

**UJI FITOKIMIA, KAPASITAS ANTIOKSIDAN, TOKSISITAS,
SERTA EFEK PEMBERIAN EKSTRAK DAUN BERENUK
(*CRESCENTIA CUJETE*) PADA AKTIVITAS SPESIFIK
KATALASE DARAH DAN JANTUNG YANG DIINDUKSI
HIPOKSIA**

SKRIPSI



Disusun oleh:

**ALFRED HARTOYO ALPHANTO
405150114**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS TARUMANAGARA
JAKARTA
2018**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Saya Alfred Hartoyo Alphanto, NIM: 405150114

Dengan ini menyatakan, menjamin bahwa proposal skripsi yang diserahkan kepada Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanegara, berjudul “Uji Fitokimia, Kapasitas Antioksidan, Toksisitas, serta Efek Pemberian Ekstrak Daun Berenuk (*Crescentia cujete*) Pada Darah dan Jantung yang Diinduksi Hipoksia” 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, 22 Mei 2018

Alfred Hartoyo Alphanto

NIM.405150114

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh

Nama : Alfred Hartoyo Alphanto
NIM : 405150114
Program Studi : Sarjana Kedokteran
Judul Skripsi : Uji Fitokimia, Kapasitas Antioksidan, Toksisitas, serta Efek Pemberian Ekstrak Daun Berenuk (*Crescentia cujete*) Pada Aktivitas Spesifik Katalase Darah dan Jantung yang Diinduksi Hipoksia

Telah berhasil dipertahankan dihadapan 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 : Prof. Dr. dr. Frans Ferdinal, MS. ()

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

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

Penguji 2 : Prof. Dr. dr. Frans Ferdinal, MS. ()

Mengetahui,

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

Ditetapkan di : Jakarta

Tanggal : 3 Juli 2018

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. Prof. DR. dr. Frans Ferdinal, MS. selaku pembimbing,
2. Ibu Eny selaku Staf Laboratorium Biokimia.
3. dr. David Limanan, M. Biomed
4. dr. Triyana Sari, M. Biomed selaku Pembimbing Akademik.
5. Dr.dr. Meilani Kumala MS., Sp.GK(K) selaku dekan.
6. Erics Efrany selaku teknisi tim skripsi biokimia
7. Orang Tua dan Keluarga yang telah memberikan dukungan moral dan material.
8. Selly Herlia, Belinda Sentosa, Natashia Olivia Christian, Stevanno Geraldus, Clareta Vero, serta seluruh teman yang berperan dalam pengerjaan skripsi .
9. Ence, Nico A, Sherin, Elje/ Jeha, Dibol, Mega, Jede, Wawan, Angel, Shania, Vandes, Irena, Jan, Tami, Liju, Marco, Cicil, Aster, Agrip, Sheren, Memell, Victor, Brenda, Amoy, Cete, Cangga, Cireng, Bengbeng, Jovi, Wong, dan seluruh teman – teman KMK Adhyatmaka yang telah meberikan dukungan doa, semangat, dan makanan.
10. Serta seluruh pihak 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, 22 Mei 2018

(Penulis)

HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Alfred H. Alphanto

NIM : 405150114

Program Studi : S1 Pendidikan Dokter

Fakultas : Fakultas Kedokteran

Jenis Karya : Skripsi

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

Uji Fitokimia, Kapasitas Antioksidan, Toksisitas, serta Efek Pemberian Ekstrak Daun Berenuk (*Crescentia cujete*) Pada Aktivitas Spesifik Katalase Darah dan Jantung yang Diinduksi Hipoksia

Serta mencantumkan nama Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara.

Demikian Pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Jakarta, 22 Mei 2018

Yang menyatakan,

(Alfred H. Alphanto)

450150114

ABSTRAK

Uji Fitokimia, Kapasitas Antioksidan, Toksisitas, serta Efek Pemberian Ekstrak Daun Berenuk (*Crescentia cujete*) Pada Aktivitas Spesifik Katalase Darah dan Jantung yang Diinduksi Hipoksia

Jantung merupakan organ yang sangat penting namun rentan akan berbagai penyakit. Salah satu mekanisme yang berperan dalam perkembangan penyakit tersebut adalah stres oksidatif. Stres oksidatif dapat ditangkal menggunakan antioksidan yang terdapat didalam tubuh seperti enzim katalase. Namun jika hal ini terjadi terus menerus antioksidan endogen tidak mampu menanganinya, maka diperlukan antioksidan eksogen yang bisa didapatkan dari daun berenuk (*Crescentia cujete*). Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek metabolit sekunder yang terdapat pada daun berenuk terhadap aktivitas spesifik katalase darah dan jantung yang diinduksi hipoksia. Uji in vitro : Uji fitokimia kualitatif (FeCl₃, HCl, Dragendorf, Salkowski), uji kapasitas antioksidan (Blois), fenolik (Singleton & Rossi), flavonoid (Woisky & Salatino), dan toksisitas (BSLT). In vivo : 32 ekor tikus dibagi 2 kelompok diberi ekstrak dan yang Tidak Diberi Ekstrak. Masing-masing kelompok dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan, normoksia, hipoksia 1 hari, 3 hari, dan 7 hari dan diuji aktivitas spesifik enzim katalase (Mates). Pemeriksaan histopatologi dengan pewarnaan HE Uji fitokimia kualitatif positif pada steroid, terpenoid, fenolik, dan flavonoid, uji kapasitas antioksidan (IC-50 = 158,46 µg/mL), fenolik (3694,286 ± 0,254 mgTE/l), flavonoid (8,926 ± 0,453 mgKE/l) menunjukkan adanya aktivitas antioksidan, toksisitas (LC50 = 377.04 µg/mL) menunjukkan aktivitas antikanker. Pada jantung, terjadi peningkatan aktivitas spesifik enzim katalase pada hari ke 3 sebagai upaya menanggulangi hipoksia, kemudian terjadi penurunan hingga akhir perlakuan. Aktivitas spesifik enzim katalase lebih tinggi pada kelompok yang diberi ekstrak menunjukkan adanya efek antioksidan daun Berenuk. Histopatologi jantung terdapat area nekrosis lebih sempit pada kelompok yang diberi ekstrak. Daun berenuk memiliki aktivitas antioksidan, bersifat antimotik dan dapat meningkatkan aktivitas spesifik enzim katalase darah dan jantung yang diinduksi hipoksia sistemik kronik, serta dapat mempersempit area nekrosis otot jantung.

Kata Kunci : Hipoksia, *Crescentia cujete*, Enzim Katalase, Darah, Jantung.

ABSTRACT

Phytochemistry Screening, Antioxidant Capacity, Toxicity, and Effects of *Crescentia cujete* Leaves Extract on Hypoxic Blood and Heart Catalase Specific Activity

Foreword : Heart is a vital organ that susceptible to many diseases. Oxidative stress is one of major mechanism that play roles on those diseases that can be hindered with the antioxidants that are presents in the body. *Crescentia cujete* leaves also have antioxidants that can help body's antioxidant in deterring oxidative stress. This objective of this study is to know the effects of secondary metabolites that are presents at *Crescentia cujete* leaves on hypoxic blood and heart catalase specific activity. Methods used in this study are: Phytochemistry screening (FeCl₃, HCl, Dragendorf, Salkowski), antioxidant scavenging assay (Blois), phenolic (Singleton & Rossi), flavonoid (Woisky & Salatino), and toxicity (BSLT). In vivo : 32 mice will recieved figs leaves extract and split in to 4 groups, normoxia, 1 day, 3 days, and 7 days of hypoxia. Division into 2 subgroup: given with *Crescentia cujete* leaves extract and control. Histopathology Examination with HE. Phytochemistry screening positive in steroid, terpenoid, phenolics, dan flavonoid. Antioxidant scavenging assay (IC-50 = 158,46 µg/mL), phenolic (3694,286 ± 0,254 mgTE/l), flavonoid (8,926 ± 0,453 mgQE/l), Toxicity (LC50 = 377.04 µg/mL) show anticancer activity. Heart catalase specific activity increased at day 3 of hypoxia as an adjustment against hypoxia and then decreased untill the end of treatment. Higher Catalase specific activity and smaller area of necrotic heart tissue have seen in group given with *Crescentia cujete* leaves extract. In conclusion *Crescentia cujete* leaves have remarkable antioxidant capacity, considered cytotoxic, and could elevate the catalase specific activity in hypoxic blood and heart, also can lessen the area of heart necrotic area.

Keywords : Hypoxia, *Crescentia cujete*, Catalase, Blood, Heart.

DAFTAR ISI

Halaman Judul	i
Halaman Pernyataan Orisinalitas	ii
Halaman Persetujuan	iii
Kata Pengantar	iv
Halaman Pernyataan Persetujuan Publikasi Karya Ilmiah	v
Abstrak	vi
Abstract	vii
Daftar Isi	viii
Daftar Tabel	xi
Daftar Gambar	xii
Daftar Singkatan.....	xiii
Daftar Lampiran.....	xiv
1. Pendahuluan	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	2
1.2.1. Pernyataan Masalah	2
1.2.1. 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.....	4
2. Tinjauan Pustaka	6
2.1. Radikal Bebas	6
2.2. Stres Oksidatif	7
2.3. Hipoksia	9
2.4. Antioksidan	9
2.4.1. Superoksid Dismutase	10
2.4.2. Katalase	10
2.4.3. Sistem Glutation	11
2.4.4. Asam Askorbat	11
2.4.5. Melatonin	12
2.4.6. Tokoferol dan Tokotrienol (Vitamin E)	12
2.5. Penyakit Kardiovaskuler	12
2.6. <i>Crescentia cujete</i>	13
2.7. Kerangka Teori	14
2.8. Kerangka Konsep	14
3. Metodologi Penelitian	15
3.1. Disain Penelitian	15
3.2. Tempat dan Waktu Penelitian	15
3.3. Populasi dan Sampel Penelitian	15
3.3.1. Populasi Target	15
3.3.2. Sampel Penelitian	15
3.4. Perkiraan Besar Sampel	15

3.5.	Kriteria Inklusi	16
3.6.	Cara Kerja/ Prosedur Kerja Penelitian	16
3.6.1.	Proses Pembuatan Ekstrak daun <i>Crescentia cujete</i>	16
3.6.2.	Uji Fitokimia	17
3.6.3.	Pengukuran Kadar Fenolik Total Ekstrak Daun <i>Crescentia cujete</i>	18
3.6.4.	Pengukuran Kadar Flavonoid Ekstrak Daun <i>Crescentia cujete</i>	18
3.6.5.	Pengukuran Aktivitas Antioksidan Ekstrak	19
3.6.6.	Pengukuran Kadar Toksisitas Ekstrak Daun <i>Crescentia cujete</i>	20
3.6.7.	Proses Persiapan, Perlakuan, dan Pembagian Dosis Ekstrak	21
3.6.8.	Proses Hipoksia	21
3.6.9.	Pengambilan Sampel Jantung dan Darah Tikus.....	21
3.6.10.	Pembuatan Homogenat Sampel.	22
3.6.11.	Pengukuran Aktivitas Spesifik Enzim Katalase.	22
3.6.12.	Pembuatan Sediaan Patologi Anatomi Otak	24
3.7.	Variabel Penelitian	24
3.7.1.	Variabel Bebas	24
3.7.2.	Variabel Tergantung	25
3.7.4.	Variabel Antara	25
3.8.	Definisi Operasional	25
3.8.1.	Hipoksia	25
3.8.2.	Enzim Katalase	25
3.9.	Instrumen Penelitian	25
3.9.1.	Alat Penelitian.....	25
3.9.2.	Bahan Penelitian	26
3.10.	Pengumpulan Data	26
3.11.	Analisis Data	26
3.12.	Alur Penelitian	27
4.	Hasil Penelitian	28
4.1.	Uji Fitokimia Kualitatif.....	28
4.2.	Uji Kapasitas Antioksidan	28
4.2.1.	Optimasi Panjang Gelombang DPPH	28
4.2.2.	Uji Larutan Perbandingan	28
4.2.3.	Uji Ekstrak Daun <i>Crescentia cujete</i>	29
4.3.	Penentuan Kadar Fenolik Total.....	30
4.4.	Penentuan Kadar Flavonoid Total.....	32
4.5.	Uji Toksisitas	33
4.6.	Pengukuran Aktivitas Spesifik Enzim Katalase.....	34
4.6.1.	Penetapan Konsentrasi Hidrogen Peroksida (H ₂ O ₂)	34
4.6.2.	Penetapan Standar Protein.....	35
4.6.3.	Penetapan Kadar Protein	36
4.6.4.	Penetapan Waktu dan Pengenceran Optimal	37
4.6.5.	Aktivitas Spesifik Katalase Homogenat Jantung	39
4.6.6.	Aktivitas Spesifik Enzim Katalase Darah	42
4.6.8.	Hubungan Aktivitas Spesifik Enzim Katalase Darah dan Jantung yang diberi ekstrak daun <i>Crescentia cujete</i>	45
4.6.9.	Hubungan Aktivitas Spesifik Enzim Katalase Darah dan Jantung Kelompok yang Tidak Diberi Ekstrak.....	46
4.7.	Pemeriksaan Patologi Anatomi	47

5.	Pembahasan	50
5.1.	Hasil Uji Fitokimia Kualitatif.....	50
5.2.	Hasil Uji Kapasitas Antioksidan	50
5.3.	Hasil Uji Flavonoid dan Fenolik	50
5.4.	Hasil Uji Toksisitas	51
5.5.	Hasil Uji Aktvitas Spesifik Enzim Katalase.....	51
5.6.	Hasil Pemeriksaan Patologi Anatomi.....	52
5.7.	Keterbatasan Penelitian	53
6.	Kesimpulan dan Saran	54
5.1.	Kesimpulan.....	54
5.2.	Saran	55
	DAFTAR PUSTAKA	56
	LAMPIRAN	60
	DAFTAR RIWAYAT HIDUP	92

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1.	Uji In Vitro Kualitatif	27
Tabel 4.2.	Persentase inhibisi dan IC-50 asam askorbat.....	29
Tabel 4.3.	Persentase Inhibisi dan IC-50 ekstrak daun <i>Crescentia cujete</i>	30
Tabel 4.4.	Absorbansi Tanin Berdasarkan Konsentrasi	31
Tabel 4.5.	Rata-rata Kadar Senyawa Fenolik Ekstrak Daun <i>Crescentia cujete</i>	31
Tabel 4.6.	Absorbansi Kuersetin Berdasarkan Konsentrasi.....	32
Tabel 4.7.	Rata-rata Kadar Senyawa Flavonoid Ekstrak Daun <i>Crescentia cujete</i>	33
Tabel 4.8.	Toksistas dan LC-50 Ekstrak Daun <i>Crescentia cujete</i>	34
Tabel 4.9.	Absorbansi <i>Bovine Serum Albumin</i> (BSA)	35
Tabel 4.10.	Kadar Protein Homogenat Jantung yang Diberi Ekstrak.....	36
Tabel 4.11.	Kadar Protein Homogenat Jantung yang Tidak Diberi Ekstrak.....	36
Tabel 4.12.	Kadar Protein Lisat Darah yang Diberi Ekstrak	37
Tabel 4.13.	Kadar Protein Lisat Darah yang Tidak Diberi Ekstrak	37
Tabel 4.14.	Optimasi Pengenceran dan Waktu Homogenat Jantung	38
Tabel 4.15.	Optimasi Pengenceran dan Waktu Lisat Darah	38
Tabel 4.16.	Rata-rata Aktivitas Katalase Jantung	39
Tabel 4.17.	Aktivitas Spesifik Katalase Jantung Tikus yang Diberi Ekstrak	40
Tabel 4.18.	Aktivitas Spesifik Katalase Jantung Tikus yang Tidak Diberi Ekstrak	41
Tabel 4.19.	Rata-rata Aktivitas Katalase Darah.....	42
Tabel 4.20.	Aktivitas Spesifik Katalase Jantung Tikus yang Diberi Ekstrak	43
Tabel 4.21.	Aktivitas Spesifik Katalase Darah Tikus yang Tidak Diberi Ekstrak..	44

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Peroksidasi Lipid	8
Gambar 2.2. Mekanisme Kerja Enzim Katalase	11
Gambar 2.3. Mekanisme Kerja Glutation Peroksidase	11
Gambar 2.4. Kerangka Teori	14
Gambar 2.5. Kerangka Konsep	14
Gambar 3.1. Alur Penelitian	27
Gambar 4.1. Grafik % Inhibisi Asam Askorbat.....	29
Gambar 4.2. Grafik % Inhibisi DPPH Oleh Konsentrasi Ekstrak	30
Gambar 4.3. Kurva Standar Tanin	32
Gambar 4.4. Kurva Standar Kuersetin.....	33
Gambar 4.5. Kurva Toksisitas Ekstrak Daun <i>Crescentia cujete</i>	34
Gambar 4.6. Kurva Standar BSA	36
Gambar 4.7. Aktivitas Spesifik Katalase Jantung Tikus yang Diberi Ekstrak	40
Gambar 4.8. Aktivitas Spesifik Katalase Jantung Tikus Tikus yang Tidak Diberi Ekstrak.....	41
Gambar 4.9. Perbandingan Aktivitas Spesifik Katalase Homogenat Jantung pada Kedua Kelompok	42
Gambar 4.10. Aktivitas Spesifik Katalase Darah Tikus yang Diberi Ekstrak	43
Gambar 4.11. Aktivitas Spesifik Katalase Darah Tikus yang Tidak Diberi Ekstrak ..	44
Gambar 4.12. Perbandingan Aktivitas Spesifik Katalase Lisat Darah pada Kedua Kelompok	45
Gambar 4.13. Hubungan Aktivitas Spesifik Katalase Homogenat Jantung dan Lisat Darah Tikus yang Diberi Ekstrak	46
Gambar 4.14. Hubungan Aktivitas Spesifik Katalase Homogenat Jantung dan Lisat Darah Tikus yang Tidak Diberi Ekstrak.....	47
Gambar 4.15. Gambaran Histopatologi Jantung Tikus yang Diberi Ekstak dalam keadaan Normoksia	48
Gambar 4.16. Gambaran Histopatologi Jantung Tikus yang Tidak Diberi Ekstrak dalam keadaan Normoksia	48
Gambar 4.17. Gambaran Histopatologi Jantung Tikus yang Diberi Ekstak dan Diinduksi Hipoksia 14 Hari.....	49
Gambar 4.18. Gambaran Histopatologi Darah Tikus yang Tidak Diberi Ekstrak dan Diinduksi Hipoksia 14 Hari	49

DAFTAR SINGKATAN

AIDS	<i>Acquired Immunodeficiency Syndrome</i>
CYP	<i>cytochrome P450</i>
DNA	<i>Deoxyribonucleic Acid</i>
GPx	<i>Glutathione Peroxidase</i>
GST	<i>Glutathione S-Transferase</i>
HIF	<i>Hypoxia Inducible Factor</i>
IC-50	<i>Inhibitory Concentration 50%</i>
LC-50	<i>Lethal Concentration 50%</i>
LOOH	Lipid Hidroperoksida
MDA	Malondialdehid
mgKE/l	Miligram Kuersetin Ekuivalen per liter
mgTE/l	Miligram Tanin Ekuivalen per liter
miR21	<i>micro RNA 21</i>
PHDs	<i>Oxygen-sensing Prolil hydroxilase</i>
RNA	<i>Ribonucleic Acid</i>
RNS	<i>Reactive Nitrogen Species</i>
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
Se	Selenium
SOD	<i>Superoxide Dismutase</i>
UV	Sinar Ultraviolet
VEGF	<i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran-1 : Uji Kelaikan Etik	58
Lampiran-2 : Identifikasi Tanaman	59
Lampiran-3 : Pengukuran Pada Sampel	60
Lampiran-4 : Foto Alat dan Dokumentasi	82