

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN
BLACKBERRY (RUBUS SP) TERHADAP KADAR
GLUTATION (GSH) PADA HATI DAN DARAH TIKUS
SPRAGUE-DAWLEY YANG DIINDUKSI HIPOKSIA**

SKRIPSI



disusun oleh:

REGI MUSTIKA

405160150

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS TARUMANAGARA
JAKARTA
2020**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN
BLACKBERRY (RUBUS SP) TERHADAP KADAR
GLUTATION (GSH) PADA HATI DAN DARAH TIKUS
SPRAGUE-DAWLEY YANG DIINDUKSI HIPOKSIA**

SKRIPSI



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

REGI MUSTIKA

405160150

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS TARUMANAGARA
JAKARTA
2020**

PERNYATAAN ORISINALITAS KARYA ILMIAH

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Regi Mustika

NIM : 405160150

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 Glutation (GSH) Pada Hati Dan Darah 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 dan otoplagiarisme.

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

Jakarta, 7 Januari 2020

Yang menyatakan,

Regi Mustika

405160150

PENGESAHAN SKRIPSI

Skripsi yang di ajukan oleh:

Nama : Regi Mustika

NIM : 405160150

Program Studi : Ilmu Kedokteran

Judul : Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun *Blackberry (Rubus sp)* Terhadap Kadar Glutation (GSH) Pada Hati Dan Darah Tikus *Sprague-Dawley* yang Diinduksi Hipoksia

Dinyatakan telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian prasyarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran (S.Ked) pada Program Studi Sarjana Kedokteran Fakultas Kedokteran, Universitas Tarumanagara.

Pembimbing : Dr. Dra. Helmi, M.Sc ()

DEWAN PENGUJI

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

Penguji 1 : dr. David Limanan, M.Biomed ()

Penguji 2 : Dr. Dra. Helmi, M.Sc ()

Mengetahui,

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

Ditetapkan di
Jakarta, 14 Januari 2020

PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Regi Mustika

NIM : 405160150

Program Studi : Sarjana Kedokteran

Fakultas : Kedokteran

Jenis karya : Skripsi

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

“Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun *Blackberry (Rubus sp)* Terhadap Kadar Glutation Pada Hati dan Darah Tikus Yang Diinduksi Hipoksia”

dengan menyantumkan Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara.

Jakarta, 7 Januari 2020

Yang menyatakan,

Regi Mustika

405160150

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. Dr. dr. Meilani Kumala, MS, Sp.GK(K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara dan Ketua Unit Penelitian dan Publikasi Ilmiah FK UNTAR;
2. Ibu Dr. Dra. Helmi, MSc. selaku Dosen Pembimbing Skripsi, yang telah menyediakan waktu, tenaga, dan pikiran selama membimbing;
3. Dr David Limanan, M.Biomed selaku penguji 1 sidang skripsi.
4. Prof. Dr. dr. Frans Ferdinal, M.S selaku Kepala Laboratorium Biokimia dan Biologi Molekuler FK UNTAR, yang telah memberikan fasilitas untuk pengumpulan data penelitian;
5. Ibu Eny Yulianti, SE selaku staff Laboratorium Biokimia dan Biologi Molekuler FK UNTAR;
6. Kedua orang tua dan keluarga, yang senantiasa menyemangati serta memberi dukungan material dan moral;
7. Serta sahabat dan teman-teman, yang banyak membantu proses penyusunan skripsi.

Akhir kata, semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi perkembangan ilmu.

Jakarta, 7 Januari 2020
Yang menyatakan,

Regi Mustika
405160150

ABSTRAK

Saat tubuh mengalami hipoksia, produksi ROS yang berlebihan menimbulkan stres oksidatif dan merusak organ seperti hati. Pemberian antioksidan dapat mencegah dan mengobati kerusakan yang disebabkan. Glutathion (GSH) digunakan sebagai indikator antioksidan dalam tubuh. Tanaman *blackberry* (*Rubus sp.*) dipercaya mengandung antioksidan yang tinggi. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun *blackberry* terhadap peningkatan kadar GSH organ hati tikus *Sprague-Dawley* yang diinduksi hipoksia. Penelitian eksperimental ini dilakukan dengan uji *in vitro*: pemeriksaan fitokimia, kapasitas antioksidan dengan metode DPPH (IC₅₀) (Blois), penentuan kadar fenolik total (Singleton dan Rossi), kadar alkaloid total (Trivedi et al), dan uji toksisitas dengan metode BSLT(Meyer) dan uji *in vivo* pada 32 ekor tikus yang dibagi menjadi kelompok uji (diberi ekstrak 400 mg/kgBB/hari, 14 hari) dan kontrol (tidak diberi ekstrak). Kedua kelompok ini terbagi menjadi empat subkelompok yaitu normoksia, hipoksia 1, 7, 14 hari. Pemeriksaan histopatologi pada hati tikus dengan perlakuan hipoksia 14 hari. Hasil penelitian menunjukkan uji fitokimia terdapat kandungan alkaloid, antosianin, betasianin, kardio glikosida, kumarin, flavonoid, glikosida, fenolik, kuinon, steroid, terpenoid dan tanin; uji kapasitas antioksidan (IC₅₀ = 128,09 µg/ml); kadar fenolik total= 668,63 µg/ml; kadar alkaloid total = 76,90 µg/ml, pemeriksaan uji toksisitas(LC₅₀= 72,44 µg/ml), yang menunjukkan toksik sedang. Pada uji *in vivo*, terdapat penurunan yang bermakna kadar GSH organ hati dan darah tikus pada kelompok hipoksia dibandingkan normoksia. Kadar GSH tikus yang diberi ekstrak daun juga menunjukkan kadar yang lebih tinggi daripada yang tidak diberikan. Hasil histopatologi terdapat perubahan struktur hati tikus yang diinduksi hipoksia dan tidak diberi ekstrak daun berupa nekrosis pada epitel organ hati namun pada tikus yang diberi ekstrak menunjukkan nekrosis jaringan hati minimal. Disimpulkan ekstrak daun *blackberry* (*Rubus sp.*) berpotensi sebagai antioksidan dan berpengaruh pada stres oksidatif.

Kata Kunci: hipoksia, kadar Glutathion (GSH), hati, ekstrak daun *blackberry* (*Rubus sp.*)

ABSTRACT

Hypoxia induced ROS production that lead to oxidative stress and damage organs like liver. Antioxidants could prevent and cure liver diseases involving oxidative stress. Glutathione used as antioxidant indicator inside our body. Blackberry (Rubus sp.) is believed contain high levels of antioxidant. Aim of this study is to analyze the effect of Rubus sp. leaf extract to GSH levels in hypoxia rats. Design of this study was experimental that contain in vitro and in vivo test. In vitro test includes phytochemical screening, antioxidant capacity by DPPH(Blois) damping method, total phenolic content (Singleton and Rossi), alkaloids test (Trivedi et al), and toxicity test with BSLT(Meyer). In vivo test was using 32 Sprague-Dawley rats divide into the group was fed blackberry(was given an extract of 400 mg/kgBB/ day, 14 day) and wasn't fed blackberry. Group classified according to duration from normoxia, hypoxia 1, 7, and 14 day. Result of this study: phytochemical screening of blackberry contains alkaloids, anthocyanin, betacyanin, cardio glycoside, coumarin, flavonoid, glycoside, phenolic, quinone, steroid, terpenoid and tannin; $IC_{50} = 128,09 \mu\text{g/ml}$; total phenolic content = $668,63 \mu\text{g/ml}$; total alkaloids levels = $76,90 \mu\text{g/ml}$; and toxicity test = $72,44 \mu\text{g/ml}$. In vivo test showed GSH levels of the blood and liver rats were decrease within hypoxia group than normoxia. GSH levels was higher in group was fed blackberry than wasn't fed blackberry. Histopathological test showed that the liver appeared necrotic in the group hypoxia and wasn't fed. Compared to the fed group necrotic appeared minimal. It was concluded that blackberry (Rubus sp.) leaf extracts contain antioxidants and have effect for oxidation stress.

Keywords: Hypoxia, Glutathione (GSH) levels, Liver, Blackberry (Rubus sp.)

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 GAMBAR.....	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
DAFTAR SINGKATAN.....	xiv
BAB 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
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Oksigen	6
2.2 Stress Oksidatif.....	7
2.3 <i>Reactive Oxygen Species</i> (ROS).....	10
2.4 Hipoksia	11
2.5 Hati	11
2.6 Tanaman <i>Blackberry</i> (<i>Rubus Sp</i>)	12
2.7 Glutation (GSH).....	13
2.8 Antioksidan.....	14
2.9 Efek Stres Oksidatif pada Hati	15
2.10 Hewan Coba.....	16
2.11 DPPH 1,1-Difenil-2-Pikril Hidrazil.....	17
2.12 <i>Brine Shrimp Lethality Test</i>	18
2.13 Ekstraksi	19
2.14 Kerangka Teori	21
2.15 Kerangka Konsep.....	22
BAB 3 METODOLOGI PENELITIAN.....	23
3.1 Desain Penelitian	23
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	23
3.3 Sampel Penelitian	23
3.4 Prakiraan Besar Sampel.....	24
3.5 Cara Kerja Penelitian	23
3.5.1 Pengambilan Sampel Daun <i>Blackberry</i>	24
3.5.2 Identifikasi Daun <i>Blackberry</i>	24

3.5.3 Pembuatan Ekstrak Daun <i>Blackberry</i>	24
3.5.4 Uji Fitokimia	25
3.5.5 Uji Kapasitas Total Antioksidan Pada Daun <i>Blackberry</i> dengan DPPH	27
3.5.6 Uji Fenolik Total	29
3.5.7 Uji Kadar Total Alkaloid	30
3.5.8 Uji Toksisitas ekstrak daun <i>Blackberry</i> dengan BSLT	30
3.5.9 Persiapan Perlakuan Hipoksia Pada Tikus	31
3.5.10 Pemberian Cekokan Ekstrak daun <i>blackberry</i> Pada Tikus.....	32
3.5.11 Pembedahan Tikus dan Pengambilan Sampel Hati	32
3.5.12 Pembuatan Homogenat Hati dan Lisat Darah	32
3.5.13 Pengukuran GSH	33
3.5.14 Pemeriksaan Patologi Anatomi Hati	34
3.7 Variabel Penelitian.....	35
3.7.1 Variabel Bebas.....	35
3.7.2 Variabel Terikat.....	35
3.8 Definisi Operasional	35
3.8.1 Hipoksia.....	35
3.8.2 Glutation (GSH)	35
3.9 Instrumen Penelitian	36
3.10 Pengumpulan Data.....	36
3.11 Analisa Data.....	36
3.12 Keterangan Lolos Kaji Etik	37
3.13 Alur Penelitian	38
BAB 4 HASIL PENELITIAN	38
4.1. Hasil Penelitian Ekstrak Daun <i>Blackberry</i>	39
4.2. Kapasitas Antioksidan Ekstrak Daun <i>Blackberry</i> menggunakan DPPH	40
4.3. Pengukuran Kadar Fenolik Total Ekstrak Daun <i>Blackberry</i>	42
4.4. Pengukuran Kadar Alkaloid Total Ekstrak Daun <i>Blackberry</i>	43
4.5. Uji Toksisitas dengan Metode BSLT	45
4.6. Hasil Uji GSH hewan Coba.....	46
4.6.1. Kurva Standar GSH	46
4.6.2. Kadar GSH Darah Hewan Coba	46
4.6.3. Kadar GSH Organ Hati Hewan Coba.....	49
4.6.4. Korelasi Kadar GSH Darah dan Hati Tikus Tidak Dicekok.....	52
4.6.5 Korelasi Kadar GSH Darah dan Hati Tikus Dicekok.....	53
4.7. Pemeriksaan Histopatologi Organ Hati Tikus	54
BAB 5 PEMBAHASAN	56
5.1. Uji Fitokimia Ekstrak Daun <i>Blackberry</i>	56
5.2. Uji Kapasitas Antioksidan Ekstrak Daun <i>Blackberry</i> (DPPH).....	56
5.3. Kadar Fenolik Total Ekstrak Daun <i>Blackberry</i>	55
5.4. Kadar Alkaloid Total Ekstrak Daun <i>Blackberry</i>	56
5.5. Toksisitas BSLT (<i>Brine Shrimp Lethality Test</i>) Daun <i>Blackberry</i>	58
5.6. Pemeriksaan Kadar GSH Darah dan Hati Tikus.....	59

5.7. Pemeriksaan Histopatologi Hati	60
BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN	62
6.1. Kesimpulan	62
6.2. Saran	63
DAFTAR PUSTAKA	64
LAMPIRAN	68

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Jalur NADPH Oksidase	8
Gambar 2.2	Reaksi Fenton dan Haber- Weiss	9
Gambar 2.3	Tanaman <i>Blackberry</i> (<i>Rubus Sp</i>)	13
Gambar 2.4	Struktur Kimia GSH.....	13
Gambar 2.5	Kerangka Teori.....	21
Gambar 2.6	Kerangka Konsep.	22
Gambar 3.1	Alur Penelitian.....	38
Gambar 4.1	Panjang gelombang maksimum DPPH	40
Gambar 4.2	Persentase Inhibisi Ekstrak Daun <i>Blackberry</i>	41
Gambar 4.3	Kurva Standar Vitamin C	42
Gambar 4.4	Kurva Standar Tanin.....	43
Gambar 4.5	Kurva standar Larutan <i>Berberine Chloride</i>	44
Gambar 4.6	Mortalitas <i>Artemia salina</i> Terhadap Konsentrasi Ekstrak Daun <i>Blackberry</i>	45
Gambar 4.7	Kurva standar GSH.....	46
Gambar 4.8	Kadar GSH pada Darah Tikus yang tidak diberi cekokan Ekstrak daun <i>Blackberry</i>	47
Gambar 4.9	Kadar Glutation (GSH) Darah Tikus yang Diberi Cekokan Ekstrak Daun <i>Blackberry</i>	48
Gambar 4.10	Kadar GSH Darah tikus yang Tidak Dicekok dengan yang Dicekok Ekstrak Daun <i>Blackberry</i>	49
Gambar 4.11	Kadar Glutation (GSH) pada Hati Tikus yang Tidak Diberi Cekokan Ekstrak Daun <i>Blackberry</i>	50
Gambar 4.12	Kadar Glutation (GSH) pada Hati Tikus yang Diberi Cekokan Ekstrak Daun <i>Blackberry</i>	51
Gambar 4.13	Kadar GSH Hati yang Tidak Dicekok dibandingkan dengan kadar GSH hati yang Dicekok Ekstrak Daun <i>Blackberry</i>	52
Gambar 4.14	Korelasi kadar GSH Darah dan Hati tidak di cekok.....	52
Gambar 4.15	Korelasi kadar GSH Darah dan Hati tikus yang dicekok daun <i>Blackberry</i>	53
Gambar 4.16	Mikroskopis Jaringan Hati hipoksia 14 hari Tidak dicekok Ekstrak Daun <i>Blackberry</i>	54
Gambar 4.17	Mikroskopis Jaringan Hati hipoksia 14 hari dicekok ekstrak daun <i>Blackberry</i> ,7	55

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Klasifikasi Antioksidan	15
Tabel 4.1	Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Daun <i>Blackberry</i>	39
Tabel 4.2	Hasil Absorbansi dan Kadar Fenolik Total Ekstrak daun <i>Blackberry</i>	43
Tabel 4.3	Hasil Absorbansi dan Kadar Alkaloid Total Ekstrak daun <i>Blackberry</i>	44

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Kaji Etik.....	68
Lampiran 2	Hasil Identifikasi Tanaman.....	69
Lampiran 3	Hasil Absorbansi Standar GSH	70
Lampiran 4	Hasil Absorbansi dan Kadar GSH Hati dan Darah	70
Lampiran 5	Hasil Penelitian dan Analisis Statistik.....	74
Lampiran 6	Dokumentasi Hasil uji in Vitro.....	101
Lampiran 7	Dokumentasi Uji Fitokimia	102
Lampiran 8	Dokumentasi Uji BSLT	107
Lampiran 9	Dokumentasi Proses Hipoksia	107

DAFTAR SINGKATAN

ATP	<i>Adenosine Triphosphate.</i>
BCG	<i>Bromocresol Green</i>
BSLT	<i>Brine Shrimp Lethality Test.</i>
CAT	<i>Catalase.</i>
CO ₂	Karbon Dioksida.
CoQ	<i>Coenzyme Q</i>
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil.
EDTA	<i>Ethylenediaminetetraacetic Acid</i>
FADH ₂	<i>Flavin Adenine Dinucleotide</i>
Fe	Besi
FeCl ₃	Besi (III) Klorida
Fe-S	Besi (II) Sulfida
GPx	Glutation Peroksidase
GRx	Glutation Reduktase
GSH	Glutation
H ₂	<i>Dihydrogen</i>
HCl	<i>Hydrochloric Acid</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>
LC ₅₀	<i>Lethal Dose at which 50% population killed.</i>
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
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>
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
SOD	Superoksida Dismutase
TAC	<i>Total Alkaloid Content</i>
TPC	<i>Total Phenolic Content</i>