

**LAPORAN AKHIR**  
**PROGRAM PENELITIAN KOLABORASI INDONESIA**



**JUDUL PENELITIAN**

**Aplikasi Eksosom dari Sel Punca Mesenkimal untuk Terapi Berbasis  
Tanpa Sel**

**Peneliti Utama : Dr. Anggraini Barlian**

**Peneliti** : **1. drg. Ika Dewi Ana, M.Kes, Ph.D**  
**2. Prof. Dr. Ir. C. Hanny Wijaya. M.Agr.**  
**3. Dr. dr. Atik Choirul Hidajah, M.Kes**  
**4. Dr. dr. Hari Basuki Notobroto, M.Kes**  
**5. Triati Dewi Kencana Wungu, Ph.D**  
**6. Prof.Dr.Ir. Yuliana Maria Diah Ratnadewi DEA**

**INSTITUT PERTANIAN BOGOR**  
**November, 2021**

## HALAMAN PENGESAHAN

Judul : Aplikasi Eksosom dari Sel Punca Mesenkimaluntuk Terapi Berbasis Tanpa Sel

Peneliti Utama

Nama Lengkap : Dr Anggraini Barlian

NIP : 196304131988112001

Jabatan Fungsional : Lektor Kepala

Fak./Sekolah/Pusdi/PUIPT : Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati

Alamat Kantor/Telp/E-mail : Jalan Ganesa No. 10 Bandung (Labtek XI)/ +62 22 251 1575 /aang@sith.itb.ac.id

Nomor HP : 08122111483

Peneliti Mitra (1)

Nama Lengkap : drg. Ika Dewi Ana, M.Kes, Ph.D

NIDN : 16096806

Perguruan Tinggi : UGM

Alamat surel (e-mail) : ikadewiana@ugm.ac.id

Bidang Keahlian : Rekayasa Jaringan, Biomedika, Terapi Regeneratif Kedokteran Gigi

Peneliti Mitra (2)

Nama Lengkap : Prof. Dr. Ir. C. Hanny Wijaya. M.Agr.

NIP : 0022046010

Perguruan Tinggi : IPB

Alamat surel (e-mail) : hazemi@indo.net.id

Bidang Keahlian : Ilmu Pangan

Peneliti Mitra (3)

Nama Lengkap : Dr. dr. Atik Choirul Hidajah, M.Kes

NIP : 196811021998022001

Perguruan Tinggi : UNAIR

Alamat surel (e-mail) : atik-c-h@ fkm.unair.ac.id

Bidang Keahlian : Epidemiologi

Peneliti Mitra (4)

Nama Lengkap : Dr. dr. Hari Basuki Notobroto, M.Kes

NIDN : 0025066504

Perguruan Tinggi : UNAIR

Alamat surel (e-mail) : haribasuki.n @fkm.unair.ac.id

Bidang Keahlian : Biostatistika  
Peneliti Mitra (5)  
Nama Lengkap : Triati Dewi Kencana Wungu, Ph.D  
NIDN : 0028128201  
Perguruan Tinggi : ITB  
Alamat surel (e-mail) : triati@fi.itb.ac.id  
Bidang Keahlian : Fisika Nuklir dan Biofisika

Peneliti Mitra (6)  
Nama Lengkap : Prof.Dr.Ir. Yuliana Maria Diah Ratnadewi DEA  
NIDN : 0026035706  
Perguruan Tinggi : IPB  
Alamat surel (e-mail) : dratnadewi@ apps.ipb.ac.id  
Bidang Keahlian : Fisiologi Tanaman

Biaya yang diusulkan : Rp 250.000.000,-/tahun  
Target Publikasi Internasional : 4 publikasi bersama (3 tahun)

Mengetahui,  
Kepala LPPM

Bogor, 30 November 2021  
Peneliti Mitra,

(Dr. Ir. Erman Rustiadi, M.Agr)  
NIP. 196510111990021002

(Prof. Dr. Ir. C. Hanny Wijaya. M.Agr)  
NIP. 196004221983032003

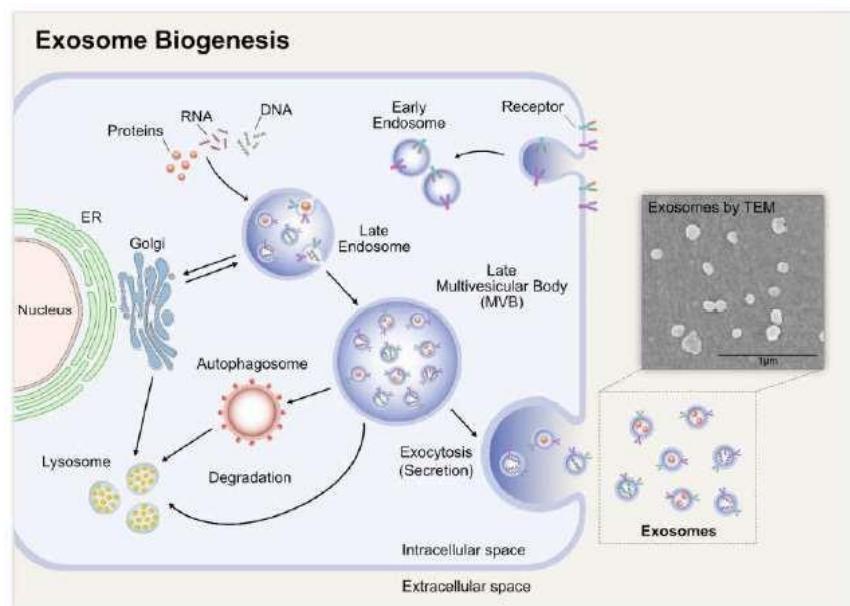
## RINGKASAN

Terapi sel berbasis sel punca merupakan strategi yang menjanjikan dalam bidang *regenerative medicine* untuk mengatasi berbagai permasalahan kesehatan. Sel punca mesenkimal (*Mesenchymal Stem Cells/MSC*), jenis sel punca dewasa, merupakan sumber sel punca yang banyak digunakan sebagai terapi. Namun demikian terapi berbasis sel dengan implantasi MSC memiliki kekurangan terutama jika diberikan secara *allogenic* (MSC dari donor) yaitu dapat memicu respon kekebalan tubuh penerima. Kemampuan terapi dari MSC berasal dari parakrin yang diseikresikan dan dimediasi oleh vesikel ekstraselular. Salah satu vesikel ekstraselular yang membawa kemampuan yang sama dengan MSC adalah eksosom. Selain kandungan di dalam eksosom yang fungsional sebagai bahan terapi, ukuran eksosom yang kecil menjadikannya eksosom sebagai bahan terapi berbasis sel yang lebih efektif. Pada penelitian ini akan dipelajari penggunaan eksosom dari sel punca mesenkimal dalam aplikasi rekayasa jaringan rawan dan gigi. Eksosom yang berhasil diisolasi dan dikarakterisasi dari penelitian sebelumnya akan dianalisa kemampuannya dalam memicu diferensiasi sel melalui marker diferensiasi rawan dan marker diferensiasi osteosit. Selain itu *exosome-like* akan diisolasi dan dikarakterisasi dari tumbuhan kemudian dianalisa kemampuannya untuk memasuki sel. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa pengetahuan masyarakat terhadap sel punca dan eksosom masih kurang sehingga pada penelitian ini juga akan dilakukan model sosialisasi dan analisa faktor kepercayaan dan resiko penggunaan eksosom dalam bidang medis atau pangan. Eksosom berhasil diisolasi dari MSC yang ditumbuhkan pada medium yang mengandung LAA dan diamati morfologinya. Selain itu optimasi metode telah dilakukan dan analisa diferensiasi kondrogenik dan osteogenik kelompok kontrol telah dilakukan. Persiapan rekayasa jaringan gigi menggunakan eksosom sedang berlangsung di peneliti mitra UGM. Kultur jahe berhasil ditumbuhkan dan selanjutnya exosome-like sudah berhasil diisolasi dari kalus kultur jahe, selain juga dari kencur dan kina oleh peneliti mitra IPB. Exosome-like selanjutnya akan di uji kemampuan antioksidannya dan pada tahun selanjutnya akan diaplikasi pada produk pangan. Exosom-like rencananya juga akan dianalisa pemasukan eksosom ke dalam sel (cell uptake) oleh tim ITB Webinar nasional tentang pengenalan eksosom dan plikasinya pada masyarakat juga berhasil dilaksanakan dengan baik. Data yang didapat dari kuosier yang beredar saat webinar disusun oleh peneliti mitra UNAIR.

## BAB 1 PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang Masalah

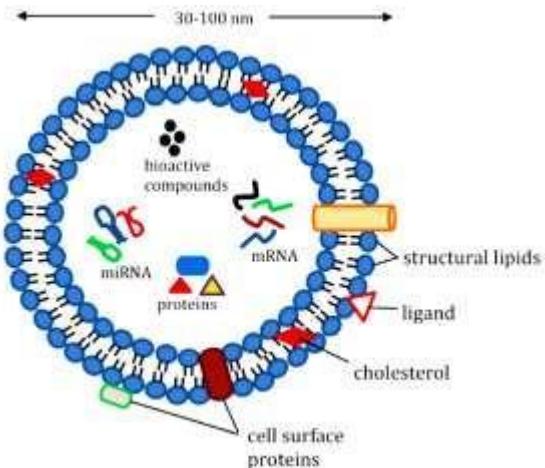
Sel punca mesenkimal (*Mesenchymal Stem Cell/MSC*) adalah sel punca nonhematopoietik dewasa yang memiliki kemampuan *self-renewal* dan mampu berdiferensiasi menjadi jenis sel lain. MSC dapat diisolasi dari beberapa jaringan seperti lemak, sumsum tulang dan *Wharton's Jelly*. MSC banyak digunakan sebagai bahan terapi sel dalam *regenerative medicine*. Menurut Zhang *et. al* (2020), kemampuan terapi MSC berasal dari mekanisme parakrin yang dimediasi oleh komponen bioaktif di dalam vesikel membran yang dihasilkan MSC. Eksosom merupakan salah satu jenis vesikel ekstraseluler yang disekresi oleh sel (Gambar 1).



Gambar 1. Biogenesis eksosom (Gurunathan *et al.*, 2019)

Eksosom berukuran 30-100 nm dan berasal dari *multivesicular bodies* (MVBs) (Popowski *et al.*, 2020). Eksosom berperan dalam komunikasi intraseluler di dalam tubuh dengan mengirimkan kargo fungsionalnya. Eksosom mengandung kargo yang meliputi protein, asam nukleat dan lipid untuk dibawa ke sel target (Gambar 2). Kandungan eksosom bergantung pada sel yang menghasilkan dan *microenvironment* sel tersebut tumbuh (Zhang *et al.*, 2019). Eksosom yang berasal dari sel punca mesenkimal memiliki kemampuan terapi yang sama dengan sel punca mesenkimal. Selain itu eksosom memiliki kelebihan dibandingkan terapi sel punca karena ukurannya kecil dan tidak menginduksi respon imun tubuh (Zhang *et al.*, 2020). Struktur menyerupai eksosom (*exosome-like*) juga ditemukan

pada sel tumbuhan. Eksosom tersebut memiliki potensi sebagai pangan fungsional sesuai dengan asal sel yang menghasilkan.



Gambar 2. Struktur eksosom dan kandungannya (Akuma, Okagu and Udenigwe, 2019)

Penelitian tentang eksosom masih tergolong baru di Indonesia dan pengembangan aplikasi eksosom dalam bidang rekayasa jaringan rawan maupun gigi belum banyak dilakukan. Pendekatan multidisiplin dari berbagai bidang perlu dilakukan untuk mengkaji eksosom dengan lebih baik dari berbagai sisi. Penelitian ini merupakan lanjutan dari penelitian sebelumnya yang telah mengisolasi dan mengkarakterisasi eksosom. Pemanfaatan eksosom pada bidang *regenerative medicine* dikaji dalam penelitian ini.

## 1.2. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengoptimasi isolasi eksosom dari *conditioned medium* sel punca, mengaplikasikannya pada rekayasa jaringan rawan dan regenerasi gigi, mengisolasi dan karakterisasi eksosom dari sel tumbuhan untuk pangan fungsional serta sosialisasi tentang eksosom pada masyarakat luas. Hasil penelitian ini diharapkan dapat mengembangkan aplikasi eksosom pada bidang *regenerative medicine* dan mencerdaskan masyarakat indonesia melalui sosialisasi eksosom.

## BAB 2 METODOLOGI

### 2.1. Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan kelanjutan dari penelitian tahun pertama yang telah berhasil mengisolasi dan mengkarakterisasi eksosom yang berasal dari sel punca mesenkimal. Selanjutnya penelitian akan memasuki pada analisa pemanfaatan eksosom dan sosialisasinya. Aplikasi eksosom dari sel punca mesenkimal pada rekayasa jaringan akan dikaji oleh Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati dan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam ITB. Selain itu hasil isolasi eksosom dari ITB akan diteliti pemanfaatannya pada regenerasi gigi oleh peneliti dari Fakultas Kedokteran Gigi UGM. Eksosom dari sel tumbuhan juga akan dikaji oleh peneliti dari Fakultas Teknologi Pertanian IPB. Penelitian sebelumnya tentang pemahaman masyarakat tentang eksosom menunjukkan bahwa eksosom selama ini belum banyak diketahui, sehingga penelitian berlanjut dengan pemodelan sosialisasi tentang eksosom dan aplikasinya yang akan dilakukan oleh peneliti dari Fakultas Kesehatan Masyarakat UNAIR. Penelitian ini akan mengkaji eksosom dari berbagai bidang keilmuan. Desain penelitian adalah sebagai berikut:



Gambar 3. Desain Penelitian

### 2.2. Metode Rancangan Penelitian

#### 2.2.1. Isolasi, Kultur dan Karakterisasi Sel Punca Mesenkimal

Sel punca didapatkan dari *Wharton's jelly* manusia yang diisolasi secara enzimatis. Sel yang didapatkan diperbanyak dengan menumbuhkannya pada medium kultur sel yang

mengandung DMEM, antibiotic-antimikotik, dan *Fetal Bovine Serum* (FBS). Untuk mendapatkan sel punca mesenkimal maka sel dikarakterisasi berdasarkan karakter sel punca mesenkimal. Sifat adherence sel diamati dari pengamatan morfologi sel punca dengan mikroskop inverted. Analisa *surface marker* spesifik dilakukan dengan *flow cytometry*. Kemampuan sel punca berdiferensiasi menjadi 3 jenis lini sel dianalisa dengan multipotensi assay.

### **2.2.2. Optimasi Isolasi Eksosom dan Analisa Diferensiasi Kondrogenik**

Sel punca mesenkimal ditumbuhkan pada medium pertumbuhan yang masih mengandung serum sampai mencapai konfluensi 70%. Setelah kultur sel konfluen, medium pertumbuhan sel diganti dengan medium serum free dan diinkubasi selama 48 jam. Eksosom diisolasi dari berbagai jenis *conditioned medium* sel punca setelah inkubasi menggunakan kit isolasi eksosom. Eksosom yang dihasilkan selanjutkan digunakan untuk analisa diferensiasi kondrogenik yang merupakan komponen analisa dalam rekayasa jaringan rawan.

Sel punca mesenkimal ditumbuhkan pada *24-well plate* dengan penambahan eksosom selama 28 hari. Diferensiasi kondrogenik diamati dengan analisa penanda diferensiasi kondrogenik pada tingkat protein. Pada tingkat protein dilakukan pengamatan kolagen 2 yang dihasilkan dengan analisa imunositokimia dan terbentuknya matriks GAG diamati dengan pewarnaan *Alcian Blue* dan dibaca absorbansinya menggunakan *microplate reader*.

### **2.2.3. Aplikasi Eksosom pada Regenerasi Jaringan Gigi**

Eksosom dari sel punca akan dipergunakan sebagai bahan aktif dalam CHA-Scaffold sebagai membran pembawa, untuk percepatan regenerasi jaringan keras. Analisa pemuatan dan pelepasan eksosom dilakukan dengan analisa UV-Vis. Pengaruh eksosom terhadap kemampuan proliferasi dan diferensiasi sel MC3T3E1 menjadi osteosit dianalisa dengan menggunakan marker osteosit.

### **2.2.4. Isolasi *Exosome-like* dari Sel Tumbuhan**

Pada sel tumbuhan terdapat vesikel yang memiliki karakteristik yang mirip dengan eksosom disebut dengan *exosome-like*. Jaringan tumbuhan dipecah dan sel tumbuhan

dihilangkan dinding selnya menggunakan enzim. *Exosome-like* kemudian diisolasi dari protoplas (sel yang telah dihilangkan dinding selnya), kemudian dikarakterisasi secara fisik.

#### **2.2.5. Analisis deskripsi faktor kepercayaan, risiko, effort dan reward terhadap penggunaan eksosom di dunia medis dan pangan**

Pengetahuan mengenai eksosom belum banyak diketahui masyarakat. Analisa tingkat pemahaman massyarakat dengan metode diskripsi kuantitatif perlu dilakukan. Selanjutnya data yang didapat digunakan sebagai bahan model penerimaan. Selain itu webinar juga akan dilakukan untuk lebih mensosialisasikan eksosom dan peranannya.

### **2.3. RENCANA PENELITIAN**

#### **2.3.1. Pelaksanaan penelitian di PT-host**

Perguruan Tinggi Host (PT-host) pada penelitian ini adalah Institut Teknologi Bandung. Penelitian ini merupakan rencana penelitian tahun kedua. Pada penelitian tahun pertama telah berhasil dilakukan isolasi eksosom dari sel punca mesenkimal dan mengkarakterisasinya. Hasil penelitian tahun pertama telah dipublikasikan pada seminar internasional (1), artikel *mini review* di jurnal Q2 (*under review*) dan artikel riset di jurnal Q1 (*submitted*).

Pada tahun kedua akan dilakukan optimasi produksi dan aplikasi eksosom pada regenerasi jaringan rawan. Eksosom yang dihasilkan di laboratorium di ITB juga akan dikirim ke peneliti mitra (UGM) untuk dianalisa potensi eksosom pada rekayasa jaringan gigi.

#### **2.3.2. Pelaksanaan penelitian di PT-mitra**

Perguruan tinggi mitra (PT-mitra) dalam penelitian ini adalah Universitas Gadjah Mada (UGM), Institut Pertanian Bogor (IPB), dan Universitas Airlangga (UNAIR).

#### **2.3.3. Pelaksanaan Penelitian di Universitas Gadjah Mada**

Pada Tahun I telah dilakukan (1) Pengajuan Kelayakan Etik Penelitian dan telah diterima persetujuannya; (2) Telah dilakukan pabrikasi dan karakterisasi 3 jenis membran (dalam proposal tahun pertama hanya diajukan 1 jenis, tetapi berhasil diperoleh 3 jenis), (3) Telah ditulis manuskrip (*under review*) di jurnal Q1.

Pada Tahun II penelitian, di UGM akan dilakukan:

#### **a. Uji Pemuatan dan Pelepasan Eksosom pada 3 Jenis Membran (CHA, DCPD, dan CaCO<sub>3</sub> Membran):**

- a. Kapasitas membran untuk memuat eksosom akan diuji menggunakan alat

UV-Vis.

b. Profil pelepasan eksosom dari membrane akan diuji menggunakan alat UV-Vis.

**b. Uji Adsorbsi Protein pada Membran yang Telah Diberi Muatan Eksosom:**  
Kemampuan adsorpsi protein pada 3 jenis membrane dengan dan tanpa eksosom akan diuji menggunakan metode seperti yang dipergunakan oleh Januarisa et al. (2020).

**c. Kultur dan Uji Fisis Eksosom pada Membran Serta Kemampuan Perlekatan dan Proliferasi MC3T3E1:** Akan dilakukan pengujian perlekatan serta proliferasi sel MC3T3E1.

**d. Diferensiasi Osteogenik Membran yang Telah Loaded Eksosom Sel Punca Mesenkimal:** Proliferasi MC3T3E1 pada membran diamati dengan beberapa pendekatan menuju ke arah regenerasi jaringan, menggunakan biomarker Kolagen Tipe I dan ALP.

**e. Penulisan Manuskrip II**

Pada Tahun III (2022) Direncanakan Penelitian Memasuki Uji In Vivo pada Hewan Coba.

#### **2.3.4. Pelaksanaan Penelitian di Institut Pertanian Bogor**

Pada penelitian tahun pertama telah dilakukan isolasi *exosome-like* dari tanaman jahe dengan menghilangkan dinding selnya terlebih dahulu. Penelitian tahap pertama menghasilkan artikel yang dipublikasikan di jurnal Q2.

Penelitian tahun kedua, IPB akan melanjutkan penelitian awal. *Exosome-like* dari tanaman jahe yang berhasil diisolasi akan dikarakterisasi secara fisik. Untuk dapat menjalankan perannya sebagai nutrien fungsional dalam bentuk eksosom maka perlu dianalisa pemasukan eksosom ke dalam sel (*cell uptake*). Eksosom yang telah dikarakterisasi juga akan dianalisa *cell uptake*-nya. Selain itu juga dilakukan analisis kemampuan antioksidan.

#### **2.3.5. Pelaksanaan Penelitian di Universitas Airlangga**

Untuk mengetahui tingkat pemahaman masyarakat Indonesia, khususnya tenaga kesehatan, terhadap eksosom maka pada penelitian ini akan dilakukan analisis dalam mendeskripsikan faktor kepercayaan dan risiko serta *effort* dan *reward* terhadap penggunaan eksosom baik itu di dunia medis ataupun pangan. Metode penelitian yang digunakan adalah deskriptif kuantitatif dimana pengumpulan data menggunakan teknik kuesioner sebagai teknik utama, sedangkan teknik pendukungnya adalah observasi dan

dokumentasi. Untuk selanjutnya, hasil data kuesioner akan dianalisis dan dituangkan dalam model penerimaan. Model penerimaan ini belum dalam bentuk actual practice tapi masih dalam *attitude* atau *intention*. Model penerimaan ini akan mencerminkan tingkat kepercayaan masyarakat terhadap penggunaan eksosom akan dipengaruhi oleh usaha (*effort*) para peneliti dalam memberi keyakinan kepada masyarakat. Tentu saja dari model tersebut akan teramat juga bagaimana dampak baik itu *reward* ataupun risiko yang diperoleh apabila pengetahuan masyarakat terhadap eksosom tersebut meningkat.

Karena penelitian eksosom masih tergolong relatif baru maka tidak semua tenaga medis mengetahui apa itu eksosom. Oleh sebab itu dalam rangka memberikan wawasan kepada tenaga medis, tim peneliti akan menyelenggarakan webinar dengan audiens berasal dari kalangan dosen di bidang kesehatan, dokter gigi, dosen di bidang pangan/gizi, perawat, dan peserta lainnya yang relevan. Melalui kegiatan webinar ini, selain memberikan wawasan kepada masyarakat, tim peneliti juga akan mendapatkan data kuesionair dari peserta webinar.

### **BAB 3 HASIL DAN PEMBAHASAN**

Secara total, hasil yang dicapai sampai bulan Agustus penelitian Riset Kolaborasi Indonesia ini mencapai 55%. Rincian hasil yang telah dicapai adalah sebagai berikut.

#### **3.1. Morfologi eksosom dari hWJ-MSC (ITB)**

##### **1. Isolasi, Kultur dan Karakterisasi Sel Punca Mesenkimal**

Sel punca diisolasi dari Wharton Jelly manusia menggunakan metode enzimatis. Sel dikultur pada medium kultur sel manusia yang mengandung DMEM, Fetal Bovine Serum dan Antibiotik-antimikotik dan ditumbuhkan pada incubator suhu 37C. Sel di subkultur beberapa kali untuk memperbanyak jumlah sel. Sel hasil isolasi dikarakterisasi dengan analisa multipotensi dan flowcytometry untuk membuktikan bahwa sel yang didapat merupakan sel punca mesenkimal.

Hasil:

Sel berhasil diisolasi dengan metode enzimatis dan diperbanyak. Berdasarkan hasil karakterisasi sel punca mesenkimal, sel memiliki kemampuan multipotensi untuk dapat berdiferensiasi menjadi sel lemak, sel tulang dan sel rawan. Hasil analisa flowcytometry juga menunjukkan bahwa sel memiliki penanda permukaan sel punca mesenkimal. Selanjutnya sel tersebut disebut dengan human Wharton Jelly-Mesenchymal Stem Cells (hWJ-MSC)

## 2. Isolasi eksosom dari sel punca mesenkimal

Eksosom diisolasi dari hWJ-MSC menggunakan Total Exosome Isolation Kit (Invitrogen) for cell culture sesuai protokol yang terdapat pada kit. Eksosom diisolasi dari conditioned medium sel yang diberi perlakuan LAA dan hipoksia kemikal. Kontrol dalam perlakuan menggunakan conditioned medium sel tanpa pretreatment kedua zat tersebut.

Hasil:

Eksosom berhasil diisolasi dari hWJ-MSC. Eksosom kemudian dikarakterisasi. Eksosom hasil isolasi disimpan pada suhu 80C untuk pemakaian analisa selanjutnya.

## 3. Karakterisasi eksosom

Eksosom dikarakterisasi secara fisik di Pusat Penelitian Nanosains dan Nanoteknologi (PPNN) ITB. Morfologi dan keberadaannya dianalisa dengan TEM kemudian ukurannya dikonfirmasi dengan DLS. Penanda CD 63 juga dianalisa dengan ELISA.

Hasil:

Berdasarkan dari data TEM, eksosom berbentuk bulat dengan variasi ukuran berkisar 20-100 nm. Data tersebut sesuai dengan ciri eksosom. Analisa DLS mengkonfirmasi ukuran dan menunjukkan bahwa terdapat partikel dengan ukuran tersebut. Untuk memastikan bahwa vesikel sel yang diisolasi merupakan eksosom maka dilakukan ELISA CD63 dan hasilnya menunjukkan bahwa terdapat kelimpahan CD 63 pada eksosom yang diisolasi dari LAA dan kondisi hipoksia kemikal.

## 4. Analisa Differensiasi Kondrogenik

Eksosom pada penelitian ini digunakan untuk memicu differensiasi sel punca mesenkimal menjadi kondrosit. Eksosom dihitung konsentrasinya kemudian setiap perlakuan diberikan eksosom yang disolusi dari sel yang sebelumnya diberi perlakuan LAA dan hipoksia kemikal. Analisa differensiasi dilakukan pada hari ke 7 dan 21 kemudian diuji dengan analisa GAG dan immunocytochemistry menggunakan pengamatan Laser Confocal Scanning Microscope (LSCM).

Hasil:

Differensiasi kondrogenik belum terlihat menonjol pada hari ke 7 perlakuan. Analisa GAG menunjukkan bahwa matrik GAG sudah terbentuk meskipun sedikit. Hasil

pengamatan LSCM menunjukkan bahwa matrik kolagen tipe 2 sudah tampak namun belum dikeluarkan ke dalam matrik ekstraseluler.

### **3.4. Aplikasi eksosom pada rekayasa jaringan gigi (UGM)**

Preparasi jaringan gigi sedang dilakukan dengan membuat membran dan akan segera eksosom akan diaplikasikan pada membrane tersebut.

### **3.5. *Exosome-like* dari sel tumbuhan (IPB)**

#### **I. Pembuatan kultur kalus jahe merah dan jahe Gajah.**

Bahan eksplan adalah buku rimpang dan tunas muda yang baru tumbuh dari rimpang jahe merah serta jahe Gajah, kemudian berganti dengan daun muda tanaman jahe Gajah. Metode sterilisasi eksplan selalu diperbaiki agar diperoleh sejumlah eksplan steril yang dapat bertahan hidup dan kemudian tumbuh dalam media kultur tersebut.

Berbagai metode sterilisasi eksplan daun jahe Gajah telah dicobakan (Tabel 1).

Tabel 1. Metode sterilisasi eksplan rimpang dan daun jahe merah dan jahe Gajah

No	Perlakuan dengan sterilan				
	Deterjen	Bakterisida/fungi sida	Bayclin (NaOCl 5.25%)	Alkohol 70%	
1	10 mt	7 mt	10% (10 mt), 5% (5 mt)	30 dtk	
2	10 mt	7 mt	5% (10 mt)	30 dtk	
3	10 mt	5 mt	10% (5 mt), 5% (5 mt)	30 dtk	
4	10 mt	10 mt	10% (7 mt)	45 dtk	
5	10 mt	7 mt	10% (3 mt), 5% (7 mt)	30 dtk	
6	10 mt	-	15% (5 mt)	30 dtk	
7	10 mt	-	10% (15 mt)	1 mt	
8	10 mt	7 mt	5% (5 mt), 1% (5 mt)	30 dtk	
9	10 mt	7 mt	10% (8 mt)	30 dtk	
10	10 mt	7 mt	10% (5 mt), 5% (5 mt)	30 dtk	
11	10 mt	10 mt	10% (5 mt), 5% (5 mt)	1 mt	

Setelah melalui prosedur sterilisasi, potongan buku rimpang sepanjang 0.5 cm atau daun 1x1 cm ditanam dalam media dengan berbagai perlakuan kombinasi antara auksin dan sitokinin. Kultur dipelihara di ruang kultur bersuhu  $25 \pm 2$  °C, baik di tempat gelap maupun di bawah cahaya.

### **Hasil Kultur dan Pembahasan:**

Kondisi aseptik eksplan jahe sangat sulit didapatkan. Dalam beberapa hari, kontaminasi oleh cendawan dan bakteri terjadi, terutama buku rimpang. Kadangkala eksplan aseptik namun lama kelamaan klorosis atau mencoklat. Pertumbuhan eksplan juga sangat lambat pada eksplan yang aseptik dan terlihat hijau, bahkan setelah 18 minggu sejak ditanam. Kondisi eksplan dari percobaan sterilisasi yang terakhir disajikan pada di Tabel 2.

Tabel 2. Hasil kultur daun jahe Gajah pada berbagai perlakuan dan usia kultur

Perlakuan	Jumlah eksplan yang menghasilkan kalus/jumlah eksplan yang dikulturkan	% Respons	Keterangan
NAA 1 mg/L	0/11	0.00	Browning, eksplan kering
NAA 0.5 mg/L + BAP 0.5 mg/L	0/43	0.00	Browning
NAA 3 mg/L + BAP 3 mg/L	0/18	0.00	Browning
NAA 5 mg/L + BAP 3 mg/L	1/37	2.70	Browning
NAA 5 mg/L + BAP 5 mg/L	0/16	0.00	Browning, tetapi masih ada bagian yang hijau

Beberapa gambar di bawah ini (Gambar 1) adalah kultur eksplan daun jahe Gajah yang sejauh ini didapatkan.



NAA 1, 17 Mg



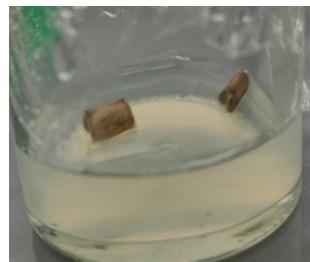
NAA 0.5 + BAP 0.5, 15 Mg



NAA 3 + BAP 3, 10 Mg



NAA 5 + BAP 3, 18 Mg



NAA 5 + BAP 3, 18 Mg



NAA 5 + BAP 5, 5 Mg

Gambar 1. Hasil yang didapat dari kultur eksplan daun jahe Gajah pada dengan berbagai usia kultur

Sejauh ini, hanya 1 eksplan daun yang mulai menampakkan pertumbuhan kalus (Gambar 1 dengan lingkaran merah), yaitu dari media MS dengan NAA (5 mg/L) dan BAP (3 mg/L), setelah 18 minggu usia kultur.

Rimpang yang berada di dalam tanah biasanya sulit dibuat steril; berbagai mikrob endogen diduga telah menginfeksi ke dalam jaringannya. Oleh karena itu, eksplan diganti dengan daun muda. Pertumbuhan kalus dari suatu jaringan tanaman dari jaringan daun memerlukan waktu 2 minggu pada *Cinchona* spp. (Pratiwi *et al.*, 2018) atau 3 minggu pada *Curculigo* spp. (Umar, 2021), apabila eksplan steril telah didapatkan. Ali *et al.* (2016) menggunakan tunas *in vitro* sebagai bahan eksplan; dengan 2,4-D, mereka mendapatkan kalus dari ujung tunas tersebut dalam waktu 4 minggu. Hasil penelitian Miri (2020) menunjukkan bahwa BAP 0.5 dan 1 mg/L BAP memberikan frekuensi pembentukan kalus terbesar pada kultur daun jahe dalam waktu 4 minggu, dibandingkan dengan jenis-jenis ZPT lainnya, termasuk IAA, NAA,

2,4-D dan dicamba. Hal demikian tidak terjadi pada percobaan kami. Ali *et al.* (2016) dan Miri (2020) menggunakan  $HgCl_2$  untuk mensterilisasi rimpang, tunas muda yang baru tumbuh dari rimpang, dan daun muda jahe. Kami menghindari penggunaan  $HgCl_2$  mengingat zat tersebut bersifat karsinogenik dan mencemari lingkungan.

## II. Ekstraksi dan isolasi PEN

Bahan tanaman:

1. Jahe merah dan jahe Gajah (*Zingiber officinalis*) – rimpang dibeli di supermarket, daun diambil dari tanaman muda yang ditanam di polibag.
2. Rimpang kencur (*Kaempferia galanga*) - dibeli dari pasar tradisional.
3. Kalus kina (*Cinchona ledgeriana*) - koleksi Lab Kultur Jaringan Tanaman Departemen Biologi, IPB.

Prosedur ekstraksi:

Dua metode dicobakan untuk mendapatkan hasil terbaik. Yang pertama mengikuti metode yang dideskripsikan oleh Kalarikkal *et al.* (2020) dengan *Polyethylene Glycol* (PEG6000). Rimpang jahe dan kencur segar dikupas kulitnya, lalu diblender dalam waktu singkat, sedangkan kalus kina remah koleksi dapat langsung digunakan.

Sejumlah 2-3 g bahan halus tersebut ditambah dengan 10 mL aquabides dan dihomogenkan dengan vortex. Campuran tersebut disaring melalui saringan nilon (pori 100  $\mu m$ ), lalu filtrat disentrifugasi pada 4 °C. Sentrifugasi dilakukan dalam 3 tahap, yaitu pada 2000 xg – 10 menit, 6000 xg – 20 menit, dan 10 000 xg – 40 menit. Setiap kali hasil sentrifugasi diambil supernatannya dan dipindahkan ke tabung baru. Supernatan terakhir dimasukkan ke larutan PEG6000 (1:1 v/v). Konsentrasi PEG6000 yang digunakan adalah 8, 10, 12, dan 15%. Lalu campuran larutan tersebut disimpan semalam pada suhu 4 °C. Keesokan harinya, larutan disentrifugasi pada 8000 xg – 30 menit. Pelet/endapan yang diperoleh dilarutkan dalam 500  $\mu L$  aquabides, disimpan di suhu sekitar 4 °C sampai siap untuk diamati dan digunakan untuk percobaan berikutnya.

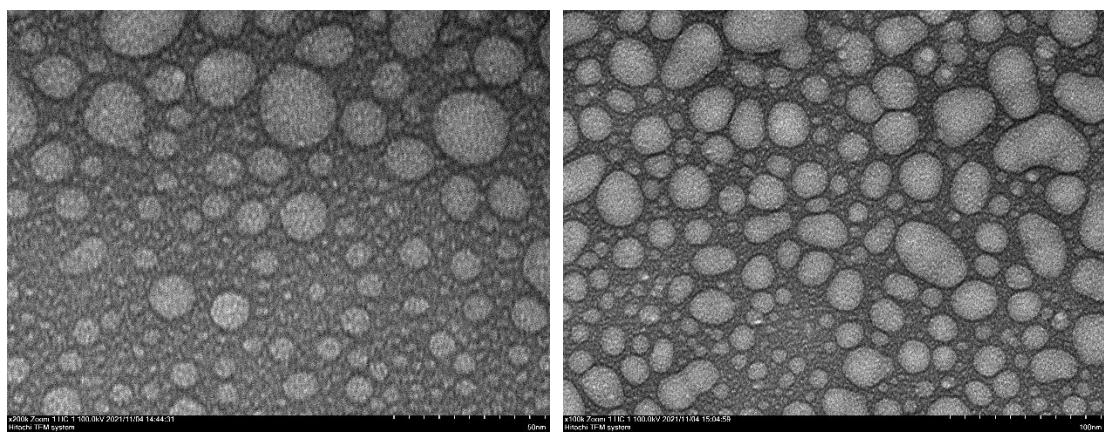
Metode kedua menggunakan *Total Exosome Isolation Reagent (from cell culture media)*, larutan pengekstraks eksosom dari Invitrogen (ThermoFisher Sci.). Dengan mengikuti prosedurnya, pelet terakhir dilarutkan dalam 1X PBS, disimpan di suhu sekitar 4 °C sampai siap untuk diamati dan digunakan untuk percobaan berikutnya.

Pengamatan partikel:

Hasil ekstraksi dalam bentuk larutan diamati di bawah Transmission Electron Microscope (TEM) dan untuk melihat bentuk partikel, sebaran, serta ukurannya dengan Dynamic Light Scattering (DLS) serta Particle Size Analysis (PSA).

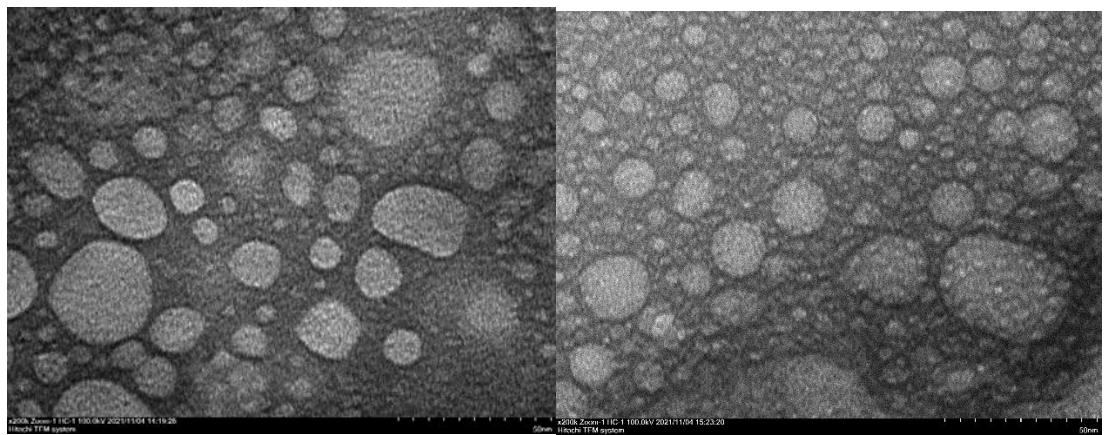
### Hasil dan Pembahasan:

Pengamatan awal dengan menggunakan mikroskop cahaya pada pembesaran 4000 x serta dengan TEM menunjukkan bahwa penggunaan PEG6000 pada konsentrasi 10% paling baik dalam menghasilkan partikel yang diduga PEN dengan bentuk yang baik. Gambar 2 menunjukkan morfologi serupa dengan PEN, yang dihasilkan dari ekstraksi dengan PEG6000 10%, dari rimpang jahe Gajah dan kalus kina. Gambar 3 adalah bentuk serupa PEN dari metode ekstraksi dengan *Total Exosome Isolation Reagent*, untuk rimpang jahe Gajah dan rimpang kencur. Untuk yang terakhir ini, kalus kina tidak dicobakan karena jumlah kalus tidak mencukupi.



(A) (B)

Gambar 2. Bentuk serupa dengan PEN dari rimpang jahe Gajah (A) dan dari kalus kina (B), hasil ekstraksi dengan PEG6000 10% melalui pengamatan dengan TEM. Garis skala = 100 nm.



(A) (B)

Gambar 3. Bentuk serupa dengan PEN dari rimpang jahe Gajah (A) dan rimpang kencur (B), hasil ekstraksi dengan *Total Exosome Isolation Reagent* melalui pengamatan dengan TEM. Garis skala = 100 nm.

Pengamatan terhadap sebaran serta ukuran partikel PEN dilakukan dengan DLS serta PSA, dan data disajikan pada Tabel 3. Data merupakan rerata dari 3 ulangan (3 preparat uji).

Tabel 3. Ukuran partikel PEN dan frekuensinya pada sampel hasil ekstraksi dengan PEG6000 dan *Total Exosome Isolation Reagent*.

Jenis bahan & ekstraksi	Rerata ukuran (nm)	Partikel terkecil		Ukuran terbesar (nm)	Partikel dengan frekuensi terbesar	
		Ukuran (nm)	Frekuensi (%)		Ukuran (nm)	Frekuensi (%)
J-PEG	1664,20	27 8,2 9	3,8 2	6474,24	3795,60	33,97
J-Inv	1327,87	34 9,6 7	2,6 4	3500,78	1967,14	15,81
K-PEG	445,93	82, 39	0,3 0	7532,65	345,89	6,31
K-Inv	787,43	14 2,4 6	3,1 6	1967,14	1308,95	44,65

Dari tampilan pada gambar, partikel-partikel tersebut serupa dengan PEN, dengan dinding membran yang agak tebal. Namun, sebaran ukuran partikel sangat besar variasinya (Tabel 3). Frekuensi terbesar (16-45%) terdiri dari partikel dengan ukuran di atas 1000 nm. Dibandingkan dengan partikel-asal rimpang jahe, dengan kedua metode ekstraksi, kalus kina menghasilkan partikel yang lebih kecil, yaitu antara 82 - 142 nm, sedangkan rimpang jahe menghasilkan partikel terkecil antara 278 – 350 nm. PEG6000 tampak lebih baik daripada *Total Exosome Isolation Reagent*, terutama untuk ekstraksi partikel dari kalus kina, meskipun frekuensinya sangat kecil.

Banyak penelitian untuk mengekstraksi PEN dilakukan dengan ultra-sentrifugasi pada 100 000 hingga 125 000 xg selama minimum 2 jam (Zhang *et al.* 2016; Kalarikkal *et al.* 2020; Perut *et al.* 2021). Dari prosedur tersebut, didapatkan PEN berukuran antara 100 - 1200 nm. Dengan metode PEG6000, Kalarikkal *et al.* (2020) mendapatkan PEN dari rimpang jahe berukuran antara 100 – 900 nm, dengan *peak* tertinggi pada 400 nm. Makin tinggi persentase PEG6000 yang digunakan (12 dan 15%), ukuran partikel yang lebih kecil frekuensinya lebih besar. Kisaran ukuran yang sama diperoleh dari prosedur ekstraksi dengan ultra-sentrifugasi pada 125 000 xg selama 2 jam. Perut *et al.* (2021) pada jus buah stroberi dan jeruk lemon mendapatkan PEN berukuran 30 – 191 nm, dengan frekuensi terbesar pada 30 - 49 nm.

Karena alat ultrasentrifugasi sulit ditemukan di Indonesia, kami mengadopsi metode alternatif yang lebih sederhana dan lebih murah dari Kalarikkal *et al.* (2020), yang menggunakan PEG6000. Mereka melaporkan bahwa PEN dari ekstraksi dengan PEG juga mengandung semua senyawa bioaktif rimpang jahe, dengan sifat antioksidan yang tidak berbeda nyata dengan PEN hasil dari ultra-sentrifugasi; dan hasil pelet terakhir dari masing-masing prosedur adalah 2-3.8 g per kg rimpang dibandingkan dengan 4 g per kg. Dengan demikian, sejumlah sejumlah kecil PEN telah berhasil didapatkan dari percobaan kami, yakni partikel dengan ukuran antara 82 – 350 nm.

### **Kesimpulan dan Rencana Selanjutnya di IPB.**

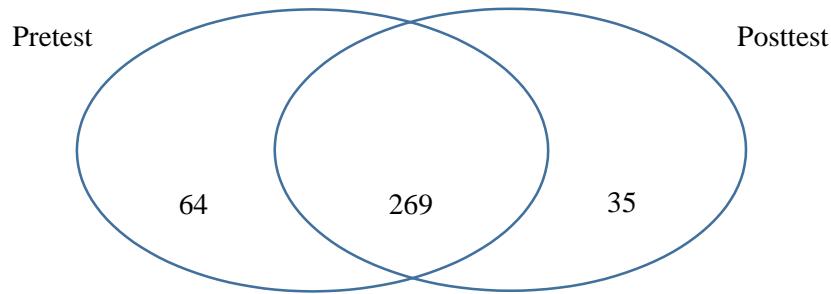
PEN dengan ukuran partikel 82-350 nm dari kalus rimpang jahe, rimpang kencur dan kina telah berhasil diperoleh dalam jumlah terbatas dengan metode menggunakan PEG 6000 10% dan juga dengan menggunakan Total Exosome Isolation Reagent . Untuk memperoleh partikel dengan ukuran yang lebih seragam saat laporan ini masih berlangsung percobaan ekstraksi dengan menggunakan alat ultrasentrifugasi yang baru diperoleh aksesnya di LIPI Bandung dan pengukuran aktivitas anti-oksidan PEN yang diperoleh. Pada tahun selanjutnya akan diuji-cobakan pada pada pangan fungsional dan sel .

### **3.6. Analisis deskripsi faktor kepercayaan, risiko, effort dan reward terhadap penggunaan eksosom di dunia medis dan pangan (UNAIR)**

Webinar nasional tentang pengenalan eksosom dan aplikasinya pada masyarakat umum telah dilakukan pada tanggal 17 Juli 2021. Pada webinar tersebut, peserta diberikan kuesioner tentang pengetahuan dan pemahaman masyarakat terhadap eksosom. Data yang

didapat kemudian diolah.

Dari pengumpulan data tahap 1 menggunakan kuesioner secara online terhadap peserta Webinar mengenai Eksosom, diperoleh distribusi pengisian kuesioner sebagai berikut.



Gambar 22. Distribusi Responden yang Mengisi Kuesioner Pretest dan Posttest

Sebanyak 333 orang mengisi kuesioner pretest, tetapi 64 di antaranya tidak mengisi kuesioner posttest. Dari 304 orang yang mengisi kuesioner posttest, 35 orang di antaranya tidak mengisi kuesioner pretest. Dengan demikian diperoleh 269 orang yang mengisi kuesioner baik pretest maupun posttest.

### 3.6.1. Karakteristik Responden

Tabel 1. Karakteristik Responden Penelitian Eksosom

Karakteristik	Kategori	Frekuensi	Persen
Jenis kelamin	Laki-laki	82	30,5
	Perempuan	187	69,5
Usia (tahun)	20-30	28	10,4
	31-40	60	22,3
	41-50	82	30,5
	51-60	83	30,9
	61-70	16	5,9
Pendidikan	Diploma 2 (D2)	1	0,4
	Diploma 3 (D3)	3	1,1
	Sarjana (S1)	25	9,3
	Magister (s2)	189	70,3
	Doktor (S3)	51	19,0
Pekerjaan	Dosen	221	82,2
	Tenaga Kesehatan	10	3,7
	Mahasiswa	18	6,7
	Lainnya	20	7,4

Sebagian besar responden berjenis kelamin perempuan (69,5%), berusia antara 31-60 tahun (83,7%), Pendidikan S2 (70,3%), dan bekerja sebagai dosen (82,2%).

### 3.6.2. Pengetahuan Responden mengenai eksosom

Tabel 2. Pengetahuan Responden mengenai Eksosom sebelum dan sesudah Webinar

Pengetahuan	$\bar{x} \pm SD$	Median	Min-Maks	Wilcoxon Signed RanksTest (p)
Pretest	$6,28 \pm 0,90$	6	3 - 9	0,039
Posttest	$6,43 \pm 0,85$	6	4 - 9	
Perubahan	$0,15 \pm 1,13$	0	(-3) – (+4)	

Hasil analisis menunjukkan adanya perubahan pengetahuan mengenai eksosom sesudah mengikuti Webinar. Sekalipun terdapat responden yang mengalami penurunan skor pengetahuan, secara umum didapatkan peningkatan pengetahuan yang bermakna ( $p=0,039$ ).

Dalam kategori pengetahuan, didapatkan hasil sebagai berikut.

Tabel 3. Kategori Pengetahuan Responden mengenai Eksosom sebelum dan sesudah Webinar

Pengetahuan (pre)		Pengetahuan (post)		Total
		Cukup	Baik	
<b>Kurang</b>		2 (0,7%)	1 (0,4%)	3 (1,1%)
<b>Cukup</b>		117 (43,5%)	53 (19,7%)	170 (63,2%)
<b>Baik</b>		50 (18,6%)	46 (17,1%)	96 (35,7%)
<b>Total</b>		169 (62,5%)	100 (37,2%)	269 (100,0%)

Tabel 3 menunjukkan beberapa responden mengalami peningkatan pengetahuan (1,1% dari kurang menjadi cukup atau baik, dan 19,7% dari cukup menjadi baik), tetapi ada yang mengalami penurunan pengetahuan (18,6% dari baik menjadi cukup).

### 3.6.3. Persepsi Responden mengenai Manfaat Eksosom

Tabel 4. Persepsi Responden mengenai Manfaat Eksosom sebelum dan sesudah Webinar

Persepsi Manfaat	$\bar{x} \pm SD$	Median	Min-Maks	Wilcoxon Signed Ranks Test (p)
Pretest	$29,06 \pm 3,89$	27	19 - 36	0,000
Posttest	$30,43 \pm 3,96$	30	20 - 36	
Perubahan	$1,37 \pm 3,17$	0	(-8) – (+14)	

Hasil analisis menunjukkan adanya perubahan persepsi responden mengenai manfaat eksosom sesudah mengikuti Webinar. Sekalipun terdapat responden yang mengalami penurunan skor, secara umum didapatkan peningkatan persepsi mengenai manfaat eksosom yang bermakna ( $p=0,000$ ).

Dalam kategori, didapatkan hasil sebagai berikut.

Tabel 5. Kategori Persepsi Responden mengenai Manfaat Eksosom sebelum dan sesudah Webinar

Persepsi Manfaat (pre)	Persepsi Manfaat (post)		Total
	Sedang	Tinggi	
<b>Sedang</b>	78 (29,0%)	57 (21,2%)	135 (50,2%)
<b>Tinggi</b>	10 (3,7%)	124 (46,1%)	134 (49,8%)
<b>Total</b>	88 (32,7%)	181 (67,3%)	269 (100,0%)

Tabel 5 menunjukkan beberapa responden mengalami peningkatan persepsi mengenai manfaat eksosom (21,2% dari sedang menjadi tinggi), tetapi ada sedikit yang mengalami penurunan (3,7% dari tinggi menjadi sedang).

### 3.6.4 Persepsi Responden mengenai Kerugian atau Risiko Penggunaan Eksosom

Tabel 6. Persepsi Responden mengenai Risiko Penggunaan Eksosom sebelum dan sesudah Webinar

Persepsi Risiko	$\bar{x} \pm SD$	Median	Min-Maks	Wilcoxon Signed Ranks Test (p)
Pretest	$15,25 \pm 3,44$	15	6 - 24	0,001
Posttest	$14,57 \pm 3,96$	14	6 - 24	
Perubahan	$-0,68 \pm 3,36$	0	(-15) - (+17)	

Hasil analisis menunjukkan adanya perubahan persepsi responden mengenai risiko penggunaan eksosom sesudah mengikuti Webinar. Sekalipun terdapat responden yang mengalami peningkatan skor, secara umum didapatkan penurunan persepsi mengenai risiko penggunaan eksosom yang bermakna ( $p=0,001$ ).

Dalam kategori, didapatkan hasil sebagai berikut.

Tabel 7. Kategori Persepsi Responden mengenai Risiko Penggunaan Eksosom sebelum dan sesudah Webinar

Persepsi Risiko (Pre)	Persepsi Risiko (Post)			Total
	Rendah	Sedang	Tinggi	
<b>Rendah</b>	29 (10,8%)	18 (6,7%)	1 (0,4%)	48 (17,8%)
<b>Sedang</b>	35 (13,0%)	146 (54,3%)	10 (3,7%)	191 (71,0%)
<b>Tinggi</b>	5 (1,9%)	14 (5,2%)	11 (4,1%)	30 (11,2%)
<b>Total</b>	69 (25,7%)	178 (66,2%)	22 (8,2%)	269 (100,0%)

### 3.6.5. Sikap Responden terhadap Penggunaan Eksosom

Tabel 8. Sikap Responden terhadap Penggunaan Eksosom sebelum dan sesudah Webinar

Sikap terhadap Penggunaan Eksosom	$\bar{x} \pm SD$	Median	Min-Maks	Wilcoxon Signed Ranks Test (p)
Pretest	$6,14 \pm 0,96$	6	4 - 8	0,001
Posttest	$6,35 \pm 1,04$	6	4 - 8	
Perubahan	$0,21 \pm 0,97$	0	(-3) - (+4)	

Hasil analisis menunjukkan adanya perubahan sikap responden terhadap penggunaan eksosom sesudah mengikuti Webinar. Sekalipun terdapat responden yang mengalami penurunan skor, secara umum didapatkan peningkatan skor sikap responden terhadap penggunaan eksosom yang bermakna ( $p=0,001$ ).

Dalam kategori, didapatkan hasil sebagai berikut.

Tabel 9. Kategori Sikap Responden terhadap Penggunaan Eksosom sebelum dan sesudah Webinar

Sikap (Pre)	Sikap (Post)			Total
	Kurang mendukung	Cukup mendukung	Mendukung	
<b>Kurang mendukung</b>	4 (1,5%)	6 (2,2%)	3 (1,1%)	13 (4,8%)
<b>Cukup mendukung</b>	8 (3,0%)	137 (50,9%)	45 (16,7%)	190 (70,6%)
<b>Mendukung</b>	1 (0,4%)	16 (5,9%)	49 (18,2%)	66 (24,5%)
<b>Total</b>	13 (4,8%)	159 (59,1%)	97 36,1 %)	269(100,0%)

3.6.6. Kesediaan Responden untuk Menggunakan atau Menyarankan Penggunaan Eksosom

Tabel 10. Kesediaan Responden untuk Menggunakan atau Menyarankan Penggunaan Eksosom sebelum dan sesudah Webinar

Kesediaan Penggunaan	$\bar{x} \pm SD$	Median	Min-Maks	Wilcoxon Signed Ranks Test (p)
Pretest	$9,50 \pm 1,37$	9	5 - 12	0,000
Posttest	$9,90 \pm 1,53$	9	3 - 12	
Perubahan	$0,40 \pm 1,24$	0	(-3) - (+4)	

Hasil analisis menunjukkan adanya perubahan kesediaan responden untuk menggunakan atau menyarankan penggunaan eksosom sesudah mengikuti Webinar. Sekalipun terdapat responden yang mengalami penurunan skor, secara umum

didapatkan peningkatan kesediaan responden untuk menggunakan atau menyarankan penggunaan eksosom yang bermakna ( $p=0,000$ ).

Dalam kategori, didapatkan hasil sebagai berikut.

Tabel 11. Kategori Kesediaan Responden untuk Menggunakan atau Menyarankan Penggunaan Eksosom sebelum dan sesudah Webinar

Kesediaan (Pre)	Kesediaan (Post)			Total
	Kurang bersedia	Cukup bersedia	Bersedia	
<b>Kurang bersedia</b>	3 (1,1%)	1 (0,4%)	0 (0,0%)	4 (1,5%)
<b>Cukup bersedia</b>	1 (0,4%)	150 (55,8%)	44 (16,4%)	195 (72,5%)
<b>Bersedia</b>	0 (0,0%)	12 (4,5%)	58 (21,6%)	70 (26,0%)
<b>Total</b>	4 (1,5%)	163 (60,6%)	102 (37,9%)	269 (100,0%)

## BAB 4 KESIMPULAN DAN SARAN

Pada penelitian yang berlangsung di ITB, eksosom berhasil diisolasi dari hWJ-MSC yang diberi pretreatment dengan LAA dengan bentuk bulat dan ukuran sekitar 100  $\mu\text{m}$ . Penanda diferensiasi hWJ-MSC menjadi kondrosit dan osteosit dapat diamati sejak hari ketujuh perlakuan. Penelitian selanjutnya adalah mengaplikasikan berbagai variasi konsentrasi eksosom yang diisolasi ke dalam sel hasil diferensiasi. Webinar nasional tentang pengenalan eksosom dan aplikasinya telah dilaksanakan dan dari webinar tersebut didapatkan data pemahaman masyarakat yang akan diolah oleh peneliti di UNAIR. Pengetahuan responden sebelum sosialisasi cukup baik, demikian pula sesudah sosialisasi. Sosialisasi yang dilakukan meningkatkan persepsi responden mengenai manfaat eksosom; menurunkan persepsi responden mengenai kerugian atau risiko penggunaan eksosom; meningkatkan dukungan responden terhadap penggunaan eksosom; dan meningkatkan kesediaan responden untuk menggunakan atau menganjurkan penggunaan eksosom. Penelitian di IPB telah menghasilkan exosome-like dari kalus jahe, kencur dan kina. Hasil penelitian di UGM dan IPB telah menghasilkan publikasi dalam tahapan published (Q2 dan Q1), sedangkan penelitian di ITB sudah dalam status accepted di jurnal Q2.

## DAFTAR PUSTAKA

Akuma, P., Okagu, O. D. and Udenigwe, C. C. (2019) 'Naturally Occurring Exosome Vesicles as Potential Delivery Vehicle for Bioactive Compounds', *Frontiers in sustainable food systems*, 3(April), pp. 1–8. doi: 10.3389/fsufs.2019.00023.

Gurunathan, S. *et al.* (2019) 'Review of the Isolation , Characterization , Biological Function , and Multifarious Therapeutic Approaches of Exosomes Review of the Isolation , Characterization , Biological Function , and Multifarious Therapeutic Approaches of Exosomes', (April). doi: 10.3390/cells8040307.

Popowski, K. *et al.* (2020) 'Exosome therapeutics for lung regenerative medicine', *Journal of Extracellular Vesicles*. Taylor & Francis, 9(1). doi: 10.1080/20013078.2020.1785161.

Zhang, L. *et al.* (2020) 'Exosomes from bone marrow mesenchymal stem cells enhance fracture healing through the promotion of osteogenesis and angiogenesis in a rat model of nonunion', *Stem Cell Research & Therapy*, 9, pp. 1–15.

Zhang, Y. *et al.* (2019) 'Exosomes : biogenesis , biologic function and clinical potential', *Cell & Bioscience*. BioMed Central, 9(19), pp. 1–18. doi: 10.1186/s13578-019-0282-2.

Ali AMA, El-Nour MEM; Yagi SK. 2016. Callus induction, direct and indirect organogenesis of ginger (*Zingiber officinale* Rosc). *Afr J Biotech*, 15(38): 2106-2114.

Kalarikkal SP; Prasad D; Kasiappan R; Chaudhari SR; Sundharam GM. 2020. A cost-effective polyethylene glycol-based method for the isolation of functional edible nanoparticles from ginger rhizomes. *Sci Rep*, 10: 4456-4468.

Miri, SM. 2020. Micropropagation, callus induction and regeneration of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.). *Open Agric*, 5: 75-84.

Perut F; Roncuzzi L; Avnet S; Massa A; Zini N; Sabbadini N; Giampieri F; Mezzetti B; Baldini N. 2021. Strawberry-derived exosome-like nanoparticles prevent oxidative stress in human mesenchymal stromal cells. *Biomolecules*, 11: 87-102.

Pratiwi DR; Sumaryono; Sari PT; Ratnadewi D. 2018. Cinchona cells performance in *in vitro* culture: quinine alkaloid production with application of different elicitors. The 4th International Conference on Agricultural and Biological Sciences (ABS 2018). 2018 Jun 26-29; Hangzhao, RRChina. IOP Conf. Series: Earth and Environmental Sci 1e2n3c4e, 185: 012029.519doi:10.1088/1755-1315/185/1/012029.

Umar AH. 2021. Potensi tumbuhan Curculigo spp. sebagai antidiabetes: pendekatan berbasis anatomi dan histokimia,metabolomik, bioinformatika, dan bioteknologi [disertasi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.

Woith E; Melzig MF. 2019. Extracellular vesicles from fresh and dried plants—simultaneous purification and visualization using gel electrophoresis. *Int J Mol Sci.* 20: 357-365.

Zhang M; Viennois E; Prasad M; Zhang Y; Wang L; Zhang Z; Moon KH; Xiao B; Xu C; Srinivasan S; Merlin D. 2016. Edible ginger derived nanoparticles: a novel therapeutic approach for the prevention and treatment of inflammatory bowel disease and colitis-associated cancer. *Biomaterials*, 101: 321-340.

## **LAMPIRAN**

Lampiran meliputi:

1. Formulir Evaluasi Atas Capaian Luaran Kegiatan
2. Bukti capaian luaran
3. Laporan Kemajuan
4. Dokumentasi koordinasi dan kegiatan
5. Catatan Harian Penelitian
6. Laporan Rekapitulasi Penggunaan Dana

## FORMULIR EVALUASI ATAS CAPAIAN LUARAN KEGIATAN

Peneliti Utama : Dr Anggraini Barlian  
Perguruan Tinggi : Institut Teknologi Bandung  
Judul : Aplikasi Eksosom dari Sel Punca Mesenkimal untuk Terapi Berbasis Tanpa Sel  
Tahun Kegiatan 2021

Luaran yang direncanakan dan capaian tertulis dalam proposal awal sd 2022:

No	Luaran yang Direncanakan	Capaian (%)
1	Publikasi jurnal internasional minimal Q2	100
2	Publikasi ilmiah internasional terindeks Scopus	100
3	Keterlibatan peneliti ke-4 PT pada publikasi	100

CAPAIAN (Lampirkan bukti-bukti luaran )

### 1. PUBLIKASI JURNAL ILMIAH INTERNASIONAL

	Keterangan
ARTIKEL JURNAL KE-1*	
Nama jurnal yang dituju	Journal of Food Science
Klasifikasi jurnal	
Q1/Q2/Terindeks Scopus	Q1
Judul artikel	<i>Plant-derived exosome-like nanoparticles: A concise review on its extraction methods, content, bioactivities, and potential as functional food ingredient</i>
Status naskah (diberi tanda ✓)	
- Draf artikel	
- Submitted	
- Under Review	
- Accepted	
- Published	V
ARTIKEL JURNAL KE-2*	
Nama jurnal yang dituju	Future Science OA
Klasifikasi jurnal	
Q1/Q2/Terindeks Scopus	Q2
Judul artikel	<i>Challenges and strategy in treatment with exosome for cell free based tissue engineering in dentistry</i>
Status naskah (diberi tanda ✓)	
- Draf artikel	
- Submitted	
- Under Review	
- Accepted	V
- Published	
ARTIKEL JURNAL KE-3*	
Nama jurnal yang dituju	Future Science OA
Klasifikasi jurnal	
Q1/Q2/Terindeks Scopus	Q2
Judul artikel	<i>Therapeutic strategies of extracellular vesicles for the treatment of cartilage injuries</i>
Status naskah (diberi tanda ✓)	
- Draf artikel	
- Submitted	
- Under Review	

- Accepted	
- Published	V

\* Jika masih ada artikel ke-2 dan seterusnya, uraikan pada lembar tambahan

## 2. PEMBICARA PADA PERTEMUAN ILMIAH INTERNASIONAL/KEYNOTESPEAKER

	<b>Keterangan</b>
Judul Makalah	
Nama Pertemuan Ilmiah	
Q1/Q2/Terindeks Scopus	
Tempat Pelaksanaan	
Status naskah (diberi tanda √)	
- Draft artikel	
- Submitted	
- Under review	
- Accepted	
- Published	

## 3. KETERLIBATAN PENELITI KE-4 PT PADA PUBLIKASI

ARTIKEL ILMIAH 1	(Uraikan secara singkat peran peneliti ke-4 PT)
	Semua peneliti terlibat pada proses diskusi maupun penyusunan semua artikel ilmiah.-Publikasi Mitra 2 telah terbit pada jurnal Q1 dan Q1 serta 1 jurnal accepted (Q2).

Jika luaran yang direncanakan tidak tercapai, uraikan alasannya:

Pandemi memiliki dampak yang nyata pada penelitian ini. Dengan sumber daya dan waktu yang terbatas kami berusaha semaksimal mungkin melakukan penelitian dan menyusun luarannya. Kami berhasil menyelenggarakan webinar nasional dan sebagian luaran penelitian ini masih dalam proses penyusunan.

Bandung, 29 November 2021  
Peneliti Mitra,



Prof. Dr. C. Hanny Wijaya  
NIP. 196004221983032003

## Bukti Luaran



CONCISE REVIEWS & HYPOTHESES IN FOOD SCIENCE | Free Access

### Plant-derived exosome-like nanoparticles: A concise review on its extraction methods, content, bioactivities, and potential as functional food ingredient

Sigit Suharta, Anggraini Barlian, Atik Choirul Hidajah, Hari Basuki Notobroto, Ika Dewi Ana, Susi Indariani, Triati Dewi Kencana Wungu, Christofora Hanny Wijaya

First published: 20 June 2021 | <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15787>

Review

For reprint orders, please contact: [reprints@future-science.com](mailto:reprints@future-science.com)



### Challenges and strategy in treatment with exosomes for cell-free-based tissue engineering in dentistry

Ika Dewi Ana<sup>1</sup>, Anggraini Barlian<sup>2</sup>, Atik Choirul Hidajah<sup>3</sup>, Christofora Hanny Wijaya<sup>4</sup>, Hari Basuki Notobroto<sup>3</sup>& Triati Dewi Kencana Wungu<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Department of Dental Biomedical Sciences, Faculty of Dentistry, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, 55281, Indonesia

<sup>2</sup>School of Life Sciences & Technology, Institut Teknologi Bandung, Bandung, 40132, Indonesia

<sup>3</sup>Department of Epidemiology, Biostatistics, Population Studies, & Health Promotion, Faculty of Public Health, Universitas Airlangga, Surabaya, 60115, Indonesia

<sup>4</sup>Department of Food Science & Technology, Faculty of Agricultural Engineering & Technology, IPB University, Bogor, 16002, Indonesia

<sup>5</sup>Department of Physics, Faculty of Mathematics & Natural Sciences, Institut Teknologi Bandung, Bandung, 40132, Indonesia

\*Author for correspondence: [ikadewiana@uqm.ac.id](mailto:ikadewiana@uqm.ac.id)

In dentistry, problems of craniofacial, osteochondral, periodontal tissue, nerve, pulp or endodontics injuries, and osteoarthritis need regenerative therapy. The use of stem cells in dental tissue engineering pays a lot of increased attention, but there are challenges for its clinical applications. Therefore, cell-free-based tissue engineering using exosomes isolated from stem cells is regarded an alternative approach in regenerative dentistry. However, practical use of exosome is restricted by limited secretion capability of cells. For future regenerative treatment with exosomes, efficient strategies for large-scale clinical applications are being studied, including the use of ceramics-based scaffold to enhance exosome

Prev

Next

Actions

Compose

**From:** Roshaine Wijayatunga  
<onbehalfof@manuscriptcentral.com>  
[Show Details](#)

 [Reply](#)  [Reply All](#)  [Forward](#)

**Future Science OA - Decision on Manuscript  
ID FSOA-2021-0096.R2**

[Fri, Nov 12, 2021 06:52 PM](#)

12-Nov-2021

Dear Dr. Barlian,

It is a pleasure to accept your manuscript entitled "Extracellular Vesicles-A Promising Cell-Free Therapy for Cartilage Repair" in its current form for publication in Future Science OA. As a next step, please contact your institutional press office to see if they plan any

**Dokumentasi Koordinasi dan Kegiatan**

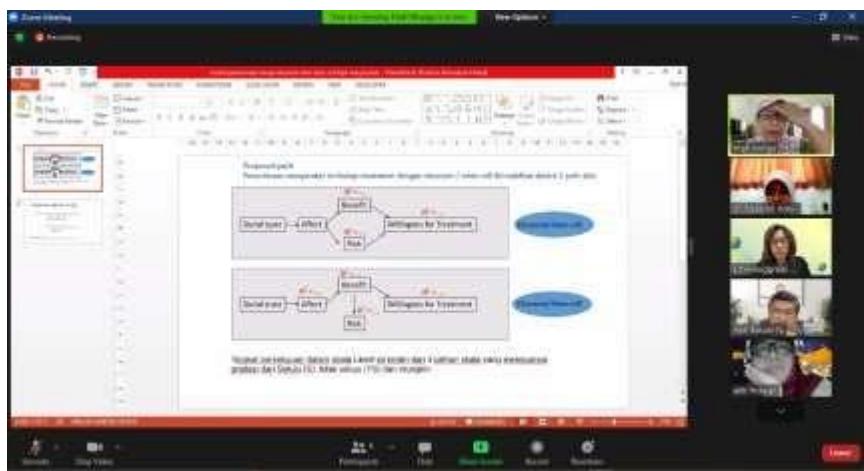
Koordinasi daring 25 Januari 2021 :



Koordinasi daring 31 Januari 2021 :



Koordinasi daring 5 Juni 2021 :



**Rekapitulasi Penggunaan Dana Penelitian (100%)**

**Laporan Rekapitulasi Penggunaan Dana  
Riset Kolaborasi Indonesia-World Class University (RKI-WCU)  
Tahun Anggaran 2021**

Judul Penelitian : Aplikasi Eksosom dari Sel Punca Mesenkimal untuk Terapi Berbasis Sel  
 Peneliti Utama / Mitra : Prof. Dr. Ir. C. Hanny Wijaya, MAg  
 NIDN : 0022046010  
 Fakultas : Fakultas Teknologi Pertanian (FATETA) IPB

Uang Yang diterima  
 Jumlah Rp 50.000.000,-  
 Penggunaan Rp 50.000.000,-  
 Sisa Rp 0,-

**I. Rekapitulasi Biaya**

No	Uraian	Jumlah	
		Rupiah	%
1	Honorarium	13.100.000	26%
2	Bahan Habis Pakai	26.500.000	53%
3	Perjalanan	4.400.000	9%
4	Sewa	6.000.000	12%
	<b>Jumlah</b>	<b>100.000.000</b>	<b>100%</b>

**II. Rincian Biaya**

1. Honorarium

No	Bahan	Volume	Biaya Satuan (Rp)	Biaya (Rupiah)
1.	Asisten Peneliti	440 oj	25.000	11.000.000
2.	Tenaga Administrasi	7 OB	300.000	2.100.000
	<b>Jumlah Biaya</b>			<b>13.100.000</b>

2. Bahan Habis Pakai

No	Jenis	Volume	Biaya Satuan (Rp)	Biaya (Rupiah)
1.	ATK	1 paket	600.000	600.000
2.	Bahan Habis Pakai	1 paket	25.900.000	25.900.000
	<b>Jumlah Biaya</b>			<b>26.500.000</b>

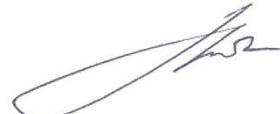
3. Perjalanan

No	Tujuan	Volume	Biaya Satuan (Rp)	Biaya (Rupiah)
1.	Transportasi	10 ok	100.000	1.000.000
2.	Perjalanan Bogor-Bandung pp	1 paket	3.400.000	3.400.000
	<b>Jumlah</b>			<b>4.400.000</b>

4. Sewa

No	Uraian Kegiatan	Volume	Biaya Satuan (Rp)	Biaya (Rupiah)
1.	Penggunaan peralatan laboratorium	1 paket	1.500.000	1.500.000
2.	Publikasi	1 paket	4.500.000	4.500.000
	<b>Jumlah</b>			<b>6.000.000</b>

Bogor, 15 November 2021  
 Peneliti Utama,



(Prof. Dr. Ir. C. Hanny Wijaya, MAg)  
 NIP 196004221983032003

## **SURAT PERNYATAAN TANGGUNG JAWAB BELANJA**

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Prof. Dr. Ir. C. Hanny Wijaya, MAg

Alamat : Taman Cibalagung Blok N No 10, Bogor

berdasarkan Surat Keputusan Nomor 58 Tahun 2021 Tanggal 18 Februari 2021 dan Perjanjian/Kontrak Nomor 1078/IT3.L1/PN/2021 mendapatkan anggaran penelitian Aplikasi Eksosom dari Sel Punca Mesenkimal untuk Terapi Berbasis Sel sebesar 50.000.000,-

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Biaya kegiatan penelitian dibawah ini meliputi :

No	Uraian	Jumlah
1.	Honorarium	13.100.000
2.	Bahan Habis Pakai	26.500.000
3.	Perjalanan	4.400.000
4.	Sewa	6.000.000
	JUMLAH	50.000.000

2. Jumlah uang tersebut pada angka 1, benar-benar dikeluarkan untuk pelaksanaan kegiatan penelitian dimaksud.

Demikian surat pernyataan ini dibuat dengan sebenarnya.

Bogor, 15 November 2021



Prof. Dr. Ir. C. Hanny Wijaya, MAg

