

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN *CRESCENTIA*
CUJETE TERHADAP KADAR MARKER GSH PADA ORGAN
OTAK TIKUS *SPRAGUE DAWLEY* YANG DIINDUKSI
HIPOKSIA**

SKRIPSI



Disusun oleh

ARIO LUKAS

405150072

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS TARUMANAGARA
JAKARTA**

2018

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN *CRESCENTIA*
CUJETE TERHADAP KADAR MARKER GSH PADA ORGAN
OTAK 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**

ARIO LUKAS

405150072

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS TARUMANAGARA
JAKARTA**

2018

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Saya, Ario Lukas, NIM: 405150072

Dengan ini menyatakan, menjamin bahwa skripsi yang diserahkan kepada Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara, berjudul “Pengaruh pemberian ekstrak daun *Crescentia cujete* terhadap kadar marker GSH pada organ otak tikus *Sprague Dawley* yang diinduksi hipoksia” 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 dan 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, 3 Juli 2018

(meterai)

Ario Lukas

405150072

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh

Nama : Ario Lukas
NIM : 405150072
Program Studi : Kedokteran
Judul Skripsi : Pengaruh pemberian ekstrak daun *Crescentia cujete* terhadap kadar marker GSH pada organ otak 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 : dr. Shirly Gunawan, Sp. FK. (.....)
Ketua Sidang : Dr. dr. Siufui Hendrawan, M.Biomed. (.....)
Penguji 1 : dra. Helmi, Msc. (.....)
Penguji 2 : dr. Shirly Gunawan, Sp. FK. (.....)

Mengetahui,

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

Ditetapkan di : Jakarta

Tanggal : 3 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, M.S., Sp. GK(K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara
2. dr. Shirly Gunawan, Sp. FK., selaku Pembimbing
3. Prof. Dr. dr. Frans Ferdinal, M.S.
4. dr. David Limanan, M.Biomed.
5. Ibu Eny selaku Staff Laboratorium Biokimia.
6. Orang tua dan keluarga yang telah memberi dukungan.
7. Teman-teman saya: Ingriani Wionika, Alfred Hartoyo, Stevanno Geraldus, Selly Herlia, Natashia OCH, Belinda Santosa, dan masih banyak lagi teman-teman saya yang saling mendukung dan memotivasi.

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, 3 Juli 2018

Ario Lukas

HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Ario Lukas

NIM : 405150072

Program Studi : Kedokteran

Fakultas : Kedokteran

Jenis Karya : Skripsi

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

“Pengaruh pemberian ekstrak daun *Crescentia cujete* terhadap kadar marker GSH pada organ otak tikus *Sprague Dawley* yang diinduksi hipoksia”

Serta mencantumkan nama Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara.

Demikian pernyataan saya buat dengan sebenarnya.

Jakarta, 3 Juli 2018

Yang menyatakan,

Ario Lukas

405150072

ABSTRACT

*Oxidative stress is a state where the activity of free radicals is exceeding the antioxidants. It caused degenerative diseases, such as Parkinson and Alzheimer. GSH as endogenous antioxidant would decrease due to averting oxidative stress, so it need exogenous antioxidant as supplement. Exogenous antioxidant could be found in Calabash leaves (*Crescentia cujete*). The goals are to identify the effects of Calabash leaves extract in supplementing GSH level in Sprague Dawley mice's brain and blood which are induced with hypoxia. The examinations were conducted in in-vitro and in-vivo. In-vitro examination: phytochemical test, DPPH total capacity test (Blois), phenolic test (Singleton) and flavonoid test (Azizah). Antimitotic examination: BSLT test (Meyer). In-vivo examination: GSH level evaluation (Ellman); mice were classified into four groups (n=8): normoxia and hypoxia (8% O₂ and 92% N₂) for 3, 7, and 14 days. Each group were divided into 2 subgroups; one group were given Calabash leaves extract (tested) and the other one didn't (controlled). Histopathology: evaluation of Sprague Dawley mice's brain. On the DPPH total capacity test, Calabash leaves extract has IC₅₀ value of 158,46 µg/mL, phenolic level of 3.694,286 µg/mL, and flavonoid level of 9,632 µg/mL. Therefore, Calabash leaves has antioxidant capability. BSLT test showed LC₅₀ value of 370,875 µg/mL, making it potential of becoming antimitotic agent. The GSH levels declined from normoxia groups to the 14 days-hypoxia groups, and the tested group shows a higher level than the controlled group (both proportionally treated). Histopathology evaluation showed edema and necrotic cells in mice's brain. In conclusions, Calabash leaves can be use as antioxidant supplement and antimitotic agent.*

Keywords: Crescentia cujete, GSH, Hypoxia, Oxidative stress, Sprague Dawley

ABSTRAK

Stres oksidatif adalah suatu keadaan dimana aktivitas radikal bebas melebihi antioksidan. Stres oksidatif menyebabkan berbagai penyakit degeneratif, seperti Parkinson dan Alzheimer. GSH sebagai antioksidan endogen akan menurun karena terpakai untuk meredam radikal bebas, sehingga perlukan tambahan antioksidan eksogen. Daun berenuk (*Crescentia cujete*) dapat menjadi bahan antioksidan eksogen. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui pengaruh ekstrak daun berenuk dalam menambah kadar GSH dalam otak dan darah tikus *Sprague Dawley* yang telah dihipoksia. Penelitian ini dilakukan secara *in-vitro* dan *in-vivo*. Pemeriksaan *in-vitro*: uji fitokimia, uji kapasitas total DPPH (Blois), uji fenolik (Singleton), dan uji flavonoid (Azizah). Pemeriksaan antimitotik: uji BSLT (Meyer). Pemeriksaan *in-vivo*: pemeriksaan GSH (Ellman); tikus dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan (n=8): normoksia dan hipoksia (8% O₂ dan 92% N₂) dengan durasi 3 hari, 7 hari, dan 14 hari. Setiap kelompok dibagi menjadi 2 subkelompok, yaitu yang dicekok ekstrak (uji) dan yang tidak dicekok (kontrol); dan pemeriksaan patologi anatomi otak tikus *Sprague Dawley*. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak daun berenuk pada pemeriksaan kapasitas total DPPH memiliki nilai IC₅₀ 158,46 µg/mL, kadar fenolik 3.694,286 µg/mL, dan kadar flavonoid 9,632 µg/mL. Hasil tersebut menunjukkan bahwa daun berenuk berpotensi menjadi antioksidan. Pemeriksaan BSLT menunjukkan hasil LC₅₀ sebesar 370,875 µg/mL, sehingga dapat berpotensi sebagai antimitotik. Kadar GSH mengalami penurunan dari kelompok perlakuan normoksia hingga hipoksia 14 hari. Kadar GSH pada kelompok uji juga lebih tinggi dari kelompok kontrol dalam satu kelompok perlakuan yang sama. Pada pemeriksaan patologi anatomi didapatkan sel yang edema dan nekrosis. Dapat disimpulkan bahwa daun berenuk mampu berperan sebagai suplementasi antioksidan dan zat antimitotik.

Kata kunci: *Crescentia cujete*, GSH, Hipoksia, Stres oksidatif, *Sprague Dawley*

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH	v
ABSTRACT	vi
ABSTRAK	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR SINGKATAN	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.2.1 Pernyataan Masalah.....	2
1.2.2 Pertanyaan 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.....	4
TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Penelusuran Literatur	5
2.1.1 Stres Oksidatif	5
2.1.2 Hipoksia	6
2.1.3 Oksigen.....	8
2.1.4 ROS	9
2.1.5 Antioksidan	11
2.1.6 GSH.....	14
2.1.7 <i>Crescentia cujete</i> (Berenuk).....	15

2.1.8 Studi in vivo pada hewan	16
2.1.9 Metode Ekstraksi.....	18
2.1.10 Pelarut ekstraksi	19
2.2 Kerangka Teori.....	20
2.3 Kerangka Konsep	21
METODOLOGI PENELITIAN	22
3.1 Desain Penelitian.....	22
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	22
3.3 Sampel Penelitian.....	22
3.4 Perkiraan Besar Sampel	22
3.5 Kriteria	23
3.5.1 Kriteria Inklusi	23
3.6 Cara Kerja Penelitian	24
3.6.1 Pengumpulan Bahan Sampel Daun Berenuk	24
3.6.2 Pengolahan dan Ekstraksi Sampel Daun Berenuk	24
3.6.3 Uji Fitokimia Kualitatif.....	24
3.6.4 Uji <i>In Vitro</i> Kapasitas Total DPPH Daun Berenuk.....	25
3.6.5 Uji Kapasitas Total DPPH terhadap Vitamin C.....	26
3.6.6 Uji <i>In Vitro</i> Flavonoid.....	26
3.6.7 Uji <i>In Vitro</i> Fenolik.....	27
3.6.8 Uji Toksisitas BSLT (<i>Brine Shrimp Lethality Test</i>).....	28
3.6.9 PENCEKOKAN Hewan Coba.....	29
3.6.10 Perlakuan Hipoksia pada Hewan Coba	29
3.6.11 Pembedahan Hewan Coba dan Pengambilan Sampel.....	29
3.6.12 Pembuatan Homogenat dan Lisat Darah	30
3.6.13 Pembacaan Kadar GSH pada Organ Otak dan Darah	30
3.6.14 Pemeriksaan Patologi Anatomi	31
3.7 Variabel Penelitian	31
3.7.1 Variabel Bebas	31
3.7.2 Variabel Tergantung.....	31
3.8 Definisi Operasional.....	32
3.8.1 GSH.....	32
3.8.2 Hipoksia	32
3.9 Keterangan Lolos Kaji Etik.....	32

3.10 Instrumen Penelitian.....	32
3.10.1 Alat Penelitian	32
3.10.2 Bahan Penelitian.....	33
3.11 Pengumpulan Data	33
3.12 Analisis Data	33
3.13 Alur Penelitian.....	34
3.14 Jadwal Pelaksanaan	35
HASIL PENELITIAN	36
4.1 Hasil Uji Fitokimia Kualitatif	36
4.2 Hasil Uji Kapasitas Total Antioksidan Daun Berenuk.....	36
4.2.1 Penentuan Panjang Gelombang Optimal.....	36
4.2.2 Hasil Kurva Pembanding Vitamin C.....	36
4.2.3 Hasil Uji Kapasitas Total DPPH Daun Berenuk	38
4.3 Hasil Uji Fenolik Daun Berenuk.....	39
4.4 Hasil Uji Flavonoid Daun Berenuk.....	40
4.5 Hasil Uji Antimitotik BSLT Daun Berenuk.....	41
4.6 Hasil Uji GSH pada Hewan Coba	43
4.6.1 Kurva Standard GSH.....	43
4.6.2 Kadar GSH di Darah Hewan Coba	44
4.6.3 Kadar GSH di Otak Hewan Coba	46
4.6.4 Korelasi Kadar GSH pada Darah dan Otak.....	48
4.7 Hasil Pemeriksaan PA Otak Hewan Coba	49
PEMBAHASAN	50
5.1 Pembahasan Hasil Uji Fitokimia Kualitatif Daun Berenuk	50
5.2 Pembahasan Hasil Uji Antioksidan Daun Berenuk.....	50
5.3 Pembahasan Hasil Uji Fenolik dan Flavonoid Daun Berenuk	50
5.4 Pembahasan Hasil Uji Antimitotik BSLT Daun Berenuk.....	51
5.5 Pembahasan Hasil Uji GSH Daun Berenuk pada Hewan Coba.....	51
5.6 Pembahasan Hasil Pemeriksaan PA pada Hewan Coba.....	53
KESIMPULAN DAN SARAN	54
DAFTAR PUSTAKA.....	55
LAMPIRAN	62

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Contoh-contoh antioksidan enzimatik dan non-enzimatik.....	12
Tabel 2.2 Contoh-contoh antioksidan endogen dan eksogen.....	12
Tabel 4.1 Hasil uji fitokimia kualitatif.....	36
Tabel 4.2 Hasil absorbansi dan %inhibisi vitamin C.....	37
Tabel 4.3 Hasil absorbansi dan %inhibisi DPPH daun berenuk.....	38
Tabel 4.4 Hasil absorbansi larutan standard tannin.....	40
Tabel 4.5 Hasil kadar fenolik daun berenuk.....	41
Tabel 4.6 Hasil absorbansi larutan standard <i>quersetin</i>	41
Tabel 4.7 Hasil kadar flavonoid daun berenuk.....	42
Tabel 4.8 Hasil uji toksisitas daun berenuk.....	43
Tabel 4.9 Hasil nilai absorbansi standard GSH.....	44
Tabel 4.10 Perbandingan rata-rata kadar GSH pada darah antara kelompok kontrol dan uji	45
Tabel 4.11 Perbandingan rata-rata kadar GSH pada otak antara kelompok kontrol dan uji	47

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Pohon berenuk.....	15
Gambar 2.2 Kerangka Teori.....	20
Gambar 2.3 Kerangka Konsep.....	21
Gambar 3.1 Alur Penelitian.....	34
Gambar 4.1 Kurva pembanding vitamin C.....	37
Gambar 4.2 Kurva DPPH daun berenuk.....	38
Gambar 4.3 Kurva standard fenolik.....	39
Gambar 4.4 Kurva standard flavonoid.....	41
Gambar 4.5 Kurva regresi linear BSLT.....	42
Gambar 4.6 Kurva standard GSH.....	45
Gambar 4.7 Kadar GSH kelompok kontrol dan uji pada darah.....	45
Gambar 4.8 Kadar GSH kelompok kontrol dan uji pada otak.....	47
Gambar 4.9 Korelasi kadar GSH pada darah dan otak kelompok kontrol.....	48
Gambar 4.10 Korelasi kadar GSH pada darah dan otak kelompok uji.....	48
Gambar 4.11 Sediaan PA otak tikus uji.....	49
Gambar 4.12 Sediaan PA otak tikus kontrol.....	49

DAFTAR SINGKATAN

ATII	= <i>Angiotensin II</i>
ATP	= <i>Adenosine Triphosphate</i>
BSLT	= <i>Brine Shrimp Lethality Test</i>
DNA	= <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
DPPH	= <i>Diphenyl Picrylhydrazil</i>
EDTA	= <i>Ethylenediaminetetraacetic acid</i>
Fe ²	= Ferro
Fe ³	= Ferri
GSH	= <i>Reduced Glutathione</i>
GSSG	= <i>Oxidized Glutathione</i>
GST	= <i>Glutathione transferase</i>
H ₂ O ₂	= Hidrogen peroksida
Hb	= Hemoglobin
HCl	= Hidrogen klorida
HE	= <i>Hematoxylin Eosin</i>
HIF	= <i>Hypoxia Inducible Factor</i>
HO ₂	= Hidroperoksil
kPa	= Kilo Pascal
MDA	= Malondialdehid
NADH	= <i>Nicotinamide adenine dinucleotide</i>
NADPH	= <i>Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate</i>
NF-κB	= <i>Nuclear Factor KappaB</i>
NOX	= NADPH oksidase
O ₂	= Oksigen
OH	= Hidroksida
ONOO ⁻	= Oksidan peroxinitrit
PA	= Patologi Anatomi
PDGF	= <i>Platelet-derived Growth Factor</i>
PPOK	= Penyakit Paru Obstruktif Kronis
RNS	= <i>Reactive Nitrogen Species</i>
ROS	= <i>Reactive Oxygen Species</i>
SOD	= <i>Super Oxide Dismutase</i>
TCA	= <i>Thiochloroacetic acid</i>
TGF-β1	= <i>Transforming Growth Factor Beta 1</i>
VEGF	= <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Persetujuan etik.....	62
Lampiran 2 Identifikasi daun berenuk.....	63
Lampiran 3 Formulir izin penelitian dari Taman Mekarsari, Jawa Barat.....	64
Lampiran 4 Dokumentasi daun berenuk.....	65
Lampiran 5 Proses ekstraksi daun berenuk dan panjang gelombang maksimal.....	65
Lampiran 6 Pencekohan tikus.....	66
Lampiran 7 Pembedahan tikus.....	66
Lampiran 8 Pembuatan preparat untuk pemeriksaan PA.....	67
Lampiran 9 Hasil nilai absorbansi uji in-vitro.....	68
Lampiran 10 Hasil nilai absorbansi GSH.....	69
Lampiran 11 Tabel regresi linear DPPH dan vitamin C.....	74
Lampiran 12 Tabel regresi linear fenolik dan flavonoid.....	76
Lampiran 13 Tabel regresi linear standard GSH.....	77
Lampiran 14 Uji korelasi metode <i>Pearson</i> antara kadar GSH di darah dan otak...	78
Lampiran 15 Tabel uji <i>Mann-Whitney</i> kadar GSH di darah dan otak.....	80