

**PENGARUH EKSTRAK DAUN ARA (*FICUS AURICULATA*
LOUR) TERHADAP KADAR GLUTATION (GSH) DARAH
DAN OTAK TIKUS *SPRAGUE-DAWLEY* YANG DIINDUKSI
HIPOKSIA SISTEMIK KRONIK**

SKRIPSI



Disusun oleh
MADLINE HARI KUSMANTO
405140260

FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS TARUMANAGARA
JAKARTA
2019

**PENGARUH EKSTRAK DAUN ARA (*FICUS AURICULATA*
LOUR) TERHADAP KADAR GLUTATION (GSH) DARAH
DAN OTAK TIKUS *SPRAGUE-DAWLEY* YANG DIINDUKSI
HIPOKSIA SISTEMIK KRONIK**

SKRIPSI



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

**Disusun oleh
MADELINE HARI KUSMANTO
405140260**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS TARUMANAGARA
JAKARTA
2019**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Saya, Madeline Hari Kusmanto, NIM: 405140260

Dengan ini menyatakan, menjamin bahwa skripsi yang diserahkan kepada Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara, berjudul Pengaruh Ekstrak Daun Ara (*Ficus auriculata* Lour) Terhadap Kadar Glutation (GSH) Darah dan Otak Tikus *Sprague-Dawley* yang Diinduksi Hipoksia Sistemik Kronik.

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, 7 Januari 2019

(Madeline Hari Kusmanto)

405140260

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh

Nama : Madeline Hari Kusmanto
NIM : 405140260
Program Studi : Sarjana Kedokteran
Judul Skripsi : Pengaruh Ekstrak Daun Ara (*Ficus auriculata* Lour)
Terhadap Kadar Glutation (GSH) Darah dan Otak Tikus
Sprague-Dawley yang Diinduksi Hipoksia Sistemik Kronik.

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. Dra. Helmi, MSc ()
Ketua Sidang : dr. Tom Surjadi, MPH ()
Penguji 1 : Prof. Dr. dr. Frans Ferdinal, M.S. ()
Penguji 2 : Dr. Dra. Helmi, MSc ()

Mengetahui,

Dekan : Dr. dr. Meilani Kumala, MS., SpGK(K) ()
Ditetapkan di : Jakarta
Tanggal : 7 Januari 2019

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. Dra. Helmi, MSc selaku pembimbing.
2. Prof. Dr. dr. Frans Ferdinal, M.S.
3. dr. David Limanan M.Biomed.
4. Ibu Eny Yulianti selaku staf Departemen Biologi dan Biokimia Molekuler Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara.
5. Dr. Nani Widjaja Budi Hartono M.Si Med. SpPA, selaku pembaca hasil patologi anatomi.
6. Dr. dr. Meilani Kumala MS., Sp.GK(K) selaku dekan.
7. Orang tua dan keluarga yang selalu memberikan dukungan dan doa.
8. Teman dan sahabat seperjuangan yang ikut dalam penelitian ini.
9. Serta seluruh rekan-rekan yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

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, 7 Januari 2019

Penulis

HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Madeline Hari Kusmanto

NIM : 405140260

Program Studi : Sarjana Kedokteran

Fakultas : Kedokteran

Jenis Karya : Skripsi

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

Pengaruh Ekstrak Daun Ara (*Ficus auriculata* L) Terhadap Kadar Glutation (GSH) Darah dan Otak Tikus *Sprague-Dawley* yang Diinduksi Hipoksia Sistemik Kronik.

Serta mencantumkan nama Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Jakarta, 7 Januari 2019

Madeline Hari Kusmanto
405140260

ABSTRACT

Name : Madeline Hari Kusmanto

Title : *Effects of Fig Leaf Extract (Ficus auriculata L) on Reduced Glutathione (GSH) Concentration in Sprague-Dawley Mice's Blood and Brain that Induced Chronic Systemic Hypoxia.*

Foreword: *Hypoxia is a condition of oxygen deprivation. Hypoxia will increase ROS production, which can lead damage to cell or brain tissue. Increased ROS production can be neutralized by endogenous antioxidant (GSH) and exogenous antioxidant (Ficus auriculata L).*

Objective: *Determine effect of fig leaf extract (Ficus auriculata L) on reduced glutathione (GSH) concentration in Sprague-Dawley mice's blood and brain after induction by chronic systemic hypoxia.*

Method: *In vitro examination on fig leaf: DPPH (Blois), phenolic (Singleton and Rossi), flavonoid (Woisky and Salatino), and toxicity test (Brine Shrimp Lethality Test). In vivo examination on GSH concentration in blood and brain's Sprague-Dawley mice. 32 mice divided by extract dose of fig leaf (300 mg/kgBB and 150 mg/kgBB). Each groups divided into 4 groups by long duration of hypoxia (normoxia, 1 day, 3 day, and 7 day). Blood gas analysis and histopathology examination.*

Result: *Fig leaf has antioxidant activity ($IC_{50}=213,2564 \mu\text{g/mL}$), phenolic (545 mg/L), flavonoid (23,25 mg/L) showed to be an antioxidant, and toxicity test ($LC_{50}=448.895 \text{ ppm}$) showed potential to be an anticancer agents. Decreased GSH concentration in blood and brain after hypoxia induced mice (3 day and 7 day). Decreased pO_2 , pCO_2 , pH, HCO_3 , and oxygen saturation. Increased hemoglobin (Hb), hematocrit (Ht), dan red blood cell (RBC). The histopathology of brain shows necrotic cells and presence of lymphocytes.*

Conclusion: *Fig leaf extract has antioxidant activity and anticancer properties. Glutathione (GSH) concentration in blood and brain has been decreased by extract dose of fig leaf and long duration of hypoxia.*

Keywords: *Hypoxia, Glutathione (GSH), Antioxidant, Ficus auriculata L*

ABSTRAK

Nama : Madeline Hari Kusmanto

Judul : Pengaruh Ekstrak Daun Ara (*Ficus auriculata* L) Terhadap Kadar Glutation (GSH) Darah dan Otak Tikus *Sprague-Dawley* yang Diinduksi Hipoksia Sistemik Kronik.

Pendahuluan: Kondisi kurangnya oksigen dalam sel (hipoksia) dapat meningkatkan produksi ROS yang dapat menyebabkan kerusakan sel atau jaringan otak. Peningkatan pembentukan ROS dapat dinetralkan dengan antioksidan endogen (GSH) dan antioksidan eksogen (ekstrak daun ara/ *Ficus auriculata* L)

Tujuan: Mengetahui pengaruh ekstrak daun ara terhadap kadar glutathione (GSH) darah dan otak tikus *Sprague-Dawley* yang diinduksi hipoksia sistemik kronik.

Metode: Uji *in vitro* pada ekstrak daun ara: uji DPPH (Blois), fenolik (Singleton dan Rossi), flavonoid (Woisky dan Salatino), dan uji toksisitas (*Brine Shrimp Lethality Test*). Uji *in vivo* pada kadar GSH darah dan otak terhadap 32 ekor tikus *Sprague-Dawley* yang dibagi menjadi 2 kelompok berdasarkan pemberian dosis ekstrak daun ara (300 mg/kgBB dan 150 mg/kgBB). Masing-masing kelompok dibagi menjadi 4 kelompok berdasarkan perlakuan yang diberikan (normoksia, hipoksia 1 hari, hipoksia 3 hari, dan hipoksia 7 hari), serta diperiksa analisa gas darah dan pemeriksaan patologi anatomi jaringan otak.

Hasil: Ekstrak daun ara memiliki aktivitas antioksidan ($IC_{50}=213,2564 \mu\text{g/mL}$), fenolik (545 mg/L), flavonoid (23,25 mg/L) menunjukkan adanya sifat antioksidan, dan toksisitas ($LC_{50}=448.895 \text{ ppm}$) menunjukkan aktivitas antikanker. Penurunan kadar GSH darah dan otak tikus yang diberi ekstrak daun ara (300 mg/kgBB dan 150 mg/kgBB) pada perlakuan hipoksia (3 hari dan 7 hari). Terdapat penurunan pada tekanan parsial oksigen (pO_2), tekanan parsial karbondioksida (pCO_2), potensial hidrogen (pH), bikarbonat (HCO_3), dan saturasi oksigen ($SatO_2$). Terdapat peningkatan pada hemoglobin (Hb), hematokrit (Ht), dan jumlah sel darah merah (SDM). Pemeriksaan patologi anatomi otak ditemukan adanya sel radang limfosit dan nekrosis sel.

Kesimpulan: Ekstrak daun ara memiliki aktivitas antioksidan dan aktivitas antikanker. Terdapat penurunan kadar GSH darah dan otak tikus yang dipengaruhi oleh dosis ekstrak daun ara dan durasi perlakuan hipoksia.

Kata Kunci : Hipoksia, Glutation (GSH), Antioksidan, *Ficus auriculata* L

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH.....	v
ABSTRACT.....	vi
ABSTRAK.....	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR SINGKATAN.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
1. PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	3
1.3. Hipotesis Penelitian.....	4
1.4. Tujuan Penelitian.....	4
1.5. Manfaat Penelitian.....	5
2. TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1. Oksigen.....	6
2.2. Hipoksia.....	6
2.3. <i>Reactive Oxygen Species</i> (ROS) dan Stres Oksidatif.....	7
2.4. Otak.....	9
2.5. Darah.....	11
2.6. Antioksidan.....	12
2.7. Glutation (GSH).....	13
2.8. Daun Ara (<i>Ficus auriculata</i> L).....	14
2.9. Kerangka Teori.....	16
2.10. Kerangka Konsep.....	17
3. METODOLOGI PENELITIAN.....	18
3.1. Desain Penelitian.....	18
3.2. Tempat dan Waktu Penelitian.....	18
3.3. Populasi dan Sampel Penelitian.....	19
3.4. Perkiraan Besar Sampel.....	19
3.5. Kriteria Inklusi dan Eksklusi.....	20
3.6. Cara Kerja/Prosedur Kerja Penelitian.....	20
3.7. Variabel Penelitian.....	31
3.8. Definisi Operasional.....	32
3.9. Instrumen Penelitian.....	32
3.10. Pengumpulan Data.....	33
3.11. Analisis Data.....	33
3.12. Alur Penelitian.....	35
3.13. Jadwal Pelaksanaan.....	36
3.14. Keterangan Lolos Kaji Etik.....	37

4. HASIL PENELITIAN.....	38
4.1. Hasil Uji DPPH Standar Asam Askorbat dan Ekstrak Daun Ara..	38
4.2. Hasil Uji Fenolik.....	41
4.3. Hasil Uji Flavonoid.....	42
4.4. Hasil Uji Toksisitas (BSLT).....	44
4.5. Hasil Analisa Gas Darah dan Hematologi.....	45
4.6. Hasil Uji GSH.....	57
4.7. Gambaran Histopatologi Otak.....	64
5. PEMBAHASAN.....	66
5.1. Uji Kapasitas Total DPPH Ekstrak Daun Ara.....	66
5.2. Uji Fenolik dan Flavonoid.....	67
5.3. Uji Toksisitas (BSLT).....	67
5.4. Analisa Gas Darah dan Hematologi.....	68
5.5. Kadar GSH Darah dan Otak Tikus.....	70
5.6. Patologi Anatomi Otak.....	72
6. KESIMPULAN DAN SARAN.....	73
DAFTAR PUSTAKA.....	75
LAMPIRAN.....	81
DAFTAR RIWAYAT HIDUP.....	106

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	<i>Reactive Oxygen Species</i> (ROS).....	8
Tabel 2.2	Taksonomi <i>Ficus auriculata</i> L.....	15
Tabel 3.1	Hubungan antara Nilai LC ₅₀ dengan Kategori Toksisitas..	26
Tabel 3.2	Jadwal Pelaksanaan Penelitian.....	36
Tabel 4.1	Nilai Konsentrasi, Absorbansi, Persentasi Inhibisi dan IC ₅₀ Larutan Standar Asam Askorbat.....	39
Tabel 4.2	Nilai Konsentrasi, Absorbansi, Persentasi Inhibisi dan IC ₅₀ Ekstrak Daun Ara.....	40
Tabel 4.3	Nilai Absorbansi dan Konsentrasi Larutan Standar Tanin..	41
Tabel 4.4	Nilai Rata-Rata Absorbansi dan Kadar Fenolik Ekstrak Daun Ara.....	42
Tabel 4.5	Nilai Absorbansi dan Konsentrasi Larutan Standar Kuersetin.....	43
Tabel 4.6	Nilai Rata-Rata Absorbansi dan Kadar Flavonoid Ekstrak Daun Ara.....	43
Tabel 4.7	Kematian Larva <i>A. salina</i> tiap Konsentrasi Ekstrak Daun Ara.....	44
Tabel 4.8	Analisa gas Darah dan Hematologi.....	46
Tabel 4.9	Nilai Rata-Rata Absorbansi dan Konsentrasi Standar GSH.	57
Tabel 4.10	Rata-Rata kadar GSH Darah Kelompok Tikus A dan B.....	59
Tabel 4.11	Rata-Rata Kadar GSH Otak Kelompok Tikus A dan B.....	60

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Bagian Otak.....	10
Gambar 2.2	Siklus Sintesis dan <i>Recycle</i> /Daur Ulang Glutation (GSH)..	13
Gambar 2.3	Kerangka Teori.....	16
Gambar 2.4	Kerangka Konsep.....	17
Gambar 3.1	Alur Penelitian.....	35
Gambar 4.1	Panjang Gelombang Optimal Uji DPPH.....	38
Gambar 4.2	Kurva Garis Linear Persentasi Inhibisi (IC ₅₀) Asam Askorbat.....	39
Gambar 4.3	Kurva Garis Linear Persentasi Inhibisi (IC ₅₀) Ekstrak Daun Ara.....	41
Gambar 4.4	Kurva Standar Tanin.....	42
Gambar 4.5	Kurva Standar Kuersetin.....	44
Gambar 4.6	Kurva Toksisitas Ekstrak Daun Ara.....	45
Gambar 4.7	Grafik Pengaruh Hipoksia terhadap Parameter pO ₂ Arteri Kelompok Tikus A (dosis 300 mg/kgBB).....	47
Gambar 4.8	Grafik Pengaruh Hipoksia terhadap Parameter pO ₂ Arteri Kelompok Tikus B (dosis 150 mg/kgBB).....	47
Gambar 4.9	Grafik Pengaruh Hipoksia terhadap Parameter pCO ₂ Arteri Kelompok Tikus A (dosis 300 mg/kgBB).....	48
Gambar 4.10	Grafik Pengaruh Hipoksia terhadap Parameter pCO ₂ Arteri Kelompok Tikus B (dosis 150 mg/kgBB).....	49
Gambar 4.11	Grafik Pengaruh Hipoksia terhadap Parameter pH Arteri Kelompok Tikus A (dosis 300 mg/kgBB).....	49
Gambar 4.12	Grafik Pengaruh Hipoksia terhadap Parameter pH Arteri Kelompok Tikus B (dosis 150 mg/kgBB).....	50
Gambar 4.13	Grafik Pengaruh Hipoksia terhadap Parameter HCO ₃ ⁻ Arteri Kelompok Tikus A (dosis 300 mg/kgBB).....	51
Gambar 4.14	Grafik Pengaruh Hipoksia terhadap Parameter HCO ₃ ⁻ Arteri Kelompok Tikus B (dosis 150 mg/kgBB).....	51
Gambar 4.15	Grafik Pengaruh Hipoksia terhadap Parameter Saturasi O ₂ Kelompok Tikus A (dosis 300 mg/kgBB).....	52
Gambar 4.16	Grafik Pengaruh Hipoksia terhadap Parameter Saturasi O ₂ Kelompok Tikus B (dosis 150 mg/kgBB).....	53
Gambar 4.17	Grafik Pengaruh Hipoksia terhadap Parameter Hemoglobin Kelompok Tikus A (dosis 300 mg/kgBB).....	53
Gambar 4.18	Grafik Pengaruh Hipoksia terhadap Parameter Hemoglobin Kelompok Tikus B (dosis 150 mg/kgBB).....	54
Gambar 4.19	Grafik Pengaruh Hipoksia terhadap Parameter Hematokrit Kelompok Tikus A (dosis 300 mg/kgBB).....	55

Gambar 4.20	Grafik Pengaruh Hipoksia terhadap Parameter Hematokrit Kelompok Tikus B (dosis 150 mg/kgBB).....	55
Gambar 4.21	Grafik Pengaruh Hipoksia terhadap Parameter Sel Darah Merah Kelompok Tikus A (dosis 300 mg/kgBB).....	56
Gambar 4.22	Grafik Pengaruh Hipoksia terhadap Parameter Sel Darah Merah Kelompok Tikus B (dosis 150 mg/kgBB).....	57
Gambar 4.23	Kurva Standar GSH.....	58
Gambar 4.24	Kadar GSH Darah Kelompok Tikus A (dosis 300 mg/kgBB).....	59
Gambar 4.25	Kadar GSH Darah Kelompok Tikus B (dosis 150 mg/kgBB).....	60
Gambar 4.26	Kadar GSH Otak Kelompok Tikus A (dosis 300 mg/kgBB).....	61
Gambar 4.27	Kadar GSH Otak Kelompok Tikus B (dosis 150 mg/kgBB).....	62
Gambar 4.28	Kurva Regresi Linear Kadar GSH Darah dan Otak Kelompok Tikus A (dosis 300 mg/kgBB).....	63
Gambar 4.29	Kurva Regresi Linear Kadar GSH Darah dan Otak Kelompok Tikus B (dosis 150 mg/kgBB).....	63
Gambar 4.30	Analisa Histopatologi Otak Kelompok Tikus A Kontrol (Normoksia).....	64
Gambar 4.31	Analisa Histopatologi Otak Kelompok Tikus A yang Diberi Perlakuan Hipoksia 7 Hari.....	65

DAFTAR SINGKATAN

ATP	<i>Adenosine Triphosphate</i>
BSLT	<i>Brine Shrimp Lethality Test</i>
CAT	<i>Catalase</i>
DNA	<i>Deoxyribonucleic Acid</i>
DPPH	<i>2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazil</i>
DTNB	<i>5,5'-Dithio-Bis-(2-Nitrobenzoic Acid)</i>
EDTA	<i>Ethylenediaminetetraacetic Acid</i>
EPO	<i>Erythropoietin</i>
GGT	<i>γ-Glutamyl Transferase</i>
GPx	<i>Glutathione Peroxidase</i>
GRx	<i>Glutathione Reductase</i>
GSH	<i>Glutathione</i>
GSSG	<i>Glutathione Disulfide</i>
HE	<i>Hematoxylin Eosin</i>
HCl	<i>Hydrogen Chloride / Hidrogen Klorida</i>
H ₂ O ₂	<i>Hydrogen Peroxide</i>
H ₂ SO ₄	<i>Asam Sulfat</i>
HIF-1 α	<i>Hypoxia Inducible Factor-1α</i>
IC ₅₀	<i>Inhibitory Concentration 50%</i>
LC ₅₀	<i>Lethality Concentration 50%</i>
N ₂	<i>Nitrogen</i>
NADH	<i>Nicotinamide Adenine Dinucleotide</i>
NaOH	<i>Natrium Hidroksida</i>
NO	<i>Nitric Oxide</i>
O ₂	<i>Oksigen</i>
O ₂ ⁻	<i>Anion Superoksida</i>
OH ⁻	<i>Radikal Hidroksil</i>
RNS	<i>Reactive Nitrogen Species</i>
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
SOD	<i>Superoxide Dimustase</i>
SSP	<i>Sistem Saraf Pusat</i>
TCA	<i>Thiochloroacetic Acid</i>

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Lembar Hasil Identifikasi Tumbuhan.....	81
Lampiran 2	Lembar Persetujuan Etik.....	82
Lampiran 3	Hasil Analisa Gas Darah.....	83
Lampiran 4	Hasil Absorbansi dan Kadar GSH Darah.....	87
Lampiran 5	Hasil Absorbansi dan Kadar GSH Otak.....	89
Lampiran 6	HASil Uji Regresi Linear Ekstrak Daun Ara.....	91
Lampiran 7	Uji Statistik Kadar GSH Darah dan Otak.....	96
Lampiran 8	Uji Statistik Korelasi antara Kadar GSH Darah dan Otak...	97
Lampiran 9	Uji Regresi Linear Standar GSH.....	100
Lampiran 10	Dokumentasi Daun Ara.....	101
Lampiran 11	Dokumentasi di Laboratorium.....	104