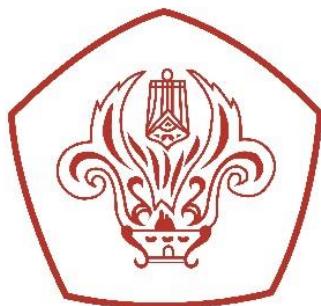


**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN BERENUK
TERHADAP KADAR GLUTATION (GSH) PADA DARAH DAN
ORGAN GINJAL TIKUS YANG DIINDUKSI HIPOOKSIA
SISTEMIK**

SKRIPSI



Disusun oleh

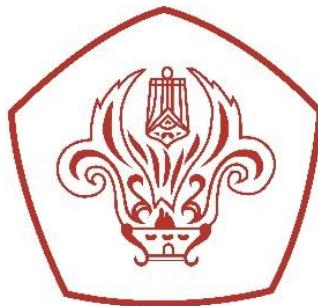
CLIFFIAN HOSANNA

405150022

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS TARUMANAGARA
JAKARTA
2018**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN BERENUK
TERHADAP KADAR GLUTATION (GSH) PADA DARAH DAN
ORGAN GINJAL TIKUS YANG DIINDUKSI HIPOOKSIA
SISTEMIK**

SKRIPSI



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

Disusun oleh

CLIFFIAN HOSANNA

405150022

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS TARUMANAGARA
JAKARTA
2018**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Saya, Cliffian Hosanna, NIM: 405150022

Dengan ini menyatakan, menjamin bahwa skripsi yang diserahkan kepada Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara, berjudul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Berenuk Terhadap Kadar Glutation (GSH) pada Darah dan Organ Ginjal Tikus yang Diinduksi Hipoksia Sistemik”, merupakan hasil karya sendiri, semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar dan tidak melanggar ketentuan plagiarisme dan otoplagicisme. Saya menyatakan memahami adanya larangan plagiarisme dan otoplagicisme 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, 25 Mei 2018

Materai Rp 6000,-

Cliffian Hosanna

405150022

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh

Nama : Cliffian Hosanna

NIM : 405150022

Program Studi: S1 Kedokteran

Judul Skripsi: Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Berenuk Terhadap Kadar Glutation (GSH) pada Darah dan Organ Ginjal Tikus yang Diinduksi Hipoksia Sistemik.

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. David Limanan, M.Biomed (.....)

Ketua Sidang: Dr. dr. Meilani Kumala, MS, Sp.GK (K) (.....)

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

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

Mengetahui,

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

Ditetapkan di: Jakarta

Tanggal: 6 Juli 2018

KATA PENGANTAR

Puji Syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa, akhirnya penulis mampu menyelesaikan skripsi ini. Skripsi adalah syarat supaya dinyatakan lulus dalam bidan studi Sarjana Kedokteran. Selama Proses Pendidikan mulai dari awal hingga akhir, sangat banyak pengalaman yang telah diperoleh oleh penulis untuk berkaris sebagai dokter dikemudian hari. Selama proses penyusunan skripsi, penulis mengalami kendala dalam mengerjakan penelitian. Maka dari itu penulis mengucapkan terima kasih kepada pihak-pihak yang telah menopang keberhasilan penyusunan skripsi ini. Ucapan terima kasih penulis kepada:

1. Dr. dr. Meilani Kumala, MS, Sp.GK (K)
2. Prof. Dr. dr. Frans Ferdinal, M.S.
3. dr. David Limanan, M. Biomed
4. Ibu Yulianti selaku staf Biologi dan Biokim Molekuler Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara
5. Teman-teman dan para sahabat seperjuangan yang ikut mengambil bagian dalam penelitian hipoksia sistemik kronik

Akhir kata, semoga Tuhan Yang Maha Esa berkenan membala semua kebaikan dari pihak yang telah membantu. Semoga skripsi ini dapat menjadi manfaat dalam ilmu kedokteran.

Jakarta, 25 Mei 2018

Penulis

HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN

PUBLIKASI KARYA ILMIAH

Saya yang bertanda-tangan di bawah ini:

Nama : Cliffian Hosanna

NIM : 405150022

Program Studi : S1 Kedokteran

Fakultas : Kedokteran

Jenis Karya : Skripsi

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

Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Berenuk Terhadap Kadar Glutation (GSH) pada Darah dan Organ Ginjal Tikus yang Diinduksi Hipoksia Sistemik.

Saya mencantumkan nama Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Jakarta, 25 Mei 2018

Yang Menyatakan,

Cliffian Hosanna

405150022

ABSTRAK

Oksigen merupakan zat yang penting untuk kelanjutan hidup binatang-binatang aerob, jika terjadi penurunan dalam sel disebut hipoksia. Hipoksia menyebabkan peningkatan kadar *Reactive Oxygen Species* (ROS), yang mampu merusak sel sehingga harus dinetralisir oleh antioksidan. Antioksidan dapat endogen seperti glutation, atau eksogen dari daun berenuk. Jika ROS berlebihan, terjadilah stres oksidatif. Stres oksidatif pada ginjal dapat menyebabkan fibrosis tubulointerstitial, glumerulonefritis dan glomerulosklerosis. Penelitian bertujuan untuk mengetahui pengaruh hipoksia sistemik terhadap kadar antioksidan pada ginjal dan darah tikus setelah diberi ekstrak daun berenuk. Penelitian ini menggunakan metode eksperimental dengan 32 ekor tikus yang dibagi menjadi 2 kelompok, kontrol (tidak dicekok) dan uji (dicekok ekstrak daun berenuk 400mg/kgBB/hari). 2 kelompok ini akan dibagi kembali menjadi 4 kelompok, normoksia, hipoksia (O_2 8% dan N_2 92%) 3, 7, 14 hari. Dilakukan uji *in-vitro* dan *in-vivo* seperti fitokimia kualitatif, kadar fenolik (Singleton & Rossi) dan flavonoid (Woisky & Salatino), kapasitas total antioksidan (Blois), toksitas (Meyer) dan glutation (Ellman).. Uji patologi anatomi menggunakan pewarnaan HE. Didapatkan steroid, terpenoid, fenolik, flavonoid pada daun berenuk. Kapasitas total antioksidan menunjukkan $IC_{50} = 158,46\mu g/mL$. Kadar flavonoid $9,354027\mu g/mL$, dan fenolik $3687,143\mu g/mL$. LC_{50} daun berenuk $243,5897\mu g/mL$. Kadar GSH darah dan ginjal tikus didapatkan menurun bermakna (*Mann-Whitney P<0.05*) pada kelompok hipoksia dibandingkan dengan normoksia kecuali pada kelompok ginjal 3 hari. Didapatkan kadar GSH yang lebih tinggi pada kelompok uji. Tidak didapatkan perbedaan yang bermakna (Pearson) antara darah dengan ginjal pada kontrol maupun uji. Pada hipoksia 14 hari didapatkan degenerasi dan pelebaran korpuscl renal. Penelitian menyimpulkan daun berenuk merupakan sumber antioksidan yang dapat mengurangi stres oksidatif.

Kata Kunci: Berenuk, Glutation, Ginjal, Hipoksia, Stres oksidatif

ABSTRACT

Aerobic organisms depends on oxygen for survival, decrease of cellular oxygen concentration is called hypoxia. Hypoxia causes increase of Reactive Oxygen Species (ROS), which are unstable and will cause damage to surrounding cells neutralized by anti-oxidants. Normally, oxidant and anti-oxidant levels are in equilibrium. Antioxidant sources can be endogenic like glutathione or exogenic like *Crescentia cujete*. Prolonged oxidative stress at kidney causes tubulointerstitial fibrosis, glomerulonephritis and glomerulosclerosis. This experiment aims to understand the effects of administering calabash leaf extract towards oxidative stress on hypoxia-induced *Sprague Dawley* rats. The experiemtn requires 32 rats which is divided into 2 groups, control (not administered) and test (administered with 400mg/kg/day of extract), these groupsp are further divided into normoxic, hypoxic (O_2 8% and N_2 92%) 3, 7 and 14 days.. Qualitative and quantitative phytochemical tests are done. *In-vivo* tests such as phenolic (Singleton & Rossi's), flavonoid (Woisky & Salatino's), total antioxidant capacity (Blois' Method), toxicity test (Meyer's method), and glutathione (Ellman's method). Using HE staining to observe kidney's histopathology. Results shows presence of steroid, terpenoid, phenolic and flavonoid. Total antioxidant capacity shows IC_{50} of 158,46 μ g/mL. Flavonoid and phenolic levels are 9,354027 μ g/mL and 3687,143 μ g/mL respectively. GSH levels in rat's blood and kidney shows significant decrease (Mann-Whitney $P<0.05$) on hypoxic rats compared to normoxic, with an exception of kidneys' of 3 days hypoxic rats. Correlation test with pearson show no significant difference in blood and kidney. Histopathologic examination shows eenal corpuscle degeneration and widening. The experiment concludes that calabash leaf may be a good source of antioxidant.

Keywords: Calabash, Glutathione, Kidney, Hypoxia, Oxidative Stress

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENYATAAN ORINSINALITAS	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH	v
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR SINGKATAN.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
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
2. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1. Oksigen	6
2.2. Reactive Oxygen Species.....	7
2.3. Hipoksia	8
2.4. Stres oksidatif.....	9
2.5. Antioksidan	10
2.6. <i>Crescentia cujete</i>	11
2.7. Ginjal.....	12
2.8. Glutation	13
2.9. Kerangka Teori	15
2.10. Kerangka Konsep	16
3. METODOLOGI PENELITIAN	17
3.1. Desain Penelitian	17
3.2. Tempat dan Waktu Penelitian	17
3.2.1. Tempat Penelitian	17
3.2.2. Waktu Penelitian.....	17

3.3. Populasi dan Sampel Penelitian	17
3.3.1. Populasi Penelitian	17
3.3.2. Sampel Penelitian	17
3.3.2.1. Daun Berenuk (<i>Crescentia cujete</i>)	17
3.3.2.2. Tikus Sprague Dawley	17
3.4. Perkiraan Besar Sampel	17
3.5. Kriteria Inklusi dan Eksklusi	18
3.5.1. Kriteria Inklusi	18
3.5.2. Kriteria Eksklusi	18
3.6. Cara Kerja Penelitian	18
3.6.1. Pengumpulan Daun Berenuk (<i>Crescentia cujete</i>)	18
3.6.2. Pembuatan Ekstrak Daun Berenuk	18
3.6.3. Uji Fitokimia Kualitatif Daun Berenuk	19
3.6.3.1. Uji Alkaloid	19
3.6.3.2. Uji Steroid dan Terpenoid	19
3.6.3.3. Uji Fenolik	19
3.6.3.4. Uji Flavonoid	19
3.6.4. Uji Kapasitas Total Antioksidan	20
3.6.4.1. Pembuatan DPPH	20
3.6.4.2. Penentuan Panjang Gelombang Maksimal DPPH	20
3.6.4.3. Kapasitas Total Antioksidan Vitamin C	20
3.6.4.4. Kapasitas Total Antioksidan Ekstrak Daun Berenuk	21
3.6.5. Uji Fenolik	21
3.6.5.1. Pembuatan Standard Tanin	21
3.6.5.2. Membaca Absorbansi dan Membuat Kurva Standard Tanin	22
3.6.5.3. Pengukuran Kadar Fenolik Daun Berenuk	22
3.6.6. Uji Flavonoid	22
3.6.6.1. Pembuatan Larutan Kuersetin	22
3.6.6.2. Membaca Absorbansi dan Membuat Kurva Standar Kuersetin	22
3.6.6.3. Penentuan Kandungan Flavonoid	23
3.6.7. Uji Toksisitas	23
3.6.8. Perlakuan pada Tikus Sprague Dawley	23
3.6.9. Proses Hipoksia	24
3.6.10. Pengambilan Sampel Organ dan Darah	24
3.6.11. Pembuatan Homogenat Ginjal dan Lisat Darah 50%	25
3.6.12. Pembuatan Larutan Standard an Pengukuran GSH	25
3.6.13. Uji GSH pada Ginjal dan Darah Tikus Sprague Dawley	26
3.6.13.1. Uji GSH pada Ginjal Tikus Sprague Dawley	26
3.6.13.2. Uji GSH pada Darah Tikus Sprague Dawley	26
3.6.14. Pemeriksaan Patologi Anatomi Ginjal Tikus Sprague Dawley	27
3.7 Variabel Penelitian	27

3.7.1. Variabel Bebas.....	27
3.7.2. Variabel Tergantung	27
3.7.3. Variabel Antara.....	27
3.8. Definisi Operasional	27
3.8.1. Hipoksia.....	27
3.8.1.1. Definisi Hipoksia.....	27
3.8.1.2. Alat Ukur	28
3.8.1.3. Cara Ukur	28
3.8.1.4. Hasil Ukur.....	28
3.8.1.5. Skala Ukur	28
3.8.2. Glutation (GSH)	28
3.8.2.1. Definisi Glutation	28
3.8.2.2. Alat Ukur	28
3.8.2.3. Cara Ukur	28
3.8.2.4. Hasil Ukur.....	28
3.8.2.5. Skala Ukur	28
3.9. Instrumen Penelitian	28
3.9.1. Alat Penelitian	28
3.9.2. Bahan Penelitian	29
3.10. Pengumpulan Data	29
3.11. Analisis Data	29
3.12. Alur Penelitian	30
3.13. Jadwal Pelaksanaan	31
4. HASIL PENELITIAN	32
4.1. Hasil Uji Fitokimia Kualitatif	32
4.2. Hasil Uji Kapasitas Total Antioksidan	32
4.2.1. Penentuan Panjang Gelombang dan Absorbansi Maksimal DPPH	32
4.2.2. Kapasitas Total Antioksidan Vitamin C.....	33
4.2.3. Kapasitas Total Antioksidan Ekstrak Daun Berenuk	34
4.3. Hasil Uji Fenolik.....	35
4.4. Hasil Uji Flavonoid.....	36
4.5. Hasil Uji Toksisitas	37
4.6. Hasil Uji GSH pada Hewan Coba.....	38
4.6.1. Standar GSH.....	38
4.6.2. Hasil Uji GSH pada Darah Hewan Coba Kontrol	39
4.6.3. Hasil Uji GSH pada Darah Hewan Coba Uji	40
4.6.4. Hasil Perbandingan Kadar GSH pada Darah Hewan Coba Kontrol dan Uji	41
4.6.5. Hasil Uji GSH pada Ginjal Hewan Coba Kontrol	42
4.6.6. Hasil Uji GSH pada Ginjal Hewan Coba Uji	43
4.6.7. Hasil Perbandingan Kadar GSH pada Ginjal Hewan Coba Kontrol dan Uji	44

4.6.8. Korelasi Kadar GSH pada Darah dan Ginjal Kontrol	45
4.6.9. Korelasi Kadar GSH pada Darah dan Ginjal Uji.....	45
4.7. Hasil Uji Patologi Anatomi.....	46
5. PEMBAHASAN	49
5.1. Hasil Uji Pada Ekstrak Daun Berenuk.....	49
5.1.1. Uji Fitokimia Kualitatif	49
5.1.2. Uji Kapasitas Antioksidan Total.....	49
5.1.3. Uji Kadar Flavonoid dan Fenolik	49
5.1.4. Uji Toksisitas Daun Berenuk.....	50
5.2. Hasil Uji pada Hewan Coba.....	50
5.2.1. Kadar GSH pada Darah dan Ginjal Hewan Coba.....	50
5.2.2. Hasil Uji Patologi Anatomi Ginjal	51
5.3. Keterbatasan Penelitian.....	52
6. KESIMPULAN.....	53
6.1. Kesimpulan	53
6.2. Saran	54
DAFTAR PUSTAKA	55
LAMPIRAN	60
DAFTAR RIWAYAT HIDUP	90

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1	Jadwal Kegiatan	30
Tabel 4.1	Hasil Uji Ftitokimia Kualitatif	32
Tabel 4.2	Standar Vitamin C.....	33
Tabel 4.3	Hasil Ekstrak Daun Berenuk.....	34
Tabel 4.4	Absorbansi Larutan Tanin.....	35
Tabel 4.5	Fenolik Ekstrak Daun Berenuk	36
Tabel 4.6	Absorbansi Kuersetin.....	36
Tabel 4.7	Flavonoid Daun Berenuk	37
Tabel 4.8	Hasil BSLT	38
Tabel 4.9	Standar GSH	39
Tabel 4.10	Kadar GSH Darah pada Hewan Coba Kontrol	40
Tabel 4.11	Kadar GSH Darah pada Hewan Coba Uji.....	41
Tabel 4.12	Kadar GSH Ginjal pada Hewan Coba Kontrol	42
Tabel 4.13	Kadar GSH Ginjal pada Hewan Coba Uji	43

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Proses Reduksi O ₂ Menjadi H ₂ O.....	8
Gambar 2.2	Struktur Kimia Glutation.....	14
Gambar 2.3	Kerangka Teori.....	15
Gambar 2.4	Kerangka Konsep	16
Gambar 3.1	Alur penelitian.....	29
Gambar 4.1	Panjang Gelombang Dan Absorbansi Maksimum DPPH.....	32
Gambar 4.2	Kurva Aktivitas Vitamin C	33
Gambar 4.3	Kurva Aktivitas Daun Berenuk	34
Gambar 4.4	Kurva Standar Tanin	35
Gambar 4.5	Kurva Standar Kuersetin	37
Gambar 4.6	Kurva BSLT Daun Berenuk	38
Gambar 4.7	Kurva Standar GSH.....	39
Gambar 4.8	Grafik GSH Darah pada Hewan Coba Kontrol.....	40
Gambar 4.9	Grafik GSH Darah pada Hewan Coba Uji	41
Gambar 4.10	Grafik Perbandingan Kadar GSH Darah Hewan Coba Kontrol dan Uji.....	42
Gambar 4.11	Grafik GSH Ginjal pada Hewan Coba Kontrol.....	43
Gambar 4.12	Grafik GSH Ginjal pada Hewan Coba Uji	44
Gambar 4.13	Grafik Perbandingan Kadar GSH Ginjal Hewan Coba Kontrol dan Uji.....	44
Gambar 4.14	Grafik Korelasi Kadar GSH pada Kelompok Kontrol	45
Gambar 4.15	Grafik KorelasI Kadar GSH pada Kelompok Uji	46
Gambar 4.16	Histologi Ginjal Normoksia Uji	46
Gambar 4.17	Histologi Ginjal Normoksia Kontrol.....	47
Gambar 4.18	Histologi Ginjal Kelompok Uji Hipoksia 14 hari	47
Gambar 4.19	Histologi Ginjal Kelompok Kontrol Hipoksia 14 hari	48

DAFTAR SINGKATAN

$\cdot\text{OH}$	Hidroksil radikal
ADP	<i>Adenosine diphosphate</i>
AlCl_3	Aluminium klorida
ATP	<i>Adenosine triphosphate</i>
CAT	Katalase
CKD	Chronic Kidney Disease
CO_2	Karbon dioxida
DTNB	<i>5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoic acid)</i>
EDTA	<i>Ethylenediaminetetraacetic</i>
EPO	Eritropoietin
ESRD	<i>End-Stage Renal Disease</i>
GPx	Glutation peroksidase
GRx	Glutation reduktase
GSH	Glutation tereduksi
GSSG	Glutation teroksidasi
H_2O	Air
H_2O_2	Hidrogen peroksid
Hb	Hemoglobin
HIF	<i>Hypoxia Inducible Factors</i>
HRE	<i>Hypoxia-responsive element</i>
LC_{50}	<i>Lethal Concentration</i>
LDL	<i>Low Density Lipoprotein</i>
LOO^\cdot	Lipid peroksil
MDA	<i>Malondialdehyde</i>
N_2	Nitrogen
NADH	<i>Reduced nicotinamide adenine dinucleotide</i>
NaNO_3	Natrium nitrit
NaOH	Natrium hidroksida
NO^\cdot	Nitrat oksida
NO_2^\cdot	Nitrogen dioksida

NOS	NO Synthase
NOX	NAPDH oksidase
O ₂	Oksigen
O ₂ ⁻	superoksid
OH•	Hidroksil
PB	<i>Phosphate buffer</i>
PO ₂	Tekanan oksigen
ROO•	Peroksil
ROS	Reactive Oxygen Species
SOD	Superoksid dismutase
TCA	<i>Trichloroacetic Acid</i>

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Lembar Persetujuan Etik
Lampiran 2	Daun Berenuk
Lampiran 3	Pencekikan Tikus
Lampiran 4	Proses Hipoksia.....
Lampiran 5	Alat-alat yang Digunakan
Lampiran 6	Panjang Gelombang Optimal DPPH
Lampiran 7	Hasil Absorbansi GSH Darah
Lampiran 8	Hasil Absorbansi GSH Ginjal.....
Lampiran 9	Statistik Uji Kuantitatif.....
Lampiran 10	Statistik Standar GSH
Lampiran 11	Uji Statistik GSH Darah
Lampiran 12	Uji Statistik GSH Ginjal