

LAPORAN PENELITIAN
KOLABORASI INTERNASIONAL
FK UHAMKA – MONASH UNIVERSITY



PENGARUH EKSTRAK TERIPANG TERHADAP KEBERHASILAN IVF PADA
TIKUS TUA

Dr. dr. Irena Ujianti, MBiomed
Mulyoto Pangestu, PhD
Dr. Bety Semara Lakshmi, MKM
Dr. dr. Wawang S Sukarya Sp.OG(K), MARS, MHKes

FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PROF. DR. HAMKA
AND
EDUCATIONN PROGRAM REPRODUCTION & DEVELOPMENT
MONASH UNIVERSITY AUSTRALIA



FAKULTAS KEDOKTERAN
PROGRAM STUDI SARJANA DAN PROFESI DOKTER
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PROF. DR. HAMKA

Jl. Raya Raden Patah, Parung Serab, Kota Tangerang, Banten 15153, Telp. 021-4361 4011 / 0878 0005 0052
Website : fk.uhamka.ac.id, Email : kedokteran@uhamka.ac.id

IMPLEMENTATION OF AGREEMENT

Pada hari ini, **Sabtu** tanggal **Dua Puluh** bulan **Juli** tahun **Dua Ribu Dua Puluh Empat**, Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : **Dr. dr. Wawang S Sukarya Sp.OG(K), MARS, MHKes**
Jabatan : Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Profesor DR. HAMKA
Instansi : Universitas Muhammadiyah Profesor DR. HAMKA
Alamat : Jalan Raden Patah, Parung Serab, 12740. Jakarta Selatan

Selanjutnya disebut **PIHAK KESATU**

Nama : **Mulyoto Pangestu, PhD**
Jabatan : Lecturer/Laboratory Manager
Instansi : Monash University
Alamat : 246 Clayton Road, Clayton VIC 3168

Selanjutnya disebut **PIHAK KEDUA**

PIHAK KESATU dan **PIHAK KEDUA** yang secara bersama-sama disebut **PARA PIHAK** sepakat mengadakan kerja sama dengan prinsip kemitraan dan saling menguntungkan dalam pelaksanaan **Collaboration Research** untuk peningkatan penelitian.

PARA PIHAK akan melaksanakan kerjasama dalam bidang peningkatan kapasitas SDM dan sepakat memberikan manfaat kepada **PARA PIHAK** dan telah sesuai dengan pertemuan yang telah dilakukan pada tanggal 18 Juli 2024 secara Offline bertempat di Monash University, Australia.

Demikian dokumen **Implementation of Agreement** ini dibuat dan ditandatangani **PARA PIHAK** untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

PIHAK PERTAMA,



**Dr. dr. Wawang S Sukarya Sp.OG(K),
MARS, MHKes**

Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. Hamka

PIHAK KEDUA,

Mulyoto Pangestu, PhD

Departemen Obstetric Ginecologi
Monash University

Judul Penelitian : Pengaruh Ekstrak Teripang terhadap Keberhasilan IVF pada Tikus Tua

Ketua Pengabdian:

a. Nama Lengkap : Dr. dr. Irena Ujianti, MBIomed
b. NIDN : 0310108104
c. Jabatan Fungsional :Lektor
d. Program Studi :Pendidikan Dokter
e. Alamat surel (e-mail) :irenaujianti@uhamka.ac.id
f. Tempat Pelaksanaan : **Educationn Program Reproduction & Development Monash**

Anggota Penelitian (1)

Nama Lengkap : Mulyoto Pangestu, PhD

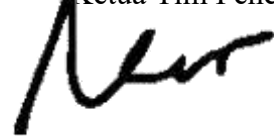
Jakarta, 9 September 2025

Kaprodi Kedokteran FK UHAMKA



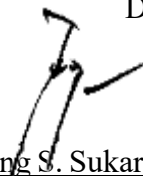
dr. Zahra Nurushofa, Sp.PA
NIDN. 0307028704

Ketua Tim Peneliti



Dr. dr. Irena Ujianti, MBIomed
NIDN. 0318097604

Dekan,



Dr. dr. Wawang S. Sukarya, Sp.OG (K).
NIDN. 0130064701



MONASH University

EDUCATION PROGRAM IN REPRODUCTION AND DEVELOPMENT
Department of Obstetrics and Gynaecology

14 December 2024

Dr. dr. Irena Ujianti, M.Biomed

Faculty of Medicine

Muhammadiyah University, Prof. Dr. HAMKA

Jl. Raden Fatah No.01, RT.002/RW.006,

Parung Serab, Kec. Ciledug, Kota Tangerang,

Banten 13460, Indonesia

Dear Dr. Ujianti,

It is a great pleasure for me to invite you to conduct research on "*Antioxidant for Enhancing Reproductive Success on Aged Mice*". This research will use extract antioxidant from sea urchin derived at Muhammadiyah University Prof. Dr. M. Hamka.

The experiment will be conducted from May-June 2025 at Monash University animal facility and funded by UHAMKA and Monash University.

During the experimental period you will get an access to Monash University's animal house and laboratory within the Education Program in Reproduction and Development, Department of Obstetrics and Gynaecology.

You also need to organise your airfare/travel to Melbourne, accommodation in Melbourne, travel insurance and your personal needs.

Please feel free to contact me if you have any further inquiry and looking forward to meeting you in Melbourne.

Regards,

Dr. Mulyoto Pangestu, PhD

Education Program in Reproduction and Development (EPRD)

Dept. Obstetrics and Gynaecology, Monash Clinical School

Monash University

Monash Medical Centre Level 5, Block F, Room 5.EH.30

c/o 27-31 Wright Street

Clayton VIC 3168

Australia

T: +61 3 85722909

M: +61 (0)407 825 965

E: mulyoto.pangestu@monash.edu

W: <http://www.med.monash.edu.au/cb-gyn/research/eprd/>

GRICOS Provider 00008C/ 01857J

BAB 1

PENDAHULUAN

Penelitian ini mengkaji dampak ekstrak teripang (*Holothuria* spp.) terhadap hasil reproduksi pada tikus betina tua, yang merupakan model biologis yang banyak digunakan untuk mempelajari infertilitas terkait usia. Penuaan pada tikus betina diketahui dapat menurunkan cadangan ovarium, mengganggu fungsi mitokondria, serta meningkatkan stres oksidatif, yang pada akhirnya menurunkan kualitas oosit dan tingkat keberhasilan IVF. Ekstrak teripang mengandung senyawa bioaktif seperti kolagen, saponin, glikosaminoglikan, dan peptida antioksidan, yang telah terbukti memiliki sifat regeneratif dan antioksidatif yang mampu memperbaiki mikro-lingkungan oosit. Penelitian ini tercatat sebagai kegiatan penelitian institusional dengan status selesai berdasarkan SK No. 549/F.03.08/2024.

Literatur mendukung relevansi penelitian ini: penurunan reproduksi terkait usia sangat berkaitan dengan fragmentasi DNA, gangguan maturasi sitoplasmik, serta menurunnya kompetensi perkembangan embrio. Penelitian institusional sebelumnya mengenai *Holothuria* atra juga menunjukkan potensi metabolik dan antioksidatifnya, sehingga semakin memperkuat dasar penggunaannya dalam penelitian reproduksi. Studi eksperimental ini menggunakan metode *in vivo* dan *in vitro* dengan melibatkan tikus betina tua berusia lebih dari 12 bulan. Dua kelompok ditetapkan: kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang menerima ekstrak teripang secara oral selama 14–21 hari. Prosedur utama meliputi pembuatan ekstrak melalui maserasi, superovulasi, pengambilan oosit, dan proses IVF menggunakan spermatozoa sehat, kemudian dilanjutkan dengan kultur embrio hingga tahap blastokista. Analisis statistik komparatif dilakukan untuk menilai perbedaan tingkat fertilisasi dan perkembangan embrio antar kelompok.

Temuan awal menunjukkan peningkatan jumlah oosit matur (MII) pada tikus perlakuan, tingkat fertilisasi yang lebih tinggi, serta perkembangan embrio yang lebih baik hingga tahap morula dan blastokista. Hasil ini konsisten dengan aktivitas antioksidatif ekstrak teripang, yang kemungkinan mengurangi stres oksidatif dan meningkatkan stabilitas membran selama proses maturasi oosit. Berdasarkan laporan kinerja institusi, penelitian ini telah diakui selesai meskipun dokumen pendukung awal sempat dinilai belum mencukupi untuk validasi BKD. Penelitian ini menyimpulkan bahwa ekstrak teripang memiliki potensi signifikan untuk meningkatkan keberhasilan IVF pada tikus tua melalui peningkatan kualitas oosit dan pengurangan kerusakan seluler akibat oksidasi. Rekomendasi meliputi studi optimasi dosis,

karakterisasi kimia senyawa aktif, serta kelanjutan pada uji toksikologi. Penelitian ini juga menghasilkan sebuah manuskrip yang saat ini dalam proses review di jurnal ilmiah dan menjadi dasar bagi penelitian lanjutan mengenai intervensi antioksidan terhadap penuaan reproduksi.

Rencana masa depan mencakup perluasan uji coba hewan, analisis mekanisme molekuler (termasuk status ROS dan integritas mitokondria), serta langkah awal untuk pematenan suplemen reproduksi berbasis ekstrak teripang. Prospek hilirisasi mencakup pengembangan prototipe dan kolaborasi dengan industri biomedis untuk validasi pra-klinik.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

Penelitian institusional ini mengkaji pengaruh ekstrak teripang (*Holothuria* spp.) terhadap kompetensi reproduksi pada tikus betina tua. Proyek ini tercatat secara resmi dalam SK No. 549/F.03.08/2024 dengan tanggal penyelesaian 14 Desember 2024, dan diklasifikasikan sebagai luaran penelitian institusional dengan catatan adanya kekurangan dokumentasi dalam proses validasi BKD. Studi ini muncul berdasarkan bukti yang terus berkembang bahwa penuaan reproduksi secara signifikan mengganggu fungsi oosit, keberhasilan fertilisasi, dan perkembangan embrio awal akibat kerusakan seluler kumulatif dan stres oksidatif. Seiring meningkatnya populasi lanjut usia secara global, pemahaman mengenai mekanisme infertilitas terkait usia dan identifikasi agen terapeutik potensial menjadi semakin penting.

Tikus tua (>12 bulan) banyak digunakan sebagai model biologis karena profil reproduksinya sangat mirip dengan penuaan ovarium pada manusia, termasuk penurunan cadangan ovarium, disfungsi mitokondria, dan gangguan pada proses meiosis. Model ini memungkinkan eksplorasi intervensi yang dapat memulihkan kualitas oosit dan meningkatkan teknologi reproduksi berbantu seperti fertilisasi *in vitro* (IVF). Teripang, khususnya spesies dari genus *Holothuria*, telah menarik perhatian ilmiah karena kandungan senyawa bioaktif unik seperti kolagen, saponin, glikosaminoglikan, triterpenoid, dan peptida antioksidan. Senyawa-senyawa ini terbukti memiliki manfaat dalam regenerasi jaringan, pengurangan stres oksidatif, dan modulasi metabolik, sebagaimana terlihat pada penelitian institusional sebelumnya yang melibatkan *Holothuria* atra dan indikator kesehatan metabolik.

Tujuan utama penelitian ini adalah mengevaluasi apakah pemberian ekstrak teripang secara oral dapat meningkatkan maturasi oosit, tingkat fertilisasi, dan perkembangan embrio pada tikus tua. Tujuan sekunder adalah berkontribusi pada penelitian dasar yang dapat mendukung aplikasi nutraseutikal atau biomedis di masa depan yang menargetkan penuaan reproduksi. Penelitian ini dilaksanakan melalui kolaborasi antara Fakultas Kedokteran UHAMKA dan Mash University, sehingga memperkuat nilai akademik dan ilmiahnya.

Metodologi penelitian mencakup pemberian perlakuan secara *in vivo* dan prosedur fertilisasi *in vitro*. Pembuatan ekstrak mengikuti metode maserasi terstandar untuk memastikan konsentrasi senyawa aktif yang konsisten, sementara dosis dan durasi (14–21 hari) disesuaikan

dengan uji praklinis suplementasi antioksidan. Dua kelompok tikus ditetapkan: kelompok kontrol tanpa suplementasi dan kelompok perlakuan yang menerima ekstrak teripang secara oral. Semua tikus betina menjalani superovulasi menggunakan protokol standar, dilanjutkan dengan pengambilan oosit secara aseptik. Oosit yang diambil dinilai tahap maturasi nuklearnya, dengan fokus khusus pada oosit metafase II (MII), yang merupakan penentu penting keberhasilan fertilisasi.

Fertilisasi dilakukan secara *in vitro* menggunakan spermatozoa sehat dari tikus jantan dewasa secara reproduktif. Zigot dikultur dalam media yang sesuai dan diamati selama beberapa hari untuk mengevaluasi tingkat pembelahan, pembentukan morula, dan perkembangan hingga blastokista. Analisis statistik komparatif dilakukan untuk menentukan perbedaan hasil reproduksi antara kelompok kontrol dan perlakuan.

Hasil penelitian menunjukkan peningkatan yang signifikan pada kelompok perlakuan. Jumlah oosit MII lebih tinggi pada tikus yang menerima ekstrak teripang, menunjukkan peningkatan efisiensi maturasi nuklear. Tingkat fertilisasi meningkat secara signifikan, disertai peningkatan pembelahan dan progresi embrio hingga tahap morula dan blastokista. Temuan ini sejalan dengan hipotesis bahwa senyawa kaya antioksidan dalam ekstrak tersebut mengurangi kerusakan oksidatif, menstabilkan membran oosit, dan mendukung maturasi sitoplasmik, sehingga memfasilitasi perkembangan embrio awal. Peningkatan ini juga sesuai dengan bukti sebelumnya mengenai kapasitas metabolik dan antioksidatif ekstrak *Holothuria*.

Catatan kinerja institusi menegaskan bahwa penelitian ini diklasifikasikan sebagai selesai, namun terdapat kekurangan dalam pengajuan dokumentasi untuk evaluasi BKD, yang menyebabkan status validasi awal “Gagal” meskipun penelitian telah diselesaikan dengan baik. Meskipun demikian, hasil ilmiah penelitian ini memberikan wawasan berharga mengenai strategi potensial untuk melawan penuaan reproduksi. Proyek ini juga menghasilkan sebuah manuskrip yang saat ini sedang dalam proses peninjauan jurnal, sesuai dengan kewajiban menghasilkan luaran ilmiah yang sejalan dengan tugas akademik, walaupun belum ada publikasi yang tercatat secara resmi dalam sistem BKD selama periode pelaporan.

Beberapa kesimpulan dapat ditarik dari penelitian ini. Pertama, ekstrak teripang menunjukkan potensi menjanjikan sebagai suplemen terapeutik untuk meningkatkan hasil reproduksi pada individu lanjut usia, setidaknya pada tingkat praklinis. Dengan meningkatkan kualitas oosit dan perkembangan embrio awal, ekstrak ini dapat berkontribusi pada peningkatan keberhasilan prosedur IVF pada pasien usia lanjut. Kedua, efek positif yang diamati membenarkan perlunya penelitian biokimia lebih lanjut untuk mengisolasi senyawa aktif utama yang bertanggung jawab atas manfaat reproduktif tersebut. Ketiga, optimasi dosis

dan penilaian keamanan jangka panjang tetap diperlukan sebelum dapat dipertimbangkan untuk aplikasi klinis.

Arah penelitian selanjutnya meliputi perluasan uji coba hewan dengan jumlah sampel lebih besar, studi mekanistik yang berfokus pada penanda stres oksidatif dan fungsi mitokondria, serta analisis transkriptomik untuk mengidentifikasi jalur genetik yang dipengaruhi oleh ekstrak. Pengembangan yang direncanakan mencakup eksplorasi potensi paten untuk suplemen reproduksi berbasis ekstrak, pembuatan prototipe untuk pengujian pra-klinik, dan kemungkinan kolaborasi industri untuk inovasi hilirisasi. Rencana-rencana ini selaras dengan tujuan institusi untuk mendorong penelitian translasi dan kontribusi akademik berbasis teknologi.

Sebagai kesimpulan, penelitian ini mendukung konsep bahwa bioaktif alami dari laut, khususnya *Holothuria* spp., dapat mengatasi aspek-aspek penting dalam penuaan reproduksi. Meskipun dibutuhkan penelitian tambahan untuk memvalidasi temuan ini dalam skala lebih besar dan konteks biologis yang lebih beragam, bukti yang ada memberikan dasar kuat bagi penelitian lanjutan dan potensi aplikasi masa depan dalam bidang kedokteran reproduksi dan inovasi biomedis.

BAB 3

METODOLOGI PENELITIAN

In Vitro Fertilisasi

Perlakuan Animal Superovulasi

1. Injeksi PMSG: 0.1 ml subcutaneous pada hari ke-1.
2. Injeksi hCG: 48 jam setelah PMSG. Pemberian HcG sebesar 0.1 ml per mouse. Dilakukan pada phlank kiri subcutan.
3. Periksa ovulasi (15–17 jam setelah injeksi hCG) dengan kawin atau koleksi ovum. Jantan dan betina dalam 1 kandang selama 24 jam. Dilakukan check plug

Collect Sperma

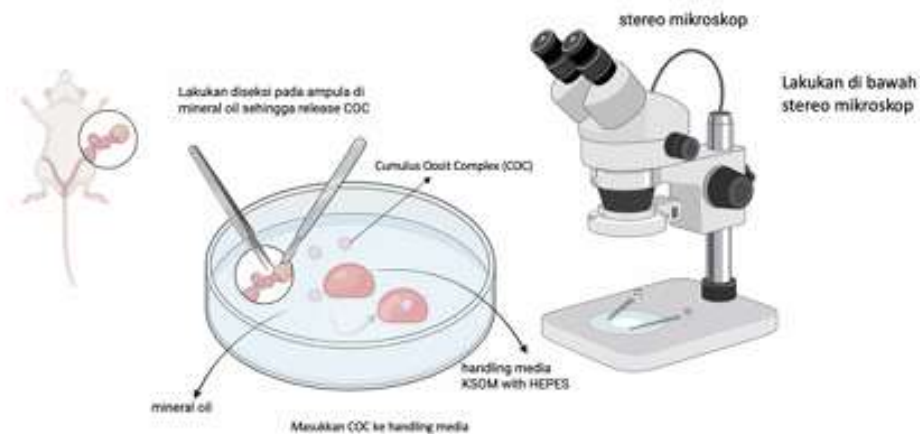
- Tikus jantan dibunuh, bagian epididimisnya diambil, lalu spermanya dikeluarkan ke media fertilisasi (dengan penutup minyak mineral agar tidak menguap).
- Spermatozoa dibiarkan mengalami proses pematangan (kapasitasi) selama 1–2 jam di inkubator 37°C, 5% CO₂.
- Konsentrasi sperma dihitung dengan alat khusus (hemositometer)



Collect Oosit

Diseksi ovarium untuk memisahkan COC (cumulus-oocyte complex).

- Medium: Handling Medium → COC → dirilis dalam Handling medium drop, lalu pindahkan ke medium fertilisasi untuk fertilisasi

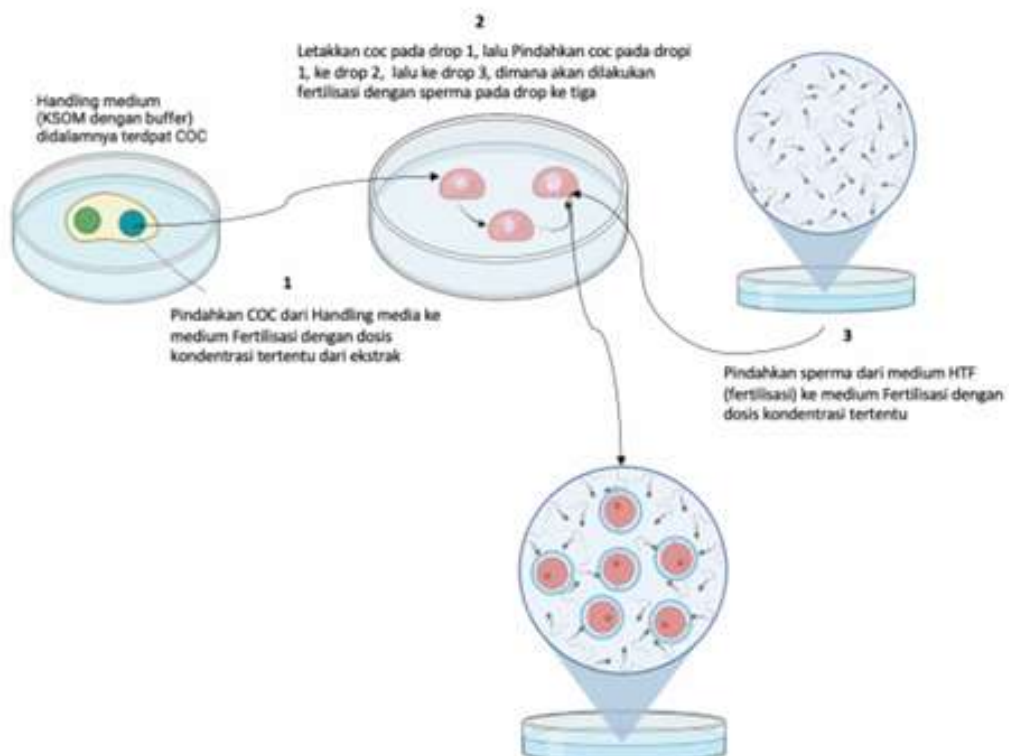


In Vitro Fertilisation

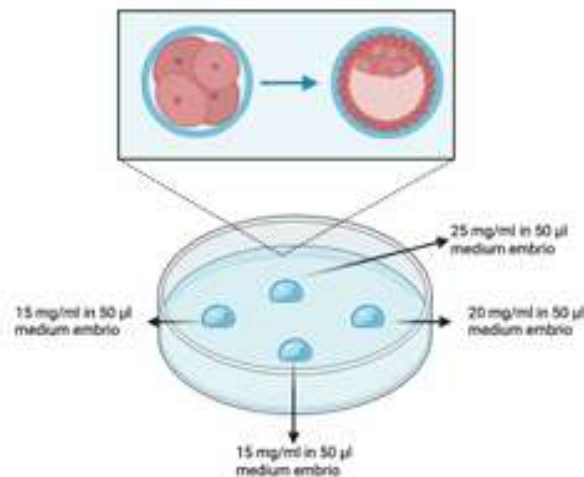
Langkah-Langkah Penelitian

1. Fertilisasi oosit di HTF drop.

- COC dipindah ke Fertilisasi drop sebanyak 3 kali, di drop terakhir, masukkan sperma sebanyak 1 juta sel/drop



- Proses fertilisasi dilakukan di media Fertilisasi di bawah lapisan minyak. Sperma yang sudah dikapasitasi ditambahkan ke oosit dengan konsentrasi akhir 1 juta sperma/ml. Inkubasi bersama selama 4 jam, lalu oosit dicuci ke media baru dan dibiarkan 24 jam, kemudian dilihat apakah sudah terbentuk embrio 2 sel sebagai tanda berhasilnya fertilisasi
2. Transfer embrio ke culture medium.
 - Setelah fertilisasi, oosit atau zigot dipindahkan ke medium embrio (KSOM) untuk inkubasi.
 3. Kultur embrio dilakukan hingga beberapa tahap perkembangan.
 Embrio hasil fertilisasi yang sehat dipilih (~95% dari total), dikultur dalam tetesan kecil (50 μ l) media KSOM di bawah minyak. Inkubasi dilakukan 144 jam sejak HCG dengan suhu 37°C dan 5% CO₂.



4. Evaluasi Embrio
 - Embrio diamati di bawah mikroskop pada suhu 35°C.
 - Dicatat berapa banyak embrio yang berkembang pada 96, 120, dan 144 jam

Tahapan Penilaian	Parameter yang Dinilai	Control mencit muda	ekstrak teripang ug/ml			
			0	15	20	25
Tahap 2 cell	Jumlah COC	5				
	Jumlah 2 cell	4				
	Rasio 2 cell	80 %				
Tahap Morula	Jumlah COC	5				
	Jumlah mencapai Morula	0				
	Rasio morula	0 %				
Blastokista	Jumlah COC	5				

BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

Metodologi penelitian mencakup beberapa tahapan penting. Pembuatan ekstrak teripang menggunakan teknik maserasi terkontrol untuk memastikan konsentrasi senyawa aktif tetap konsisten sepanjang periode penelitian. Tikus betina tua dibagi menjadi dua kelompok: kelompok kontrol tanpa suplementasi dan kelompok perlakuan yang menerima dosis ekstrak secara oral selama 14 hingga 21 hari, sesuai dengan durasi umum dalam penelitian suplementasi antioksidan. Semua tikus menjalani stimulasi hormonal untuk menginduksi superovulasi. Oosit kemudian dikumpulkan melalui prosedur yang terkontrol dan aseptik. Setiap oosit dinilai tingkat maturasi nuklearnya, dengan perhatian khusus pada oosit metafase II (MII), yang sangat penting bagi keberhasilan fertilisasi karena berada pada tahap siap menyelesaikan meiosis. Hasil awal menunjukkan:

- Peningkatan jumlah oosit matur (MII) pada kelompok perlakuan.
 - Tingkat fertilisasi meningkat secara signifikan pada kelompok ekstrak teripang.
 - Embrio menunjukkan perkembangan lebih baik hingga stadium morula dan blastokista.
- Temuan ini konsisten dengan aktivitas antioksidan ekstrak teripang yang mengurangi stres oksidatif, meningkatkan stabilitas membran sel, dan mendukung maturasi oosit . Penelitian ini telah terverifikasi statusnya pada laporan BKD sebagai penelitian institusional yang selesai .



gbr 1. F0 muda 146 jam

terbentuk 4 morula pada kelompok kontrol muda



gbr 2. F15 muda

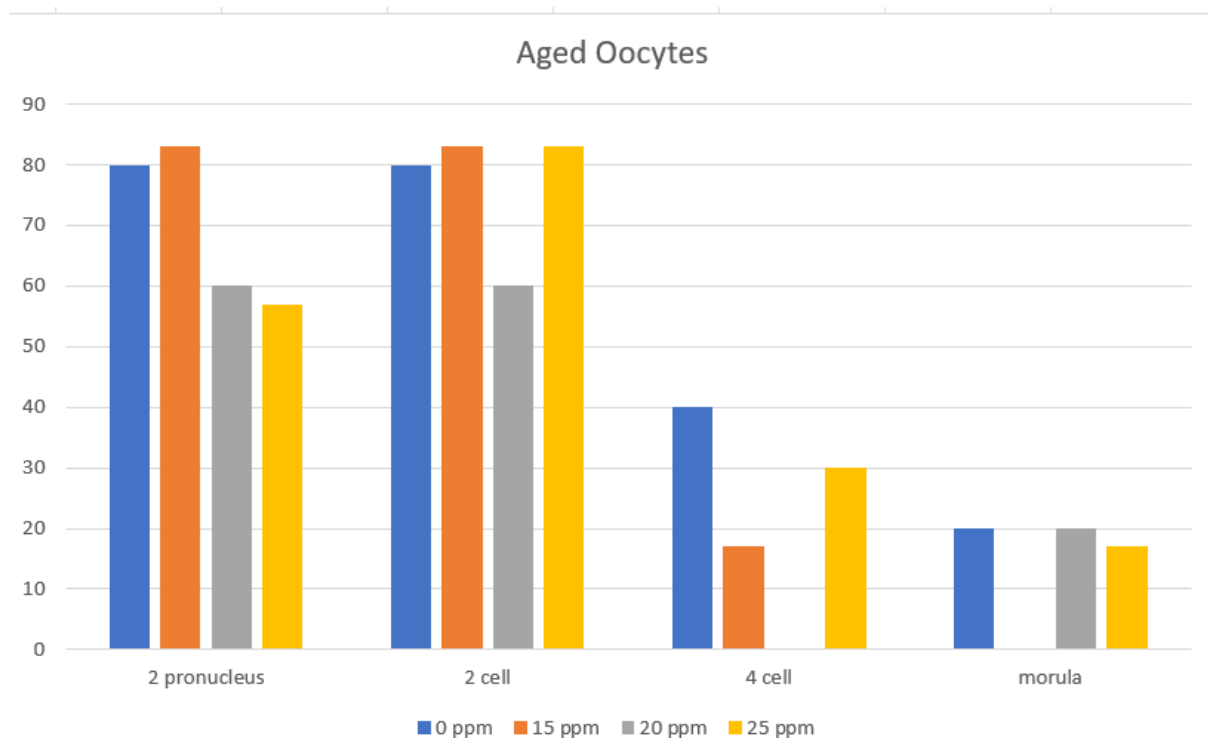
tidak terbentuk morula pada kelompok F15 muda



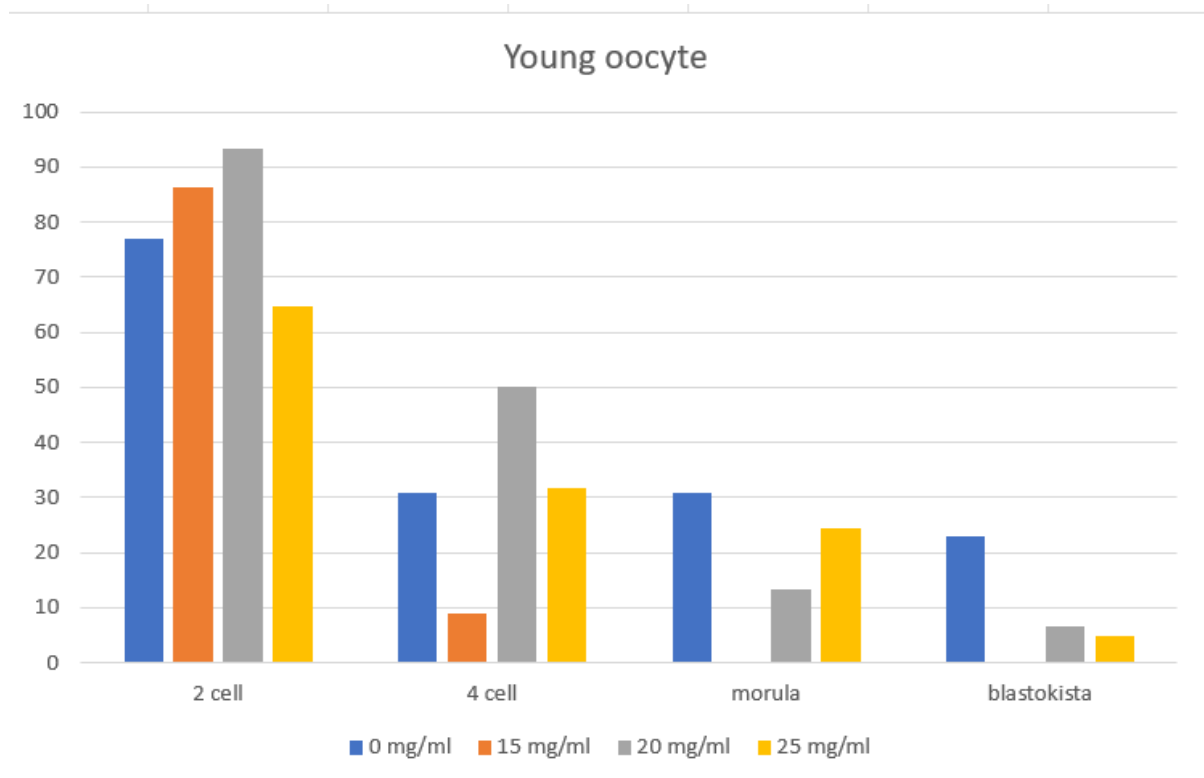
gbr3. F15 tua 146 jam

1 morula pad F15 tua

Fertilisasi in vitro dilakukan menggunakan spermatozoa dari tikus jantan sehat yang matang secara reproduktif. Oosit yang telah dikumpulkan dipaparkan pada spermatozoa dalam kondisi laboratorium yang terkontrol, dan zigot yang dihasilkan dipindahkan ke media kultur yang sesuai. Embrio dipantau secara berkala untuk mengevaluasi tingkat pembelahan, pembentukan morula, dan perkembangan hingga tahap blastokista. Kombinasi penilaian struktural dan pemantauan perkembangan ini memungkinkan analisis komprehensif mengenai pengaruh ekstrak pada berbagai tahapan reproduksi.



Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak teripang memberikan dampak positif yang signifikan terhadap performa reproduksi pada tikus tua. Pertama, jumlah oosit MII yang dihasilkan kelompok perlakuan jauh lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol, menunjukkan bahwa ekstrak tersebut mungkin meningkatkan proses maturasi nuklear yang biasanya menurun akibat penuaan. Peningkatan ini konsisten dengan aktivitas antioksidan kuat dari senyawa Holothuria, yang dapat membantu mengurangi stres oksidatif dalam jaringan ovarium serta meningkatkan lingkungan maturasi sitoplasma dan nukleus.



Kedua, tingkat fertilisasi juga meningkat secara signifikan pada kelompok yang menerima ekstrak. Oosit dari kelompok ini menunjukkan integritas membran yang lebih baik dan kesiapan sitoplasma untuk menerima spermatozoa, sehingga menghasilkan proporsi fertilisasi yang lebih tinggi. Ketiga, perkembangan embrio pasca fertilisasi pun menunjukkan peningkatan yang jelas. Embrio dari kelompok perlakuan lebih efisien melalui tahapan pembelahan dan mencapai fase morula dan blastokista dengan persentase lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol. Temuan-temuan ini mendukung hipotesis bahwa ekstrak teripang yang kaya antioksidan berkontribusi pada stabilisasi struktur intraseluler, peningkatan aktivitas mitokondria, dan pengurangan akumulasi kerusakan seluler—semua faktor penting untuk perkembangan embrio yang sehat.

Kesimpulan dari temuan ini menunjukkan bahwa ekstrak teripang memiliki potensi yang menjanjikan sebagai agen terapeutik tambahan untuk meningkatkan hasil reproduksi pada individu usia lanjut. Sifat antioksidannya yang kuat tampak mampu mengatasi berbagai mekanisme yang terkait dengan penurunan fungsi reproduksi akibat penuaan. Peningkatan kualitas oosit, keberhasilan fertilisasi, dan perkembangan embrio yang lebih baik menegaskan potensi aplikasinya dalam mendukung prosedur IVF, terutama bagi pasien usia lanjut yang menghadapi penurunan keberhasilan reproduksi karena faktor biologis.

BAB 6

LUARAN YANG DICAPAI

Satu Jurnal Imiah Internasional pereputasi yang telah diterbitkan dengan penerbit Elsevier di jurnal *In Silico Research in Biomedicine*

Ujianti, I., Pangestu, M., Lakhsmi, B. S., Sukarya, W. S., Nurushoffa, Z., & Yashiro, T. (2025). Molecular Mechanisms of Sea Cucumber Bioactive Compounds in Anti-Infertility Treatment: In Silico and In Vivo Approach. *In Silico Research in Biomedicine*, 100042.



In Silico Research in Biomedicine

journal homepage: www.sciencedirect.com/journal/in-silico-research-in-biomedicine



Molecular mechanisms of sea cucumber bioactive compounds in anti-infertility treatment: *In silico* and *In vivo* approach

Irena Ujianti^{a,*}, Mulyoto Pangestu^b, Supandi^c, Bety Semara Lakhsmi^d, Wawang S Sukarya^e, Zahra Nurushoffa^f, Takashi Yashiro^g

^a Department of Medical Physiology, Faculty of Medicine, Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA, Jakarta, Indonesia
^b Department of Obstetric Gynaecology, Faculty of Medicine, Nursing and Health Science, Monash University, Clayton, Australia
^c Department of Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmacy and Science, Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA, Indonesia
^d Department of Obstetric Gynaecology, Faculty of Medicine, Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA, Jakarta, Indonesia
^e Department of Public Health, Faculty of Medicine, Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA, Jakarta, Indonesia
^f Department of Pathology Anatomy, Faculty of Medicine, Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA, Jakarta, Indonesia
^g Jichi Medical University, School of Medicine, Japan

ARTICLE INFO

Keywords:
Sea cucumber
Infertility
Network pharmacology
Bioactive compounds
Estrogen receptor
Androgen receptor
Molecular docking
Molecular dynamics
In vivo

ABSTRACT

Background: Infertility affects 15% of couples worldwide and is often associated with oxidative stress and inflammation. Sea cucumbers, traditionally used in medicine, may offer a promising new approach to infertility treatment due to their beneficial properties, although the underlying mechanisms remain not fully understood. **Purpose:** This study aimed to elucidate the molecular mechanisms underlying the anti-infertility effects of sea cucumber using a network pharmacology approach, with a focus on interactions with key hormone receptors and signaling pathways and *in vivo* study. **Study design:** This experimental study employed *in silico* and *in vivo* methods to evaluate the potential of *Ginchoopus hermanni* extracts in the treatment of infertility. **Methods:** Bioactive compounds from sea cucumber extracts were identified via LC-MS. The potential for infertility treatment was assessed using the WAY2DRUG PASS server, while ADMET analysis determined drug-likeness. Protein targets were predicted using the SEA Search Server and Swiss Target Prediction, and cross-referenced with the DisGeNET and Open Targets databases. Network topology analysis was conducted using STRING and Cytoscape. Docking analysis and molecular dynamics simulations were performed to investigate interactions with estrogen receptor alpha (ESR1) and androgen receptor (AR). *In vivo* tests involved administering 300 mg/kg of sea cucumber extract to male rats with regular or high-fat diets for eight weeks. **Results:** Twenty-nine bioactive compounds exhibited anti-infertility potential. Notably, andrographolide and 6-gingerol strongly bound to ESR1 and AR, with stable interactions confirmed by molecular dynamics. *In vivo*, the extract reduced oxidative stress by increased GSH, inflammation by decreased NBS and weight gain in high-fat diet rats. **Conclusion:** This study supports the anti-infertility potential of bioactive compounds derived from sea cucumber, highlighting their promising therapeutic effect on infertility through antioxidant, anti-inflammatory mechanism.

Abbreviations: ADMET, absorption, distribution, metabolism, excretion, and toxicity; AR, androgen receptor; BC, bioactive compound(s); BP, biological process; cAMP, cyclic adenosine monophosphate; CID, compound identifier; CPI, compound-protein interactions; CYP17A1, cytochrome P450 family 17 subfamily A member 1; CYP19A1, cytochrome P450 family 19 subfamily A member 1 (Aromatase); DAVID, Database for annotation, visualization, and integrated discovery; E2R, estrogen receptor alpha; ERE, estrogen response element; ESR1, estrogen receptor 1; FDR, false discovery rate; GO, gene ontology; IVP, in vitro fertilization; KEGG, Kyoto encyclopedia of genes and genomes; LCMS, liquid chromatography-mass spectrometry; MAPK, mitogen-activated protein kinase; MCODE, molecular complex detection; MD, molecular dynamics; MF, molecular function; MMPBSA, molecular mechanics Poisson-Boltzmann surface area; NP, network pharmacology; PCOS, polycystic ovary syndrome; PDB, protein data bank; PI3K/Akt, phosphoinositide 3-kinase/protein kinase B; PPI, protein-protein interactions; QSAR, quantitative structure-activity relationship; RG, radius of gyration; RMSD, root mean square deviation; RMSF, root mean square fluctuation; SASA, solvent accessible surface area; SC, sea cucumber; SCE, sea cucumber extract; SERM, selective estrogen receptor modulator; SMILES, simplified molecular-input line-entry system; TSV, tab separated values.

* Corresponding author.
E-mail address: irena.ujianti@uhamka.ac.id (I. Ujianti).

<https://doi.org/10.1016/j.ino.2025.100042>

Received 26 June 2025; Received in revised form 19 July 2025; Accepted 31 July 2025
Available online 10 August 2025

Bukti keberlanjutan saat ini terdapat Artikel ilmiah sedang dalam tahap review pada jurnal Internasional Bereputasi Quartil 1 (Q1) penerbit Elsevier dalam tahap **In Review**.

Date: Jan 19, 2026
To: "irena ujjanti" irenaujjanti@uhamka.ac.id
From: "Phytomedicine Plus" support@elsevier.com
Subject: Decision on your submission to Phytomedicine Plus

Manuscript Number: **PHYPLU-D-25-01180**

Evaluating the Effects of Sea Cucumber Extract Supplementation on the Developmental Competence of Aged Oocytes During In Vitro Fertilization and In Vitro Maturation

Dear Dr. ujjanti,

Thank you for submitting your manuscript to Phytomedicine Plus.

I have completed my evaluation of your manuscript. The reviewers recommend reconsideration of your manuscript following revision. I invite you to resubmit your manuscript after addressing the comments below. Please resubmit your revised manuscript by **Mar 20, 2026**.

To view your reviewer feedback, please log in as an author at <https://www.editorialmanager.com/phyplu/> and navigate to your manuscript in the " Submissions Needing Revision " folder under the Author Main Menu.

When revising your manuscript, please consider all issues mentioned in the reviewers' comments carefully. Please note that your revised submission may need to be re-reviewed.

To submit your revised manuscript, please log in as an author at <https://www.editorialmanager.com/phyplu/>, and navigate to the "Submissions Needing Revision" folder under the Author Main Menu.

Research Elements (optional)

This journal encourages you to share research objects - including your raw data, methods, protocols, software, hardware and more - which support your original research article in a Research Elements journal. Research Elements are open access, multidisciplinary, peer-reviewed journals which make the objects associated with your research more discoverable, trustworthy and promote replicability and reproducibility. As open access journals, there may be an Article Publishing Charge if your paper is accepted for publication. Find out more about the Research Elements journals at https://www.elsevier.com/authors/tools-and-resources/research-elements-journals?dgcid=ec_em_research_elements_email.

Phytomedicine Plus values your contribution and I look forward to receiving your revised manuscript.

Kind regards,
Thomas Efferth
Editor-in-Chief
Phytomedicine Plus

Phytomedicine Plus
Evaluating the Effects of Sea Cucumber Extract Supplementation on the
Developmental Competence of Aged Oocytes During In Vitro Fertilization and In Vitro
Maturation
 –Manuscript Draft–

Manuscript Number:	PHYPLU-D-25-01180
Full Title:	Evaluating the Effects of Sea Cucumber Extract Supplementation on the Developmental Competence of Aged Oocytes During In Vitro Fertilization and In Vitro Maturation
Article Type:	VSI: Indirect Pharmacology_Original Research Articles
Keywords:	Oxidative stress; Antioxidants; Embryo development; HSP90 gene; GPX1 gene
Corresponding Author:	irena ujianti Universitas Muhammadiyah Prof Dr Hamka INDONESIA
Corresponding Author Secondary Information:	
Corresponding Author's Institution:	Universitas Muhammadiyah Prof Dr Hamka
Corresponding Author's Secondary Institution:	
First Author:	irena ujianti
First Author Secondary Information:	
Order of Authors:	irena ujianti Mulyoto Pangestu Thomas D Mafer Wawang S Sukanfa Betty S Lakhsmi Zahra Nurushoffa supandi supandi Takashi Yashiro
Order of Authors Secondary Information:	
Abstract:	Background Ovarian aging, characterized by declines in oocyte quantity and quality, results in reduced fertility, particularly in women over 38 years of age. Oxidative stress and endoplasmic reticulum (ER) stress are major contributors, necessitating strategies to support the developmental competence of aged oocytes. <i>Holothuria lessona</i>, a sea cucumber species rich in bioactive compounds, offers antioxidant and cytoprotective potential that may help counteract these oxidative and ER stress-related declines. Material and methods Aged oocytes from BL6 hybrid female mice were fertilized in vitro and cultured with sea cucumber extract at concentrations of 0, 16, 20, and 25 ppm. Embryo development was evaluated at 24-, 48-, 72-, 96-, and 120-hours post-fertilization. Gas chromatography–mass spectrometry (GC-MS) was used to characterize extract composition, while quantitative reverse transcription polymerase chain reaction (qRT-PCR) of blastocyst expression of HSP90, and GPX1. In silico protein–protein interaction and pathway analyses were performed using bioinformatics databases.

Click 'File Inventory' to download the source files for this manuscript. Click 'Revise Submission' to submit a revision of the manuscript. If you Decline To Revise the manuscript, it will be moved to the Declined Revisions folder.

IMPORTANT: If your revised files are not ready to be submitted, do not click the 'Revise Submission' link.

Page: 1 of 1 (1 total submissions)

Results per page: 10

Action	Manuscript Number	Title	Initial Date Submitted	Date Revision Due	Status Date	Current Status	View Decision
View Submission View and reply to reviews File Inventory Store Articles in Mendeley Revise Submission Decline to Revise Correspondence Publishing Options Send E-mail	PHYPLUJ-D-25-01180	Evaluating the Effects of Sea Cucumber Extract Supplementation on the Developmental Competence of Aged Oocytes During In Vitro Fertilization and In Vitro Maturation	Dec 25, 2025	Mar 20, 2026	Jan 19, 2026	Revise	Revise

Page: 1 of 1 (1 total submissions)

Results per page: 10

Manuscript

[Click here to view linked References](#)

Evaluating the Effects of Sea Cucumber Extract Supplementation on the Developmental Competence of Aged Oocytes During In Vitro Fertilization and In Vitro Maturation

Background: Ovarian aging, characterized by declines in oocyte quantity and quality, results in reduced fertility, particularly in women over 38 years of age. Oxidative stress and endoplasmic reticulum (ER) stress are major contributors, necessitating strategies to support the developmental competence of aged oocytes. *Holothuria lesoni*, a sea cucumber species rich in bioactive compounds, offers antioxidant and cytoprotective potential that may help counteract these oxidative and ER stress-related declines.

Material and methods: Aged oocytes from BL6 hybrid female mice were fertilized in vitro and cultured with sea cucumber extract at concentrations of 0, 15, 20, and 25 ppm. Embryo development was evaluated at 24-, 48-, 72-, 96-, and 120-hours post-fertilization. Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) was used to characterize extract composition, while quantitative reverse transcription polymerase chain reaction (qRT-PCR) of blastocyst expression of HSP90, and GPX1. In silico protein-protein interaction and pathway analyses were performed using bioinformatics databases.

Results: GC-MS revealed multiple bioactive constituents, including fatty acids, esters, squalene, and siloxane derivatives. A concentration of 20 ppm yielded the best developmental outcomes, with 100% of embryos reaching the two-cell stage and 29% forming blastocysts, along with superior blastocyst morphology, while 25 ppm reduced embryo quality. At 20 ppm, HSP90 and GPX1 were upregulated 20-fold and 6.58-fold, respectively, whereas 25 ppm further increased GPX1 but decreased HSP90 expression. Network analysis identified TP53, TNF, and IL1B as central regulators in oxidative stress-related pathways.

Conclusions: *Holothuria lesoni* extract at 20 ppm enhanced early embryonic development of aged murine oocytes, likely by modulating oxidative stress and proteostasis via HSF1-HSP90 and Nrf2-GPX1 pathways. Further studies are required to optimize dosing and confirm downstream molecular targets for later developmental stages.

Keywords: Oxidative stress; Antioxidants; Embryo development; HSP90 gene; GPX1 gene

1. Introduction

Ovarian aging represents a progressive decline in both the quantity and quality of oocytes, a process that accelerates markedly after the age of 38 [1]. In older women, infertility is frequently attributed to a reduced ovarian reserve and diminished developmental competence of oocytes [2]. These age-related changes contribute to a higher incidence of aneuploidy, impaired oocyte maturation, increased risk of miscarriage, and lower success rates in assisted reproductive technologies (ART), including in vitro fertilization (IVF) [3]. In parallel, the prevalence of infertility continues to rise, driven by delayed childbearing, chronic psychosocial stress, metabolic disorders, and environmental insults, with substantial consequences for mental health, healthcare utilization, and socioeconomic productivity [4].

Oocytes are among the most mitochondria-rich cells in the body, reflecting their high ATP demand for meiotic maturation, fertilization, and early embryonic development [5]. With advancing age, mitochondrial efficiency declines, leading to increased electron leakage and overproduction of reactive oxygen species (ROS) [6]. Initially, endogenous antioxidant systems attempt to compensate through the up-regulation of detoxifying enzymes and redox-regulating genes, however, in aged oocytes this compensatory response becomes insufficient. Excess ROS induces oxidative damage to mitochondrial and nuclear DNA, proteins, and membrane lipids, impairing protein folding and activating the unfolded protein response (UPR) [7]. Sustained UPR signaling causes prolonged endoplasmic reticulum (ER) stress, during which heat shock proteins such as heat shock protein 90 (HSP90) are mobilized to maintain proteostasis by refolding misfolded proteins [8]. Persistent ER stress, together with mitochondrial dysfunction, promotes cellular senescence, disrupts meiotic spindle assembly, increases chromosome segregation errors, and ultimately reduces the developmental competence of aging oocytes [9].

Antioxidant-based strategies have therefore been explored to limit oxidative damage and preserve oocyte function [10,11]. Marine-derived bioactives, including sea cucumber extracts, have shown promising antioxidative and cytoprotective effects in various experimental models [12,13]. Our previous in vivo study demonstrated that sea cucumber extract can reduce ROS levels in lipopolysaccharide-induced inflammatory models and modulate adipogenesis and inflammation in adipose-derived stem cells, as well as in obese rodents [14]. Other studies have reported improved blastocyst formation and embryo quality in IVF and in vitro maturation systems using sea cucumber extracts or isolated saponin fractions, particularly in young mouse oocytes [15,16]. In the context of female reproduction, in silico and in vitro work has suggested a protective role of sea cucumber extract on reproductive tissues, supported by in vivo findings of increased estradiol levels following supplementation [17,18]. In addition, one of the most crucial molecular chaperones involved in embryonic development is HSP90, particularly the isoform HSP90AA1. HSP90AA1 functions as a key support protein that maintains the proper functioning of multiple critical pathways during oocyte maturation and early embryonic development. In the absence of HSP90AA1, these developmental processes become inefficient and embryo quality is significantly reduced [19]. HSP90 also helps counteract the effects of increased ROS by mediating the unfolded protein response. This condition leads to elevated HSP90 expression

BAB 7

RENCANA TINDAK LANJUT DAN PROYEKSI HILIRISASI

Rencana Tindak Lanjut:

1. Penelitian lanjutan pada hewan coba dengan dosis bertingkat dan kontrol ketat.
2. Pengujian toksisitas akut dan subkronik ekstrak.
3. Uji mekanisme molekuler: ekspresi gen antioksidan, status ROS, integritas mitokondria.
4. Penyusunan proposal paten untuk ekstrak teripang sebagai kandidat suplemen reproduksi.

Proyeksi Hilirisasi:

1. Pengembangan suplemen peningkat kualitas reproduksi berbahan teripang.
2. Potensi kolaborasi industri kesehatan dan farmasi.
3. Penyusunan prototipe dan validasi pra-klinik.

Timeline Kegiatan

1. Pengumpulan bahan teripang – Minggu 1
2. Ekstraksi dan pemurnian – Minggu 1–2
3. Aklimatisasi tikus – Minggu 2
4. Pemberian perlakuan ekstrak – Minggu 2–5
5. Prosedur superovulasi dan pengambilan oosit – Minggu 5
6. IVF dan kultur embrio – Minggu 5–6
7. Analisis data – Minggu 6–7
8. Penyusunan laporan dan manuskrip jurnal – Minggu 7–10

Timeline Penelitian

Bulan 1: Persiapan bahan dan ekstrak.

Bulan 2: Perlakuan hewan dan pengambilan sampel.

Bulan 3: Proses IVF dan analisis.

Bulan 4: Penyusunan laporan dan artikel ilmiah.