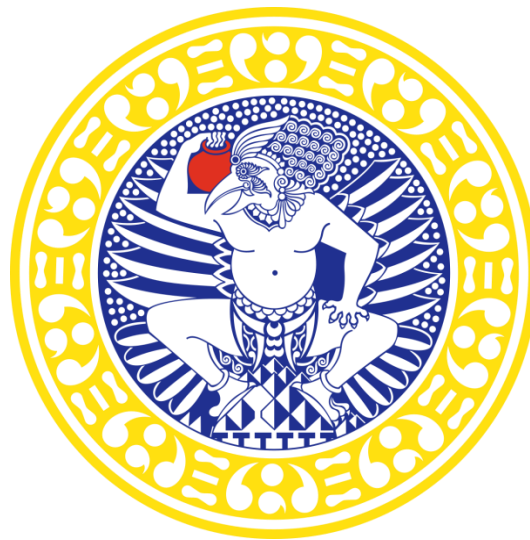


TESIS

**TOKSISITAS DAN PENGARUH EKSTRAK GONAD
LANDAK LAUT (*Diadema setosum*) TERHADAP
PROLIFERASI *MESENCHYMAL STEM CELL***



Oleh

Bachtiar Rochmatul Samsuhadi

NIM 091624153001

**PROGRAM STUDI
MAGISTER BIOTEKNOLOGI PERIKANAN KELAUTAN
FAKULTAS PERIKANAN KELAUTAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2020**

TESIS

**TOKSISITAS DAN PENGARUH EKSTRAK GONAD
LANDAK LAUT (*Diadema setosum*) TERHADAP
PROLIFERASI *MESENCHYMAL STEM CELL***

Oleh

Bachtiar Rochmatul Samsuhadi

NIM 091624153001

**PROGRAM STUDI
MAGISTER BIOTEKNOLOGI PERIKANAN KELAUTAN
FAKULTAS PERIKANAN KELAUTAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2020**

TESIS

**TOKSISITAS DAN PENGARUH EKSTRAK GONAD
LANDAK LAUT (*Diadema setosum*) TERHADAP
PROLIFERASI *MESENCHYMAL STEM CELL***

Untuk Memenuhi Syarat Memperoleh Gelar Magister
Dalam Program Studi Bioteknologi Perikanan Kelautan
Pada Fakultas Perikanan Kelautan

Oleh

Bachtiar Rochmatul Samsuhadi
NIM 091624153001

**PROGRAM STUDI
MAGISTER BIOTEKNOLOGI PERIKANAN KELAUTAN
FAKULTAS PERIKANAN KELAUTAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2020**

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Bachtiar Rochmatul Samsuhadi

NIM : 091624153001

Program Studi : Magister Bioteknologi Perikanan

Judul Tesis : Toksisitas Dan Pengaruh Ekstrak Gonad Landak Laut (*Diadema setosum*) Terhadap Proliferasi *Mesenchymal Stem Cell*.

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa Tesis saya ini adalah asli (hasil karya sendiri) bukan merupakan hasil peniruan atau penjiplakan (Plagiarism) dari karya orang lain. Tesis ini belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar akademik.

Dalam tesis ini tidak terdapat pendapat yang telah ditulis atau dipublikasikan orang lain, kecuali secara tertulis dengan jelas dicantumkan sebagai acuan dengan disebutkan nama pengarang dan dicantumkan di dalam daftar pustaka. Demikian, pernyataan ini dibuat tanpa adanya paksaan dari pihak manapun, apabila pernyataan ini tidak benar, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan norma dan peraturan yang berlaku di Universitas Airlangga.

Surabaya, 3 Desember 2020



Bachtiar Rochmatul Samsuhadi

091624153001

TESIS INI TELAH DISETUJUI
PADA TANGGAL 29 SEPTEMBER 2020

Oleh:

Pembimbing Ketua



Prof. Dr. Fedik Abdul Rantam, drh.
NIP. 19591003 198701 1 001

Pembimbing Kedua



Prof. Dr. Hari Suprpto, Ir., M. Agr.
NIP. 19580916 198502 1 001

Mengetahui,
Kepala Program Studi Magister
Bioteknologi Perikanan dan Kelautan



Prof. Dr. Nunuk Dyah Retno Lastuti MS., Drh.
NIP. 195304181978032001

Telah diuji pada

Tanggal : 12 NOVEMBER 2020

Panitia Penguji Tesis

Ketua : Prof. Dr. Fedik Abdul Rantam, drh.

Anggota : 1. Prof. Dr. Hari Suprpto, Ir., M. Agr.

2. Prof. Dr. Widjiati, drh., M. Si.

3. Dr. Mufasirin, drh., M. Si.

4. Dr. Akhmad Taufiq Mukti S. Pi., M. Si.

UCAPAN TERIMAKASIH

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas karunia yang telah dilimpahkan sehingga penulis dapat melaksanakan penelitian dan menyelesaikan tesis dengan judul TOKSISITAS DAN PENGARUH EKSTRAK GONAD LANDAK LAUT (*Diadema setosum*) TERHADAP PROLIFERASI *MESENCHYMAL STEM CELL*. Tidak lupa penulis ucapkan terima kasih atas bantuan, bimbingan, dan doa dari berbagai pihak yang turut membantu dalam proses penyusunan tesis. Pada kesempatan kali ini penulis ingin menyampaikan terima kasih yang sebesar – besarnya kepada:

1. Rektor Universitas Airlangga, Dekan Fakultas Perikanan Kelautan, Ketua Program Studi Bioteknologi Perikanan Kelautan, dan seluruh jajaran staff dan tenaga pengajar yang telah membimbing dan memberikan pelajaran yang sangat berharga kepada penulis.
2. Prof. Dr. Fedik Abdul Rantam, drh. selaku pembimbing I dan ketua tim penguji, atas segala ilmu, bimbingan, arahan, semangat, dan kesabaran yang diberikan selama proses penelitian dan penyusunan tesis ini.
3. Prof. Dr. Hari Suprpto, Ir., M. Agr. selaku pembimbing II dan anggota tim penguji, atas bantuan dan masukan dalam proses penyusunan tesis ini.
4. Prof. Dr. Widjiati, drh., M. Si., Dr. Mufasirin, drh., M. Si., dan Dr. Akhmad Taufiq Mukti S. Pi., M. Si. selaku anggota tim penguji, atas segala saran, perhatian, dan kesabarannya.

5. Bapak (H. Sarmun Iskandar), Ibu (Hj. Jamatun), dan Adik (Chica Nurrachmadany Iskandar), yang saya sayangi dan saya banggakan yang telah memberikan do'a, bimbingan, perhatian, kasih sayang, dan motivasi kepada penulis dalam proses penyusunan tesis.
6. Rekan – rekan laboratorium Pusat Penelitian dan Pengembangan Stem Cell Universitas Airlangga, atas bantuan, saran, dan kerja samanya.

Semoga mereka yang tersebut di atas senantiasa mendapatkan anugerah dari Allah SWT. Penulis berharap semoga tesis ini dapat bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan dan bagi semua pihak yang membutuhkan.

Surabaya, 11 November 2020

Penulis

RINGKASAN

**Toksistas dan Pengaruh Ekstrak Gonad Landak Laut (*Diadema setosum*)
Terhadap Proliferasi *Mesenchymal Stem Cell*.****Bachtiar Rochmatul Samsuhadi**

Terapi sel merupakan salah satu pendekatan penyembuhan penyakit degeneratif yang tidak dapat disembuhkan dengan pengobatan konvensional. Salah satu sumber sel yang digunakan dalam terapi sel adalah *stem cell* (sel punca). Penggunaan *stem cell* berkaitan dengan sifatnya yang *self-renewal*, plastis, dapat memperbanyak diri, dan dapat berdiferensiasi menjadi berbagai macam jenis sel lain.

Stem cell berperan penting dalam perkembangan, pertumbuhan, pemeliharaan, dan perbaikan jaringan maupun organ di dalam tubuh. Jenis *stem cell* yang banyak digunakan dalam penelitian maupun pengobatan adalah *mesenchymal stem cell* (MSC). *Mesenchymal stem cell* dapat diperoleh dari beberapa sumber seperti darah tepi, jaringan lemak, otot, periosteum, dan sumsum tulang. Jumlah MSC diperkirakan 0,001% sampai 0,1% dari seluruh sel yang ada dalam sumsum tulang dan mengalami penurunan seiring bertambahnya usia. Disamping jumlahnya yang sedikit, tingkat proliferasi *mesenchymal stem cell* juga tergolong rendah sehingga memerlukan waktu lama untuk konfluen di dalam media kultur.

Beberapa tahun terakhir, nilai nutrisi dan potensi landak laut menarik banyak perhatian. Ekstrak gonad landak laut mengandung beberapa senyawa aktif dari golongan steroid/triterpenoid, saponin, flavonoid, tannin, dan fenol-hidrokuinon. Kandungan senyawa aktif dari ekstrak gonad landak laut selain bermanfaat sebagai anti bakteri juga dimanfaatkan dalam proses penyembuhan luka.

Tujuan penelitian ini adalah mengetahui toksistas dan pengaruh ekstrak gonad landak laut (*Diadema setosum*) terhadap proliferasi *mesenchymal stem cell* yang dikultur secara *in vitro*. Metode yang digunakan adalah penelitian eksperimental dengan parameter utama yang diamati adalah tingkat proliferasi *mesenchymal stem cell*.

Gonad landak laut (*Diadema setosum*) dikeringkan kemudian dilakukan ekstraksi dengan pelarut etil asetat. Dilanjutkan analisis fitokimia untuk mengetahui kandungan bioaktif yang terdapat pada ekstrak. Ekstrak ditambahkan ke dalam kultur *mesenchymal stem cell* dengan kadar 0,1%, 0,2%, 0,3%, 0,4%, dan 0,5%. Media pertumbuhan yang digunakan adalah α MEM rendah glukosa yang dilengkapi dengan 10% FBS, 5,96 g/L HEPES, 1% penisilin/streptomisin. Setelah 24 jam dilakukan uji MTT dan dihitung nilai IC_{50} . Setelah nilai IC_{50} diketahui, ekstrak ditambahkan ke dalam kultur *mesenchymal stem cell* dengan kadar $\frac{1}{2}IC_{50}$, $\frac{1}{3}IC_{50}$, dan $\frac{1}{4}IC_{50}$. Uji MTT

dilakukan setelah 48 jam masa inkubasi kemudian dihitung tingkat proliferasi dengan metode PDT (*Population Doubling Time*).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak gonad landak laut (*Diadema setosum*) positif steroid, alkaloid, flavonoid, dan alkaloid tetapi negatif tannin. Hasil uji sitotoksitas menunjukkan bahwa nilai IC_{50} adalah sebesar 225 $\mu\text{g/mL}$. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak gonad landak laut bersifat toksik. Kadar ekstrak yang digunakan untuk mengetahui pengaruh terhadap proliferasi adalah 100 $\mu\text{g/mL}$, 150 $\mu\text{g/mL}$, dan 200 $\mu\text{g/mL}$. Hasil penghitungan menunjukkan nilai PDT meningkat dibandingkan kontrol (0,695) baik pada kadar 100 $\mu\text{g/mL}$ (0,747), 150 $\mu\text{g/mL}$ (0,786), maupun 200 $\mu\text{g/mL}$ (0,880). Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak gonad landak laut tidak dapat meningkatkan kemampuan proliferasi *mesenchymal stem cell*.

SUMMARY**Toxicity And Effect Of Gonadal Sea Urchin (*Diadema setosum*) Extract On Mesenchymal Stem Cell Proliferation****Bachtiar Rochmatul Samsuhadi**

Cell therapy is an approach to cure degenerative diseases that cannot be cured by conventional medicine. One of the sources of cells used in cell therapy is stem cells. The use of stem cells is related to their abilities such as self-renewal, plastic, self-reproducing, and can differentiate into various other cell types.

Stem cells play an important role in the development, growth, maintenance and repair of tissues and organs in the body. The type of stem cell that is widely used in research and treatment is mesenchymal stem cell (MSC). Mesenchymal stem cells can be obtained from several sources such as peripheral blood, fat tissue, muscle, periosteum, and bone marrow. The amount of MSC is estimated at 0.001% to 0.1% of all cells in the bone marrow and decreases with age. Besides the small number, proliferation rate of mesenchymal stem cells is also low so that it takes a long time to confluent in the culture media.

In recent years, the nutritional value and potential of sea urchins has attracted a lot of attention. Sea urchin gonad extract contains several active compounds from the steroid / triterpenoid class, saponins, flavonoids, tannins, and phenol-hydroquinone. The content of the active compound of the extract of sea urchin gonads than beneficial as an anti-bacterial also be utilized in the process of wound healing.

The aim of this study was to determine the toxicity and effect of sea urchin gonad extract (*Diadema setosum*) on the proliferation of mesenchymal stem cells. The method used was experimental research with the main parameter observed was the rate of mesenchymal stem cell proliferation.

Sea urchin gonad (*Diadema setosum*) was dried then extracted with ethyl acetate as a solvent. Then phytochemical analysis to determine bioactive compound contained in the extract. The extract was added to the mesenchymal stem cell culture at 0.1%, 0.2%, 0.3%, 0.4%, and 0.5% concentration. The growth medium used was low glucose α MEM supplemented with 10% FBS, 5.96 g / L HEPES, 1% penicillin/streptomycin. After 24 hours, the MTT test was carried out and the IC_{50} value was calculated. After the IC_{50} value is known, the extract is added to the mesenchymal stem cell culture with $\frac{1}{2}IC_{50}$, $\frac{1}{3}IC_{50}$, and $\frac{1}{4}IC_{50}$ concentration. The MTT test was carried out after 48 hours of incubation and then proliferation rate was calculated using the PDT (Population Doubling Time) method.

The results showed that the sea urchin gonad extract (*Diadema setosum*) was positive for steroids, alkaloids, flavonoids, and alkaloid but negative for tannins. The results of the cytotoxicity assay showed that the IC_{50} value was 225 $\mu\text{g/mL}$. This shows that sea urchin gonad extract is toxic. Concentration of extract used to determine the effect on proliferation were 100 $\mu\text{g/mL}$, 150 $\mu\text{g/mL}$, and 200 $\mu\text{g/mL}$. The calculation results showed that PDT value increased compared to the control (0.695) both at levels of 100 $\mu\text{g/mL}$ (0.747), 150 $\mu\text{g/mL}$ (0.786), and 200 $\mu\text{g/mL}$ (0.880). This shows that sea urchin gonad extract cannot increase mesenchymal stem cell proliferation ability.