

**PENGARUH HIPOKSIA TERHADAP
GLUTATION JANTUNG DAN DARAH
TIKUS *SPRAGUE-DAWLEY* YANG DIBERI
EKSTRAK DAUN *BLACKBERRY* (*Rubus sp*)**

SKRIPSI



**Disusun oleh
RIDHO EDYAR
405160211**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS TARUMANAGARA
JAKARTA
2020**

**PENGARUH HIPOKSIA TERHADAP
GLUTATION JANTUNG DAN DARAH
TIKUS *SPRAGUE-DAWLEY* YANG DIBERI
EKSTRAK DAUN *BLACKBERRY* (*Rubus sp*)**

SKRIPSI



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

**RIDHO EDYAR
405160211**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS TARUMANAGARA
JAKARTA
2020**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Saya, yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Ridho Edyar

NIM : 405160211

dengan ini menyatakan dan menjamin bahwa skripsi yang diserahkan kepada Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara, berjudul:

“Pengaruh Hipoksia Terhadap Glutation Jantung dan Darah Tikus *Sprague-Dawley* Yang Diberi Ekstrak Daun *Blackberry (Rubus sp)*”

merupakan hasil karya sendiri, semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar dan tidak melanggar plagiarisme dan otoplagiarisme.

Saya memahami dan akan menerima segala konsekuensi yang berlaku di lingkungan Universitas Tarumanagara apabila terbukti melakukan pelanggaran plagiarisme atau otoplagiarisme.

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

Jakarta, 7 Januari 2020

Penulis,

(Ridho Edyar)

405160211

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi yang diajukan oleh :

Nama : Ridho Edyar

NIM : 405160211

Program Studi : Ilmu Kedokteran

Judul : “Pengaruh Hipoksia Terhadap Glutation Jantung dan Darah Tikus
Sprague-Dawley Yang Diberi Ekstrak Daun *Blackberry (Rubus sp)*”

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. dr. Siufui Hendrawan, M.Biomed. ()

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

Penguji 2 : Dr. Dra. Helmi, MSc. ()

Mengetahui,

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

Ditetapkan di : Jakarta

Tanggal : 7 Januari 2020

KATA PENGANTAR

Puji dan 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 mengucapkan terima kasih kepada beberapa pihak yang telah mendukung keberhasilan penyusunan skripsi ini.

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada:

1. Ibu Dr. Dra. Helmi, M.Sc selaku pembimbing.
2. Prof. Dr. dr. Frans Ferdinal, M.S selaku kepala bagian departemen Biokimia dan Biologi Molekuler Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara.
3. Ibu Eny Yulianti, S.E selaku staff Bagian Biokimia dan Biologi Molekuler Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara.
4. Orang tua dan keluarga penulis yang telah memberikan dukungan moral maupun material dan doa sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan sebaik-baiknya.
5. Serta sahabat dan seluruh teman-teman yang ikut ambil peran dalam penelitian ini.

Akhir kata, semoga Tuhan Yang Maha Esa berkenan membalas semua kebaikan semua pihak yang telah membantu. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi perkembangan ilmu.

Jakarta, 7 Januari 2020

Penulis

(Ridho Edyar)

HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Ridho Edyar

NIM : 405160211

Program Studi : Sarjana Kedokteran

Fakultas : Kedokteran

Jenis karya : Skripsi

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

“Pengaruh Hipoksia Terhadap Glutation Jantung dan Darah Tikus *Sprague-Dawley* Yang Diberi Ekstrak Daun *Blackberry (Rubus sp)*”

Serta mencantumkan nama Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Jakarta, 7 Januari 2020
Yang menyatakan,

(Ridho Edyar)
405160108

ABSTRACT

*Heart failure is a complex clinical syndrome due to structural or functional disorders of ventricular filling. One factor in the pathophysiology of heart failure is oxidative stress. Antioxidants are molecules that can inhibit oxidative stress so that cell damage can be overcome. Blackberry (*Rubus sp*) is a fruit that contains antioxidants. This research was conducted to determine the effect of blackberry leaf extract on the levels of glutathione (GSH) in the heart and blood of Sprague-Dawley rats induced by hypoxia. In this study, an in-vitro examination was carried out, namely a secondary metabolite test, total antioxidant capacity test with DPPH (Blois), determination of alkaloid levels (Trivedi et al), determination of phenolic levels (Singleton & Rossi), and toxicity test with BSLT (Mayer). In addition, in-vivo examinations were carried out using 32 Sprague-Dawley rats divided into a group which was fed (400 mg / kg / day, 14 days) and not subjected to blackberry leaf extracts, each of which was divided into 4 subgroups (n = 4) with normoxia (not dyspoxia), hypoxia (10% O₂, 90% N₂) treatment 1, 7 and 14 days. GSH examination with Wills E.D method and histopathology were also performed with HE staining. In vitro examination showed positive secondary alkaloid, anthocyanin and betacyanin metabolite tests, cardio glycosides, coumarins, flavonoids, glycosides, phenolics, quinones, steroids, terpenoids, tannins, IC₅₀ 128.09 µg / mL, alkaloid levels 76.90 µg / mL, phenolic levels of 668.63 µg / mL, and LC₅₀ 74.41 µg / mL. On in-vivo examination found a significant increase in GSH levels (t-test, p <0.05) in the heart and blood of Sprague-Dawley rats induced by hypoxia 1, 7, and 14 days compared to normoxia in the diaper group and non-diaper group, and group those who are fed have higher GSH levels. There was also a significant correlation between heart and blood of both rats both fed and not fed. Histopathological examination of the heart that is induced by hypoxia is then not flexed, there is a picture of muscle fibrous necrosis and inflammation of the cells, while that is compressed there is minimal damage. It was concluded that blackberry leaves have an antioxidant effect that can inhibit oxidative stress.*

Keywords: Blackberry, Glutathione (GSH), Oxidative Stress, Antioxidant, Heart.

ABSTRAK

Gagal jantung adalah suatu sindrom klinis yang kompleks akibat gangguan struktural atau fungsional dari pengisian ventrikel. Salah satu faktor dalam patofisiologi gagal jantung adalah stres oksidatif. Antioksidan adalah molekul yang dapat menghambat stres oksidatif sehingga kerusakan sel dapat ditanggulangi. *Blackberry* (*Rubus sp*) merupakan salah satu buah yang mengandung antioksidan. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun *blackberry* terhadap kadar glutation (GSH) pada jantung dan darah tikus *Sprague-Dawley* yang diinduksi hipoksia. Dalam penelitian ini dilakukan pemeriksaan in-vitro yaitu uji metabolit sekunder, uji kapasitas total antioksidan dengan DPPH (Blois), penentuan kadar alkaloid (Trivedi et al), penentuan kadar fenolik (Singleton & Rossi), dan uji toksisitas dengan BSLT (Mayer). Selain itu, dilakukan pemeriksaan in-vivo dengan menggunakan 32 ekor tikus *Sprague-Dawley* yang dibagi menjadi kelompok dicekok (400mg/kgBB/hari, 14 hari) dan tidak dicekok ekstrak daun *blackberry*, dimana masing-masing dibagi menjadi 4 subkelompok (n=4) dengan perlakuan normoksia (tidak dihipoksia), hipoksia (10% O₂, 90% N₂) 1, 7, dan 14 hari. Dilakukan juga pemeriksaan GSH dengan metode Wills E.D dan histopatologi dengan pewarnaan HE. Pemeriksaan in-vitro didapatkan hasil uji metabolit sekunder positif alkaloid, antosianin dan betasianin, kardio glikosida, *coumarins*, flavonoid, glikosida, fenolik, kuinon, steroid, terpenoid, tanin, IC₅₀ 128.09 µg/mL, kadar alkaloid 76,90 µg/mL, kadar fenolik 668,63 µg/mL, dan LC₅₀ 74,41 µg/mL. Pada pemeriksaan in-vivo didapatkan peningkatan kadar GSH yang bermakna (t-test, p<0.05) pada jantung dan darah tikus *Sprague-Dawley* yang diinduksi hipoksia 1, 7, dan 14 hari dibandingkan dengan normoksia pada kelompok cekok dan tidak cekok, dan kelompok yang dicekok memiliki kadar GSH yang lebih tinggi. Terdapat juga korelasi bermakna antara jantung dengan darah tikus yang dicekok maupun yang tidak dicekok. Pemeriksaan histopatologi jantung yang diinduksi hipoksia kemudian tidak dicekok terdapat gambaran nekrosis serabut otot dan sebulan sel radang, sedangkan yang dicekok terdapat kerusakan minimal. Disimpulkan bahwa daun *blackberry* memiliki efek antioksidan yang dapat menghambat stres oksidatif.

Kata kunci: *Blackberry*, Glutation (GSH), Stres Oksidatif, Antioksidan, Jantung.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERNYATAAN ORISINILITAS	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI	v
ABSTRACT	vi
ABSTRAK	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR SINGKATAN	xiv
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.2.1 Pernyataan Masalah	2
1.2.2 Pertanyaan Masalah	3
1.3 Hipotesis Penelitian	3
1.4 Tujuan Penelitian	4
1.4.1 Tujuan Umum	4
1.4.2 Tujuan Khusus	4
1.5 Manfaat Penelitian	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Oksigen	6
2.2 Hipoksia	7
2.3 <i>Reactive Oxygen Species</i> (ROS)	7
2.4 Stres Oksidatif	8
2.5 Jantung	8
2.6 Glutation (GSH)	10
2.7 <i>Blackberry</i>	10
2.8 Antioksidan	11
2.9 Hewan Coba	12
2.10 Ekstraksi	13
2.11 Metabolit Sekunder	15
2.12 Fitokimia	15
2.13 <i>1,1-Diphenyl-2-Picrylhidrazyl</i> (DPPH)	16
2.14 <i>Brine Shrimp Lethality Test</i> (BSLT)	17
2.15 Kerangka Teori	18
2.16 Kerangka Konsep	19

BAB 3 METODOLOGI PENELITIAN	20
3.1 Desain Penelitian.....	20
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	20
3.2.1 Tempat Penelitian.....	20
3.2.2 Waktu Penelitian	20
3.3 Populasi Hewan Coba	20
3.4 Perkiraan Jumlah Hewan	20
3.5 Cara Kerja Penelitian	21
3.5.1 Pengambilan Sampel Daun <i>Blackberry</i>	21
3.5.2 Identifikasi Ekstrak Daun <i>Blackberry</i>	21
3.5.3 Pembuatan Ekstrak Daun <i>Blackberry</i>	21
3.5.4 Uji Fitokimia	22
3.5.4.1 Uji Alkaloid.....	22
3.5.4.2 Uji Antosianin dan Betasianin	22
3.5.4.3 Uji <i>Cardio Glycosides</i>	22
3.5.4.4 Uji <i>Coumarins</i>	22
3.5.4.5 Uji Flavonoid	23
3.5.4.6 Uji Glikosida.....	23
3.5.4.7 Uji Fenolik	23
3.5.4.8 Uji Kuinon.....	23
3.5.4.9 Uji Steroid	23
3.5.4.10 Uji Terpenoid	23
3.5.4.11 Uji Tanin	24
3.5.5 Uji Kapasitas Total Antioksidan Daun <i>Blackberry</i>	24
3.5.5.1 Penentuan Panjang Gelombang Optimal DPPH	24
3.5.5.2 Penentuan Kapasitas Antioksidan Daun <i>Blackberry</i>	24
3.5.5.3 Menentukan Kapasitas Antioksidan Vitamin C.....	24
3.5.5.4 Pengolahan Data Kapasitas Antioksidan DPPH	25
3.5.6 Penentuan Kadar Fenolik Total.....	25
3.5.6.1 Kurva Standar Tanin..	25
3.5.6.2 Penentuan Kadar Fenolik Ekstrak Daun <i>Blackberry</i>	26
3.5.7 Penentuan Kadar Total Alkaloid Konten	26
3.5.7.1 Pembuatan Larutan Standar Alkaloid	26
3.5.7.2 Pengukuran Larutan Sampel Alkaloid	27
3.5.8 Uji Toksisitas Daun <i>Blackberry</i>	27
3.5.9 Pemberian Perlakuan Hipoksia Pada Tikus	28
3.5.10 Pemberian Cekokan Ekstrak Pada Tikus	28
3.5.11 Pembedahan Tikus dan Pengambilan Sampel Jantung.....	28
3.5.12 Pembuatan Homogenat Jantung dan Lisat Darah	29
3.5.12.1 Homogenat Organ Jantung.....	29
3.5.12.2 Lisat Darah	29
3.5.13 Pengukuran GSH.....	29

3.5.13.1 Pembuatan Larutan Standar GSH	29
3.5.13.2 Pengukuran Kadar GSH.....	30
3.5.14 Pemeriksaan Patologi Anatomi Jantung	30
3.5.14.1 Pembuatan Blok Parafin.....	30
3.5.14.2 Pembuatan Pulasan Hematoxilin Eosin	31
3.6 Variabel Penelitian	31
3.6.1 Variabel Bebas	31
3.6.2 Variabel Tergantung.....	31
3.7 Definisi Operasional.....	32
3.7.1 Hipoksia	32
3.7.2 Glutation (GSH).....	32
3.8 Instrumen Penelitian.....	32
3.8.1 Alat Penelitian.....	32
3.8.2 Bahan Penelitian.....	32
3.9 Pengumpulan Data	33
3.10 Analisis Data	33
3.11 Alur Penelitian	34
BAB 4 HASIL PENELITIAN	35
4.1 Uji Fitokimia Ekstrak Daun <i>Blackberry</i>	35
4.2 Uji Kapasitas Antioksidan Ekstrak Daun <i>Blackberry</i>	35
4.2.1 Penentuan Panjang Gelombang dan Absorbansi Optimum DPPH.....	35
4.2.2 Kapasitas Antioksidan Vitamin C	36
4.2.3 Kapasitas Antioksidan Ekstrak Daun <i>Blackberry</i>	37
4.3 Pengukuran Kadar Fenolik Total Ekstrak Daun <i>Blackberry</i>	38
4.3.1 Standar Tanin	38
4.4 Pengukuran Kadar Alkaloid Konten Ekstrak Daun <i>Blackberry</i>	39
4.5 Uji Toksisitas Teknik <i>Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)</i>	40
4.6 Hasil Uji Glutation (GSH) Hewan Coba.....	41
4.6.1 Kurva Standar Glutation (GSH).....	41
4.6.2 Kadar Glutation (GSH) Darah Hewan Coba.....	41
4.6.3 Kadar Glutation (GSH) Organ Jantung Hewan Coba.....	44
4.6.4 Korelasi Kadar GSH Darah dan Jantung Tikus Tidak Dicekok	47
4.6.5 Korelasi kadar GSH Darah dan Jantung dicekok.....	48
4.7 Pemeriksaan Histopatologi Organ Jantung Tikus (<i>Sprague-Dawley</i>)	49
BAB 5 PEMBAHASAN	50
5.1 Uji Fitokimia Ekstrak Daun <i>Blackberry</i>	50
5.2 Uji Kapasitas Antioksidan Daun <i>Blackberry</i>	50
5.3 Kadar Fenolik Ekstrak Daun <i>Blackberry</i>	51
5.4 Kadar Alkaloid Ekstrak Daun <i>Blackberry</i> dengan Metode Trivedi et al	51
5.5 Toksisitas Daun <i>Blackberry</i> dengan Teknik BSLT	51
5.6 Pemeriksaan Kadar GSH Jantung dan Darah Tikus	52
5.7 Pemeriksaan Histopatologi Jantung	53

BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN	55
6.1 Kesimpulan	55
6.2 Saran.....	56
DAFTAR PUSTAKA	57
LAMPIRAN	60
DAFTAR RIWAYAT HIDUP	92

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Daun <i>Blackberry</i>	35
Tabel 4.2 Persentase Inhibisi Ekstrak Daun <i>Blackberry</i>	37
Tabel 4.3 Hasil Absorbansi dan Kadar Fenolik	38
Tabel 4.4 Hasil Absorbansi dan Kadar Total Alkaloid Ekstrak daun <i>Blackberry</i>	39
Tabel 4.5 Pengaruh Ekstrak Daun <i>Blackberry</i> terhadap larva <i>Artemia Salina</i> L..	40

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Daun <i>Blackberry</i> (<i>Rubus sp</i>)	11
Gambar 2.2 Struktur DPPH	16
Gambar 2.3 Kerangka Teori.....	18
Gambar 2.4 Kerangka Konsep	Error! Bookmark not defined.
Gambar 3.1 Alur Penelitian.....	34
Gambar 4.1 Panjang gelombang maksimum DPPH	36
Gambar 4.2 Kurva Standar Vitamin C	36
Gambar 4.3 Persentase Inhibisi Ekstrak Daun <i>Blackberry</i>	37
Gambar 4.4 Kurva Standar Tanin	38
Gambar 4.5 Kurva standar Larutan <i>Berberine Chloride</i>	39
Gambar 4.6 Mortalitas <i>Artemia salina</i> Terhadap Konsentrasi Ekstrak Daun <i>Blackberry</i>	40
Gambar 4.7 Kurva standar GSH	41
Gambar 4.8 Kadar GSH pada Darah Tikus yang tidak diberi cekokan Ekstrak Daun <i>Blackberry</i>	42
Gambar 4.9 Kadar Glutation (GSH) Darah Tikus yang Diberi Cekokan Ekstrak Daun <i>Blackberry</i>	43
Gambar 4.10 Kadar GSH Darah tikus yang Tidak Dicekok dengan yang Dicekok Ekstrak Daun <i>Blackberry</i>	44
Gambar 4.11 Kadar Glutation (GSH) pada Jantung Tikus yang Tidak Diberi Cekokan Ekstrak Daun <i>Blackberry</i>	45
Gambar 4.12 Kadar Glutation (GSH) pada Jantung Tikus yang Diberi Cekokan Ekstrak Daun <i>Blackberry</i>	46
Gambar 4.13 Kadar GSH Jantung yang Tidak Dicekok dibandingkan dengan kadar GSH Jantung yang Dicekok Ekstrak Daun <i>Blackberry</i>	47
Gambar 4.14 Korelasi kadar GSH Darah dan Jantung tidak di cekok.....	48
Gambar 4.15 Korelasi kadar GSH Darah dan Jantung tikus yang dicekok daun <i>Blackberry</i>	48
Gambar 4.16 Jantung Tikus <i>Sprague-Dawley</i> Setelah Hipoksia 14 Hari Dicekok Ekstrak Daun <i>Blackberry</i>	49

DAFTAR SINGKATAN

ADP	<i>Adenosine Diphosphate</i>
ATP	<i>Adenosine Triphosphate</i>
BCG	<i>Bromocresol Green</i>
BSA	<i>Bovine Serum Albumin.</i>
BSLT	<i>Brine Shrimp Lethality Test.</i>
CAT	<i>Catalase</i>
CH ₃ COOH	Asam Asetat Glasial
CO ₂ ⁻	Karbon Dioksida
COPD	<i>Chronic Obstructive Pulmonary Disease</i>
DPPH	<i>1,1-diphenly-2z-picrylhydrazil</i>
EDTA	<i>Ethylenediaminetetraacetic Acid</i>
EPO	Erythropoietin
FADH ₂	<i>Flavin Adenine Dinucleotide</i>
FeCl ₃	Besi (III) Klorida
FRC	<i>Functional Residual Capacity</i>
GPx	Glutation Peroksidase
GSH	Glutation
HCl	<i>Hydrochloric Acid</i>
HIF-1	<i>Hypoxia Inducible Factor-1</i>
HNO ₂	<i>Nitrous Acid</i>
H ₂ O ₂	Hidrogen Peroksida
H ₂ O	Air
HOCl	<i>Hypochlorous Acid</i>
HOO•	Radikal Hidroperoksil
H ₂ SO ₄	Asam Sulfat
IC ₅₀	<i>The half maximal inhibitory concentration.</i>
KClO ₃	Potassium Klorat
kDa	Kilodalton
KNO ₃	Kalium Nitrat
LC ₅₀	<i>Lethal Dose at which 50% population killed.</i>
LOO•	<i>Lipid Peroxyl</i>
LOOH	Lipid Peroksida
MDA	<i>Malondialdehyde</i>
mmHg	Milimeter Air Raksa.
NaCl	Natrium Klorida.
Na ₂ CO ₃	Sodium Karbonat.
NADPH	<i>Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate</i>
	<i>Hydrogen</i>
NaOH	<i>Sodium Hydroxide</i>

NO ₂ •	<i>Nitrogen Dioxide</i>
N ₂ O ₃	Dinitrogen trioksida
NO	<i>Nitric Oxide.</i>
O ₂	Oksigen
O ₃	Ozon
O ₂ ⁻	<i>Superoxide</i>
¹ O ₂	Oksigen Singlet
OH ⁻	Hidroksil
ONOO ⁻	Peroksinitrit
P50	<i>Oxygen tension at which hemoglobin is 50% saturated</i>
PAC	<i>Proanthocyanin</i>
PaCO ₂	Tekanan Parsial Karbondioksida
PaO ₂	Tekanan Parsial Oksigen
Pb	Timbal
PBS	<i>Phosphate Buffer Saline</i>
Pi	<i>Phosphate inorganic</i>
RNS	<i>Reactive Nitrogen Species</i>
ROO•	Radikal Peroksil
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
SOD	Superoksida Dismutase
TAC	<i>Total Alkaloid Content</i>