



UNIVERSITAS PERTAHANAN RI

**OPTIMASI KONSENTRASI TREHALOSA DIHIDRAT
SEBAGAI *CRYOPROTECTANT* PADA LIOFILISASI
SEKRETOM TALI PUSAT MANUSIA UNTUK APLIKASI
TRAUMA MILITER: EVALUASI STABILITAS PROTEIN TGF-
 β 1 DAN EFIKASI PENYEMBUHAN LUKA**

TIARA DARMAYANTI 320210301024

**Skripsi yang Ditulis untuk Memenuhi Sebagian Persyaratan dalam
Mendapatkan Gelar Sarjana**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM MILITER
PROGRAM STUDI BIOLOGI**

BOGOR 2025

LEMBAR PERSETUJUAN SKRIPSI

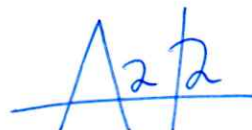
Nama : Tiara Darmayanti
NIM : 320210301024
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Militer
Judul Skripsi : Optimasi Konsentrasi Trehalosa Dihidrat Sebagai *Cryoprotectant* pada Liofilisasi Sekretom Tali Pusat Manusia untuk Aplikasi Trauma Militer: Evaluasi Stabilitas Protein TGF- β 1 dan Efikasi Penyembuhan Luka

Dosen Pembimbing I,



Nurhadiyanta, S.Si., M.Si
Kolonel Ckm (Purn) NIDN. 4715036701
Tanggal : 8 Agustus 2025

Dosen Pembimbing II,



Andri Pramesyanti Pramono, S.Si., M.Biomed, Ph.D
Penata IV/a
Tanggal : 8 Agustus 2025

Mengetahui,

Ketua Program Studi Biologi,



Sukanto, S.Si., M.Sc.
Letkol Arh. NRP. 11970023040672
Tanggal: 11 Agustus 2025

Dekan Fakultas MIPA Militer,



Dr. Ir. Ence Darmo Jaya Supena, M.Si.
Pembina Utama Muda IV/c
Tanggal: 12/8-2025

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

Nama : Tiara Darmayanti
 NIM : 320210301024
 Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Militer
 Judul Skripsi : Optimasi Konsentrasi Trehalosa Dihidrat Sebagai *Cryoprotectant* pada Liofilisasi Sekretom Tali Pusat Manusia untuk Aplikasi Trauma Militer: Evaluasi Stabilitas Protein TGF- β 1 dan Efikasi Penyembuhan Luka

No	Nama/Pangkat/Korps/Gol/NIP	Tanda Tangan	Tanggal
1	Dosen Pembimbing 1 : Nurhadiyanta, S.Si., M.Si Kolonel Ckm (Purn) NIDN. 4715036701		08/08/2025
2	Dosen Pembimbing 2 : Andri Pramesyanti Pramono, S.Si., M.Biomed, Ph.D Penata Gol. IV/a		08/08/2025
3	Dosen Penguji 1: Nabila Swarna Puspa Hermana, S.Si., M.Si Penda Tk. I III/B NIP.199404272022032003		09/08/2025
4	Dosen Penguji 2: Nadya Farah, S.Si., M.Si., Ph.D PPPK NIP. 198111062023212020		11/08/2025

PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya atau bagian karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan jenjang apapun di suatu Perguruan Tinggi; dan sepanjang sepengetahuan saya juga tidak terdapat istilah, frasa, kalimat, paragraf, subbab atau bab dari karya yang pernah ditulis atau diterbitkan; kecuali yang secara tertulis diajukan dalam naskah ini dan disebutkan dalam Daftar Referensi.

Apabila dikemudian hari terbukti bahwa terdapat plagiat dalam skripsi ini, saya bersedia menerima sanksi sesuai ketentuan peraturan/undang-undang yang berlaku.

Bogor, 12 Agustus 2025



Tiara Darmayanti

LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

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

Nama : Tiara Darmayanti
NIM : 320210301024
Program Studi : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Militer
Jenis Karya : Skripsi

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

Optimasi Konsentrasi Trehalosa Dihidrat Sebagai *Cryoprotectant* pada Liofilisasi Sekretom Tali Pusat Manusia untuk Aplikasi Trauma Militer: Evaluasi Stabilitas Potein TGF- β 1 dan Efikasi Penyembuhan Luka

Beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Pertahanan Republik Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan memublikasikan 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 : Bogor
Pada tanggal : 12 Agustus 2025
Yang menyatakan

Tiara Darmayanti
NIM. 320210301024

KATA PENGANTAR

Puji syukur peneliti panjatkan kehadirat Tuhan Yang Maha Esa karena berkat Rahmat dan karunia-Nya penulisan skripsi dengan judul *“Optimasi Konsentrasi Trehalosa Dihidrat sebagai Cryoprotectant pada Liofilisasi Sekretom Tali Pusat Manusia untuk Aplikasi Trauma Militer: Evaluasi Stabilitas Protein TGF- β 1 dan Efikasi Penyembuhan Luka”* ini dapat diselesaikan dengan baik. Penulisan skripsi ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana pada Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Militer Universitas Pertahanan Republik Indonesia

Penelitian ini dilatarbelakangi oleh kebutuhan akan terapi biologis yang stabil dan efektif di kondisi ekstrem, khususnya pada penanganan trauma militer yang menuntut solusi cepat dan efisien di medan operasi. Sekretom tali pusat manusia dikenal kaya akan faktor pertumbuhan dan protein bioaktif yang potensial dalam terapi regeneratif. Namun, stabilitas senyawa bioaktif ini saat proses pengawetan, seperti liofilisasi, masih menjadi tantangan utama. Oleh karena itu, penelitian ini difokuskan pada upaya optimalisasi penggunaan trehalosa sebagai krioprotektan untuk mempertahankan stabilitas protein dan meningkatkan efektivitas penyembuhan luka setelah rehidrasi.

Dalam proses penyusunan skripsi ini, penulis mendapatkan banyak dukungan, bimbingan, dan bantuan dari berbagai pihak. Untuk itu, dengan segala kerendahan hati, penulis menyampaikan terima kasih dan penghargaan sebesar-besarnya kepada:

1. Dr. Ir. Ence Darmo Jaya Supena, M.Si selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Militer Universitas Pertahanan atas kepercayaan, perizinan yang telah diberikan kepada Penulis selama proses penelitian dan proses penyusunan skripsi;
2. Letkol Arh Sukanto, S.Si., M.Sc selaku Plt. Kaprodi Biologi, Universitas Pertahanan atas kepercayaan, dan dorongan yang diberikan kepada Penulis selama proses penelitian dan penulisan skripsi;
3. Bapak Kolonel Ckm Nurhadiyanta S.Si., M.Si., selaku pembimbing

4. Ibu Andri Parmesyanti Pramono S.Si., M.Biomed, Ph.D., selaku pembimbing kedua atas kesempatan, kepercayaan, Ilmu yang diberikan, arahan ilmiah yang konstruktif, serta pendampingan dari awal hingga akhir penelitian.
5. pertama yang telah membimbing dengan sabar, memberikan arahan ilmiah yang konstruktif, serta pendampingan dari awal hingga akhir penulisan.
6. Ibu Andri Parmesyanti Pramono S.Si., M.Biomed, Ph.D., selaku pembimbing kedua atas kesempatan, kepercayaan, Ilmu yang diberikan, arahan ilmiah yang konstruktif, serta pendampingan dari awal hingga akhir penelitian.
7. Ibu Nabila Puspa Hermana, S.Si., M.Si., selaku dosen penguji satu atas saran dan kritik yang membangun dalam upaya penyempurnaan karya tulis ini.
8. Bapak Dr. Rizky Dwi Satrio, S.Si., M.Si., selaku dosen penguji dua atas saran dan kritik yang membangun dalam upaya penyempurnaan karya tulis ini.
9. Ibu Nadya Farah, S.Si., M.Si., Ph.D., selaku dosen penguji pengganti atas saran dan kritik yang membangun dalam upaya penyempurnaan karya tulis ini.
10. Seluruh Dosen dan staf Program Studi Biologi Militer, atas ilmu, motivasi, dan pengalaman akademik yang sangat berharga selama masa studi.
11. Peneliti, teknisi dan staf laboratorium Badan Riset dan Inovasi Nasional, atas bantuan selama proses penelitian, pengumpulan data, serta fasilitas penelitian yang telah disediakan.
12. Dr. Cynthia Retna Sartika selaku Direktur PT. Prodia Stem Cell Indonesia atas bantuan selama proses penelitian, penyediaan sampel, serta fasilitas penelitian yang telah disediakan
13. Laboran PT. Prodia Stem Cell, atas bantuan selama proses penyediaan sampel

penyediaan sampel

14. Teknisi dan staf laboratorium Universitas Pembangunan Nasional Veteran Jakarta, atas bantuan selama prose penelitian serta fasilitas penelitian yang telah disediakan
15. Kedua orang tua dan keluarga tercinta, atas doa, dukungan moral dan material, serta semangat yang tak pernah surut.
16. Peneiti dan teman-teman di Kelompok Riset Struktur Biologi dan Pensinyalan Sel, Pusat Riset Biologi Molekuler Eijkman, Organisasi Riset Biomedis atas dukungan moral, material, bantuan dan semangat yang diberikan kepada penulis selama proses penelitian
17. Teman-teman seperjuangan dan rekan kadet mahasiswa, atas kebersamaan, diskusi, dan dukungan selama proses pengerjaan skripsi.
18. Keluarga asuh Carcharhinus dan Keluarga asuh Anantadewa atas dukungan yang diberikan kepada Penulis
19. Semua pihak lainnya, yang tidak dapat disebutkan satu per satu, namun turut memberikan kontribusi baik secara langsung maupun tidak langsung.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan demi perbaikan dan penyempurnaan di masa mendatang. Semoga karya ini dapat memberikan sumbangsih nyata bagi pengembangan ilmu pengetahuan, khususnya di bidang biologi militer dan terapi regeneratif, serta menjadi referensi bagi penelitian-penelitian selanjutnya.

Akhir kata, semoga skripsi ini membawa manfaat dan menjadi amal jariyah bagi semua pihak yang telah berperan dalam proses penyusunannya.

Bogor, 12 Agustus 2025



Tiara Darmayanti

ABSTRAK

OPTIMASI KONSENTRASI TREHALOSA DIHIDRAT SEBAGAI CRYOPROTECTANT PADA LIOFILISASI SEKRETOM TALI PUSAT MANUSIA UNTUK APLIKASI TRAUMA MILITER: EVALUASI STABILITAS PROTEIN TGF- β 1 DAN EFIKASI PENYEMBUHAN LUKA

Sekretom tali pusat manusia mengandung protein bioaktif seperti sitokin dan TGF- β 1 yang memiliki potensi besar dalam terapi regeneratif, khususnya untuk kondisi darurat seperti trauma militer. Keterbatasan penyimpanan tanpa pendingin menjadi tantangan utama dalam aplikasi klinis sekretom. Penelitian ini bertujuan mengoptimalkan konsentrasi trehalosa sebagai krioprotektan dalam proses liofilisasi guna menjaga stabilitas protein dan efektivitas biologis sekretom. Trehalosa digunakan pada konsentrasi 50, 100, dan 200 mM dalam proses liofilisasi sekretom. Stabilitas protein total dianalisis menggunakan spektrofotometri, sementara kadar TGF- β 1 diukur dengan metode ELISA. Hasil menunjukkan bahwa trehalosa 200 mM secara signifikan mampu mempertahankan konsentrasi protein ($4,34 \pm 0,31$ mg/mL) dan TGF- β 1 ($86,27 \pm 2,05$ pg/mL). Uji efikasi menggunakan metode scratch assay menunjukkan bahwa sekretom yang diliofilisasi dengan trehalosa 200 mM pada konsentrasi 10 ng/mL ($53,16 \pm 12,77$ pg/mL) memberikan tingkat penutupan luka tertinggi, menandakan efikasi penyembuhan luka yang optimal. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa trehalosa 200 mM efektif menjaga bioaktivitas sekretom setelah proses liofilisasi dan dapat digunakan sebagai terapi regeneratif yang stabil untuk kondisi ekstrem, termasuk dalam penanganan luka akibat trauma militer.

Kata kunci : *Freeze-drying*, Krioprotektan, TGF- β 1, Trehalosa, Terapi Regeneratif.

ABSTRACT

OPTIMIZATION OF TREHALOSE DIHYDRATE CONCENTRATION AS A CRYOPROTECTANT IN THE LYOPHILIZATION OF HUMAN UMBILICAL CORD SECRETOME FOR MILITARY TRAUMA APPLICATIONS: EVALUATION OF PROTEIN TGF- β 1 STABILITY AND WOUND HEALING EFFICACY

The human umbilical cord secretome contains bioactive proteins such as cytokines and TGF- β 1, which hold significant potential for regenerative therapy, particularly in emergency situations such as military trauma. Storage limitations without refrigeration remain a major challenge in clinical applications. This study aimed to optimize trehalose concentration as a cryoprotectant during the lyophilization process to preserve protein stability and biological activity of the secretome. Trehalose was applied at concentrations of 50, 100, and 200 mM during lyophilization. Total protein stability was assessed using spectrophotometry (Nanodrop), while TGF- β 1 levels were measured using ELISA. Results showed that 200 mM trehalose significantly maintained protein content (4.34 ± 0.31 mg/mL) and TGF- β 1 concentration (86.27 ± 2.05 pg/mL). Efficacy testing using a scratch assay demonstrated that lyophilized secretome with 200 mM trehalose at a concentration of 10 ng/mL (53.16 ± 12.77 pg/mL) achieved the highest wound closure rate, indicating optimal healing potential. These research findings confirm that 200 mM trehalose effectively preserves the bioactivity of the secretome after lyophilization and supports its use as a stable regenerative therapy in extreme conditions, particularly for treating wounds in military trauma settings.

Keywords: Cryoprotectant, Freeze-drying, TGF- β 1, Trehalose, Regenerative Therapy

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PERSETUJUAN SKRIPSI.....	ii
LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI	iii
PERNYATAAN ORISINALITAS	iv
LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS	v
KATA PENGANTAR	vi
ABSTRAK.....	ix
ABSTRACT.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR SINGKATAN.....	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Landasan Teori.....	5
2.1.2 Sel Punca Mesenkimal Tali Pusat Manusia	6
2.1.3 Sekretom Tali Pusat Manusia.....	7
2.1.4 Freeeze-drिंग	9
2.1.5 Krioprotektan	10
2.1.6 Kestabilan Protein Pasca <i>Freeze-drying</i>	14
2.1.7 Efikasi	17

2.2 Hasil Penelitian Terdahulu	18
2.3 Kerangka Berpikir.....	23
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	24
3.1 Metode dan Desain Penelitian	24
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	24
3.3 Alat dan Bahan	26
3.4 Variabel Penelitian.....	27
3.5 Subjek dan Sampel	27
3.6 Prosedur Penelitian	28
3.6.1 Isolasi dan Karakterisasi MSC dari Jaringan Tali Pusat Manusia	28
3.6.2 Isolasi dan Persiapan Sekretom dari Sel Mesenkimal	28
3.6.3 Penambahan Krioprotektan	29
3.6.4 Proses <i>Freeze-drying</i> Sekretom	29
3.6.5 Pengujian Kestabilan Sekretom Pasca <i>Freeze-drying</i>	30
3.6.6 Isolasi dan Kultur Sel Fibroblast Kulit Preputium.....	31
3.6.7 Uji Penutupan Luka secara <i>In vitro</i> Sekretom Pasca <i>Freeze-drying</i> ..	33
3.6.8 Analisis Data.....	34
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	35
4.1 Hasil.....	35
4.1.1 Morfologi Sekretom Hasil Liofilisasi.....	35
4.1.2 Pengujian Stabilitas Sekretom Pasca Liofilisasi	36
4.1.3 Pengujian Penutupan Luka secara <i>In vitro</i> Sekretom Sebelum dan Sesudah Liofilisasi	39
4.2 Pembahasan	39

4.2.1 Evaluasi Peran Trehalosa Dihidrat sebagai Krioprotektan terhadap Stabilitas Protein	39
4.2.2 Evaluasi Stabilitas Sekretom Pasca Liofilisasi	41
4.2.3 Evaluasi Pengujian Penutupan Luka secara <i>In vitro</i> Sekretom Sebelum dan Sesudah Liofilisasi.....	45
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	47
5.1 Kesimpulan.....	47
5.2 Saran	47
DAFTAR PUSTAKA	49
LAMPIRAN	57



DAFTAR GAMBAR

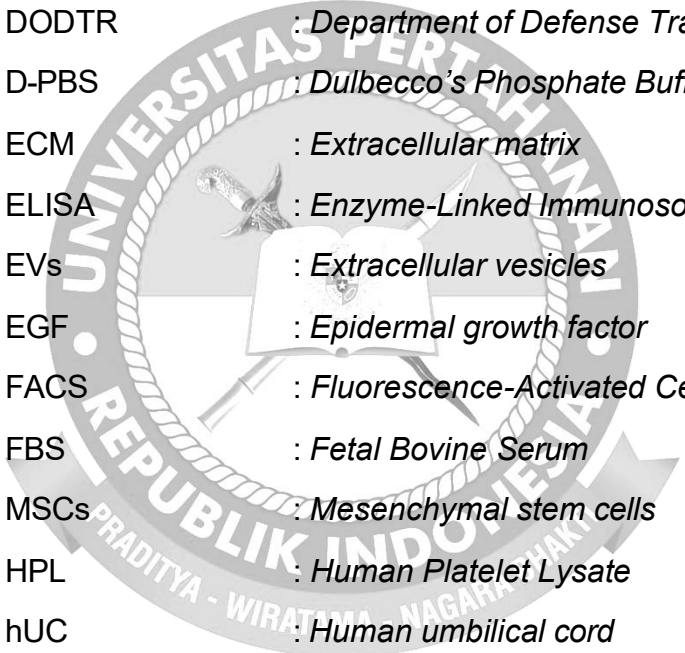
Gambar 2.1 Kandungan bioaktif sekretom	9
Gambar 2. 2 Proses pembuatan sekretom freeze-dried	10
Gambar 2. 3 Mekanisme protektif trehalosa terhadap protein selama <i>freeze-drying: water replacement</i> dan vitrifikasi	13
Gambar 2. 4 Kerangka berpikir penelitian skripsi	23
Gambar 3. 1 Tempat penelitian.....	24
Gambar 3. 2 Uji <i>In vitro scratch</i>	33
Gambar 4. 1 Morfologi sekretom hasil liofilisasi.....	35
Gambar 4.2 Grafik hasil uji total protein setelah liofilisasi menggunakan metode spektrofotometer	37
Gambar 4.3 Grafik hasil uji konsentrasi protein TGF- β 1 setelah liofilisasi menggunakan metode ELISA.....	38
Gambar 4.4 Grafik hasil uji signifikansi presentase penutupan luka sebelum dan sesudah liofilisasi	39

DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 Studi Literatur Hasil Penelitian Terdahulu.....	19
Tabel 3. 1 Jadwal Penelitian Skripsi.....	25
Tabel 4. 1 Data Uji pH Sesudah Liofilisasi	36



DAFTAR SINGKATAN



BCA	: <i>Bicinchoninic Acid</i>
CD	: <i>Cluster of Differentiation</i>
DMEM	: <i>Dulbecco's Modified Eagle Medium</i>
DODTR	: <i>Department of Defense Trauma Registry</i>
D-PBS	: <i>Dulbecco's Phosphate Buffered Saline</i>
ECM	: <i>Extracellular matrix</i>
ELISA	: <i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
EVs	: <i>Extracellular vesicles</i>
EGF	: <i>Epidermal growth factor</i>
FACS	: <i>Fluorescence-Activated Cell Sorting</i>
FBS	: <i>Fetal Bovine Serum</i>
MSCs	: <i>Mesenchymal stem cells</i>
HPL	: <i>Human Platelet Lysate</i>
hUC	: <i>Human umbilical cord</i>
IDD	: <i>Interverbal Disc Degradation</i>
IL-6	: <i>Interleukin 6</i>
IL-10	: <i>Interleukin 10</i>
LAF	: <i>Laminar Air Flow</i>
PBS	: <i>Phosphate Buffered Saline</i>
P/S	: <i>Penicillin-streptomycin</i>
SM-hUCMSC	: <i>Secretom human umbilical cord mesenchymal stem cells</i>
TGF- β 1	: <i>Transforming growth factor-beta1</i>
UV-Vis	: <i>Ultraviolet-visibel</i>
VEGF	: <i>Vascular endothelial growth factor</i>
WJ	: <i>Wharton's Jelly</i>