

**PENGARUH HIPOKSIA SISTEMIK KRONIK TERHADAP
AKTIVITAS SPESIFIK ENZIM KATALASE (EC 1.11.1.6)
DARAH DAN OTAK TIKUS *SPRAGUE DAWLEY* SETELAH
DIBERI EKSTRAK BUAH MAJA (*AEGLE MARMELLOS*)**

SKRIPSI



Disusun oleh

Selly Herlia Rudianti

405150149

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS TARUMANAGARA**

JAKARTA

2018

**PENGARUH HIPOKSIA SISTEMIK KRONIK TERHADAP
AKTIVITAS SPESIFIK ENZIM KATALASE (EC 1.11.1.6)
DARAH DAN OTAK TIKUS *SPRAGUE DAWLEY* SETELAH
DIBERI EKSTRAK BUAH MAJA (*AEGLE MARMELLOS*)**

SKRIPSI



**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar
Sarjana Kedokteran (S.Ked) pada Fakultas Kedokteran
Universitas Tarumanagara Jakarta**

Selly Herlia Rudianti

405150149

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS TARUMANAGARA
JAKARTA**

2018

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Saya, Selly Herlia Rudianti, NIM: 405150149

Dengan ini menyatakan, menjamin bahwa skripsi yang diserahkan kepada Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara, berjudul

Pengaruh Hipoksia Sistemik Kronik Terhadap Aktivitas Spesifik Enzim Katalase (EC 1.11.1.6) Darah dan Otak Tikus *Sprague Dawley* Setelah Diberi Ekstrak Maja (*Aegle marmelos*) merupakan hasil karya sendiri, semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar dan tidak melanggar ketentuan plagiarisme dan otoplagiarisme.

Saya menyatakan memahami adanya larangan plagiarisme dan otoplagiarisme dan dapat menerima segala konsekuensi jika melakukan pelanggaran menurut ketentuan peraturan perundang-undangan dan peraturan lain yang berlaku di lingkungan Universitas Tarumanagara.

Pernyataan ini dibuat dengan penuh kesadaran dan tanpa paksaan dari pihak manapun.

Jakarta, 25 Mei 2018

(Selly Herlia Rudianti)

405150149

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh

Nama : Selly Herlia Rudianti

NIM : 405150149

Program studi : Sarjana Kedokteran

Judul Skripsi : Pengaruh Hipoksia Sistemik Kronik Terhadap Aktivitas Spesifik Enzim Katalase (EC 1.11.1.6) Darah dan Otak Tikus *Sprague Dawley* Setelah Diberi Ekstrak Buah Maja (*Aegle marmelos*)

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran (S. Ked.) pada Program Studi Sarjana Kedokteran Fakultas Kedokteran, Universitas Tarumanagara.

DEWAN PENGUJI

Pembimbing : dr. David Limanan, M. Biomed (.....)

Ketua Sidang : Dr. dr. Meilani Kumala, MS., SpGK(K) (.....)

Penguji 1 : Prof. Dr. dr. Frans Ferdinal, MS. (.....)

Penguji 2 : dr. David Limanan, M. Biomed (.....)

Mengetahui,

Dekan : Dr. dr. Meilani Kumala, MS., SpGK(K) (.....)

Ditetapkan di : Jakarta

Tanggal : 6 Juli 2018

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa, penulis akhirnya dapat menyelesaikan skripsi dengan baik. Skripsi ini merupakan prasyarat agar dapat dinyatakan lulus sebagai Sarjana Kedokteran. Selama proses pendidikan mulai dari awal hingga akhir, banyak sekali pengalaman yang didapatkan oleh penulis untuk berkarir sebagai dokter di kemudian hari.

Selama proses penyusunan skripsi ini penulis mengalami keterbatasan dalam mengerjakan penelitian. Oleh karena itu penulis mengucapkan terima kasih kepada beberapa pihak yang telah mendukung keberhasilan penyusunan skripsi ini. Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada:

1. DR. dr. Meilani Kumala, MS, Sp.GK(K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara Jakarta.
2. dr. David Limanan, M. Biomed selaku pembimbing.
3. Prof. Dr. dr. Frans Ferdinal, M.S
4. Ibu Eny selaku Staff Laboratorium Biokimia.
5. Belinda Sentosa, Erics Efrany, Clareta Vero Patricia W, Grace Madeline, Alfred Hartoyo Alphanto dan seluruh teman-teman yang mengambil bagian dalam penelitian ini.
6. Orang tua, Maisie Thalia, Verren Natasya Nonsky dan Petrus Mario Tromp Ipsan yang memberikan motivasi dalam menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi

Akhir kata, semoga Tuhan Yang Maha Esa berkenan membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Semoga skripsi ini membawa manfaat bagi pengembangan ilmu.

Jakarta, 25 Mei 2018

Penulis

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA
ILMIAH**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Selly Herlia Rudianti

NIM : 405150149

Program Studi : S1 Pendidikan Dokter

Fakultas : Fakultas Kedokteran

Jenis Karya : Skripsi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memublikasikan karya ilmiah saya yang berjudul :

Pengaruh Hipoksia Sistemik Kronik Terhadap Aktivitas Spesifik Enzim Katalase (EC 1.11.1.6) Darah dan Otak Tikus Sprague Dawley Setelah Diberi Ekstrak Buah Maja (*Aegle marmelos*)

Serta mencantumkan nama Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara.

Demikian Pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Jakarta, 25 Mei 2018

Yang menyatakan,

(Selly Herlia Rudianti)

405150149

ABSTRACT

Hypoxia is a condition of decreased oxygen supply which leads to increased free radicals, causing oxidative stress. Oxidative stress can cause damage to organs, especially in brain such as Alzheimer's. Antioxidants can help reduce damage caused by oxidative stress. The source of antioxidant can come from endogenous (catalase) and exogenous as secondary metabolites in Bael fruits (Aegle marmelos) like phenolic and flavonoid. This study was conducted to determine effect of Bael fruit to catalase specific enzyme level of brain and blood in Sprague-Dawley rats induced with chronic systemic hypoxia. Using experimental design with In-vitro examination: qualitative phytochemistry test: Alkaloid test (Dragendorff and Meyer), steroid and terpenoid (Liebermann-Buchard). DPPH total capacity (Blois), phenolic (Singleton and Rossi) and flavonoid (Woisky and Salatino), toxicity (Meyer). In-vivo examination: Microscopic changes of brain tissues and Catalase examination (Mates): Rats were divided into 2 groups, which were given and not given extracts at a dose of 400mg/kgBW/day for 14 days. Each group were divided into 4 sub-groups as the following: given hypoxic treatment (8% O₂ and 92% N₂) for 3, 7 and 14 days, and normoxia (n = 4). Qualitative phytochemistry test showed flavonoid, phenolic, and terpenoid. Antioxidant total capacity DPPH (IC₅₀ 268.35 µg/mL), toxicity (243.316 ppm) Catalase enzyme specific activity in brain and blood of rats showed significant decreased level on blood given and not given extract. On brain in 3, 7, dan 14 days (p=0,0286). There is significant correlation between brain and blood given and not given extract. Pathological characteristics showed necrosis and edema. Bael fruit has antioxidant property and has potential as anticancer.

Keywords: Aegle marmelos, hypoxia, catalase, brain, antioxidant.

ABSTRAK

Hipoksia adalah keadaan suplai oksigen tubuh menurun sehingga terjadi peningkatan radikal bebas yang menyebabkan stres oksidatif yang berujung pada kerusakan organ tubuh terutama otak seperti Alzheimer. Antioksidan dapat mengurangi kerusakan akibat stres oksidatif, sumber antioksidan dapat berasal dari endogen (katalase) dan eksogen seperti metabolit sekunder buah Maja (*Aegle marmelos*) yaitu fenolik dan flavonoid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak buah Maja terhadap aktivitas spesifik enzim katalase otak dan darah pada tikus Sprague-Dawley yang diinduksi hipoksia sistemik kronik. Menggunakan desain eksperimental dengan metode pemeriksaan in-vitro: uji fitokimia kualitatif: uji alkaloid (Dragendorff dan Meyer), uji Steroid dan Terpenoid (Liebermann-Buchard), Uji kapasitas total DPPH (Blois), kadar fenolik (Singleton dan Rossi) dan flavonoid (Woisky dan Salatino), uji toksisitas (Meyer). Pemeriksaan in-vivo: Pemeriksaan mikroskopik jaringan otak dan katalase (Mates): Tikus dibagi menjadi 2 kelompok dicekok dan tidak cekok menggunakan ekstrak dengan dosis 400mg/kgBB/hari selama 14 hari. Setiap kelompok dibagi menjadi 4 sub-kelompok yang di hipoksia (8% O₂ dan 92% N₂) selama 3,7,14 hari dan normoksia (n=4). Didapatkan hasil uji fitokimia kualitatif seperti flavonoid, fenolik, terpenoid. Hasil uji kapasitas total antioksidan DPPH (IC₅₀ 268,35 µg/mL), kadar fenolik (3187,500 ± 182 µg/mL) dan flavonoid (8,926 ± 0,3205 µg/mL), toksisitas (243,316 ppm). Aktivitas spesifik enzim katalase pada otak dan darah ditemukan penurunan bermakna pada darah cekok dan tidak cekok, serta pada otak 3,7, dan 14 hari bila dibandingkan dengan normoksia (p=0,0286). Terdapat korelasi bermakna antara darah dengan otak cekok dan tidak cekok. Gambaran patologi ditemukan nekrosis dan edema. Penelitian ini dapat disimpulkan Buah Maja mempunyai kemampuan antioksidan dan berpotensi sebagai antikanker.

Kata Kunci: *Aegle marmelos*., hipoksia, katalase, otak, antioksidan.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH	v
ABSTRACT	vii
ABSTRAK	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR SINGKATAN	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Hipotesis Penelitian.....	3
1.4 Tujuan Penelitian.....	3
1.4.1 Tujuan Umum	3
1.4.2 Tujuan Khusus.....	4
1.5 Manfaat Penelitian	5
2. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Penelusuran Literatur	6
2.2 Kerangka Teori.....	15
2.3 Kerangka Konsep.....	16
3 METODE PENELITIAN	17
3.1 Desain Penelitian.....	17
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	17
3.3 Populasi dan Sampel Penelitian	17
3.4 Perkiraan Besar Sampel	18
3.5 Kriteria Inklusi danEksklusi.....	18
3.6 Cara Kerja Penelitian	18
3.7 Variabel Penelitian	28
3.8 Definisi Operasional.....	28
3.9 Instrumen Penelitian.....	29
3.10 Pengumpulan Data	30
3.11 Analisis Data	30
3.12 Alur Penelitian.....	31
3.13 Jadwal Pelaksanaan.....	32
4 HASIL PENELITIAN.....	33
4.1 Uji Fitokimia	33
4.2 Uji Kapasitas Total DPPH.....	33
Universitas Tarumanagara	ix

4.2.1 Panjang Gelombang Optimum DPPH.....	33
4.2.3 Uji DPPH Asam Askorbat.....	34
4.2.3 Uji DPPH Sampel	35
4.3 Uji Fenolik Sampel	36
4.4 Uji Flavonoid Sampel	38
4.5 Uji Toksisitas Sampel.....	39
4.6 Hasil Pengukuran Aktivitas Spesifik Enzim Katalase	40
4.6.1 Penghitungan Konsentrasi H ₂ O ₂	40
4.6.2 Pengukuran Standar Protein	41
4.6.3 Waktu Pengenceran Optimal	42
4.6.3.1 Waktu Pengenceran Optimal Darah	42
4.6.3.1 Waktu Pengenceran Optimal Otak	43
4.6.4 Aktivitas Spesifik Enzim Katalase	44
4.6.4.1 Aktivitas Spesifik Enzim Katalase Darah	44
4.6.4.2 Aktivitas Spesifik Enzim Katalase Otak	47
4.6.5 Hubungan Aktivitas Spesifik Enzim Katalase pada Darah dan Otak	50
4.7 Hasil Pemeriksaan Patologi Anatomi Otak	52
5 PEMBAHASAN	55
5.1 Hasil Uji Fitokimia.....	55
5.2 Hasil Uji Kapasitas Total DPPH	55
5.3 Hasil Uji Fenolik dan Flavonoid.....	56
5.4 Hasil Uji Toksisitas	56
5.5 Hasil Aktivitas Spesifik Enzim Katalase.....	57
5.6 Hasil Patologi Anatomi Otak	58
5.7 Keterbatasan Penelitian	58
6 KESIMPULAN DAN SARAN	59
6.1 Kesimpulan	59
6.2 Saran	60
DAFTAR PUSTAKA	61
LAMPIRAN	66
RIWAYAT HIDUP.....	98

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1 Jadwal Pelaksanaan Penelitian	32
Tabel 4.1 Hasil Uji Fitokimia.....	33
Tabel 4.2 % Inhibisi dan IC ₅₀ Standar Asam Askorbat	35
Tabel 4.3 % Inhibisi dan IC ₅₀ Ekstrak Buah Maja	36
Tabel 4.4 Konsentrasi dan Absorbansi Larutan Standar Tannin	37
Tabel 4.5 Rata-rata Konsentrasi Fenolik Ekstrak Buah Maja	38
Tabel 4.6 Konsentrasi dan Absorbansi Larutan Standar Quersetin.....	39
Tabel 4.7 Rata-rata Konsentrasi Flavonoid Ekstrak Buah Maja	40
Tabel 4.8 Data <i>Brine Shrimp Lethality Test</i>	41
Tabel 4.9 Absorbansi BSA	41
Tabel 4.10 Hasil Optimasi Pengenceran dan Waktu Darah.....	43
Tabel 4.11 Hasil Optimasi Pengenceran dan Waktu Otak.....	44
Tabel 4.12 Rata-rata Aktivitas Spesifik Enzim Katalase Darah Tikus Yang Tidak Dicekok.....	44
Tabel 4.13 Rata-rata Aktivitas Spesifik Enzim Katalase Darah Tikus Yang Dicekok	45
Tabel 4.14 Rata-rata Aktivitas Spesifik Enzim Katalase Otak Tikus Yang Tidak Dicekok	48
Tabel 4.15 Rata-rata Aktivitas Spesifik Enzim Katalase Otak Tikus Yang Dicekok	49

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Kerangka Teori	15
Gambar 2.5 Kerangka Konsep	16
Gambar 3.1 Alur Penelitian.....	31
Gambar 4.1 Panjang Gelombang Optimum DPPH.....	34
Gambar 4.2 Grafik % Inhibisi Terhadap Konsentrasi Asam Askorbat	35
Gambar 4.3 Grafik % Inhibisi Terhadap Konsentrasi Ekstrak Buah Maja	36
Gambar 4.4 Kurva Kalibrasi Standar Tanin	37
Gambar 4.5 Kurva Kalibrasi Standar Kuersetin	39
Gambar 4.6 Grafik Hasil Uji Toksisitas Sampel Ekstrak Buah Maja	40
Gambar 4.7 Kurva Standar BSA	42
Gambar 4.8 Rata-rata Aktivitas Spesifik Enzim Katalase Darah Tikus Yang Tidak Dicekok	45
Gambar 4.9 Rata-rata Aktivitas Spesifik Enzim Katalase Darah Tikus Yang Dicekok	46
Gambar 4.10 Rata-rata Aktivitas Spesifik Enzim Katalase Darah Tikus Yang Dicekok dan Tidak Dicekok.....	47
Gambar 4.11 Rata-rata Aktivitas Spesifik Enzim Katalase Otak Tikus Yang Tidak Dicekok	48
Gambar 4.12 Rata-rata Aktivitas Spesifik Enzim Katalase Otak Tikus Yang Dicekok	49
Gambar 4.12 Rata-rata Aktivitas Spesifik Enzim Katalase Otak Tikus Yang Dicekok dan Tidak Dicekok.....	50
Gambar 4.13 Grafik Hubungan Rata-rata Aktivitas Spesifik Enzim Katalase pada Otak dan Darah Tikus Yang Dicekok.....	51
Gambar 4.16 Otak Kelompok P1	52
Gambar 4.17 Otak Kelompok P4.....	53
Gambar 4.18 Otak Kelompok P5	53
Gambar 4.19 Otak Kelompok P8.....	54

DAFTAR SINGKATAN

AlCl ₃	Aluminium Chloride
ATP	Adenosine Triphosphate
BSA	Bovine Serum Albumin
BSLT	Brine Shrimp Lethality Test
CO ₃ ^{•-}	Karbonat
CO ₂	Karbon dioksida
CO ₂ ^{•-}	Karbon dioksida
CAT	Catalase
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
EDTA	<i>Ethylenediaminetetraacetic acid</i>
FeCl ₃	Ferri Chloride
GPx	Glutation Peroksidase
GRx	Glutation Reduktase
H ₂ O	Air
H ₂ O ₂	Hidrogen Peroksida
H ₂ SO ₄	Hidrogen sulfat
HCl	Hidrogen Klorida
HO ₂ [•]	Hidroperoksil
HOBr ^c	Asam Hipobromus
HOCl ^b	Asam Hipoklorus
HOOCO ₂ ⁻	Peroksomonokarbonat
IC ₅₀	<i>The half maximal inhibitory concentration</i>
KH ₂ PO ₄	Monopotassium Phosphate
LC ₅₀	<i>Lethal Dose at which 50% population killed</i>
Mg	Magnesium
MnSOD	Manganese containing superoxide dismutase
Na ₂ CO ₃	Natrium Karbonat
NaNO ₂	Sodium Nitrit
NaOH	Sodium Hydroxide
O ₂	Oksigen
O ^{•-}	Superoksid
O ₂ ⁻	Superoksida
OH ⁻	Hidroksil
OH [•]	Hidroksil
ONOO ^{-c}	Peroksinitrit
PBS	Phosphate Buffer Saline
ROS	Reactive Oxygen Species
RCS	Reactive Chlorine Species
RNS	Reactive Nitrogen Species
RO [•]	Alkaloksil
RO [•]	Peroksil

RO ₂	Peroksil
ROOH	Peroksida Organik
SOD	Superoksida Dismutase

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Kaji Etik.....	66
Lampiran 2 Identifikasi tumbuhan.....	67
Lampiran 3 Tabel Berat Badan dan Berat Otak Tikus	68
Lampiran 4 Pengukuran Pada Sampel	70
Lampiran 5 Foto Alat dan Dokumentasi Selama Pengerjaan.....	96