

TESIS

SUPLEMENTASI NANOPARTIKEL DAUN KELOR (*Moringa oleifera Lam*) PADA KULTUR EMBRIO KAMBING SECARA *IN VITRO* TERHADAP PEMBELAHAN ZIGOT



ALFINA AISATUS SAADAH
011724653017

PROGRAM STUDI ILMU KESEHATAN REPRODUKSI
JENJANG MAGISTER FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2019

TESIS

SUPLEMENTASI NANOPARTIKEL DAUN KELOR (*Moringa oleifera Lam*) PADA KULTUR EMBRIO KAMBING SECARA *IN VITRO* TERHADAP PEMBELAHAN ZIGOT



ALFINA AISATUS SAADAH
011724653017

PROGRAM STUDI ILMU KESEHATAN REPRODUKSI
JENJANG MAGISTER FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2019

TESIS

**SUPLEMENTASI NANOPARTIKEL DAUN KELOR (*Moringa
oleifera Lam*) PADA KULTUR EMBRIO KAMBING SECARA
IN VITRO TERHADAP PEMBELAHAN ZIGOT**

**ALFINA AISATUS SAADAH
011724653017**

**PROGRAM STUDI ILMU KESEHATAN REPRODUKSI
JENJANG MAGISTER FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2019**

**SUPLEMENTASI NANOPARTIKEL DAUN KELOR (*Moringa
oleifera Lam*) PADA KULTUR EMBRIO KAMBING SECARA
IN VITRO TERHADAP PEMBELAHAN ZIGOT**

TESIS

Untuk memperoleh Gelar Magister Kesehatan
Dalam Program Studi Ilmu Kesehatan Reproduksi
Pada Jenjang Magister Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga

Oleh:

**ALFINA AISATUS SAADAH
011724653017**

**PROGRAM STUDI ILMU KESEHATAN REPRODUKSI
JENJANG MAGISTER FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2019**

LEMBAR PENGESAHAN

TESIS INI TELAH DISAHKAN
PADA TANGGAL: 23 Desember 2019

Oleh:

Pembimbing I



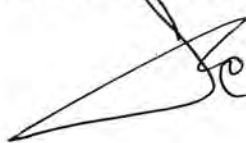
Prof. Dr. Widjiati, M.Si., drh
NIP. 196209151990022001

Pembimbing II



Prof. Dr. Hendy Hendarto, dr., Sp. OG(K)
NIP. 196108171988021002

Mengetahui,
Koordinator Program Studi Ilmu Kesehatan Reproduksi
Jenjang Magister Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga



Dr. Hermanto Tri Joewono, dr., Sp. OG(K)
NIP. 195601281986031009

LEMBAR PENETAPAN PANITIA PENGUJI

Tesis ini telah diuji dan dinilai oleh panitia penguji pada Program Studi Ilmu Kesehatan Reproduksi Jenjang Magister Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Pada tanggal 23 Desember 2019

Panitia Penguji,

Ketua : Prof. Sri Agus Sudjarwo, drh., Ph.D

Anggota : 1. Prof. Dr. Widjiati, M.Si., drh
2. Prof. Dr. Hendy Hendarto, dr., Sp.OG(K)
3. Dr. Sulistiawati, dr., M.Kes
4. Dr. Lilik Herawati, dr., M.Kes

PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini, saya:

Nama : Alfina Aisatus Saadah
NIM : 011724653017
Program Studi : Ilmu Kesehatan Reproduksi
Jenjang : Magister (S2)
Angkatan : 2017

Menyatakan bahwa bagian atau keseluruhan isi tesis saya yang berjudul:

SUPLEMENTASI NANOPARTIKEL DAUN KELOR (*Moringa oleifera Lam*) PADA KULTUR EMBRIO KAMBING SECARA *IN VITRO* TERHADAP PEMBELAHAN ZIGOT

Tidak pernah diajukan untuk mendapat gelar akademis pada bidang studi atau universitas lain dan tidak pernah dipublikasikan atau ditulis oleh individu selain penyusun kecuali bila dituliskan dengan format kutipan dalam isi tesis.

Apabila ditemukan bukti bahwa pernyataan saya tidak benar, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai ketentuan yang berlaku di Universitas Airlangga.

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Surabaya, 23 Desember 2019



Alfina Aisatus Saadah
NIM. 011724653017

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur saya panjatkan kehadirat Allah SWT, atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga tesis yang berjudul **“SUPLEMENTASI NANOPARTIKEL DAUN KELOR (*Moringa oleifera Lam*) PADA KULTUR EMBRIO KAMBING SECARA *IN VITRO* TERHADAP PEMBELAHAN ZIGOT”** dapat diselesaikan dengan baik. Penelitian ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Magister Kesehatan (M.Kes) pada Program Studi Ilmu Kesehatan Reproduksi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.

Penyusunan tesis ini tidak akan berhasil tanpa bantuan, bimbingan, serta dorongan dari berbagai pihak baik dalam bentuk moril maupun materi. Oleh karena itu, ijinkan saya menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Prof. Dr. Widjiati, M.Si., drh., selaku Pembimbing I yang telah meluangkan waktu, memberikan bimbingan, *support*, nasihat, pengarahan, dengan penuh kesabaran, ketelitian, dan memberi motivasi saya untuk tetap maju dan tidak pantang menyerah, serta memberikan inspirasi dalam menyelesaikan tesis ini.
2. Prof. Dr. Hendy Hendarto, dr., Sp.OG(K), selaku Pembimbing II yang telah memberikan bimbingan, memberikan pengarahan dengan penuh kesabaran, pengertian, dan memberikan inspirasi dalam menyelesaikan tesis ini.
3. Para dosen dan panitia penguji dari usulan penelitian hingga ujian tesis: Prof. Sri Agus Sudjarwo, drh., Ph.D, Dr. Sulistiawati, dr., M.Kes, Dr. Lilik Herawati, dr., M.Kes selaku penguji yang telah memberikan masukan, arahan, dan saran sehingga tesis ini dapat terselesaikan dengan baik.

4. Prof. Dr. Mohammad Nasih, SE., MT., Ak., CMA., selaku Rektor Universitas Airlangga Surabaya yang telah memberikan kesempatan dan fasilitas kepada saya untuk menempuh dan menyelesaikan pendidikan Magister Program Studi Ilmu Kesehatan Reproduksi.
5. Prof. Dr. Soetojo, dr., Sp. U., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk menempuh dan menyelesaikan pendidikan Magister Program Studi Ilmu Kesehatan Reproduksi.
6. Dr. Hermanto Tri Joewono, dr., Sp. OG(K)., selaku Ketua Program Studi Ilmu Kesehatan Reproduksi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk menempuh dan menyelesaikan pendidikan Magister Program Studi Ilmu Kesehatan Reproduksi.
7. Prof. Dr. Pudji Srianto, drh., M.Kes selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya yang telah memberikan izin kepada saya untuk melakukan penelitian di laboratorium *in vitro* Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya
8. Seluruh civitas akademika Program Pascasarjana Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya yang tidak dapat saya sebutkan satu-persatu yang telah membantu dengan sukarela baik moril dan spiritual, sehingga tesis dapat terselesaikan.
9. Orangtua saya tercinta, Bapak Samuin dan Ibu Tunayah yang telah memberikan dukungan, semangat dan dorongan baik secara finansial maupun nonfinansial, selalu menguatkan saya untuk terus maju, dan selalu

mendoakan akan kesuksesan saya sehingga saya bisa menyelesaikan tesis ini.

10. Rachmadin Hilal yang telah memberikan dukungan, semangat dan dorongan, selalu menguatkan saya untuk terus maju sehingga saya bisa menyelesaikan tesis ini.
11. Teman-teman yang telah memberikan dorongan, bantuan, masukan dan semangat dalam menyelesaikan tesis ini.
12. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, yang telah memberikan kesempatan, dukungan, dan bantuan kepada penulis sehingga tesis ini dapat terselesaikan

Semoga Allah SWT membalas budi baik semua pihak yang telah memberikan kesempatan, dukungan dan bantuan dalam menyelesaikan tesis penelitian ini. Peneliti menyadari bahwa penelitian ini masih jauh dari sempurna, tetapi peneliti berharap penelitian ini bermanfaat bagi pembaca.

Surabaya, 23 Desember 2019

Peneliti

RINGKASAN

SUPLEMENTASI NANOPARTIKEL DAUN KELOR (*Moringa oleifera Lam*) PADA KULTUR EMBRIO KAMBING SECARA *IN VITRO* TERHADAP PEMBELAHAN ZIGOT**Alfina Aisatus Saadah**

Perkembangan ilmu dan teknologi pada beberapa dekade terakhir telah melahirkan bioteknologi reproduksi seperti *Fertilisasi In Vitro* (FIV). Keberhasilan *Fertilisasi In Vitro* (FIV) tidak hanya dipengaruhi oleh oosit saja, tetapi juga oleh spermatozoa yang digunakan untuk membuahi dan medium kultur yang digunakan. Kondisi fisiologis medium kultur mempengaruhi fertilisasi dan pertumbuhan embrio.

Salah satu penyebab kegagalan zigot mengatasi *cell block* (hambatan perkembangan) karena adanya stres oksidatif pada sel zigot. Jika zigot tidak dapat melewati hambatan perkembangan (*cell block*) maka tidak terjadi pembelahan (*cleavage*). Stres oksidatif dapat merusak struktur dan fungsi zigot akibat radikal bebas *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang dihasilkan oleh faktor endogen seperti metabolisme sel normal dan faktor eksogen seperti CO₂, suhu dan pH medium kultur. Pertahanan antioksidan endogen didalam zigot tidak cukup untuk melawan stres oksidatif yang ditemui selama kultur *in vitro* sehingga bisa merusak membran sel, inti DNA, dan sitoplasma pada zigot.

Untuk mengatasi hal tersebut, *Reactive Oxygen Species* (ROS) berlebih yang ada didalam medium kultur embrio *in vitro* perlu ditekan dengan diberikan antioksidan eksogen dari daun kelor dalam bentuk nanopartikel agar mempercepat absorpsi suatu senyawa makromolekul. *Moringa oleifera Lam* mengandung antioksidan senyawa polifenol, golongan flavonoid flavanols yaitu kuercetin yang merupakan kandungan antioksidan terbanyak pada daun kelor. Kuercetin akan mengikat spesies radikal bebas sehingga dapat mengurangi reaktivitas radikal bebas tersebut dengan adanya gugus hidroksil (OH⁻) pada C ke 3, 5, 7, 3', dan 4' serta cincin katekol β.

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh suplementasi nanopartikel daun kelor (*Moringa oleifera Lam*) terhadap peningkatan pembelahan zigot pada kultur embrio kambing secara *in vitro*.

Penelitian ini menggunakan desain penelitian yaitu eksperimen murni dengan rancangan penelitian menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan pendekatan *The Randomize Posttest-only Control Group Design*. Penelitian ini terbagi menjadi 4 kelompok yang sesuai dengan kriteria inklusi yaitu kelompok kontrol K tanpa suplementasi nanopartikel daun kelor, kelompok perlakuan I P₁ suplementasi nanopartikel daun kelor dengan dosis 0.5 μM, kelompok perlakuan II P₂ suplementasi nanopartikel daun kelor dengan dosis 1.0 μM, kelompok perlakuan III P₃ suplementasi nanopartikel daun kelor dengan dosis 2.0 μM. Kultur embrio dilakukan di dalam inkubator CO₂ 5%, suhu 38,5 °C selama 48 jam, kemudian diamati dibawah mikroskop *inverted*.

Hasil presentase pembelahan zigot kelompok perlakuan III suplementasi nanopartikel daun kelor dengan dosis 2.0 μM diperoleh presentase pembelahan zigot lebih besar yaitu sebesar 3.1% daripada presentase kelompok kontrol tanpa

suplementasi nanopartikel daun kelor yaitu sebesar 1.2 %, Presentase kelompok perlakuan I suplementasi nanopartikel daun kelor dengan dosis 0.5 μM yaitu sebesar 0.6% dan presentase kelompok perlakuan II suplementasi nanopartikel daun kelor dengan dosis 1.0 μM yaitu sebesar 0.6%. Hasil uji *Kruskal Wallis* menunjukkan nilai $p=0.042$ yang berarti $p<0.05$. Hasil analisis *Kruskal Wallis* kemudian dilanjutkan dengan Uji *Mann Whitney* untuk mengetahui beda antar kelompok variabel pembelahan zigot. Kelompok yang paling berbeda terdapat pada kelompok perlakuan III suplementasi nanopartikel daun kelor dengan dosis 2.0 μM terhadap kelompok perlakuan I suplementasi nanopartikel daun kelor dengan dosis 0.5 μM yaitu sebesar .020 dan pada kelompok perlakuan III suplementasi nanopartikel daun kelor dengan dosis 2.0 μM terhadap kelompok perlakuan II suplementasi nanopartikel daun kelor dengan dosis 1.0 μM yaitu sebesar .043

Kesimpulan penelitian ini adalah suplementasi nanopartikel daun kelor (*Moringa oleifera* Lam) dosis 2.0 μM dapat meningkatkan pembelahan zigot pada kultur embrio kambing secara *in vitro*.

Saran untuk penelitian selanjutnya adalah pemberian dosis 2.0 μM nanopartikel daun kelor dapat meningkatkan pembelahan zigot maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan dosis yang lebih tinggi dari 2.0 μM sesuai uji farmako. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai perkembangan embrio tahap selanjutnya.

SUMMARY**MORINGA LEAF (*Moringa oleifera* Lam) NANOPARTICLE SUPPLEMENTATION IN GOAT EMBRYO CULTURE *IN VITRO* ON ZYGOTE CLEAVAGE****Alfina Aisatus Saadah**

The development of science and technology in the last few decades has developed the reproductive biotechnology such as *In Vitro Fertilization* (FIV). The success of *In Vitro Fertilization* (FIV) is not only influenced by oocytes, but also by the spermatozoa used to fertilize and the culture medium used. The physiological conditions of the culture medium affect fertilization and growth of embryo.

One of the causes of zygote failure to overcome cell block (developmental barriers) due to oxidative stress in zygote. If the zygote cannot pass through developmental barriers (cell block), cleavage does not occur. Oxidative stress can damage the structure and function of zygotes due to free radicals of *Reactive Oxygen Species* (ROS) produced by endogenous factors such as normal cell metabolism and exogenous factors such as CO₂, temperature and pH of the culture medium. Endogenous antioxidant defenses in the zygote are not enough to fight the oxidative stress encountered during *in vitro* culture so that it can damage the cell membrane, DNA nucleus, and cytoplasm in the zygote.

To overcome this, the excess *Reactive Oxygen Species* (ROS) present in the embryo culture medium *in vitro* which needs to be suppressed by exogenous antioxidants from Moringa leaves in the form of nanoparticles for accelerating the absorption of a macromolecular compound. *Moringa oleifera* Lam contains antioxidant polyphenol compounds, flavonoid flavanols, which are quercetin, which is the most antioxidant content in Moringa leaves. Quercetin will bind free radical species so that they can reduce the reactivity of free radicals in the presence of hydroxyl groups (OH⁻) at C to 3, 5, 7, 3', and 4' and catechol ring β.

This study aims to analyze influence the supplementation of *Moringa oleifera* Lam leaf nanoparticles is effective to increase zygote division in goat embryo culture *in vitro*.

This study uses a research design that is a pure experiment with a research design using a completely randomized design (CRD) with the Randomize Posttest-only Control Group Design approach. This study were divided into 4 groups according to the inclusion criteria, the control group K without Moringa leaf nanoparticle supplementation, treatment group I P1 Moringa leaf nanoparticle supplementation with a dose of 0.5 μM, treatment group II P2 supplementation of Moringa leaf nanoparticles with a dose of 1.0 μM, treatment group III P3 Moringa leaf nanoparticle supplementation at a dose of 2.0 μM. Embryo culture was carried out in a 5% CO₂ incubator, temperature 38.5°C for 48 hours, then observed under an inverted microscope.

The results of the zygote cleavage percentage of treatment group III Moringa leaf nanoparticle supplementation with 2.0 μM dose obtained zygote division percentage of 3.1 % greater than the percentage of the control group

without the supplementation of Moringa leaf nanoparticles which is 1.2%, the percentage of treatment group I is Moringa leaf nanoparticle supplementation with a dose of 0.5 μM that is equal to 0.6% and the percentage of treatment group II supplementation of Moringa leaf nanoparticles with a dose of 1.0 μM that is equal to 0.6%. Kruskal Wallis test results showed a value of $p = 0.042$ which means $p < 0.05$. The results of the Kruskal Wallis analysis then proceed with the Mann Whitney Test to determine differences between groups of zygote fission variables. The most different groups were in the treatment group III Moringa leaf nanoparticle supplementation with a dose of 2.0 μM to the treatment group I Moringa leaf nanoparticle supplementation with a dose of 0.5 μM that is equal to .020 and in the treatment group III Moringa leaf nanoparticle supplementation with a dose of 2.0 μM to the treatment group II supplementation of moringa leaf nanoparticles with a dose of 1.0 μM that is equal to .043

The conclusion of this study is the supplementation of Moringa leaf (*Moringa oleifera Lam*) nanoparticles dose 2.0 μM can increase zygote division in goat embryo culture *in vitro*.

Suggestions for further research is the administration of 2.0 μM moringa leaf nanoparticles can increase zygote division, so further research needs to be done with doses higher than 2.0 μM according to the pharmacose test. Further research is needed regarding the development of embryo stages.