

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK BUAH
*CRANBERRY (VACCINIUM MACROCARPON
AITON)* TERHADAP AKTIVITAS
SUPEROKSIDA DISMUTASE PADA JANTUNG
TIKUS *SPRAGUE DAWLEY* SETELAH
DIINDUKSI HIPOKSIA**

SKRIPSI



disusun oleh :

**SHERYN PUJIONO
405160123**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS TARUMANAGARA
JAKARTA
2019**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK BUAH
*CRANBERRY (VACCINIUM MACROCARPON
AITON)* TERHADAP AKTIVITAS
SUPEROKSIDA DISMUTASE PADA JANTUNG
TIKUS *SPRAGUE DAWLEY* SETELAH
DIINDUKSI HIPOKSIA**

SKRIPSI



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

**SHERYN PUJIONO
405160123**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS TARUMANAGARA
JAKARTA
2019**

PERNYATAAN ORISINALITAS KARYA ILMIAH

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Sheryn Pujiono

NIM : 405160123

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

Pengaruh Pemberian Ekstrak Buah *Cranberry (Vaccinium macrocarpon Aiton)*
Terhadap Aktivitas Superoksida Dismutase Pada Jantung Tikus *Sprague Dawley*
Setelah 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 plagiarism atau otoplagiarisme.

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

Jakarta, 5 Juni 2019

Penulis,

Sheryn Pujiono
405160123

PENGESAHAN SKRIPSI

Skripsi yang diajukan oleh:

Nama : Sheryn Pujiono

NIM : 405160123

Program Studi : Ilmu Kedokteran

Judul Skripsi :

Pengaruh Pemberian Ekstrak Buah *Cranberry (Vaccinium Macrocarpon Aiton)*
Terhadap Aktivitas Superoksida Dismutase Pada Jantung Tikus *Sprague Dawley*
Setelah Diinduksi Hipoksia

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

Pembimbing : dr. David Limanan, M.Biomed ()

DEWAN PENGUJI

Ketua Sidang : dr. Tom Surjadi, MPH., Sp.DLP ()

Penguji 1 : dr. Triyana Sari, M.Biomed ()

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

Mengetahui,

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

Ditetapkan di

Jakarta, 2 Juli 2019

PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Sheryn Pujiono

NIM : 405160123

Program Studi : Kedokteran

Fakultas : Kedokteran

Jenis Karya : Skripsi

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

“Pengaruh Pemberian Ekstrak Buah *Cranberry (Vaccinium Macrocarpon Aiton)*
Terhadap Aktivitas Superoksida Dismutase Pada Jantung Tikus *Sprague Dawley*
Setelah Diinduksi Hipoksia”

dengan menyantumkan Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara.

Jakarta, 5 Juni 2019

Penulis,

Sheryn Pujiono

405160123

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa, akhirnya penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan baik. Skripsi ini merupakan prasyarat agar dapat dinyatakan lulus sebagai Sarjana Kedokteran (S.Ked).

Selama proses penyusunan skripsi ini penulis mengalami banyak pembelajaran dan pengalaman khususnya dalam pelaksanaan penelitian. Oleh karena itu penulis menyampaikan ucapan terima kasih atas dukungan dalam penyusunan skripsi ini dari awal hingga akhir, kepada :

1. Dr. dr. Meilani Kumala, MS, Sp.GK(K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara dan Ketua Unit Penelitian dan Publikasi Ilmiah FK UNTAR;
 2. dr. David Limanan, M.Biomed selaku Dosen Pembimbing Skripsi, yang telah menyediakan waktu, tenaga, dan pikiran selama membimbing saya;
 3. Prof. Dr. dr. Frans Ferdinal, MS. selaku Kepala Laboratorium Biokimia dan Biologi Molekuler FK UNTAR, yang telah memberikan fasilitas untuk pengumpulan data penelitian;
 4. Ibu Eny selaku staf Laboratorium Biokimia dan Biologi Molekuler FK UNTAR
 5. Kedua orang tua dan keluarga saya, yang senantiasa menyemangati serta memberi dukungan material dan moral;
 6. Para sahabat, yang banyak membantu proses penyusunan skripsi
- Akhir kata, semoga skripsi ini membawa manfaat sebesar-besarnya bagi pengembangan ilmu pengetahuan dan kesehatan.

Jakarta, 5 Juni 2019

Penulis

Sheryn Pujiono

405160123

ABSTRACT

Oxidative stress is an imbalance condition between antioxidants and oxidants (free radicals) which can cause damage towards cardiac myocytes or myocardial infarction that leads to a heart failure. Hypoxia is a pathological condition when body system is lacks of oxygen that can increase free radicals or ROS (reactive oxygen species), so cells will use endogenous antioxidants such as superoxide dismutase (SOD) enzymes and exogenous antioxidants such as cranberry extract (Vaccinium macrocarpon Aiton). Aim of this study is to find the effect of cranberry extract on SOD activity in Sprague Dawley hearts after hypoxia induction. In-vitro was evaluated by phytochemical screening, DPPH test (Blois), total alkaloid content (Trivedi et al), total phenolic content (Singleton and Rossi), and toxicity (Meyer). Meanwhile in-vivo evaluation was carried out through SOD (Ransod®) level test. Thirty-two rats were divided into two groups, without extract administration, and treated group that given extract administration of 400 mg/kgBB/days extract for 14 days, each group then divided into four subgroups, normoxia, 1 day hypoxia (O₂ 10% and N₂ 90%), 7 days hypoxia, and 14 days hypoxia. Histopathological examination was performed by HE staining. The phytochemical screening results were positive in the alkaloid, anthocyanin and betacyanin, cardio glycosides, coumarin, flavonoids, glycosides, phenols, quinones, steroids, terpenoids, and tannins; DPPH test IC₅₀ = 49.760 µg / mL; total phenolic content = 351.640 µg / mL; total alkaloid content = 66.118 ug / mL; toxicity LC₅₀ = 15.081 µg / mL. In vivo test showed a decrease in SOD activity according to the duration of hypoxia implementation. The treated group had higher SOD activity. Heart histopathology shows the existence of myocyte necrosis. So, it can be concluded that cranberries have anticancer and antioxidant activities that able to help SOD protects the body from free radicals in Sprague Dawley blood and heart induced by hypoxia.

Keywords : Hypoxia, SOD, cranberry, blood, heart

ABSTRAK

Stres oksidatif adalah keadaan ketidakseimbangan antara antioksidan dan oksidan (radikal bebas) yang dapat menyebabkan kerusakan miosit jantung atau infark miokard sehingga dapat berujung pada gagal jantung. Hipoksia, yang merupakan keadaan patologis akibat jaringan tubuh kekurangan oksigen dapat meningkatkan radikal bebas atau *reactive oxygen species* (ROS), sehingga sel akan menggunakan antioksidan endogen seperti enzim superoksida dismutase (SOD) dan antioksidan eksogen seperti metabolit sekunder ekstrak buah *cranberry* (*Vaccinium macrocarpon* Aiton). Penelitian ini ditujukan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak buah *cranberry* terhadap aktivitas SOD jantung tikus *Sprague Dawley* setelah diinduksi hipoksia. Evaluasi secara *in vitro* dilakukan melalui uji fitokimia, uji kapasitas total antioksidan DPPH (Blois), uji kadar alkaloid (Trivedi), uji kadar fenolik (Singleton dan Rossi), serta uji BSLT (Meyer). Evaluasi secara *in vivo* dilakukan melalui uji aktivitas SOD (Ransod[®]). Tiga puluh dua tikus dibagi menjadi dua kelompok, kelompok tidak dicekok dan kelompok dicekok ekstrak buah *cranberry* sebanyak 400 mg/kgBB/hari (selama 14 hari), yang masing-masing dibagi empat subgroup yaitu normoksia, hipoksia (O₂ 10% dan N₂ 90%) 1 hari, hipoksia 7 hari, dan hipoksia 14 hari. Pemeriksaan histopatologi dilakukan dengan pewarnaan HE. Pada uji fitokimia didapatkan hasil positif pada uji alkaloid, *anthocyanin* dan *betacyanin*, *cardio glycosides*, *coumarins*, *flavonoids*, *glycosides*, *phenols*, *quinones*, *steroids*, *terpenoids*, dan *tannin*; uji kapasitas total antioksidan IC₅₀ = 49,760 µg/mL; kadar fenolik total = 351,640 µg/mL; kadar alkaloid total = 66,118 µg/mL; uji toksisitas LC₅₀ = 15,081 µg/mL. Uji *in vivo* menunjukkan adanya penurunan aktivitas SOD sesuai dengan lamanya perlakuan hipoksia. Kelompok cekok memiliki hasil aktivitas SOD lebih tinggi dibandingkan kelompok tidak cekok. Histopatologi jantung terlihat adanya nekrosis miosit. Sehingga dapat disimpulkan bahwa buah *cranberry* memiliki potensi antikanker dan aktivitas antioksidan yang mampu membantu SOD dalam menangkal radikal bebas pada jantung dan darah tikus *Sprague Dawley*.

Kata Kunci : Hipoksia, SOD, kranberi, darah, jantung

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
PERNYATAAN ORISINALITAS KARYA ILMIAH	ii
PENGESAHAN SKRIPSI	iii
PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH	iv
KATA PENGANTAR	v
ABSTRACT	vi
ABSTRAK	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR SINGKATAN	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xv
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	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Hipoksia	6
2.2 <i>Reactive Oxygen Species</i> (ROS)	6
2.3 Stres Oksidatif.....	8
2.4 Superoksida Dismutase (SOD, EC 1.15.1.1)	9
2.5 Antioksidan	10
2.6 Jantung	11
2.7 Kerusakan Jantung karena ROS.....	12
2.8 <i>Cranberry</i>	13
2.9 Kerangka Teori.....	15
2.10 Kerangka Konsep.....	16
BAB 3 METODE PENELITIAN	17
3.1 Desain Penelitian.....	17
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	17
3.3 Populasi dan Sampel Penelitian	17
3.4 Perkiraan Besar Sampel	17
3.5 Kriteria Inklusi dan Eksklusi.....	18
3.5.1 Kriteria Inklusi	18
3.5.2 Kriteria Eksklusi	19
3.6 Cara Kerja / Prosedur Kerja Penelitian	19
3.6.1 Pengumpulan Sampel Buah <i>Cranberry</i>	19
Universitas Tarumanagara	viii

3.6.2	Identifikasi Tumbuhan	19
3.6.3	Pembuatan Ekstrak Buah <i>Cranberry</i>	19
3.6.4	Uji Fitokimia Berdasarkan <i>Harborne</i> ³⁸	19
3.6.5	Uji DPPH dengan Metode <i>Blois</i> ³⁹	21
3.6.6	Uji Kadar Fenolik Total dengan Metode <i>Singleton dan Rossi</i> ⁴⁰	23
3.6.7	Uji Kadar Alkaloid Total (<i>Trivedi et al</i>) ⁴¹	24
3.6.8	Uji Toksisitas <i>Brine Shrimp Lethality Test</i> dengan Metode <i>Meyer</i> ⁴² ..	25
3.6.9	Perlakuan Hipoksia	26
3.6.10	Pencekohan pada Hewan Coba	26
3.6.11	Pengambilan Sampel Darah dan Organ Tikus	26
3.6.12	Pembuatan Plasma Darah.....	27
3.6.13	Pembuatan Homogenat	27
3.6.14	Pengukuran Aktivitas Superoksida Dismutase (SOD) pada Organ Jantung dan Darah.....	27
3.6.15	Pembuatan Sediaan Patologi Anatomi Jantung	30
3.7	Variabel Penelitian	31
3.7.1	Variabel Bebas	31
3.7.2	Variabel Terikat	31
3.7.3	Variabel Antara	31
3.8	Definisi Operasional.....	31
3.8.1	Hipoksia	31
3.8.2	Superoksida dismutase (SOD)	31
3.9	Instrumen Penelitian.....	32
3.9.1	Alat Penelitian.....	32
3.9.2	Bahan Penelitian	32
3.10	Pengumpulan Data	32
3.11	Analisis Data	32
3.12	Alur Penelitian	33
3.13	Jadwal Pelaksanaan.....	34
	BAB 4 HASIL PENELITIAN	35
4.1	Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Buah <i>Cranberry</i>	35
4.2	Uji Kapasitas Antioksidan.....	35
4.2.1	Panjang Gelombang Maksimum DPPH.....	35
4.2.2	Hasil Uji Larutan Pembanding Uji DPPH : Vitamin C (Asam Askorbat)	36
4.2.3	Uji DPPH Sampel Ekstrak Buah <i>Cranberry</i>	37
4.3	Uji Fenolik	38
4.4	Uji Alkaloid.....	39
4.5	Uji Toksisitas Buah <i>Cranberry</i>	40

4.6 Hasil Pengukuran Aktivitas Enzim Superoksida Dismutase (SOD) pada Hewan Coba.....	41
4.6.1 Kurva Standar SOD	41
4.6.2 Aktivitas SOD pada Jantung Hewan Coba	42
4.6.3 Aktivitas SOD pada Plasma Darah Hewan Coba	45
4.6.4 Korelasi Aktivitas SOD pada Jantung dan Plasma Darah Hewan Coba.....	48
4.7 Hasil Pemeriksaan Patologi Anatomi pada Jantung Hewan Coba.....	50
BAB 5 PEMBAHASAN	51
5.1 Hasil Uji Fitokimia.....	51
5.2 Hasil Uji DPPH.....	52
5.3 Hasil Uji Fenolik dan Alkaloid	53
5.4 Hasil Uji Toksisitas <i>Brine Shrimp Lethality Test</i>	53
5.5 Aktivitas SOD	54
5.6 Hasil Pemeriksaan Histopatologi Jantung pada Hewan Coba	55
5.7 Keterbatasan Penelitian.....	56
BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN	57
6.1 Kesimpulan	57
6.2 Saran.....	58
DAFTAR PUSTAKA	59
LAMPIRAN.....	63
DAFTAR RIWAYAT HIDUP	93

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1	Komposisi Reagen Superoksida Dismutase (SOD).....	28
Tabel 3.2	Prosedur Kerja Pengukuran Dismutase (SOD).....	29
Tabel 3.3	Jadwal Pelaksanaan.....	34
Tabel 4.1	Hasil Uji Fitokimia Kualitatif Ekstrak Buah <i>Cranberry</i>	35
Tabel 4.2	Persen Inhibisi dan IC-50 Standar Vitamin C (Asam Askorbat).....	36
Tabel 4.3	Persen Inhibisi dan IC-50 DPPH Sampel.....	37
Tabel 4.4	Konsentrasi dan Absorbansi Larutan Standar Tanin.....	38
Tabel 4.5	Kadar Fenolik Ekstrak Buah <i>Cranberry</i>	39
Tabel 4.6	Konsentrasi dan Absorbansi Larutan Standar <i>Berberine Chloride</i>	39
Tabel 4.7	Kadar Alkaloid Rata-Rata Ekstrak Buah <i>Cranberry</i>	40
Tabel 4.1	Data <i>Brine Shrimp Lethality Test</i>	40
Tabel 4.9	Hasil Aktivitas Standar SOD	41
Tabel 4.10	Rata-rata Aktivitas SOD Jantung Kelompok Tidak Cekok.....	43
Tabel 4.11	Rata-rata Aktivitas SOD Jantung Kelompok Cekok.....	44
Tabel 4.12	Rata-rata Aktivitas SOD Plasma Kelompok Cekok.....	46
Tabel 4.13	Rata-rata Aktivitas SOD Plasma Kelompok Cekok.....	47

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Peran SOD Terhadap Regulasi Homeostasis dan <i>Signaling Cell</i>	9
Gambar 2.2 Organ Jantung	11
Gambar 2.3 <i>Vaccinium macrocarpon Aiton</i>	13
Gambar 2.4 Kerangka Teori.....	15
Gambar 2.5 Kerangka Konsep	16
Gambar 3.1 Alur Penelitian.....	33
Gambar 4.1 Absorbansi Maksimum DPPH	36
Gambar 4.2 Grafik Persen Inhibisi Terhadap Konsentrasi Standar Vitamin C ..	37
Gambar 4.3 Grafik Persen Inhibisi Terhadap Konsentrasi DPPH Sampel	38
Gambar 4.4 Grafik Konsentrasi Terhadap Absorbansi Tanin.....	39
Gambar 4.5 Grafik Absorbansi Standar Terhadap Konsentrasi Alkaloid.....	40
Gambar 4.6 Grafik Log Konsentrasi Terhadap % Mortalitas	41
Gambar 4.7 Grafik Kurva Standar SOD	42
Gambar 4.8 Aktivitas SOD Jantung Kelompok Hewan Coba Cekok.....	43
Gambar 4.9 Aktivitas SOD Jantung Kelompok Hewan Coba Tidak Cekok	44
Gambar 4.10 Perbandingan Aktivitas SOD Jantung Kelompok Hewan Coba	45
Gambar 4.11 Aktivitas SOD Plasma Kelompok Hewan Coba Cekok.....	46
Gambar 4.12 Aktivitas SOD Darah Kelompok Hewan Coba Tidak Cekok.....	47
Gambar 4.13 Perbandingan Aktivitas SOD Darah Kelompok Hewan Coba.....	48
Gambar 4.14 Korelasi Aktivitas SOD pada Jantung dan Darah Hewan Coba Cekok	49
Gambar 4.15 Korelasi Aktivitas SOD pada Jantung dan Darah Hewan Coba Tidak Cekok	49
Gambar 4.16 Histopatologi Jantung Kelompok Hipoksia	50

DAFTAR SINGKATAN

A	: Absorbansi
ATM	: <i>Ataxia-telangiectasia mutated</i>
ATP	: <i>Adenosine triphosphate</i>
BCG	: <i>Bromocresol Green</i>
BSLT	: <i>Brine Shrimp Lethality Test</i>
cc	: <i>Cubic centimetre</i>
CAT	: Katalase
CO ₂	: Karbondioksida
Cu/ZnSOD	: <i>Zinc SOD</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
DPPH	: <i>2,2-difenil-1-pikrilhidrazil</i>
EcSOD	: Ekstraseluler SOD
EDTA	: <i>Ethylenediaminetetraacetic acid</i>
ETC	: <i>Electron transport chain</i>
Fe ²⁺	: <i>Ferro (besi)</i>
FeCl ₃	: <i>Ferric chloride</i>
g	: Gram
GPx	: Glutation peroksidase
HCL	: <i>Hydrochloric Acid</i>
HDL	: <i>High-density lipoprotein</i>
HE	: <i>Hematoxylin Eosin</i>
HIF-1	: <i>Hypoxia Inducible Factor-1</i>
HO ₂ [*]	: <i>Hydroperoxyl</i>
HOCl	: <i>Hypochlorous acid</i>
HREs	: <i>Hypoxia response elements</i>
H ₂ O ₂	: <i>Hydrogen peroxide</i>
H ₂ SO ₄	: Asam Sulfat
IC-50	: <i>Inhibitory concentration 50</i>
IL	: Interleukin
kg	: Kilogram
LC ₅₀	: <i>Lethality Concentration 50</i>
LDL	: <i>Low-density lipoprotein</i>
LPS	: Lipopolisakarida
MAPK	: <i>Mitogen-activated protein kinases</i>
mg	: Miligram
mL	: Mililiter
MM	: Matriks mitokondria
mmol	: Milimol
MMP	: Matriks metaloprotease
MnSOD	: <i>Manganese SOD</i>
mtDNA	: <i>Mitochondrial DeoxyriboNucleic Acid</i>
N	: Newton
N ₂	: Nitrogen
NaCl	: <i>Sodium chloride</i>
NADPH	: <i>Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate</i>

Na ₂ CO ₃	: Natrium Karbonat
NF-κB	: <i>Nuclear Factor Kappa Beta</i>
nm	: Nanometer
NO	: <i>Nitric oxide</i>
O ₂	: Oksigen
O ₂ ⁻	: <i>Superoxide anion</i>
O ₃	: <i>Ozone</i>
OH [•]	: <i>Reactive hydroxyl</i>
PA	: Patologi Anatomi
Pb	: <i>Plumbum</i> (Timbal)
PGC1-α	: <i>Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator 1 alpha</i>
pH	: <i>Potential of Hydrogen</i>
PHD	: <i>Dependent prolyl hydroxylases</i>
PI3K/AKT	: <i>Phosphatidylinositol-3-kinase</i>
ppm	: <i>Parts-per-million</i>
ROS	: <i>Reactive oxygen species</i>
RNS	: <i>Reactive nitrogen species</i>
RO ₂	: <i>Peroxyl</i>
rpm	: <i>Revolutions Per Minute</i>
RTK	: <i>Receptor tyrosine kinase</i>
SOD	: Superoksida dismutase
TCA	: <i>Tricarboxylic acid</i>
TLR4	: <i>Toll like receptor</i>
TNF	: <i>Tumor necrosis factor-alpha</i>
VHL	: Von Hippel-Lindau
WHO	: <i>World Health Organization</i>
μL	: Mikroliter
μM	: Mikrometer
μg	: Mikrogram

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Kaji Etik.....	63
Lampiran 2 Identifikasi Tumbuhan LIPI.....	64
Lampiran 3 Hasil Uji In Vitro.....	65
Lampiran 4 Hasil Absorbansi SOD (In Vivo).....	68
Lampiran 5 Hasil Aktivitas SOD (In Vivo).....	72
Lampiran 6 Hasil <i>Collumn Statistic</i>	75
Lampiran 7 Regresi Linear Perbandingan Aktivitas SOD.....	78
Lampiran 8 Dokumentasi.....	90