

Lampiran 1

Jadwal pelaksanaan penelitian

NO	Kegiatan	Tahun 2019									
		Maret	April	Mei	Juni	Juli	Agustus	September	Oktober	November	
1.	Persiapan proposal										
2.	Ujian proposal										
3.	Revisi proposal										
4.	Uji etik										
5.	Pengurusan surat dan persiapan penelitian										
6.	Penelitian laboratorium oosit secara <i>in vitro</i>										
7.	Pemeriksaan evaluasi kadar MDA dan ekspresi caspase-3										
8.	Pengolahan dan analisis data										
9.	Persiapan ujian tesis										
10.	Ujian tesis										

Lampiran 2

Dosis pembuatan medium suplementasi nanopartikel daun kelor (*Moringa Oleifera* Lam.) *in vitro*

1. Dosis nanopartikel

$$\frac{5}{100} \times 50 \mu\text{l} \times \text{dosis jurnal}$$

$$\frac{5}{100} \times 50 \mu\text{l} \times 0.5 = 1.25$$

$$\frac{5}{100} \times 50 \mu\text{l} \times 1 = 2.5$$

$$\frac{5}{100} \times 50 \mu\text{l} \times 2 = 5$$

2. Membuat medium MIV sehari sebelum dilakukan koleksi oosit
Larutan medium GMOPS plus 1 cc + PG 600 50 μl + Dosis
3. Membuat drop medium, setiap drop 50 μl

Lampiran 3

Prosedur pembuatan nanopartikel daun kelor (*Moringa Oleifera* Lam.)

Metode menanokan bahan dengan metode *Top Down* menggunakan mesin *High Speed Milling*:

1. Penimbangan sampel
2. Input 300 gram sampel pada jar mesin
3. Setting timer mesin. Di nyalakan 2 menit, kemudian dimatikan 5 menit, dengan durasi 30-60 menit
4. Dilakukan penyaringan sampel
5. Pelarutan sampel dengan aquades 1:5
6. Dilakukan *magnetic stirring*
7. Ukuran sampel di uji menggunakan *particle size analyzer* (PSA)
8. Aktifitas antioksidan sampel di uji menggunakan metode DPPH

Lampiran 4

Skala Semikuantitatif Indeks skala Remmele (*Immuno Reactive Score / IRS*)

Tabel 1. Skala semikuantitatif IRS merupakan hasil perkalian antara skor persentase sel positif (A) dengan Skor Intesitas reaksi warna (B), jadi $IRS = (A \times B)$

A	B
Skor 0 : Tidak ada sel positif	Skor 0 : Tidak ada reaksi warna
Skor 1 : Sel positif kurang dari 10%	Skor 1 : Intensitas warna lemah
Skor 2 : Sel positif antara dari 11% - 50%	Skor 2 : Intensitas warna sedang
Skor 3 : Sel positif antara dari 51% - 80%	Skor 3 : Intensitas warna kuat
Skor 4 : Sel positif antara dari lebih dari 80%	

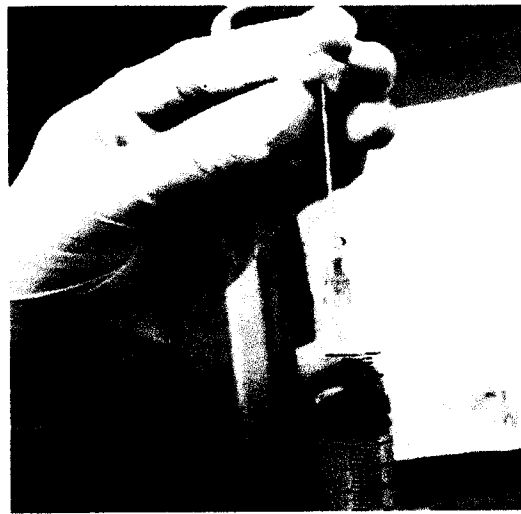
Lampiran 5. Prosedur laboratorium maturasi *in vitro*



Gambar 1. Nanopartikel daun kelor



Gambar 2. Persiapan medium *in vitro*



Gambar 3. Koleksi oosit dari ovarium



Gambar 4. Pemindahan oosit yang telah dicuci ke dalam medium maturasi oosit

Lampiran 6. Prosedur pembuatan preparat kadar MDA

Pengukuran kadar MDA dengan metode *simple spectrophotometric* menggunakan Kit uji ELISA *thiobarbituric acid-reactive substance* (TBARS), dan dilakukan di Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga.

Masukkan oosit yang telah di maturasi *in vitro* kedalam microtube disimpan pada suhu -20°C sampai analisis. Campurkan dalam 1: 2 dengan *thiobarbituric acid* (TBA) yang diukur secara kolorimetri menggunakan standar setara MDA. *Butylated hydroxytoluene* (BHT) 1X ditambahkan ke setiap sampel uji untuk mencegah oksidasi lipid lebih lanjut selama pemrosesan sampel dan reaksi TBA. Setelah itu, OKK dilisiskan dengan 5-10 siklus pembekuan dalam nitrogen cair dan mencairkannya dalam H₂O pada 100°C .

Sampel diinkubasi selama 5 menit pada suhu kamar dalam larutan lisis *sodium dodecylsulphate* (SDS) untuk mendenaturasi protein; kemudian, TBA ditambahkan dan sampel diinkubasi selama 50 menit pada 95°C . Tabung diinkubasi selama 5 menit di suhu ruang. Semua tabung sampel disentrifugasi pada 3000 rpm selama 10 menit. Supernatan dihilangkan, sampel dan standar MDA (200 μl) dipindahkan ke microplate 96 well kompatibel dengan pembaca plat multilabel Victor X, Perkin Elmer. Baca menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang $\lambda = 532 \text{ nm}$.

Lampiran 7. Prosedur pembuatan preparat imunositokimia caspase-3

Pembuatan preparat imunositokimia di lakukan di Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, dengan cara sebagai berikut:

a. Fixasi dan pencucian	Segera oosit yang telah di maturasi diletakkan di kaca objek (<i>object glass</i>) yang dilapisi ploy -L-Lysin, kemudian di fixasi kurang lebih 24 jam, kemudian ditutup dengan <i>cover glass</i>
b. Dehidrasi dan <i>clearing</i>	Oosit yang telah difixasi kemudian dibersihkan dengan cara di teteskan menggunakan larutan Alkohol 70%, 80%, 90%, 96%, Alkohol absolut I, II, & III, Xylol I & II masing-masing 3',4',5'
c. <i>Staining protokol</i>	Selanjutnya ditetes menggunakan PBS dan deionisasi H2O setiap setelah melakukan perlakuan. Teteskan Trypsin 15' (0,025%) dalam inkubator dengan temperatur 37°C. Teteskan ultra V.Blok 5'. Teteskan Antibody primer (5% diencerkan dengan diluent) 60' Teteskan Biotinylated link (yellow) 30'. Teteskan streptavidin (red) 30'. Teteskan DAB (diaminobenzidine) chromogen diencer 2% dengan DAB plus substrat 6'-10'. Teteskan aquades 5'.
d. <i>Counterstain</i>	Preparat yang telah dilakukan <i>staining</i> , kemudian dilakukan <i>counterstain</i> dengan menggunakan pewarna. Teteskan 1% Methyl Green selama 30 detik hingga 5 menit, di suhu ruangan. Kemudian di tetes menggunakan air mengalir 5', amoniak air 3', dan aquades 5'
e. Pemeriksaan mikroskop	Oosit di kaca objek (<i>object glass</i>) diamati di bawah mikroskop 10X mikroskop Nikon H600L; Camera DS Fi2 300 megapixel

Lampiran 8. Hasil *scoring* data penelitian ekspresi IRS caspase-3 oosit

Sampel	Kelompok						
	O-1	O1	O2		O-2	O3	O4
1	3	0	0		0	4	1
2	3	1	2		2	2	0
3	4	1	2		4	2	0
4	2	0	1		0	3	4
5	4	3	0		3	6	4
6	0	0	1		2	2	6
7	2	0	0		2	0	2
8	1	1	1		4	3	1
9	1	0	1		1	3	0
10	4	0	0		8	2	0
11	0	3	2		1	8	0
12	4	2	1		6	9	0
13	1	0	1		2	0	0
14	3	0	0		2	1	1
15	3	4	0		6	1	0
16	4	0	1		2	3	3
17	0	2	1		6	4	1
18	2	4	0		3	0	3
19	2	1	0		8	3	8
20	1	3	1		0	2	8
21	4	0	0		1	2	0
22	1	0	3		2	4	0
23	0	0	4		4	1	1
24	0	0	3		2	2	0
25	2	2	2		2	0	3
26	1	1	0		6	8	0
27	0	4	0		6	2	4
28	2	4	0		3	2	4
29	0	2	2		9	4	8
30	0	0	0		4	0	0
31	3	0	0		3	2	0
TOTAL	57	38	29		104	85	62
RATA	1.83	1.22	0.93		3.35	2.74	2

Lampiran 9. Hasil analisis statistika ekspresi IRS caspase-3 oosit

Lampiran hasil uji normalitas *Saphiro Wilk*

P<0.05 Tidak normal

Tests of Normality							
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
kelompok41		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
caspase3	O-2	.165	31	.030	.876	31	.002
	O3	.281	31	.000	.781	31	.000
	O4	.255	31	.000	.807	31	.000
caspase	O-2	.194	31	.004	.913	31	.015
	O3	.205	31	.002	.854	31	.001
	O4	.262	31	.000	.765	31	.000

a. Lilliefors Significance Correction

Lampiran hasil uji homogenitas *Levene* ekspresi IRS caspase-3 oosit

P<0.05 tidak homogen

Suhu 38.5 °C

Test of Homogeneity of Variances

caspase3

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.601	2	90	.031

Suhu 41 °C

Test of Homogeneity of Variances

caspase

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.680	2	90	.509

Lampiran hasil uji *Kruskall Wallis* ekspresi IRS caspase-3 oosit

Nilai Asym.Sig. 0.000, P<0.05 Terdapat perbedaan yang signifikan

Ranks			
	Kelompok	N	Mean Rank
caspase3	O-1	31	56.21
	O1	31	44.10
	O2	31	40.69
	Total	93	

Test Statistics^{a,b}

caspase3	
Chi-Square	6.152
df	2
Asymp. Sig.	.046

a. Kruskal Wallis Test
b. Grouping Variable:
Kelompok

Ranks

Ranks			
	kelompok41	N	Mean Rank
caspase	O-2	31	55.08
	O3	31	48.69
	O4	31	37.23
	Total	93	

Test Statistics^{a,b}

caspase	
Chi-Square	7.181
df	2
Asymp. Sig.	.028

a. Kruskal Wallis Test
b. Grouping Variable:
kelompok41

Hasil scoring uji Mann Whitney ekspresi IRS caspase-3 oosit

Nilai Asym.Sig. 0.000, $P < 0.05$ pada rata-rata kedua kelompok tersebut terdapat perbedaan secara nyata / signifikan

Kelompok	O1	O2
O-1	0.085	0.015*
O1	-	0.675

Kelompok	O3	O4
O-2	0.305	0.010*
O3	-	0.075

Kelompok O-1 & O1

Ranks				
	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
caspase3	O-1	31	35.31	1094.50
	O1	31	27.69	858.50
	Total	62		

Test Statistics ^a		caspase3
Mann-Whitney U		362.500
Wilcoxon W		858.500
Z		-1.720
Asymp. Sig. (2-tailed)		.085

a. Grouping Variable: Kelompok

Kelompok O-2 & O3

Ranks				
	kelompok41	N	Mean Rank	Sum of Ranks
caspase	O-2	31	33.81	1048.00
	O3	31	29.19	905.00
	Total	62		

Test Statistics ^a		caspase
Mann-Whitney U		409.000
Wilcoxon W		905.000
Z		-1.026
Asymp. Sig. (2-tailed)		.305

a. Grouping Variable: kelompok41

Kelompok O-1 & O2

Ranks				
	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
caspase3	O-1	31	36.90	1144.00
	O2	31	26.10	809.00
	Total	62		

Test Statistics ^a		caspase3
Mann-Whitney U		313.000
Wilcoxon W		809.000
Z		-2.441
Asymp. Sig. (2-tailed)		.015

a. Grouping Variable: Kelompok

Kelompok O-2 & O4

Ranks				
	kelompok41	N	Mean Rank	Sum of Ranks
caspase	O-2	31	37.27	1155.50
	O4	31	25.73	797.50
	Total	62		

Test Statistics ^a		caspase
Mann-Whitney U		301.500
Wilcoxon W		797.500
Z		-2.561
Asymp. Sig. (2-tailed)		.010

a. Grouping Variable: kelompok41

Kelompok O1 & O2

Ranks				
	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
caspase3	O1	31	32.40	1004.50
	O2	31	30.60	948.50
	Total	62		

Test Statistics ^a		caspase3
Mann-Whitney U		452.500
Wilcoxon W		948.500
Z		-.420
Asymp. Sig. (2-tailed)		.675

a. Grouping Variable: Kelompok

Kelompok O3 & O4

Ranks				
	kelompok41	N	Mean Rank	Sum of Ranks
caspase	O3	31	35.50	1100.50
	O4	31	27.50	852.50
	Total	62		

Test Statistics ^a		caspase
Mann-Whitney U		356.500
Wilcoxon W		852.500
Z		-1.783
Asymp. Sig. (2-tailed)		.075

a. Grouping Variable: kelompok41

Lampiran 10. Hasil *scoring* data penelitian kadar MDA oosit

Kelompok	Konsentrasi MDA (nmol) pada ulangan ke			Jumlah	Rata-rata	Standar deviasi
	1	2	3			
O-1	2.44	4.21	2.362	9.012	3.004	1.045
O1	2.096	3.243	1.638	6.977	2.325	0.826
O2	1.876	1.408	2.211	5.495	1.831	0.403
O-2	5.232	4.619	5.421	15.272	5.09	0.419
O3	2.555	3.701	3.931	10.187	3.395	0.737
O4	1.982	1.752	1.523	5.257	1.752	0.229

Lampiran 11. Hasil analisis statistika kadar MDA oosit

Hasil uji normalitas *Saphiro Wilk* kadar MDA oosit

$P > 0.05$ Data normal

Tests of Normality

	kelompok41	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
MDA	O-2	.372	3	.	.782	3	.071
	O3	.276	3	.	.942	3	.536
	O4	.210	3	.	.991	3	.818
MDA41	O-2	.299	3	.	.915	3	.434
	O3	.327	3	.	.871	3	.299
	O4	.175	3	.	1.000	3	.998

a. Lilliefors Significance Correction

Lampiran Hasil uji homogenitas *Levene* kadar MDA oosit

$p > 0.05$ Homogenitas terpenuhi

Suhu 38.5°C

Test of Homogeneity of Variances

MDA

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.172	2	6	.195

Suhu 41°C

Test of Homogeneity of Variances

MDA41

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.234	2	6	.111

Lampiran Hasil uji *One Way ANOVA* kadar MDA oosit

Nilai Sig. 0.000, $P < 0.05$ Terdapat perbedaan yang signifikan

Suhu 38.5°C

ANOVA

MDA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2.079	2	1.039	1.608	.276
Within Groups	3.877	6	.646		
Total	5.956	8			

Suhu 41°C

ANOVA

MDA41

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	16.718	2	8.359	32.495	.001
Within Groups	1.543	6	.257		
Total	18.261	8			

Lampiran Hasil uji *Tukey HSD* kadar MDA oosit

Nilai Asym.Sig. 0.000, $P < 0.05$ pada rata-rata kedua kelompok tersebut terdapat perbedaan secara nyata / signifikan

Kelompok	O1	O2	Kelompok	O3	O4
O-1	0.585	0.252	O-2	0.015*	0.000*
O1	-	0.743	O3	-	0.017*

Multiple Comparisons

Dependent Variable: MDA
Tukey HSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
O-1	O1	.678333	.656352	.585	-1.33553	2.69220
	O2	1.172333	.656352	.252	-.84153	3.18620
O1	O-1	-.678333	.656352	.585	-2.69220	1.33553
	O2	.494000	.656352	.743	-1.51987	2.50787
O2	O-1	-1.172333	.656352	.252	-3.18620	.84153
	O1	-.494000	.656352	.743	-2.50787	1.51987

Multiple Comparisons

Dependent Variable: MDA41
Tukey HSD

(I) kelompok41	(J) kelompok41	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
O-2	O3	1.695000*	.414117	.015	.42438	2.96562
	O4	3.338333*	.414117	.000	2.06771	4.60896
O3	O-2	-1.695000*	.414117	.015	-2.96562	-.42438
	O4	1.643333*	.414117	.017	.37271	2.91396
O4	O-2	-3.338333*	.414117	.000	-4.60896	-2.06771
	O3	-1.643333*	.414117	.017	-2.91396	-.37271

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Lampiran 12. Surat ijin penelitian



FEMERINTAH KOTA SURABAYA
**BADAN KESATUAN BANGSA, POLITIK
 DAN PERLINDUNGAN MASYARAKAT**

Jalan Jaksa Agung Suprpto Nomor 2 Surabaya 60272
 Telepon (031) 5343000, (031) 5312144 Pesawat 112

Surabaya, 29 Mei 2019

Kepada

Yth. Direktur PD Rumah Potong Hewan Surabaya

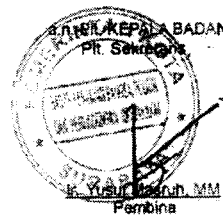
Nomor : 070/GA/1436.8.5/2019
 Lampiran : -
 Hal : Pengambilan Data.

di -
SURABAYA

REKOMENDASI PENELITIAN

- Dasar** : 1. Peraturan Menteri Dalam Negeri Nomor 64 Tahun 2011 Tentang Pedoman. Penerbitan Rekomendasi Penelitian, Sebagaimana Telah Diubah dengan Peraturan Menteri Dalam Negeri Nomor 7 Tahun 2014 tentang Perubahan Atas Peraturan Menteri Dalam Negeri Nomor 84 Tahun 2011 ;
 2. Peraturan Walikota Surabaya Nomor 37 Tahun 2011 Tentang Rincian Tugas dan Fungsi Lembaga Teknis Daerah Kota Surabaya, Bagian Kedua Badan Kesatuan Bangsa, Politik dan Perlindungan Masyarakat.
- Memperhatikan** : Surat Wakil Dekan I Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya Tanggal 22 Mei 2019 Nomor : 3923/UN3.1.1/PPd/2019 Perihal : Ijin Pengambilan sampel an. Amalia Ratna Kusumaningrum
- Pt. Kepala Badan Kesatuan Bangsa, Politik Dan Perlindungan Masyarakat Kota Surabaya** memberikan rekomendasi kepada :
- a. Nama : Amalia Ratna Kusumaningrum.
 - b. Alamat : Gendeng Gk 4/852 Baciro Yogyakarta.
 - c. Pekerjaan/Jabatan : Mahasiswa.
 - d. Instansi/Organisasi : Universitas Airlangga Surabaya.
 - e. Kewarganegaraan : Indonesia.
- Untuk melakukan penelitian/survey/kegiatan dengan :**
- a. Judul / Thema : Suplementasi nanopartikel Daun Kelor (Moringa Oleifera Lam) Terhadap Kadar MDA(Malondialdehid) Dan Ekspresi Caspase-3 Dalam Tahap maturasi Oosit Servicars In Vitro.
 - b. Tujuan : Pengambilan Data.
 - c. Bidang Penelitian : Kesehatan.
 - d. Penanggung Jawab : Prof. Widjati, drh., M.Si.
 - e. Anggota Peserta : -
 - f. Waktu : 3 (Tiga) Bulan, TMT Surat Dikeluarkan.
 - g. Lokasi : PD Rumah Potong Hewan Kota Surabaya.
- Dengan persyaratan** : 1. Penelitian/survey/kegiatan yang dilakukan harus sesuai dengan surat permohonan dan wajib mematuhi persyaratan/peraturan yang berlaku di Lokasi/Tempat dilakukan Penelitian/survey/kegiatan;
 2. Saudara yang bersangkutan agar setelah melakukan Penelitian/survey/kegiatan wajib melaporkan pelaksanaan dan hasilnya kepada Kepala Bakesbang, Politik dan Linmas Kota Surabaya;
 3. Penelitian/survey/kegiatan yang dilaksanakan tidak boleh menimbulkan keresahan dimasyarakat, disintegrasi bangsa atau mengganggu keutuhan NKRI;
 4. Rekomendasi ini akan dicabut/tidak berlaku apabila yang bersangkutan tidak memenuhi persyaratan seperti tersebut diatas.

Demikian atas bantuannya disampaikan terima kasih.



Tembusan :
 Yth. 1. Wakil Dekan I Fakultas Kedokteran
 Universitas Airlangga Surabaya
 2. Saudara yang bersangkutan.

NIP 19671224 199412 1 001

Lampiran 13. Sertifikat kelayakan etik



**KOMISI ETIK PENELITIAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
*Animal Care and Use Committee (ACUC)***

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK
" ETHICAL CLEARENCE "**

No : 2.KE.135.07.2019

**KOMISI ETIK PENELITIAN (ANIMAL CARE AND USE COMMITTEE)
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN UNIVERSITAS AIRLANGGA SURABAYA,
TELAH MEMPELAJARI SECARA SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG
DIUSULKAN, MAKA DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA :**

PENELITIAN BERJUDUL : Suplementasi Nanopartikel Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam) Terhadap Kadar MDA (Malondialdehyde) dan Ekspresi Caspase-3 Dalam Tahap Maturasi Oosit Secara In Vitro

PENELITI UTAMA : Amalia Ratna Kusumaningrum

UNIT/LEMBAGA/TEMPAT PENELITIAN : Program Studi Ilmu Kesehatan Reproduksi
Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga

DINYATAKAN : LAIK ETIK

Surabaya, 24 Juli 2019

Ketua,

Dr. Nurdianto Triakoso, M.P., Drh.
NIP. 196805051997021001



Lampiran 14. Surat Keterangan pembuatan nanopartikel daun kelor
(*Moringa Oleifera* Lam.)



Nanobox

Jl. Raya Serpong KM. 2 Seti, Tangerang
Selatan - Banten 15314

SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TUMBUHAN

No. 001/SKIT-NRI/IX/2019

Kepala Nanobox dengan ini menerangkan bahwa material tumbuhan yang dibawa oleh :

Nama : Amalia Ratna Kusumaningrum
NIM : 011724653018
Instansi : S2 Ilmu Kesehatan Reproduksi Fakultas Kedokteran
Universitas Airlangga

Telah melakukan proses penanoan daun kelor, pengujian PSA, dan pengujian DPPH di
Nanobox dengan hasil sebagai berikut :

Nama Sampel : Daun Kelor
Jumlah Sampel : 1 kg
Ukuran Sampel : 243,5 nm
Bentuk Sampel : Cair

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya. Atas
perhatian dan kerjasamanya yang baik kami ucapkan terimakasih.

Tangerang Selatan, 06 September 2019
Nanobox

Kurniawan Eko Saputro
RnD Coordinator

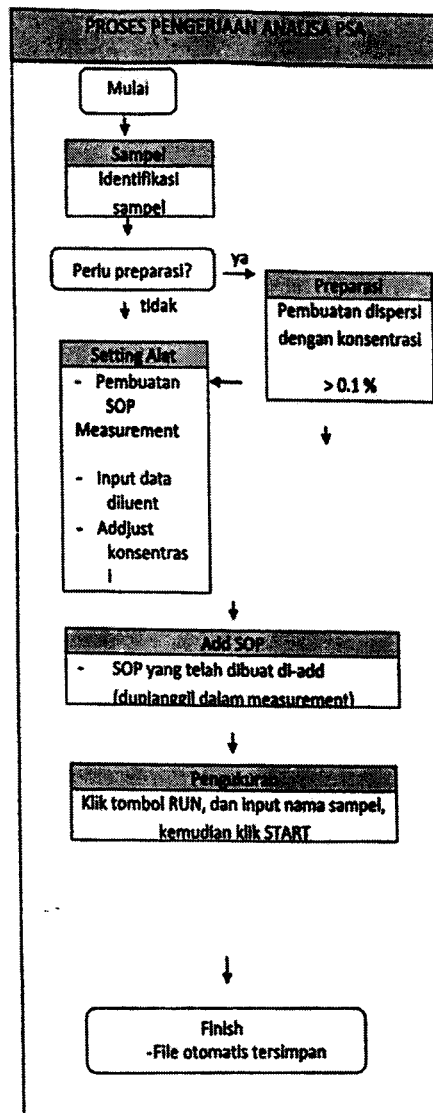
Website : www.nanobox.id
E-mail : info@nanobox.id
No. Tlpn : (+62) 878-8833-6513

Lampiran 15. Proses pengujian analisa PSA nanopartikel daun kelor
(*Moringa Oleifera* Lam.)



Nanobox

Jl. Raya Serpong KM. 2 Setu, Tangerang Selatan – Banten 15314



Website : www.nanobox.id
E-mail : info@nanobox.id
No. Tlpn : (+62) 878-8833-6513

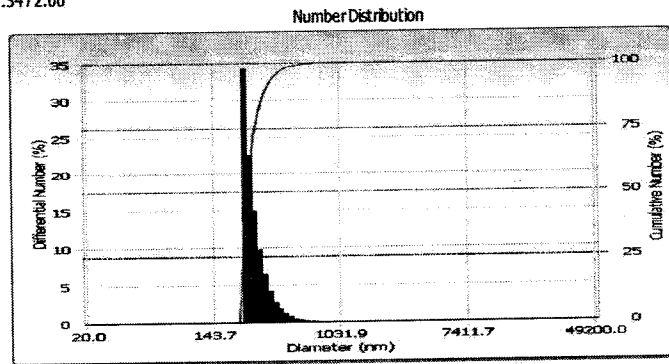
Lampiran 16. Hasil pengujian analisa PSA nanopartikel daun kelor (*Moringa Oleifera* Lam.)



Delsa™ Nano

Number Distribution Common
 User : Common Group : Repetition : 1/1
 Date : 11/07/2019 File Name : kelor_20190711_102639
 Time : 10:26:39 Sample Information :
 SOP Name : nanotech

Version 1.34/2.00



Distribution Results (Contin)

Peak	Diameter (nm)	Std. Dev.
1	272.6	61.4
2	0.0	0.0
3	0.0	0.0
4	0.0	0.0
5	0.0	0.0
Average	272.6	61.4
Residual :	1.900e-002	(O.K)

Cumulants Results

Diameter (d)	: 1805.2	(nm)
Polydispersity Index (P.I.)	: 0.573	
Diffusion Const. (D)	: 2.725e-009	(cm ² /sec)
Measurement Condition		
Temperature	: 25.0	(°C)
Diluent Name	: WATER	
Refractive Index	: 1.3328	
Viscosity	: 0.8878	(cP)
Scattering Intensity	: 11300	(cps)

Number Distribution Table

d (nm)	f(%)	f(cum.%)	d (nm)	f(%)	f(cum.%)	d (nm)	f(%)	f(cum.%)	d (nm)	f(%)	f(cum.%)
20.0	0.0	0.0	143.7	0.0	0.0	1031.9	0.0	100.0	7411.7	0.0	100.0
21.6	0.0	0.0	155.4	0.0	0.0	1116.5	0.0	100.0	8020.0	0.0	100.0
23.4	0.0	0.0	168.2	0.0	0.0	1205.2	0.0	100.0	8678.1	0.0	100.0
25.3	0.0	0.0	182.0	0.0	0.0	1307.3	0.0	100.0	9390.2	0.0	100.0
27.4	0.0	0.0	196.9	0.0	0.0	1414.6	0.0	100.0	10160.8	0.0	100.0
29.7	0.0	0.0	213.1	0.0	0.0	1530.7	0.0	100.0	10994.6	0.0	100.0
32.1	0.0	0.0	230.6	34.3	34.3	1656.3	0.0	100.0	11896.8	0.0	100.0
34.7	0.0	0.0	249.5	22.7	57.0	1792.2	0.0	100.0	12873.1	0.0	100.0
37.6	0.0	0.0	270.0	14.9	71.9	1939.3	0.0	100.0	13929.5	0.0	100.0
40.7	0.0	0.0	292.1	9.8	81.7	2098.4	0.0	100.0	15072.6	0.0	100.0
44.0	0.0	0.0	316.1	6.4	88.1	2270.6	0.0	100.0	16309.4	0.0	100.0
47.6	0.0	0.0	342.1	4.2	92.3	2456.9	0.0	100.0	17647.8	0.0	100.0
51.5	0.0	0.0	370.1	2.7	95.0	2658.6	0.0	100.0	19096.0	0.0	100.0
55.8	0.0	0.0	400.5	1.8	96.8	2876.7	0.0	100.0	20663.1	0.0	100.0
60.3	0.0	0.0	433.4	1.1	97.9	3112.8	0.0	100.0	22358.7	0.0	100.0
65.3	0.0	0.0	468.9	0.7	98.7	3368.2	0.0	100.0	24193.5	0.0	100.0
70.6	0.0	0.0	507.4	0.5	99.2	3644.6	0.0	100.0	26178.8	0.0	100.0
76.4	0.0	0.0	549.0	0.3	99.5	3943.7	0.0	100.0	28327.1	0.0	100.0
82.7	0.0	0.0	594.1	0.2	99.7	4267.3	0.0	100.0	30651.7	0.0	100.0
89.5	0.0	0.0	642.9	0.1	99.8	4617.5	0.0	100.0	33167.0	0.0	100.0

D (10%): 218.1 (nm) D (50%): 243.5 (nm) D (90%): 327.4 (nm)

Number Distribution Table

d (nm)	f (%)	f(cum.%)	d (nm)	f (%)	f(cum.%)	d (nm)	f (%)	f(cum.%)	d (nm)	f (%)	f(cum.%)
96.8	0.0	0.0	695.6	0.1	99.9	4996.4	0.0	100.0	35888.7	0.0	100.0
104.8	0.0	0.0	752.7	0.1	99.9	5406.5	0.0	100.0	38833.8	0.0	100.0
113.4	0.0	0.0	814.5	0.0	99.9	5850.1	0.0	100.0	42020.5	0.0	100.0
122.7	0.0	0.0	881.3	0.0	100.0	6330.2	0.0	100.0	45468.8	0.0	100.0
132.8	0.0	0.0	953.6	0.0	100.0	6849.6	0.0	100.0	49200.0	0.0	100.0

D(10%): 218.1 (nm) D(50%): 243.5 (nm) D(90%): 327.4 (nm)

Lampiran 17. Proses pengujian analisa DPPH nanopartikel daun kelor (*Moringa Oleifera* Lam.)



Nanobox

Jl. Raya Serpong KM. 2 Setu, Tangerang
Selatan – Banten 15314

Penentuan Aktivitas Peredaman Radikal Bebas DPPH

Aktivitas antioksidan dari ekstrak terhadap radikal bebas DPPH diukur menurut metoda Yen & Chen (1995). Larutan ekstrak (200-1500 µg) dalam 2 ml methanol ditambahkan larutan 0,5 ml DPPH (1 mM dalam methanol). Campuran dikocok dan didiamkan pada suhu ruang selama 30 menit. Serapan yang dihasilkan diukur pada panjang gelombang 515 nm. Persen inhibisi sampel dihitung berdasarkan perbedaan serapan antara blanko dan sample.

Efek peredaman DPPH –scavenging (%) = $[1-(A_s/A_0)] \times 100$

A₀= Absorban blanko; A_s= Absorban sampel. Presentase aktivitas peredaman DPPH diplotkan terhadap konsentrasi sampel. Nilai peredaman 50% (IC₅₀) dihitung dari grafik persentase peredaman terhadap konsentrasi sampel. Pengujian dilakukan 2 kali pengulangan, Quercetin digunakan sebagai pembandingan.

Penyiapan sampel untuk pengujian: Untuk pengukuran uji antioksidan sampel Daun Kelor karena berbentuk cairan maka sampel dianggap sebagai sediaan awal.

Sampel sebanyak 1 ml setara dengan 55,6 mg sampel.

- Konsentrasi 556 µg/ml: dipipet 50 µl dari larutan sampel
- Konsentrasi 278 µg/ml: dipipet 25 µl dari larutan sampel
- Konsentrasi 111,2 µg/ml: dipipet 10 µl dari larutan sampel
- Konsentrasi 55,6 µg/ml: dipipet 5 µl dari larutan sampel

Masing-masing konsentrasi kemudian diadukan menjadi 2 ml dengan methanol

Hasil Perhitungan

Sampel	Peredaman Radikal DPPH (%) pada konsentrasi (µg/ml)				IC ₅₀ (µg/ml)
	1	5	10	20	
Quercetin 1	5,16	50,27	92,89	96,41	6,52
Quercetin 2	6,35	47,81	92,93	96,20	6,60

Sampel	Peredaman Radikal DPPH (%) pada konsentrasi (µg/ml)				IC ₅₀ (µg/ml)
	55,6	112,2	278	556	
190729-1925	38,29	54,92	92,39	92,56	89,61
Ulangan 1	32,64	57,46	92,35	92,46	83,05
Ulangan 2	35,46	56,19	92,37	92,51	86,33



Website : www.nanobox.id
E-mail : info@nanobox.id
No. Tlpn : (+62) 878-8833-6513



Nanobox

Jl. Raya Serpong KM. 2 Setu, Tangerang
Selatan – Banten 15314

Hasil Pengukuran

No	Sampel	Abs	Kons	Inhibisi	a	b	R	IC50
	blanko	1,7653						
	Standar quercetin	1,6742	1	5,16	20,59	4,51	0,746	6,52
		0,8778	5	50,27				
		0,1255	10	92,89				
		0,0634	20	96,41				
		1,6532	1	6,35	20,31	4,5	0,755	6,60
		0,9213	5	47,81				
		0,1248	10	92,93				
		0,0671	20	96,20				
	blanko	1,1709						
	Ulangan 1	0,7226	55,6	38,2894	-74,39	27,67 Inx	0,919	89,61
		0,5278	112,2	54,9254				
		0,0891	278	92,3907				
		0,0871	556	92,5616				
	Ulangan 2	0,7887	55,6	32,6444	-64,73	25,96 Inx	0,920	83,05
		0,4981	112,2	57,4618				
		0,895	278	92,3566				
		0,0882	556	92,4676				

Ref.

Yen, G.C., and Chen, H.Y., "Antioxidant activity of various tea extracts in relation to heir antimutagenicity," J Agric Food Chem 43: 27-32, 1995.



Website : www.nanobox.id
E-mail : info@nanobox.id
No. Tlpn : (+62) 878-8833-6513

Lampiran 18. Hasil pengujian analisa DPPH nanopartikel daun kelor
(*Moringa Oleifera* Lam.)



Nanobox

Jl. Raya Serpong KM. 2 Setu, Tangerang
Selatan – Banten 15314

LAPORAN HASIL ANALISIS

Jumlah Halaman : 1 (satu)
 Tanggal Penerimaan : 29 Juli 2019
 Tanggal Pengerjaan : 12 Agustus 2019
 Tanggal Penyelesaian : 14 Agustus 2019
 Pelanggan : Amalia Ratna
 Alamat : Universitas Airlangga
 Jenis Contoh : Daun kelor
 Jumlah Contoh : 1 (satu) buah
 Jenis Pengujian : Analisa Antioksidan

No	Kode Contoh	Jenis Analisa	Hasil Analisis	Satuan	Metode Analisis
1	Daun Kelor	Kuantitatif	86,33	µg/ml.	DPPH



Website : www.nanobox.id
 E-mail : info@nanobox.id
 No. Tlpn : (+62) 878-8833-6513