

**EFEK PEMBERIAN EKSTRAK BUAH MAJA TERHADAP
KADAR GLUTATION TEREDUKSI (GSH) DARAH DAN
HEPAR TIKUS *SPRAGUE DAWLEY* YANG DIINDUKSI
HIPOKSIA**

SKRIPSI



Disusun oleh

CLARETA VERO PATRICIA WIDYA

405150132

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS TARUMANAGARA
JAKARTA**

2018

**EFEK PEMBERIAN EKSTRAK BUAH MAJA TERHADAP
KADAR GLUTATION TEREDUKSI (GSH) DARAH DAN
HEPAR TIKUS *SPRAGUE DAWLEY* YANG DIINDUKSI
HIPOKSIA**

SKRIPSI



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

CLARETA VERO PATRICIA WIDYA

405150132

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS TARUMANAGARA
JAKARTA**

2018

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Saya, Clareta Vero Patricia Widya, NIM: 405150132

Dengan ini menyatakan, menjamin bahwa skripsi yang diserahkan kepada Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara, berjudul Efek Pemberian Ekstrak Buah Maja terhadap Kadar Glutation Tereduksi (GSH) Darah dan Hepar Tikus *Sprague Dawley* yang Diinduksi Hipoksia merupakan hasil karya saya 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, 4 Juli 2018

Clareta Vero Patricia Widya

405150132

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh

Nama : Clareta Vero Patricia Widya

NIM : 405150132

Program Studi : Kedokteran

Judul Skripsi : Efek Pemberian Ekstrak Buah Maja terhadap Kadar Glutation Tereduksi (GSH) Darah dan Hepar Tikus *Sprague Dawley* yang Diinduksi Hipoksia

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

Ketua Sidang : dr. Tom Surjadi, M.PH ()

Penguji 1 : Dr. dr. Siufui Hendrawan, M.Biomed ()

Penguji 2 : Prof. Dr. dr. Frans Ferdinal, MS. ()

Mengetahui,

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

Ditetapkan di : Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara

Tanggal : 4 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. Prof. Dr. dr. Frans Ferdinal, MS. selaku pembimbing skripsi.
2. dr. David Limanan, M.Biomed selaku pembimbing akademis dan dosen pengajar.
3. Ibu Eny Yulianti selaku staf Laboratorium Biokimia dan Biologi Molekuler.
4. Drh. Wien dan Bapak Shahrul selaku staf Pusat Penelitian dan Pengembangan Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan Kemenkes.
5. Orang tua yang telah memberikan dukungan dan semangat dalam menyelesaikan penelitian ini.
6. Teman-teman dan para sahabat yang juga memberikan dukungan dan semangat dalam menyelesaikan penelitian ini.

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, 4 Juli 2018

Penulis

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN
PUBLIKASI KARYA ILMIAH**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Clareta Vero Patricia Widya

NIM : 405150132

Program Studi : Kedokteran

Fakultas : Kedokteran

Jenis karya : Skripsi

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

Efek Pemberian Ekstrak Buah Maja terhadap Kadar Glutation Tereduksi (GSH) Darah dan Hepar Tikus *Sprague Dawley* yang Diinduksi Hipoksia serta mencantumkan nama Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Jakarta, 4 Juli 2018

Yang menyatakan,

Clareta Vero Patricia Widya

405150132

ABSTRACT

Pathogenesis of various hepatic diseases is caused by oxidative stress, unbalanced state of reactive oxygen species (ROS) and antioxidants. Antioxidants, endogenous and exogenous, can reduce the damage caused oxidative stress. One of the endogenous antioxidants is glutathione (GSH), in an oxidative state exogenous antioxidant is required, for example maja fruit (Aegle marmelos (L.)). This study was conducted to determine the antioxidant content of maja fruit including its effect on GSH of blood and liver levels of Sprague Dawley rats induced by hypoxia. In vitro tests included screening for phytochemical profiles, antioxidant capacity (DPPH), phenolic levels (Singleton & Rossi method), flavonoids (Woisky & Salatino method), and toxicity (BSLT). In vivo tests were also conducted with animals divided into 2 groups: without administration and with administration of maja fruit extract orally for 2 weeks. Then divided into 4 subgroups: normoxia, 3 days, 7 days, and 14 days hypoxia (8% O₂). GSH levels of blood and liver tissue were measured with Ellman's method. Histopathology of tissue with Hematoxylin-Eosin (H & E) staining. Phytochemical profiles showed positive results in alkaloids, phenolics, flavonoids, and terpenoids. IC₅₀ = 268.35 µg / mL. Phenolic contents 3190.93 µg / mL, flavonoid contents 8,912 µg / mL, and LC₅₀ = 190.90 µg / mL. A decrease in GSH levels was higher in the control group than in the blood and liver tests of mice as the duration of hypoxic treatment increased. In histopathology, hepatocytes were found to swell in hypoxic treatment. Maja fruit extract has good antioxidant activity and potency as anticancer.

Keywords: Oxidative stress, ROS, GSH, Aegle marmelos, liver

ABSTRAK

Patogenesis berbagai penyakit hepar disebabkan oleh stres oksidatif, yaitu keadaan tidak seimbangnya *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan antioksidan. Antioksidan, endogen dan eksogen, dapat meredam kerusakan yang ditimbulkan stres oksidatif. Salah satu antioksidan endogen adalah glutathion (GSH), yang dalam keadaan stres oksidatif jumlahnya tidak memadai sehingga diperlukan antioksidan eksogen yang berasal dari luar tubuh, contohnya buah maja (*Aegle marmelos* (L.)). Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kandungan antioksidan buah maja termasuk efeknya terhadap kadar GSH darah dan hepar tikus *Sprague Dawley* yang diinduksi hipoksia. Dilakukan uji *in vitro* meliputi skrining profil fitokimia, kapasitas antioksidan (DPPH), pengukuran kadar fenolik (metode Singleton & Rossi), kadar flavonoid (metode Woisky & Salatino), dan toksisitas (BSLT). Dilakukan pula uji *in vivo* dengan hewan coba yang dibagi menjadi kelompok uji (diberi ekstrak buah maja) dan kontrol (tidak diberikan) serta diberi perlakuan normoksia, hipoksia 3, 7, dan 14 hari. Kadar GSH jaringan diukur dengan metode Ellman. Histopatologi jaringan dengan pewarnaan Hematoxylin-Eosin (H&E). Profil fitokimia menunjukkan hasil positif pada alkaloid, fenolik, flavonoid, dan terpenoid. $IC_{50} = 268.35 \mu\text{g/mL}$. Kadar fenolik $3190.93 \mu\text{g/mL}$, kadar flavonoid $8.912 \mu\text{g/mL}$, serta $LC_{50} = 190.90 \mu\text{g/mL}$. Terjadi penurunan kadar GSH yang lebih tinggi pada kelompok kontrol dibandingkan uji pada darah dan hepar tikus seiring bertambahnya durasi perlakuan hipoksia. Pada histopatologi ditemukan hepatosit yang membengkak pada perlakuan hipoksia. Ekstrak buah maja memiliki kandungan fitokimia, kapasitas antioksidan, kadar fenolik & flavonoid yang baik serta berpotensi sebagai antikanker.

Kata-kata kunci: stres oksidatif, ROS, GSH, *Aegle marmelos*, hepar

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
KATA PENGANTAR	iv
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN.....	v
PUBLIKASI KARYA ILMIAH	v
ABSTRACT.....	vi
ABSTRAK	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR SINGKATAN	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
BAB 1 – PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Hipotesis Penelitian.....	3
1.4 Tujuan Penelitian	4
1.5 Manfaat Penelitian	4
BAB 2 – TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Penelusuran Literatur	5
2.2 Kerangka Teori	17
2.3 Kerangka Konsep.....	18
BAB 3 – METODE PENELITIAN.....	19
3.1 Desain Penelitian	19
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	19
3.3 Sampel Hewan Coba.....	19
3.4 Perkiraan Besar Sampel	20
3.5 Keterangan Lolos Kaji Etik	20
3.6 Kriteria Inklusi	20
3.7 Cara Kerja Penelitian	21
3.8 Variabel Penelitian.....	29
3.9 Definisi Operasional	30
3.10 Instrumen Penelitian.....	30
3.11 Pengumpulan Data	31
3.12 Analisis Data	31
3.13 Alur Penelitian	32
3.14 Jadwal Pelaksanaan	33
BAB 4 – HASIL PENELITIAN	34
4.1. Hasil Uji Profil Fitokimia Ekstrak Buah Maja	34
4.2. Hasil Uji Kapasitas Antioksidan (<i>Free Radical Scavenging Assay</i>)	35
4.3. Hasil Uji Total Fenolik Ekstrak Buah Maja	37
4.4. Hasil Uji Total Flavonoid Ekstrak Buah Maja	39
4.5. Hasil Uji Toksisitas.....	40

4.6. Hasil Uji pada Hewan Coba.....	42
4.7. Patologi Anatomi Jaringan Hepar Tikus yang Diinduksi Hipoksia.....	51
BAB 5 – PEMBAHASAN	53
5.1 Uji Profil Fitokimia Ekstrak Buah Maja	53
5.2 Uji Kapasitas Antioksidan (<i>DPPH Free Radical Scavenging Assay</i>)	54
5.3 Uji Kadar Total Fenolik dan Flavonoid	56
5.4 Uji Toksisitas	56
5.5 Kadar GSH Darah dan Hepar	58
5.6 Histopatologi Jaringan Hepar yang Diinduksi Hipoksia	61
BAB 6 – KESIMPULAN & SARAN	62
DAFTAR PUSTAKA	63

DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 ROS Radikal dan Non-Radikal	7
Tabel 2. 2 Contoh Oksidan Endogen Mayor.....	8
Tabel 2. 3 Antioksidan Endogen Enzimatik	12
Tabel 2. 4 Taksonomi buah maja	16
Tabel 3. 1 Jadwal pelaksanaan penelitian	33
Tabel 4. 1 Kesimpulan Analisis Fitokimia Ekstrak Buah Maja.....	34
Tabel 4. 2 Konsentrasi, Absorbansi dan Persentase Inhibisi Larutan Standar Vitamin C	36
Tabel 4. 3 Konsentrasi, Absorbansi, Persentase Inhibisi dan IC ₅₀ Ekstrak Buah Maja.....	37
Tabel 4. 4 Konsentrasi dan Nilai Absorbansi Larutan Standar Tanin.....	37
Tabel 4. 5 Nilai Absorbansi dan Kadar Fenolik Ekstrak Buah Maja.....	38
Tabel 4. 6 Konsentrasi dan Nilai Absorbansi Larutan Standar Kuersetin	39
Tabel 4. 7 Nilai Absorbansi dan Kadar Flavonoid Ekstrak Buah Maja.....	40
Tabel 4. 8 Pengaruh Berbagai Konsentrasi Ekstrak Buah Maja terhadap Larva <i>A. salina Leach</i>	40
Tabel 4. 9 Kadar dan Nilai Absorbansi Standar GSH.....	42
Tabel 4. 10 Perbandingan Rata-rata Kadar GSH Darah pada Kelompok Kontrol dan Kelompok Uji	43
Tabel 4. 11 Perbandingan Rata-rata Kadar GSH Hepar pada Kelompok Kontrol dan Kelompok Uji	46

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Keseimbangan ROS dan Antioksidan	5
Gambar 2.2 Konfigurasi elektron molekul O ₂	6
Gambar 2.3 Siklus Meister/Siklus Gamma Glutamyl	13
Gambar 2.4 Klasifikasi Metabolit Sekunder	14
Gambar 2.5 Klasifikasi Antioksidan Tumbuhan	15
Gambar 2.6 Kerangka Teori	17
Gambar 2.7 Kerangka Konsep	18
Gambar 3.1 Alur Penelitian	32
Gambar 4.1 Kurva Regresi Linear Konsentrasi dan Persentase Inhibisi Standar Vitamin C	35
Gambar 4.2 Kurva Regresi Linear Konsentrasi dan Persentase Inhibisi Ekstrak Buah Maja	36
Gambar 4.3 Kurva Standar Tanin	38
Gambar 4.4 Kurva Standar Kuersetin	39
Gambar 4.5 Kurva Regresi Linear Konsentrasi Ekstrak Buah Maja dan Persentase Kematian Larva <i>A. salina</i> Leach	41
Gambar 4.6 Kurva Standar GSH	42
Gambar 4.7 Kadar GSH Darah Kelompok Tikus Kontrol/Tidak Dicekok Ekstrak Buah Maja	43
Gambar 4.8 Kadar GSH Darah Kelompok Tikus Uji/Dicekok Ekstrak Buah Maja	44
Gambar 4.9 Perbandingan Kadar GSH Darah antara Kelompok Tikus Kontrol & Uji	45
Gambar 4.10 Kadar GSH Hepar Kelompok Tikus Kontrol/Tidak Dicekok Ekstrak Buah Maja	46
Gambar 4.11 Kadar GSH Hepar Kelompok Tikus Uji/Dicekok Ekstrak Buah Maja	47
Gambar 4.12 Perbandingan Kadar GSH Hepar antara Kelompok Tikus Kontrol & Uji	48
Gambar 4.13 Perbandingan Kadar GSH Darah dan Hepar Kelompok Tikus Kontrol dan Uji	49
Gambar 4.14 Korelasi Kadar GSH Darah dan Hepar Kelompok Tikus Kontrol	50
Gambar 4.15 Korelasi Kadar GSH Darah dan Hepar Kelompok Tikus Uji	50
Gambar 4.16 Histopatologi Jaringan Hepar Kelompok Kontrol Perlakuan Normoksia	51
Gambar 4.17 Histopatologi Jaringan Hepar Kelompok Uji Perlakuan Normoksia	51
Gambar 4.18 Histopatologi Jaringan Hepar Kelompok Uji Perlakuan Hipoksia 14 Hari	52
Gambar 4.19 Histopatologi Jaringan Hepar Kelompok Kontrol Perlakuan Hipoksia 14 Hari	52

DAFTAR SINGKATAN

•OH	<i>Hydroxyl radical</i>
AlCl ₃	Aluminium klorida
ASH	<i>Alcoholic Steatohepatitis</i>
ATP	<i>Adenosine Tri-Phosphate</i>
BSLT	<i>Brine Shrimp Lethality Test</i>
CAT	<i>Catalase</i>
COX	<i>Cyclooxygenase</i>
DMSO	<i>dimethyl sulfoxide</i>
DNA	<i>Deoxyribonucleic acid</i>
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
DTNB	5,5-dithio-bis-(2-nitrobenzoic)
EDTA	<i>Ethylenediaminetetraacetic acid</i>
FADH ₂	<i>Flavin adenine dinucleotide</i>
FiO ₂	Fraksi oksigen yang terhirup
GCL	<i>Glutamate cysteine ligase</i>
GR	<i>Glutathione reductase</i>
GS	<i>Glutathione synthase</i>
GSH	Glutation
GSSG	<i>Glutathione disulfide</i>
GST	<i>Glutathione transferase</i>
GTPx	<i>Glutathione Peroxidase</i>
HOCl	<i>Hypochlorous acid</i>
H ₂ O ₂	<i>Hydrogen peroxide</i>
H ₂ SO ₄	Asam sulfat
HCC	<i>Hepatocellular Carcinoma</i>
HCl	Asam klorida
HE	<i>Hematoxylin Eosin</i>
HIFs	<i>Hypoxia-inducible factors</i>
HOO ⁻	<i>Hydroperoxyl radical</i>
IC ₅₀	<i>The half maximal inhibitory concentration</i>
iNOS	<i>Inducible Nitric Oxide Synthase</i>
kPa	kilo Pascal
LC ₅₀	Konsentrasi yang diperlukan untuk membunuh 50% sampel
MPO	<i>Myeloperoxidase</i>
mRNA	<i>messenger-Ribonucleic Acid</i>
N ₂	Nitrogen
Na ₂ CO ₃	Natrium karbonat
Na ₂ NO ₃	Natrium nitrat
NADH	<i>Nicotinamide adenine dinucleotide</i>
NADPH	<i>Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphatase</i>
NaNO ₂	Natrium nitrit
NaOH	Natrium hidroksida
NASH	<i>Non-alcoholic Steatohepatitis</i>
O ₂	Oksigen

O_2^-	<i>Superoxide anion</i>
PDH	<i>Pyruvate dehydrogenase</i>
PO_2	Tekanan Parsial Oksigen
PPAR α	<i>Peroxisome proliferator-activated receptor alpha</i>
PRX	<i>Peroxiredoxin</i>
R^2	koefisien determinasi
RNS	<i>Reactive Nitrogen Species</i>
ROO•	<i>Peroxyl radical</i>
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
SEM	<i>Standard Error of the Mean</i>
SOD	<i>Superoxide dismutase</i>
TCA	<i>Thiochloroacetic acid</i>
TNFR1	<i>Tumor necrosis factor receptor-1</i>
TNF- α	<i>Tumor necrosis factor alpha</i>
TRX	<i>Thioredoxin</i>

DAFTAR LAMPIRAN

LAMPIRAN 1 – Hasil Identifikasi/Determinasi Tumbuhan	69
LAMPIRAN 2 – Lembar Persetujuan Etik Peneliti	70
LAMPIRAN 3 – Dokumentasi Buah Maja	71
LAMPIRAN 4 – Pembuatan Ekstrak Buah Maja	71
LAMPIRAN 5 – Dokumentasi Alat dan Bahan Penelitian.....	72
LAMPIRAN 6 – Pengujian Toksisitas dengan metode BSLT	73
LAMPIRAN 7 – Perlakuan Hipoksia dan Pembedakan Tikus	74
LAMPIRAN 8 – Hasil Uji Skrining Fitokimia	75
LAMPIRAN 9 – Hasil Uji Statistik Kadar Total Fenolik.....	76
LAMPIRAN 10 – Hasil Uji Statistik Kadar Total Flavonoid.....	77
LAMPIRAN 11 – Hasil Uji Statistik Aktivitas Antioksidan DPPH.....	78
LAMPIRAN 12 – Hasil Uji Statistik Toksisitas dengan metode BSLT	82
LAMPIRAN 13 – Uji Statistik Regresi Linear Standar GSH.....	83
LAMPIRAN 14 – Hasil Absorbansi GSH Hepar	84
LAMPIRAN 15 – Hasil Absorbansi GSH Darah	86
LAMPIRAN 16 – Uji Statistik Kadar GSH Darah dan Hepar	89
LAMPIRAN 17 – Hasil Uji Korelasi Kadar GSH Darah dan Hepar.....	90