

**PENGARUH HIPOKSIA SISTEMIK KRONIK TERHADAP
AKTIVITAS SPESIFIK ENZIM KATALASE DARAH DAN
OTAK TIKUS *SPRAGUE DAWLEY* SETELAH DIBERI
EKSTRAK DAUN BERENUK**

SKRIPSI



Disusun oleh

BELINDA SENTOSA

405150079

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS TARUMANAGARA
JAKARTA
2018**

**PENGARUH HIPOKSIA SISTEMIK KRONIK TERHADAP
AKTIVITAS SPESIFIK ENZIM KATALASE DARAH DAN
OTAK TIKUS *SPRAGUE DAWLEY* SETELAH DIBERI
EKSTRAK DAUN BERENUK**

SKRIPSI



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

BELINDA SENTOSA

405150079

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS TARUMANAGARA

JAKARTA

2018

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Saya, Belinda Sentosa, NIM: 405150079

Dengan ini menyatakan, menjamin bahwa skripsi yang diserahkan kepada Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara, berjudul

Pengaruh Hipoksia Sistemik Kronik Terhadap Aktivitas Spesifik Enzim Katalase Darah dan Otak Tikus *Sprague Dawley* Setelah Diberi Ekstrak Daun Berenuk 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, 24 Mei 2018

(Belinda Sentosa)

405150079

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh

Nama : Belinda Sentosa

NIM : 405150079

Program studi : Sarjana Kedokteran

Judul Skripsi : Pengaruh Hipoksia Sistemik Kronik Terhadap Aktivitas
Spesifik Enzim Katalase Darah dan Otak Tikus *Sprague*
Dawley Setelah Diberi Ekstrak Daun Berenuk

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

Ketua Sidang : dr. Novendy, MKK, FISPH, FISCM ()

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

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

Mengetahui,

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

Ditetapkan di : Jakarta

Tanggal : 4 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, M.S. selaku pembimbing
2. Ibu Eny selaku Staf Laboratorium Biokimia
3. dr. David Limanan, M. Biomed
4. dr. Wiyarni Pambudi, Sp. A selaku Pembimbing Akademik
5. Dr. dr. Meilani Kumala MS., Sp. GK(K) selaku dekan
6. Orang tua dan keluarga yang selalu memberikan dukungan
7. Selly Herlia Rudianti, Alfred Hartoyo, Clareta Vero, dan seluruh teman-teman yang ikut mengambil peran dalam penelitian ini
8. Angela Oktaviani, Ravenska Theodora, Lidya Octalia , Sherly Puspitasari, Michelle Arviani, Ingriani Wionika dan teman-teman dan sahabat
9. Serta seluruh pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu

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, 24 Mei 2018

Penulis

HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN
PUBLIKASI KARYA ILMIAH

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Belinda Sentosa

NIM : 405150079

Program Studi : S1 Pendidikan Dokter

Fakultas : Fakultas Kedokteran

Jenis Karya : Skripsi

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

Pengaruh Hipoksia Sistemik Kronik Terhadap Aktivitas Spesifik Enzim Katalase Darah dan Otak Tikus *Sprague Dawley* Setelah Diberi Ekstrak Daun Berenuk

Serta mencantumkan nama Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara.

Demikian Pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Jakarta 24 Mei 2018

Yang menyatakan,

(Belinda Sentosa)

405150079

ABSTRACT

Oxidative stress is a state of imbalance between oxidant and antioxidant resulting in cell damage and neurodegenerative disease (Alzheimer, ALS). Hypoxia, lack of oxygen in the body, will increase oxidant production and antioxidant endogenous (catalase) also exogenous (secondary metabolites found in Calabash) can prevent the damage. This study evaluated antioxidant potentials of Calabash leaves by determining the influence between chronic systemic hypoxia and catalase's specific activity in blood and brain of Sprague Dawley mice after administration of Calabash leaves extract. Phytochemical screening, DPPH Test (Blois), total phenolic content (TPC) (Folin–Ciocalteu Micro Method), total flavonoid content (TFC) (calorimetric), and toxicity (BSLT) was evaluated in vitro. Catalase assay was used to evaluate in vivo antioxidant potentials. Thirty-two mice split into 2 groups, control (without extract administration), and treated group received administration of 400mg/kgW extract orally for 2 weeks, then divided into 4 subgroups, normoxia, 3, 7, and 14 days of hypoxia. Histopathology examination was done with HE staining. Phytochemical screening of plant extracts revealed the presence of alkaloids, phenolics, steroids, and terpenoids. In vitro test demonstrated DPPH IC₅₀ - 158.45 µg/mL, TPC 3552.197 µg/mL, TFC 9.592 µg/mL, BSLT LC₅₀ 383.27 µg/mL. In vivo test showed decrease of catalase's specific activity until the end of treatment as an effort against hypoxia and catalase's specific activity is higher in treated group. The histopathology of brain shows edema and necrosis. Calabash leaves have antioxidant activity, cytotoxic, and affect the catalase's specific activity in Sprague Dawley blood and brain induced by chronic systemic hypoxia.

Keywords : Hypoxia, Crescentia cujete, Catalase, Blood, Brain

ABSTRAK

Stres oksidatif adalah keadaan dimana terjadi ketidakseimbangan antara oksidan dan antioksidan sehingga menyebabkan kerusakan sel yang berujung pada penyakit neurodegeneratif (penyakit alzheimer, ALS). Hipoksia, kondisi kurangnya oksigen dalam tubuh, menyebabkan peningkatan produksi oksidan dan antioksidan endogen (katalase) serta eksogen (metabolit sekunder daun berenuk) dapat mencegah kerusakan yang dihasilkan. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui potensi antioksidan daun berenuk dengan cara mengetahui efek hipoksia sistemik kronik terhadap aktivitas spesifik enzim katalase darah dan otak tikus *Sprague Dawley* setelah diberi ekstrak daun berenuk. Uji Fitokimia, uji DPPH (Blois), kadar fenolik total (TPC) (Folin – Ciocalteu Micro Method), kadar flavonoid total (TFC) (calorimetric), dan toksisitas (BSLT) dievaluasi secara *in vitro*. Uji katalase digunakan untuk mengevaluasi potensi antioksidan *in vivo*. Tiga-puluh-dua tikus dibagi menjadi 2 kelompok, kontrol (tanpa pemberian ekstrak), dan kelompok yang dicekok 400 mg/KgBB selama 14 hari. Kedua kelompok lalu dibagi menjadi 4 sub-grup, normoksia, 3 hari, 7 hari, dan 14 hari hipoksia. Pemeriksaan histopatologi menggunakan pewarnaan HE. Pemeriksaan fitokimia ekstrak tumbuhan menunjukkan adanya kandungan senyawa alkaloid, fenolik, steroid, dan terpenoid. Uji *in vitro* menunjukkan DPPH IC₅₀ - 158.45 µg/mL, TPC 3552.197 µg/mL, TFC 9.592 µg/mL, BSLT LC₅₀ 383.27 µg/mL. Uji *in vivo* menunjukkan penurunan bermakna (uji Mann-Whitney, p<0.05) aktivitas spesifik enzim katalase hingga akhir perlakuan bila dibanding normoksia sebagai upaya menanggulangi hipoksia dan aktivitas spesifik katalase lebih tinggi pada kelompok cekok. Histopatologi otak menunjukkan adanya edema dan nekrosis. Daun berenuk memiliki aktivitas antioksidan, bersifat sitotoksik, dan mempengaruhi aktivitas spesifik enzim katalase darah dan otak yang diinduksi hipoksia sistemik kronik.

Kata Kunci : Hipoksia, *Crescentia cujete*, Enzim Katalase, Darah, Otak

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH .	v
<i>ABSTRACT</i>	vi
ABSTRAK	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR SINGKATAN	xiii
1. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.2.1 Pernyataan Masalah	3
1.2.2 Pertanyaan Masalah	3
1.3 Hipotesa Penelitian	4
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 Radikal Bebas	6
2.2 Stres Oksidatif	8
2.3 Hipoksia.....	8
2.4 Antioksidan	10
2.5 Penyakit Neurodegeneratif	14
2.6 Berenuk	16
2.7 Kerangka Teori	17
2.8 Kerangka Konsep	17
3. METODE PENELITIAN	18
3.1 Desain Penelitian	18
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	18
3.3 Populasi dan Sampel Penelitian	18
3.3.1 Populasi Target.....	18
3.3.2 Sampel Penelitian	18
3.4 Perkiraan Besar Sampel.....	18
3.5 Kriteria Inklusi dan Eksklusi	19

3.5.1	Kriteria Inklusi	19
3.5.2	Kriteria Eksklusi	19
3.6	Cara Kerja Penelitian.....	19
3.6.1	Pengumpulan Sampel	19
3.6.2	Identifikasi Tumbuhan	19
3.6.3	Pembuatan Ekstrak Daun Berenuk	19
3.6.4	Uji Fitokimia.....	20
3.6.5	Pengukuran Kapasitas total antioksidan	21
3.6.6	Pengukuran Fenolik	23
3.6.7	Pengukuran Flavonoid	24
3.6.8	Uji Toksisitas	24
3.6.9	Perlakuan Terhadap Hewan Coba.....	26
3.6.10	Pemeriksaan Patologi Anatomi Otak	29
3.7	Variabel Penelitian.....	30
3.7.1	Variabel Bebas	30
3.7.2	Variabel Tergantung	30
3.7.3	Variabel Antara	30
3.8	Definisi Operasional.....	31
3.8.1	Hipoksia	31
3.8.2	Enzim Katalase	31
3.9	Instrumen Penelitian.....	31
3.9.1	Alat.....	31
3.9.2	Bahan	32
3.10	Pengumpulan Data	32
3.11	Analisis Data	32
3.12	Alur Penelitian.....	33
4.	HASIL PENELITIAN.....	34
4.1	Hasil Uji Fitokimia Daun Berenuk	34
4.2	Uji Kapasitas Antioksidan.....	34
4.2.1	Panjang Gelombang Optimum DPPH.....	34
4.2.2	Uji DPPH Vitamin C	34
4.2.3	Uji DPPH sampel	35
4.3	Uji Fenolik Sampel	36
4.4	Uji Flavonoid Sampel	38
4.5	Uji Toksisitas Sampel.....	39
4.6	Hasil Pengukuran Aktivitas Spesifik Enzim Katalase	40
4.6.1	Penghitungan Konsentrasi H ₂ O ₂	40
4.6.2	Pengukuran Standar Protein	40
4.6.3	Waktu dan Pengenceran Optimal	41
4.6.4	Aktivitas Spesifik Enzim Katalase	43
4.6.5	Hubungan Aktivitas Spesifik Enzim Katalase pada Darah dan Otak.....	48
4.7	Hasil Pemeriksaan Patologi Anatomi.....	50

5. PEMBAHASAN	52
5.1 Hasil Uji Fitokimia.....	52
5.2 Hasil Uji DPPH.....	52
5.3 Hasil Uji Fenolik dan Flavonoid.....	53
5.4 Hasil Uji Toksisitas	54
5.5 Hasil Aktivitas Spesifik Enzim Katalase.....	54
5.6 Hasil Patologi Anatomi Otak	55
5.7 Keterbatasan Penelitian	56
6. KESIMPULAN DAN SARAN	57
6.1 Kesimpulan	57
6.2 Saran.....	58
DAFTAR PUSTAKA.....	59
LAMPIRAN.....	63
DAFTAR RIWAYAT HIDUP	87

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Hasil Uji Fitokimia Daun Berenuk.....	34
Tabel 4.2 % Inhibisi dan IC-50 Standar Vitamin C.....	35
Tabel 4.3 % Inhibisi dan IC-50 Ekstrak Daun Berenuk.....	36
Tabel 4.4 Konsentrasi dan Absorbansi Larutan Standar Tanin	37
Tabel 4.5 Rata-rata Kosentrasi Fenolik Ekstrak Daun Berenuk	37
Tabel 4.6 Konsentrasi dan Absorbansi Larutan Standar Kuersetin.....	38
Tabel 4.7 Rata-Rata Kosentrasi Flavonoid Ekstrak Daun Berenuk	39
Tabel 4.8 Data <i>Brine Shrimp Lethality Test</i>	39
Tabel 4.9 Absorbansi BSA	41
Tabel 4.10 Hasil Optimasi Pengenceran dan Waktu Darah.....	42
Tabel 4.11 Hasil Optimasi Pengenceran dan Waktu Otak.....	42
Tabel 4.12 Rata-rata Aktivitas Spesifik Enzim Katalase Darah Cekok	43
Tabel 4.13 Rata-rata Aktivitas Spesifik Enzim Katalase Darah Tidak Cekok	44
Tabel 4.14 Rata-rata Aktivitas Spesifik Enzim Katalase Otak Cekok	46
Tabel 4.15 Rata-rata Aktivitas Spesifik Enzim Katalase Otak Tidak Cekok	47

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Sistem Pertahanan Antioksidan.....	10
Gambar 2.2 Mekanisme Reaksi Cu-Zn-SOD	11
Gambar 2.3 Mekanisme Reaksi Mn-SOD	11
Gambar 2.4 Mekanisme Reaksi Katalase.....	13
Gambar 2.5 Kerangka Teori	17
Gambar 2.6 Kerangka Konsep	17
Gambar 3.1 Alur Penelitian.....	33
Gambar 4.1 Grafik % Inhibisi Terhadap Konsentrasi Standar Vitamin C	35
Gambar 4.2 Grafik % Inhibisi Terhadap Konsentrasi Ekstrak Daun	36
Gambar 4.3 Kurva kalibrasi Standar Tanin	37
Gambar 4.4 Kurva Kalibrasi Standar Kuersetin	38
Gambar 4.5 Grafik Hasil Uji Toksisitas Sampel Ekstrak Daun Berenuk.....	39
Gambar 4.6 Kurva Standar BSA.....	41
Gambar 4.7 Rata-rata Aktivitas Spesifik Enzim Katalase Darah Uji.....	433
Gambar 4.8 Rata-rata Aktivitas Spesifik Enzim Katalase Darah Kontrol	444
Gambar 4.9 Rata-rata Aktivitas Spesifik Enzim Katalase Darah Uji dan Kontrol 455	
Gambar 4.10 Rata-rata Aktivitas Spesifik Enzim Katalase Otak Uji.....	466
Gambar 4.11 Rata-rata Aktivitas Spesifik Enzim Katalase Otak Kontrol	47
Gambar 4.12 Rata-rata Aktivitas Spesifik Enzim Katalase Otak Uji dan Kontrol	48
Gambar 4.13 Grafik Hubungan Rata-rata Aktivitas Spesifik Enzim Katalase darah Kontrol dengan Otak Kontrol	48
Gambar 4.14 Grafik Hubungan Rata-rata Aktivitas Spesifik Enzim Katalase Darah Uji dengan Otak Uji	49
Gambar 4.15 PA Jaringan Otak Tikus Kontrol Normoksia.....	510
Gambar 4.16 PA Jaringan Otak Tikus Kontrol Hipoksia 14 Hari	510
Gambar 4.17 PA Jaringan Otak Tikus Uji Normoksia	511
Gambar 4.18 PA Jaringan Otak Tikus Uji Hipoksia 14 Hari	511

DAFTAR SINGKATAN

AlCl ₃	<i>Aluminium Chloride</i>
ATP	<i>Adenosine Triphosphate</i>
BSA	<i>Bovine Serum Albumin</i>
BSLT	<i>Brine Shrimp Lethality Test</i>
CAT	<i>Catalase</i>
CuZnSOD	<i>Copper-and-zinc-containing superoxide dismutase</i>
DNA	<i>Deoxyribonucleic acid</i>
DPPH	<i>2,2-difenil-1-pikrilhidrazil</i>
EC	<i>Enzyme Classification</i>
EDTA	<i>Ethylenediaminetetraacetic acid</i>
FeCl ₃	<i>Ferri Chloride</i>
GPX	<i>Glutation Peroksidase</i>
GR	<i>Glutation reduktase</i>
GSH	<i>Glutation</i>
GSSG	<i>Glutation disulfida</i>
HO•	<i>Hydroxyl Radical</i>
H•NO•	<i>Nitroxyl Radical</i>
H ₂ O	<i>Air</i>
H ₂ O ₂	<i>Hidrogen Peroksida</i>
H ₂ SO ₄	<i>Asam Sulfat</i>
HCl	<i>Hidrogen Klorida</i>
HIFs	<i>Hypoxia inducible factors</i>
IC ₅₀	<i>The half maximal inhibitory concentration</i>
KH ₂ PO ₄	<i>Monopotassium Phosphate</i>
LC ₅₀	<i>Lethal Dose at which 50% population killed</i>
Mg	<i>Magnesium</i>
MnSOD	<i>Manganese containing superoxide dismutase</i>
MPO	<i>Myeloperoxidase</i>
Na ₂ CO ₃	<i>Natrium Karbonat</i>
Na ₂ HPO ₄	<i>Disodium fosfat</i>
NADPH	<i>Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate</i>
NaNO ₂	<i>Sodium Nitrit</i>
NaOH	<i>Sodium Hydroxide</i>
NO•	<i>Nitric Oxide radical</i>
NO ₂ •	<i>Nitrogen Dioxide radical</i>
NOS	<i>Nitrous Oxide System</i>
NOX	<i>Nitrogen Oxides</i>
O ₂ • ⁻	<i>Superoksida</i>

O ₂	Oksigen
ONOO ⁻	Peroksinitrit
PA	Patologi Anatomi
PBS	Phosphate Buffer Saline
PD	Penyakit Parkinson
RNA	<i>Ribonucleic acid</i>
RO•	Alkoxy radical
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
RS	<i>Reactive Species</i>
RNS	<i>Reactive Nitrogen Species</i>
SOD	Superoksida Dismutase
TFC	<i>Total Flavonoid Content</i>
TPC	<i>Total Phenolic Content</i>
VEGF	<i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>
XO	Xantine Oksidase

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Kaji Etik	63
Lampiran 2	Identifikasi Tumbuhan	64
Lampiran 3	Tabel Berat Badan dan Berat Otak Tikus	65
Lampiran 4	Pengukuran pada Sampel	68
Lampiran 5	Foto Alat dan Dokumentasi Selama Pengerjaan	85