

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN
BLACKBERRY (RUBUS Sp) TERHADAP KADAR
GSH DARAH DAN PARU TIKUS *SPRAGUE
DAWLEY* YANG DIINDUKSI HIPOKSIA**

SKRIPSI



Disusun oleh :

**CAESARIZKY AGRİYANDITA PUTRA
405160166**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS TARUMANAGARA
JAKARTA
2020**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN
BLACKBERRY (RUBUS Sp) TERHADAP KADAR
GSH DARAH DAN PARU TIKUS *SPRAGUE
DAWLEY* YANG DIINDUKSI HIPOKSIA**

SKRIPSI



diajukan sebagai salah satu prasyarat
Untuk mencapai gelar Sarjana Kedokteran (S.Ked) pada
Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara

**CAESARIZKY AGRIYANDITA PUTRA
405160166**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS TARUMANAGARA
JAKARTA
2020**

PERNYATAAN ORISINALITAS KARYA ILMIAH

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Caesarizky Agriyandita Putra

NIM : 405160166

dengan ini menyatakan dan menjamin bahwa skripsi yang saya serahkan kepada Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara berjudul :

“PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN *BLACKBERRY (RUBUS SP)* TERHADAP KADAR GSH DARAH DAN PARU TIKUS *SPRAGUE DAWLEY* YANG DIINDUKSI HIPOKSIA”

merupakan hasil karya sendiri dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar dan tidak melanggar ketentuan 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 paksaan dari pihak manapun.

Jakarta, 6 Desember 2019

(Caesarizky Agriyandita Putra)

405160166

PENGESAHAN SKRIPSI

Skripsi ini diajukan oleh

Nama : Caesarizky Agriyandita Putra
NIM : 405160166
Program Studi : Ilmu Kedokteran
Judul Skripsi : Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun *Blackberry (Rubus Sp)*
Terhadap Kadar GSH Darah Dan Paru Tikus *Sprague Dawley* Yang Diinduksi
Hipoksia

dinyatakan 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 Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara.

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

DEWAN PENGUJI

Ketua Sidang : Dr. dr. Siufui Hendrawan, M.Biomed. ()

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

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

Mengetahui,

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

Ditetapkan di

Jakarta, 6 Januari 2020

PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Caesarizky Agriyandita Putra

NIM : 405160166

Program Studi : Ilmu Kedokteran

Fakultas : Kedokteran

Karya Ilmiah : Skripsi

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

Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun *Blackberry (Rubus Sp)* Terhadap Kadar Gsh Darah Dan Paru Tikus *Sprague Dawley* Yang Diinduksi Hipoksia

dengan mencantumkan nama Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara.

Jakarta, 6 Desember 2019

(Caesarizky Agriyandita Putra)

405160166

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT, karena dengan rahmat dan bimbingan-Nya, penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun *Blackberry (Rubus Sp)* Terhadap Kadar GSH Darah Dan Paru Tikus *Sprague Dawley* Yang Diinduksi Hipoksia” ini dengan baik. Selama menyusun skripsi ini, penulis mengalami keterbatasan dalam mengerjakan penelitian. Oleh karena itu, penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada berbagai pihak yang telah memberi dukungan terhadap skripsi ini, yaitu :

1. Dr. dr. Meilani Kumala, MS., Sp.GK(K) selaku Dekan dan Ketua Unit Penelitian dan Publikasi Ilmiah Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara
 2. dr. David Limanan, M. Biomed selaku Dosen Pembimbing Skripsi
 3. Prof. Dr. dr. Frans Ferdinal, MS selaku Ketua Bagian Biokimia dan Biologi Molekuler Universitas Tarumanagara
 4. Dr. Dra. Helmi, MSc dan Ibu Eny Yulianti, SE. Selaku Staf Bagian Biokimia dan Biologi Molekuler Universitas Tarumanagara
 5. Dr. Octavia Dwi Wahyuni, M. Biomed selaku penasihat akademik
 6. Orang tua dan keluarga yang telah memberi dukungan bagi penulis dalam proses pengerjaan skripsi
 7. Teman-teman yang selalu mendukung dan membantu dalam penelitian ini
- Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran dari berbagai pihak. Akhir kata, semoga skripsi ini dapat berguna dan bermanfaat bagi orang lain.

Jakarta, 6 Desember 2019

Penulis

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN *BLACKBERRY* (*RUBUS Sp*) TERHADAP KADAR GSH DARAH DAN PARU TIKUS *SPRAGUE DAWLEY* YANG DIINDUKSI HIPOKSIA

Saat hipoksia tubuh tidak mendapatkan suplai oksigen menyebabkan stress oksidatif sehingga membuat ROS dan antioksidan menjadi tidak seimbang yang akhirnya membuat kerusakan oksidatif jaringan. Kerusakan ini menyebabkan penurunan kadar GSH (antioksidan endogen), sehingga dibutuhkan antioksidan eksogen seperti daun *Blackberry (Rubus Sp)*. Dalam penelitian ini, dilakukan dua macam uji untuk mengetahui pengaruh daun *blackberry* tersebut, yaitu uji secara *in vitro* : uji fitokimia, uji kapasitas antioksidan, Kadar Fenolik Total, Kadar Alkaloid Total, uji toksisitas dan uji secara *in vivo* : uji kadar GSH menggunakan metode *ellman* yang dilakukan pada tikus *Sprague-Dawley* yang dibagi menjadi dua kelompok, yaitu kelompok yang dicekok ekstrak daun *Blackberry* dan kelompok yang tidak dicekok ekstrak daun *blackberry*. Setiap kelompok dibagi menjadi empat subkelompok yaitu normoksia, hipoksia 1 hari, 7 hari dan 14 hari. Dari hasil penelitian: uji fitokimia mengandung *alkaloids, anthocyanin* dan *betacyanin, cardio glycosides, coumarins, flavonoids, glycosides, phenolics, quinones, saponins, steroids, terpenoids* dan *tannins*; uji kapasitas antioksidan ($IC_{50} = 4,78 \mu\text{g/mL}$); *total phenolics content* ($668,63 \mu\text{g/mL}$); *total alkaloids content* ($76,90 \mu\text{g/mL}$) dan uji toksisitas ($LC_{50} = 72,44 \mu\text{g/mL}$). Kadar GSH darah dan organ paru pada kelompok tikus yang dicekok maupun pada kelompok tikus yang tidak dicekok didapatkan penurunan seiring lamanya perlakuan hipoksia dan menunjukkan hasil yang lebih tinggi pada kelompok tikus yang dicekok dibandingkan kelompok tikus yang tidak dicekok. Ada hubungan korelasi yang kuat antara GSH darah dan organ paru. Pada histopatologi paru tampak kerusakan yang lebih parah pada kelompok tikus yang tidak dicekok dibandingkan pada kelompok tikus yang dicekok karena terdapat akumulasi sel mononuklear yang menyebar luas.

Kata Kunci : Hipoksia, ROS, stres oksidatif, GSH , darah, paru, daun *Blackberry*

**THE EFFECT OF BLACKBERRY LEAF EXTRACT (*RUBUS Sp*)
TOWARDS THE GSH LEVEL OF BLOOD AND LUNGS ON
SPRAGUE DAWLEY RATS AFTER HYPOXIA INDUCED**

*When hypoxia, the body does not get oxygen supply, it causes oxidative stress, so that ROS and antioxidants become unbalanced, which in turn makes oxidative tissue damage. This damage causes a decrease in levels of GSH (endogenous antioxidants), so we need exogenous antioxidants such as Blackberry leaves (*Rubus Sp*). In this study, two types of tests were conducted to determine the effect of the blackberry leaves, namely in vitro tests: phytochemical tests, antioxidant capacity tests, total phenolic levels, total alkaloid levels, toxicity tests and in vivo tests: GSH levels using the Ellman method conducted on Sprague-Dawley rats which were divided into two groups, namely the group that was fed with Blackberry leaf extract and the group that was not with the blackberry leaf extract. Each group was divided into four subgroups namely normoxia, hypoxia 1 day, 7 days and 14 days. From the results of the study: phytochemical tests containing alkaloids, anthocyanins, and betacyanin, cardio glycosides, coumarins, flavonoids, glycosides, phenolics, quinones, saponins, steroids, terpenoids, and tannins; antioxidant capacity test ($IC_{50} = 4.78 \mu\text{g} / \text{mL}$); total phenolics content ($668.63 \mu\text{g} / \text{mL}$); total alkaloids content ($76.90 \mu\text{g} / \text{mL}$) and toxicity test ($LC_{50} = 72.44 \mu\text{g} / \text{mL}$). GSH levels of blood and pulmonary organs in the group of rats that were fed and in groups of mice that were not fed were found to decrease with the duration of hypoxic treatment and showed higher results in the group of rats that were grafted compared to groups of rats that were not grafted. There is a strong correlation between blood GSH and pulmonary organs. In pulmonary histopathology, the damage was more severe in the group of rats that were not flexed than in the group of rats that were fed because there was a widespread accumulation of mononuclear cells.*

Keywords : Hypoxia, ROS, Oxidative stress, GSH, blood, lung, Blackberry leaf

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
PERNYATAAN ORISINALITAS KARYA ILMIAH	ii
PENGESAHAN SKRIPSI.....	iii
PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH	iv
KATA PENGANTAR.....	v
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR SINGKATAN.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xv
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	2
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 Hipoksia	6
2.2 Radikal Bebas	7
2.3 Stres Oksidatif.....	8
2.4 Antioksidan	9
2.5 Glutathione (GSH).....	10
2.6 <i>Blackberry</i>	12
2.7 Paru	13
2.8 Kerangka Teori	15
2.9 Kerangka Konsep.....	16
BAB 3 METODOLOGI PENELITIAN	17
3.1 Desain Penelitian	17
3.2 Tempat dan Waktu	17
3.2.1 Tempat	17
3.2.2 Waktu.....	17
3.3 Sampel Penelitian.....	17
3.4 Penetapan Jumlah Hewan Coba	18
3.5 Cara Kerja Penelitian	18
3.5.1 Pengambilan Sampel.....	18
3.5.2 Identifikasi Tanaman	18
3.5.3 Pembuatan Ekstrak Daun <i>Blackberry</i>	18
3.5.1 Uji Fitokimia ²⁷	19

3.5.5	Kapasitas Total Antioksidan Ekstrak Daun Blackberry menggunakan DPPH (Blois) ²⁸	21
3.5.6	Pengukuran Kadar Fenolik dengan Metode Singleton dan Rossi ²⁹	22
3.5.7	Pengukuran Kadar Alkaloids dengan Metode Trivedi et al. ³⁰	23
3.5.8	Pengukuran Toksisitas Ekstrak Daun Blackberry dengan Metode BSLT ³¹	24
3.5.9	Percobaan Hewan Coba	25
3.5.10	Pengukuran Kadar Glutation pada Organ Paru dan darah dengan Metode Ellman ³²	27
3.5.11	Pembuatan Sediaan Histopatologi	28
3.6	Variabel Penelitian	29
3.6.1	Variabel Bebas	29
3.6.2	Variabel Tergantung	29
3.6.3	Variabel Antara	29
3.7	Definisi Operasional	29
3.7.1	Hipoksia	29
3.7.2	GSH	29
3.8	Instrumen Penelitian	30
3.8.1	Alat Penelitian	30
3.8.2	Bahan Penelitian	30
3.9	Pengumpulan Data	31
3.10	Analisis Data	31
3.11	Alur Penelitian	32
BAB 4	HASIL PENELITIAN	33
4.1	Hasil Uji Daun <i>Blackberry</i>	33
4.1.1.	Uji Fitokimia	33
4.1.2.	Kapasitas Total Antioksidan Ekstrak Daun Blackberry menggunakan DPPH dan dengan Metode Blois ²⁸	33
4.1.3	Pengukuran Kadar fenolik dengan Metode Singleton dan Rossi ²⁹ ..	37
4.1.4.	Pengukuran Kadar Alkaloids dengan Metode Trivedi et al. ³⁰	38
4.1.5.	Uji Toksisitas	39
4.2	Percobaan Hewan Coba	41
4.2.1	Uji GSH	41
4.2.2	Kadar GSH pada Organ Paru Tikus	42
4.2.3	Kadar GSH pada Darah Tikus	44
4.2.4	Perbandingan Kadar GSH Organ Paru Antara yang Diberikan Dengan yang Tidak Diberikan Ekstrak Daun <i>Blackberry</i>	46
4.2.5	Perbandingan kadar GSH darah antara yang diberikan ekstrak daun <i>Blackberry</i> Dengan yang Tidak Diberikan Ekstrak Daun <i>Blackberry</i>	47
4.2.6	Korelasi Kadar GSH Paru dan Darah Tidak Cekok	48
4.2.7	Korelasi Kadar GSH Paru dan Darah Cekok	49
4.3	Pemeriksaan Histopatologi Paru	50
BAB 5	PEMBAHASAN	52
5.1	Uji Fitokimia Ekstrak Daun <i>Blackberry</i>	52
5.2	Uji Kapasitas Antioksidan Daun <i>Blackberry</i> menggunakan DPPH	52
5.3	Kadar Fenolik Ekstrak Daun <i>Blackberry</i> dengan metode Singleton & Rossi	53

5.4	Kadar Alkaloid Ekstrak Daun <i>Blackberry</i> dengan Metode Trivedi et al...	53
5.5	Toksisitas BSLT (Brine Shrimp Lethality Test) Daun Blackberry	54
5.6	Pemeriksaan Kadar GSH Darah Dan Paru Tikus	54
5.7	Histopatologi Paru	56
5.8	Keterbatasan Penelitian	56
BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN		57
6.1	Kesimpulan.....	57
6.2	Saran	58
DAFTAR PUSTAKA		59
LAMPIRAN.....		63
DAFTAR RIWAYAT HIDUP		103

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Uji Fitokimia.....	33
Tabel 4.2 Absorbansi dan %Inhibisi pada Daun <i>Blackberry</i>	34
Tabel 4.3 Absorbansi dan %Inhibisi pada Vitamin C.....	36
Tabel 4.4 Absorbansi dari Setiap Konsentrasi Larutan Standar Tannin	37
Tabel 4.5 Kadar Fenolik Ekstrak Daun <i>Blackberry</i>	38
Tabel 4.6 Absorbansi <i>berberine chloride</i> terhadap Konsentrasi Daun <i>Blackberry</i>	38
Tabel 4.7 Nilai Kadar Total Alkaloid Ekstrak Buah <i>Blackberry</i>	39
Tabel 4.8 LC50 dan Persentase Kematian Berdasarkan Konsentrasi Sampel .	40
Tabel 4.9 Absorbansi Standar GSH	41
Tabel 4.10 Kadar GSH Organ Paru Pada Tikus Yang Tidak Cekok	42
Tabel 4.11 Kadar GSH Organ Paru Pada Tikus Yang Cekok.....	43
Tabel 4.12 Kadar GSH Darah Pada Tikus Yang Tidak Cekok.....	44
Tabel 4.13 Kadar GSH Darah Pada Tikus Yang Cekok	45

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Kerangka Teori.....	15
Gambar 2.2 Kerangka Konsep	16
Gambar 3.1 Alur Penelitian.....	32
Gambar 4.1 Panjang Gelombang dan Absorbansi Optimum DPPH.....	34
Gambar 4.2 Persentase Inhibisi Ekstrak Daun <i>Blackberry</i>	35
Gambar 4.3 Persentase Inhibisi Vitamin C	36
Gambar 4.4 Kurva Standar Tanin	37
Gambar 4.5 Kurva Standar Alkaloid.....	39
Gambar 4.6 Kurva Uji Toksisitas Ekstrak Daun <i>Blackberry</i>	40
Gambar 4.7 Kurva Standar GSH.....	42
Gambar 4.8 Kadar GSH Organ Paru Tidak Cekok	43
Gambar 4.9 Kadar GSH Organ Paru Cekok	44
Gambar 4.10 Kadar GSH Darah Tidak Cekok.....	45
Gambar 4.11 Kadar GSH Darah Cekok.....	46
Gambar 4.12 Perbandingan Kadar GSH Paru pada Kelompok Tikus Cekok dan Tidak Cekok.....	47
Gambar 4.13 Perbandingan Kadar GSH Darah pada Kelompok Tikus Cekok dan Tidak Cekok.....	48
Gambar 4.14 Korelasi Kadar GSH Paru dan Darah Kelompok Tidak Cekok.	49
Gambar 4.15 Korelasi Kadar GSH Paru dan Darah Kelompok Cekok	49
Gambar 4.16 Histopatologi Organ Paru Tikus yang Dihipoksia 14 Hari dan Tidak Dicekok Ekstrak Daun <i>Blackberry</i>	50
Gambar 4.17 Histopatologi Organ Paru Tikus yang Dihipoksia 14 hari dan Dicekok Ekstrak Daun <i>Blackberry</i>	50

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>2,2-diphenly-1-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	Potasium Klorat
KNO ₃	Kalium Nitrat
LC ₅₀	<i>Lethal Dose at which 50% population killed.</i>
GSH	<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

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>
RBS	<i>Reactive Bromine Species</i>
RCS	<i>Reactive Carbonyl Species</i>
RSS	<i>Reactive Sulfur species</i>
ROO•	Radikal Peroksil
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
SOD	Superoksida Dismutase
TAC	<i>Total Alkaloid Content</i>
TPC	<i>Total Phenolic Cont</i>

DAFTAR LAMPIRAN

LAMPIRAN 1 – Identifikasi LIPI Tanaman.....	63
LAMPIRAN 2 – Kaji Etik	64
LAMPIRAN 3 – Hasil Uji In Vitro dan In Vivo.....	65
LAMPIRAN 4 – Dokumentasi dan Alat Penelitian	100