

**PENGARUH EKSTRAK BUAH KRANBERI
TERHADAP AKTIVITAS SPESIFIK KATALASE
(EC 1.11.1.6) DARAH DAN PARU TIKUS YANG
DIINDUKSI HIPOKSIA**

SKRIPSI



disusun oleh :

**KELVIN
405160181**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS TARUMANAGARA
JAKARTA
2019**

**PENGARUH EKSTRAK BUAH KRANBERI
TERHADAP AKTIVITAS SPESIFIK KATALASE
(EC 1.11.1.6) DARAH DAN PARU TIKUS YANG
DIINDUKSI HIPOKSIA**

SKRIPSI



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

KELVIN

405160181

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS TARUMANAGARA
JAKARTA**

2019

PERNYATAAN ORISINALITAS KARYA ILMIAH

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Kelvin

NIM : 405160181

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

“Pengaruh Ekstrak Buah Kranberi Terhadap Aktivitas Spesifik Katalase (EC 1.11.1.6) Darah dan Paru Tikus 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, 4 Juli 2019

Penulis,

(materai Rp 6.000,-)

(Kelvin)

405160181

PENGESAHAN SKRIPSI

Skripsi ini diajukan oleh

Nama : Kelvin

NIM : 405160181

Program Studi : Ilmu Kedokteran

Judul Skripsi : Pengaruh Ekstrak Buah Kranberi Terhadap Aktivitas Spesifik Katalase (EC 1.11.1.6) Darah dan Paru Tikus 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 : Prof. Dr. dr. Frans Ferdinal, MS ()

DEWAN PENGUJI

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

Penguji 1 : Dr. Dra. Helmi, MSc ()

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

Mengetahui,

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

Ditetapkan di

Jakarta, 4 Juli 2019

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, karena dengan rahmat dan bimbingan-Nya, penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Ekstrak Buah Kranberi Terhadap Aktivitas Spesifik Katalase (EC 1.11.1.6) Darah dan Paru Tikus Yang Diinduksi Hipoksia” ini dengan baik dan tepat waktu. 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. Prof. Dr. dr. Frans Ferdinal, MS selaku Dosen Pembimbing Skripsi dan Ketua Bagian Biokimia dan Biologi Molekuler Universitas Tarumanagara
 3. dr. David Limanan, M. Biomed, Dr. Dra. Helmi, MSc dan Ibu Eny selaku Staf Bagian Biokimia dan Biologi Molekuler Universitas Tarumanagara
 4. dr. Shirly Gunawan, Sp. FK selaku penasihat akademik
 5. Orang tua dan keluarga yang telah memberi dukungan bagi penulis dalam proses pengerjaan skripsi
 6. 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, 4 Juli 2019

Penulis,

(Kelvin)

405160181

PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Kelvin
NIM : 405160181
Program Studi : Ilmu Kedokteran
Fakultas : Kedokteran
Karya Ilmiah : Skripsi

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

Pengaruh Ekstrak Buah Kranberi Terhadap Aktivitas Spesifik Katalase (EC 1.11.1.6) Darah dan Paru Tikus Yang Diinduksi Hipoksia

dengan mencantumkan nama Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara.

Jakarta, 4 Juli 2019

Penulis,

(Kelvin)

405160181

ABSTRAK

Stres oksidatif adalah keadaan dimana terjadi ketidakseimbangan antara oksidan dan antioksidan, sehingga menyebabkan kematian sel. Kematian sel ini menyebabkan penurunan enzim katalase (antioksidan endogen), sehingga dibutuhkan antioksidan eksogen seperti buah Kranberi (*Vaccinium macrocarpon* Aiton). Dalam penelitian ini, dilakukan dua macam uji untuk mengetahui pengaruh Kranberi tersebut, yaitu uji secara *in vitro* : uji fitokimia, uji kapasitas antioksidan, *Total Phenolics Content*, *Total Alkaloids Content*, uji toksisitas dan uji secara *in vivo* : uji aktivitas spesifik enzim katalase menggunakan tikus *Sprague-Dawley* yang dibagi menjadi dua kelompok, yaitu kelompok uji yang diberikan ekstrak buah Kranberi dan kelompok kontrol yang tidak diberikan ekstrak buah Kranberi. Masing-masing 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 ($IC_{50} = 49.76 \mu\text{g/mL}$); *total phenolics content* ($351.64 \mu\text{g/mL}$); *total alkaloids content* ($65.54 \mu\text{g/mL}$) dan uji toksisitas ($LC_{50} = 153.08 \mu\text{g/mL}$). Aktivitas spesifik enzim katalase darah dan organ paru uji maupun kontrol didapatkan penurunan seiring lamanya perlakuan hipoksia dan menunjukkan hasil yang lebih tinggi pada uji dibandingkan kontrol. Ada hubungan antara katalase darah dan organ paru. Pada histopatologi paru tampak kerusakan yang lebih parah pada kelompok kontrol dibandingkan uji karena terdapat infiltrasi sel mononuklear dan alveolus yang melebar.

Kata Kunci : Stres oksidatif, katalase, darah, paru, *Vaccinium macrocarpon* Aiton

ABSTRACT

*Oxidative stress is a condition where there is an imbalance between oxidants and antioxidants, resulting in cell death. This cell death causes deteriorating of the catalase enzyme (endogenous antioxidant), so exogenous antioxidants such as Cranberry (*Vaccinium macrocarpon* Aiton) is needed. In this study, two types of tests were carried out to know the effect of Cranberry fruit, namely in vitro test: phytochemical test, antioxidant capacity test, total phenolics content, total alkaloids content, toxicity test, and in vivo tests: the specific activity of the catalase enzyme with a sample of Sprague-Dawley rats which were divided into two groups, the test group that given Cranberry fruit extract and the control group without extract. Each group was divided into four subgroups namely normoxia, 1 day, 7 days and 14 days hypoxia. From the results: the phytochemical tests containing alkaloids, anthocyanins and betacyanin, cardio glycosides, coumarins, flavonoids, glycosides, phenolics, quinones, saponins, steroids, terpenoids and tannins; antioxidant capacity test ($IC_{50} = 49.76 \mu\text{g} / \text{mL}$); total phenolics content ($351.64 \mu\text{g} / \text{mL}$); total alkaloids content ($65.54 \mu\text{g} / \text{mL}$) and toxicity test ($LC_{50} = 153.08 \mu\text{g} / \text{mL}$). The specific activity of the enzyme catalase blood and pulmonary organs test and control, a decrease with increasing duration of hypoxia treatment was obtained and showed the higher results in the test than control. There is a relationship between catalase blood and lung organs. In pulmonary histopathology, more severe damage was seen in the control than the test group because there was mononuclear infiltration and alveolar dilatation.*

*Keywords : Oxidative stress, catalase, blood, lung, *Vaccinium macrocarpon* Aiton*

DAFTAR ISI

| | |
|--|-------------|
| HALAMAN JUDUL | i |
| PERNYATAAN ORISINALITAS KARYA ILMIAH | ii |
| PENGESAHAN SKRIPSI..... | iii |
| KATA PENGANTAR..... | iv |
| PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH | v |
| ABSTRAK | vi |
| <i>ABSTRACT</i> | vii |
| DAFTAR ISI..... | viii |
| DAFTAR TABEL | xii |
| DAFTAR GAMBAR..... | xiii |
| DAFTAR SINGKATAN..... | xiv |
| DAFTAR LAMPIRAN | xvi |
| 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..... | 4 |
| BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA..... | 6 |
| 2.1 Oksigen..... | 6 |
| 2.2 Hipoksia..... | 9 |
| 2.3 Radikal Bebas..... | 10 |
| 2.4 Stres Oksidatif..... | 12 |
| 2.5 Paru-paru | 13 |
| 2.6 Antioksidan | 13 |
| 2.7 Katalase | 14 |
| 2.8 Kranberi (<i>Vaccinium macrocarpon</i> Aiton) | 15 |
| 2.9 Kerangka Teori..... | 16 |
| 2.10 Kerangka Konsep | 17 |

| | |
|--|-----------|
| BAB 3 METODOLOGI PENELITIAN | 18 |
| 3.1 Desain Penelitian | 18 |
| 3.2 Tempat dan Waktu | 18 |
| 3.2.1 Tempat | 18 |
| 3.2.2 Waktu | 18 |
| 3.3 Sampel Penelitian | 18 |
| 3.4 Penetapan Jumlah Hewan Coba | 19 |
| 3.5 Cara Kerja Penelitian | 19 |
| 3.5.1 Pengambilan Sampel | 19 |
| 3.5.2 Identifikasi Tanaman | 19 |
| 3.5.3 Pengolahan Bahan dan Pembuatan Ekstrak Buah Kranberi | 19 |
| 3.5.4 Penelitian <i>In Vitro</i> | 20 |
| 3.5.4.1 Uji Fitokimia berdasarkan Harborne | 20 |
| 3.5.4.2 Kapasitas Antioksidan Ekstrak Buah Kranberi menggunakan DPPH dan dengan Metode Blois | 22 |
| 3.5.4.3 Pengukuran Kadar <i>Total Phenolics Content</i> dengan Metode Singleton dan Rossi | 24 |
| 3.5.4.4 Pengukuran Kadar <i>Total Alkaloids Content</i> dengan Metode Trivedi | 25 |
| 3.5.4.5 Pengukuran Toksisitas dengan Metode BSLT | 26 |
| 3.5.5 Penelitian <i>In Vivo</i> | 27 |
| 3.5.5.1 Pembagian Kelompok Tikus | 27 |
| 3.5.5.2 Sungkup Hipoksia | 27 |
| 3.5.5.3 Hipoksia | 28 |
| 3.5.5.4 Perlakuan Sesudah Hipoksia | 28 |
| 3.5.5.5 Pengambilan Organ Paru dan Darah | 28 |
| 3.5.5.6 Pembuatan Homogenat Organ Paru | 29 |
| 3.5.5.7 Pembuatan Sampel Darah | 29 |
| 3.5.5.8 Pengukuran Aktivitas Spesifik Katalase dengan Metode Mates | 29 |
| 3.5.5.9 Pembuatan Sediaan Histopatologi | 31 |
| 3.6 Keterangan Lolos Kaji Etik | 32 |
| 3.7 Variabel Penelitian | 33 |
| 3.7.1 Variabel Bebas | 33 |
| 3.7.2 Variabel Tergantung | 33 |
| 3.7.3 Variabel Antara | 33 |
| 3.8 Definisi Operasional | 33 |

| | | |
|-------------------------------------|---|-----------|
| 3.8.1 | Hipoksia..... | 33 |
| 3.8.2 | Katalase..... | 33 |
| 3.9 | Instrumen Penelitian..... | 34 |
| 3.9.1 | Alat Penelitian..... | 34 |
| 3.9.2 | Bahan Penelitian..... | 34 |
| 3.10 | Pengumpulan Data | 34 |
| 3.11 | Analisis Data | 35 |
| 3.12 | Alur Penelitian..... | 35 |
| BAB 4 HASIL PENELITIAN | | 36 |
| 4.1 | Uji Fitokimia Ekstrak Buah Kranberi berdasarkan Harborne | 36 |
| 4.2 | Kapasitas Antioksidan Ekstrak Buah Kranberi Menggunakan DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil) | 36 |
| 4.2.1 | Panjang Gelombang dan Absorbansi Optimum | 36 |
| 4.2.2 | Uji Larutan Perbandingan (Asam Askorbat) | 37 |
| 4.2.3 | Uji Ekstrak Buah Kranberi..... | 38 |
| 4.3 | Pengukuran Kadar Fenolik Ekstrak Buah Kranberi dengan Metode Singleton dan Rossi | 39 |
| 4.4 | Pengukuran Kadar Alkaloid ekstrak buah Kranberi dengan Metode Trivedi | 40 |
| 4.5 | Pengukuran Toksisitas Ekstrak Buah Kranberi dengan Metode <i>Brine Shrimp Lethality Test</i> (BSLT) | 41 |
| 4.6 | Aktivitas Spesifik Katalase dengan Metode Mates..... | 42 |
| 4.6.1 | Penetapan Waktu dan Pengenceran Optimal | 42 |
| 4.6.1.1 | Optimasi Darah Uji dan Kontrol | 42 |
| 4.6.1.2 | Optimasi Organ Paru Uji dan Kontrol..... | 43 |
| 4.6.2 | Penetapan Kurva Standar Protein..... | 44 |
| 4.6.3 | Pengukuran Kadar Protein Sampel | 45 |
| 4.6.3.1 | Kadar Protein Darah | 45 |
| 4.6.3.2 | Kadar Protein Organ Paru | 46 |
| 4.6.4 | Penetapan Aktivitas Spesifik Enzim Katalase..... | 46 |
| 4.6.4.1 | Aktivitas Spesifik Katalase Darah..... | 46 |
| 4.6.4.2 | Aktivitas Spesifik Katalase Organ Paru | 49 |
| 4.6.5 | Perbandingan Aktivitas Spesifik Katalase Uji dan Kontrol..... | 52 |
| 4.6.5.1 | Perbandingan Aktivitas Spesifik Katalase Darah..... | 52 |
| 4.6.5.2 | Perbandingan Aktivitas Spesifik Katalase Organ Paru | 53 |
| 4.6.6 | Uji Korelasi Aktivitas Spesifik Katalase pada Darah dan Organ | |

| | |
|--|------------|
| Paru..... | 54 |
| 4.6.6.1 Uji Korelasi Aktivitas Spesifik Katalase Organ Paru dan Darah Uji..... | 54 |
| 4.6.6.2 Uji Korelasi Aktivitas Spesifik Katalase Organ Paru dan Darah Kontrol..... | 55 |
| 4.7 Histopatologi Paru..... | 55 |
| BAB 5 PEMBAHASAN | 57 |
| 5.1 Hasil Uji Fitokimia..... | 57 |
| 5.2 Hasil Uji Kapasitas Antioksidan | 57 |
| 5.3 Hasil Perhitungan Kadar Fenolik | 58 |
| 5.4 Hasil Perhitungan Kadar Alkaloid | 58 |
| 5.5 Hasil Uji Toksisitas | 58 |
| 5.6 Hasil Uji Aktivitas Spesifik Enzim Katalase..... | 59 |
| 5.7 Hasil Histopatologi..... | 61 |
| 5.8 Keterbatasan Penelitian | 62 |
| BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN | 63 |
| 6.1 Kesimpulan..... | 63 |
| 6.2 Saran | 64 |
| DAFTAR PUSTAKA | 65 |
| LAMPIRAN..... | 65 |
| DAFTAR RIWAYAT HIDUP | 116 |

DAFTAR TABEL

| | | |
|------------|---|----|
| Tabel 4.1 | Uji Fitokimia Ekstrak Buah Kranberi | 36 |
| Tabel 4.2 | Hasil Hitung Persentase Inhibisi dan IC ₅₀ Berdasarkan Konsentrasi Asam Askorbat..... | 37 |
| Tabel 4.3 | Hasil Hitung Persentase Inhibisi dan IC ₅₀ Berdasarkan Konsentrasi Sampel..... | 38 |
| Tabel 4.4 | Kadar Fenolik Ekstrak Buah Kranberi..... | 39 |
| Tabel 4.5 | Kadar Alkaloid Ekstrak Buah Kranberi..... | 40 |
| Tabel 4.6 | Angka Mortalitas (%) Larva Artemia Salina pada Setiap Konsentrasi Ekstrak Buah Kranberi | 41 |
| Tabel 4.7 | Hasil Pengenceran 5x Darah Uji..... | 42 |
| Tabel 4.8 | Hasil Pengenceran 5x Darah Kontrol..... | 43 |
| Tabel 4.9 | Hasil Pengenceran 10x Organ Paru Uji | 43 |
| Tabel 4.10 | Hasil Pengenceran 10x Organ Paru Kontrol | 44 |
| Tabel 4.11 | Kadar Protein Darah Uji pada Perlakuan Normoksia, Hipoksia 1 Hari, 7 Hari dan 14 Hari..... | 45 |
| Tabel 4.12 | Kadar Protein Darah Kontrol pada Perlakuan Normoksia, Hipoksia 1 Hari, 7 Hari dan 14 Hari..... | 45 |
| Tabel 4.13 | Kadar Protein Organ Paru Uji pada Perlakuan Normoksia, Hipoksia 1 Hari, 7 Hari dan 14 Hari..... | 46 |
| Tabel 4.14 | Kadar Protein Organ Paru Kontrol pada Perlakuan Normoksia, Hipoksia 1 Hari, 7 Hari dan 14 Hari | 46 |
| Tabel 4.15 | Aktivitas Spesifik Katalase Darah Uji pada Perlakuan Normoksia, Hipoksia 1 Hari, 7 Hari dan 14 Hari | 47 |
| Tabel 4.16 | Aktivitas Spesifik Katalase Darah Kontrol pada Perlakuan Normoksia, Hipoksia 1 Hari, 7 Hari dan 14 Hari | 48 |
| Tabel 4.17 | Aktivitas Spesifik Katalase Paru Uji pada Perlakuan Normoksia, Hipoksia 1 Hari, 7 Hari dan 14 Hari | 49 |
| Tabel 4.18 | Aktivitas Spesifik Katalase Paru Kontrol pada Perlakuan Normoksia, Hipoksia 1 Hari, 7 Hari dan 14 Hari | 51 |

DAFTAR GAMBAR

| | | |
|-------------|--|----|
| Gambar 2.1 | Fosforilasi Oksidatif dan Produk Sampingan ROS..... | 7 |
| Gambar 2.2 | Komponen Rantai Transpor Elektron | 8 |
| Gambar 2.3 | Katalisis Pemecahan Hidrogen Peroksida Oleh Enzim Katalase..... | 14 |
| Gambar 2.4 | Kerangka Teori..... | 16 |
| Gambar 2.5 | Kerangka Konsep | 17 |
| Gambar 3.1 | Alur Penelitian..... | 35 |
| Gambar 4.1 | Kurva Persentase Inhibisi Asam Askorbat..... | 37 |
| Gambar 4.2 | Kurva Persentase Inhibisi Ekstrak Buah Kranberi..... | 38 |
| Gambar 4.3 | Kurva Standar Tanin | 39 |
| Gambar 4.4 | Kurva Standar Berberine Chloride..... | 40 |
| Gambar 4.5 | Angka Mortalitas Artemia Salina Terhadap Konsentrasi Ekstrak Buah Kranberi..... | 42 |
| Gambar 4.6 | Kurva Standar Bovine Serum Albumin (BSA)..... | 44 |
| Gambar 4.7 | Aktivitas Spesifik Katalase Darah Uji pada Perlakuan Normoksia, Hipoksia 1 Hari, 7 Hari dan 14 Hari..... | 47 |
| Gambar 4.8 | Aktivitas Spesifik Katalase Darah Kontrol pada Perlakuan Normoksia, Hipoksia 1 Hari, 7 Hari dan 14 Hari | 48 |
| Gambar 4.9 | Aktivitas Spesifik Katalase Paru Uji pada Perlakuan Normoksia, Hipoksia 1 Hari, 7 Hari dan 14 Hari..... | 50 |
| Gambar 4.10 | Aktivitas Spesifik Katalase Paru Kontrol pada Perlakuan Normoksia, Hipoksia 1 Hari, 7 Hari dan 14 Hari | 51 |
| Gambar 4.11 | Aktivitas Katalase Darah Uji dan Kontrol pada Perlakuan Normoksia, Hipoksia 1 Hari, 7 Hari dan 14 Hari | 52 |
| Gambar 4.12 | Aktivitas Katalase Paru Uji dan Kontrol pada Perlakuan Normoksia, Hipoksia 1 Hari, 7 Hari dan 14 Hari..... | 53 |
| Gambar 4.13 | Uji Statistik Aktivitas Spesifik Katalase Paru dan Darah Uji pada Perlakuan Normoksia, Hipoksia 1 Hari, 7 Hari dan 14 Hari | 54 |
| Gambar 4.14 | Uji Statistik Aktivitas Spesifik Katalase Paru dan Darah Kontrol pada Perlakuan Normoksia, Hipoksia 1 Hari, 7 Hari dan 14 Hari... .. | 55 |
| Gambar 4.15 | Gambaran Histopatologi Paru Kontrol Hipoksia 14 Hari dengan Pewarnaan HE x100..... | 56 |
| Gambar 4.16 | Gambaran Histopatologi Paru Uji Hipoksia 14 Hari dengan Pewarnaan HE x100 | 57 |

DAFTAR SINGKATAN

| | |
|--------------------------------|--|
| As | <i>Arsenic</i> |
| ATP | <i>Adenosine Triphosphate</i> |
| BCG | <i>Bromocresol Green</i> |
| BHA | <i>Butylated Hydroxyanisole</i> |
| BHT | <i>Butylated Hydroxytoluene</i> |
| BSA | <i>Bovine Serum Albumin</i> |
| BSLT | <i>Brine Shrimp Lethality Test</i> |
| CAT | <i>Catalase</i> |
| Cd | <i>Cadmium</i> |
| C ₂ H ₂ | <i>Acetylene</i> |
| CO ₂ | Karbon Dioksida |
| CoQ | <i>Coenzyme Q</i> |
| Cu | Tembaga |
| 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 |
| FMN | Flavin mononukleotida |
| GPx | Glutation Peroksidase |
| GRx | Glutation Reduktase |
| GSH | Glutation |
| GSSG | Glutation Disulfida |
| HE | Hematoxylin-Eosin |
| Hg | <i>Mercury</i> |
| HgO | <i>Mercury (II) Oxide</i> |
| 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> |
| KClO ₃ | Potassium Klorat |
| kDa | Kilodalton |
| KNO ₃ | Kalium Nitrat |
| LC ₅₀ | <i>Lethal Dose at which 50% population killed.</i> |
| LOO• | <i>Lipid Peroxyl</i> |
| LOOH | Lipid Peroksida |
| MDA | <i>Malondialdehyde</i> |
| mmHg | Milimeter Air Raksa |
| NaCl | Natrium Klorida |

| | |
|---------------------------------|---|
| Na ₂ CO ₃ | Sodium Karbonat |
| NADH | <i>Nicotinamide Adenine Dinucleotide Hydrogen</i> |
| NADPH | <i>Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate 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 |
| 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> |
| Pi | <i>Phosphate inorganic</i> |
| RNS | <i>Reactive Nitrogen Species</i> |
| ROO• | Radikal Peroksil |
| ROS | <i>Reactive Oxygen Species</i> |
| SOD | Superoksida Dismutase |
| TAC | <i>Total Alkaloid Content</i> |
| TPC | <i>Total Phenolics Content</i> |

DAFTAR LAMPIRAN

| | |
|---|-----|
| LAMPIRAN - 1 : Kaji Etik..... | 68 |
| LAMPIRAN - 2 : Identifikasi LIPI Tanaman..... | 69 |
| LAMPIRAN - 3 : Hasil Uji <i>In Vitro</i> dan <i>In Vivo</i> | 70 |
| LAMPIRAN - 4 : Dokumentasi dan Alat Penelitian | 113 |

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pada dasarnya fungsi utama oksigen dalam respirasi seluler adalah sebagai reseptor akhir dari elektron di rantai pernafasan, yang akan tereduksi menjadi molekul air.¹ Molekul oksigen mengandung dua elektron yang tidak berpasangan sehingga bersifat biradikal. Akan tetapi, karena kedua elektron berada dalam konfigurasi dengan *spin* yang paralel, maka tidak terlalu reaktif. Dengan sifat seperti itu, molekul oksigen hanya dapat tereduksi secara bertahap untuk menjadi molekul air. Dalam tahap-tahap tersebut, terjadi kebocoran elektron (*electrone leakage*), sehingga terjadi produksi radikal bebas atau ROS (*Reactive Oxygen Species*) terutama dari kompleks I dan III rantai pernafasan.^{2,3}

Dalam keadaan fisiologis, ROS dibentuk sebagai produk sampingan dari reduksi oksigen molekuler ini, yaitu anion radikal superoksida ($O_2^{\cdot-}$), hidrogen peroksida (H_2O_2), radikal hidroksil (OH^{\cdot}), radikal hidroperoksil (HOO^{\cdot}), singlet oksigen (1O_2) dan radikal peroksil (ROO^{\cdot}).¹ Pada keadaan suplai oksigen yang kurang ke jaringan (hipoksia), terjadi perubahan pada berbagai protein karier di rantai pernafasan dan perlambatan aliran oksigen, sehingga hal ini menyebabkan pembentukan ROS yang meningkat. Peningkatan ROS yang melebihi kapasitas antioksidan, dapat menimbulkan stres oksidatif.^{2,3}

Stres oksidatif merupakan keadaan ketidakseimbangan antara oksidan dan antioksidan, di mana jumlah oksidan seperti ROS, melebihi kemampuan antioksidan yang seharusnya menetralsirnya. Hal ini dapat merusak keempat makromolekul yang merupakan komponen utama di dalam sel yaitu protein, karbohidrat, lemak dan asam nukleat, sehingga menyebabkan kematian sel hingga ke tingkat jaringan.⁴

Salah satu jaringan atau organ yang sensitif terhadap hipoksia adalah paru. Diketahui stres oksidatif mempunyai peranan dalam menimbulkan berbagai penyakit paru, khususnya PPOK (Penyakit Paru Obstruktif Kronik). Namun, tubuh mempunyai kemampuan untuk menetralsir ROS dengan adanya antioksidan.⁵

Antioksidan terbagi menjadi 2 macam yaitu antioksidan endogen dan eksogen. Salah satu yang termasuk antioksidan endogen adalah enzim katalase, yang memecah hidrogen peroksida menjadi molekul air dan oksigen. Dilain pihak, sumber dari antioksidan eksogen berasal dari bahan alam atau tanaman.⁶ Diketahui tanaman Kranberi (*Vaccinium macrocarpon* Aiton) merupakan salah satu sumber antioksidan eksogen yang tinggi. Beberapa manfaat dari buah ini yang dilaporkan, memberikan efek menguntungkan, yaitu efek antivirus (melawan reovirus, rotavirus dan virus influenza), efek antioksidan dan anti inflamasi. Bukti yang tersedia menunjukkan bahwa pengurangan radikal bebas dan modulasi dari respon inflamasi dilakukan oleh senyawa polifenol yang terkandung di dalam buah tersebut, seperti *anthocyanin*, flavonol dan flavanol.⁷

Sejauh ini, belum ada laporan tentang pengaruh dari ekstrak buah Kranberi terhadap darah dan organ paru, sehingga untuk memahami lebih lanjut, dibutuhkan penelitian dengan menggunakan model hewan tikus yang diinduksi dengan keadaan hipoksia.

1.2 Rumusan Masalah

1.2.1 Pernyataan Masalah

Belum diketahuinya pengaruh dari ekstrak buah Kranberi terhadap aktivitas spesifik enzim katalase darah dan organ paru tikus yang diinduksi hipoksia sistemik kronik.

1.2.2 Pertanyaan Masalah

1. Bagaimanakah uji fitokimia dari ekstrak buah Kranberi ?
2. Bagaimanakah kapasitas antioksidan (*free radical scavenging capacity*) dari ekstrak buah Kranberi ?
3. Berapakah kadar *Total Phenolics Content* (TPC) dari ekstrak buah Kranberi?
4. Berapakah kadar *Total Alkaloid Content* (TAC) dari ekstrak buah Kranberi?
5. Bagaimanakah uji toksisitas dengan teknik *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) pada ekstrak buah Kranberi ?

6. Bagaimanakah pengaruh perlakuan hipoksia terhadap aktivitas spesifik enzim katalase darah dan organ paru pada tikus yang diberikan ekstrak buah Kranberi (uji) ?
7. Bagaimanakah pengaruh perlakuan hipoksia terhadap aktivitas spesifik enzim katalase darah dan organ paru tikus yang tidak berikan ekstrak buah Kranberi (kontrol) ?
8. Bagaimanakah perbandingan aktivitas spesifik enzim katalase darah pada tikus kelompok uji dengan kelompok kontrol serta organ paru tikus kelompok uji dengan kelompok kontrol ?
9. Bagaimanakah hubungan antara aktivitas spesifik enzim katalase darah dan organ paru kelompok tikus uji ?
10. Bagaimanakah hubungan antara aktivitas spesifik enzim katalase darah dan organ paru kelompok tikus kontrol ?
11. Bagaimanakah gambaran histopatologi organ paru tikus kelompok kontrol jika dibandingkan kelompok uji yang diinduksi dengan hipoksia selama 14 hari ?

1.3 Hipotesis Penelitian

1. Terjadi penurunan aktivitas spesifik enzim katalase darah tikus kelompok uji maupun kontrol seiring dengan lamanya perlakuan hipoksia.
2. Terjadi penurunan aktivitas spesifik enzim katalase paru tikus kelompok uji maupun kontrol seiring dengan lamanya perlakuan hipoksia.
3. Terdapat aktivitas spesifik enzim katalase darah yang lebih besar pada tikus kelompok uji jika dibandingkan dengan kelompok kontrol
4. Terdapat aktivitas spesifik enzim katalase paru yang lebih besar pada tikus kelompok uji jika dibandingkan dengan kelompok kontrol
5. Terdapat hubungan antara aktivitas spesifik enzim katalase darah dan organ paru kelompok tikus uji maupun darah dan organ paru kelompok tikus kontrol

1.4 Tujuan Penelitian

1.4.1 Tujuan Umum

Mengetahui pengaruh ekstrak buah Kranberi terhadap aktivitas spesifik enzim katalase darah dan paru tikus *Sprague-Dawley* yang diinduksi hipoksia sistemik kronik.

1.4.2 Tujuan Khusus

1. Mengetahui uji fitokimia dalam ekstrak buah Kranberi
2. Mengetahui kapasitas antioksidan (*free radical scavenging capacity*) ekstrak buah Kranberi
3. Mengetahui kadar *Total Phenolics Content* (TPC) ekstrak buah Kranberi
4. Mengetahui kadar *Total Alkaloid Content* (TAC) ekstrak buah Kranberi
5. Mengetahui uji toksisitas dengan teknik *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) ekstrak buah Kranberi
6. Mengetahui pengaruh perlakuan hipoksia terhadap aktivitas spesifik enzim katalase darah dan organ paru tikus kelompok uji
7. Mengetahui pengaruh perlakuan hipoksia terhadap aktivitas spesifik enzim katalase darah dan organ paru tikus kelompok kontrol
8. Mengetahui perbandingan aktivitas spesifik enzim katalase darah tikus kelompok uji dengan kelompok kontrol serta organ paru tikus kelompok uji dengan kelompok kontrol
9. Mengetahui hubungan antara aktivitas spesifik enzim katalase darah dan organ paru kelompok tikus uji
10. Mengetahui hubungan antara aktivitas spesifik enzim katalase darah dan organ paru kelompok tikus kontrol
11. Mengetahui gambaran histopatologi organ paru tikus kelompok kontrol jika dibandingkan kelompok uji yang diinduksi dengan hipoksia selama 14 hari

1.5 Manfaat Penelitian

1. Menjembatani ilmu biomedik dasar dengan aplikasinya di klinis
2. Meningkatkan wawasan dalam bidang kedokteran biokimia dan biologi molekuler
3. Menjadi referensi penelitian selanjutnya

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Oksigen

Kadar oksigen (O_2) di atmosfer sekitar 21% dan membentuk 49,2% massa kerak Bumi, serta sekitar dua pertiga dari tubuh manusia.⁸ Oksigen memiliki dua bentuk allotropik, yaitu diatomik (O_2) dan triatomik (O_3 , ozon). Sifat-sifat bentuk diatomik menunjukkan bahwa enam elektron mengikat atom dan dua elektron tetap tidak berpasangan, sehingga bersifat biradikal dan paramagnetisme.⁹

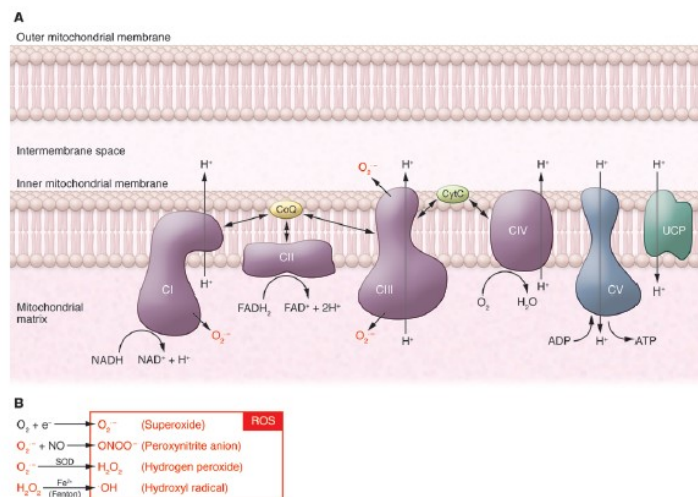
Penghargaan untuk penemu oksigen diberikan kepada tiga ahli kimia, yaitu Joseph Priestley, Carl Wilhelm Scheele dan Antoine Lavoisier. Pada tahun 1774, Joseph Priestley merupakan orang pertama yang menerbitkan laporan tentang oksigen, setelah ia berhasil dengan menggunakan "*burning lens*" selebar 12 inci, yang memfokuskan sinar matahari pada segumpal oksida merkuri (HgO) kemerahan dalam wadah kaca terbalik. Gas yang dipancarkannya, ia temukan, "lima atau enam kali lebih baik dari udara biasa". Di lain pihak, ternyata Carl Wilhelm Scheele telah menemukan oksigen, dua hingga tiga tahun sebelum Priestley.⁸

Penemuan oksigen oleh Scheele dimulai dari Universitas Uppsala. Ia diminta oleh profesor kimianya, Torbern Bergman, untuk mengklarifikasi masalah yang terjadi pada kalium nitrat. Ia menemukan bahwa oksida mangan merah panas dapat menghasilkan gas. Dia menyebut gas itu "*fire air*" karena adanya percikan api cemerlang yang dihasilkannya ketika bersentuhan dengan debu arang panas. Dia mengulangi percobaan ini dengan memanaskan kalium nitrat, merkuri oksida dan banyak bahan lainnya dan menghasilkan gas yang sama. Scheele mempublikasikan penemuannya ini di dalam bukunya yang berjudul "*Chemische Abhandlung von der Luft und dem Feuer*" atau dalam bahasa Inggris disebut "*Chemical Treatise on Air and Fire*". Buku itu ditulis pada tahun 1775 dan dikirim ke Bergman pada awal 1776. Namun tidak diterbitkan sampai tahun 1777, yaitu dua tahun setelah publikasi pertama Priestley tentang penemuan oksigen. Antoine Lavoisier juga mengklaim telah

menemukan oksigen dan dia mengusulkan bahwa gas baru ini disebut “oxy- gene”, yang berarti pembentuk asam, karena dia pikir itu adalah dasar dari semua asam.⁸

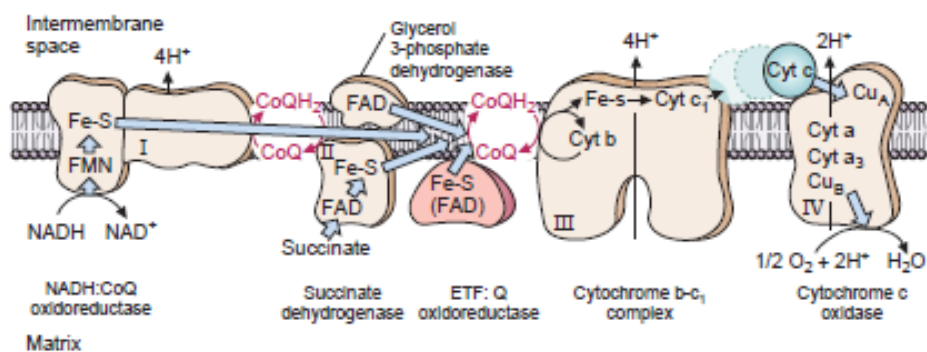
Tubuh mengkonsumsi oksigen melalui metabolisme aerobik. Dalam proses ini, oksigen digunakan untuk memecah makromolekul yang terdapat di dalam diet, menjadi *adenosine triphosphate* (ATP). Dalam darah, hemoglobin mengikat oksigen bebas dengan cepat untuk membentuk oksihemoglobin yang hanya menyisakan sebagian kecil oksigen bebas yang terlarut dalam plasma. Oleh karena itu, kandungan oksigen darah dapat dianggap sama dengan kadar oksihemoglobin. Dengan setiap molekul oksigen terikat, hemoglobin mengalami perubahan konformasi untuk memungkinkan oksigen berikutnya untuk terikat.¹⁰

Tiap atom oksigen mengandung 2 elektron tidak berpasangan di kulit terluarnya. Oksigen merupakan akseptor elektron pada proses fosforilasi oksidatif. Pembentukan ATP dari fosforilasi oksidatif membutuhkan donor elektron (NADH atau FAD [2H]), akseptor elektron (O_2), membran dalam mitokondria utuh yang kedap proton, semua komponen dari rantai transpor elektron dan ATP sintase. Proses ini diatur oleh tingkat penggunaan ATP. Sebagian besar sel bergantung pada fosforilasi oksidatif untuk homeostasis ATP. Dalam rantai transpor elektron, elektron yang disumbangkan oleh NADH atau FAD (2H) dilewatkan secara berurutan melalui serangkaian pembawa elektron yang terdapat di membran dalam mitokondria.¹



Gambar 2.1 Fosforilasi Oksidatif dan Produk Sampingan ROS¹¹

ATP dihasilkan setelah melewati kompleks I-V yang terletak di membran mitokondria bagian dalam. Energi dilepaskan oleh transfer elektron dari NADH dan FADH_2 ke oksigen untuk digunakan memompa proton (H^+) melalui kompleks I, III dan IV. Di kompleks II tidak terjadi pemompaan proton. Gradien proton yang melintasi mitokondria bagian dalam mendorong produksi ATP melalui kompleks V. Gradien proton ini dapat dihilangkan dengan masuknya kembali proton ke matriks mitokondria melalui *uncoupling proteins* (UCP).¹¹(Gambar 2.1).



Gambar 2.2 Komponen Rantai Transpor Elektron¹

Elektron ditransfer secara berurutan melalui *Nicotinamide Adenine Dinucleotide Hydrogen (NADH) : coenzyme Q (CoQ) oxidoreductase* (kompleks I), *Succinate dehydrogenase* (kompleks II), *Cytochrome b-c₁ complex* (kompleks III) dan akhirnya, *Cytochrome c oxidase* (kompleks IV).¹ (Gambar 2.2). Selama transfer tersebut, terjadi reaksi reduksi-oksidasi. Reduksi total dari molekul oksigen ini menjadi air membutuhkan empat elektron dan selama proses tersebut dapat menghasilkan ROS sebagai hasil sampingan. Pembentukan ROS ini terjadi karena terjadinya kebocoran elektron. Donor pertama elektron terhadap molekul oksigen membentuk *superoxide radical* ($\text{O}_2^{\cdot-}$). Donor kedua elektron membentuk *peroxide*, yang mengalami protonasi menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2). Donor elektron ketiga melibatkan reaksi Fenton ($\text{Fe}^{+2} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Fe}^{+3} + \text{OH}^{\cdot} + \text{OH}^-$), yang menghasilkan molekul yang sangat reaktif yaitu *hydroxyl radical* (OH^{\cdot}). Donor elektron keempat menghasilkan H_2O . Singlet

oksigen ($^1\text{O}_2$) yang merupakan bentuk yang reaktif dari O_2 di mana elektron terluarnya meningkat pada keadaan tinggi energi. Ia dapat dibentuk dari berbagai mekanisme, seperti misalnya reaksi Haber-Weiss ($\text{H}_2\text{O}_2 + \text{O}_2^{\bullet -} \rightarrow \text{OH}^\bullet + \text{OH}^- + ^1\text{O}_2$).¹²

2.2 Hipoksia

Hipoksia merupakan kondisi tubuh di mana jaringan mengalami kekurangan oksigen. Dalam bentuk ekstrimnya, di mana oksigen sepenuhnya tidak ada, kondisi ini disebut anoksia. Ada empat jenis hipoksia: (1) tipe hipoksemik, di mana tekanan oksigen dalam darah menuju jaringan terlalu rendah untuk menjenuhkan hemoglobin; (2) tipe anemia, di mana jumlah hemoglobin fungsional terlalu kecil dan karenanya kapasitas darah untuk membawa oksigen terlalu rendah; (3) tipe stagnan, di mana darah atau mungkin normal tetapi aliran darah ke jaringan berkurang atau tidak merata dan (4) tipe histotoksik, di mana sel-sel jaringan diracuni dan oleh karena itu tidak dapat menggunakan oksigen dengan tepat. Penyakit darah, jantung dan sirkulasi dan paru-paru semuanya bisa menghasilkan beberapa bentuk hipoksia.¹³

Jenis hipoksia hipoksemik adalah karena salah satu dari dua mekanisme: (1) penurunan jumlah oksigen yang digunakan untuk bernafas - sering dijumpai pada pilot, pendaki gunung dan orang-orang yang tinggal di dataran tinggi - karena tekanan barometrik yang berkurang atau (2) kegagalan *cardiopulmonary* di mana paru-paru tidak dapat memindahkan oksigen secara efisien dari alveoli ke darah.¹³

Dalam kasus hipoksia anemik, baik jumlah total hemoglobin terlalu kecil untuk memasok kebutuhan oksigen tubuh, seperti pada anemia atau setelah perdarahan hebat, atau hemoglobin yang hadir tidak berfungsi. Contoh kasus terakhir adalah keracunan karbon monoksida dan methemoglobinemia yang didapat, di mana hemoglobin tersebut diubah oleh agen beracun sehingga tidak tersedia untuk transportasi oksigen dan dengan demikian tidak ada nilai pernapasan.¹³

Hipoksia yang stagnan, di mana aliran darah melalui kapiler tidak cukup untuk memasok jaringan, mungkin umum atau lokal. Jika secara umum, mungkin disebabkan oleh penyakit jantung yang merusak sirkulasi, gangguan pengembalian darah pada vena, atau trauma yang menyebabkan syok. Hipoksia stagnan lokal mungkin

disebabkan oleh kondisi apa pun yang mengurangi atau mencegah sirkulasi darah di area mana pun di tubuh. Contohnya termasuk sindrom Raynaud dan penyakit Buerger, yang membatasi sirkulasi di ekstremitas; penerapan tourniquet untuk mengontrol perdarahan; keracunan ergot; paparan dingin dan infeksi sistemik yang luar biasa dengan syok.¹³

Pada hipoksia histotoksik, sel-sel tubuh tidak dapat menggunakan oksigen, meskipun jumlah dalam darah mungkin normal dan di bawah tekanan normal. Meskipun secara karakteristik diproduksi oleh sianida, setiap agen yang menurunkan respirasi sel dapat menyebabkannya. Beberapa agen ini adalah narkotika, alkohol, formaldehida, aseton dan agen anestesi tertentu.¹³

2.3 Radikal Bebas

Molekul dengan satu atau lebih elektron tak berpasangan di kulit terluarnya disebut radikal bebas. Ketika sel menggunakan oksigen untuk menghasilkan energi, radikal bebas diciptakan sebagai konsekuensi dari ATP (*adenosine triphosphate*) produksi oleh mitokondria. Produk samping ini umumnya adalah *reactive oxygen species* (ROS) serta *reactive nitrogen species* (RNS) yang dihasilkan dari proses redoks seluler.¹⁴

Istilah ROS dan RNS secara kolektif menggambarkan radikal bebas dan turunan reaktif non-radikal lainnya yang juga disebut oksidan. Radikal kurang stabil dibandingkan spesies non-radikal, meskipun reaktivitasnya umumnya lebih kuat. Molekul dengan satu atau lebih elektron tak berpasangan di kulit terluarnya disebut radikal bebas. Radikal bebas terbentuk dari molekul melalui kerusakan ikatan kimia sehingga setiap fragmen menyimpan satu elektron, dengan pembelahan radikal untuk memberikan radikal lain dan juga melalui reaksi redoks. Radikal bebas termasuk *hydroxyl radical* (OH^\bullet), *superoxide radical* ($\text{O}_2^{\bullet -}$), *nitric oxide* (NO^\bullet), *nitrogen dioxide* (NO_2^\bullet), *peroxyl* (ROO^\bullet) dan *lipid peroxyl* (LOO^\bullet). Juga, hidrogen peroksida (H_2O_2), ozon (O_3), oksigen singlet ($^1\text{O}_2$), asam hipoklorit (HOCl), asam nitrat (HNO_2), peroksinitrit (ONOO^-), dinitrogen trioksida (N_2O_3), lipid peroksida (LOOH), adalah tidak radikal bebas dan umumnya disebut oksidan, tetapi dengan mudah dapat menyebabkan reaksi radikal bebas pada organisme hidup. Radikal bebas biologis

dengan demikian adalah molekul yang sangat tidak stabil yang memiliki elektron yang tersedia untuk bereaksi dengan berbagai substrat organik seperti lipid, protein dan DNA.^{1,14}

Pembentukan ROS dan RNS dapat terjadi di sel dengan dua cara: reaksi enzimatik dan non-enzimatik. Reaksi enzimatik yang menghasilkan radikal bebas termasuk yang terlibat dalam rantai pernapasan, fagositosis, sintesis prostaglandin dan sistem sitokrom P450. Sebagai contoh, radikal anion superoksida ($O_2^{\cdot -}$) dihasilkan melalui beberapa sistem oksidase sel seperti NADPH oksidase, xantin oksidase, peroksidase. Setelah terbentuk, ia berpartisipasi dalam beberapa reaksi yang menghasilkan berbagai ROS dan RNS seperti hidrogen peroksida, radikal hidroksil (OH^{\cdot}), peroksinitrit ($ONOO^-$), asam hipoklorit ($HOCl$) dan lain-lain.¹⁴

Radikal bebas dapat dihasilkan dari reaksi non-enzimatik yaitu antara oksigen dengan senyawa organik, serta yang dipicu oleh radiasi pengion. Proses nonenzimatik juga dapat terjadi selama fosforilasi oksidatif (yaitu respirasi aerobik) di mitokondria. ROS dan RNS dihasilkan dari sumber endogen atau eksogen. Sumber endogennya dihasilkan dari aktivasi sel kekebalan tubuh, inflamasi, stres mental, olahraga berlebihan, iskemia, infeksi, kanker dan penuaan. Sedangkan sumber eksogennya didapat dari polusi udara dan air, asap rokok, alkohol, logam berat atau transisi (Cd, Hg, Pb, Fe, As), obat-obatan tertentu (cyclosporine, tacrolimus, gentamycin, bleomycin), pelarut industri, memasak (daging asap, minyak bekas dan lemak) dan radiasi. Setelah penetrasi ke dalam tubuh dengan jalur yang berbeda, senyawa eksogen ini terdekomposisi atau dimetabolisme menjadi radikal bebas.¹⁴

Pembentukan ROS yang berlebihan adalah salah satu mekanisme yang dicurigai dalam patogenesis generalisasi (seperti sepsis, transplantasi, iskemia / cedera reperfusi dan luka bakar) atau reaksi inflamasi lokal (seperti asma dan penyakit paru obstruktif kronik). *Ischaemia / reperfusion injury* (IRI) terjadi pada sejumlah kondisi patologis, termasuk infark miokard, stroke, pembedahan aorta, *cardiopulmonary bypass*, transplantasi organ, resusitasi dan perawatan kritis. Rilis radikal oksigen secara masif dan mendadak setelah reperfusi memicu kerusakan oksidatif.¹⁵

2.4 Stres Oksidatif

Istilah "stres" telah digunakan dalam fisika sejak waktu tidak diketahui seperti yang muncul dalam definisi hukum Hooke pada 1658, tetapi waktu pertama penggunaannya dalam ilmu biologi ada pada surat Sir Hans Selye kepada *Editor of Nature* pada tahun 1936. Saat itu, kata tersebut masih tidak diterima, tetapi kemudian, setelah Hans Selye terkenal di *College of France* yang bergengsi, ia pun menerima persetujuan di kalangan komunitas ilmiah. Tetapi walaupun diterima, Selye masih sulit untuk mendefinisikan stres selama beberapa tahun. Saat ini, stres dapat didefinisikan sebagai proses perubahan homeostasis biokimia yang ditimbulkan oleh psikologis, fisiologis, atau stres lingkungan. Setiap stimulus, tidak peduli apakah berasal dari sosial, fisiologis, atau fisik, yang dirasakan oleh tubuh sebagai menantang, mengancam, atau menuntut dapat diberi label sebagai *stressor*. Kehadiran *stressor* mengarah pada aktivasi mekanisme pengaturan neurohormonal dari tubuh, melalui mana ia mempertahankan homeostasis.¹⁶

Distress, stres dan stres oksidatif adalah hal yang berbeda. *Distress* berbeda dari stres, yang merupakan reaksi fisiologis yang dapat menyebabkan respon adaptif. *Distress* relatif sulit untuk didefinisikan dan umumnya mengacu pada keadaan di mana seekor hewan tidak dapat melarikan diri dari atau beradaptasi dengan stressor eksternal atau internal atau kondisi yang ia alami mengakibatkan efek negatif terhadap kesejahteraannya. Stres mengarah ke adaptasi tetapi *Distress* tidak. Stres adalah istilah yang umum digunakan untuk stres oksidatif. Setiap perubahan dalam homeostasis yang mengarah pada peningkatan produksi radikal bebas dan jauh di atas kemampuan detoksifikasi jaringan lokal, menimbulkan stres oksidatif. Stres oksidatif juga dapat dilihat sebagai ketidakseimbangan antara prooksidan dan antioksidan dalam tubuh. Radikal bebas yang berlebihan ini kemudian berinteraksi dengan molekul lain di dalam sel dan menyebabkan kerusakan oksidatif pada protein, membran dan gen. Kerusakan oksidatif telah terlibat dalam penyebab banyak penyakit seperti penyakit kardiovaskular, degenerasi neuronal dan kanker dan berdampak pada proses penuaan tubuh juga.¹⁶

2.5 Paru-paru

Fungsi utama paru adalah pertukaran gas, oleh karena itu, organ inilah yang membuat kontak dengan tekanan oksigen yang lebih tinggi dalam tubuh. Hal ini sangat penting mengingat efek toksik yang diketahui dari gas ini, meskipun ada kemungkinan dari timbulnya kerusakan paru-paru di bawah kondisi tekanan oksigen rendah (hipoksia). Salah satu fungsi terpenting paru-paru adalah mempertahankan oksigenasi yang adekuat dalam organisme.¹⁷

Organ ini dapat dipengaruhi oleh hipoksia yang menghadapi situasi fisiologis dan patologis. Paparan terhadap kondisi ini mendukung peningkatan spesies oksigen reaktif dari mitokondria, seperti dari NADPH oksidase, enzim *xanthine oxidase* atau reduktase dan *nitric oxide synthase*, serta membangun proses inflamasi. Di paru-paru, hipoksia juga memodifikasi tingkat zat antioksidan yang menyebabkan kerusakan oksidatif paru.¹⁷

2.6 Antioksidan

Tubuh memiliki beberapa mekanisme untuk melawan stres oksidatif dengan memproduksi antioksidan, baik yang dihasilkan secara in situ (antioksidan endogen), atau secara eksternal yang dipasok melalui makanan (antioksidan eksogen). Peran antioksidan adalah menetralkan kelebihan radikal bebas, melindungi sel terhadap efek racunnya dan berkontribusi pada pencegahan penyakit.¹⁴

Antioksidan endogen dalam sel dapat diklasifikasikan sebagai antioksidan enzimatis dan antioksidan non-enzimatis. Enzim-enzim antioksidan utama yang secara langsung terlibat dalam netralisasi ROS dan RNS adalah *superoxide dismutase* (SOD), katalase (CAT), *glutathione peroxidase* (GPx) dan *glutathione reductase* (GRx). SOD, garis pertahanan pertama melawan radikal bebas, mengkatalisis dismutasi dari radikal anion superoksida ($O_2 \cdot^-$) menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2) dengan reduksi. Oksidan yang terbentuk (H_2O_2) diubah menjadi air dan oksigen (O_2) oleh katalase (CAT) atau *glutathione peroxidase* (GPx). Enzim GPx selenoprotein menghilangkan H_2O_2 dengan menggunakannya untuk mengoksidasi *reduced glutathione* (GSH)

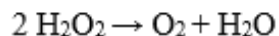
menjadi *oxidized glutathione* (GSSG). *Glutathione reductase*, enzim flavoprotein, meregenerasi GSH dari GSSG, dengan NADPH sebagai sumber daya reduksi.¹⁴

Antioksidan non-enzimatik juga dibagi menjadi antioksidan metabolik dan antioksidan nutrien. Antioksidan metabolik termasuk dalam antioksidan endogen, yang diproduksi oleh metabolisme dalam tubuh, seperti asam lipoat, *glutathione*, *L-arginine*, koenzim Q10, melatonin, asam urat, bilirubin, protein pengkelat logam, transferin, dll. Sementara antioksidan nutrien termasuk antioksidan eksogen, yang merupakan senyawa yang tidak dapat diproduksi di dalam tubuh dan harus disediakan melalui makanan atau suplemen, seperti vitamin E, vitamin C, karotenoid, *trace metals* (selenium, mangan, seng), flavonoid, asam lemak omega-3, omega-6, dll.¹⁴

2.7 Katalase

Aktivitas katalase pada jaringan pertama kali diamati oleh Thenard pada tahun 1818, yang menemukan bahwa jaringan dapat dengan mudah mendegradasi hidrogen peroksida (H₂O₂). Loew, pada tahun 1901, pertama kali menetapkan bahwa degradasi H₂O₂ dalam jaringan disebabkan oleh suatu enzim, yang ia namakan “katalase”. Warburg, pada tahun 1923, mengemukakan bahwa katalase adalah enzim yang mengandung zat besi, karena dapat dihambat oleh sianida. Katalase pertama kali dikristalisasi dari hati sapi dan identitasnya diperjelas oleh Sumner dan Dounce pada tahun 1937.¹⁸

Katalase (EC 1.11.1.6) adalah protein yang ditemukan di banyak bakteri dan hampir semua tumbuhan dan hewan. Ia mengkatalisis hidrogen peroksida menjadi oksigen dan air.¹⁹ (Gambar 2.3)



Gambar 2.3 Katalisis Pemecahan Hidrogen Peroksida Oleh Enzim Katalase¹⁹

Reaksi ini sangat penting bagi semua organisme yang bernapas secara aerobik. ROS seperti H₂O₂ adalah produk sampingan yang tak terhindarkan dari respirasi aerobik, yang membutuhkan enzim khusus untuk eliminasi mereka. Contoh dari

katalase mamalia adalah katalase pada hati sapi dan eritrosit manusia. Katalase hati sapi pertama kali dikristalkan pada tahun 1937 dan katalase eritrosit sapi pada tahun 1969.¹⁹

Hidrogen peroksida harus diubah menjadi air untuk mencegahnya membentuk radikal hidroksil dalam reaksi Fenton atau reaksi Haber-Weiss. Salah satu enzim yang mampu mengurangi hidrogen peroksida adalah katalase. Katalase ditemukan terutama dalam peroksisom dan, pada tingkat lebih rendah, di sitosol dan fraksi mikrosomal sel. Aktivitas tertingginya ditemukan dalam jaringan dengan kandungan peroksisom (ginjal dan hati) yang tinggi.¹

Katalase dibagi menjadi tiga kelompok filogenetik yang berbeda, yaitu dua kelompok katalase heme dan satu kelompok katalase nonheme. Katalase monofungsional merupakan salah satu katalase heme yang telah ditemukan di banyak bakteri, archaea, tanaman, jamur dan hewan. Mereka mempunyai berbagai ukuran subunit (55 hingga 84 kDa) dan umumnya merupakan enzim tetramerik, serta tidak memiliki aktivitas peroksidase. Contohnya seperti katalase hati sapi.²⁰

Katalase Peroksidase bifungsional, jenis lain dari katalase heme, juga telah ditemukan pada bakteri, archaea dan jamur. Selain perbedaan ukuran subunitnya (sekitar 80 kDa), mereka tidak hanya menunjukkan aktivitas katalase tetapi juga aktivitas peroksidase. Enzim yang terkenal adalah *Mycobacterium tuberculosis* KatG.²⁰

Katalase Nonheme, yang kadang-kadang disebut sebagai pseudokatalase, merupakan satu grup katalase minor dan memiliki ukuran subunit yang relatif kecil (28 hingga 36 kDa). Mereka menggunakan ion mangan pada situs aktifnya, bukan heme besi dan karena itu juga dikenal sebagai katalase mangan.²⁰

2.8 Kranberi (*Vaccinium macrocarpon* Aiton)

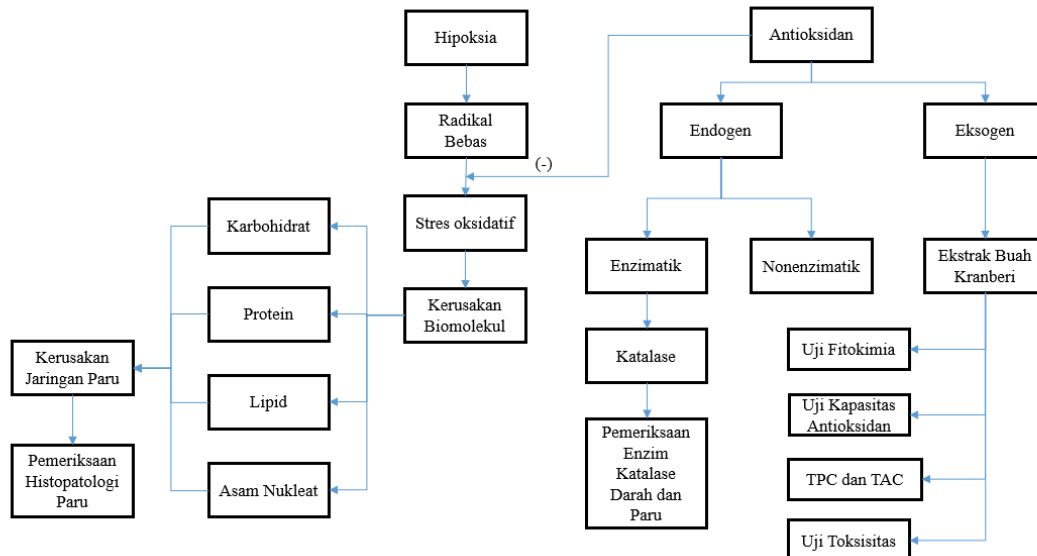
Cranberry adalah singkatan dari "*crane berry*." Nama ini berasal dari julukan bunga *bilberry*, yang, ketika layu, mirip dengan kepala dan leher burung bangau pasir, yaitu burung yang sering memakan buah dari tanaman ini. Kranberi adalah bagian dari

keluarga *Ericaceae* dan secara alami tumbuh di rawa asam penuh gambut di hutan lembab.²¹

Ada dua spesies utama Kranberi, yaitu Kranberi Amerika (*Vaccinium macrocarpon* Aiton) dan Kranberi Eropa (*V. oxycoccos*). Buah Kranberi Eropa lebih kecil (0,6-1,2 cm) dan hanya setengah ukuran buah Amerika.²² Kranberi Amerika (*Vaccinium macrocarpon* Aiton) secara historis digunakan oleh orang Amerika Utara dan India untuk mengobati infeksi saluran kemih.²¹

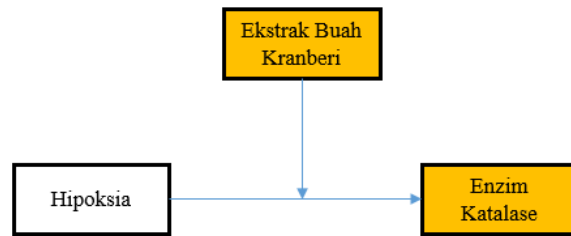
Kranberi terdiri dari air (88%), asam organik (termasuk salisilat), fruktosa, vitamin C (dalam tingkat tinggi, yaitu, 200 mg/kg buah segar), *flavonoid*, *anthocyanidins*, *catechins* dan *triterpinoids*. Unsur kimia yang bertanggung jawab untuk rasa dari buah adalah glikosida iridoid. *Anthocyanidins* dan *proanthocyanidins* (PAC) adalah tanin (polifenol stabil) yang hanya ditemukan dalam *vaccinium berries* dan berfungsi sebagai sistem pertahanan tanaman alami terhadap mikroba.²¹

2.9 Kerangka Teori



Gambar 2.4 Kerangka Teori

2.10 Kerangka Konsep



Gambar 2.5 Kerangka Konsep

BAB 3

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Desain penelitian yang digunakan adalah eksperimental secara *in vitro* yang terdiri dari uji fitokimia, kapasitas antioksidan menggunakan DPPH, *Total Phenolics Content* (TPC), *Total Alkaloid Content* (TAC) dan uji toksisitas serta secara *in vivo* dengan perlakuan hipoksia pada tikus untuk mengetahui pengaruh ekstrak buah Kranberi terhadap aktivitas spesifik enzim katalase darah dan paru.

3.2 Tempat dan Waktu

3.2.1 Tempat

Seluruh kegiatan penelitian dan pemberian ekstrak buah Kranberi dilakukan di Laboratorium Departemen Biokimia dan Biologi Molekuler Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara, Jl. Letjen S. Parman No. 1, Grogol, Jakarta Barat.

3.2.2 Waktu

Penelitian berlangsung dari bulan Juli 2018 hingga Mei 2019.

3.3 Sampel Penelitian

Sampel dalam penelitian ini adalah buah Kranberi yang diimpor dari Amerika oleh CV. Tekno Boga Mandiri. Buah Kranberi tersebut kemudian diproses hingga bentuk ekstrak. Penelitian ini menggunakan hewan coba, yaitu tikus *Sprague-Dawley* jantan berumur 10 – 12 minggu dengan berat badan 200 hingga 250 gram berjumlah 32 ekor dan dalam keadaan sehat tanpa cacat yang diperoleh dari Laboratorium Hewan Coba, Puslitbang Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan, Badan Litbangkes. Tikus tersebut dibagi ke dalam 2 kelompok yaitu kelompok uji dan kontrol. Tiap kelompok terdiri dari 4 subkelompok yaitu normoksia, hipoksia 1 hari, hipoksia 7 hari dan hipoksia 14 hari. Sampel tikus yang diambil adalah darah dan organ parunya.

3.4 Penetapan Jumlah Hewan Coba

Pada penelitian ini, penetapan jumlah sampel tikus pada tiap kelompok ditentukan dengan rumus Federer²³, yaitu :

$$\begin{aligned}(t-1)(n-1) &\geq 15 && t = \text{jumlah perlakuan terhadap tikus} \\(8-1)(n-1) &\geq 15 && n = \text{jumlah ulangan tikus dalam tiap kelompok} \\7(n-1) &\geq 15 \\7n-7 &\geq 15 \\7n &\geq 22 \\n &\geq 3.14 \approx 4\end{aligned}$$

Jadi, jumlah ulangan (n) adalah 4 (empat) ekor tikus untuk setiap kelompok. Dengan demikian, jumlah hewan percobaan pada penelitian ini adalah 32 ekor tikus *Sprague-Dawley* jantan yang akan dibagi dalam 8 kelompok perlakuan.

3.5 Cara Kerja Penelitian

3.5.1 Pengambilan Sampel

Sampel buah Kranberi diimpor dari Amerika oleh CV. Tekno Boga Mandiri, sedangkan sampel tikus diperoleh dari Laboratorium Hewan Coba, Puslitbang Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan, Badan Litbangkes.

3.5.2 Identifikasi Tanaman

Buah yang sebelumnya sudah dibeli, sebagian dikirim ke LIPI (Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia) di Herbarium Bogoriens, Cibinong untuk identifikasi spesies tanaman tersebut dan setelah diidentifikasi, buah Kranberi yang dikirim dinyatakan sebagai jenis *Vaccinium macrocarpon* Aiton.

3.5.3 Pengolahan Bahan dan Pembuatan Ekstrak Buah Kranberi

Pertama-tama buah Kranberi dibelah menjadi beberapa bagian dan dilakukan pengeringan selama beberapa hari. Buah yang sudah kering kemudian dihaluskan menjadi bentuk simplisia dengan menggunakan blender. Lalu simplisia ditimbang dan diekstraksi dengan etanol menggunakan teknik maserasi. Selama proses maserasi,

campuran simplisia-etanol diaduk dua kali sehari setiap pagi dan sore menggunakan batang pengaduk dan ditampung dalam jerigen tiap dua hari sekali selama enam hari. Hasil maserasi yang telah ditampung, lalu dievaporasi dengan *rotary evaporator* untuk memisahkan pelarut (etanol) dengan sampel. Setelah dievaporasi, diperoleh cairan kental berbentuk pasta yang siap untuk digunakan dalam pengujian.

3.5.4 Penelitian *In Vitro*

3.5.4.1 Uji Fitokimia berdasarkan Harborne²⁴

1. Deteksi *Alkaloids* dengan Uji Mayer

Ekstrak ditimbang sebanyak 15 gram dalam tabung reaksi. Lalu ditambahkan kloroform sebanyak 10 mL. Kemudian dipindahkan 5 mL dari campuran tersebut ke tabung reaksi lain dan diteteskan amonia sebanyak 3 tetes, lalu dikocok. Setelah itu, ditambahkan 5 mL asam sulfat (H_2SO_4) 2N dan didiamkan hingga terbentuk dua lapisan. Lapisan atasnya dipipet dan dimasukkan ke tabung reaksi lain. Lalu ditambahkan reagen Mayer tetes-pertetes dengan maksimal 3-5 tetes. Jika terbentuk endapan putih, maka *alkaloids* positif (+).

2. Deteksi *Phenolics*

Ekstrak ditimbang sebanyak 1 gram dalam tabung reaksi. Lalu ditambahkan 2 mL air suling, 0.5 mL Natrium Karbonat (Na_2CO_3) dan 0.5 mL reagen Folin Ciocalteau dengan menggunakan pipet Mohr. Jika warnanya berubah menjadi biru atau hijau, berarti mengindikasikan *phenolics* positif (+).

3. Deteksi *Anthocyanin dan Betacyanin*

Ekstrak ditimbang sebanyak 2 gram dalam tabung reaksi. Lalu ditambahkan 1 mL NaOH 2N. Kemudian dipanaskan selama 5 menit pada suhu $100^\circ C$ menggunakan pemanas. Warna hijau kebiruan menandakan *anthocyanin* positif (+), sedangkan warna kuning menandakan *betacyanin* positif (+).

4. Deteksi *Cardio glycosides*

Ekstrak ditimbang sebanyak 1 gram dalam tabung reaksi. Lalu ditambahkan 2 mL asam asetat glasial dan beberapa tetes FeCl_3 5%. Kemudian dialirkan 1 mL asam sulfat pekat (H_2SO_4) melalui dinding tabung reaksi. Jika terbentuk cincin coklat, maka mengindikasikan *cardio glycosides* (+).

5. Deteksi *Coumarins*

Ekstrak ditimbang sebanyak 1 gram disiapkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditutup dengan kertas saring yang telah dibasahi dengan NaOH 1N. Lalu tabung reaksi tersebut ditempatkan di air mendidih selama beberapa menit. Kemudian kertas saring diperiksa dalam sinar UV. Jika diperoleh fluoresensi kuning, maka mengindikasikan *coumarins* positif (+).

6. Deteksi *Flavonoids*

Ekstrak ditimbang sebanyak 3 gram disiapkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 4 mL NaOH 1N. Jika diperoleh warna kuning gelap, maka mengindikasikan *flavonoids* positif (+).

7. Deteksi *Glycosides*

Ekstrak sebanyak 2 gram ditimbang ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan dengan 3 mL kloroform dan 1 mL larutan amonium 10%. Jika diperoleh warna merah muda, maka mengindikasikan *glycosides* positif (+).

8. Deteksi *Quinones*

Ekstrak sebanyak 1 gram ditimbang ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan 1 mL asam sulfat (H_2SO_4). Jika terbentuk warna merah, maka mengindikasikan *quinones* positif (+).

9. Deteksi *Saponins*

Ekstrak sebanyak 0,5 gram ditimbang ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan 2 mL air mendidih. Lalu dibiarkan dingin dan dikocok hingga merata. Jika muncul busa, berarti *saponins* positif (+).

10. Deteksi *Steroids*

Ekstrak sebanyak 0.5 gram dan 1 mL kloroform ditimbang ke dalam piring reaksi dan diaduk rata, lalu diuapkan di udara hingga kering. Lalu ditambahkan asam asetat glasial sebanyak 1 mL dan diaduk sampai rata. Setelah itu ditetesi H₂SO₄ pekat sebanyak 1-2 tetes. Jika terbentuk warna biru kehijauan, maka mengindikasikan *steroids* positif (+).

11. Deteksi *Terpenoids*

Cara kerjanya sama dengan *steroids*, namun jika terbentuk cincin berwarna coklat kemerahan di bawah warna biru kehijauan tadi, maka mengindikasikan *terpenoids* positif (+).

12. Deteksi *Tannins*

Ekstrak sebanyak 0.5 gram ditimbang ke dalam tabung reaksi. Lalu dipanaskan dalam 20 mL air suling di tabung reaksi dan kemudian difiltrasi. Setelah itu diambil 1 mL ekstrak yang telah dipanaskan dan dicampur dengan 1 mL FeCl₃ 5% dalam tabung reaksi lain. Jika terbentuk warna hijau kecoklatan, maka mengindikasikan *tannins* positif (+).

3.5.4.2 Kapasitas Antioksidan Ekstrak Buah Kranberi menggunakan DPPH dan dengan Metode Blois²⁵

1. Penentuan Panjang Gelombang Serapan Optimum

1.97 mg DPPH ditimbang dan ditambahkan dengan metanol hingga 100 mL dalam labu ukur ukuran 100 mL, sehingga didapatkan konsentrasi sebesar 50

μM . Lalu diambil 3.8 mL DPPH 50 μM tersebut dan dicampur dengan 0.2 mL metanol, kemudian dikocok dan didiamkan selama 30 menit di tempat gelap. Serapan dibaca dengan spektrofotometer Vis untuk mendapatkan panjang gelombang optimum dan absorbansi kontrol dengan kisaran panjang gelombang 400-800 nm.

2. Uji Ekstrak Buah Kranberi

10 mg ekstrak ditimbang dan ditambahkan dengan metanol hingga 10 mL, sehingga didapatkan konsentrasi 1 mg/mL dalam labu ukur ukuran 10 mL yang dianggap sebagai stok. Lalu diambil dari stok, masing-masing 0.25 mL, 0.75 mL, 1.25 mL, 1.75 mL, 2.25 mL dengan dipipet ke dalam 5 labu ukur ukuran 25 mL, sehingga didapatkan konsentrasi masing-masing sebesar 10 $\mu\text{g/mL}$, 30 $\mu\text{g/mL}$, 50 $\mu\text{g/mL}$, 70 $\mu\text{g/mL}$ dan 90 $\mu\text{g/mL}$. Kemudian kelima labu ukur tersebut ditambahkan metanol hingga 25 mL. Setelah itu diambil masing-masing 0.2 mL dan dimasukkan ke dalam lima tabung reaksi yang baru serta ditambahkan masing-masing 3.8 mL DPPH 50 μM . Lalu dikocok dan didiamkan selama 30 menit di tempat gelap. Serapan dibaca pada panjang gelombang optimal yang telah didapatkan sebelumnya. Pemeriksaan ini dilakukan sebanyak dua kali dan diambil rata rata absorbannya setelah dibaca. Lalu dihitung persentase inhibisi menggunakan rata-rata absorbansi yang telah dibaca, agar dapat dibuat kurva persentase inhibisi dan persamaan liniernya. Persentase inhibisi dihitung dengan rumus :

$$\text{Persentase Inhibisi (\%)} = \frac{\text{Absorbansi Blanko} - \text{Absorbansi Uji}}{\text{Absorbansi Blanko}} \times 100$$

Persamaan linier yang didapatkan akan digunakan untuk mencari IC_{50} . IC_{50} adalah konsentrasi yang diperlukan untuk menghambat 50% dari DPPH.

3. Larutan Pembanding : Asam Askorbat

10 mg bubuk asam askorbat ditimbang dan kemudian ditambahkan dengan metanol hingga 100 mL pada labu ukur, sehingga konsentrasi menjadi 100 $\mu\text{g/mL}$ dan ditandai sebagai stok. Lalu stok diambil masing-masing 0.2 mL, 0.4 mL, 0.6 mL, 0.8 mL, 1 mL ke dalam 5 tabung reaksi yang berbeda secara berurutan dan kemudian diencerkan dengan metanol sampai 10 mL sehingga konsentrasinya menjadi 2 $\mu\text{g/mL}$, 4 $\mu\text{g/mL}$, 6 $\mu\text{g/mL}$, 8 $\mu\text{g/mL}$ dan 10 $\mu\text{g/mL}$. Masing-masing tabung lalu divorteks. Dari masing-masing tabung diambil sebanyak 0.5 mL yang kemudian dicampurkan dengan 3.8 mL larutan DPPH 50 μM dalam tabung reaksi. Masing-masing tabung reaksi divorteks lagi agar larutan tercampur. Ujung tabung reaksi ditutup menggunakan *aluminium foil*. Lalu didiamkan seluruh tabung reaksi tersebut pada tempat gelap selama 30 menit. Setelah itu, serapan dibaca dengan spektrofotometer Vis pada panjang gelombang maksimum yang didapat dari serapan optimal DPPH. Persentase inhibisi kemudian dihitung menggunakan rumus dari absorbansi yang telah dibaca, lalu dibuat kurva persentase inhibisi dan dicari persamaan liniernya. Persamaan linier yang didapat, digunakan untuk menetapkan nilai IC_{50} .

3.5.4.3 Pengukuran Kadar *Total Phenolics Content* dengan Metode Singleton dan Rossi²⁶

1. Pembuatan Standar *Tannin*

Ditimbang 0.25 gram *tannin* dan ditambahkan 5 mL etanol 95% di dalam gelas beker. Lalu ditambahkan aquades hingga 50 mL, sehingga didapatkan konsentrasi 5 mg/mL . Kemudian dari larutan tersebut diambil 0.6 mL, 0.8 mL, 1 mL, 1.2 mL, 1.4 mL dan diencerkan hingga 10 mL menggunakan aquades dalam 5 labu ukur ukuran 10 mL, sehingga masing-masing terbentuk konsentrasi 300 $\mu\text{g/mL}$, 400 $\mu\text{g/mL}$, 500 $\mu\text{g/mL}$, 600 $\mu\text{g/mL}$ dan 700 $\mu\text{g/mL}$. Setelah itu, diambil 0.2 mL dari masing-masing larutan tersebut dimasukkan ke dalam lima tabung reaksi lainnya dan ditambahkan masing-masing dengan 15.8 mL aquades dan 1 mL reagen Folin Ciocalteu, lalu dikocok. Larutan

didiamkan selama 8 menit di tempat gelap. Setelah itu ditambahkan ke masing-masing tabung reaksi 3 mL Na₂CO₃ dan kocok hingga homogen, lalu didiamkan selama 2 jam di tempat gelap. Serapan dibaca dengan spektrofotometer Vis pada panjang gelombang 765 nm dan dibuat kurva standarnya.

2. Uji Ekstrak

0.3 gram ekstrak ditimbang dan ditambahkan larutan metanol-air dengan perbandingan 1 : 1 hingga 10 mL dalam labu ukur ukuran 10 mL. Lalu diambil 0.2 mL dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan 15.8 mL aquades dan 1 mL reagen Folin Ciocalteu ke dalam tabung reaksi. Setelah itu didiamkan selama 8 menit di tempat gelap, lalu ditambahkan dengan 3 mL Na₂CO₃ 20% dan dikocok. Lalu didiamkan lagi selama 2 jam di tempat gelap. Serapan dibaca dengan spektrofotometer Vis pada panjang gelombang 765 nm. Uji ini dilakukan dua kali, sehingga dihitung absorbansi rata-ratanya. Kemudian dibuat kurva standar dan dihitung kadar fenolik.

3.5.4.4 Pengukuran Kadar *Total Alkaloids Content* dengan Metode Trivedi²⁷

1. Pembuatan Stok *Berberine Chloride*

Sebanyak 1 mg bubuk *berberine chloride* ditimbang dan dilarutkan dengan 10 mL metanol ke dalam labu ukur.

2. Pembuatan Larutan Standar

Diambil larutan *berberine chloride* masing-masing sebanyak 0.2 mL, 0.4 mL, 0.6 mL, 0.8 mL dan 1 mL ke dalam tabung reaksi, sehingga didapatkan konsentrasi masing-masing 20 µg/mL, 40 µg/mL, 60 µg/mL, 80 µg/mL dan 100 µg/mL. Kemudian ditambahkan 5 mL dapar fosfat pH 4.7 dan 5 mL *Bromocresol green* (BCG) pada masing-masing tabung. Setelah itu, dipindahkan ke labu pemisah dan ditambahkan 5 mL kloroform. Labu pemisah ditutup dan dikocok dengan kuat. Kemudian didiamkan hingga terbentuk dua lapisan. Tampung lapisan bawahnya (yang tidak ada endapan) dengan labu ukur

10 mL. Lalu ditambahkan kloroform hingga batas garis 10 ml di labu ukur. Salah satu dari kelima larutan tersebut dipakai untuk menentukan panjang gelombang maksimal, kemudian masing – masing diukur absorbansinya dengan panjang gelombang maksimal yang didapat menggunakan spektrofotometer Vis. Lalu dibuat kurva standarnya, sehingga didapatkan persamaan liniernya.

3. Pembuatan Larutan Uji

Ekstrak ditimbang masing-masing sebanyak 50 mg dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan 3 mL HCl 2N, 5 ml dapar fosfat 0.1 M pH 4.7 dan 5 mL BCG. Lalu dimasukkan ke corong pemisah dan ditambah 5 ml kloroform. Setelah itu dikocok dan didiamkan sejenak hingga terbentuk dua lapisan. Ditampung lapisan bawahnya di labu ukur ukuran 10 mL dan jangan sampai terambil endapannya. Kemudian ditambahkan kloroform lagi hingga mencapai garis batas 10 mL di labu ukur. Dilakukan pengulangan mulai dari langkah awal sehingga pembacaan dilakukan dua kali. Kemudian dibaca serapannya dengan spektrofotometer Vis dan dihitung absorbansi rata-ratanya. Lalu dibuat persamaan liniernya dan dihitung kadar alkaloidnya.

3.5.4.5 Pengukuran Toksisitas dengan Metode BSLT²⁸

1. Penetasan *Artemia salina*

10 mg telur udang *Artemia salina* ditimbang di dalam tabung *erlenmeyer* dan ditambahkan dengan 250 mL air laut. Lalu aerator digunakan untuk sumber udaranya dan lampu untuk menjaga kehangatannya. Kemudian didiamkan selama 2 x 24 jam.

2. Pembuatan Ekstrak Sampel

20 mg ekstrak ditimbang di dalam gelas beker dan diencerkan dengan 10 mL air laut. Lalu dilakukan homogenasi dengan menggunakan vortex sehingga didapatkan konsentrasi 2000 µg/mL.

3. Uji Toksisitas

Delapan tabung reaksi disiapkan dan empat di antaranya diisi masing-masing 10 larva udang *Artemia salina* serta 1000 μL air laut menggunakan *micropipete*. Lalu empat tabung lainnya diisi sampel sebanyak 1000 μL , 500 μL , 100 μL , 10 μL . Khusus untuk yang 500 μL , 100 μL dan 10 μL secara berurutan ditambahkan air laut sebanyak 500 μL , 900 μL dan 990 μL . Kemudian keempat tabung reaksi sampel tersebut dicampurkan ke tabung-tabung reaksi yang telah diisi larva udang dan 1000 μL air laut tadi. Dilakukan pengulangan mulai dari langkah awal. Lalu didiamkan selama 24 jam di bawah lampu. Setelah itu, dihitung jumlah larva udang yang mati dan diambil rata-ratanya. Kemudian dibuat kurva korelasi antara konsentrasi sampel terhadap angka kematian larva, lalu hitung persamaan liniernya. Setelah mendapat persamaan linier, dihitung *Lethality Concentration 50* (LC_{50}), yaitu konsentrasi sampel yang mampu mematikan 50 % dari total larva udang. Pada persamaan liniernya, nilai x dianggap sebagai konsentrasi ekstrak, sedangkan nilai y sebagai LC_{50} . Satuan dari LC_{50} adalah $\mu\text{g}/\text{mL}$.

3.5.5 Penelitian *In Vivo*

3.5.5.1 Pembagian Kelompok Tikus

Dalam penelitian ini digunakan 32 ekor tikus yang terbagi dalam 2 kelompok, yaitu kelompok uji dan kontrol. Kelompok uji dan kontrol dibagi menjadi 4 subkelompok yaitu normoksia, hipoksia 1 hari, hipoksia 7 hari dan hipoksia 14 hari dengan masing-masing sebanyak 4 ekor tikus. Kelompok uji diberikan ekstrak buah Kranberi, sedangkan kelompok kontrol tidak diberi ekstrak buah Kranberi.

3.5.5.2 Sungkup Hipoksia

Serbuk kayu, tempat makan dan tempat minum tikus ditempatkan di dalam sungkup dan kipas dinyalakan. Serbuk kayu, makanan dan minuman tikus diganti secara berkala jika dibutuhkan. Saluran untuk pembuangan CO_2 dihubungkan ke labu *erlenmeyer*

yang berisi *soda lime* dengan selang. Lalu sungkup dialirkan gas sebanyak 5 L/menit selama 30 menit, kemudian diturunkan menjadi 1.5 L/menit.

3.5.5.3 Hipoksia

Tikus ditimbang dan ditandai menggunakan spidol sebelum dimasukkan ke sungkup yang telah dipersiapkan sebelumnya. Setelah dimasukkan, dilakukan pemeriksaan gas CO₂ di *erlenmeyer* yang berisi *soda lime*. Dipastikan timbul gelembung udara yang keluar. Kemudian gas, serbuk kayu, makanan dan minuman diperiksa setiap hari, diganti jika perlu.

3.5.5.4 Perlakuan Sesudah Hipoksia

Setelah perlakuan hipoksia, tikus dikeluarkan dari sungkup dan ditimbang. Lalu tikus dimasukkan ke dalam kandang dan didiamkan hingga sore hari. Untuk kelompok uji, tikus diberi ekstrak selama 14 hari. Dosis untuk pemberian ekstrak yaitu 80 mg/200 grBB/hari yang dibagi menjadi 2 kali sehari. Dibuat dengan 4 gram ekstrak yang diencerkan dengan 100 mL NaCl 0.9% dalam labu ukur, sehingga konsentrasinya 40 mg/ml tiap pemberian ekstrak. Untuk kelompok kontrol, tikus dirawat di kandang selama 14 hari.

3.5.5.5 Pengambilan Organ Paru dan Darah

Setelah dua minggu perlakuan (pemberian ekstrak) berakhir, masing-masing tikus disuntik dengan spuit 1 mL berisi konsentrasi campuran ketamin 0.2 mL dan xilasin 0.1 mL pada bagian intraperitoneal. Konsentrasi ini didapatkan dari dosis ketamin 100 mg/kgBB dan xilasin 10 mg/kgBB. Lalu ditunggu hingga tikus tidak sadarkan diri dan bisa ditimbang. Setelah ditimbang, tikus difiksasi di atas sterofoam beralaskan plastik. Diberi antiseptik pada area bawah yang ingin dibedah, lalu dijepit kulit bagian bawah tikus dengan pinset dan digunting ke arah atas hingga rusuk terbuka. Darah diambil melalui apeks jantung tikus menggunakan spuit 3 mL dan dimasukkan ke tabung *ethylenediaminetetraacetic acid* (EDTA) yang telah disediakan dalam gelas beker berisi es batu sebagai pendingin. Lalu dilanjutkan dengan pengambilan organ paru

menggunakan pinset dan diletakkan di atas cawan kaca yang di bawahnya diberi es batu sebagai pendingin, organ dibersihkan, ditimbang dan disimpan di *freezer*. Setelah pembedahan selesai, tikus dijahit kembali dan dikubur.

3.5.5.6 Pembuatan Homogenat Organ Paru

Organ paru ditimbang seberat 0.1 gram di dalam *microtube*, ditambahkan larutan dapar fosfat 0.1 M pH 7.2 sebanyak 500 μ L menggunakan *micropipete*. Kemudian dihaluskan dengan *homogenizer*. Setelah halus, ditambah 500 μ L dapar fosfat 0.1 M pH 7.2 dan dihomogenkan. Hasil homogenat disentrifugasi dengan kecepatan 6000 rpm selama 10 menit. Supernatan dipindahkan ke *microtube* yang steril menggunakan *micropipete*.

3.5.5.7 Pembuatan Sampel Darah

Sampel darah yang telah diambil, ditandai batas atasnya, lalu disentrifugasi dengan kecepatan 8000 rpm selama 20 menit dan kemudian plasmanya dipindahkan ke *microtube* steril yang baru dan disimpan di *freezer*. Sisa darahnya ditambahkan dengan larutan dapar fosfat 0.1 M pH 7.2 hingga batas yang telah ditandai di awal, dikocok pelan dan kemudian disentrifugasi. Setelah disentrifugasi, dibuang supernatannya. Langkah tersebut diulang sampai didapatkan supernatan yang jernih. Kemudian supernatan tersebut dibuang dan ditambahkan aquabides dingin hingga batas yang telah ditandai dan dikocok, sehingga didapatkan lisat darah dengan konsentrasi 50 %.

3.5.5.8 Pengukuran Aktivitas Spesifik Katalase dengan Metode Mates²⁹

1. Pembuatan Hidrogen Peroksida (H_2O_2) dengan Pengenceran 1:4000

Larutan H_2O_2 dibuat dengan perbandingan 1:4000 dengan cara memipet 0.025 mL H_2O_2 30% ke dalam labu ukur dan ditambahkan dengan dapar fosfat salin 0.05 M pH 7.0 sampai 100 mL, sehingga diperoleh konsentrasi 27.203 mM.

2. Optimasi Waktu dan Pengenceran

Optimasi dilakukan dengan mengukur larutan uji dan blanko pada panjang gelombang 210 nm. Untuk memperoleh optimasi pengenceran organ paru, dilakukan pengenceran 5x, 10x, 25x, 50x dan 100x dengan dapar fosfat salin 0.05 M pH 7.0 pada salah satu sampel homogenat paru. Pada darah dilakukan pengenceran 200x dengan aquades pada salah satu sampel darah, yang dianggap sebagai stok. Dari stok tersebut dilakukan pengenceran lagi sebesar 5x, 10x, 25x, 50x dan 100x menggunakan dapar fosfat salin 0.05 M pH 7.0.

3. Pembuatan Larutan Blanko dan Uji

Untuk pembuatan larutan blanko, 950 μ L hidrogen peroksida (H₂O₂) dicampurkan dengan 50 μ L larutan dapar fosfat salin 0.05 M pH 7.0 menggunakan *micropipete* selama 45 detik sambil di *up and down*, lalu dibaca pada spektrofotometer setiap 1 menit selama 10 menit. Pada pembuatan larutan uji, 950 μ L H₂O₂ dicampurkan dengan 50 μ L sampel (supernatan organ paru ataupun darah) selama 45 detik sambil di *up and down*, lalu dibaca dengan spektrofotometer UV-Vis setiap 1 menit selama 10 menit. Untuk mengetahui kecepatan optimal yang dibutuhkan dalam memperoleh aktivitas katalase tertinggi, dihitung Δv (kecepatan reaksi) dari absorbansi yang diperoleh setiap menit.

4. Pengujian aktivitas katalase

Dilakukan pengujian dengan cara yang sama dengan optimasi, namun lama waktunya disesuaikan dengan menit pada saat Δv tertinggi dan pada semua sampel dikerjakan sebanyak dua kali. Absorbansi tetap dihitung tiap 1 menit.

Rata-rata absorbansi uji dan blanko yang telah diperoleh, digunakan untuk menetapkan aktivitas katalase. Berikut ini adalah rumus untuk menentukan aktivitas katalase (U/mL) :

$$\frac{(\Delta \text{Absorbansi Uji} - \Delta \text{Absorbansi Blanko})/\text{menit}}{(\text{Molaritas H}_2\text{O}_2 \times (\text{Volume sampel yang di ukur}))} \times \text{faktor pengenceran}$$

5. Pembuatan Kurva Standar Protein

Dilakukan pengenceran *Bovine Serum Albumin* (BSA) sehingga didapatkan larutan BSA dengan konsentrasi masing-masing 0.025 mg/mL, 0.05 mg/mL, 0.1 mg/mL, 0.2 mg/mL, 0.4 mg/mL, 0.5 mg/mL, 0.6 mg/mL dan 0.8 mg/mL. Kemudian masing-masing konsentrasi dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 280 nm dan dibuat kurva standar, sehingga didapatkan persamaan linier.

6. Penentuan Kadar Protein Sampel

Untuk mendapatkan kadar protein sampel, dilakukan pengenceran sampel yang akan diukur kadar proteinnya (homogenat organ paru ataupun darah), untuk memperoleh absorbansi yang sesuai dengan *range* absorbansi dari larutan standar BSA yang dilakukan secara duplo. Hasil rata-rata absorbansi dimasukkan ke dalam persamaan linier yang diperoleh dari kurva standar BSA, sehingga diperoleh kadar protein sampel (mg/mL).

7. Pengujian Aktivitas Spesifik Katalase

Hasil aktivitas katalase dan kadar protein sampel digunakan untuk menghitung aktivitas spesifik katalase (U/mg) dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Aktivitas spesifik katalase (U/mg)} = \frac{\text{Aktivitas katalase (U/mL)}}{\text{Kadar protein dalam sampel (mg/mL)}}$$

Aktivitas spesifik katalase dinyatakan dalam satuan Unit/miligram protein sampel (U/mg protein).

3.5.5.9 Pembuatan Sediaan Histopatologi

1. Pembuatan Blok Parafin

Jaringan paru dipotong dengan ketebalan kurang lebih 2 mm, lalu dibungkus dengan kertas saring dan direndam ke dalam formalin 10% selama kurang lebih 2 jam. Setelah itu diangkat dan dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan formalin yang masih menempel. Kemudian dimasukkan ke

alkohol 70%, 80% dan 90% secara bertahap dengan waktu masing-masing 15 menit. Lalu direndam aseton sebanyak tiga kali selama 15 menit dan direndam benzol sebanyak dua kali selama 15 menit juga setelahnya. Kemudian dimasukkan ke oven yang terisi parafin cair dalam suhu 90°C selama 2 jam. Setelah 2 jam, cetakan besi berleter L disiapkan untuk menampung dari oven. Setelah mengeras, jaringan dipotong tipis dengan mikrotom dan dimasukkan ke dalam *water bath* dengan suhu ruangan dalam waktu kurang dari 30 detik. Jaringan kemudian diletakkan pada kaca objek, dikeringkan diatas lempeng pemanas dengan suhu 40°C selama 10 menit. Jaringan yang sudah kering diberi pewarnaan *haematoxylin and eosin*.

2. Pewarnaan dengan *Haematoxylin and Eosin (HE)*

Jaringan yang sudah kering direndam di alkohol 96%, 80% dan 70% secara bertahap masing-masing satu kali dan kemudian direndam di *haematoxylin* selama 5 menit. Setelah 5 menit, dicuci dengan air mengalir posisi naik turun hingga bersih. Lalu direndam di *Lithium Carbonat* satu kali dan kemudian direndam di *Eosin* selama 5 menit. Setelah itu, direndam di tiga tempat alkohol 96% masing-masing sebanyak 10 kali dengan posisi naik turun dan kemudian direndam ke larutan xilol-alkohol(perbandingan 50 : 50) sebanyak 10 kali. Lalu dipindah ke tiga tempat xilol yang direndam sebanyak 10 kali masing-masing. Setelah selesai, bagian kaca objek yang tidak mengandung jaringan dibersihkan menggunakan lap. Bagian yang mengandung jaringan ditetesi dengan entelan (balsam kanada) dan ditutup dengan kaca penutup untuk dilihat di mikroskop.

3.6 Keterangan Lolos Kaji Etik

Penelitian ini merupakan penelitian berkelompok dengan tema pengaruh ekstrak tanaman sebagai antioksidan yang dapat menekan stres oksidatif, telah mendapat keterangan lolos kaji etik (*ethical clearance*) dengan nomor 143/KER/FK/I/2019 dari komisi kaji etik riset Fakultas Kedokteran Universitas Trisakti.

3.7 Variabel Penelitian

3.7.1 Variabel Bebas

Variabel bebas penelitian ini adalah lamanya perlakuan hipoksia.

3.7.2 Variabel Tergantung

Variabel tergantung penelitian ini adalah aktivitas spesifik enzim katalase pada organ paru dan darah tikus *Sprague-Dawley*.

3.7.3 Variabel Antara

Variabel antara penelitian ini adalah pemberian ekstrak buah Kranberi.

3.8 Definisi Operasional

3.8.1 Hipoksia

Definisi : Kondisi ketika kadar oksigen menurun dalam sel, setelah diberi gas dengan oksigen 10% dan nitrogen 90%

Alat ukur : *Oxygenmeter*

Cara ukur : Mengalirkan gas melalui *Oxygenmeter*, kemudian dilihat jumlahnya

Hasil ukur : Numerik

Skala ukur : Interval

3.8.2 Katalase

Definisi : Suatu antioksidan endogen enzimatik yang berfungsi menguraikan hidrogen peroksida menjadi oksigen dan air

Alat ukur : Spektrofotometer UV-Vis

Cara ukur : Metode Mate's

Hasil ukur : Numerik

Skala ukur : Interval

3.9 Instrumen Penelitian

3.9.1 Alat Penelitian

Alat penelitian yang digunakan antara lain sungkup hipoksia (*Hypoxia Chamber*), *tissue grinder* (Wheaton Science, Millville, NJ-USA), spektrofotometer Vis (Genesys 30 *Visible Spectrophotometer*, Thermo Scientific), spektrofotometer UV-Vis (Genesys 10s *UV-Vis Spectrophotometer*, Thermo Scientific), *analytical and precision balances* (seri Pioneer, OHAUS, NJ-USA), *digital oxygen meter* (OX-12B No.05231, MIEI Shanghai, P.R. China), *centrifuge*, *water bath* (BT-125, Hitachi, Japan), *pH Meter*, *vacutainer* berisi EDTA, kapas, spuit steril ukuran 1 cc dan 3 cc, jarum dan benang jahit, kertas saring, spidol, sterfoam, *minor set* steril, *microtube* steril 1 mL, *quartz cuvette*, mikrotom, *staining jar*, oven, mikroskop cahaya dan alat standar laboratorium yang terdiri dari : batang pengaduk, spatula, botol semprot, gelas beker, labu ukur, labu erlenmeyer, pipet tetes, *micropipette*, tabung reaksi beserta rak, *vortex tube mixer* dan *stopwatch*.

3.9.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain *mixed gases* (Oksigen 10%, Nitrogen 90%), ekstrak buah Kranberi, sampel jaringan paru dan darah tikus *Sprague-Dawley* , larutan FeCl₃ 5%, natrium hidroksida (NaOH) 2N, NaOH 1N, HCl 1%, ammonia 10%, pereaksi Mayer, asam asetat glasial(CH₃COOH), asam sulfat (H₂SO₄), reagen Folin Ciocalteu, *Bovine Serum Albumin* (BSA), kloroform, natrium karbonat (Na₂CO₃), 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH), vitamin C, tanin, etanol, metanol, *Tween 20*, air laut, *soda lime*, anestesi xilasin dan ketamin, natrium klorida (NaCl), *ethylenediaminetetraacetic acid* (EDTA), hidrogen peroksida (H₂O₂) 30%, akuades, akuabides, formalin 10%, alkohol 70%, alkohol 96%, aseton, xylol, *paraffin wax*, pewarna *hematoxylin-eosin*.

3.10 Pengumpulan Data

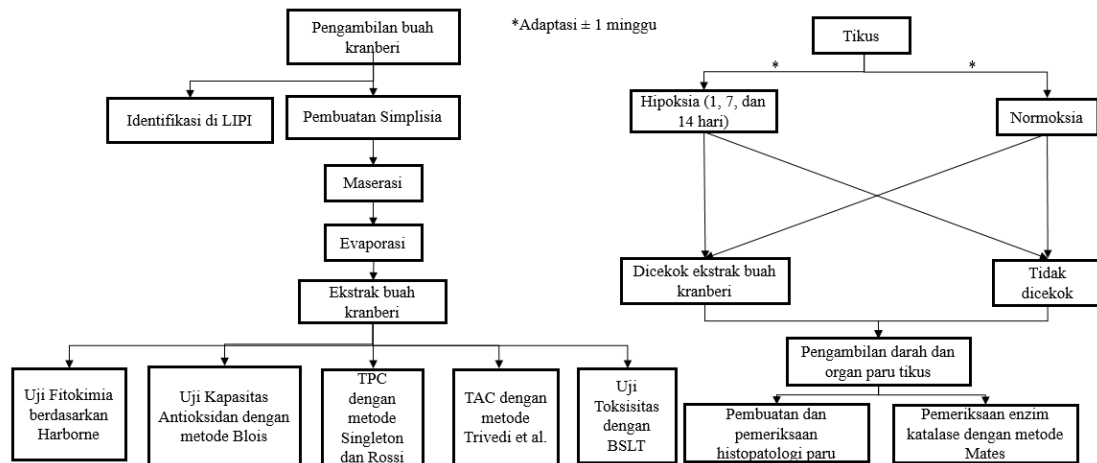
Hasil yang didapatkan pada penelitian ini berasal dari data uji fitokimia, uji kapasitas antioksidan dengan DPPH, *Total Phenolics Content*, *Total Alkaloids Content*, uji

toksisitas, pengukuran aktivitas spesifik enzim katalase organ paru dan darah dan histopatologi organ paru.

3.11 Analisis Data

Analisis data menggunakan aplikasi *Graphpad Prism v.7.04*. Uji antar kelompok pelakuan serta antar kelompok uji dengan kontrol dilakukan dengan menggunakan metode analisis *t-test*. Variabel yang dianalisis bermakna apabila $p < 0.05$. Untuk mengetahui korelasi antara darah dan organ paru, digunakan metode *Pearson's Correlation Coefficient*.

3.12 Alur Penelitian



Gambar 3.1 Alur Penelitian

BAB 4 HASIL PENELITIAN

4.1 Uji Fitokimia Ekstrak Buah Kranberi berdasarkan Harborne

Dari uji fitokimia yang telah dilakukan, didapatkan hasil positif untuk semua senyawa fitokimia yang diperiksa. (Tabel 4.1)

Tabel 4.1 Uji Fitokimia Ekstrak Buah Kranberi

| Senyawa Fitokimia | Hasil | Nama Metode ²⁴ |
|-----------------------------------|---------|---|
| <i>Alkaloids</i> | Positif | Mayer |
| <i>Anthocyanin dan Betacyanin</i> | Positif | NaOH |
| <i>Cardio glycosides</i> | Positif | <i>Concentrate</i> H ₂ SO ₄ |
| <i>Coumarins</i> | Positif | NaOH |
| <i>Flavonoids</i> | Positif | NaOH |
| <i>Glycosides</i> | Positif | <i>Modified</i> Borntrager |
| <i>Phenolics</i> | Positif | Folin Ciocalteu |
| <i>Quinones</i> | Positif | H ₂ SO ₄ |
| <i>Saponins</i> | Positif | <i>Foam</i> |
| <i>Steroids</i> | Positif | Salkowski |
| <i>Terpenoids</i> | Positif | Salkowski |
| <i>Tannins</i> | Positif | <i>Ferric Chloride</i> |

4.2 Kapasitas Antioksidan Ekstrak Buah Kranberi Menggunakan DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil*)

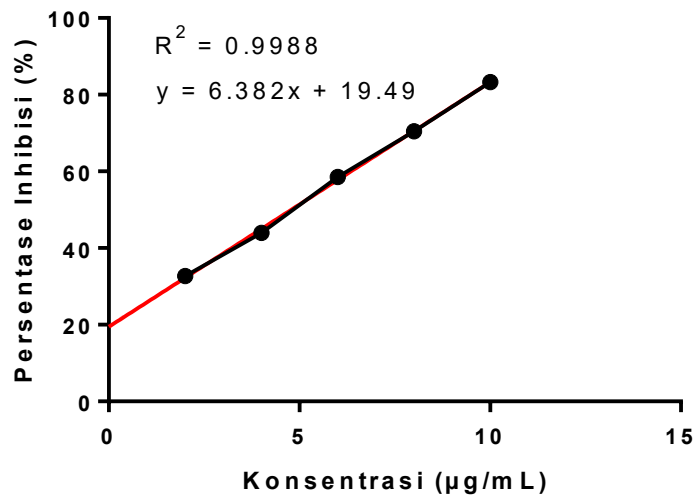
4.2.1 Panjang Gelombang dan Absorbansi Optimum

Panjang gelombang optimum yang didapatkan sebesar 515 nm dan absorbansi optimum sebesar 0.514. Absorbansi ini digunakan sebagai absorbansi blanko dan juga untuk mengukur absorbansi uji/ekstrak buah Kranberi serta asam askorbat.

4.2.2 Uji Larutan Perbandingan (Asam Askorbat)

Tabel 4.2 Hasil Hitung Persentase Inhibisi dan IC₅₀ Berdasarkan Konsentrasi Asam Askorbat

| Konsentrasi (µg/mL) | Persentase Inhibisi (%) | IC ₅₀ (µg/mL) |
|---------------------|-------------------------|--------------------------|
| 2 | 32.68 | |
| 4 | 43.97 | |
| 6 | 58.56 | 4.78 |
| 8 | 70.43 | |
| 10 | 83.27 | |



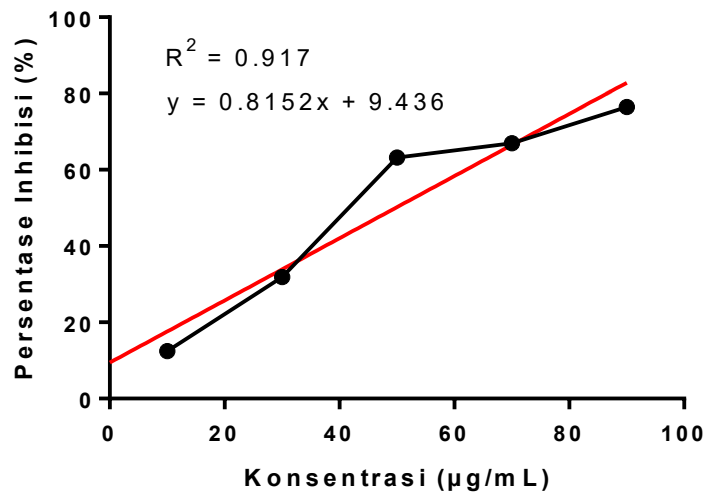
Gambar 4.1 Kurva Persentase Inhibisi Asam Askorbat

Berdasarkan kurva, didapatkan persamaan linier sebagai berikut : $y = 6.382x + 19.49$ dengan $R^2 = 0.9988$. Kemudian IC₅₀ asam askorbat dicari dengan menggunakan persamaan linier tersebut (Gambar 4.2). Sehingga diperoleh IC₅₀ sebesar 4.78 µg/mL (Tabel 4.2).

4.2.3 Uji Ekstrak Buah Kranberi

Tabel 4.3 Hasil Hitung Persentase Inhibisi dan IC₅₀ Berdasarkan Konsentrasi Sampel

| Konsentrasi (µg/mL) | Persentase Inhibisi (%) | IC ₅₀ (µg/mL) |
|---------------------|-------------------------|--------------------------|
| 10 | 12.45 | |
| 30 | 31.91 | |
| 50 | 63.23 | 49.76 |
| 70 | 66.93 | |
| 90 | 76.46 | |

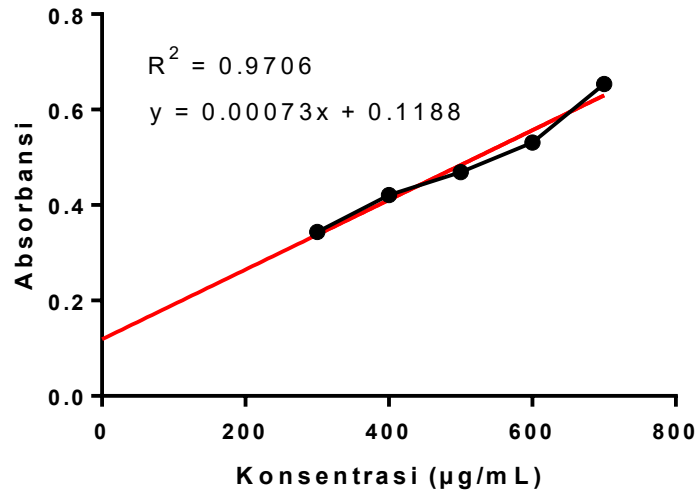


Gambar 4.2 Kurva Persentase Inhibisi Ekstrak Buah Kranberi

Berdasarkan kurva, didapatkan persamaan linier sebagai berikut : $y = 0.8152x + 9.436$ dengan $R^2 = 0.917$. Kemudian IC₅₀ buah Kranberi dicari dengan menggunakan persamaan linier tersebut (Gambar 4.1). Sehingga diperoleh IC₅₀ sebesar 49.76 µg/mL (Tabel 4.3).

4.3 Pengukuran Kadar Fenolik Ekstrak Buah Kranberi dengan Metode Singleton dan Rossi

Berdasarkan kurva standar, didapatkan persamaan linier : $y = 0.00073x + 0.1188$ dengan $R^2 = 0.9706$ (Gambar 4.3). Persamaan linier tersebut kemudian digunakan untuk menghitung kadar fenolik ekstrak buah Kranberi.



Gambar 4.3 Kurva Standar Tanin

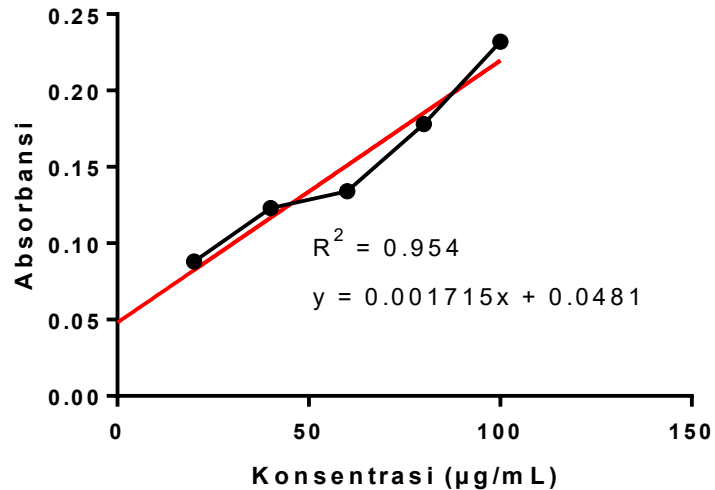
Absorbansi sampel dimasukkan ke persamaan linier sebagai y, sedangkan kadar fenolik sebagai x. Sehingga didapatkan kadar fenolik sebesar 351.64 µg/mL. (Tabel 4.4).

Tabel 4.4 Kadar Fenolik Ekstrak Buah Kranberi

| Sampel | Absorbansi | Rata-rata Absorbansi | Kadar (µg/mL) |
|--------|------------|----------------------|---------------|
| I | 0.374 | 0.3755 | 351.64 |
| II | 0.377 | | |

4.4 Pengukuran Kadar Alkaloid ekstrak buah Kranberi dengan Metode Trivedi

Berdasarkan kurva standar, didapatkan persamaan linier : $y = 0.001715x + 0.0481$ dengan $R^2 = 0.954$ (Gambar 4.4). Persamaan linier tersebut kemudian digunakan untuk menghitung kadar alkaloid ekstrak buah Kranberi.



Gambar 4.4 Kurva Standar Berberine Chloride

Absorbansi sampel dimasukkan ke persamaan linier sebagai y , sedangkan kadar alkaloid sebagai x . Sehingga didapatkan kadar alkaloid sebesar $65.54 \mu\text{g/mL}$. (Tabel 4.5).

Tabel 4.5 Kadar Alkaloid Ekstrak Buah Kranberi

| Sampel | Absorbansi | Rata-rata Absorbansi | Kadar ($\mu\text{g/mL}$) |
|--------|------------|----------------------|----------------------------|
| I | 0.151 | 0.1605 | 65.54 |
| II | 0.170 | | |

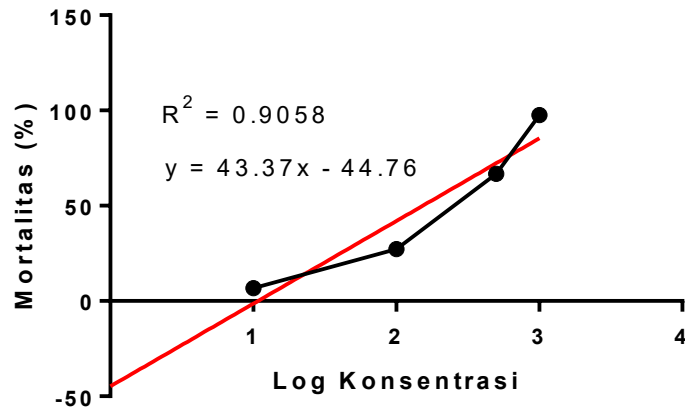
4.5 Pengukuran Toksisitas Ekstrak Buah Kranberi dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Berdasarkan pemeriksaan yang dilakukan dengan konsentrasi ekstrak yang telah ditentukan, diperoleh data angka mortalitas dari *Artemia Salina* (Tabel 4.6). Kemudian dibuat kurva angka mortalitas *Artemia Salina* terhadap konsentrasi ekstrak buah Kranberi dalam bentuk logaritma.

Tabel 4.6 Angka Mortalitas (%) Larva *Artemia Salina* pada Setiap Konsentrasi Ekstrak Buah Kranberi

| Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$) | Log Konsentrasi | Angka Mortalitas (%) | LC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$) |
|-------------------------------------|-----------------|-------------------------|---------------------------------------|
| 10 | 1 | 6.82 | 153.08 |
| 100 | 2 | 27.27 | |
| 500 | 2.70 | 66.67 | |
| 1000 | 3 | 97.50 | |

Diperoleh persamaan linier dari kurva angka mortalitas *Artemia Salina* terhadap konsentrasi ekstrak buah Kranberi dalam bentuk logaritma sebagai berikut : $y = 43.37x - 44.76$ dan $R^2 = 0.9058$. Kemudian persamaan linier tersebut digunakan untuk menghitung *Lethality Concentration 50* (LC₅₀) dari ekstrak buah Kranberi dalam bentuk logaritma. Sehingga dilakukan antilog pada LC₅₀ dan didapatkan sebesar 153.08 $\mu\text{g/mL}$ (Gambar 4.5).



Gambar 4.5 Angka Mortalitas Artemia Salina Terhadap Konsentrasi Ekstrak Buah Kranberi

4.6 Aktivitas Spesifik Katalase dengan Metode Mates

4.6.1 Penetapan Waktu dan Pengenceran Optimal

4.6.1.1 Optimasi Darah Uji dan Kontrol

Dari hasil optimasi darah uji dan kontrol, diperoleh kecepatan reaksi tertinggi pada konsentrasi dengan pengenceran sebanyak 5x dan waktu optimal pada menit ke-5 (Tabel 4.7 dan 4.8)

Tabel 4.7 Hasil Pengenceran 5x Darah Uji

| T | Absorbansi Blanko | Absorbansi Uji | Δ Abs Blanko | Δ Abs Uji | Δ Abs (AbsU-AbsB) | Δ V |
|----|-------------------|----------------|---------------------|------------------|--------------------------|------------|
| 1 | 0.706 | 0.620 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.0000 |
| 2 | 0.705 | 0.612 | 0.001 | 0.008 | 0.007 | 0.0070 |
| 3 | 0.705 | 0.605 | 0.001 | 0.015 | 0.014 | 0.0070 |
| 4 | 0.705 | 0.597 | 0.001 | 0.023 | 0.022 | 0.0073 |
| 5 | 0.705 | 0.590 | 0.001 | 0.030 | 0.029 | 0.0073 |
| 6 | 0.705 | 0.584 | 0.001 | 0.036 | 0.035 | 0.0070 |
| 7 | 0.705 | 0.578 | 0.001 | 0.042 | 0.041 | 0.0068 |
| 8 | 0.705 | 0.571 | 0.001 | 0.049 | 0.048 | 0.0069 |
| 9 | 0.705 | 0.566 | 0.001 | 0.054 | 0.053 | 0.0066 |
| 10 | 0.706 | 0.560 | 0.000 | 0.060 | 0.060 | 0.0067 |

Tabel 4.8 Hasil Pengenceran 5x Darah Kontrol

| T | Absorbansi Blanko | Absorbansi Uji | Δ Abs Blanko | Δ Abs Uji | Δ Abs (AbsU- AbsB) | ΔV |
|----|----------------------|-------------------|------------------------|---------------------|---------------------------------|------------|
| 1 | 0.706 | 0.583 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.0000 |
| 2 | 0.705 | 0.576 | 0.001 | 0.007 | 0.006 | 0.0060 |
| 3 | 0.705 | 0.558 | 0.001 | 0.025 | 0.024 | 0.0120 |
| 4 | 0.705 | 0.542 | 0.001 | 0.041 | 0.040 | 0.0133 |
| 5 | 0.705 | 0.528 | 0.001 | 0.055 | 0.054 | 0.0135 |
| 6 | 0.705 | 0.518 | 0.001 | 0.065 | 0.064 | 0.0128 |
| 7 | 0.705 | 0.511 | 0.001 | 0.072 | 0.071 | 0.0118 |
| 8 | 0.705 | 0.502 | 0.001 | 0.081 | 0.080 | 0.0114 |
| 9 | 0.705 | 0.490 | 0.001 | 0.093 | 0.092 | 0.0115 |
| 10 | 0.706 | 0.481 | 0.000 | 0.102 | 0.102 | 0.0113 |

4.6.1.2 Optimasi Organ Paru Uji dan Kontrol

Berdasarkan hasil optimasi organ paru uji yang didapatkan, kecepatan reaksi tertinggi pada konsentrasi dengan pengenceran sebanyak 10x dan waktu optimal pada menit ke-3. Sedangkan pada optimasi organ paru kontrol, kecepatan reaksi tertinggi pada konsentrasi dengan pengenceran sebanyak 10x dan waktu optimal pada menit ke-2 (Tabel 4.9 dan 4.10)

Tabel 4.9 Hasil Pengenceran 10x Organ Paru Uji

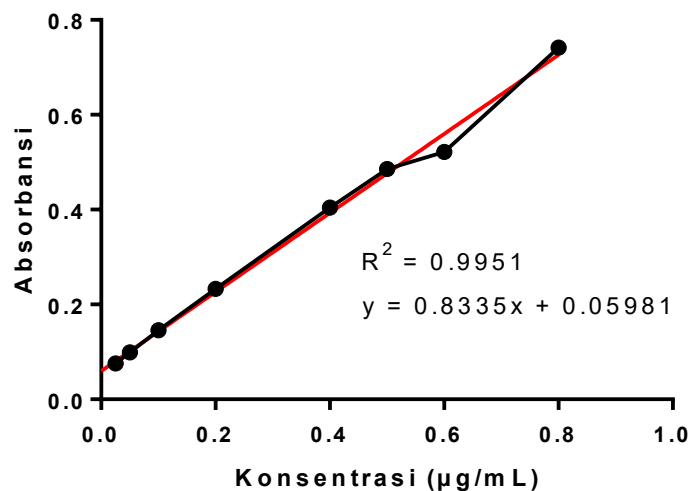
| T | Absorbansi Blanko | Absorbansi Uji | Δ Abs Blanko | Δ Abs Uji | Δ Abs (AbsU- AbsB) | ΔV |
|----|----------------------|-------------------|------------------------|---------------------|---------------------------------|------------|
| 1 | 0.706 | 1.482 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.0000 |
| 2 | 0.705 | 1.469 | 0.001 | 0.013 | 0.012 | 0.0120 |
| 3 | 0.705 | 1.456 | 0.001 | 0.026 | 0.025 | 0.0125 |
| 4 | 0.705 | 1.445 | 0.001 | 0.037 | 0.036 | 0.0120 |
| 5 | 0.705 | 1.433 | 0.001 | 0.049 | 0.048 | 0.0120 |
| 6 | 0.705 | 1.422 | 0.001 | 0.060 | 0.059 | 0.0118 |
| 7 | 0.705 | 1.412 | 0.001 | 0.070 | 0.069 | 0.0115 |
| 8 | 0.705 | 1.402 | 0.001 | 0.080 | 0.079 | 0.0113 |
| 9 | 0.705 | 1.393 | 0.001 | 0.089 | 0.088 | 0.0110 |
| 10 | 0.706 | 1.385 | 0.000 | 0.097 | 0.097 | 0.0108 |

Tabel 4.10 Hasil Pengenceran 10x Organ Paru Kontrol

| T | Absorbansi Blanko | Absorbansi Uji | Δ Abs Blanko | Δ Abs Uji | Δ Abs (AbsU- AbsB) | ΔV |
|----|----------------------|-------------------|------------------------|---------------------|---------------------------------|------------|
| 1 | 0.706 | 1.048 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.0000 |
| 2 | 0.705 | 1.027 | 0.001 | 0.021 | 0.020 | 0.0200 |
| 3 | 0.705 | 1.009 | 0.001 | 0.039 | 0.038 | 0.0190 |
| 4 | 0.705 | 0.990 | 0.001 | 0.058 | 0.057 | 0.0190 |
| 5 | 0.705 | 0.973 | 0.001 | 0.075 | 0.074 | 0.0185 |
| 6 | 0.705 | 0.957 | 0.001 | 0.091 | 0.090 | 0.0180 |
| 7 | 0.705 | 0.943 | 0.001 | 0.105 | 0.104 | 0.0173 |
| 8 | 0.705 | 0.930 | 0.001 | 0.118 | 0.117 | 0.0167 |
| 9 | 0.705 | 0.918 | 0.001 | 0.130 | 0.129 | 0.0161 |
| 10 | 0.706 | 0.908 | 0.000 | 0.140 | 0.140 | 0.0156 |

4.6.2 Penetapan Kurva Standar Protein

Dari kurva standar *Bovine Serum Albumin* (BSA), diperoleh persamaan linier sebagai berikut : $y = 0.8335x + 0.05981$ dengan $R^2 = 0.9951$ (Gambar 4.6).



Gambar 4.6 Kurva Standar *Bovine Serum Albumin* (BSA)

4.6.3 Pengukuran Kadar Protein Sampel

Absorbansi yang didapat merupakan nilai y pada persamaan linier yang didapatkan, sedangkan nilai x merupakan kadar dari sampel yang diuji.

4.6.3.1 Kadar Protein Darah

Absorbansi protein darah tiap perlakuan didapatkan setelah dilakukan pengenceran sebanyak 200x, yang kemudian dimasukkan ke persamaan linier untuk mendapatkan kadar protein darah (Tabel 4.11 dan Tabel 4.12).

Tabel 4.11 Kadar Protein Darah Uji pada Perlakuan Normoksia, Hipoksia 1 Hari, 7 Hari dan 14 Hari

| Perlakuan Hipoksia | Rata-rata Kadar Protein ($\mu\text{g/mL}$) |
|--------------------|--|
| Normoksia | 0.45 ± 0.093 |
| Hipoksia 1 hari | 0.34 ± 0.097 |
| Hipoksia 7 hari | 0.48 ± 0.026 |
| Hipoksia 14 hari | 0.42 ± 0.104 |

Keterangan : \pm Standar Deviasi

Tabel 4.12 Kadar Protein Darah Kontrol pada Perlakuan Normoksia, Hipoksia 1 Hari, 7 Hari dan 14 Hari

| Perlakuan Hipoksia | Rata-rata Kadar Protein ($\mu\text{g/mL}$) |
|--------------------|--|
| Normoksia | 0.52 ± 0.178 |
| Hipoksia 1 hari | 0.30 ± 0.057 |
| Hipoksia 7 hari | 0.40 ± 0.056 |
| Hipoksia 14 hari | 0.40 ± 0.044 |

Keterangan : \pm Standar Deviasi

4.6.3.2 Kadar Protein Organ Paru

Absorbansi protein organ paru tiap perlakuan didapatkan setelah dilakukan pengenceran sebanyak 100x, yang kemudian dimasukkan ke persamaan linier untuk mendapatkan kadar protein organ paru (Tabel 4.13 dan Tabel 4.14).

Tabel 4.13 Kadar Protein Organ Paru Uji pada Perlakuan Normoksia, Hipoksia 1 Hari, 7 Hari dan 14 Hari

| Perlakuan Hipoksia | Rata-rata Kadar Protein ($\mu\text{g/mL}$) |
|--------------------|--|
| Normoksia | 25.19 ± 2.605 |
| Hipoksia 1 hari | 18.90 ± 1.304 |
| Hipoksia 7 hari | 14.94 ± 1.999 |
| Hipoksia 14 hari | 15.90 ± 0.833 |

Keterangan : \pm Standar Deviasi

Tabel 4.14 Kadar Protein Organ Paru Kontrol pada Perlakuan Normoksia, Hipoksia 1 Hari, 7 Hari dan 14 Hari

| Perlakuan Hipoksia | Rata-rata Kadar Protein ($\mu\text{g/mL}$) |
|--------------------|--|
| Normoksia | 22.49 ± 7.435 |
| Hipoksia 1 hari | 23.54 ± 5.810 |
| Hipoksia 7 hari | 23.84 ± 2.467 |
| Hipoksia 14 hari | 28.94 ± 5.418 |

Keterangan : \pm Standar Deviasi

4.6.4 Penetapan Aktivitas Spesifik Enzim Katalase

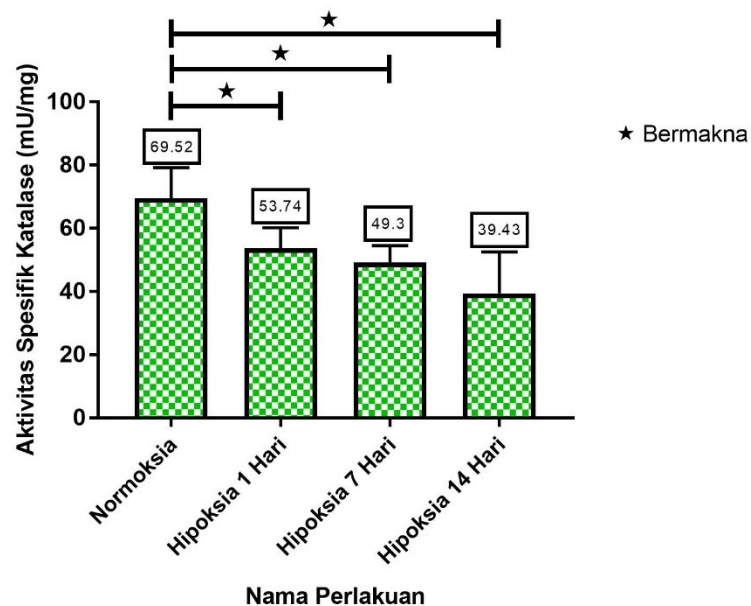
4.6.4.1 Aktivitas Spesifik Katalase Darah

Aktivitas spesifik katalase darah dibagi berdasarkan 2 kelompok, yakni kelompok yang diberikan ekstrak buah Kranberi (Uji) (Tabel 4.15 dan Gambar 4.7) dan tidak diberikan ekstrak buah Kranberi (Kontrol) (Tabel 4.16 dan Gambar 4.8)

Tabel 4.15 Aktivitas Spesifik Katalase Darah Uji pada Perlakuan Normoksia, Hipoksia 1 Hari, 7 Hari dan 14 Hari

| Perlakuan Hipoksia | Rata-rata Aktivitas Spesifik Katalase (mU/mg protein) |
|--------------------|--|
| Normoksia | 69.52 ± 9.73 |
| Hipoksia 1 hari | 53.74 ± 6.49 |
| Hipoksia 7 hari | 49.30 ± 5.23 |
| Hipoksia 14 hari | 39.43 ± 13.10 |

Keterangan : ± Standar Deviasi



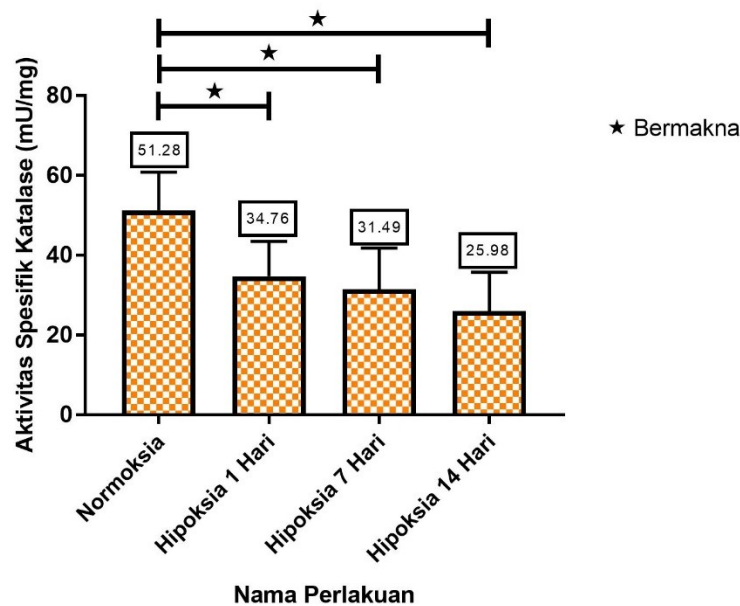
Gambar 4.7 Aktivitas Spesifik Katalase Darah Uji pada Perlakuan Normoksia, Hipoksia 1 Hari, 7 Hari dan 14 Hari

Angka tertinggi ada pada perlakuan normoksia, yaitu 69.52 mU/mg protein, sedangkan angka terendah ada pada perlakuan hipoksia 14 hari, yaitu 39.43 mU/mg protein (Tabel 4.15). Dari hasil uji statistik menggunakan metode *t-test*, terdapat penurunan bermakna pada aktivitas spesifik enzim katalase darah uji perlakuan normoksia yang dibandingkan dengan perlakuan hipoksia 1 hari, 7 hari, maupun 14 hari ($p < 0.05$) (Gambar 4.7).

Tabel 4.16 Aktivitas Spesifik Katalase Darah Kontrol pada Perlakuan Normoksia, Hipoksia 1 Hari, 7 Hari dan 14 Hari

| Perlakuan Hipoksia | Rata-rata Aktivitas Spesifik Katalase (mU/mg protein) |
|--------------------|--|
| Normoksia | 51.28 ± 9.56 |
| Hipoksia 1 hari | 34.76 ± 8.73 |
| Hipoksia 7 hari | 31.49 ± 10.36 |
| Hipoksia 14 hari | 25.98 ± 9.76 |

Keterangan : ± Standar Deviasi



Gambar 4.8 Aktivitas Spesifik Katalase Darah Kontrol pada Perlakuan Normoksia, Hipoksia 1 Hari, 7 Hari dan 14 Hari

Angka tertinggi ada pada perlakuan normoksia, yaitu 51.28 mU/mg protein, sedangkan angka terendah ada pada perlakuan hipoksia 14 hari, yaitu 25.98 mU/mg protein (Tabel 4.16). Dari hasil uji statistik menggunakan metode *t-test*, terdapat penurunan bermakna pada aktivitas spesifik enzim katalase darah kontrol perlakuan

normoksia yang dibandingkan dengan perlakuan hipoksia 1 hari, 7 hari, maupun 14 hari ($p < 0.05$) (Gambar 4.8).

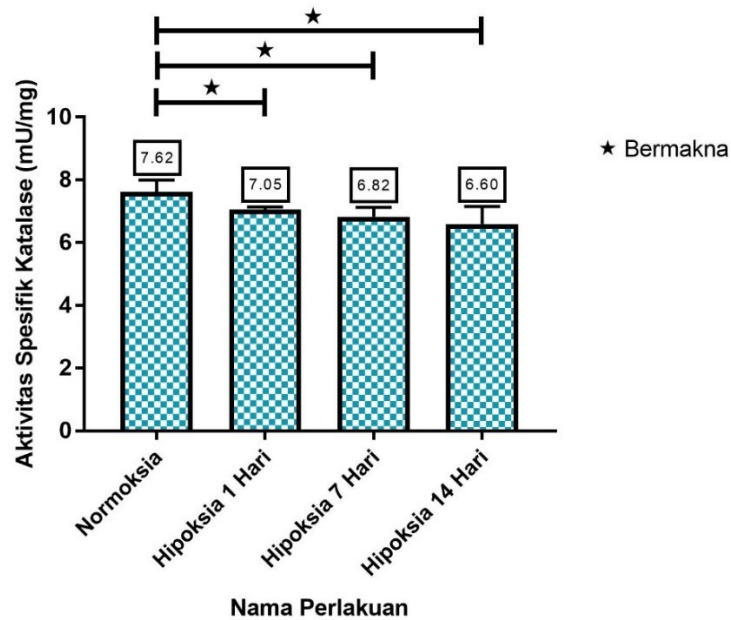
4.6.4.2 Aktivitas Spesifik Katalase Organ Paru

Aktivitas spesifik katalase organ paru dibagi berdasarkan 2 kelompok, yakni kelompok yang diberikan ekstrak buah Kranberi (Uji) (Tabel 4.17 dan Gambar 4.9) dan tidak diberikan ekstrak buah Kranberi (Kontrol) (Tabel 4.18 dan Gambar 4.10)

Tabel 4.17 Aktivitas Spesifik Katalase Paru Uji pada Perlakuan Normoksia, Hipoksia 1 Hari, 7 Hari dan 14 Hari

| Perlakuan Hipoksia | Rata-rata Aktivitas Spesifik Katalase (mU/mg protein) |
|--------------------|--|
| Normoksia | 7.62 ± 0.38 |
| Hipoksia 1 hari | 7.05 ± 0.08 |
| Hipoksia 7 hari | 6.82 ± 0.30 |
| Hipoksia 14 hari | 6.60 ± 0.56 |

Keterangan : ± Standar Deviasi



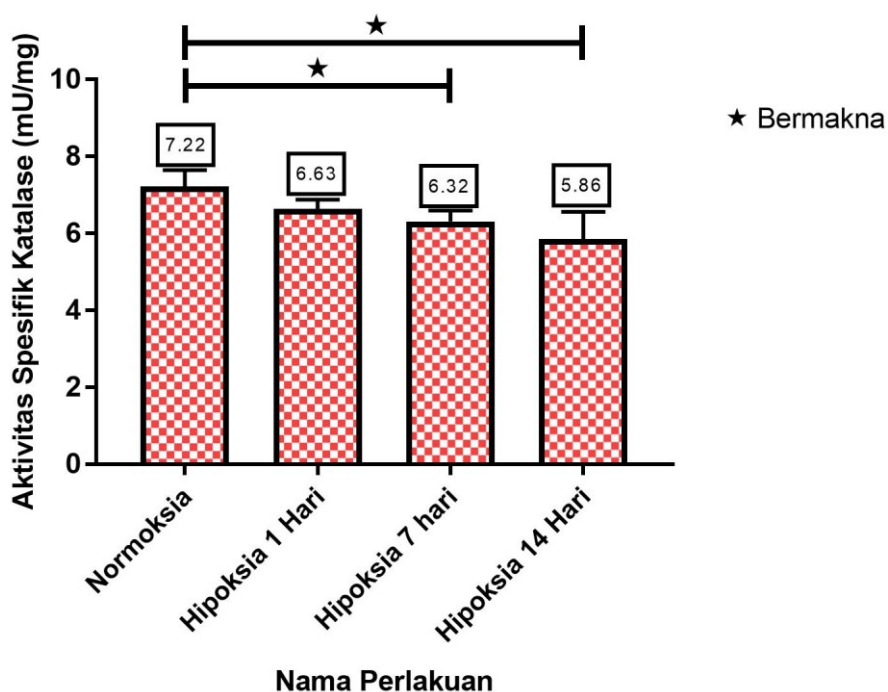
Gambar 4.9 Aktivitas Spesifik Katalase Paru Uji pada Perlakuan Normoksia, Hipoksia 1 Hari, 7 Hari dan 14 Hari

Angka tertinggi ada pada perlakuan normoksia, yaitu 7.62 mU/mg protein, sedangkan angka terendah ada pada perlakuan hipoksia 14 hari, yaitu 6.60 mU/mg protein (Tabel 4.17). Dari hasil uji statistik menggunakan metode *t-test*, terdapat penurunan bermakna aktivitas spesifik enzim katalase paru uji pada semua perlakuan yang dibandingkan, yaitu antara normoksia dengan hipoksia 1 hari, hipoksia 7 hari dan 14 hari ($p < 0.05$) (Gambar 4.9).

Tabel 4.18 Aktivitas Spesifik Katalase Paru Kontrol pada Perlakuan Normoksia, Hipoksia 1 Hari, 7 Hari dan 14 Hari

| Perlakuan Hipoksia | Rata-rata Aktivitas Spesifik Katalase (mU/mg protein) |
|--------------------|--|
| Normoksia | 7.22 ± 0.42 |
| Hipoksia 1 hari | 6.63 ± 0.25 |
| Hipoksia 7 hari | 6.32 ± 0.28 |
| Hipoksia 14 hari | 5.86 ± 0.70 |

Keterangan : ± Standar Deviasi



Gambar 4.10 Aktivitas Spesifik Katalase Paru Kontrol pada Perlakuan Normoksia, Hipoksia 1 Hari, 7 Hari dan 14 Hari

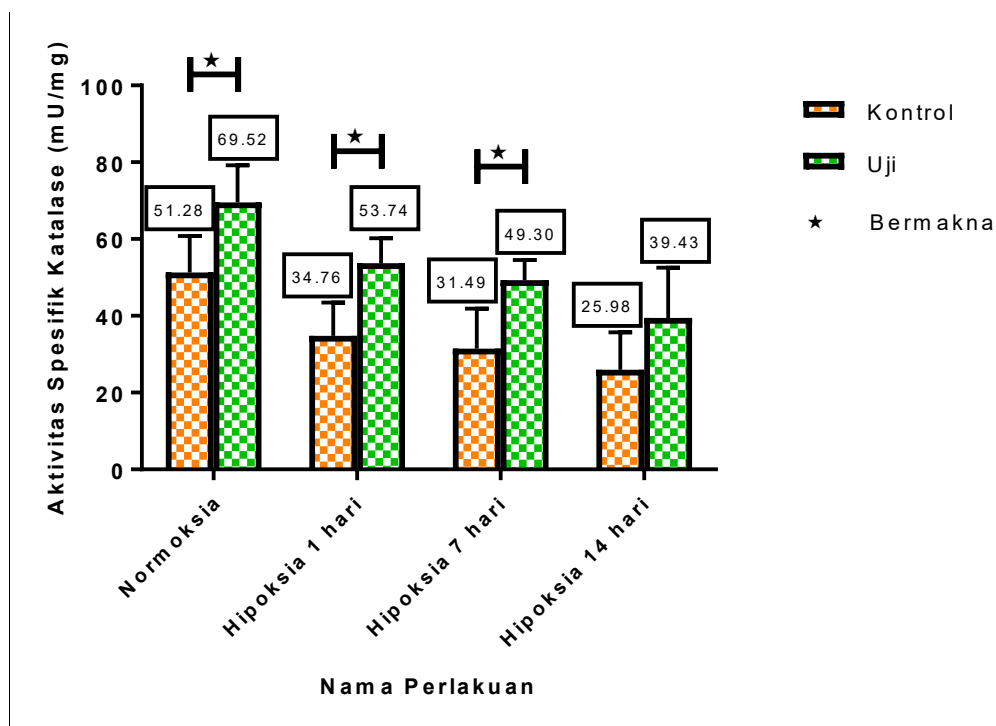
Angka tertinggi ada pada perlakuan normoksia, yaitu 7.22 mU/mg protein, sedangkan angka terendah ada pada perlakuan hipoksia 14 hari, yaitu 5.86 mU/mg protein (Tabel 4.18). Dari hasil uji statistik menggunakan metode *t-test*, terdapat penurunan bermakna pada aktivitas spesifik enzim katalase darah kontrol perlakuan normoksia yang dibandingkan dengan perlakuan hipoksia 7 hari dan 14 hari ($p < 0.05$),

sedangkan penurunan tidak bermakna antara perlakuan normoksia dengan hipoksia 1 hari ($p > 0.05$) (Gambar 4.10).

4.6.5 Perbandingan Aktivitas Spesifik Katalase Uji dan Kontrol

4.6.5.1 Perbandingan Aktivitas Spesifik Katalase Darah

Aktivitas spesifik katalase darah antara dua kelompok, yaitu kelompok yang diberikan ekstrak buah Kranberi (Uji) dan yang tidak diberikan (Kontrol) dibandingkan dengan uji statistik metode *t-test*.



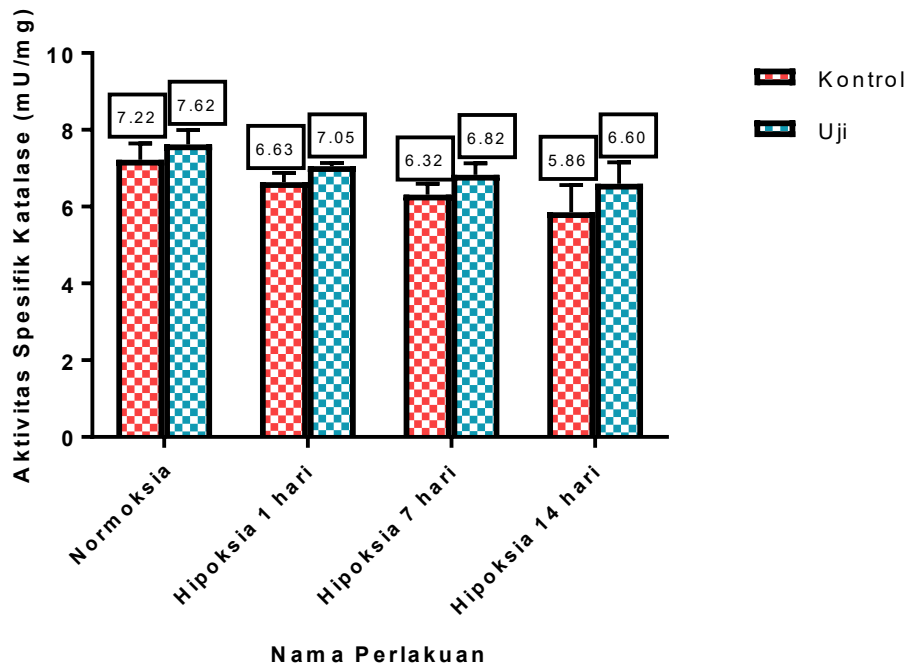
Gambar 4.11 Aktivitas Katalase Darah Uji dan Kontrol pada Perlakuan Normoksia, Hipoksia 1 Hari, 7 Hari dan 14 Hari

Angka aktivitas spesifik enzim katalase pada darah uji lebih tinggi dibandingkan kontrol pada semua perlakuan (Gambar 4.11). Didapatkan perbedaan yang tidak bermakna pada perlakuan hipoksia 14 hari uji dan kontrol ($p > 0.05$). Sedangkan perbedaan yang bermakna pada perlakuan normoksia uji dan kontrol, hipoksia 1 hari

uji dan kontrol, serta hipoksia 7 hari uji dan kontrol ($p < 0.05$) yang dibandingkan dengan uji statistik.

4.6.5.2 Perbandingan Aktivitas Spesifik Katalase Organ Paru

Aktivitas spesifik katalase organ paru antara dua kelompok, yaitu kelompok yang diberikan ekstrak buah Kranberi (Uji) dan yang tidak diberikan (Kontrol) dibandingkan dengan uji statistik metode *t-test*.



Gambar 4.12 Aktivitas Katalase Paru Uji dan Kontrol pada Perlakuan Normoksia, Hipoksia 1 Hari, 7 Hari dan 14 Hari

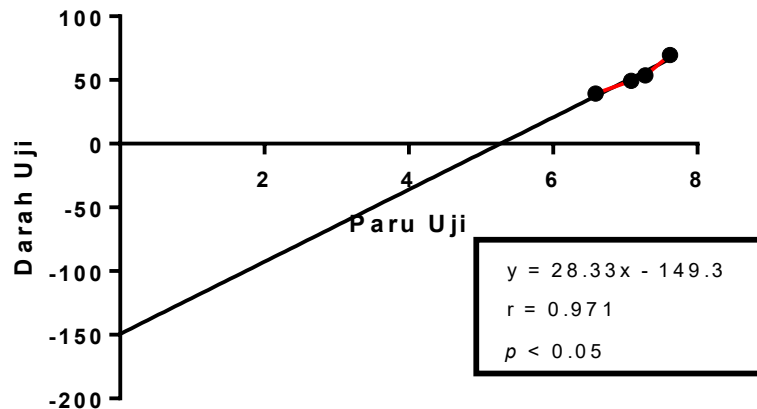
Angka aktivitas spesifik enzim katalase pada organ paru uji lebih tinggi dibandingkan kontrol pada semua kelompok perlakuan (Gambar 4.12). Tidak didapatkan perbedaan yang bermakna pada semua perlakuan yang dibandingkan dengan uji statistik, yaitu normoksia uji dan kontrol, hipoksia 1 hari uji dan kontrol, hipoksia 7 hari uji dan kontrol, serta hipoksia 14 hari uji dan kontrol ($p > 0.05$).

4.6.6 Uji Korelasi Aktivitas Spesifik Katalase pada Darah dan Organ Paru

Untuk menentukan korelasi dari aktivitas spesifik katalase pada darah dan organ paru, digunakan uji statistik dengan metode *Pearson's Correlation Coefficient*. Dalam hal ini, terdapat dua kelompok yang diuji, yaitu kelompok yang diberikan ekstrak Kranberi (Uji) dan yang tidak diberikan (Kontrol).

4.6.6.1 Uji Korelasi Aktivitas Spesifik Katalase Organ Paru dan Darah Uji

Berdasarkan hasil aktivitas spesifik enzim katalase organ paru dan darah uji, didapatkan angka aktivitas spesifik yang lebih tinggi pada darah uji dibandingkan dengan pada organ paru uji pada semua perlakuan (Gambar 4.13).

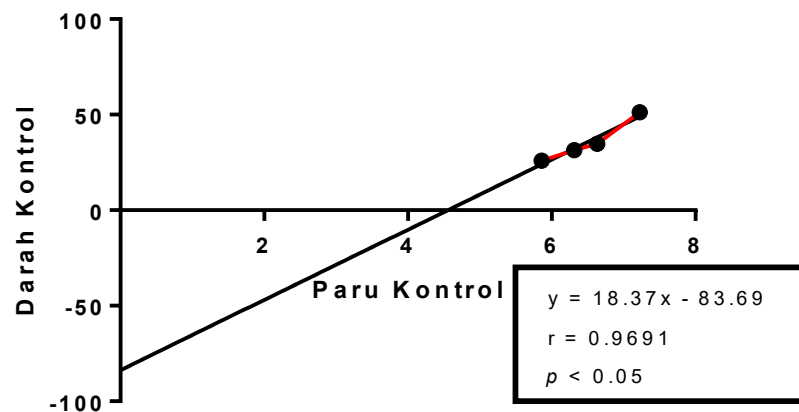


Gambar 4.13 Uji Statistik Aktivitas Spesifik Katalase Paru dan Darah Uji pada Perlakuan Normoksia, Hipoksia 1 Hari, 7 Hari dan 14 Hari

Dari uji statistik dengan metode *Pearson's Correlation Coefficient*, didapatkan hasil korelasi antara aktivitas spesifik katalase organ paru dan darah uji ($y = 28.33x - 149.3$, $r = 0.971$ dan $p < 0.05$).

4.6.6.2 Uji Korelasi Aktivitas Spesifik Katalase Organ Paru dan Darah Kontrol

Berdasarkan hasil aktivitas spesifik enzim katalase organ paru dan darah kontrol, didapatkan angka aktivitas spesifik yang lebih tinggi pada darah kontrol dibandingkan dengan pada organ paru kontrol pada semua kelompok perlakuan (Gambar 4.14).

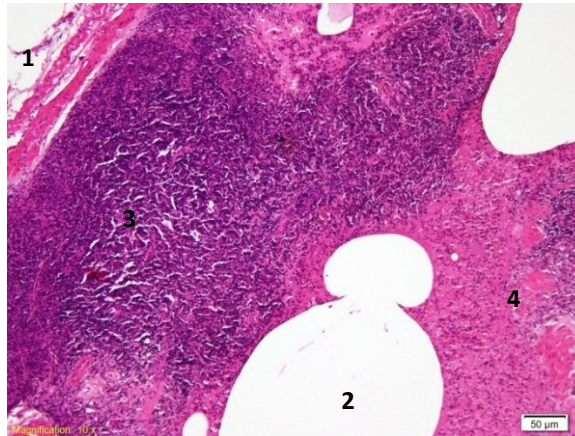


Gambar 4.14 Uji Statistik Aktivitas Spesifik Katalase Paru dan Darah Kontrol pada Perlakuan Normoksia, Hipoksia 1 Hari, 7 Hari dan 14 Hari

Dari hasil uji statistik dengan metode *Pearson's Correlation Coefficient*, didapatkan hasil korelasi antara aktivitas spesifik katalase organ paru dan darah kontrol ($y = 18.37x - 83.69$, $r = 0.9691$ dan $p < 0.05$).

4.7 Histopatologi Paru

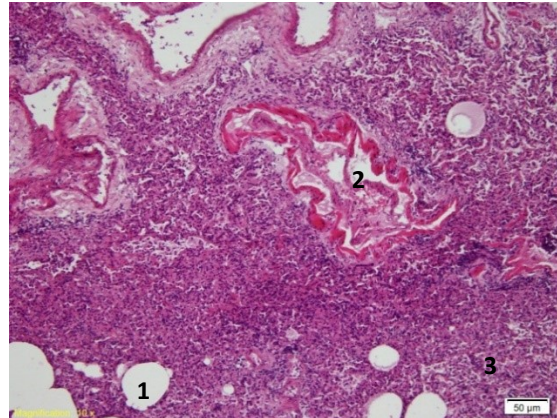
Dari hasil pemeriksaan mikroskopik organ paru, didapatkan gambaran organ paru kelompok kontrol perlakuan hipoksia 14 hari (Gambar 4.15) dan uji perlakuan hipoksia 14 hari (Gambar 4.16). Gambaran histopatologi paru ini diperiksa oleh : Dr. drh. Yulvian Sani.



Gambar 4.15 Gambaran Histopatologi Paru Kontrol Hipoksia 14 Hari dengan Pewarnaan HE x100.

Keterangan Gambar : (1) Bronkeolus, (2) Alveolus, (3) Akumulasi sel mononuklear dan (4) Pneumonia.

Pada kelompok kontrol perlakuan hipoksia 14 hari didapatkan gambaran alveolus yang melebar, pneumonia dan infiltrasi sel mononuklear (limfosit dan makrofag) di peribronkial (Gambar 4.15).



Gambar 4.16 Gambaran Histopatologi Paru Uji Hipoksia 14 Hari dengan Pewarnaan HE x100.

Keterangan Gambar : (1) Alveolus, (2) Bronkeolus dan (3) Pneumonia.

Pada kelompok uji perlakuan hipoksia 14 hari hanya didapatkan gambaran pneumonia (Gambar 4.16).

BAB 5

PEMBAHASAN

5.1 Hasil Uji Fitokimia

Uji fitokimia pada buah Kranberi berdasarkan Harborne²⁴ ini digunakan untuk mengetahui adanya senyawa antioksidan pada buah Kranberi. Dari hasil uji kualitatif tersebut menunjukkan, terdapat beberapa senyawa seperti *alkaloids, anthocyanin* dan *betacyanin, cardio glycosides, coumarins, flavonoids, glycosides, phenolics, quinones, steroids, saponins, terpenoids dan tannins*. Hasil ini diperkuat oleh penelitian yang telah dilakukan oleh peneliti lain³⁰⁻³². Selain sebagai antioksidan, buah Kranberi juga berfungsi untuk mencegah penyakit kardiovaskular, antiinflamasi dan antikanker seperti pada penelitian yang dilakukan Skrovankova *et al.*³³.

5.2 Hasil Uji Kapasitas Antioksidan

Hasil yang diperoleh untuk IC₅₀ asam askorbat adalah sebesar 4.78 µg/mL, sedangkan IC₅₀ buah Kranberi adalah sebesar 49.76 µg/mL. Dari hasil tersebut diketahui bahwa IC₅₀ asam askorbat lebih rendah dibandingkan IC₅₀ buah Kranberi, sehingga asam askorbat lebih efektif dalam mengikat radikal bebas. Kemampuan ini yang menjadikan asam askorbat sebagai standar antioksidan. Walaupun lebih rendah dari asam askorbat, kapasitas antioksidan buah Kranberi ini termasuk sangat kuat berdasarkan interpretasi IC₅₀ pada penelitian Tristantini *et al.*³⁴, yaitu IC₅₀ < 50 µg/mL mempunyai sifat antioksidan sangat kuat, IC₅₀ = 50-100 µg/mL mempunyai sifat antioksidan kuat, IC₅₀ = 100-150 µg/mL mempunyai sifat antioksidan sedang dan IC₅₀ = 150-200 µg/mL mempunyai sifat antioksidan lemah. Selain itu, hasil kapasitas antioksidan tersebut lebih kuat jika dibandingkan dengan penelitian lain seperti yang dilakukan oleh Ma *et al.*³⁵, yang mendapatkan IC₅₀ buah Kranberi sebesar 392.60 µg/mL dan IC₅₀ asam askorbat sebesar 12.30 µg/mL.

5.3 Hasil Perhitungan Kadar Fenolik

Pada perhitungan kadar fenolik dengan menggunakan metode Singleton dan Rossi,²⁶ diperoleh kadar fenolik pada buah Kranberi sebesar 351.64 $\mu\text{g/mL}$. Berdasarkan penelitian yang dilakukan Shukitt-hale,³⁶ kadar fenolik yang ia dapatkan sebesar 3.6 mg/L atau 3600 $\mu\text{g/mL}$. Perbedaan hasil yang besar tersebut kemungkinan karena perbedaan *buffer* dan cara kerja yang dipakai. Namun walaupun lebih rendah, menurut Kylli *et al.*³⁷ senyawa fenolik utama seperti *proanthocyanidins* mempunyai efek antimikroba terhadap *Staphylococcus aureus* dan juga antiinflamasi karena dapat menghambat produksi NO (*Nitric Oxide*) yang diinduksi lipopolisakarida yang tergantung konsentrasi. Pada konsentrasi 100 $\mu\text{g/mL}$, fenolik dikatakan dapat menghambat produksi IL (*Interleukin*)-6, IL-1 β dan TNF (*Tumor Necrosis Factor*)- α yang diinduksi lipopolisakarida.

5.4 Hasil Perhitungan Kadar Alkaloid

Pada perhitungan kadar alkaloid dengan menggunakan metode Trivedi,²⁷ diperoleh kadar alkaloid pada buah Kranberi sebesar 65.54 $\mu\text{g/mL}$. Hasil ini menunjukkan adanya potensi antioksidan dari senyawa alkaloid pada buah Kranberi. Namun selain sebagai antioksidan, senyawa alkaloid pada buah Kranberi juga berperan sebagai antimikroba seperti pada penelitian Khan *et al.*³², terutama terhadap *Saccharomyces bayanus* dan *Pseudomonas fluorescen*.

5.5 Hasil Uji Toksisitas

Pada uji toksisitas dengan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) digunakan nilai LC_{50} sebagai patokan. Berdasarkan kriteria Meyer, $LC_{50} < 1000 \mu\text{g/mL}$ dikatakan toksik, sedangkan $LC_{50} > 1000 \mu\text{g/mL}$ dikatakan nontoksik.^{38,39} Sedangkan pada kriteria Clarkson, terdapat klasifikasi yang lebih detail yaitu $LC_{50} > 1000 \mu\text{g/mL}$ dikatakan nontoksik, $LC_{50} = 500-1000 \mu\text{g/mL}$ dikatakan toksik rendah, $LC_{50} = 100-500 \mu\text{g/mL}$ dikatakan toksik sedang dan $LC_{50} = 0-100 \mu\text{g/mL}$ dikatakan toksik tinggi.³⁸⁻⁴⁰ LC_{50} Kranberi yang didapatkan pada penelitian ini adalah sebesar 153,08 $\mu\text{g/mL}$, sehingga termasuk dalam klasifikasi toksik berdasarkan kriteria Meyer dan toksik

sedang berdasarkan kriteria Clarkson. Hasil BSLT diketahui dapat menjadi salah satu metode penapisan untuk mendapatkan senyawa antikanker dari tanaman, yang artinya semakin kecil LC_{50} yang didapatkan, maka semakin tinggi tingkat toksisitas metabolit sekunder tanaman tersebut secara BSLT, sehingga berpotensi sebagai antikanker.^{38,41} Hal ini sejalan dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Singh *et al.*,⁴² yaitu terdapat senyawa *proanthocyanidins* yang bersifat sitotoksik terhadap sel kanker ovarium, sel kanker prostat, maupun sel neuroblastoma.

5.6 Hasil Uji Aktivitas Spesifik Enzim Katalase

Berdasarkan hasil aktivitas spesifik katalase organ paru dan darah baik uji maupun kontrol, terjadi penurunan seiring bertambah lamanya perlakuan hipoksia. Hal ini menunjukkan peningkatan radikal bebas yang terjadi akibat hipoksia menyebabkan kematian banyak sel. Sel-sel yang mati tidak dapat menghasilkan enzim katalase yang harusnya berperan sebagai salah satu antioksidan yang mengatasi radikal bebas akibat hipoksia. Sehingga dapat disimpulkan bahwa semakin lama diberi perlakuan hipoksia, maka akan semakin rendah aktivitas spesifik katalasenyanya.

Hasil aktivitas spesifik katalase pada organ paru dan darah uji didapatkan lebih tinggi daripada kontrol. Hal ini karena pemberian ekstrak buah Kranberi pada kelompok uji yang berperan sebagai antioksidan terhadap radikal bebas dari perlakuan hipoksia. Karena itu, penurunan aktivitas spesifik katalasenyanya tidak serendah pada kelompok kontrol.

Pada darah uji terdapat penurunan bermakna pada semua perlakuan yang dibandingkan yaitu antara perlakuan normoksia dengan hipoksia 1 hari, 7 hari, maupun 14 hari ($p < 0.05$). Penurunan yang bermakna juga terdapat pada semua perlakuan kelompok darah kontrol, yaitu antara perlakuan normoksia dengan hipoksia 1 hari, 7 hari, maupun 14 hari ($p < 0.05$). Pada organ paru uji terdapat penurunan bermakna pada semua perlakuan, yaitu antara perlakuan normoksia dengan hipoksia 1 hari, hipoksia 7 hari dan hipoksia 14 hari ($p < 0.05$). Pada organ paru kontrol terdapat penurunan bermakna antara perlakuan normoksia dengan hipoksia 7 hari dan 14 hari ($p < 0.05$), namun penurunan tidak bermakna antara perlakuan normoksia dengan hipoksia 1 hari

($p > 0.05$). Pada organ paru kontrol tidak didapatkan penurunan bermakna pada perbandingan perlakuan normoksia dengan hipoksia 1 hari, hal ini mungkin akibat kurang lamanya waktu hipoksia yang dibuktikan dengan penurunan bermakna pada hipoksia 7 hari dan 14 hari. Sedangkan pada organ paru dan darah uji didapatkan penurunan bermakna pada semua perlakuan, hal ini karena efek dari tambahan antioksidan eksogen buah Kranberi yang membuat organ paru tersebut dapat mengompensasi oksidan yang terbentuk. Hasil ini diperkuat dengan penelitian yang dilakukan oleh Silva dan Coutinho,⁴³ yang mengatakan bahwa saat oksidan dan antioksidan mengalami ketidakseimbangan, maka akan timbul stres oksidatif. Stres oksidatif ini akan merusak semua biomolekul di dalam sel dan juga meregulasi kematian dari sel. Hal ini memicu antioksidan endogen seperti enzim katalase untuk mengatasi oksidan yang berlebihan tersebut. Karena semakin lama dihipoksia, semakin tinggi oksidan yang terbentuk dan semakin banyak sel yang mati, maka terjadilah penurunan dari aktivitas spesifik katalase.

Pada perbandingan aktivitas spesifik enzim katalase darah uji dengan darah kontrol, didapatkan perbedaan tidak bermakna pada perlakuan hipoksia 14 hari uji dan kontrol ($p > 0.05$), serta perbedaan yang bermakna pada perlakuan normoksia uji dan kontrol, hipoksia 1 hari uji dan kontrol, serta hipoksia 7 hari uji dan kontrol ($p < 0.05$). Sedangkan pada perbandingan aktivitas spesifik katalase organ paru uji dengan organ paru kontrol, tidak terdapat perbedaan bermakna pada perlakuan normoksia uji dan kontrol, hipoksia 1 hari uji dan kontrol, hipoksia 7 hari uji dan kontrol, serta hipoksia 14 hari uji dan kontrol ($p > 0.05$). Perbedaan yang tidak bermakna pada perlakuan hipoksia 14 hari darah uji dan kontrol mungkin terjadi karena antioksidan hanya bisa mengompensasi oksidan hingga hipoksia 7 hari. Walaupun tidak terdapat perbedaan bermakna pada perbandingan organ paru uji dan kontrol semua perlakuan, aktivitas spesifik enzim katalase pada organ paru uji lebih tinggi daripada organ paru kontrol. Hasil ini diperkuat oleh penelitian Lobo *et al.*,⁶ yang mengatakan bahwa katalase termasuk antioksidan endogen enzimatik yang digunakan sel untuk menguraikan hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen yang tidak berbahaya. Namun dengan tambahan antioksidan eksogen seperti ekstrak Kranberi, dapat membantu katalase

dalam menangkal oksidan. Sehingga aktivitas spesifik enzim katalase pada uji lebih tinggi daripada kontrol.

Pada uji korelasi dengan metode *Pearson's Correlation Coefficient*, antara darah dan organ paru uji maupun kontrol digunakan nilai r untuk penilaian besarnya hubungan. Untuk nilai $r = 0.9-1$ dianggap sebagai korelasi yang sangat kuat, nilai $r = 0.7-0.89$ dianggap sebagai korelasi kuat, nilai $r = 0.4-0.69$ dianggap sebagai korelasi sedang, nilai $r = 0.1-0.39$ dianggap sebagai korelasi lemah dan nilai $r < 0.1$ dianggap dapat diabaikan.⁴⁴ Berdasarkan hasil aktivitas spesifik enzim katalase darah dan organ paru, didapatkan hasil uji korelasi darah dan organ paru uji ($p < 0.05$, $r = 0.971$) maupun darah dan organ paru kontrol ($p < 0.05$, $r = 0.9691$). Hasil ini menunjukkan korelasi yang sangat kuat dan bermakna antara darah dan organ paru uji maupun darah dan organ paru kontrol. Korelasi yang sangat kuat ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Singh *et al.*,⁴⁵ yang mengatakan bahwa normalnya, paru dan darah dilindungi oleh antioksidan ekstrasel maupun intrasel terhadap efek buruk dari oksidan. Peningkatan oksidan ataupun penurunan antioksidan dapat menimbulkan ketidakseimbangan fisiologi yang menyebabkan stres oksidatif. Stres oksidatif ini dapat menyebabkan berbagai penyakit paru, termasuk PPOK (Penyakit Paru Obstruktif Kronik). Hal ini disertai penurunan aktivitas spesifik enzim katalase di darah. Di paru, katalase diekspresikan dalam makrofag alveolar intraseluler. Sehingga terjadi peningkatan stres oksidatif di paru dan sirkulasi sistemik pada penyakit PPOK.

5.7 Hasil Histopatologi

Dari hasil histopatologi, pada organ paru kelompok kontrol perlakuan hipoksia 14 hari didapatkan kerusakan yang lebih berat jika dibandingkan kelompok uji perlakuan hipoksia 14 hari, karena terdapat alveolus yang melebar dan infiltrasi sel mononuklear. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian antioksidan eksogen seperti Kranberi dapat memperingan kerusakan yang terjadi. Hal ini diperkuat dengan penelitian Rahman⁴⁶ yang mengatakan bahwa senyawa antioksidan eksogen seperti polifenol maupun flavonoid dapat menurunkan radikal bebas (oksidan), meningkatkan jumlah *thiol*

intraseluler dan mengontrol aktivasi *Nuclear Factor-kappa B* (NF-kB), sehingga menghambat ekspresi gen inflamasi pada PPOK.

5.8 Keterbatasan Penelitian

Keterbatasan dari penelitian ini adalah hanya melakukan pemeriksaan pada satu *marker* stres oksidatif, lamanya perlakuan hipoksia maksimal 14 hari dan pemberian ekstrak buah kranberi selama 14 hari.

BAB 6

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

1. Dari hasil uji fitokimia, buah Kranberi diketahui mengandung senyawa *alkaloids, anthocyanin dan betacyanin, cardio glycosides, coumarins, flavonoids, glycosides, phenolics, quinones, saponins, steroids, terpenoids dan tannins*
2. Dari hasil uji kapasitas antioksidan menggunakan DPPH pada buah Kranberi, didapatkan IC_{50} sebesar 49.76 $\mu\text{g/mL}$
3. Kadar *Total Phenolics Content* pada buah Kranberi didapatkan sebesar 351.64 $\mu\text{g/mL}$
4. Kadar *Total Alkaloids Content* pada buah Kranberi didapatkan sebesar 65.54 $\mu\text{g/mL}$
5. Dari hasil uji toksisitas didapatkan LC_{50} sebesar 153.08 $\mu\text{g/mL}$
6. Aktivitas spesifik enzim katalase pada darah dan organ paru tikus uji (diberikan ekstrak buah Kranberi) menurun seiring dengan bertambah lamanya perlakuan hipoksia
7. Aktivitas spesifik enzim katalase pada darah dan organ paru tikus kontrol (tidak diberikan ekstrak buah Kranberi) menurun seiring dengan bertambah lamanya perlakuan hipoksia
8. Aktivitas spesifik enzim katalase pada darah dan organ paru tikus uji (diberikan ekstrak buah Kranberi) lebih tinggi dibandingkan dengan darah dan organ paru tikus kontrol (tidak diberikan ekstrak buah Kranberi)
9. Terdapat hubungan antara aktivitas spesifik enzim katalase pada darah dan organ paru tikus uji (diberikan ekstrak buah Kranberi)
10. Terdapat hubungan antara aktivitas spesifik enzim katalase pada darah dan organ paru tikus kontrol (tidak diberikan ekstrak buah Kranberi)
11. Berdasarkan pemeriksaan histopatologi, didapatkan gambaran kerusakan yang lebih berat pada organ paru kontrol hipoksia 14 hari dibandingkan

organ paru uji hipoksia 14 hari, karena terlihat adanya alveolus yang melebar dan infiltrasi sel mononuklear

6.2 Saran

1. Dilakukan penelitian dengan durasi pemberian ekstrak dan hipoksia yang lebih lama, misalnya selama 4 minggu
2. Dilakukan pemeriksaan *marker* stres oksidatif yang lain seperti MDA, SOD, dan GSH
3. Dilakukan penelitian juga terhadap efek lain dari buah Kranberi, seperti antiinflamasi maupun antikanker

DAFTAR PUSTAKA

1. Smith C, Marks AD, Lieberman M. Marks' basic medical biochemistry: A clinical approach (second edition). Biochemistry and molecular biology education : a bimonthly publication of the international union of biochemistry and molecular biology. 2006.
2. Hu H, Nan J, Sun Y, Zhu D, Xiao C, Wang Y, et al. Electron leak from NDUFA13 within mitochondrial complex I attenuates ischemia-reperfusion injury via dimerized STAT3. *Proc Natl Acad Sci.* 2017;114(45):11908–13.
3. Jian-xing X. The electron leak pathways of mitochondrial respiratory chain and its potential application in medical research. *JSM Cell Dev Biol.* 2015;3(1):3–6.
4. El-Bahr SM. Biochemistry of free radicals and oxidative stress. *Sci Int.* 2013;1(5):111–7.
5. McGuinness A, Sapey E. Oxidative stress in COPD: sources, markers, and potential mechanisms. *J Clin Med.* 2017;6(2):21.
6. Lobo V, Patil A, Phatak A, Chandra N. Free radicals, antioxidants and functional foods: impact on human health. *Pharmacogn Rev.* 2010;4(8):118–26.
7. Boušová I, Bártíková H, Matoušková P, Lněničková K, Zappe L, Valentová K, et al. Cranberry extract–enriched diets increase NAD(P)H:quinone oxidoreductase and catalase activities in obese but not in nonobese mice. *Nutr Res.* 2015;35(10):901–9.
8. West JB. Carl Wilhelm Scheele , the discoverer of oxygen , and a very productive chemist. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2014;0623:811–7.
9. Brasted RC. Oxygen. *Encyclopedia Britannica.* 2018 [cited 2018 Oct 10]. Available from: <https://www.britannica.com/science/oxygen>
10. Hafen BB, Sharma S. Oxygen saturation. *StatPearls Publishing;* 2018 [cited 2018 Oct 10]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30247849>
11. Bratic A, Larsson N, Bratic A, Larsson N. The role of mitochondria in aging. *J Clin Invest.* 2013;123(3):951–7.
12. Giordano FJ. Review series oxygen, oxidative stress, hypoxia, and heart failure. *J Clin Invest.* 2005;115(3):500–8.
13. Hypoxia. *Encyclopedia Britannica.* 2017 [cited 2018 Oct 10]. Available from: <https://www.britannica.com/science/hypoxia>.
14. Pham-Huy LA, He H, Pham-Huy C. Free radicals, antioxidants in disease and health. *Int J Biomed Sci.* 2008;4(2):89–96.
15. Hatwalne MS. Free radical scavengers in anaesthesiology and critical care. *Indian J Anaesth.* 2012;56(3):227–33.
16. Rahal A, Kumar A, Singh V, Yadav B, Tiwari R, Chakraborty S, et al. Oxidative stress, prooxidants, and antioxidants: the interplay. *Biomed Res Int.* 2014;2014:19.
17. Araneda OF, Tuesta M. Lung oxidative damage by hypoxia. *Oxid Med Cell Longev.* 2012;2012:18.

18. Scandalios JG, Guan L, Polidoros AN. Catalases in plants : gene structure , properties, regulation, and expression. 1997.
19. Purwar N, McGarry JM, Kostera J, Pacheco AA, Schmidt M. Interaction of nitric oxide with catalase : structural and kinetic analysis. *Biochemistry*. 2011;44:91–503.
20. Va P, Amo T, Atomi H, Imanaka T. Unique presence of a manganese catalase in a hyperthermophilic. *J Bacteriol*. 2002;184(12):3305–12.
21. Hisano M, Bruschini H, Nicodemo A, Srougi M. Cranberries and lower urinary tract infection prevention. *Clinics*. 2012;67(6):661–7.
22. Neto CC, Vinson JA. *Herbal medicine: biomolecular and clinical aspects*. CRC Press/Taylor & Francis; 2011 [cited 2018 Oct 3]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22593931>
23. Hall W. In the mimeo series of the biometrics unit. 1974.
24. Harborne JB. *Phytochemical methods : a guide to modern technique of plant analysis*. Chapman and Hall. 1973.
25. Kedare SB, Singh RP. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *J Food Sci Technol*. 2011;48(4):412–22.
26. Song F-L, Gan R-Y, Zhang Y, Xiao Q, Kuang L, Li H-B. Total phenolics contents and antioxidant capacities of selected chinese medicinal plants. *Int J Mol Sci*. 2010;11(6):2362–72.
27. Patel RK, Patel JB, Trivedi PD. Spectrophotometric method for the estimation of total alkaloids in the *Tinospora cordifolia* M. and its herbal formulations. *Int J Pharm Sci*. 2015;7(10):249–51.
28. Darmawan A. Bioactivity brine shrimp lethality test extract and fractination from *Kalanchoe pinnata* lam pers. Proceeding of International Conference on Drug Development of Natural Resources, Tangerang, 30 Juni, 2012.
29. Maté MJ, Zamocky M, Nykyri LM, Herzog C, Alzari PM, Betzel C, et al. Structure of catalase-A from *Saccharomyces cerevisiae*. *J Mol Biol*. 1999;286(1):135–49.
30. Krishnaeswari V, Manikandan S VJ. Bioactive components of *Vaccinium macrocarpon* and its antioxidant activity: an in-vitro study. *IJPSR*. 2019;10(1):438–44.
31. Santana DG, Oliveira AS, Trindade M, Souza DS, Thiago J, Mariko N, et al. *Vaccinium macrocarpon* Aiton extract ameliorates inflammation and hyperalgesia through oxidative stress inhibition in experimental acute pancreatitis. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2018;2018:13.
32. Khan S, Neelam A, Bokhari T, Kausar R, U Kazmi S. Medicinal value of *Vaccinium macrocarpon* (cranberry): a mini review. *World Journal Of Pharmaceutical Research*. 2014;3(6):71-9.
33. Skrovankova S, Sumczynski D, Mlcek J, Jurikova T, Sochor J. Bioactive compounds and antioxidant activity in different types of berries. *Int J Mol Sci*. 2015;16:24673–706.
34. Tristantini D, Ismawati A, Pradana BT, Gabriel J. Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode dpvh pada daun tanjung (*Mimusops elengi*

- L). Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia "Kejuangan" : Pengembangan Teknologi Kimia untuk Pengolahan Sumber Daya Alam Indonesia, Yogyakarta, 17 Maret, 2016.
35. Ma H, Johnson SL, Liu W, Dasilva NA, Meschwitz S, Dain JA, et al. Evaluation of polyphenol anthocyanin-enriched extracts of blackberry, black raspberry, blueberry, cranberry, red raspberry and strawberry for free radical scavenging, reactive carbonyl species aggregation and microglial neuroprotective effects. *Int J Mol Sci.* 2018;19:461.
 36. Shukitt-hale B, Galli RL, Meterko V, Carey A, Bielinski DF. Dietary supplementation with fruit polyphenols ameliorates age-related deficits in behavior and neuronal markers of inflammation and oxidative stress. *AGE.* 2005;27:49-57.
 37. Kylli P, Nohynek L, Puupponen-Pimiä R, Westerlund-Wikström B, Leppänen T, Welling J, et al. Lingonberry (*Vaccinium vitis-idaea*) and european cranberry (*Vaccinium microcarpon*) proanthocyanidins: isolation, identification, and bioactivities. *J Agric Food Chem.* 2011;59(7):3373–84.
 38. Meyer BN, Ferrigni NR, Putnam JE, Jacobsen LB, Nichols DE, McLaughlin JL. Brine shrimp : a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Medica.* 1982;45:31-4.
 39. Hamidi MR, Jovanova B, Panovska TK. Toxicological evaluation of the plant products using brine shrimp (*Artemia salina* L .) model. *Macedonian pharmaceutical bulletin.* 2014;60(1):9–18.
 40. Clarkson C, Maharaj VJ, Crouch NR, Grace OM, Pillay P, Matsabisa MG, et al. In vitro antiplasmodial activity of medicinal plants native to or naturalised in South Africa. *Journal of Ethnopharmacology.* 2004;92:177–91.
 41. Lisdawati V, Wiryowidagdo S, Kardono LBS. Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) dari berbagai fraksi ekstrak daging buah dan kulit biji mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*). *Bul Penel Kesehatan.* 2006;34(3):111-8
 42. Singh AP, Singh RK, Kim KK, Satyan KS, Torres M, Brard L, et al. Cranberry proanthocyanidins are cytotoxic to human cancer cells and sensitize platinum-resistant ovarian cancer cells to paraplatin. *Phytother Res.* 2010;23(8):1066–74.
 43. Silva JP, Coutinho OP. Free radicals in the regulation of damage and cell death – basic mechanisms and prevention. *Drug Discoveries & Therapeutics.* 2010;4(3):144–67.
 44. Schober P, Boer C, Schwarte LA. Correlation coefficients: appropriate use and interpretation. *Anesth & Analg.* 2018;126(5):1763–8.
 45. Singh S, Verma SK, Kumar S, Ahmad MK, Nischal A, Singh SK, et al. Evaluation of oxidative stress and antioxidant status in chronic obstructive pulmonary disease. *Scandinavian Journal of Immunology.* 2017;85:130–7.
 46. Rahman I. Antioxidant therapeutic advances in COPD. *Ther Adv Respir Dis.* 2008;2(6):351-74

LAMPIRAN - 1 : Kaji Etik



KOMISI ETIK RISET
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS TRISAKTI
Jalan Kyai Tapa, Grogol, (Kampus B) Jakarta 11440
Telp: (021) 5672731, 5655786
Fax : (021) 5660706

PERSETUJUAN ETIK *Ethical Clearance* Nomor: 135/KER/FK/XII/2018

Komisi Etik Riset Fakultas Kedokteran Universitas Trisakti setelah mempelajari dengan seksama dan mendengarkan penjelasan dari peneliti utama tentang kemungkinan adanya dampak etis terhadap subyek riset, masyarakat dan lingkungan, menetapkan penelitian dengan judul:

**"PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK BUAH KRANBERI
(*Vaccinium macrocarpon Aiton*) TERHADAP STRES OKSIDATIF
PADA ORGAN TIKUS *Sprague Dawley* (PARU, JANTUNG, HATI,
GINJAL DAN OTAK) YANG DIINDUKSI HIPOKSIA"**

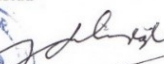
Peneliti Utama : Kelvin

Lembaga/Tempat penelitian : FK Universitas Tarumanagara


Dinyatakan memenuhi persyaratan etik untuk dilaksanakan.

Jakarta, 18 Desember 2018

Ketua


Prof. DR. dr. Adi Hidayat, MS

Sekretaris


dr. Alvina. SpPK

LAMPIRAN - 2 : Identifikasi LIPI Tanaman



LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA
(INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES)
PUSAT PENELITIAN BIOLOGI
(RESEARCH CENTER FOR BIOLOGY)

Cibinong Science Center, Jl. Raya Jakarta - Bogor KM. 46 Cibinong 16911
Telp. (+62 21) 87907636 - 87907604, Fax. 87907612
Website : www.biologi.lipi.go.id



Cibinong, 7 Agustus 2018

Nomor : 292/IPH.1.01/If.07/VIII/2018
Lampiran : -
Perihal : Hasil identifikasi/determinasi Tumbuhan

Kepada Yth.
Bpk./Ibu/Sdr(i). **Chindy Tjandra**
Mhs. Univ. Tarumanagara
Jl. Letjend S. Parman No.1
Jakarta - 11440

Dengan hormat,

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi tumbuhan yang Saudara kirimkan ke "Herbarium Bogoriense", Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI Bogor, adalah sebagai berikut :

| No. | No. Kol. | Jenis | Suku |
|-----|-----------|------------------------------------|-----------|
| 1 | Cranberry | <i>Vaccinium macrocarpon</i> Aiton | Ericaceae |

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.



Kepala Bidang Botani
Pusat Penelitian Biologi-LIPI,

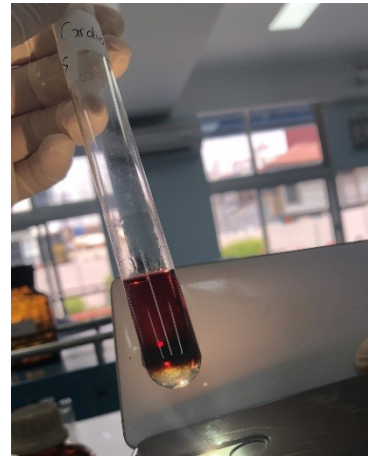
Dr. Joeni Setijo Rahajoe
NIP. 196706241993032004

LAMPIRAN - 3 : Hasil Uji *In Vitro* dan *In Vivo*

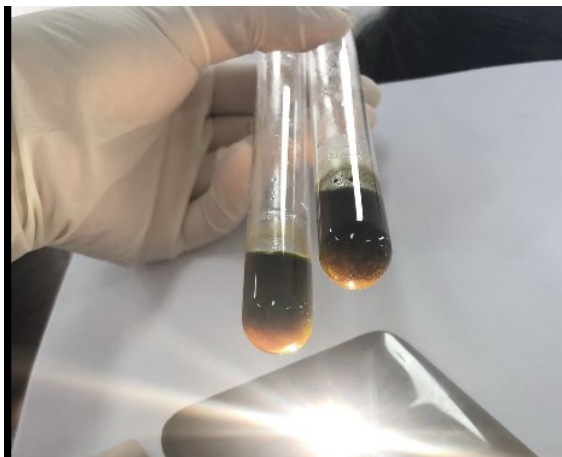
Uji Fitokimia *Alkaloids*



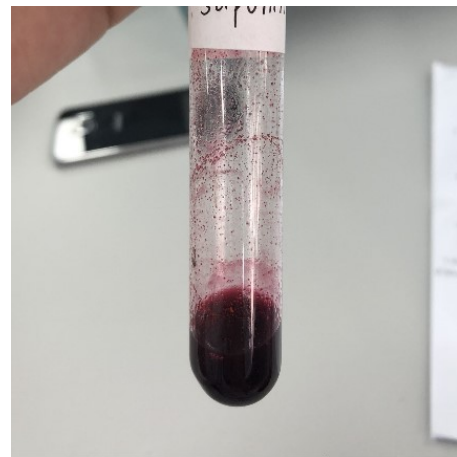
Uji Fitokimia *cardio glycosides*



Uji Fitokimia *Anthocyanin* dan *Betacyanin*



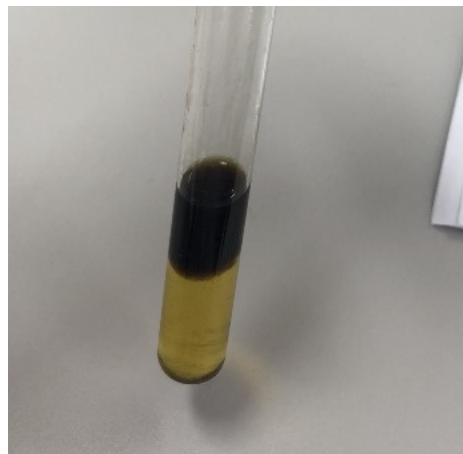
Uji Fitokimia *Saponins*



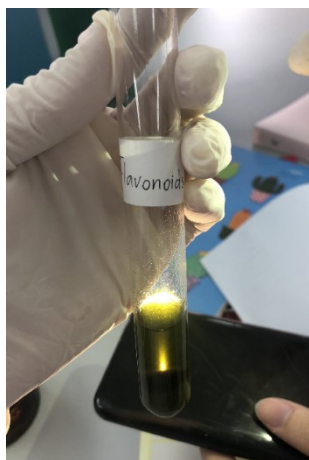
Uji Fitokimia *Coumarins*



Uji Fitokimia *Glycosides*



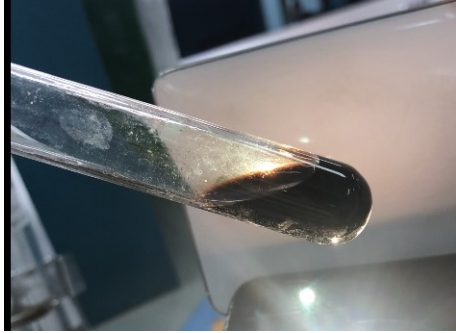
Uji Fitokimia *Flavonoids*



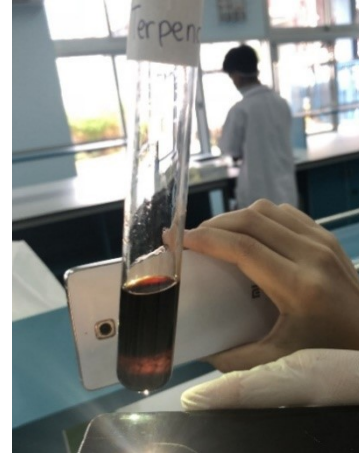
Uji Fitokimia *Phenolics*



Uji Fitokimia *Quinones*



Uji Fitokimia *Terpenoids*



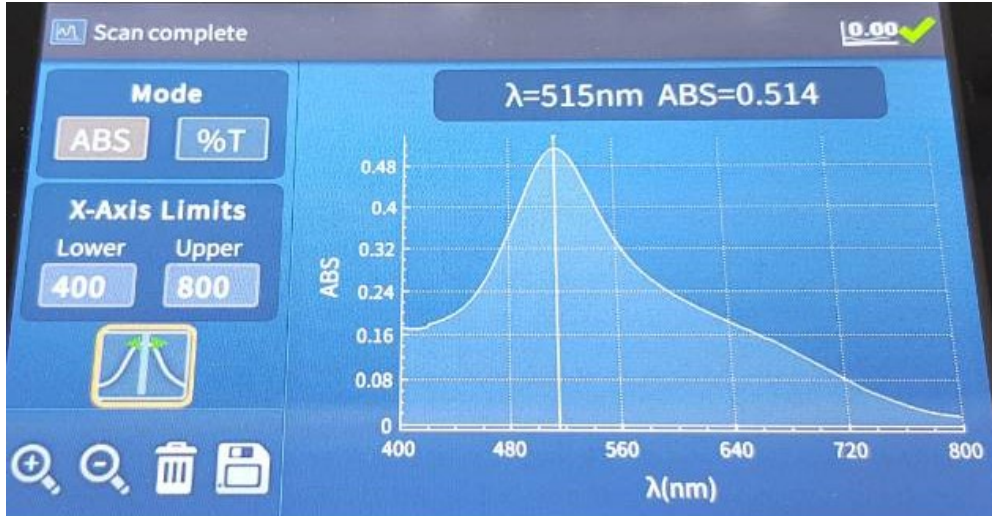
Uji Fitokimia *Steroids*



Uji Fitokimia *Tannins*



Panjang Gelombang dan Absorbansi Optimum DPPH



Absorbansi Tanin Berdasarkan Konsentrasi

| Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$) | Absorbansi |
|----------------------------------|------------|
| 300 | 0.344 |
| 400 | 0.421 |
| 500 | 0.469 |
| 600 | 0.531 |
| 700 | 0.654 |

Absorbansi *Berberine Chloride* Berdasarkan Konsentrasi

| Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$) | Absorbansi |
|----------------------------------|------------|
| 20 | 0.088 |
| 40 | 0.123 |
| 60 | 0.134 |
| 80 | 0.178 |
| 100 | 0.232 |

Absorbansi *Bovine Serum Albumin* (BSA)

| Konsentrasi (g/mL) | Rata-rata ($\mu\text{g/mL}$) |
|--------------------|--------------------------------|
| 0.025 | 0.076 |
| 0.05 | 0.099 |
| 0.1 | 0.146 |
| 0.2 | 0.233 |
| 0.4 | 0.404 |
| 0.5 | 0.486 |
| 0.6 | 0.522 |
| 0.8 | 0.742 |

Hasil BSLT

| Log Konsentrasi | Jumlah Larva Hidup | Jumlah Larva Mati | Akumulasi Hidup | Akumulasi Mati | Akumulasi Mati/Total | Angka Mortalitas (%) |
|--------------------|--------------------------|-------------------------|--------------------|-------------------|-------------------------|----------------------------|
| 1 | 17 | 3 | 41 | 3 | 3/44 | 6.82 |
| 2 | 14 | 6 | 24 | 9 | 9/33 | 27.27 |
| 2,70 | 9 | 11 | 10 | 20 | 20/30 | 66.67 |
| 3 | 1 | 19 | 1 | 39 | 39/40 | 97.50 |

Hasil Aktivitas Katalase, Kadar Protein dan Aktivitas Spesifik Katalase Darah Uji

| | Nama | Delta Absorbansi Uji | Delta Absorbansi Blanko | Aktivitas Katalase (U/mL) | Kadar Protein (mg/mL) | Aktivitas Spesifik Katalase (mU/mg protein) |
|------------------|------------------|----------------------|-------------------------|---------------------------|-----------------------|---|
| Normoksia | Tikus 1 | 0.046 | 0.001 | 0.0414 | 0.551 | 75.08 |
| | Tikus 2 | 0.031 | 0.001 | 0.0276 | 0.343 | 80.31 |
| | Tikus 3 | 0.034 | 0.001 | 0.0303 | 0.504 | 60.17 |
| | Tikus 4 | 0.029 | 0.001 | 0.0257 | 0.412 | 62.51 |
| | Rata-rata | 0.035 | 0.001 | 0.0313 | 0.452 | 69.52 |
| Hipoksia 1 Hari | Tikus 1 | 0.031 | 0.001 | 0.0276 | 0.458 | 60.22 |
| | Tikus 2 | 0.023 | 0.001 | 0.0202 | 0.360 | 56.10 |
| | Tikus 3 | 0.017 | 0.001 | 0.0147 | 0.328 | 44.87 |
| | Tikus 4 | 0.014 | 0.001 | 0.0119 | 0.222 | 53.78 |
| | Rata-rata | 0.021 | 0.001 | 0.0186 | 0.342 | 53.74 |
| Hipoksia 7 Hari | Tikus 1 | 0.028 | 0.001 | 0.0248 | 0.508 | 48.80 |
| | Tikus 2 | 0.031 | 0.001 | 0.0276 | 0.494 | 55.86 |
| | Tikus 3 | 0.022 | 0.001 | 0.0193 | 0.448 | 43.08 |
| | Tikus 4 | 0.027 | 0.001 | 0.0239 | 0.483 | 49.44 |
| | Rata-rata | 0.027 | 0.001 | 0.0198 | 0.483 | 49.30 |
| Hipoksia 14 Hari | Tikus 1 | 0.027 | 0.001 | 0.0239 | 0.495 | 48.30 |
| | Tikus 2 | 0.030 | 0.001 | 0.0267 | 0.524 | 50.85 |
| | Tikus 3 | 0.014 | 0.001 | 0.0119 | 0.329 | 36.32 |
| | Tikus 4 | 0.009 | 0.001 | 0.0074 | 0.331 | 22.23 |
| | Rata-rata | 0.020 | 0.001 | 0.0175 | 0.420 | 39.43 |

Hasil Aktivitas Katalase, Kadar Protein dan Aktivitas Spesifik Katalase Darah

Kontrol

| | Nama Tikus | Delta Absorbansi Kontrol | Delta Absorbansi Blanko | Aktivitas Katalase (U/mL) | Kadar Protein (mg/mL) | Aktivitas Spesifik Katalase (mU/mg protein) |
|------------------|------------------|--------------------------|-------------------------|---------------------------|-----------------------|---|
| Normoksia | Tikus 1 | 0.025 | 0.001 | 0.0221 | 0.349 | 63.15 |
| | Tikus 2 | 0.023 | 0.001 | 0.0202 | 0.392 | 51.59 |
| | Tikus 3 | 0.041 | 0.001 | 0.0368 | 0.727 | 50.60 |
| | Tikus 4 | 0.027 | 0.001 | 0.0239 | 0.601 | 39.77 |
| | Rata-rata | 0.029 | 0.001 | 0.0257 | 0.517 | 51.28 |
| Hipoksia 1 Hari | Tikus 1 | 0.013 | 0.001 | 0.0110 | 0.297 | 37.19 |
| | Tikus 2 | 0.019 | 0.001 | 0.0165 | 0.360 | 46.02 |
| | Tikus 3 | 0.010 | 0.001 | 0.0083 | 0.309 | 26.81 |
| | Tikus 4 | 0.008 | 0.001 | 0.0064 | 0.222 | 29.04 |
| | Rata-rata | 0.012 | 0.001 | 0.0106 | 0.297 | 34.76 |
| Hipoksia 7 Hari | Tikus 1 | 0.017 | 0.001 | 0.0147 | 0.378 | 38.95 |
| | Tikus 2 | 0.013 | 0.001 | 0.0110 | 0.433 | 25.49 |
| | Tikus 3 | 0.016 | 0.001 | 0.0138 | 0.332 | 41.46 |
| | Tikus 4 | 0.011 | 0.001 | 0.0092 | 0.458 | 20.05 |
| | Rata-rata | 0.014 | 0.001 | 0.0122 | 0.400 | 31.49 |
| Hipoksia 14 Hari | Tikus 1 | 0.007 | 0.001 | 0.0055 | 0.368 | 15.00 |
| | Tikus 2 | 0.020 | 0.001 | 0.0175 | 0.462 | 37.82 |
| | Tikus 3 | 0.010 | 0.001 | 0.0083 | 0.375 | 22.03 |
| | Tikus 4 | 0.013 | 0.001 | 0.0110 | 0.379 | 29.08 |
| | Rata-rata | 0.012 | 0.001 | 0.0106 | 0.396 | 25.98 |

Hasil Aktivitas Katalase, Kadar Protein dan Aktivitas Spesifik Katalase Organ Paru

Uji

| | Nama Tikus | Delta Absorbansi Uji | Delta Absorbansi Blanko | Aktivitas Katalase (U/mL) | Kadar Protein (mg/mL) | Aktivitas Spesifik Katalase (mU/mg protein) |
|------------------|------------------|----------------------|-------------------------|---------------------------|-----------------------|---|
| Normoksia | Tikus 1 | 0.053 | 0.001 | 0.191 | 23.896 | 8.00 |
| | Tikus 2 | 0.052 | 0.001 | 0.188 | 24.856 | 7.54 |
| | Tikus 3 | 0.050 | 0.001 | 0.180 | 23.057 | 7.81 |
| | Tikus 4 | 0.057 | 0.001 | 0.206 | 28.935 | 7.12 |
| | Rata-rata | 0.053 | 0.001 | 0.191 | 25.186 | 7.62 |
| Hipoksia 1 Hari | Tikus 1 | 0.041 | 0.001 | 0.147 | 20.657 | 7.12 |
| | Tikus 2 | 0.037 | 0.001 | 0.132 | 18.898 | 7.00 |
| | Tikus 3 | 0.036 | 0.001 | 0.129 | 18.498 | 6.96 |
| | Tikus 4 | 0.035 | 0.001 | 0.125 | 17.538 | 7.13 |
| | Rata-rata | 0.037 | 0.001 | 0.133 | 18.898 | 7.05 |
| Hipoksia 7 Hari | Tikus 1 | 0.024 | 0.001 | 0.085 | 12.260 | 6.90 |
| | Tikus 2 | 0.034 | 0.001 | 0.121 | 17.058 | 7.11 |
| | Tikus 3 | 0.029 | 0.001 | 0.103 | 14.939 | 6.89 |
| | Tikus 4 | 0.028 | 0.001 | 0.099 | 15.499 | 6.40 |
| | Rata-rata | 0.029 | 0.001 | 0.102 | 14.939 | 6.82 |
| Hipoksia 14 Hari | Tikus 1 | 0.030 | 0.001 | 0.107 | 17.058 | 6.25 |
| | Tikus 2 | 0.028 | 0.001 | 0.099 | 15.139 | 6.56 |
| | Tikus 3 | 0.027 | 0.001 | 0.096 | 15.499 | 6.17 |
| | Tikus 4 | 0.033 | 0.001 | 0.118 | 15.899 | 7.40 |
| | Rata-rata | 0.030 | 0.001 | 0.094 | 15.899 | 6.60 |

Tabel 4. Hasil Aktivitas Katalase, Kadar Protein dan Aktivitas Spesifik Katalase Organ Paru Kontrol

| | Nama Tikus | Delta Absorbansi Kontrol | Delta Absorbansi Blanko | Aktivitas Katalase (U/mL) | Kadar Protein (mg/mL) | Aktivitas Spesifik Katalase (mU/mg protein) |
|------------------|------------|--------------------------|-------------------------|---------------------------|-----------------------|---|
| Normoksia | Tikus 1 | 0.017 | 0.001 | 0.118 | 15.259 | 7.71 |
| | Tikus 2 | 0.017 | 0.001 | 0.118 | 16.939 | 6.95 |
| | Tikus 3 | 0.027 | 0.001 | 0.191 | 28.095 | 6.80 |
| | Tikus 4 | 0.031 | 0.001 | 0.221 | 29.654 | 7.44 |
| Rata-rata | | 0.023 | 0.001 | 0.162 | 22.487 | 7.22 |
| Hipoksia 1 Hari | Tikus 1 | 0.022 | 0.001 | 0.154 | 22.097 | 6.99 |
| | Tikus 2 | 0.016 | 0.001 | 0.110 | 17.058 | 6.47 |
| | Tikus 3 | 0.029 | 0.001 | 0.206 | 31.094 | 6.62 |
| | Tikus 4 | 0.022 | 0.001 | 0.154 | 23.896 | 6.46 |
| Rata-rata | | 0.022 | 0.001 | 0.156 | 23.536 | 6.63 |
| Hipoksia 7 Hari | Tikus 1 | 0.025 | 0.001 | 0.176 | 27.015 | 6.53 |
| | Tikus 2 | 0.022 | 0.001 | 0.154 | 24.496 | 6.30 |
| | Tikus 3 | 0.019 | 0.001 | 0.132 | 22.337 | 5.93 |
| | Tikus 4 | 0.020 | 0.001 | 0.140 | 21.497 | 6.50 |
| Rata-rata | | 0.022 | 0.001 | 0.151 | 23.836 | 6.31 |
| Hipoksia 14 Hari | Tikus 1 | 0.024 | 0.001 | 0.169 | 31.094 | 5.44 |
| | Tikus 2 | 0.025 | 0.001 | 0.176 | 26.056 | 6.77 |
| | Tikus 3 | 0.026 | 0.001 | 0.184 | 35.413 | 5.19 |
| | Tikus 4 | 0.020 | 0.001 | 0.140 | 23.177 | 6.03 |
| Rata-rata | | 0.024 | 0.001 | 0.167 | 28.935 | 5.86 |

Regresi Linear Standar Asam Askorbat DPPH

Best-fit values \pm SE

| | |
|-------------|--------------------|
| Slope | 6.382 ± 0.1258 |
| Y-intercept | 19.49 ± 0.8347 |
| X-intercept | -3.054 |
| 1/slope | 0.1567 |

95% Confidence Intervals

| | |
|-------------|------------------|
| Slope | 5.982 to 6.782 |
| Y-intercept | 16.83 to 22.15 |
| X-intercept | -3.687 to -2.492 |

Goodness of Fit

| | |
|----------|--------|
| R square | 0.9988 |
| Sy.x | 0.7958 |

Is slope significantly non-zero?

| | |
|----------------------|-------------|
| F | 2572 |
| DFn, DFd | 1, 3 |
| P value | <0.0001 |
| Deviation from zero? | Significant |

Equation $Y = 6.382 * X + 19.49$

Data

| | |
|--------------------------------|---|
| Number of X values | 5 |
| Maximum number of Y replicates | 1 |
| Total number of values | 5 |

| | |
|--------------------------|---|
| Number of missing values | 0 |
|--------------------------|---|

Regressi Linear DPPH Ekstrak Kranberi

Best-fit values \pm SE

| | |
|-------------|---------------------|
| Slope | 0.8152 ± 0.1416 |
| Y-intercept | 9.436 ± 8.135 |
| X-intercept | -11.58 |
| 1/slope | 1.227 |

95% Confidence Intervals

| | |
|-------------|-----------------|
| Slope | 0.3645 to 1.266 |
| Y-intercept | -16.45 to 35.32 |
| X-intercept | -91.17 to 13.82 |

Goodness of Fit

| | |
|----------|-------|
| R square | 0.917 |
| Sy.x | 8.956 |

Is slope significantly non-zero?

| | |
|----------------------|-------------|
| F | 33.14 |
| DFn, DFd | 1, 3 |
| P value | 0.0104 |
| Deviation from zero? | Significant |

| | |
|----------|--------------------------|
| Equation | $Y = 0.8152 * X + 9.436$ |
|----------|--------------------------|

Data

| | |
|--------------------------------|---|
| Number of X values | 5 |
| Maximum number of Y replicates | 1 |
| Total number of values | 5 |
| Number of missing values | 0 |

Regresi Linear Standar Tanin Fenolik

Best-fit values \pm SE

| | |
|-------------|--------------------------|
| Slope | $0.00091 \pm 6.285e-005$ |
| Y-intercept | 0.0664 ± 0.03266 |
| X-intercept | -72.97 |
| 1/slope | 1099 |

95% Confidence Intervals

| | |
|-------------|--------------------|
| Slope | 0.00071 to 0.00111 |
| Y-intercept | -0.03754 to 0.1703 |
| X-intercept | -238.2 to 34.07 |

Goodness of Fit

| | |
|----------|---------|
| R square | 0.9859 |
| Sy.x | 0.01988 |

Is slope significantly non-zero?

| | |
|---|-------|
| F | 209.6 |
|---|-------|

| | |
|----------------------|-------------|
| DFn, DFd | 1, 3 |
| P value | 0.0007 |
| Deviation from zero? | Significant |

Equation $Y = 0.00091 * X + 0.0664$

Data

| | |
|--------------------------------|---|
| Number of X values | 5 |
| Maximum number of Y replicates | 1 |
| Total number of values | 5 |
| Number of missing values | 0 |

Regresi Linear Standar *Berberine Chloride* Alkaloid

Best-fit values \pm SE

| | |
|-------------|--------------------------|
| Slope | 0.001715 ± 0.0002174 |
| Y-intercept | 0.0481 ± 0.01442 |
| X-intercept | -28.05 |
| 1/slope | 583.1 |

95% Confidence Intervals

| | |
|-------------|----------------------|
| Slope | 0.001023 to 0.002407 |
| Y-intercept | 0.002209 to 0.09399 |
| X-intercept | -89.38 to -0.9434 |

Goodness of Fit

| | |
|----------------------------------|-----------------------------|
| R square | 0.954 |
| Sy.x | 0.01375 |
| Is slope significantly non-zero? | |
| F | 62.24 |
| DFn, DFd | 1, 3 |
| P value | 0.0042 |
| Deviation from zero? | Significant |
| Equation | $Y = 0.001715 * X + 0.0481$ |
| Data | |
| Number of X values | 5 |
| Maximum number of Y replicates | 1 |
| Total number of values | 5 |
| Number of missing values | 0 |

Regresi Linear Toksisitas BSLT

| | |
|--------------------------|--------------------|
| Best-fit values \pm SE | |
| Slope | 43.37 ± 9.891 |
| Y-intercept | -44.76 ± 22.82 |
| X-intercept | 1.032 |
| 1/slope | 0.02306 |

95% Confidence Intervals

| | |
|-------------|-----------------|
| Slope | 0.8133 to 85.93 |
| Y-intercept | -142.9 to 53.41 |
| X-intercept | -59.02 to 1.851 |

Goodness of Fit

| | |
|----------|--------|
| R square | 0.9058 |
| Sy.x | 15.22 |

Is slope significantly non-zero?

| | |
|----------------------|-------------|
| F | 19.23 |
| DFn, DFd | 1, 2 |
| P value | 0.0483 |
| Deviation from zero? | Significant |

Equation $Y = 43.37 * X - 44.76$

Data

| | |
|--------------------------------|---|
| Number of X values | 4 |
| Maximum number of Y replicates | 1 |
| Total number of values | 4 |
| Number of missing values | 0 |

Regresi Linear Standar Protein

Best-fit values \pm SE

| | |
|-------|----------------------|
| Slope | 0.8335 ± 0.02395 |
|-------|----------------------|

| | |
|-------------|-------------------|
| Y-intercept | 0.05981 ± 0.01024 |
| X-intercept | -0.07177 |
| 1/slope | 1.2 |

95% Confidence Intervals

| | |
|-------------|---------------------|
| Slope | 0.7748 to 0.8921 |
| Y-intercept | 0.03475 to 0.08488 |
| X-intercept | -0.1081 to -0.03948 |

Goodness of Fit

| | |
|----------|---------|
| R square | 0.9951 |
| Sy.x | 0.01806 |

Is slope significantly non-zero?

| | |
|----------------------|-------------|
| F | 1211 |
| DFn, DFd | 1, 6 |
| P value | <0.0001 |
| Deviation from zero? | Significant |

Equation $Y = 0.8335 * X + 0.05981$

Data

| | |
|--------------------------------|---|
| Number of X values | 8 |
| Maximum number of Y replicates | 1 |
| Total number of values | 8 |
| Number of missing values | 0 |

| | | | | |
|-------------------------------------|--------|--------|--------|--------|
| W | 0.894 | 0.9472 | 0.9638 | 0.9119 |
| P value | 0.4021 | 0.6987 | 0.8029 | 0.4925 |
| Passed normality test (alpha=0.05)? | Yes | Yes | Yes | Yes |
| P value summary | ns | ns | ns | ns |

Uji Column Statistic Darah Kontrol

| | Normoksia | Hipoksia 1 Hari | Hipoksia 7 Hari | Hipoksia 14 Hari |
|----------------------|-----------|--------------------|--------------------|---------------------|
| Number of values | 4 | 4 | 4 | 4 |
| Minimum | 39.77 | 26.81 | 20.05 | 15 |
| 25% Percentile | 42.47 | 27.37 | 21.41 | 16.76 |
| Median | 51.1 | 33.12 | 32.22 | 25.56 |
| 75% Percentile | 60.26 | 43.81 | 40.83 | 35.63 |
| Maximum | 63.15 | 46.02 | 41.46 | 37.82 |
| Mean | 51.28 | 34.76 | 31.49 | 25.98 |
| Std. Deviation | 9.556 | 8.729 | 10.36 | 9.76 |
| Std. Error of Mean | 4.778 | 4.364 | 5.181 | 4.88 |
| Lower 95% CI of mean | 36.07 | 20.87 | 15 | 10.45 |
| Upper 95% CI of mean | 66.48 | 48.65 | 47.97 | 41.51 |
| Sum | 205.1 | 139.1 | 125.9 | 103.9 |

D'Agostino & Pearson normality test

| | | | | |
|-------------------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| K2 | N too small | N too small | N too small | N too small |
| P value | | | | |
| Passed normality test (alpha=0.05)? | | | | |
| P value summary | | | | |
| Shapiro-Wilk normality test | | | | |
| W | 0.9621 | 0.927 | 0.8927 | 0.9936 |
| P value | 0.7918 | 0.5769 | 0.3958 | 0.9753 |
| Passed normality test (alpha=0.05)? | Yes | Yes | Yes | Yes |
| P value summary | ns | ns | ns | ns |

Uji *Column Statistic* Organ Paru Uji

| | Normoksia | Hipoksia 1 Hari | Hipoksia 7 Hari | Hipoksia 14 Hari |
|--------------------|-----------|--------------------|--------------------|---------------------|
| Number of values | 4 | 4 | 4 | 4 |
| Minimum | 7.12 | 6.96 | 6.4 | 6.17 |
| 25% Percentile | 7.225 | 6.97 | 6.523 | 6.19 |
| Median | 7.675 | 7.06 | 6.895 | 6.405 |
| 75% Percentile | 7.953 | 7.128 | 7.058 | 7.19 |
| Maximum | 8 | 7.13 | 7.11 | 7.4 |
| Mean | 7.618 | 7.053 | 6.825 | 6.595 |
| Std. Deviation | 0.3816 | 0.08539 | 0.3009 | 0.5624 |
| Std. Error of Mean | 0.1908 | 0.0427 | 0.1505 | 0.2812 |

| | | | | |
|----------------------|-------|-------|-------|-------|
| Lower 95% CI of mean | 7.01 | 6.917 | 6.346 | 5.7 |
| Upper 95% CI of mean | 8.225 | 7.188 | 7.304 | 7.49 |
| Sum | 30.47 | 28.21 | 27.3 | 26.38 |

D'Agostino & Pearson normality test

K2 N too small N too small N too small N too small

P value

Passed normality test (alpha=0.05)?

P value summary

Shapiro-Wilk normality test

| | | | | |
|-------------------------------------|--------|--------|--------|--------|
| W | 0.9662 | 0.8554 | 0.8823 | 0.8477 |
| P value | 0.8179 | 0.2443 | 0.3487 | 0.2190 |
| Passed normality test (alpha=0.05)? | Yes | Yes | Yes | Yes |
| P value summary | ns | ns | ns | ns |

Uji *Column Statistic* Organ Paru Kontrol

| | Normoksia | Hipoksia 1 Hari | Hipoksia 7 Hari | Hipoksia 14 Hari |
|------------------|-----------|--------------------|--------------------|---------------------|
| Number of values | 4 | 4 | 4 | 4 |
| Minimum | 6.805 | 6.462 | 5.925 | 5.191 |
| 25% Percentile | 6.84 | 6.463 | 6.02 | 5.253 |
| Median | 7.192 | 6.543 | 6.401 | 5.733 |
| 75% Percentile | 7.642 | 6.896 | 6.524 | 6.587 |

| | | | | |
|-------------------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| Maximum | 7.71 | 6.988 | 6.532 | 6.773 |
| Mean | 7.225 | 6.634 | 6.315 | 5.858 |
| Std. Deviation | 0.4225 | 0.2473 | 0.2787 | 0.7039 |
| Std. Error of Mean | 0.2113 | 0.1236 | 0.1393 | 0.352 |
| Lower 95% CI of mean | 6.552 | 6.241 | 5.872 | 4.738 |
| Upper 95% CI of mean | 7.897 | 7.028 | 6.758 | 6.978 |
| Sum | 28.9 | 26.54 | 25.26 | 23.43 |
| D'Agostino & Pearson normality test | | | | |
| K2 | N too small | N too small | N too small | N too small |
| P value | | | | |
| Passed normality test (alpha=0.05)? | | | | |
| P value summary | | | | |
| Shapiro-Wilk normality test | | | | |
| W | 0.9259 | 0.8186 | 0.8677 | 0.945 |
| P value | 0.5703 | 0.1400 | 0.2887 | 0.6848 |
| Passed normality test (alpha=0.05)? | | | | |
| P value summary | ns | ns | ns | ns |

Perbandingan Aktivitas Spesifik Katalase Perlakuan Normoksia dengan Hipoksia 1

Hari Darah Uji

| | |
|----------------|-----------|
| Table Analyzed | Darah Uji |
|----------------|-----------|

| | |
|-------------------------------------|--------------------|
| Column B | Hipoksia 1 Hari |
| vs. | vs. |
| Column A | Normoksia |
| Unpaired t test | |
| P value | 0.0357 |
| P value summary | * |
| Significantly different (P < 0.05)? | Yes |
| One- or two-tailed P value? | Two-tailed |
| t, df | t=2.698 df=6 |
| How big is the difference? | |
| Mean ± SEM of column A | 69.52 ± 4.865, n=4 |
| Mean ± SEM of column B | 53.74 ± 3.243, n=4 |
| Difference between means | -15.78 ± 5.847 |
| 95% confidence interval | -30.08 to -1.469 |
| R squared (eta squared) | 0.5482 |

Perbandingan Aktivitas Spesifik Katalase Perlakuan Normoksia dengan Hipoksia 7 Hari Darah Uji

| Table Analyzed | Darah Uji |
|-------------------------------------|--------------------|
| Column C | Hipoksia 7 Hari |
| vs. | vs. |
| Column A | Normoksia |
| Unpaired t test | |
| P value | 0.0106 |
| P value summary | * |
| Significantly different (P < 0.05)? | Yes |
| One- or two-tailed P value? | Two-tailed |
| t, df | t=3.662 df=6 |
| How big is the difference? | |
| Mean ± SEM of column A | 69.52 ± 4.865, n=4 |
| Mean ± SEM of column C | 49.3 ± 2.614, n=4 |
| Difference between means | -20.22 ± 5.522 |
| 95% confidence interval | -33.74 to -6.71 |
| R squared (eta squared) | 0.6909 |

Perbandingan Aktivitas Spesifik Katalase Perlakuan Normoksia dengan Hipoksia 14 Hari Darah Uji

| Table Analyzed | Darah Uji |
|-------------------------------------|--------------------|
| Column D | Hipoksia 14 Hari |
| vs. | vs. |
| Column A | Normoksia |
| Unpaired t test | |
| P value | 0.0102 |
| P value summary | * |
| Significantly different (P < 0.05)? | Yes |
| One- or two-tailed P value? | Two-tailed |
| t, df | t=3.689 df=6 |
| How big is the difference? | |
| Mean ± SEM of column A | 69.52 ± 4.865, n=4 |
| Mean ± SEM of column D | 39.43 ± 6.548, n=4 |
| Difference between means | -30.09 ± 8.157 |
| 95% confidence interval | -50.05 to -10.13 |
| R squared (eta squared) | 0.694 |

Perbandingan Aktivitas Spesifik Katalase Perlakuan Normoksia dengan Hipoksia 1 Hari Darah Kontrol

| Table Analyzed | Darah Kontrol |
|-------------------------------------|--------------------|
| Column B | Hipoksia 1 Hari |
| vs. | vs. |
| Column A | Normoksia |
| Unpaired t test | |
| P value | 0.0434 |
| P value summary | * |
| Significantly different (P < 0.05)? | Yes |
| One- or two-tailed P value? | Two-tailed |
| t, df | t=2.552 df=6 |
| How big is the difference? | |
| Mean ± SEM of column A | 51.28 ± 4.778, n=4 |
| Mean ± SEM of column B | 34.76 ± 4.364, n=4 |
| Difference between means | -16.51 ± 6.471 |
| 95% confidence interval | -32.35 to -0.677 |
| R squared (eta squared) | 0.5204 |

Perbandingan Aktivitas Spesifik Katalase Perlakuan Normoksia dengan Hipoksia 7 Hari Darah Kontrol

| Table Analyzed | Darah Kontrol |
|-------------------------------------|--------------------|
| Column C | Hipoksia 7 Hari |
| vs. | vs. |
| Column A | Normoksia |
| Unpaired t test | |
| P value | 0.0308 |
| P value summary | * |
| Significantly different (P < 0.05)? | Yes |
| One- or two-tailed P value? | Two-tailed |
| t, df | t=2.808 df=6 |
| How big is the difference? | |
| Mean ± SEM of column A | 51.28 ± 4.778, n=4 |
| Mean ± SEM of column C | 31.49 ± 5.181, n=4 |
| Difference between means | -19.79 ± 7.048 |
| 95% confidence interval | -37.03 to -2.544 |
| R squared (eta squared) | 0.5678 |

Perbandingan Aktivitas Spesifik Katalase Perlakuan Normoksia dengan Hipoksia 14 Hari Darah Kontrol

| Table Analyzed | Darah Kontrol |
|-------------------------------------|--------------------|
| Column D | Hipoksia 14 Hari |
| vs. | vs. |
| Column A | Normoksia |
| Unpaired t test | |
| P value | 0.0100 |
| P value summary | * |
| Significantly different (P < 0.05)? | Yes |
| One- or two-tailed P value? | Two-tailed |
| t, df | t=3.703 df=6 |
| How big is the difference? | |
| Mean ± SEM of column A | 51.28 ± 4.778, n=4 |
| Mean ± SEM of column D | 25.98 ± 4.88, n=4 |
| Difference between means | -25.29 ± 6.83 |
| 95% confidence interval | -42.01 to -8.582 |
| R squared (eta squared) | 0.6957 |

Perbandingan Aktivitas Spesifik Katalase Perlakuan Normoksia dengan Hipoksia 1 Hari Organ Paru Uji

| Table Analyzed | Jaringan Uji |
|-------------------------------------|---------------------|
| Column B | Hipoksia 1 Hari |
| vs. | vs. |
| Column A | Normoksia |
| Unpaired t test | |
| P value | 0.0277 |
| P value summary | * |
| Significantly different (P < 0.05)? | Yes |
| One- or two-tailed P value? | Two-tailed |
| t, df | t=2.89 df=6 |
| How big is the difference? | |
| Mean ± SEM of column A | 7.618 ± 0.1908, n=4 |
| Mean ± SEM of column B | 7.053 ± 0.0427, n=4 |
| Difference between means | -0.565 ± 0.1955 |
| 95% confidence interval | -1.043 to -0.08657 |
| R squared (eta squared) | 0.5819 |

Perbandingan Aktivitas Spesifik Katalase Perlakuan Normoksia dengan Hipoksia 7 Hari Organ Paru Uji

| Table Analyzed | Jaringan Uji |
|-------------------------------------|---------------------|
| Column C | Hipoksia 7 Hari |
| vs. | vs. |
| Column A | Normoksia |
| Unpaired t test | |
| P value | 0.0172 |
| P value summary | * |
| Significantly different (P < 0.05)? | Yes |
| One- or two-tailed P value? | Two-tailed |
| t, df | t=3.261 df=6 |
| How big is the difference? | |
| Mean ± SEM of column A | 7.618 ± 0.1908, n=4 |
| Mean ± SEM of column C | 6.825 ± 0.1505, n=4 |

| | |
|--------------------------|-------------------|
| Difference between means | -0.7925 ± 0.243 |
| 95% confidence interval | -1.387 to -0.1979 |
| R squared (eta squared) | 0.6393 |

Perbandingan Aktivitas Spesifik Katalase Perlakuan Normoksia dengan Hipoksia 14 Hari Organ Paru Uji

| Table Analyzed | Jaringan Uji |
|----------------|------------------|
| Column D | Hipoksia 14 Hari |
| vs. | vs. |
| Column A | Normoksia |

Unpaired t test

| | |
|-------------------------------------|--------------|
| P value | 0.0237 |
| P value summary | * |
| Significantly different (P < 0.05)? | Yes |
| One- or two-tailed P value? | Two-tailed |
| t, df | t=3.009 df=6 |

How big is the difference?

| | |
|--------------------------|---------------------|
| Mean ± SEM of column A | 7.618 ± 0.1908, n=4 |
| Mean ± SEM of column D | 6.595 ± 0.2812, n=4 |
| Difference between means | -1.023 ± 0.3398 |
| 95% confidence interval | -1.854 to -0.191 |
| R squared (eta squared) | 0.6014 |

Perbandingan Aktivitas Spesifik Katalase Perlakuan Normoksia dengan Hipoksia 1 Hari Organ Paru Kontrol

| | |
|----------------|------------------|
| Table Analyzed | Jaringan Kontrol |
| Column B | Hipoksia 1 Hari |
| vs. | vs. |
| Column A | Normoksia |

| | |
|-------------------------------------|--------------|
| Unpaired t test | |
| P value | 0.0524 |
| P value summary | ns |
| Significantly different (P < 0.05)? | No |
| One- or two-tailed P value? | Two-tailed |
| t, df | t=2.412 df=6 |

| | |
|----------------------------|---------------------|
| How big is the difference? | |
| Mean ± SEM of column A | 7.225 ± 0.2113, n=4 |
| Mean ± SEM of column B | 6.634 ± 0.1236, n=4 |
| Difference between means | -0.5905 ± 0.2448 |
| 95% confidence interval | -1.19 to 0.008447 |
| R squared (eta squared) | 0.4924 |

Perbandingan Aktivitas Spesifik Katalase Perlakuan Normoksia dengan Hipoksia 7 Hari Organ Paru Kontrol

| Table Analyzed | Jaringan Kontrol |
|-------------------------------------|------------------|
| Column C | Hipoksia 7 hari |
| vs. | vs. |
| Column A | Normoksia |
| Unpaired t test | |
| P value | 0.0114 |
| P value summary | * |
| Significantly different (P < 0.05)? | Yes |

| | |
|-----------------------------|-------------------------|
| One- or two-tailed P value? | Two-tailed |
| t, df | t=3.595 df=6 |
| How big is the difference? | |
| Mean \pm SEM of column A | 7.225 \pm 0.2113, n=4 |
| Mean \pm SEM of column C | 6.315 \pm 0.1393, n=4 |
| Difference between means | -0.9097 \pm 0.2531 |
| 95% confidence interval | -1.529 to -0.2904 |
| R squared (eta squared) | 0.6829 |

Perbandingan Aktivitas Spesifik Katalase Perlakuan Normoksia dengan Hipoksia 14 Hari Organ Paru Kontrol

| Table Analyzed | Jaringan Kontrol |
|-----------------|------------------|
| Column D | Hipoksia 14 Hari |
| vs. | vs. |
| Column A | Normoksia |
| Unpaired t test | |
| P value | 0.0158 |

| | |
|-------------------------------------|---------------------|
| P value summary | * |
| Significantly different (P < 0.05)? | Yes |
| One- or two-tailed P value? | Two-tailed |
| t, df | t=3.33 df=6 |
| | |
| How big is the difference? | |
| Mean ± SEM of column A | 7.225 ± 0.2113, n=4 |
| Mean ± SEM of column D | 5.858 ± 0.352, n=4 |
| Difference between means | -1.367 ± 0.4105 |
| 95% confidence interval | -2.371 to -0.3626 |
| R squared (eta squared) | 0.6489 |

Perbandingan Aktivitas Spesifik Katalase Perlakuan Normoksia Darah Uji dan Kontrol

| | |
|----------------|------------------------------------|
| Table Analyzed | Normoksia Darah-Uji dan Kontrol |
| | |
| Column B | Kontrol |
| vs. | vs. |
| Column A | Uji |

| | |
|-------------------------------------|--------------------|
| Unpaired t test | |
| P value | 0.0368 |
| P value summary | * |
| Significantly different (P < 0.05)? | Yes |
| One- or two-tailed P value? | Two-tailed |
| t, df | t=2.675 df=6 |
| How big is the difference? | |
| Mean ± SEM of column A | 69.52 ± 4.865, n=4 |
| Mean ± SEM of column B | 51.28 ± 4.778, n=4 |
| Difference between means | -18.24 ± 6.819 |
| 95% confidence interval | -34.93 to -1.558 |
| R squared (eta squared) | 0.544 |

Perbandingan Aktivitas Spesifik Katalase Perlakuan Hipoksia 1 Hari Darah Uji dan Kontrol

| | |
|----------------|---|
| Table Analyzed | Hipoksia 1 Hari Darah- Uji dan Kontrol |
| Column B | Kontrol |

| | |
|-------------------------------------|--------------------|
| vs. | vs. |
| Column A | Uji |
| Unpaired t test | |
| P value | 0.0130 |
| P value summary | * |
| Significantly different (P < 0.05)? | Yes |
| One- or two-tailed P value? | Two-tailed |
| t, df | t=3.49 df=6 |
| How big is the difference? | |
| Mean ± SEM of column A | 53.74 ± 3.243, n=4 |
| Mean ± SEM of column B | 34.76 ± 4.364, n=4 |
| Difference between means | -18.98 ± 5.437 |
| 95% confidence interval | -32.28 to -5.674 |
| R squared (eta squared) | 0.67 |

Perbandingan Aktivitas Spesifik Katalase Perlakuan Hipoksia 7 Hari Darah Uji dan Kontrol

| | |
|----------------|---|
| Table Analyzed | Hipoksia 7 Hari Darah- Uji dan Kontrol |
|----------------|---|

| | |
|-------------------------------------|--------------------|
| Column B | Kontrol |
| vs. | vs. |
| Column A | Uji |
| Unpaired t test | |
| P value | 0.0248 |
| P value summary | * |
| Significantly different (P < 0.05)? | Yes |
| One- or two-tailed P value? | Two-tailed |
| t, df | t=2.975 df=6 |
| How big is the difference? | |
| Mean ± SEM of column A | 48.84 ± 2.681, n=4 |
| Mean ± SEM of column B | 31.49 ± 5.181, n=4 |
| Difference between means | -17.36 ± 5.833 |
| 95% confidence interval | -31.63 to -3.082 |
| R squared (eta squared) | 0.596 |

Perbandingan Aktivitas Spesifik Katalase Perlakuan Hipoksia 14 Hari Darah Uji dan Kontrol

| Table Analyzed | Hipoksia 14 Hari Darah- Uji dan Kontrol | |
|-------------------------------------|--|--------------|
| Column B | | Kontrol |
| vs. | | vs. |
| Column A | | Uji |
| Unpaired t test | | |
| P value | | 0.1508 |
| P value summary | | ns |
| Significantly different (P < 0.05)? | | No |
| One- or two-tailed P value? | | Two-tailed |
| t, df | | t=1.646 df=6 |
| How big is the difference? | | |
| Mean ± SEM of column A | 39.43 ± 6.548, n=4 | |
| Mean ± SEM of column B | 25.98 ± 4.88, n=4 | |
| Difference between means | -13.44 ± 8.166 | |
| 95% confidence interval | -33.43 to 6.538 | |
| R squared (eta squared) | 0.3112 | |

Perbandingan Aktivitas Spesifik Katalase Perlakuan Normoksia Organ Paru Uji dan Kontrol

| Table Analyzed | Normoksia Jaringan-Uji dan Kontrol |
|-------------------------------------|------------------------------------|
| Column B | Kontrol |
| vs. | vs. |
| Column A | Uji |
| Unpaired t test | |
| P value | 0.2168 |
| P value summary | ns |
| Significantly different (P < 0.05)? | No |
| One- or two-tailed P value? | Two-tailed |
| t, df | t=1.38 df=6 |
| How big is the difference? | |
| Mean ± SEM of column A | 7.618 ± 0.1908, n=4 |
| Mean ± SEM of column B | 7.225 ± 0.2113, n=4 |
| Difference between means | -0.3928 ± 0.2847 |
| 95% confidence interval | -1.089 to 0.3038 |
| R squared (eta squared) | 0.2409 |

Perbandingan Aktivitas Spesifik Katalase Perlakuan Hipoksia 1 Hari Organ Paru Uji dan Kontrol

| | |
|-------------------------------------|--|
| Table Analyzed | Hipoksia 1 Hari Jaringan-Uji dan Kontrol |
| Column B | Kontrol |
| vs. | vs. |
| Column A | Uji |
| Unpaired t test | |
| P value | 0.1284 |
| P value summary | ns |
| Significantly different (P < 0.05)? | No |
| One- or two-tailed P value? | Two-tailed |
| t, df | t=1.763 df=6 |
| How big is the difference? | |
| Mean ± SEM of column A | 7.278 ± 0.3433, n=4 |
| Mean ± SEM of column B | 6.634 ± 0.1236, n=4 |
| Difference between means | -0.6434 ± 0.3649 |
| 95% confidence interval | -1.536 to 0.2495 |
| R squared (eta squared) | 0.3413 |

Perbandingan Aktivitas Spesifik Katalase Perlakuan Hipoksia 7 Hari Organ Paru Uji dan Kontrol

| Table Analyzed | Hipoksia 7 Hari Jaringan-Uji dan Kontrol |
|-------------------------------------|--|
| Column B | Kontrol |
| vs. | vs. |
| Column A | Uji |
| Unpaired t test | |
| P value | 0.4075 |
| P value summary | ns |
| Significantly different (P < 0.05)? | No |
| One- or two-tailed P value? | Two-tailed |
| t, df | t=0.8904 df=6 |
| How big is the difference? | |
| Mean ± SEM of column A | 7.08 ± 0.8478, n=4 |
| Mean ± SEM of column B | 6.315 ± 0.1393, n=4 |
| Difference between means | -0.765 ± 0.8592 |
| 95% confidence interval | -2.867 to 1.337 |
| R squared (eta squared) | 0.1167 |

Perbandingan Aktivitas Spesifik Katalase Perlakuan Hipoksia 14 Hari Organ Paru Uji dan Kontrol

| | |
|-------------------------------------|---|
| Table Analyzed | Hipoksia 14 Hari Jaringan-Uji dan Kontrol |
| Column B | Kontrol |
| vs. | vs. |
| Column A | Uji |
| Unpaired t test | |
| P value | 0.1528 |
| P value summary | ns |
| Significantly different (P < 0.05)? | No |
| One- or two-tailed P value? | Two-tailed |
| t, df | t=1.637 df=6 |
| How big is the difference? | |
| Mean ± SEM of column A | 6.595 ± 0.2812, n=4 |
| Mean ± SEM of column B | 5.858 ± 0.352, n=4 |
| Difference between means | -0.7374 ± 0.4505 |
| 95% confidence interval | -1.84 to 0.365 |
| R squared (eta squared) | 0.3087 |

Uji Korelasi Pearson Antara Darah dan Organ Paru Uji

| | |
|--|--------------|
| | Jaringan Uji |
| | vs. |
| | Darah Uji |

| | |
|-----------------------------|------------------|
| Pearson r | |
| R | 0.971 |
| 95% confidence interval | 0.1481 to 0.9994 |
| R squared | 0.9428 |
| P value | |
| P (two-tailed) | 0.0290 |
| P value summary | * |
| Significant? (alpha = 0.05) | Yes |
| Number of XY Pairs | 4 |

Tabel 36. Uji Korelasi Pearson Antara Darah dan Organ Paru Kontrol

| | |
|--|------------------|
| | Jaringan Kontrol |
| | vs. |
| | Darah Kontrol |

| | |
|-----------------------------|------------------|
| Pearson r | |
| R | 0.9691 |
| 95% confidence interval | 0.1168 to 0.9994 |
| R squared | 0.9392 |
| P value | |
| P (two-tailed) | 0.0309 |
| P value summary | * |
| Significant? (alpha = 0.05) | Yes |
| Number of XY Pairs | |
| | 4 |

LAMPIRAN - 4 : Dokumentasi dan Alat Penelitian

Buah Kranberi (*Vaccinium macrocarpon* Aiton)

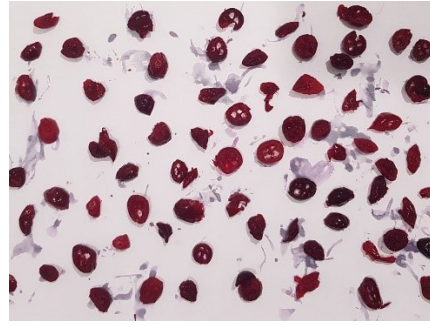


Tabung Maserasi buah Kranberi



Potongan buah Kranberi

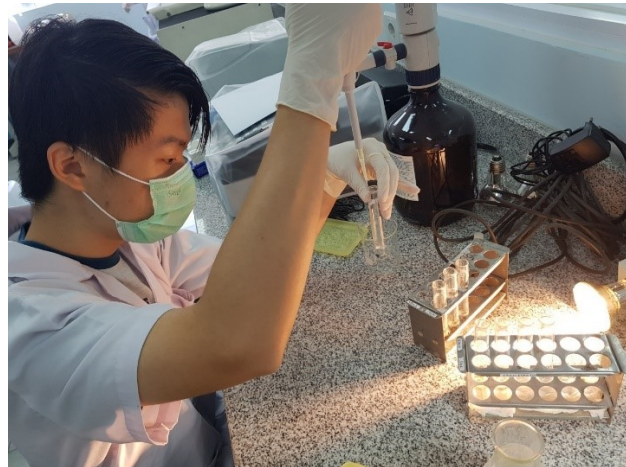
Pengeringan buah Kranberi



Evaporasi hasil maserasi



Pengerjaan BSLT



Botol kaca berisi pasta buah Kranberi



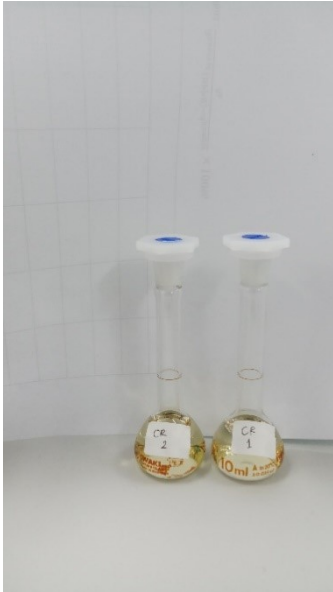
Larutan standar tanin berbagai konsentrasi



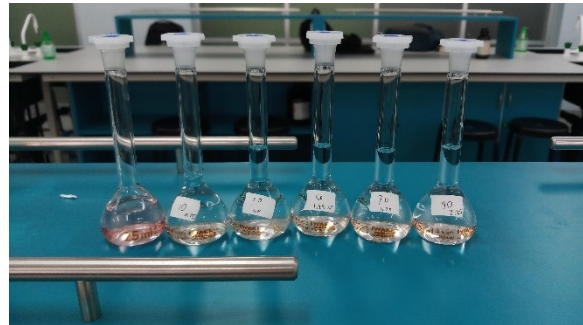
Pengerjaan TAC



Larutan sampel TPC



Larutan campuran ekstrak dan metanol untuk pengerjaan DPPH



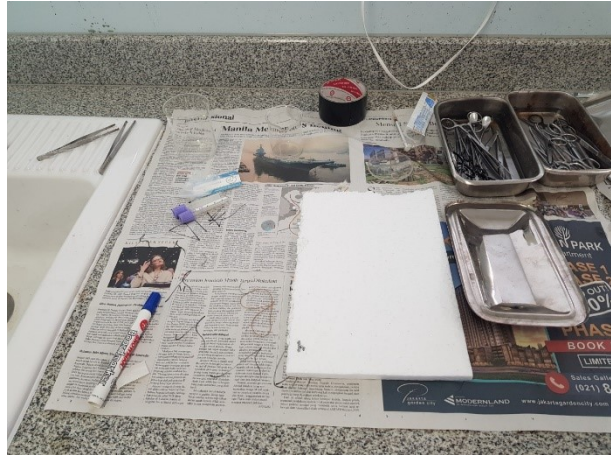
Gas

Larutan ekstrak buah Kranberi

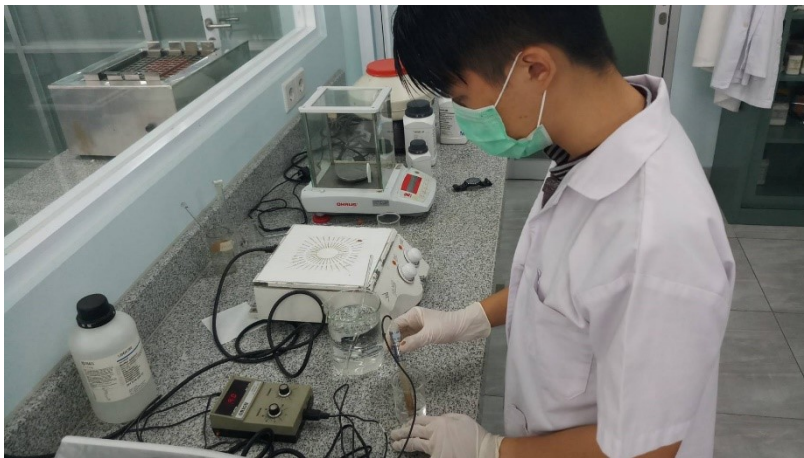


Soda Lime

Persiapan Bedah



Pengukuran pH menggunakan alat pH Meter



Pengambilan supernatan menggunakan *micropipete*



Homogenisasi menggunakan alat vortex



DAFTAR RIWAYAT HIDUP

DATA PRIBADI

- | | |
|--------------------------|-------------------------------------|
| 1. Nama | : Kelvin |
| 2. NIM | : 405160181 |
| 3. Jenis kelamin | : Laki-laki |
| 4. Tempat, Tanggal Lahir | : Palembang, 10 September 1999 |
| 5. Agama | : Buddha |
| 6. Status | : Belum Menikah |
| 7. Pendidikan Terakhir | : SMA |
| 8. Alamat | : Jalan Tanjung Duren Utara I No.97 |
| 9. Nomor Telepon | : 081990055599 (HP) |
| 10. Email | : handokokelvin@yahoo.com |

DATA PENDIDIKAN

1. 2003 – 2004 : TK Santo Yosef Lahat
2. 2004 – 2010 : SD Santo Yosef Lahat
3. 2010 – 2013 : SMP Santo Yosef Lahat
4. 2013 – 2016 : SMA Santo Yosef Lahat
5. 2016 – sekarang : Universitas Tarumanagara