat meningkatkan lama adesi atau lebih lamanya waktu pengelupasan sel. Kultur sel C2C12 mengalami pengelupasan dari substrat polysterene plate pada hari ke-3 sedangkan dengan kolagen lebih lama yaitu mengelupas pada hari ke-5. Untuk substrat berbahan gelas yang tidak dilapisi kolagen, sel mengalami pengelupasan pada hari ke-9 sedangkan yang dilapisi kolagen mengelupas pada hari ke-12. Hal ini berarti bahwa modifikasi substrat dengan kolagen memberikan integritas sel yang lebih baik dengan adanya kemampuan adesi yang lebih tinggi. Sel yang tidak mudah mengelupas memiliki densitas kultur yang lebih rapat. Kolagen merupakan salah satu matriks ekstraseluler berbentuk glukosaminoglikan (GAG) yang terbukti dapat meningkatkan proliferasi sel, daya tahan hidup terhadap sel, dan mempertahankan adesi antara sel dengan substrat dan sel dengan sel (Somaiah *et al.*, 2015).

Selain integritas sel yang didukung oleh daya lekat dan densitas sel, *Good Cell Culture Practice* juga didukung dengan kemampuan proliferasi dan diferensiasi yang baik. Proliferasi dan diferensiasi sering dijadikan parameter dalam mengamati daya reproduksi dan perkembangan sel. Proliferasi dan diferensiasi pada sel myoblast C2C12 berperan dalam pengamatan kemampuan pertumbuhan dan perkembangan sel otot, pengamatan kerusakan sel otot serta pengembangan terapi otot.

Serum berperan untuk menyediakan nutrisi bagi kultur sel. Serum mengandung asam amino, vitamin, senyawa organik. Beberapa jenis asam amino yang sering terdapat di dalam serum antara lain cysteine, arginine, glutamine and tyrosine. Vitamin yang sering terdapat di dalam

serum antara lain choline, folic acid, inositol, nicotinamide, excluding biotin. Sedangkan senyawa organik yang biasanya ada di dalam serum adalah proteins, peptides, nucleosides, citric acid intermediates, pyruvate and lipids). Serum juga mengandung hormon dan factor pertumbuhan (Hernandez *et al.*, 2014).

Berdasarkan hasil penelitian ini diketahui bahwa serum yang berperan paling optimal dalam proliferasi sel myoblast C2C12 adalah serum Fetal Bovine Serum (FBS) 10%, sedangkan untuk diferensiasi adalah Horse Serum (HS) 10%. Pada pengamatan proliferasi diketahui bahwa, pada perlakuan dengan serum FBS 10% mampu meningkatkan proliferasi sel hingga 90%, sedangkan HS 10% yaitu 35,6% dan modifikasi FBS 10% dan HS 10% adalah 72,5%. Sedangkan pada pengamatan diferensiasi terbukti bahwa kultur sel yang diberi HS 10% memiliki kemampuan yang lebih baik dibandingkan FBS 10% dibuktikan dengan terbentuknya myotube (bentukan myoblast yang memanjang merupakan bentukan diferensiasi dari myoblast).

Adanya perbedaan kemampuan induksi serum FBS 10% pada proliferasi dan HS 10% diferensiasi dipengaruhi oleh kandungan serum keduanya. FBS 10% mengandung protein vimentin (Franke *et al.*, 2014). Vimentin berperan dalam meregulasi Extracellular Signal-Regulated Kinase (Erk). Vimentin berinteraksi dengan Erk terfosforilasi yang merupakan suatu protein mitogen teraktivasi yang penting dalam peningkatan proliferasi (pembelahan sel) (Kidd *et al.*, 2014). Pada pengamatan diferensiasi, serum HS 10% lebih baik dibandingkan dengan FBS 10% walaupun FBS 10% sangat baik dalam meningkatkan proliferasi. Hal ini dikarenakan HS 10% mengandung β -actin dan α -Smooth Muscle Actin yang berperan dalam pemanjangan sel dan fusi sel C2C12 fibroblastik sehingga myoblast C2C12 lebih cepat berdiferensiasi menjadi myotube (Franke *et al.*, 2014) (Rohmah *et al.*, 2012).

SIMPULAN

Penelitian ini menunjukkan jenis substrat yang paling baik untuk kultur myoblast C2C12 dengan mendukung integritas sel melalui adesi dan induksi perlekatan sel adalah dengan bahan glass bottom slide yang dilapisi oleh kolagen. Untuk pengamatan proliferasi, serum yang paling optimal memberi nutrisi untuk proliferasi sel adalah FBS 10%. Berbeda dengan proliferasi,

serum yang paling baik untuk aktivasi differensiasi sel myoblast C2C12 adalah HS 10%.

DAFTAR PUSTAKA

- Coecke, S., Balls, M., Bowe, G., Davis, J., Gstraunthales G, Hartung, T., Hay, R., Merten, O.W., Stacey, G., Stokes, W. 2005. Guidance on Good Cell Culture Practice: A Report of the Second ECVAM Task Force on Good Cell Culture Practice. *In Vitro Cellular and Developmental Biology*: 261-287.
- 9 Franke, J., Abs, V., Zizzadoro, C., Abraham, G. 2014. Comparative Study of the Effects of Fetal Bovine Serum Versus Horse Serum on Growth and Differentiation of Primary equine Bronchial Fibroblast. *BMC Veterinary Research*. 10(119):1-9
- Freshney R.I. 2010. Culture of Animal Cells, A Manual Of Basic Technique And Specialized Applications, 6th ed. Wiley-Blackwell.
- Hernandez, COR., Garsia, SET, Sandoval, CO., Castillo, VYR., Muro, AL., Gonzales, FJA., Barrera, ALG. 2014. Cell Culture: History, Development, and Propect. 2014. *International Journal of Current Research and Academic Review Vol 2(12)*: 188-200.
- 2 Kidd, M.E., Shumaker, D.K., Ridge, K.M. 2014. The Role of Vimentine Intermediate Filaments in the Progression of Lung Cancer. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 50(1): 1-6.
- 8 Lee, J.H., Tachibana, H., Morinaga, Y., Fujimura, Yamada, K. 2009. Modulation of Proliferation and Differentiation of C2C12 Skeletal Muscle Cells by Fatty Acids. *Life Science* 84: 415-420.
- Rohmah, M. K., Juantoro, S. R., Listyorini, D., & Gofur, A. CANCER REGULATION BY cWNT5A GENE USING CADMIUM INDUCES CHICKEN KIDNEY (CK) FIBROBLAST IN VITRO.
- Scholz, W.K. 2010. Cell Adhesion and Growth on Coated or Modified Glass or Plastic Surface. *Technical Bulletin* 13. *Thermoscientific*: 1-13.
- 2 Somaiah, C., Kumar, A., Mawrie, D., Sharma, A., Patil, S.D., Bhattacharyya, J., Jagannathan, B.G. 2015. Collagen Promotes Higher Adhesion, Survival and Proliferation of Mesenchymal Stem Cells. *PlosOne*: DOI:10.1371/journal.pone.0145068
- Verma, A., Verma, M., Singh, A. 2020. Animal Tissue Culture Principles and Applications. *Animal Biotechnology* 14: 269-293.
- Zorlutuna P., Vrana N.E., Khademhosseini A. 2013. The expanding world of tissue engineering: the building blocks and new applications of tissue engineered constructs. *IEEE Rev. Biomed. Eng.*, 6:47-62.

Artikel Lengkap-converted

ORIGINALITY REPORT

5%

SIMILARITY INDEX

4%

INTERNET SOURCES

3%

PUBLICATIONS

%

STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1	R Rindyastuti. "Conservation of Diospyros spp. in Purwodadi Botanic Garden, Indonesia with an outlook on carbon storage", IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 2021 Publication	1%
2	www.frontiersin.org Internet Source	1%
3	lldikti7.ristekdikti.go.id Internet Source	1%
4	www.freepatentsonline.com Internet Source	1%
5	www.scribd.com Internet Source	1%
6	s1farmasi.stfi.ac.id Internet Source	1%
7	fr.scribd.com Internet Source	<1%
8	jnanobiotechnology.biomedcentral.com Internet Source	

<1 %



www.biomedcentral.com

Internet Source

<1 %

Exclude quotes On

Exclude matches Off

Exclude bibliography On