

**PENGARUH EKSTRAK  
DAUN RASBERI TERHADAP KADAR  
*MALONDYALDEHIDE* (MDA) JANTUNG DAN  
DARAH TIKUS YANG DIINDUKSI HIPOKSIA**

**SKRIPSI**



**Disusun oleh**

**MARIA OLIVIA ANGELINE WIJANTO  
405160175**

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS TARUMANAGARA  
JAKARTA  
2019**

**PENGARUH EKSTRAK  
DAUN RASBERI TERHADAP KADAR  
*MALONDYALDEHIDE* (MDA) JANTUNG DAN  
DARAH TIKUS YANG DIINDUKSI HIPOKSIA**

**SKRIPSI**



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

**MARIA OLIVIA ANGELINE WIJANTO**

**405160175**

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS TARUMANAGARA  
JAKARTA  
2019**

## HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Maria Olivia Angeline Wijanto

NIM : 405160175

Dengan ini menyatakan dan menjamin bahwa skripsi yang saya serahkan kepada Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara berjudul “Pengaruh Ekstrak Daun Rasberi Terhadap Kadar *Malondyaldehyde* (MDA) Jantung dan Darah 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, 2 Juli 2019

Penulis,

(Maria Olivia Angeline Wijanto)

405160175

## HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi yang diajukan oleh :

Nama : Maria Olivia Angeline Wijanto

NIM : 405160175

Program Studi : Ilmu Kedokteran

Judul : Pengaruh Ekstrak Daun Rasberi Terhadap Kadar *Malondyaldehyde* (MDA) Jantung dan Darah Tikus Yang Diinduksi Hipoksia

**Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran (S. Ked.) pada Program Studi Sarjana Kedokteran Fakultas Kedokteran, Universitas Tarumanagara.**

### DEWAN PENGUJI

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

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

Penguji 1 : Dr., Dra., Helmi, M.Sc ( )

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

### Mengetahui,

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

Ditetapkan di : Jakarta

Tanggal : 2 Juli 2019

## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa, penulis akhirnya dapat menyelesaikan skripsi dengan baik. Skripsi ini merupakan prasyarat agar dapat dinyatakan lulus sebagai Sarjana Kedokteran. Selama proses pendidikan mulai dari awal hingga akhir, banyak sekali pengalaman yang didapatkan oleh penulis untuk berkarir sebagai dokter di kemudian hari.

Selama proses penyusunan skripsi ini, penulis mengucapkan terima kasih kepada beberapa pihak yang telah mendukung keberhasilan penyusunan skripsi ini.

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada:

1. Prof. Dr. dr. Frans Ferdinal, M.S selaku pembimbing dan kepala bagian departemen Biokimia dan Biologi Molekuler Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara.
2. dr. David Limanan, M.Biomed
3. Ibu Dr., Dra., Helmi, M.Sc
4. Ibu Eny Yulianti, S.E selaku staff Bagian Biokimia dan Biologi Molekuler Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara.
5. Orang tua dan adik saya Joycelyn Oey yang telah memberikan dukungan dan doa sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi ini.
6. Serta teman-teman yang memberikan semangat dan ikut serta dalam penelitian ini.

Akhir kata, semoga Tuhan Yang Maha Esa berkenan membalas semua kebaikan semua pihak yang telah membantu. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi perkembangan ilmu.

Jakarta, 2 Juli 2019

Penulis

# HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Maria Olivia Angeline Wijanto

NIM : 405160175

Program Studi : Sarjana Kedokteran

Fakultas : Kedokteran

Jenis karya : Skripsi

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

“Pengaruh Ekstrak Daun Rasberi Terhadap Kadar *Malondyaldehyde* (MDA) Jantung dan Darah Tikus Yang Diinduksi Hipoksia”

Serta mencantumkan nama Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Jakarta, 2 Juli 2019

Yang menyatakan,

(Maria Olivia Angeline Wijanto)

405160175

## ABSTRAK

Jantung yang kekurangan oksigen akan mengalami hipoksia, berdampak pada peningkatan *reactive oxygen species* (ROS) yang melebihi kapasitas antioksidan sehingga menyebabkan stres oksidatif. Stres oksidatif pada jantung dapat menyebabkan berbagai penyakit seperti jantung iskemik, aterosklerotik, dan lain-lain. Salah satu petanda stres oksidatif yang dapat diukur adalah *Malondialdehyde* (MDA). Untuk menghambat stres oksidatif, dibutuhkan antioksidan eksogen yang dapat diperoleh dari tanaman seperti daun rasberi (*Rubus idaeus* L.). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun rasberi terhadap kadar *Malondialdehyde* (MDA) jantung dan darah tikus yang diinduksi hipoksia. Penelitian ini dilakukan secara *in vitro* yang terdiri atas uji fitokimia, kapasitas antioksidan (DPPH), uji fenolik, uji alkaloid serta uji toksisitas. Uji *in-vivo* dengan tikus *Sprague-Dawley* yang dibagi menjadi 8 kelompok (n=4), terdiri dari kelompok diberi ekstrak (400mg/kgBB/hari dibagi dalam 2 kali pemberian dalam satu hari selama 14 hari) dan tidak diberi ekstrak daun rasberi. Perlakuan hipoksia (10 % O<sub>2</sub>, 90 % N<sub>2</sub>) dibagi menjadi normoksia, hipoksia 1, 7, 14 hari. Pemeriksaan MDA dilakukan dengan menggunakan metode Wills E.D dan pemeriksaan histopatologi dengan pewarnaan *Hematoxylin-Eosin*. Didapatkan hasil positif uji fitokimia (alkaloid, antosianin dan betasianin, kardio glikosida, kumarin, flavonoid, glikosida, fenolik, kuinon, steroid, terpenoid, dan tanin), kapasitas antioksidan IC<sub>50</sub>: 96,28 µg/mL, kadar fenolik: 1137,40 µg/mL, kadar alkaloid: 72,24 µg/mL, dan toksisitas LC<sub>50</sub>: 147,91 µg/mL. Terdapat peningkatan bermakna (*Mann-Whitney* p<0.05) kadar MDA jantung dan darah berdasarkan lamanya hipoksia dibandingkan dengan normoksia pada kelompok yang diberi maupun yang tidak diberi ekstrak dan didapatkan kadar MDA yang lebih tinggi pada kelompok yang tidak diberi ekstrak dibandingkan dengan kelompok yang diberi ekstrak. Tidak terdapat korelasi antara jantung dengan darah tikus yang diberi maupun yang tidak diberi ekstrak. Pada pemeriksaan histopatologi jantung tikus yang diinduksi hipoksia yang diberi ekstrak mengalami kelainan minimal bila dibandingkan dengan tidak diberi ekstrak. Maka dari itu dapat disimpulkan bahwa daun rasberi memiliki efek antioksidan serta berpotensi sebagai anti-mitotik.

Kata kunci: *Rubus idaeus* L., Hipoksia, Stres Oksidatif, MDA, Antioksidan, Jantung.

## **ABSTRACT**

*A heart that is deficient in oxygen will experience hypoxia, resulting in an increase in reactive oxygen species (ROS) that exceeds antioxidant capacity causing oxidative stress. Oxidative stress in the heart can cause various diseases such as ischemic heart, atherosclerotic, and others. One of the markers of oxidative stress that can be measured is the oxidation of Malondialdehyde (MDA). To inhibit oxidative stress, exogenous antioxidants can be obtained from plants such as raspberry leaves (*Rubus idaeus L.*). This study aims to determine the effect of raspberry leaf extract on Malondialdehyde (MDA) levels the heart and blood of mice induced by hypoxia. This study was conducted in vitro consisting of phytochemical tests, antioxidant capacity (DPPH), phenolic test, alkaloid test and toxicity test. The in-vivo test with Sprague-Dawley rats divided into 8 groups ( $n = 4$ ), consisted of groups given extracts (400mg / kgBB / day divided into twice a day for 14 days) and not given raspberry leaf extract. The treatment of hypoxia (10 % O<sub>2</sub>, 90 % N<sub>2</sub>) is divided into normoxia, hypoxia 1, 7, 14 days. MDA examination was performed using the Wills E.D method and histopathological examination with Hematoxylin-Eosin staining. The results of phytochemical tests is positive (alkaloid, anthocyanin and betasianin, cardio glycosides, koumarin, flavonoids, glycosides, phenolics, quinones, steroids, terpenoids, and tannins), antioxidant capacity of IC<sub>50</sub>: 96.28 µg / mL, phenolic levels: 1137.40 µg / mL, alkaloid levels: 72.24 µg / mL, and toxicity of LC<sub>50</sub>: 147.91 µg / mL. There was a significant increase (Mann-Whitney  $p < 0.05$ ) MDA level of heart and blood based on the duration of hypoxia compared with normoxia in the given and non-extracted groups and obtained a higher MDA level in the non-extracted group compared with extracted. There was no correlation between the heart and the blood of the rats given or not given the extract. On the histopathological examination of heart hypoxic induced rats extracted experienced minimal abnormalities when compared with no extract. Therefore, it can be concluded that raspberry leaves have antioxidant effects and have the potential to be anti-mitotic.*

*Keywords: *Rubus idaeus L.*, Hypoxia, Oxidative Stress, MDA, Antioxidants, Heart.*



## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	i
<b>HALAMAN PERNYATAAN ORISINILITAS</b> .....	ii
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	iii
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	iv
<b>HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI</b> .....	v
<b>ABSTRAK</b> .....	vi
<b>ABSTRACT</b> .....	vii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	viii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xi
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xii
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xiii
<b>DAFTAR SINGKATAN</b> .....	xiv
<b>BAB 1 PENDAHULUAN</b> .....	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 .....	3
1.4.1.Tujuan Umum .....	3
1.4.2.Tujuan Khusus .....	3
1.5.Manfaat Penelitian .....	4
<b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	5
2.1.Oksigen .....	5
2.2. <i>Reactive Oxygen Species (ROS)</i> .....	6
2.3.Hipoksia .....	8
2.4.Stres Oksidatif .....	9
2.5.Jantung .....	10
2.6.Antioksidan .....	11
2.7.Malondialdehida (MDA) .....	12
2.8.Rasberi .....	14
2.9.Ekstraksi .....	15
2.10.Pelarut .....	17
2.11.Kerangka Teori .....	19
2.12.Kerangka Konsep .....	20
<b>BAB 3 METODOLOGI PENELITIAN</b> .....	21
3.1.Desain Penelitian .....	21
3.2.Tempat dan Waktu .....	21
3.3.Populasi dan Sampel Penelitian .....	21
3.4.Perkiraan Besar Sampel .....	22
3.5.Keterangan Lolos Kaji Etik .....	22
3.6.Cara Kerja Penelitian .....	23
3.6.1.Pengumpulan Sampel Daun Rasberi .....	23
3.6.2.Identifikasi Daun Rasberi .....	23

3.6.3. Pengolahan Ekstrak Daun Rasberi .....	23
3.6.4. Uji Fitokimia .....	23
3.6.4.1. Uji Alkaloid .....	23
3.6.4.2. Uji Fenolik .....	24
3.6.4.3. Uji <i>Antocyanin dan Betacyanin</i> .....	24
3.6.4.4. Uji <i>Cardioglycosides</i> .....	24
3.6.4.5. Uji <i>Coumarins</i> .....	24
3.6.4.6. Uji Flavonoid .....	24
3.6.4.7. Uji <i>Glycosides</i> .....	25
3.6.4.8. Uji Kuinon .....	25
3.6.4.9. Uji <i>Sapponins</i> .....	25
3.6.4.10. Uji <i>Steroids</i> .....	25
3.6.4.11. Uji <i>Terpenoids</i> .....	25
3.6.4.12 Uji Tannins .....	26
3.6.5. Uji Kapasitas Total DPPH Ekstrak Daun Rasberi .....	26
3.6.5.1. Penentuan Panjang Gelombang Optimal DPPH .....	26
3.6.5.2. Penentuan Standart Pembanding Vitamin C .....	26
3.6.5.3. Uji antioksidan Ekstrak Daun Rasberi .....	26
3.6.6. Perhitungan uji kapasitas total antioksidan .....	27
3.6.7. Pengukuran kadar Fenolik .....	27
3.6.7.1. Pembuatan Standart Fenolik .....	27
3.6.7.2 Uji Ekstrak Daun Rasberi .....	27
3.6.8 Pengukuran Kadar Alkaloid .....	28
3.6.8.1 Pembuatan Berberine Chloride .....	28
3.6.8. 2 Pembuatan Larutan Standart .....	28
3.6.8.3 Pembuatan Larutan Ekstrak Daun Rasberi .....	28
3.6.9 Pengukuran Toksisitas Esktrak Daun Rasberi dengan BSLT .....	28
3.6.9.1. Penetasan Larva Udang <i>Artemia Salina</i> .....	28
3.6.9.2. Pembuatan Ekstrak Sampel .....	29
3.6.9.3 Uji Toksisitas Secara Duplo .....	29
3.6.10. Pembagian Kelompok Tikus <i>Sprague-Dawley</i> .....	29
3.6.11. Perlakuan Hipoksia .....	29
3.6.12. Pemberian Cekokan Ekstrak Daun Rasberi .....	30
3.6.13. Pengambilan Organ Jantung dan Darah Tikus .....	30
3.6.14. Pembuatan Homogenat Organ Jantung .....	31
3.6.15 Pembuatan Sampel Darah .....	31
3.7. Pengukuran Kadar MDA .....	31
3.8. Pemeriksaan Histopatologi .....	33
3.8.1. Pembuatan Blok Parafin .....	33
3.8.2 Pembuatan Pulasan Hematoxilin .....	33
3.9. Variabel Penelitian .....	34
3.9.1. Variabel Bebas .....	34
3.9.2 Variabel Terikat .....	34
3.9.3. Variabel Antara .....	34
3.10. Definisi Operasional .....	34
3.10.1 Hipoksia .....	34
3.10.2. MDA .....	35
3.11. Instrumen Penelitian .....	35

3.12. Pengumpulan Data .....	35
3.13 Analisis Data .....	36
3.14. Alur Penelitian .....	37
<b>BAB 4 HASIL PENELITIAN</b> .....	38
4.1. Uji Fitokimia Ekstrak Daun Rasberi .....	38
4.2. Uji DPPH Ekstrak Daun Rasberi .....	38
4.2.1. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum .....	38
4.2.2. Uji Kapasitas Antioksidan Ekstrak Daun Rasberi .....	39
4.2.3. Kapasitas Antioksidan Vitamin C (Asam Askorbat) .....	40
4.3. Penentuan Kadar Fenolik Total Ekstrak Daun Rasberi.....	41
4.4. Penentuan Kadar Alkaloid Konten Ekstrak Daun Rasberi .....	42
4.4.1. Penentuan Standar <i>Berberine Chloride</i> .....	42
4.5. Uji Toksisitas BSLT.....	44
4.6. Hasil Uji Kadar <i>Malondyaldehyde</i> (MDA) Pada Hewan Coba.....	45
4.6.1. Kurva Standar <i>Malondyaldehyde</i> (MDA) .....	45
4.6.2. Kadar <i>Malondyaldehyde</i> (MDA) Pada Darah Tikus .....	46
4.6.3 Kadar <i>Malondyaldehyde</i> (MDA) Pada Jantung Tikus.....	46
4.7. Korelasi Kadar MDA Darah Dengan Jantung .....	52
4.8 Hasil Pemeriksaan Patologi Anatomi Organ Jantung .....	53
<b>BAB 5 PEMBAHASAN</b> .....	55
5.1. Hasil Uji Invitro .....	55
5.1.1 Hasil Uji Kualitatif Fitokimia .....	55
5.1.2. Hasil Uji Kapasitas Total Antioksidan Ekstrak Daun Rasberi .....	55
5.1.3. Hasil Uji Kadar Fenolik Total.....	56
5.1.4. Hasil Uji Kadar Alkaloid Total.....	56
5.1.5. Hasil Uji Toksisitas dengan BSLT.....	56
5.2. Hasil Uji In Vivo .....	57
5.2.1. Hasil Uji Kadar <i>Malondyaldehyde</i> (MDA) Pada Hewan Coba.....	57
5.2.2. Hasil Pemeriksaan Histopatologi Jantung Tikus.....	57
<b>BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN</b> .....	60
6.1. Kesimpulan .....	60
6.2. Saran.....	61
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	62
<b>LAMPIRAN</b>	

## DAFTAR TABEL

Tabel 4.1. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Daun Rasberi.....	38
Tabel 4.2. Konsentrasi Absorbansi persen Inhibisi&LC <sub>50</sub> Ekstrak Rasberi.....	39
Tabel 4.3. Hasil Uji Kapasitas Antioksidan Vitamin C .....	41
Tabel 4.4. Kadar Fenol Daun Rasberi .....	42
Tabel 4.5. Kadar Alkaloid Total.....	43
Tabel 4.6. Angka Mortalitas (%) dan LC <sub>50</sub> Berdasarkan Konsentrasi Ekstrak Daun Rasberi.....	46
Tabel 4.7. Kadar MDA Darah Tikus yang Tidak Dicekok Ekstrak Daun Rasberi .....	48
Tabel 4.8. Kadar MDA Darah Tikus yang Dicekok Ekstrak Daun Rasberi.....	49
Tabel 4.9. Kadar MDA Organ Jantung Tikus yang Tidak Dicekok Ekstrak Daun Rasberi.....	51
Tabel 4.10. Kadar <i>Malondialdehyde</i> (MDA) Jantung Tikus yang Dicekok Rasberi.....	52

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Reaksi Haber Weiss & Reaksi Fenton.....	7
Gambar 2.2	Struktur MDA.....	12
Gambar 2.3	Pembentukan MDA.....	13
Gambar 2.4	Gambar Rasberi.....	14
Gambar 2.5	Kerangka Teori.....	19
Gambar 2.6	Kerangka Konsep.....	20
Gambar 3.1	Alur Penelitian.....	37
Gambar 4.1	Gambar Rasberi.....	39
Gambar 4.2	Kurva Persentasi Inhibisi Ekstrak Daun Rasberi.....	40
Gambar 4.3	Kurva Presentase Inhibisi Asam Askorbat.....	41
Gambar 4.4	Kurva Standar Tanin.....	42
Gambar 4.5	Kurva Penentuan Kadar Alkaloid Standar Berberine Chloride	43
Gambar 4.6	Angka Mortalitas Terhadap Log Konsentrasi Sampel.....	44
Gambar 4.7	Kurva Standar MDA.....	45
Gambar 4.8	Kadar MDA Darah Tikus Yang Tidak Dicekok Ekstrak Rasberi.....	46
Gambar 4.9	Kadar MDA Darah Tikus Yang Dicekok Ekstrak Rasberi.....	47
Gambar 4.10	Perbandingan Kadar MDA Darah Tikus yang Dicekok dengan yang Tidak Dicekok Ekstrak Daun Rasberi.....	48
Gambar 4.11	Kadar MDA Jantung Tikus Yang Tidak Dicekok Ekstrak Rasberi.....	49
Gambar 4.12	Kadar MDA Jantung Tikus Yang Dicekok Ekstrak Rasberi....	50
Gambar 4.13	Perbandingan Kadar MDA Jantung Tikus yang Tidak Dicekok dengan yang Dicekok Ekstrak Daun Rasberi.....	51
Gambar 4.14	Korelasi Kadar MDA Darah dengan Jantung Pada Kelompok yang Tidak Dicekok Ekstrak Daun Rasberi.....	52
Gambar 4.15	Korelasi Kadar MDA Darah dengan Jantung Pada Kelompok yang Dicekok Ekstrak Daun Rasberi.....	52
Gambar 4.16	Histopatologi Jantung Tikus yang Diberi Perlakuan Hipoksia 14 Hari dan Diberi Ekstrak Daun Rasberi.....	53
Gambar 4.17	Histopatologi Jantung Tikus yang Diberi Perlakuan Hipoksia 14 Hari dan Tidak Diberi Ekstrak Daun Rasberi.....	54

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Lembar Persetujuan Etik untuk Hewan.....	67
Lampiran 2	Tanaman Rasberi .....	68
Lampiran 3	Identifikasi Tanaman .....	69
Lampiran 4	Dokumentasi Alat dan Bahan Penelitian .....	71
Lampiran 5	Hasil Uji In Vitro dan In Vivo .....	73
Lampiran 6	Hasil Uji Kapasitas Total Antioksidan Ekstrak Daun Rasberi.....	76
Lampiran 7	Hasil Uji Kapasitas Total Antioksidan Standar Asam Askorbat (Vitamin C) .....	77
Lampiran 8	Hasil Uji Fenolik.....	78
Lampiran 9	Hasil Uji Alkaloid .....	79
Lampiran 10	Hasil Uji Toksisitas BSLT .....	80
Lampiran 11	Hasil Absorbansi dan Kadar <i>Malondyaldehid</i> (MDA) Jantung .....	81
Lampiran 12	Hasil Absorbansi dan Kadar <i>Malondyaldehide</i> (MDA) Darah .....	86

## DAFTAR SINGKATAN

ALE	Advanced Lipoxidation End Product
ADP	<i>Adenosine Diphosphate</i>
ATP	<i>Adenosine Triphosphate.</i>
BCG	<i>Bromocresol Green</i>
BSLT	<i>Brine Shrimp Lethality Test.</i>
CAT	<i>Catalase.</i>
CO <sub>2</sub>	Karbon Dioksida.
COPD	<i>Chronic Obstructive Pulmonary Disease</i>
Cu	Tembaga.
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil.
EDTA	<i>Ethylenediaminetetraacetic Acid</i>
FADH <sub>2</sub>	<i>Flavin Adenine Dinucleotide</i>
Fe	Besi
FeCl <sub>3</sub>	Besi (III) Klorida
GPx	Glutation Peroksidase
GRx	Glutation Reduktase
GSH	Glutation
GSSG	Glutation Disulfida
GSIS	<i>Glukose Stimulated Insulin Secretion</i>
H <sub>2</sub>	<i>Dihydrogen</i>
HCl	<i>Hydrochloric Acid</i>
HIF-1	<i>Hypoxia Inducible Factor-1 (HIF1)</i>
HNO <sub>2</sub>	<i>Nitrous Acid</i>
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Hidrogen Peroksida
H <sub>2</sub> O	Air
HOCl	<i>Hypochlorous Acid</i>
HOO•	Radikal Hidroperoksil
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Asam Sulfat
IC <sub>50</sub>	<i>The half maximal inhibitory concentration.</i>

LC50	<i>Lethal Dose at which 50% population killed.</i>
LDL	<i>Low Density Lipid</i>
LOO•	<i>Lipid Peroxyl</i>
LOOH	<i>Lipid Peroksida</i>
MDA	<i>Malondialdehyde</i>
mmHg	<i>Milimeter Air Raksa.</i>
MUFA	<i>Monounsaturated Fatty Acid</i>
NaCl	<i>Natrium Klorida.</i>
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	<i>Sodium Karbonat.</i>
NADPH	<i>Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate Hydrogen</i>
nNOS	<i>neuronal Nitric Oxide Synthase</i>
NaOH	<i>Sodium Hydroxide</i>
N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	<i>Dinitrogen trioksida</i>
NO	<i>Nitric Oxide.</i>
O <sub>2</sub>	<i>Oksigen</i>
O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	<i>Superoxide</i>
<sup>1</sup> O <sub>2</sub>	<i>Oksigen Singlet</i>
OH•	<i>Hidroksil</i>
Pb	<i>Timbal</i>
PBS	<i>Phosphate Buffer Saline</i>
PUFA	<i>Polyunsaturated Fatty Acid</i>
RNS	<i>Reactive Nitrogen Species</i>
ROO•	<i>Radikal Peroksil</i>
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
SLE	<i>Systemic lupus erythematosus</i>
SOD	<i>Superoksida Dismutase</i>
TAC	<i>Total Alkaloid Content</i>
TBA	<i>Thiobarbituric Acid</i>
TBARS	<i>Thiobarbituric Acid Reactive Substance</i>
TPC	<i>Total Phenolic Content</i>
VEGF	<i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>



# BAB 1

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang :

Oksigen merupakan unsur yang esensial bagi semua organisme aerobik seperti halnya manusia karena fungsi utamanya di rantai pernafasan sebagai akseptor elektron.<sup>1</sup> Komponen yang sangat penting untuk kehidupan dan bertujuan untuk menghasilkan energi (ATP).<sup>2</sup> Di sisi lain juga seperti pisau bermata dua karena bisa mendatangkan kerusakan khususnya oksigen yang berbentuk spesies reaktif. Pada keadaan hipoksia terjadi kurangnya *supply* oksigen ke sel dan jaringan yang menyebabkan produksi ROS yang berlebihan. Hal ini dapat merusak keempat biomolekul seperti lipid, protein, asam nukleat, dan karbohidrat yang merupakan komponen utama sel.<sup>3</sup> Apabila tubuh tidak bisa mengatasi hipoksia berat maka bisa terjadi kematian sel dan jaringan.<sup>4</sup>

*Reactive oxygen species* normalnya memiliki fungsi untuk transduksi sinyal, melawan mikroorganisme, dan ekspresi gen.<sup>5</sup> Dan merupakan sistem biologi yaitu enzim *prooxidative*, oksidasi lipid, radiasi, inflamasi, polusi udara, dan glikosidasi.<sup>6,7,8</sup> Radikal bebas ini menyebabkan kerusakan beberapa penyakit degeneratif seperti *atherosclerosis*, stroke, serangan jantung, katarak, kerusakan retina, dan penyakit lainnya seperti vasospasme, kanker, trauma, asma, hiperoxia, artritis, dan penyakit hati.<sup>9,10</sup> Atau dapat juga menyebabkan penyakit sistemik seperti *lupus erythematosus* (SLE) atau diabetes, juga penyakit neurodegeneratif seperti Alzheimer.<sup>11</sup>

Salah satu organ tubuh utama yang rusak karena radikal bebas yaitu jantung.<sup>12</sup> Jantung adalah organ yang sensitif untuk mendeteksi terjadinya hipoksia di dalam tubuh, dalam keadaan tersebut menyebabkan ROS akan lebih banyak dihasilkan di mitokondria oleh sel otot jantung dan terjadi remodeling kardiomyosit dan mempengaruhi kerja jantung.<sup>13</sup> Fungsi organ ini sebagai pompa yang memberi tekanan pada darah untuk mengalirkan darah ke jaringan.<sup>4</sup> ROS sangat berhubungan dengan antioksidan, apabila jumlah ROS melebihi antioksidan maka akan terjadi peristiwa stres oksidatif dan kadar antioksidan akan berkurang. Adanya beberapa penyakit jantung karena stress oksidatif yaitu

jantung iskemik, aterosklerosis, gangguan irama jantung, bahkan sampai terjadi gagal jantung. Di lain pihak tubuh memiliki antioksidan untuk melawannya, ada antioksidan eksogen dan endogen. Antioksidan endogen salah satunya adalah MDA, eksogen berasal dari makanan dan bahan alam contohnya seperti rasberi dan diet.<sup>14</sup>

Rasberi (*Rubus idaeus*) mengandung senyawa karbohidrat, gula, lemak tak jenuh, MUFA, PUFA, protein, vitamin A, C, K, beta karoten, serat, kalsium, besi, sodium, mangan, *anthocyanin*. Terdapat beberapa bukti bahwa kandungan dalam rasberi ini berguna untuk kesehatan seperti mengurangi resiko *atherosklerosis*, memperbaiki kerusakan hati, membuat kulit lebih sehat karena sebagai antioksidan, menjaga kestabilan gula darah, dan membantu menurunkan berat badan.<sup>15</sup> Peneliti ingin melihat efek dari rasberi sebagai antioksidan terhadap organ jantung tikus yang diinduksi hipoksia dan juga meneliti mengenai peranannya sebagai antioksidan untuk mengatasi radikal bebas, dan melihat kadar MDA terhadap tikus yang diinduksi hipoksia.

## **1.2. Rumusan Masalah**

### **1.2.1 Pernyataan Masalah**

Belum diketahuinya efek ekstrak daun rasberi (*Rubus idaeus L.*) terhadap kadar *Malondyaldehyde* (MDA) organ jantung dan darah tikus *Sprague-Dawley* yang diinduksi hipoksia.

### **1.2.2 Pertanyaan Masalah**

1. Bagaimana hasil uji fitokimia metabolic sekunder ekstrak daun rasberi?
2. Berapa kapasitas total antioksidan ekstrak daun rasberi?
3. Berapa kadar fenolik total ekstrak daun rasberi?
4. Berapa kadar alkaloid total pada ekstrak daun rasberi?
5. Bagaimana hasil uji toksisitas ekstrak daun rasberi ?
6. Berapa kadar MDA darah tikus yang dicekok dan tidak dicekok ekstrak daun rasberi?

7. Berapa kadar MDA jantung tikus yang dicekok dan tidak dicekok ekstrak daun rasberi?
8. Bagaimana perbandingan kadar MDA darah tikus yang dicekok dan tidak dicekok?
9. Bagaimana perbandingan kadar MDA jantung tikus yang dicekok dan tidak dicekok?
10. Bagaimana korelasi kadar MDA darah dan jantung tikus yang dicekok dan tidak dicekok?
11. Bagaimana gambaran PA jantung tikus *Sprague-Dawley* yang diberikan hipoksia setelah diberikan ekstrak daun rasberi?

### **1.3 Hipotesis Penelitian**

- Adanya korelasi antara kadar Malondialdehid (MDA) organ jantung tikus yang diinduksi hipoksia sistemik kronik pada kelompok yang diberikan ekstrak daun rasberi dengan yang tidak diberikan ekstrak daun Rasberi.
- Adanya peningkatan kadar MDA organ jantung dan darah tikus *Sprague-Dawley* setelah diberi ekstrak daun rasberi yang diinduksi hipoksia.

### **1.4. Tujuan Penelitian**

#### **1.4.1 Tujuan Umum:**

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk membuktikan bahwa ekstrak daun Rasberi merupakan antioksidan dan mengetahui pengaruh dari ekstrak daun Rasberi terhadap kadar Malondialdehid (MDA) organ jantung tikus *Sprague-Dawley* yang diinduksi hipoksia.

#### **1.4.2 Tujuan Khusus:**

1. Mengetahui hasil uji fitokimia metabolik sekunder ekstrak daun rasberi.
2. Mengetahui kapasitas total antioksidan ekstrak daun rasberi .
3. Mengukur kadar fenolik total ekstrak daun rasberi.
4. Mengukur alkaloid total ekstrak daun rasberi.
5. Mengetahui hasil uji toksisitas ekstrak daun rasberi.

6. Mengukur kadar MDA darah tikus yang dicekok dan yang tidak dicekok ekstrak daun rasberi.
7. Mengukur kadar MDA jantung tikus yang dicekok dan yang tidak dicekok ekstrak daun rasberi.
8. Mengetahui adanya perbandingan kadar MDA darah tikus yang dicekok dengan yang tidak dicekok ekstrak daun rasberi.
9. Mengetahui adanya perbandingan kadar MDA jantung tikus yang dicekok dengan yang tidak dicekok ekstrak daun rasberi.
10. Mengetahui adanya korelasi kadar MDA darah dan jantung yang dicekok dengan yang tidak dicekok.
11. Mengetahui adanya perubahan gambaran PA pada organ jantung tikus *Sprague-Dawley* yang diinduksi hipoksia yang diberikan ekstrak daun rasberi.

### **1.5 Manfaat penelitian**

Menjembatani kesenjangan ilmu dasar dengan klinik dan sebagai referensi untuk penelitian lebih lanjut.

## **BAB 2**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Oksigen**

Oksigen ( $O_2$ ) merupakan senyawa penting terbanyak nomor tiga di bumi dan nomer atomnya adalah delapan, memiliki spin yang sifatnya paralel, fungsinya untuk metabolisme tubuh dan mempunyai banyak sekali manfaat yang memiliki peranan sangat penting.<sup>4</sup> Pada proses fotosintesis oksigenik yaitu fotolisis air dalam respirasi sel akan menghasilkan oksigen. Fungsinya dalam pembentukan, pembelahan, dan pertumbuhan sel.

Di darah oksigen memiliki dua bentuk yaitu larut fisik dan larut secara kimiawi yang berikatan dengan hemoglobin.<sup>4</sup> Sifatnya kurang larut di cairan tubuh sehingga sangat sedikit oksigen yang larut secara fisik. Dalam keadaan istirahat curah jantung harus sebesar 83,3 liter/menit untuk dapat menyalurkan  $O_2$  ke jaringan, sedangkan oksigen yang terlarut secara kimiawi dan berikatan dengan hemoglobin ini akan disalurkan ke jaringan yang ada di sekitarnya.

Hemoglobin dapat membentuk ikatan longgar dan dengan mudah dapat berikatan dengan  $O_2$ . Hemoglobin yang berikatan dengan oksigen disebut oksihemoglobin sedangkan yang tidak berikatan dengan oksigen adalah deoksihemoglobin. Hemoglobin yang tereduksi akan menjadi oksihemoglobin. Selain dipakai dalam hal fosforilasi oksidatif juga dalam metabolisme enzim-enzim.<sup>4</sup> Oksigen akan mengalami proses reduksi secara bertahap.



Di atmosfer ini kadar oksigen adalah 20,97 % dengan sifat yang tidak berbau dan tidak memiliki warna, oksigen memiliki beberapa fungsi dalam memecah racun, metabolisme lemak, protein, dan karbohidrat, berperan dalam sistem kekebalan tubuh, keseimbangan asam basa dan masih banyak lagi fungsi lainnya.<sup>16</sup> Fungsi penting lain dari oksigen yaitu dalam pembentuk ATP yang ada di mitokondria dengan fosforilasi oksidatif, dengan substrat yang dioksidasi oleh

asam trikarboksilik dan terbentuklah NADH dan FADH<sub>2</sub> yang merupakan produk dari kofaktor reduksi selanjutnya NADH dan FADH<sub>2</sub> ini menyumbangkan elektronnya melalui kompleks protein yang akhirnya menjadi oksigen.<sup>17</sup> Proses tersebut memiliki dua fase yaitu aerob dan anaerob, aerob membutuhkan 38 ATP sedangkan anaerob membutuhkan 2 ATP.<sup>18</sup> Oksigen juga berfungsi dalam pembentukan radikal bebas (ROS) karena oksigen memiliki 2 elektron yang berpasangan.

Oksigen merupakan senyawa yang tidak reaktif namun dapat dimetabolisme *in vivo* sehingga dapat membentuk oksidan yang sangat reaktif yang disebut dengan radikal bebas oksigen.<sup>19,20</sup> Banyak sekali reaksi biokimia dalam tubuh berhubungan dan bergantung pada oksigen. Pasokan oksigen ke jaringan bergantung pada banyak faktor seperti ventilasi, difusi yang melintasi membrane alveolar kapiler, hemoglobin, curah jantung dan perfusi jaringan.<sup>21</sup> Apabila terjadi defisiensi di dalam sel maka terjadi peristiwa hipoksia dan peristiwa ini menyebabkan terjadinya jumlah ROS yang meningkat.

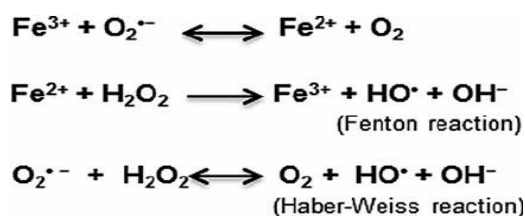
## **2.2 Reactive Oxygen Species (ROS)**

Radikal bebas merupakan molekul atau atom yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbital terluarnya sehingga memiliki sifat reaktifitas yang tinggi dan memiliki sifat untuk menarik elektron dan mengubah suatu molekul yang tadinya tidak radikal menjadi radikal karena adanya kehilangan atau penambahan electron pada molekul tersebut.<sup>22</sup> Normalnya memang terbentuk di dalam tubuh manusia dengan jumlah yang sedikit sehingga dapat dinetralkan oleh antioksidan.

Dikelompokkan menjadi dua sifat yaitu radikal dan non radikal, atom yang tidak berpasangan inilah yang disebut sebagai radikal bebas (ROS).<sup>23</sup> Jika dua radikal bebas tersebut saling membagi electron yang tidak berpasangan maka sifatnya non radikal. Radikal bebas bisa bereaksi terhadap semua molekul yang berkontak dengannya, bisa menjadi reaksi berantai yang sifatnya sitotoksik dan menarik elektron. Berdasarkan sumbernya yang dari endogen dan eksogen.

Contoh yang dari endogen adalah radikal hidroksil, hidrogen peroksida, dan anion superoksida. ROS yang termasuk paling poten adalah jenis radikal

hidroksil. Hidrogen peroksida bukan suatu molekul yang radikal tapi dengan  $Fe^{2+}$  dan logam yang lainnya menjadi radikal hidroksil menggunakan reaksi fenton dan Hidrogen peroksida ini dapat merusak membran yang mengandung  $Fe^{2+}$ , dapat berdifusi jauh, dan memiliki sifat larut lemak, sedangkan anion superoksida tidak mampu berdifusi jauh dan dibentuk oleh oksigen bebas dengan pemberian satu elektron ke radikal bebas lainnya padahal sifatnya juga sangat reaktif tapi memiliki sifat yang tidak terlalu larut lemak. Proses pada anion superoksida ini melalui *Nikotin Adenin Dinukleotida Phosphat* (NADPH) oksidase dan berguna untuk menghasilkan ATP. Selain fungsinya utamanya untuk menghasilkan anion superoksida. NADPH tersebut ada di leukosit, makrofag, dan melakukan fagositosis lalu menghasilkan superoksida dan dilanjutkan dengan pembunuhan bakteri, kemudian superoksida yang terbentuk ini akan menjadi hidrogen peroksida. Hidrogen peroksida ini dipecah jadi  $OH^-$  dan adanya logam seperti  $Fe^{2+}$ . Oksigen yang bereaksi dengan hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) akan menghasilkan  $OH^-$  dan menjadi radikal hidroksil. Sumber yang dari eksogen adalah *tobacco*/rokok yang merupakan radikal bebas dan memiliki kandungan superoksida dan *nitrit oxide*.<sup>24</sup> Ada yang disebut reaksi *Haber Weiss* dimana oksigen dapat menghasilkan radikal hidroksil dan hidroperoksi yang jauh lebih reaktif yang bereaksi dengan hidrogen peroksida.



**Gambar 2.1 Reaksi Haber-Weiss dan Reaksi Fenton**

Pembentukan ROS terbentuk di mitokondria yang berhubungan dengan enzim P450 di hati, peroksisom, dan reaksi inflamasi.<sup>25</sup> Terjadinya sasaran kerusakan sel karena radikal oksigen terjadi pada protein, karbohidrat, lemak, dan asam nukleat.<sup>26</sup> Pada arginine, sistein, histidin, metionin, protein, dan AA prolin sangat rentan terhadap hidroksi radikal dan menyebabkan kerusakan. Kerusakan karena radikal bebas ini menyebabkan banyak penyakit.

*Reactive oxygen species* bisa terbentuk karena banyak bukti bahwa di ketiga negara penyakit paling banyak adalah karena radikal bebas yaitu penyakit iskemia perfusi, adanya peradangan karena fagosit, gangguan neurodegeneratif dan juga penuaan.<sup>19,20</sup> Penyakit lain karena radikal bebas contohnya di porfiria, katarak, fibroplasia retrolental, degenerasi makula, neuropati, pendarahan okular, parkinson, alzheimer, *multiple sklerosis*, *atherosklerosis*, infark miokard/stroke, kardiomiopati, *rheumatoid arthritis*, penyakit autoimun, glomerulonefritis, vaskulitis, kelainan sperma, komplikasi hipertensi pada kehamilan, malformasi kongenital, dan kanker pada anak, dll.<sup>19,20</sup>

### **2.3 Hipoksia**

Kekurangan oksigen dalam suatu jaringan disebut hipoksia, hipoksia juga didefinisikan tekanan parsial oksigen dalam sel / jaringan yang sangat rendah sehingga bisa menyebabkan sel tersebut mati. Ada pengaturan seluler dan sistemik untuk meresponi peristiwa hipoksia ini.<sup>27,28</sup> Pada keadaan hipoksia ini terjadi karena adanya peningkatan dari ROS di mitokondria, terjadinya penurunan oksigen pada sitokrom C oksidase yang ada di kompleks IV mitokondria dan terjadi akumulasi ROS di kompleks III mitokondria.<sup>29</sup>

Penyebab terjadinya peristiwa ini karena yang pertama adalah tekanan dan kadar O<sub>2</sub> yang rendah di arteri, kedua adalah distribusi O<sub>2</sub> menuju jaringan yang mengalami kegagalan sehingga kebutuhan O<sub>2</sub> di jaringan tidak terpenuhi, dan yang ketiga adalah terjadi hambatan penyaluran oksigen menuju mitokondria karena terjadinya oksigen yang gagal diambil oleh jaringan.

Dalam praktek klinik sehari-hari sering ditemukan hipoksia disertai penyakit kronis pada sistem kardiovaskuler dan sistem respirasi yang disebut sebagai hipoksia kronis, sedangkan hipoksia akut adalah kondisi yang jarang terjadi Hipoksia dikelompokkan menjadi beberapa macam yaitu (1) Hipoksia anemia merupakan bentuk patologis dimana terjadi penyumbatan pada fungsi transport hemoglobin, (2) Hipoksia histotoksik karena fungsinya yang terganggu dimana terjadi ketidakmampuan pemanfaatan oksigen dalam jaringan, (3) Hipoksia hipoksik adalah menurunnya konsentrasi oksigen yang diinhalasi, (4) Hipoksia sirkulasi adalah kondisi yang terganggu secara local maupun local dari



sirkulasi dan adanya stagnasi vena/iskemik karena ada penutupan arteri.<sup>30</sup> Terdapat mekanisme adaptasi sistemik dan molekuler. Mekanisme tersebut melibatkan *Hypoxia Inducible Factor-1* (HIF1) yang merupakan gen upregulasi pada hypoxia dan *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF).<sup>31</sup> Ada juga gen *epo pathway* dan *neuronal nitric oxide synthase* (nNOS).<sup>32</sup> HIF 1 alfa memiliki 2 subunit yaitu alfa dan beta. HIF-1 alfa merupakan pengatur homeostasis dan pengaturan sel untuk beradaptasi terhadap perlakuan hipoksia sistemik kronik. Pengaturan sel tersebut juga melalui VEGF yang berperan dalam angiogenesis dan HIF 1 yang berikatan dengan gen EPO bertujuan untuk eritropoesis dan transkripsi gen.<sup>33</sup> Peristiwa ini merupakan penyebab penyakit-penyakit kardiovaskuler.

#### **2.4 Stres Oksidatif**

Stres oksidatif merupakan keadaan dimana terjadi ketidakseimbangan antara oksidan dan antioksidan dimana oksidan lebih tinggi dari antioksidan. Keseimbangan yang terganggu ini menyebabkan kerusakan oksidatif dan menyebabkan berbagai penyakit seperti iskemia, *atherosclerosis*, COPD, kanker, hipertensi, diabetes, kanker, gangguan di saraf, asma, dan masih banyak penyakit lainnya.<sup>34</sup> Ketidakseimbangan ini menyebabkan oksidasi makromolekul contohnya lipid, karbohidrat, protein, asam amino, dan DNA lalu terdapat juga kerusakan di seluler dan jaringan.<sup>35</sup> Stres oksidatif dapat disebabkan oleh faktor lingkungan, penyakit, infeksi, peradangan, penuaan.<sup>36</sup> Peningkatan radikal bebas dapat menyebabkan hiperlipidemia nantinya akan membuat disfungsi jantung bahkan sampai nekrosis jantung.<sup>37</sup>

Ketidakseimbangan antara glutathion tereduksi dan oksidasi sangat mempengaruhi stres oksidatif, apabila jumlahnya berlebihan maka akan merusak struktur DNA dan memproduksi sitokin inflamasi.<sup>34</sup> Jika jumlahnya sangat tinggi maka dapat menyebabkan sampai ke kematian sel.<sup>38</sup>

Stres oksidatif juga berhubungan dengan NO (*Nitric Oxide*) yang dapat menyebabkan disfungsi endotel. NO salah satunya berperan dalam relaksasi vaskuler. Jika terjadi stress oksidatif maka menyebabkan perubahan status redoks local, terjadi gangguan pada vaskuler, terjadi trombogenesis, terjadi gangguan

pertumbuhan seluler sehingga menyebabkan dinding vaskuler menjadi abnormal. Rangsangan oksidan dari adaptasi molekuler inflamasi membuat permeabilitas vaskuler menjadi meningkat.<sup>39,40</sup> Jika terjadi stress oksidatif maka yang paling sensitif adalah lipid yang termasuk PUFA.<sup>41</sup> Banyak faktor yang berkontribusi dengan peningkatan dan penghambatan stress oksidatif seperti AGE (*Advanced Glycation End Product*), Katalase, GPx (*Glutathione Peroxidase*), MPO (*Myeloperoxidase*), dan SOD (*Superoxide Dismutase*). Penyebabnya adalah terjadi ketidakseimbangan antara prooksidan dan antioksidan.<sup>11</sup>

## 2.5 Jantung

Jantung adalah organ muskular, berongga dan berotot yang akan menyuplai darah, darah akan menyuplai oksigen dan nutrisi ke seluruh tubuh, letaknya ada di garis mediastinum tengah antara sternum yang anterior atau tulang dada dan vertebra/tulang belakang yang posterior fungsi utama organ ini akan menyuplai darah ke seluruh tubuh dan dikembalikan ke paru-paru sebagai pertukaran gas.<sup>4</sup> Jantung memiliki empat rongga yaitu atrium kiri, atrium kanan di bagian atas dari jantung, dan ventrikel kiri, dan ventrikel kanan di bagian bawah dari jantung. Di ventrikel kiri akan dipompa darah menuju aorta lalu darah yang kaya oksigen (O<sub>2</sub>) akan diedarkan ke seluruh tubuh untuk metabolisme jaringan. Lalu darah tersebut akan kembali ke vena cava dalam kondisi darah ini sudah miskin oksigen lalu ke atrium kanan selanjutnya akan ke ventrikel kanan lalu dari ventrikel kanan akan ke paru-paru. Darah ini mengalami pertukaran gas di paru darah tersebut banyak mengandung CO<sub>2</sub> dan sedikit mengandung O<sub>2</sub> sehingga CO<sub>2</sub> akan dilepas dan O<sub>2</sub> diikat di darah. Darah tersebut yang banyak mengandung oksigen akan diedarkan ke jantung kembali di atrium kiri lalu dipompa oleh ventrikel kiri dan diedarkan ke seluruh tubuh.<sup>4</sup>

Jantung sangat berhubungan dengan keadaan hipoksia (oksigen), hipoksia apabila jumlah oksigen kurang di dalam jaringan yang bisa merusak sel yang ada di jantung.<sup>42</sup> Jika kekurangan oksigen maka pembentukan NO akan terganggu sehingga dapat menyebabkan gangguan pada kontraktilitas otot jantung. Ada hubungan antara gen HIF-1 alfa dengan VEGF, dimana jika gen pada HNF 1 alfa yang bermasalah maka akan mengalami gangguan pada regulasi terhadap gen

VEGF yang tujuannya dalam proses vaskularisasi. Normalnya gen VEGF dan gen HNF 1 alfa akan meningkatkan jumlah oksigen pada jantung yang mengalami hipertrofi. Jika ekspresi gen HNF 1 alfa ini berlebihan dan terus menerus bisa menyebabkan gagal jantung.<sup>27</sup>

Penyakit jantung seperti penyakit jantung sistemik kronik, kardiomiopati, aterosklerosis iskemia, gangguan irama jantung, dan aritmia sangat berhubungan dengan peningkatan ROS yang mengakibatkan struktur jantung jadi rusak dan metabolismenya mengalami gangguan sehingga kerja jantung dalam memompa darah mengalami gangguan menyebabkan iskemia dan juga gangguan irama jantung yaitu aritmia. Terjadinya aterosklerosis dikarenakan tingginya ROS dan berhubungan dengan LDL (*Low Density Lipid*) yang teroksidasi.<sup>13</sup>

## 2.6 Antioksidan

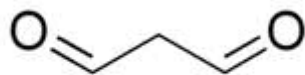
Makhluk hidup memerlukan antioksidan sebagai pertahanan dari peristiwa stress oksidatif. Sumber antioksidan ada yang dari endogen dan eksogen. Menurut pengertiannya bahwa endogen berasal dari dalam tubuh sedangkan eksogen dari luar tubuh. Pada antioksidan eksogen contohnya didapat dari vitamin C, vitamin E, karotenoid, flavonoid, omega 3, omega 6, zinc, mangan, selenium, sedangkan yang endogen didapatkan dari makanan.<sup>25</sup> Sumber flavonoid banyak ditemukan pada buah, sayur, teh untuk mengatasi ROS (*Reactive Oxygen Species*). Flavonoid & polifenol lainnya, vitamin C & E, dan Karotenoid adalah antioksidan paling umum, banyak tumbuhan dan tumbuhan juga mengandung antioksidan.<sup>35</sup>

Antioksidan yang dari endogen dan eksogen akan menyumbangkan elektron terhadap ROS untuk mengatasi efek samping yang terjadi.<sup>25</sup> Antioksidan endogen dikelompokkan lagi menjadi antioksidan yang enzimatik dan non enzimatik contohnya yang enzimatik adalah *Catalase* (CAT), *Glutation Peroksidase* (GPx), dan *Glutation Reduktase* (GRx), *Superoxide Dismutase* (SOD). Mereka merupakan enzimatik antioksidan penting akan berperan secara langsung terhadap ROS, sedangkan yang non enzimatik adalah glutation, koenzim Q10, melatonin, asam urat, bilirubin, protein pengatur logam, transferin, L-arginin, asam lipoid.<sup>43</sup>

Sel dan plasma memiliki *nonenzimatik free radikal scavengers* seperti asam askorbat, *alpha-tokopherol* (Vitamin C dan E), dan kelompok *sulphydryl*.<sup>44</sup>

*Superoxide Dismutase* merupakan enzim yang berfungsi sebagai pertahanan primer terhadap stress oksidatif. Dengan bantuan SOD untuk mengubah dismutase anion superoksida menjadi hidrogen peroksidan dan oksigen. SOD ini memiliki bermacam-macam isozim SOD. Katalase merupakan enzim yang ditemukan di sitosol, mikrosom sel, dan peroksisom. Fungsi katalase untuk melindungi sel dan mencegah pembentukan hidroksil yang radikal. Glutation Reduktase berguna untuk melindungi tubuh dari stress oksidatif yang merupakan cara yang utama. Dengan bantuan glutathion dapat mengkatalisis peroksida lemak (LOOH) dan *hydrogen peroksida*. Sel memiliki 2 *glutation peroksidase* yang butuh selenium dan bekerja dengan hidroperoksida organik. GSH (Gugus Sulfhidril) ada glutathion untuk memberikan elektron dan dioksidasi menjadi GSSG. Disulfida yang sudah terbentuk nantinya akan direduksi menjadi bentuk sulfhidril oleh *glutation reduktase*, glutathion reduktase ini perlu elektron dari NADPH dan merupakan hasil dari jalur pentose fosfat. Vitamin antioksidan yang paling banyak adalah vitamin E yang fungsinya sebagai pelindung terhadap peroksidasi lemak di dalam membrane, dari semua vitamin yang fungsinya antioksidan vitamin E memiliki banyak peran dalam radikal bebas. Vitamin E memiliki struktur tokoferol dimana tokoferol tersebut merupakan antioksidan terkuat. Karotenoid dapat mencegah perkembangan kanker supaya lebih lambat. Karotenoid tersebut memiliki struktur beta karoten dan prekursor vitamin A, dengan bereaksi dengan rasikal hidroperoksil lemak maka dapat melindungi lemak dari peroksidasi. Karotenoid banyak diserap dan diedarkan di darah.<sup>44</sup>

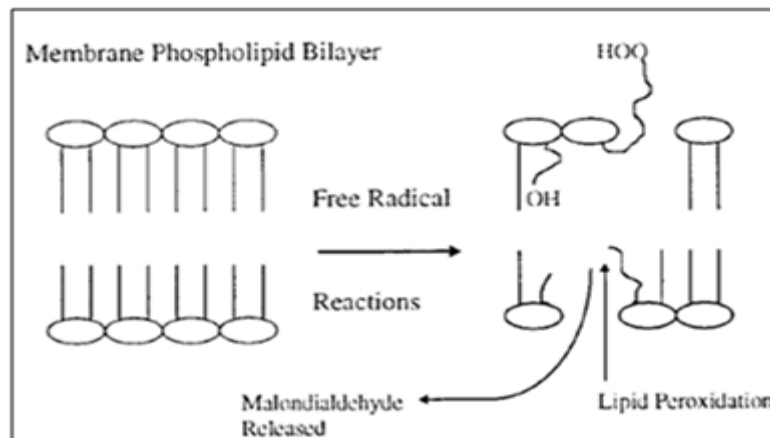
## 2.7 MDA



**Malondialdehyde**

**Gambar 2.2 Struktur MDA**

MDA merupakan hasil peroksida lipid yang merupakan asam lemak tidak jenuh ganda yang sifatnya tidak stabil, dan merupakan marker dari stres oksidatif dan antioksidan untuk melihat keadaan patologis dengan meningkatnya kerusakan lipid, protein, dan karbohidrat yang ada pada sel.<sup>1,14</sup> MDA adalah produk akhir dari peroksidasi lipid (PUFA) dalam sel yang memiliki sifat yang toksik membentuk produk protein kovalen yang dikenal dengan sebutan *Advanced Lipoxidation End Products* (ALE), strukturnya adalah tiga rantai karbon dan memiliki berat molekul yang rendah, sebagai biomarker yang berhubungan dengan radikal bebas. Target dari peroksidasi lipid yang rusak adalah kolesterol, fosfolipid, dan glikolipid. Terjadinya kerusakan membran dikarenakan terputusnya rantai asam lemak menjadi senyawa yang sifatnya toksik. Fungsi biomarker utama yang menunjukkan sejauh mana terjadi kerusakan akibat stress oksidatif dan sebagai marker untuk peroksidasi lemak yang mudah bereaksi dengan TBA. Di bawah ini adalah gambar proses pembentukan MDA:



**Gambar 2.3** Pembentukan MDA<sup>14</sup>

Kadarnya diukur dengan menggunakan metode TBARS (*Thiobarbituric Acid Reactive Substance*) yang menggunakan dasar reaksi MDA terhadap asam tiobarbiturat dan selanjutnya dinilai menggunakan spektrofotometer.<sup>45</sup> MDA dibagi menjadi dua berdasarkan proses dibentuknya yaitu enzimatis dan non enzimatis. MDA yang lebih stabil adalah MDA yang enzimatis. MDA enzimatis tersebut sifatnya tidak se toksik metilglioksal dan 4 HNE yaitu lipid yang sifatnya

adalah polar yang nantinya akan bereaksi dengan protein oleh *Mixhael addition reaction* dengan residu histidin, lisin, dan sistein.<sup>46</sup>

Ada yang disebut GSIS (*Glukose Stimulated Insulin Secretion*) yang akan diregulasi oleh MDA, dengan kata lain MDA juga sebagai *messenger signal*. MDA yang kadarnya tinggi akan merangsang GSIS sehingga meningkatkan jumlah ATP atau ADP. Setelah itu kadar kalsium sitosol menjadi meningkat yang berhubungan dengan produksi protein dan ekspresi gen yang menyebabkan pengaturan dari GSIS.<sup>47</sup> MDA akan berfungsi untuk mengukur terjadinya proses oksidasi terhadap antioksidan dari dalam pembentukan stres oksidatif, melihat kadarnya apakah kadar antioksidan berkurang atau meningkat.<sup>48</sup>

## 2.8 Rasberi



**Gambar 2.4 Rasberi**

Rasberi (*Rubus idaeus*)

Kingdom : Plantae

Order : Rosales

Subfamily : Rosoideae

Family : Rosacea

Genus : Rubus

Subgenus : Idaeobatus

Species : *Rubus, idaeus*

Beri merupakan polifenol yang baik terutama kaya akan antiosianin, mikronutrisi, dan serat. Buah beri adalah strawberi, kranberi, blackberi, dan rasberi. Antiosianin menunjukkan peningkatan yang signifikan dalam oksidasi LDL, peroksidasi lipid, kapasitas antioksidan plasma total, dislipidemia, dan metabolisme glukosa. Keuntungannya adalah peningkatan regulasi sintesa nitrit oksida endotel, penurunan aktivitas enzim pencernaan karbohidrat, penurunan stress oksidatif, dan penghambatan ekspresi gen inflamasi dan pembentukan sel busa. Beri ini kaya akan vitamin C dan E, asam folat, kalsium, selenium, alfa, dan beta karoten, dan lutein.

Fitokimia yang ditemukan di beri ini adalah *polyphenols* dengan kadar flavonoid yang tinggi, antiosianin, dan ellagitannins. Flavonoid yang terkandung di beri ini memiliki efek pada kesehatan jantung, menurunkan sitotoksitas karena stres oksidatif. Salah satunya adalah rasberi, struktur keton Rasberi memiliki struktur yang mirip dengan *ephedrine* dan *synephrine*, di mana butanon tersubstitusi gugus fenil keton rasberi menggantikan kelompok etilamin, *ephedrine*, atau *synephrine*. Ada juga kesamaan struktural dengan Capsaicin, dengan fenolik dan keton yang tersubstitusi.<sup>49</sup>

Keton rasberi meningkatkan lipolisis yang diinduksi norepinefrin dalam adiposit dan mencegah diet lemak tinggi yang diinduksi penambahan berat badan pada tikus.<sup>50</sup> Hal ini dapat dihipotesiskan bahwa rasberi keton mirip dengan capsaicin, cabai merah pedas, yang telah dilaporkan menurunkan berat jaringan adiposa dan konten serum triasilgliserol dengan meningkatkan metabolisme energi.<sup>51</sup> Dalam strategi untuk mencegah obesitas, salah satu langkah-langkah utama adalah untuk menghambat pencernaan dan penyerapan lemak diet.<sup>50</sup> Telah dikemukakan bahwa rasberi keton menekan lemak makanan penyerapan dengan menghambat *hidrolisis trioleoylglycer*.<sup>49</sup>

## 2.9 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel

dengan penyaringan. Ekstrak awal sulit dipisahkan melalui teknik pemisahan tunggal untuk mengisolasi senyawa tunggal. Oleh karena itu, ekstrak awal perlu dipisahkan ke dalam fraksi yang memiliki polaritas dan ukuran molekul yang sama.

Jenis-jenis metode ekstraksi yang dapat digunakan adalah sebagai berikut:

#### 1. Maserasi

Maserasi merupakan metode sederhana yang paling banyak digunakan. Metode ini dilakukan dengan memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah inert yang tertutup rapat pada suhu kamar. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Kerugian utama dari metode maserasi ini adalah memakan banyak waktu, pelarut yang digunakan cukup banyak, dan besar kemungkinan beberapa senyawa hilang. Selain itu, beberapa senyawa mungkin saja sulit diekstraksi pada suhu kamar. Namun di sisi lain, metode maserasi dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil.

#### 2. Perkolasi

Pada metode perkolasi, serbuk sampel dibasahi secara perlahan dalam sebuah perkolator (wadah silinder yang dilengkapi dengan kran pada bagian bawahnya). Pelarut ditambahkan pada bagian atas serbuk sampel dan dibiarkan menetes perlahan pada bagian bawah. Kelebihan dari metode ini adalah sampel senantiasa dialiri oleh pelarut baru. Sedangkan kerugiannya adalah jika sampel dalam perkolator tidak homogen maka pelarut akan sulit menjangkau seluruh area. Selain itu, metode ini juga membutuhkan banyak pelarut dan memakan banyak waktu.



### 3. Soxhlet

Metode ini dilakukan dengan menempatkan serbuk sampel dalam sarung selulosa (dapat digunakan kertas saring) dalam klonsong yang ditempatkan di atas labu dan di bawah kondensor. Pelarut yang sesuai dimasukkan ke dalam labu dan suhu penangas diatur di bawah suhu reflux. Keuntungan dari metode ini adalah proses ekstraksi yang kontinyu, sampel terekstraksi oleh pelarut murni hasil kondensasi sehingga tidak membutuhkan banyak pelarut dan tidak memakan banyak waktu. Kerugiannya adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi karena ekstrak yang diperoleh terus-menerus berada pada titik didih.

### 4. Reflux dan Destilasi Uap

Pada metode reflux, sampel dimasukkan bersama pelarut ke dalam labu yang dihubungkan dengan kondensor. Pelarut dipanaskan hingga mencapai titik didih. Uap terkondensasi dan kembali ke dalam labu ukur.

Destilasi uap memiliki proses yang sama dan biasanya digunakan untuk mengekstraksi minyak esensial (campuran berbagai senyawa menguap). Selama pemanasan, uap terkondensasi dan destilat (terpisah sebagai 2 bagian yang tidak saling bercampur) ditampung dalam wadah yang terhubung dengan kondensor. Kerugian dari kedua metode ini adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi (Seidel V 2006).

## 2.10 Pelarut

Pelarut adalah zat cair atau gas yang melarutkan benda padat, cair, atau gas yang menghasilkan sebuah larutan. Pelarut yang umumnya digunakan bisa berupa air atau pelarut organik, yaitu merupakan bahan kimia organik yang mengandung karbon. Pemilihan pelarut merupakan salah satu factor yang penting dalam proses komponen aktif bahan yang mau diekstrakan karena masing-masing pelarut mempunyai selektifitas yang berbeda untuk melarutkan komponen aktif dalam bahan yang hendak diekstrak tersebut.

Syarat-syarat pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi :

- Memiliki daya larut dan selektifitas terhadap solute yang tinggi.
- Bersifat inert terhadap bahan baku, sehingga tidak bereaksi dengan komponen yang akan diekstrak

- Reaktivitas dimana pelarut tidak menyebabkan perubahan secara kimia pada komponen bahan ekstraksi
- Tidak menyebabkan terbentuknya emulsi
- Tidak korosif
- Tidak beracun
- Tidak mudah terbakar
- Stabil secara kimia dan termal
- Tidak berbahaya bagi lingkungan
- Memiliki viskositas yang rendah sehingga mudah untuk dialirkan
- Murah dan mudah didapat, serta tersedia dalam jumlah yang besar
- Memiliki titik didih yang cukup rendah agar mudah diuapkan
- Memiliki tegangan permukaan yang cukup rendah

Pelarut organik ada yang bersifat polar, non polar, dan semipolar. Pelarut yang mempunyai gugus hidroksil (OH) termasuk dalam golongan pelarut yang memiliki daya ekstrak pelarut yang paling kecil dibandingkan pelarut lainnya, sedangkan pelarut semipolar dapat menarik senyawa yang bersifat polar maupun non polar dalam proses ekstraksi. Senyawa organik yang bersifat polar lebih mudah larut dalam pelarut non polar karena komponen yang terkandung dalam bahan, akan larut pada pelarut yang memiliki kepolaran yang relatif sama.

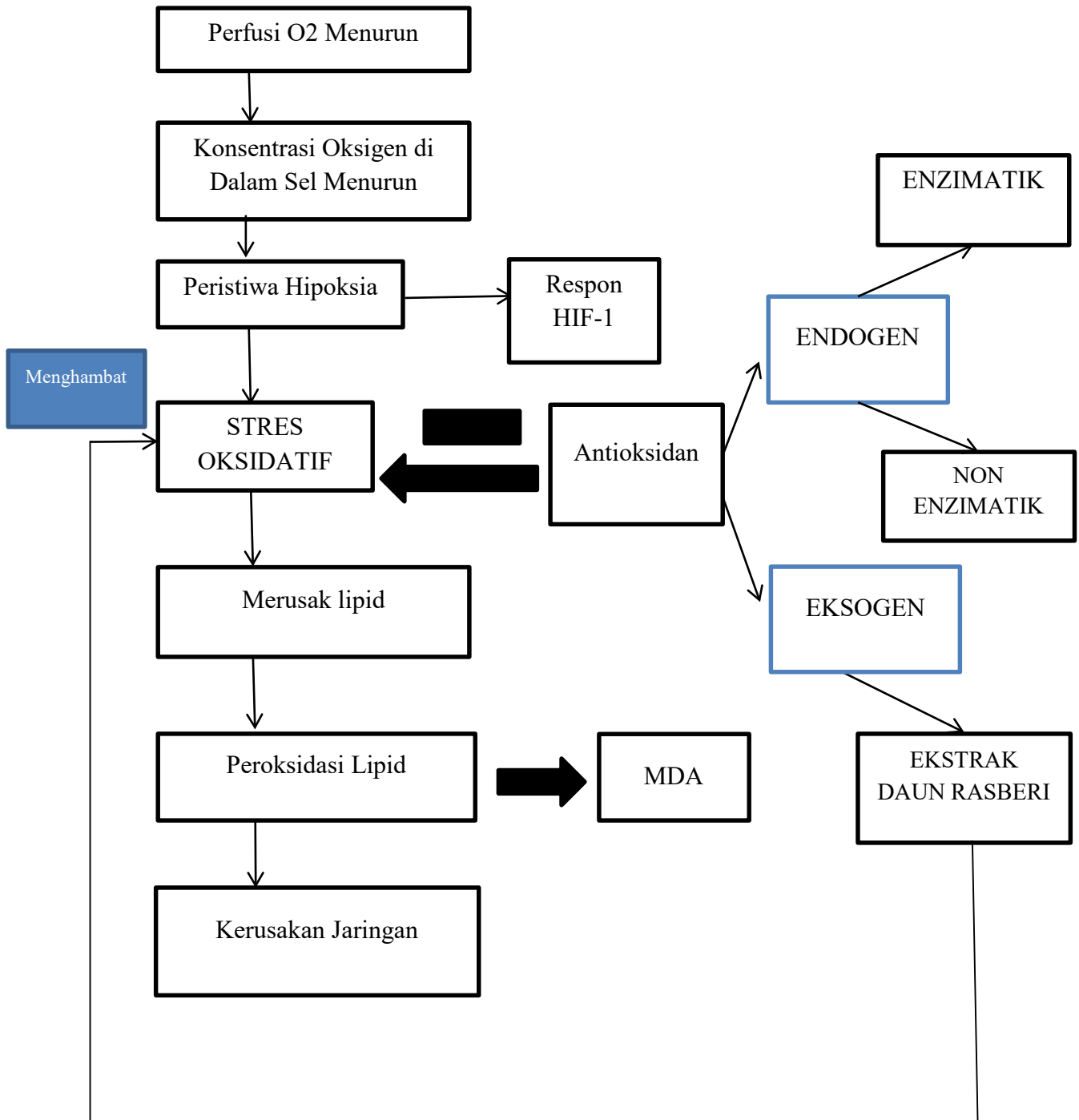
Macam – macam pelarut :

Pelarut polar : Air, etanol, methanol

Pelarut semipolar : Etil asetat, diklorometan

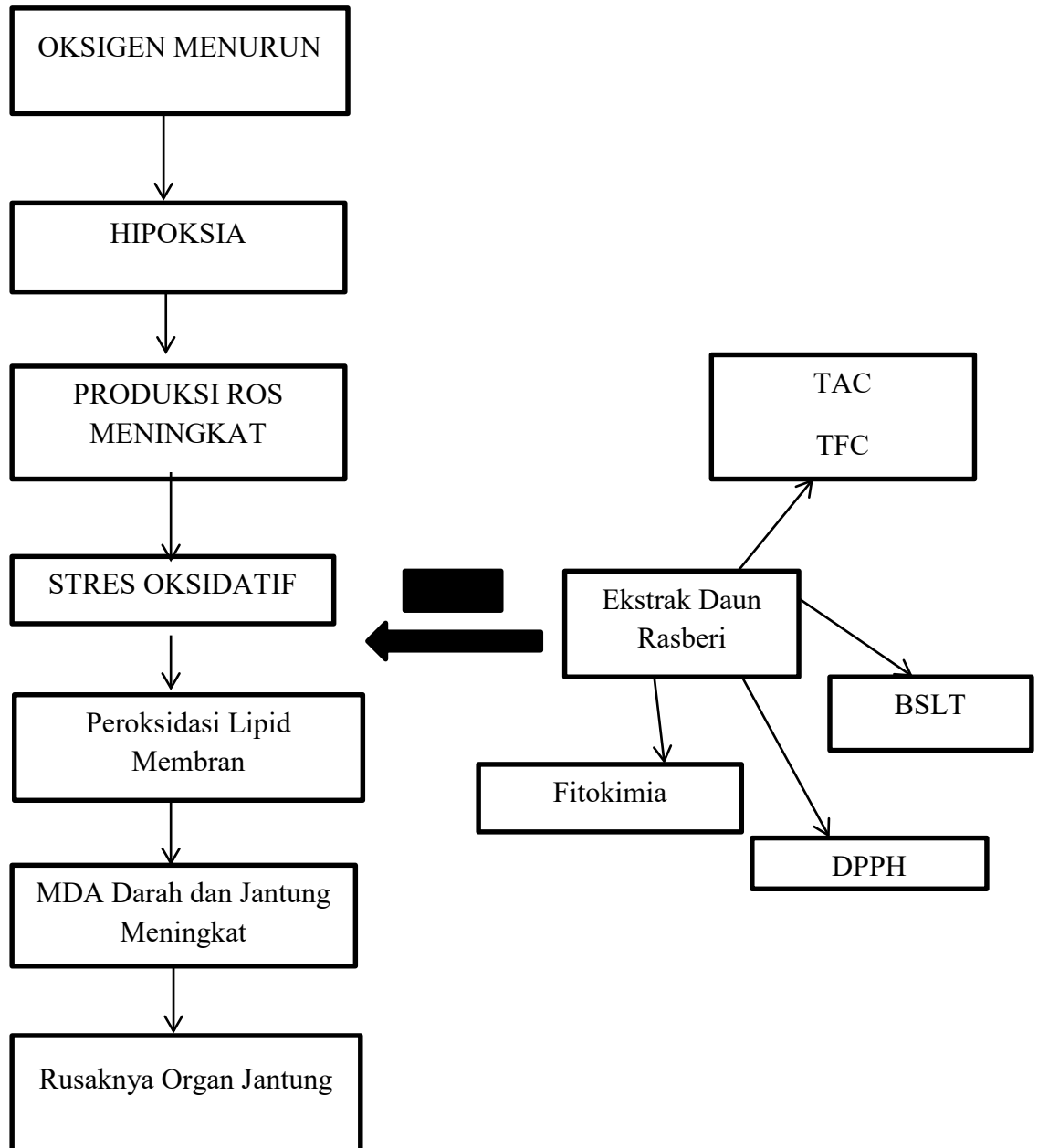
Pelarut non polar : n-heksan, petroleum eter

## 2.11 Kerangka Teori



Gambar 2.5 Kerangka Teori

## 2.10 Kerangka Konsep



Gambar 2.6 Kerangka Konsep

## **BAB 3**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **3.1 Desain Penelitian**

Desain penelitian yang digunakan di penelitian ini adalah desain secara *in vitro* dan *in vivo*. Pada penelitian *in vitro* ini menggunakan ekstrak daun rasberi yang terdiri dari uji fitokimia, uji DPPH, fenolik, alkaloid, uji BSLT. Penelitian *in vivo* ini dengan cara diinduksi hipoksia pada tikus *Sprague-Dawley* jenis kelamin jantan usianya 10-12 minggu dengan berat badan 200-250 gram dan dilakukan pemeriksaan kadar MDA dan histopatologi jaringan jantung.

#### **3.2 Tempat dan Waktu Penelitian**

##### **3.2.1 Tempat penelitian**

Semua penelitian ini dikerjakan di Laboratorium Departemen Biokimia dan Biologi Molekuler Fakultas kedokteran Universitas Tarumanagara jl. Letjen S Parman No 1, Grogol, Jakarta Barat, dan di dalamnya terdapat animal room untuk tempat tinggal tikus dan dilakukan juga pencekakan tikus.

##### **3.2.2 Waktu penelitian**

Penelitian dimulai sejak bulan Agustus 2018 dan kurang lebih membutuhkan waktu 6 bulan.

#### **3.3 Populasi dan Sampel Penelitian**

##### **3.3.1 Populasi Penelitian**

Penelitian ini menggunakan tikus *Sprague-Dawley* berumur 10-12 minggu dengan BB 200-250 gram yang kondisinya sehat dan normal dengan jumlah 32 ekor tikus, tikus *Sprague-Dawley* ini diletakkan di kandang yang ada di animal room di dalam Laboratorium Biokimia FK UNTAR.

### 3.3.2 Sampel Penelitian

Penelitian ini memakai daun rasberi yang diambil dari Vinz Berry Park Jambudipa Cisarua Kabupaten Bandung Barat, Jawa Barat, Indonesia yang kemudian dijadikan bentuk ekstrak, dan menggunakan tikus *Sprague-Dawley* ini dibagi acak jadi 8 kelompok dan dilakukan hipoksia sistemik kronik selama 1 hari, 7 hari, dan 14 hari dan ada juga kelompok kontrol positif dan kontrol negatif, setiap perlakuan terhadap tikus *Sprague-Dawley* sangat diperhatikan sesuai kode etik yang berlaku untuk hewan coba dan diambil organ jantung dan darah tikus *Sprague-Dawley*.

### 3.4 Perkiraan Besar Sampel Jumlah Hewan Coba

Total jumlah hewan coba tikus *Sprague-Dawley* ini dengan rumus Federer:

$$(t-1)(n-1) \geq 15$$

Keterangan : t = jumlah perlakuan pada tikus

n = jumlah ulangan tikus dalam tiap kelompok

Perhitungan:

$$(t-1)(n-1) \geq 15$$
$$(8-1)(n-1) \geq 15$$
$$7(n-1) \geq 15$$
$$7n-5 \geq 15$$
$$7n \geq 20$$
$$n \geq 2,86$$
$$n = 3$$

Jumlah tikus dari tiap kelompok perlakuan adalah 4 ekor, Jumlah tikus yang digunakan 4 x 8 yaitu 32 ekor.

### 3.5 Keterangan Lolos Kaji Etik

Penelitian ini merupakan payung penelitian berkelompok dengan tema pengaruh ekstrak tanaman herbal sebagai antioksidan yang dapat menekan stres oksidatif yang telah mendapat lolos kaji etik (*ethical clearance*) dengan nomor 145/KER/FK/I/2019 dari komisi kaji etik riset Fakultas Kedokteran Universitas Trisakti.

### **3.6 Cara Kerja Penelitian**

#### **3.6.1 Pengumpulan Sampel Daun Rasberi**

Daun rasberi ini diambil dari Vinz Berry Park Jambudipa Cisarua Kabupaten Bandung Barat, Jawa Barat, Indonesia

#### **3.6.2 Identifikasi Daun Rasberi**

Tanaman rasberi yang masih segar dikirim langsung ke Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) di Herbarium Bogoriens, Cibinong untuk untuk mengetahui spesies / jenis dari tanaman rasberi yang digunakan untuk penelitian dan jenisnya dinyatakan *Rubus idaeus*.

#### **3.6.3 Pengolahan dan Ekstrak Sampel Daun Rasberi (*Rubus idaeus*)**

Daun rasberi dikeringkan terlebih dahulu selama kurang lebih 5 hari lalu daun digunting sehingga ukurannya lebih kecil lalu dipanaskan supaya tambah kering lagi dalam waktu 3 jam di oven di suhu 40 derajat celcius. Lalu di grinder supaya jadi bentuk simplisia. Pembentukan ekstrak daun rasberi dilakukan maserasi dengan metode ekstraksi dingin. Pada proses maserasi tersebut dengan campuran etanol dan simplisia tersebut diaduk 2 kali sehari tiap pagi dan sore hari diaduk dan ditampung ke dalam jerigen selama 6 hari dan dilakukan 2 hari sekali. Hasil yang telah ditampung tersebut dilanjutkan dengan evaporasi menggunakan *rotary evaporator* tujuannya untuk memisah antara etanol yang merupakan pelarut dan sampelnya.

#### **3.6.4 Uji Fitokimia**

##### **3.6.4.1 Uji *Alkaloid*.<sup>52</sup>**

Ekstrak daun rasberi dilarutkan dengan 4 mL kloroform, lalu ditambah 1 mL amoniak. Lalu tambahkan 10 tetes H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2 N, kocok selama 30 detik ditunggu hingga jadi 2 buah lapisan. Di bagian atas diambil dan diteteskan pada 3 lubang plat tetes yang berbeda. Pada lubang pertama ditambah dengan 2 tetes pereaksi *Mayer*. Hasilnya apabila mengandung alkaloid, maka akan terbentuk endapan putih.

#### **3.6.4.2 Uji Fenolik**

Disiapkan ekstrak daun rasberi sebanyak 1 mL ke tabung reaksi, lalu ditambah air suling 2 mL, tambahkan 0,5 mL reagen Folin Ciocalteau dengan pipet Mohr, dan tambahkan 0,5 mL larutan Natrium Karbonat ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) 20%.

#### **3.6.4.3 Uji *Anthocyanin* dan *Betacyanin***

Ekstrak daun rasberi dimasukkan sebanyak 2 mL ke tabung reaksi dan ditambah NaOH 2 N sebanyak 1 mL. Lalu selama 5 menit dipanaskan terlebih dahulu dalam suhu 100 °C, hasil akan menandakan *antocyanin* positif jika warna biru kehijauan dan *betacyanin* positif jika warna berubah jadi kuning.

#### **3.6.4.4 Uji *Cardio glycosides***

Ekstrak daun rasberi dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu ditambah dengan beberapa tetes  $\text{FeCl}_3$  5 % dan ditambah dengan asam asetat glasial lalu ditambah dengan asam sulfat  $\text{H}_2\text{SO}_4$  melalui dinding tabung reaksi, hasil uji *Cardio glycosides* akan positif jika terbentuk cincin warna coklat.

#### **3.6.4.5 Uji *Coumarins***

Ekstrak daun rasberi disiapkan 0,5 gram ke dalam tabung reaksi lalu tutup menggunakan kertas saring yang sudah dibasahi dengan NaOH 1 N, tabung reaksi yang sudah ditutup tersebut diletakan di air mendidih beberapa menit dan memeriksa kertas saring dengan sinar UV, jika warna jadi kuning maka uji coumarins dinyatakan positif.

#### **3.6.4.6 Uji *Flavonoids***

Ekstrak di tabung reaksi disiapkan sebanyak 3 mL dan ditambah dengan 4 mL NaOH 1 N, uji tersebut dianggap positif jika warna jadi kuning gelap.



#### **3.6.4.7 Uji *Glycosides***

Ekstrak disiapkan di tabung reaksi sebanyak 2 mL lalu ditambah dengan larutan ammonium 10 % sebanyak 1 mL dan ditambah dengan kloroform sebanyak 3 mL, hasil akan positif jika warna merah muda.

#### **3.6.4.8 Uji *Quinones***

Ekstrak daun rasberi disiapkan di tabung reaksi sebanyak 1 mL dan ditambah dengan asam sulfat sebanyak 1 mL, uji quinones akan positif jika warna jadi merah.

#### **3.6.4.9 Uji *Saponins***

Ekstrak daun rasberi dimasukkan ke tabung reaksi sebanyak 0,5 gram lalu ditambah dengan air mendidih sebanyak 2 mL, setelah itu ditunggu sampai menjadi dingin dan dikocok sampai homogen. Hasil uji *saponins* dinyatakan positif jika larutan tersebut jadi timbul busa.

#### **3.6.4.10 Uji *Steroids***

Ekstrak daun rasberi sebanyak 0,5 gram ditambah 1 mL kloroform di dalam piring reaksi lalu diaduk rata ditunggu sampai kering dan diuapkan di udara. Ditambahkan asam asetat glasial sebanyak 1 mL lalu diaduk dan diberikan 1-2 tetes H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat, hasil positif apabila terbentuk warna biru kehijauan.

#### **3.6.4.11 Uji *Terpenoids***

Ekstrak disiapkan sebanyak 0,5 gram dan ditambah kloroform sebanyak 1 mL di piring reaksi lalu diaduk rata, lalu ditunggu sampai kering (diuapkan di udara) dan ditambahkan asam asetat glasial sebanyak 1 mL lalu diaduk. Lalu teteskan sebanyak 1-2 tetes H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat hasil positif jika terbentuk cincin merah kecoklatan.

#### **3.6.4.12 Uji Tannins**

Ekstrak daun rasberi disiapkan sebanyak 0,5 gram di tabung reaksi lalu dipanaskan dalam air suling sebanyak 20 mL di dalam tabung reaksi lalu dilakukan filtrasi, kemudian setelah difiltrasi maka ekstrak diambil sebanyak 1 mL yang sudah dipanaskan dan dicampur dengan 1 mL FeCl<sub>3</sub> 5 % dalam tabung reaksi yang lain. Hasil uji Tannins dinyatakan positif bila warna hijau kecoklatan.

#### **3.6.5 Uji Kapasitas Antioksidan Ekstrak Daun Rasberi Dengan DPPH.<sup>53</sup>**

##### **3.6.5.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH**

Ditimbang 1,97 mg DPPH yang dilarutkan dalam metanol hingga 100 mL di labu ukur sehingga konsentrasinya jadi 50 µM. Larutan DPPH diambil 3,8 mL dan ditambahkan 0,2 mL metanol. Larutan diinkubasi di ruangan gelap selama 30 menit. Setelah didiamkan, dibaca absorbansi larutan DPPH dengan spektrofotometer uv-vis pada panjang gelombang 400-800 nm. Lalu dicari panjang gelombang maksimum dan absorbansi kontrol.

##### **3.6.5.2 Penentuan Standar Pembanding Vitamin C**

Asam askorbat 0,01 gram dilarutkan dalam metanol 100 mL kemudian dibuat konsentrasi 2 µg/mL, 4 µg/mL, 6 µg/mL, 8 µg/mL, 10 µg/mL. Kemudian masing-masing diambil sebanyak 0,2 mL, 0,4 mL, 0,6 mL, 0,8 mL, dan 1 mL ke dalam labu ukur ditambahkan metanol hingga 10 mL lalu di vortex labu ukur. Larutan diatas masing-masing diambil 0,2 mL ditambah dengan DPPH 50 µM sebanyak 3,8 mL lalu diletakkan di ruang gelap selama 30 menit. Dibaca pada panjang gelombang maksimum yang didapat dari DPPH.

##### **3.6.5.3 Uji Antioksidan Ekstrak Daun Rasberi**

Ditimbang 0,01 gram dilarutkan dengan metanol 10 mL. Kemudian dibuat pengenceran 10 µg/mL, 30 µg/mL, 50 µg/mL, 70 µg/mL, 90 µg/mL. Masing-masing diambil 0,25 mL, 0,75 mL, 1,25 mL, 1,75 mL, 2,25 mL ke dalam labu ukur ke dalam methanol sampai 25 mL lalu di vortex labu ukur. Larutan diatas masing-masing diambil 0,2 mL ditambah dengan DPPH 50 µM sebanyak 3,8 mL

lalu diletakkan di ruang gelap selama 30 menit dan dibaca pada panjang gelombang 515 nm ( $\lambda$  maks)

### 3.6.6 Penghitungan Uji Kapasitas Antioksidan

$$\% \text{ Inhibisi uji} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi Sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100 \%$$

Absorbansi kontrol : Serapan DPPH pada panjang gelombang maksimal

Absorbansi sampel : Serapan sampel pada panjang gelombang maksimal

### 3.6.7 Pengukuran Kadar Fenolik Total

#### 3.6.7.1 Pembuatan Standar Fenolik

Mempersiapkan tabung reaksi yang berisi ekstrak daun rasberi sebanyak 0,25 gram dan etanol 95% sebanyak 5 mL dan ditambah akuades sampai 50 mL supaya konsentrasinya 5 mg/ mL. Dari larutan yang sudah tercampur tersebut diambil sebanyak 0,6 mL, 0,8 mL, 1 mL, 1,2 mL, dan 1,4 mL. Lalu setelah itu dibuat encer dengan akuades hingga 10 mL ke dalam 5 labu ukur sehingga masing-masing akan terbentuk 300  $\mu\text{g/ mL}$ , 400  $\mu\text{g/ mL}$ , 500  $\mu\text{g/ mL}$ , 600  $\mu\text{g/ mL}$ , dan 700  $\mu\text{g/ mL}$  lalu diambil sebanyak 0,2 mL ke 5 tabung reaksi dan ditambah dengan akuades sebanyak 15,8 mL dan reagen *Folin Ciocalteau* sebanyak 1 mL setelah itu dikocok dan didiamkan dalam waktu 8 menit di tempat gelap lalu ditambah dengan 3 mL  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  20% dan dikocok lagi sampai homogen lalu didiamkan selama 2 jam di tempat gelap dan dibaca absorbansi serapan pada panjang gelombang maksimal 765 nm.

#### 3.6.7.2 Uji Ekstrak Daun Rasberi

Ekstrak dipersiapkan sebanyak 0,3 gram dan ambil larutan *methanol* dan masukkan larutannya sampai jadi perbandingan 1:1 sampai batas garis 10 mL di labu ukurnya. Kemudian sebanyak 0,2 mL di tabung reaksi diambil dan ditambahkan akuades sebanyak 15,8 mL dan reagen *Folin Ciocalteau* sebanyak 1 mL, lalu ditunggu dan diatkan di tempat gelap lalu ditambah dengan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  20%. Kemudian dikocok secara pelan dan didiamkan lagi di tempat gelap selama 2 jam dan baca absorbansi serapan pada panjang gelombang maksimal 765 nm.

### **3.6.8 Pengukuran Kadar Alkaloid Total**

#### **3.6.8.1 Pembuatan *Berberine Chloride***

Serbuk *Berberine Chloride* 1 mg dilarutkan dengan *methanol* sebanyak 10 mL di dalam labu ukur.

#### **3.6.8.2 Pembuatan Larutan Standar**

Larutan *Berberine Chloride* yang sudah tercampur tadi diambil dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi masing-masing 0,2 mL, 0,4 mL, 0,6 mL, 0,8 mL, dan 1 mL. Sehingga konsentrasi menjadi 20 µg/mL, 40 µg/ mL, 60 µg/ mL, 80 µg/ mL, dan 100 µg/ mL dan masing-masing ditambahkan dapar fosfat sebanyak 5 mL dan *Bromocresol Green* (BCG) sebanyak 5 mL. Kemudian dipindahkan ke labu pemisah lalu ditambahkan kloroform, ditutup dan dikocok dengan kuat. Lalu terbentuk 2 lapisan dan lapisan bawahnya diambil dan ditambahkan kloroform sampai 10 mL, kemudian dibaca pada panjang gelombang 421 nm dengan spektrofotometer uv-vis.

#### **3.6.8.3 Pembuatan Larutan Ekstrak Daun Rasberi**

Ekstrak dipersiapkan sebanyak 50 mg di dalam tabung reaksi. Lalu ditambah dengan HCL 2 N sebanyak 3 mL, 5 mL *Bromocresol Green* (BCG), dan larutan dapar fosfat sebanyak 5 mL. Lalu dipindahkan ke tabung pemisah dan ditambahkan lagi 5 mL kloroform. Kemudian dikocok dan didiamkan sampai jadi 2 lapisan, lalu di bagian bawah lapisan ditampung di labu ukur 10 mL.

Lalu diberikan lagi kloroform sampai 10 mL. Kemudian dibaca pada panjang gelombang 421 nm.

### **3.6.9 Pengukuran Toksisitas Ekstrak Daun Rasberi (*Rubus idaeus*) dengan Metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test)<sup>54</sup>**

#### **3.6.9.1 Penetasan Larva Udang *Artemia Salina***

Uji tersebut dilakukan dengan cara melihat toksisitas ekstrak daun rasberi terhadap larva udang jenis *Artemia salina*, ambil telur artemia salina sebanyak 10 mg lalu ditambah 250 mL air laut dimasukkan dalam wadah dan didiamkan selama

2x24 jam dengan lampu dan aerator, air laut tersebut PH 7,7 dan tujuan aerator untuk sirkulasi udara supaya kadar oksigen terpenuhi sedangkan tujuan lampu supaya tetap hangat.

### **3.6.9.2 Persiapan Ekstrak Sampel**

Ekstrak daun rasberi didapat dari 20 mg ekstrak daun rasberi dicampur dengan 10 mL air laut sampai homogen sampai jadi total stok sampelnya 2000 µg/mL. Jika tidak menjadi homogen maka ditambahkan 2 tetes *tween* 80%.

### **3.6.9.3 Uji Toksisitas**

Setelah itu ambil air laut 1000 µg/mL yang isinya 10 larva udang *Artemia salina*, lalu letakan di masing-masing empat tabung. Di tabung 1 beri ekstrak sebanyak 1000 µg/mL, tabung 2 beri ekstrak sebanyak 500 µg/mL ekstrak, tabung 3 beri ekstrak sebanyak 100 µg/mL, dan tabung 4 beri ekstrak sebanyak 10 µg/mL ekstrak. Lalu diamkan selama 1 hari keempat tabung tersebut. Untuk mendapat data mortilitas larva udang maka semua larva udang *Artemia salina* yang mati harus dihitung. Dari semua data yang didapat, buat kurva korelasi konsentrasi larutan (sumbu x) terhadap jumlah mortalitas (sumbu y). Lalu dicarilah nilai *Lethality Concentration 50* (LC50) dengan rumus persamaan regresi linear  $y = ax + b$ . LC50 yang merupakan suatu titik dimana konsentrasi tertentu dapat menyebabkan kematian larva udang sebanyak 50% dari total jumlah keseluruhan. Hasil uji tersebut akan positif toksik/aktif terhadap sel kanker apabila nilai LC50 kurang dari 1000 µg/mL.

### **3.6.10 Pembagian Kelompok Tikus *Sprague-Dawley*.**

Jumlah total tikus sebanyak 32 ekor yang akan dibagi menjadi 2 kelompok cekok dan tidak cekok. Kelompok yang cekok dibagi 4 yaitu normoksia, hipoksia 1 hari, hipoksia 7 hari, dan hipoksia 14 hari. Kelompok yang tidak cekok juga dibagi 4 yaitu normoksia, hipoksia 1 hari, hipoksia 7 hari, dan hipoksia 14 hari.

### **3.6.11 Perlakuan Hipoksia**

Tikus yang sudah ditandai ditimbang lalu dimasukkan ke dalam sungkup berisi campuran gas N<sub>2</sub> 90% dan O<sub>2</sub> 10%. Mula-mula mempersiapkan serbuk kayu, tempat minum, tempat makan tikus ke dalam sungkup dan kipas juga dinyalakan. Selanjutnya dihubungkan dengan selang *soda lime* untuk menangkal gas CO<sub>2</sub> yang dihasilkan dari tikus. Lalu dialirkan gas sebanyak 5 L/menit selama setengah jam pada sungkup tersebut lalu diturunkan jadi 1,5 L/menit dengan selang yang lain.

### **3.6.12 Pemberian Cekokan Ekstrak Daun Rasberi Terhadap Tikus *Sprague-Dawley***

Tikus pada kelompok yang dicekok ekstrak daun rasberi dicekok selama 14 hari. Dicekok menggunakan 4 gram ekstrak yang diencerkan dengan NaCl 0,9 % dalam labu ukur sehingga menjadi 40 mg/mL. Setiap tikus dicekok dengan ekstrak daun rasberi dengan dosis 400 mg/kg/hari atau 80 mg/200 gram/hari. Dosis ini diberikan 2 kali pagi dan sore, masing-masing 40 mg/200/hari selama 14 hari.

### **3.6.13 Pengambilan Organ Jantung dan Pengolahan Darah Tikus *Sprague-Dawley***

Tikus yang sudah dicekok ditimbang berat badannya. Setelah dicatat berat badannya maka tikus tersebut dianestesi, disuntik secara intraperitoneal menggunakan campuran *ketamine* dengan dosis 100 mg/kgBB dan *xylazine* dosis 10 mg/kgBB. Setelah tikus sudah teranestesi, tikus diposisikan telentang di atas *sterofom* yang beralaskan plastik, setelah itu semua kakinya dilakukan fiksasi menggunakan lakban agar tindakan pembedahan dapat berlangsung dengan lebih mudah. Setelah itu, kulit tikus yang akan dibedah diantiseptik menggunakan alkohol 70% ke arah bawah pada bagian yang ingin dibedah. Kemudian jepit dengan pinset dan gunting ke arah atas sampai rusuknya terbuka. Setelah terbuka, darah diambil dengan spuit ukuran 3 cc lalu dimasukan ke tabung *Ethylenediaminetetraacetic Acid* (EDTA) yang sudah disiapkan dalam gelas beker yang berisi es sebagai pendingin. Kemudian dilakukan pengambilan organ jantung dengan pinset lalu diletakkan di atas cawan kaca yang di bagian bawahnya

terdapat es batu sebagai pendingin. Setelah organ diambil maka tikus dijahit kembali kemudian tikus dimasukkan ke dalam plastik untuk dikubur.

#### **3.6.14 Pembuatan Homogenat Organ Jantung**

Organ jantung tiap tikus percobaan yang telah diambil, dipotong menjadi ukuran-ukuran kecil kemudian ditimbang hingga berat mencapai 0,1 g dan dimasukkan ke dalam *microtube* lalu dicampurkan dengan larutan *buffer fosfat* sebanyak 500  $\mu\text{L}$ . Kemudian, organ dihaluskan dengan *grinder/homogenizer* kemudian ditambahkan larutan *buffer fosfat* sebanyak 500  $\mu\text{L}$ . Selama proses *homogenate*, suhu organ jantung harus tetap dijaga dengan meletakkannya di antara es agar suhu tetap rendah. Hasil *homogenate* tersebut disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 10 menit hingga terbentuk supernatan. Hasil supernatan tersebut dipindahkan ke dalam *microtube* baru yang akan digunakan untuk pengujian kadar MDA.

#### **3.6.15 Pengolahan Sampel Darah**

Darah yang telah diambil dengan menggunakan *sprit* dari tikus percobaan yang berada dalam tabung EDTA, disentrifugasi dengan kecepatan 8000 rpm selama 20 menit kemudian ditandai tinggi plasmanya, lalu supernatan dibuang. Darah sisa kemudian ditambahkan dengan dapar fosfat 0,1 M pH 7.2 hingga batas plasma sebelumnya yang telah ditandai. Darah dan dapar fosfat disentrifugasi kembali dengan kecepatan dan waktu yang sama. Setelah selesai disentrifugasi, supernatan dibuang. Darah sisa kembali ditambahkan dapar fosfat 0,1 M pH 7,2 dan disentrifugasi. Hal ini terus dilakukan berulang sampai filtrat menjadi bening. Setelah filtrat bewarna bening, filtrate dibuang kemudian ditambahkan aquabides dingin lalu kocok perlahan terbentuk lisat 50% yang siap diuji.

### 3.7 Pengukuran Kadar MDA (Wills E.D)<sup>55</sup>

#### 3.7.1 Pengukuran Kadar Standar MDA

Pengukuran kadar MDA menggunakan metode Wills E.D. Pengenceran standar MDA yang dipakai adalah TEP dengan konsentrasi 0,625 nmol/ml, 1,25 nmol/ml, 2,5 nmol/ml, dan 5 nmol/ml, diambil sebanyak 5  $\mu$ L, 10  $\mu$ L, 20  $\mu$ L, dan 40  $\mu$ L ditambahkan akuades masing-masing sebanyak 395  $\mu$ L, 390  $\mu$ L, 380  $\mu$ L, dan 360  $\mu$ L dengan *micropipet* dan letakkan pada masing-masing tabung reaksi. Lalu pada tiap tabung reaksi tambahkan larutan TCA 20% sebanyak 200  $\mu$ L. Setelah itu, larutan dilakukan *vortex* dan jika sudah didapati larutan homogen, tambahkan 400  $\mu$ L TBA 0,67% pada tiap tabung reaksi. Tabung reaksi dipanaskan dengan suhu 96-100°C dengan penangas air selama 10 menit. Lalu tabung reaksi dikeluarkan dari penangas air dan dinginkan hingga menjadi suhu ruang di dalam tabung yang berisi air keran. Kemudian dibaca serapannya dengan spektrofotometer *Genesys* 30 pada panjang gelombang 530 nm. Dari langkah kerja awal hingga perhitungan hasil dilakukan dua kali untuk duplonya kemudian dihitung rata-ratanya. Lalu dibuat kurva standar dan didapatkan persamaan linier.

#### 3.7.2 Penentuan Kadar MDA Jantung dan Darah

Uji terbagi dalam 2 kelompok, yaitu larutan blanko dan larutan uji. Untuk mendapatkan pengujian sampel jaringan, 400  $\mu$ L sampel ditambahkan dengan 200  $\mu$ L TCA 20% pada *microtube* yang runcing. Kemudian dilakukan *vortex* apabila telah didapati larutan homogen yang di sentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 10 menit. Pada larutan tersebut akan terbentuk supernatan dan supernatan tersebut dipindahkan ke *microtube* yang tumpul, lalu tambahkan 400  $\mu$ L TBA 0,67%. Kemudian, larutan dipanaskan ke dalam penangas air dengan suhu antara 96-100°C selama 10 menit. Setelah itu, keluarkan tabung reaksi dari penangas air kemudian didinginkan hingga menjadi suhu ruang di dalam tabung yang berisi air keran. Kemudian, baca serapan larutan tersebut pada panjang gelombang 530 nm dengan spektrofotometer *Genesys* 30. Dari langkah kerja awal hingga perhitungan hasil dilakukan dua kali (duplo) kemudian dihitung rata-ratanya. Hasil absorban yang didapat digunakan untuk menghitung konsentrasi MDA. Kadar MDA



jantung dan darah berurutan dinyatakan dalam satuan nmol/ml dan nmol/mg jaringan.

### **3.8 Pemeriksaan Histopatologi**

#### **3.8.1 Pembuatan Blok Parafin**

Sampel jaringan jantung dipotong dengan ketebalan  $\pm 2$  mm lalu dibungkus dengan kertas saring apabila sampel jaringan tersebut berukuran kecil. Lalu direndam sampel jaringan tersebut dengan formalin 10% selama  $\pm 2$  jam. Setelah itu, sampel jaringan diangkat lalu cuci dengan air mengalir untuk menghilangkan formalin yang terdapat di sampel jaringan. Setelah itu sampel jaringan dicuci dan dimasukkan ke dalam alkohol 70% selama 15 menit. Lalu tindakan tersebut diulangi dengan menggunakan alkohol 80% dan alkohol 96%. Setelah itu, sampel jaringan dipindahkan ke larutan aseton dan jaringan diletakkan pada kertas saring, lalu sampel jaringan di tekan agar sisa cairan alkohol terserap di kertas saring. Lalu dimasukkan ke larutan aseton 1, aseton 2, dan aseton 3 selama 15 menit. Sebelum sampel jaringan dimasukkan ke dalam larutan benzol, letakan di kertas saring dan tekan sampel jaringan agar larutan aseton terserap di kertas saring lalu sampel jaringan dimasukkan ke larutan benzol 1, benzol 2, dan benzol 3 selama 15 menit. Setelah itu, rendam sampel jaringan ke dalam parafin cair dan dimasukkan ke dalam oven dengan suhu  $90^{\circ}\text{C}$  selama 2 jam. Selanjutnya, siapkan cetakan besi berbentuk *letter L* dan diamkan sampai mengeras. Setelah mengeras, jaringan dipotong tipis dengan menggunakan mikrotom dan diletakkan ke dalam *water bath* pada suhu ruangan selama kurang dari 30 detik. Selanjutnya, jaringan diletakkan diatas *object glass* dan keringkan dengan lempeng pemanas pada suhu  $40^{\circ}\text{C}$  selama 10 menit. Jika sudah kering, diberi pewarnaan HE (*Hematoxylin-Eosin*).

#### **3.8.2 Pembuatan Pulasan *Hematoxylin-Eosin***

Sampel jaringan dicelupkan ke dalam alkohol 96% lalu angkat, kemudian celupkan kembali sampel jaringan ke dalam alkohol 80% lalu angkat dan celupkan kembali sampel jaringan ke dalam alkohol 70% lalu angkat dan rendam di larutan *Hematoxylin-Eosin* selama 5 menit.

Setelah 5 menit, cuci sampel jaringan dengan air mengalir dengan posisi naik turun sampai bersih. Setelah itu, celupkan sampel jaringan sebanyak 1 kali dengan posisi naik turun ke dalam larutan eosin selama 5 menit. Setelah itu, angkat dan celupkan sampel jaringan ke dalam alkohol dengan posisi naik turun sebanyak 10 kali dan pindahkan ke alkohol berikutnya dengan posisi yang sama. Kemudian celupkan sampel jaringan ke larutan xilol sebanyak 10 kali dengan perbandingan 50:50, lalu pindahkan ke xilol 1, xilol 2, dan xilol 3 sebanyak 10 kali celup. Setelah pewarnaan selesai, bersihkan sampel jaringan dengan lap pada *object glass* kosong lalu tetesi sampel jaringan dengan ethelan (*canada balsm*) kemudian sampel jaringan di tutup dengan kaca penutup. Kemudian, diamati di mikroskop cahaya.

### **3.9 Variabel Penelitian**

#### **3.9.1 Variabel Bebas**

- Pemberian ekstrak daun rasberi.
- Durasi lama perlakuan hipoksia .

#### **3.9.2 Variabel Terikat**

Kadar MDA pada jaringan jantung dan darah pada tikus *Sprague-Dawley*.

#### **3.9.3 Variabel Antara**

Pemberian ekstrak daun rasberi.

### **3.10 Definisi Operasional**

#### **3.10.1 Hipoksia**

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

Alat Ukur : AGD (Analisa Gas Darah) & alat Oxygenmeter

Cara Ukur: Darah di check dengan *blood gas analyzer* dan kadar gas yang dialirkan dilihat kadarnya menggunakan oxygenmeter

Skala Ukur : Interval

Hasil Ukur : Numerik

### **3.10.2 Malondialdehid (MDA)**

Definisi : Senyawa yang merupakan hasil dari peroksida lipid yang berasal dari asam lemak tak jenuh ganda (PUFA)

Alat Ukur : *Uv-vis Spechtrphotometer Double Beam Hitachi Japan*

Cara Ukur : Dengan metode Wills E.D mengukur absorban kompleks MDA-TBA

Skala Ukur : Interval

Hasil Ukur : Numerik

### **3.11 Instrumen Penelitian**

#### **3.11.1 Alat Penelitian**

Pada penelitian ini digunakan beberapa alat yang terdiri dari sungkup hipoksia (*Hypoxic chamber*) ukuran besar, *tissue grinder (homogenizer)*, *blood gas analyzer*, alat bedah (*minor set*), lemari pendingin, blender, timbangan, penangas air (*water bath*), *rotary evaporator*, corong pemisah, rak berisi tabung reaksi, gelas ukur, pipet ukur, pipet mikro, gelas kimia, labu ukur, labu erlenmeyer, tabung sentrifus, corong kimia, spatula, sendok logam, aluminium, kuvet kaca, spektrofotometer *Genesys 30*, kandang, termometer, batang pengaduk, dan botol semprot.

#### **3.11.2 Bahan Penelitian**

Pada penelitian ini digunakan sampel berupa organ jantung tikus. ekstrak daun rasberi, DPPH 5  $\mu\text{m}$ , asam askorbat (vitamin c), larutan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , 20% tannin, larutan fenol, reagen *Folin-Ciocalteu*, air suling (akuades), larutan aluminium klorida ( $\text{AlCl}_3$ ) 10%, kuersetin 14%, larutan natrium hidroksida ( $\text{NaOH}$ ) 4%, larutan natrium nitrit ( $\text{NaNO}_2$ ) 5%, air laut, larva udang, gas campuran khusus ( $\text{O}_2$  10% dan  $\text{N}_2$  90%), larutan asam thiobarbiturat (TBA) 20%, larutan asam trikloroasetil (TCA) 0,67%, alkohol 70%.

### **3.12 Pengumpulan Data**

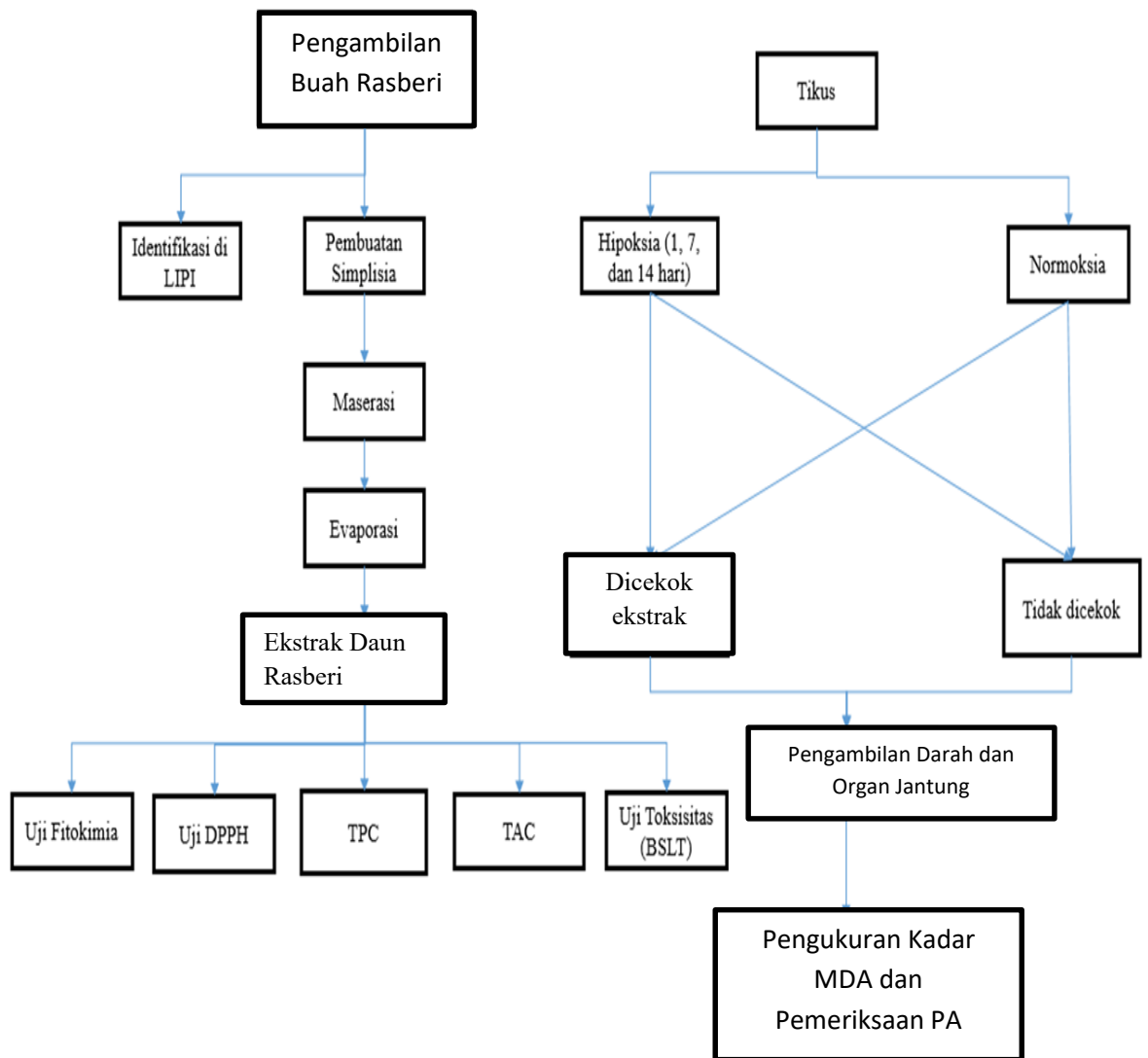
Data dikumpulkan dengan dilakukannya uji fitokimia kualitatif, pemeriksaan histopatologi (PA), dan pengukuran kadar MDA pada organ jantung dan darah

tikus *Sprague-Dawley* dan menganalisa kadar antioksidan dari ekstrak daun rasberi.

### **3.13 Analisis Data**

Penelitian ini datanya akan dianalisa dengan statistik dan diuji dengan aplikasi GraphPad Prism 7. Uji *Mann-Whitney* digunakan untuk membandingkan 2 kelompok dan uji Pearson membandingkan 2 variabel yang ada. Bila hasil nilainya  $p < 0,05$  maka hasilnya akan dianggap bermakna.

### 3.14 Alur Penelitian



Gambar 3.1 Alur Penelitian

## BAB 4

### HASIL PENELITIAN

#### 4.1 Hasil Uji Pada Ekstrak Daun Rasberi

##### 4.1.1 Uji Fitokimia dengan Metode Harborne

Hasil uji fitokimia pada ekstrak daun rasberi secara kualitatif adalah uji alkaloid, antosianin dan betasianin, kardioglikosida, kumarin, flavonoid, glikosida, fenol, kuinon, steroid, terpenoid, dan tanin.

**Tabel 4.1 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Daun Rasberi**

Uji Kualitatif	Hasil Uji	Nama Metode
Alkaloid	Positif	Mayer
Antosianin dan Betasianin	Positif	NaOH
Kardioglikosida	Positif	Concetrated H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
Koumarin	Positif	NaOH
Flavonoid	Positif	NaOH
Glikosida	Positif	Modified Borntrager
Fenol	Positif	Folin Ciocalteu
Kuinon	Positif	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
Steroid	Positif	Salkowski
Terpenoid	Positif	Salkowski
Tanin	Positif	Ferric Chloride

#### 4.2 Hasil Uji DPPH

##### 4.2.1 Panjang Gelombang Maksimum dan Absorbansi Maksimum DPPH

Panjang gelombang maksimum diukur dengan spektrofotometer, hasil yang didapatkan adalah 515 nm dan absorbansi maksimum sebesar 0,514. Absorbansi maksimum yang didapatkan tersebut dapat digunakan sebagai absorbansi kontrol untuk uji kapasitas total antioksidan ekstrak daun rasberi dan uji vitamin c.



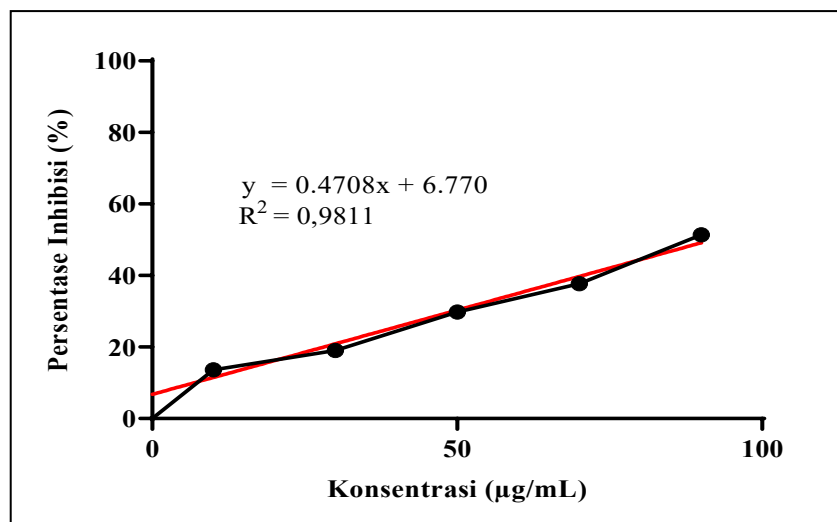
**Gambar 4.1 Panjang Gelombang Maksimum dan Absorbansi Maksimum**

#### 4.2.2 Kapasitas Antioksidan Ekstrak Daun Rasberi

Kapasitas antioksidan ekstrak daun rasberi ini dari setiap konsentrasi ekstrak daun rasberi dibaca menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang maksimum 515 nm dengan absorbansi maksimum sebesar 0,514. Lalu hitung nilainya dari persen inhibisi dari setiap konsentrasi daun rasberi.

**Tabel 4.2 Konsentrasi, Absorbansi, Persen Inhibisi, dan IC<sub>50</sub> Ekstrak Daun Rasberi**

Konsentrasi ( $\mu\text{g/mL}$ )	% Inhibisi	IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/mL}$ )
10	72,5247	
30	74,2574	
50	77,6608	91,822
70	80,1980	
90	84,5297	



**Gambar 4.2 Kurva Persentase Inhibisi Ekstrak Daun Rasberi**

Didapatkan hasil persentase inhibisi pada masing-masing konsentrasi (Tabel 4.2). Persamaan linier yang diperoleh sebagai berikut :  $y = 0,4708x + 6,770$  dengan  $R^2 = 0,9811$  (Gambar 4.2).

Kapasitas antioksidan total ekstrak daun rasberi dilihat pada nilai *Inhibiting Concentration 50* ( $IC_{50}$ ), yakni konsentrasi yang dibutuhkan untuk menghambat 50% dari DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil*). Penetapan  $IC_{50}$  ekstrak daun rasberi digunakan persamaan linier dari kurva persentase inhibisi yang didapatkan. Nilai 50% digunakan sebagai nilai y, sedangkan hasil  $IC_{50}$  sebagai nilai x. Sehingga didapatkan  $IC_{50}$  sebesar 91,882 µg/mL (Gambar 4.2).

#### 4.2.3 Kapasitas Antioksidan Vitamin C (Asam Askorbat)

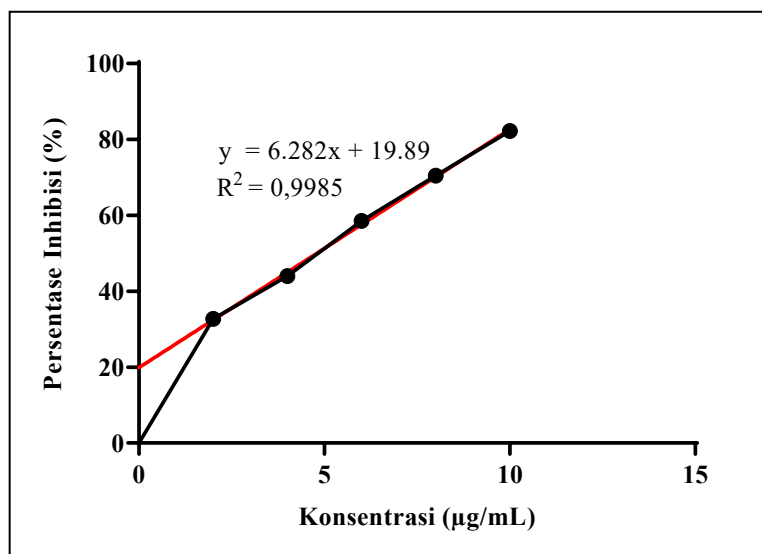
Uji kapasitas antioksidan vitamin C sebagai standart pembanding. Dari setiap konsentrasi ekstrak daun rasberi dibaca absorbansinya menggunakan spektrofotometer *Genesys-30* pada panjang gelombang maksimum yang telah didapat sebesar 515 nm. Lalu didapatkan hasil persentase inhibisi di masing-masing konsentrasi (Tabel 4.3).

Persamaan linier yang diperoleh sebagai berikut :  $y = 6,282x + 19,89$  dengan  $R^2 = 0,9985$  (Gambar 4.3). Persamaan linier ini digunakan untuk menghitung nilai *Inhibiting Concentration 50* ( $IC_{50}$ ) asam askorbat. Didapatkan hasil  $IC_{50}$  sebagai nilai x. Sehingga didapatkan  $IC_{50}$  sebesar 4,793 µg/mL. (Gambar 4.3).



**Tabel 4.3** Konsentrasi, Absorbansi, Persen inhibisi, dan IC<sub>50</sub> Vitamin C

Konsentrasi ( $\mu\text{g/mL}$ )	% Inhibisi	IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/mL}$ )
2	32,68	
4	43,97	
6	58,56	4,793
8	70,43	
10	82,27	

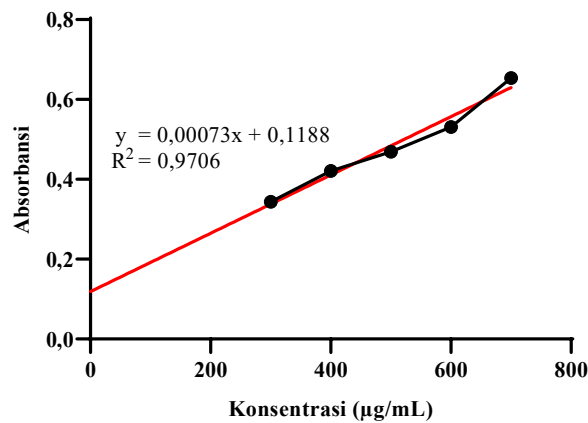


**Gambar 4.3** Kurva Persentase Inhibisi Asam Askorbat

### 4.3 Penentuan Kadar Fenolik Total Ekstrak Daun Rasberi

Pengukuran kadar fenolik total ekstrak daun rasberi menggunakan metode standar tannin dengan menggunakan spektrofotometer *Genesys-30* dengan panjang gelombang 765 nm.

Didapatkan kurva persamaan linear dari konsentrasi ekstrak daun rasberi, yaitu  $y = 0,0007300x + 0,1188$  dan nilai  $R^2$  adalah 0,9706. Persamaan yang didapat digunakan untuk mencari kadar fenolik dari ekstrak daun rasberi. Variabel x menunjukkan standar tannin dan variabel y menunjukkan rata-rata absorbansi.



**Gambar 4.4 Kurva Standar Tannin**

Dari persamaan linier yang didapat dari larutan standar tannin, digunakan untuk mengukur kadar fenol daun rasberi. Variabel x dinyatakan sebagai konsentrasi sedangkan variabel y dinyatakan sebagai rata-rata absorbansi.

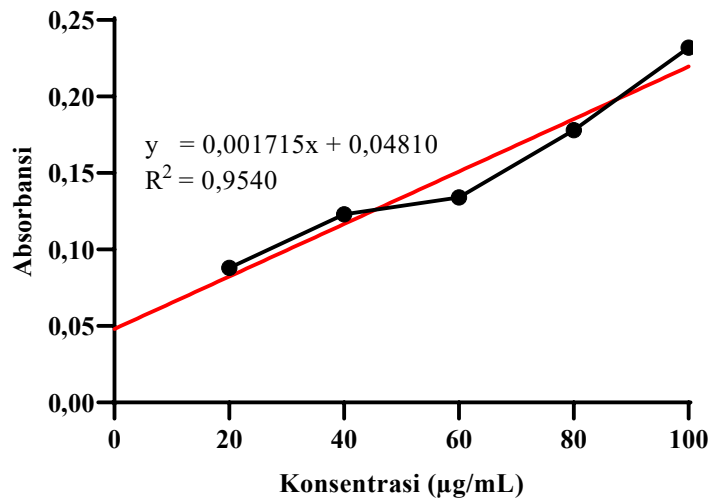
**Tabel 4.4 Kadar Fenol Daun Rasberi**

Sampel	Absorbansi	Konsentrasi (mg/L)	Rata-Rata Konsentrasi (mg/L)
I	0,724	1154,52	1137,40
II	0,699	1120,27	

#### 4.4 Hasil Uji Kadar Alkaloid

##### 4.4.1 Standar *Berberine Chloride*

Uji alkaloid ekstrak buah rasberi dengan standar *berberine chloride* yang dibaca menggunakan spektrofotometer *Genesys 30* pada panjang gelombang 765 nm.



Gambar 4.5 Kurva Standar *Berberine Chloride*

Penetapan kadar alkaloid total ekstrak daun rasberi menggunakan persamaan linier yang diperoleh dari kurva standar *berberine chloride* (Gambar 4.5). Absorbansi sampel yang diperoleh dimasukkan sebagai y dan kadar sebagai x. Sehingga didapatkan kadar alkaloid total sebesar  $72,24 \pm 11,66 \mu\text{g/mL}$ . (Tabel 4.5)

Tabel 4.5 Kadar Alkaloid Total

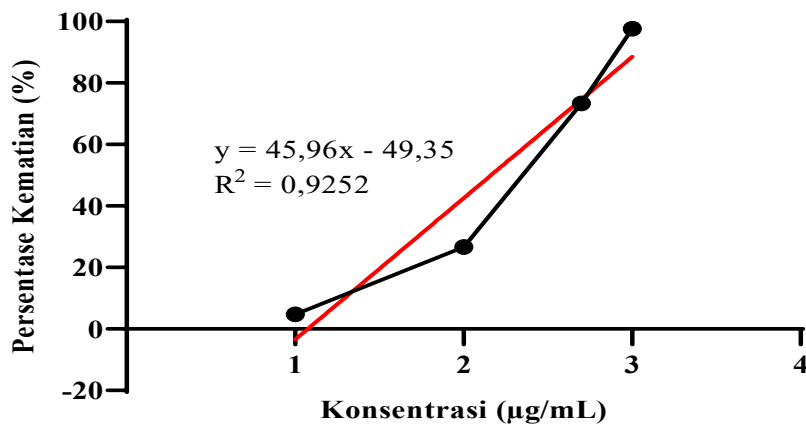
Sampel	Konsentrasi (µg/mL)	Rata-rata (µg/mL)
I	60,583	$72,24 \pm 11,66$
II	83,906	

#### 4.5 Uji Toksisitas

Pengukuran uji toksisitas dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) menggunakan larva udang *Artemia salina* dan didapatkan data jumlah kematian larva udang yang usianya 2 hari setelah diberikan ekstrak buah rasberi dengan konsentrasi masing-masing sebesar 1000 µg/mL, 500 µg/mL, 100 µg/mL, 10 µg/mL. Hasil dari uji tersebut didapatkan nilai LC<sub>50</sub>.

**Tabel 4.6 LC<sub>50</sub> dan Angka Mortalitas Berdasarkan Konsentrasi Ekstrak Daun Rasberi**

Konsentrasi (µg/mL)	Log <sup>10</sup> Konsentrasi	Jumlah Larva Hidup	Jumlah Larva Mati	Akumulasi Hidup	Akumulasi Mati	Angka Mortalitas (%)
10	1	18	2	40	2	4,761
100	2	14	6	22	8	26,666
500	2,69	7	14	8	22	7,333
1000	3	1	19	1	41	97,619



**Gambar 4.6 Angka Mortalitas Terhadap Log Konsentrasi Sampel**

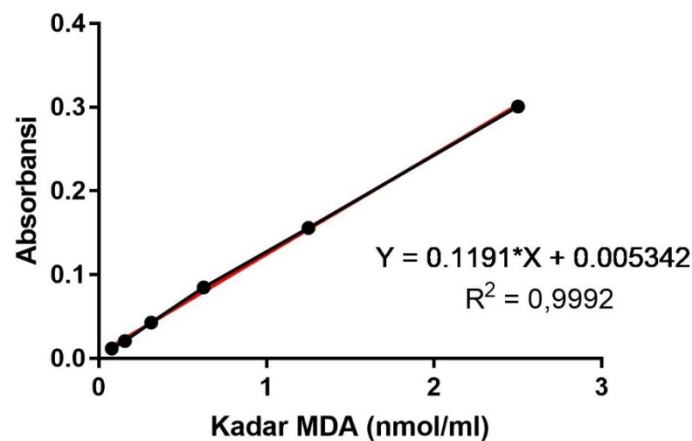
Didapatkan persamaan linier kurva mortalitas terhadap konsentrasi sampel sebagai berikut :  $y = 45,96x + 49,35$  dan  $R^2 = 0,9252$  (Gambar 4.6). Persamaan linier yang didapat digunakan untuk menghitung nilai *Lethality Concentration 50* ( $LC_{50}$ ) dari ekstrak daun rasberi.

Penetapan nilai  $LC_{50}$  daun rasberi menggunakan persamaan linier yang diperoleh dari kurva angka mortalitas (Gambar 4.6). Nilai 50% merupakan nilai y sedangkan hasil  $LC_{50}$  merupakan nilai x. Nilai x yang didapat merupakan nilai  $\log^{10}$  dari  $LC_{50}$ . Nilai  $LC_{50}$  sebenarnya merupakan antilog dari nilai x. Sehingga didapatkan nilai  $LC_{50}$  sebesar  $146,892 \mu\text{g/mL}$ .

#### 4.6 Hasil Uji *Malondialdehyde* (MDA) pada Hewan Coba

##### 4.6.1 Kurva Standar *Malondialdehyde* (MDA)

Nilai absorbansi dari kurva standar *Malondialdehyde* (MDA) dibaca dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 530 nm. Kurva regresi linier diperoleh dengan persamaan  $y = 0,1191x + 0,005342$  dan nilai  $R^2$  sebesar 0,9992 pada (Gambar 4.7). Persamaan regresi linier yang didapat digunakan untuk menghitung kadar *Malondialdehyde* (MDA) pada organ jantung dan darah tikus.



Gambar 4.7 Kurva Standar *Malondialdehyde* (MDA)

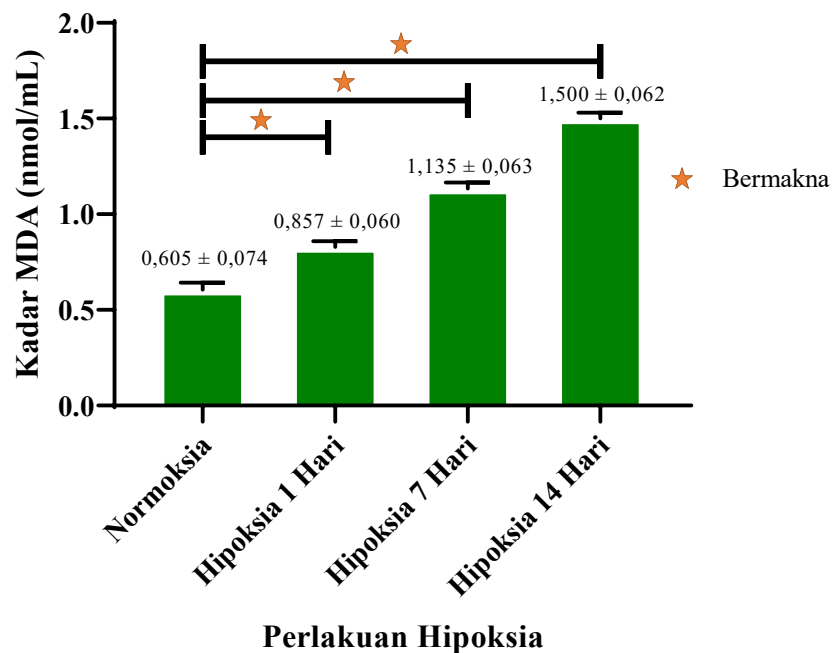
## 4.6.2 Kadar *Malondialdehyde* (MDA) Darah

### 4.6.2.1 Kelompok Tidak Diberi Cekokan

Penetapan kadar *Malondialdehyde* (MDA) menggunakan persamaan linier yang didapat dari kurva standar,  $y = 0.1191x + 0.005342$ . Nilai  $y$  merupakan absorban sampel yang didapat, sedangkan  $x$  merupakan hasil kadar MDA sampel. (Gambar 4.7).

**Tabel 4.7 Kadar *Malondialdehyde* (MDA) Darah Tikus Tidak Diberi Cekokan**

Perlakuan Hipoksia	Rata-rata Kadar MDA (nmol/mL)
Normoksia	0,605 ± 0,074
Hipoksia 1 hari	0,828 ± 0,060
Hipoksia 7 hari	1,135 ± 0,063
Hipoksia 14 hari	1,500 ± 0,062



**Gambar 4.8 Kadar MDA Darah Tikus Yang Tidak Diberi Cekokan**

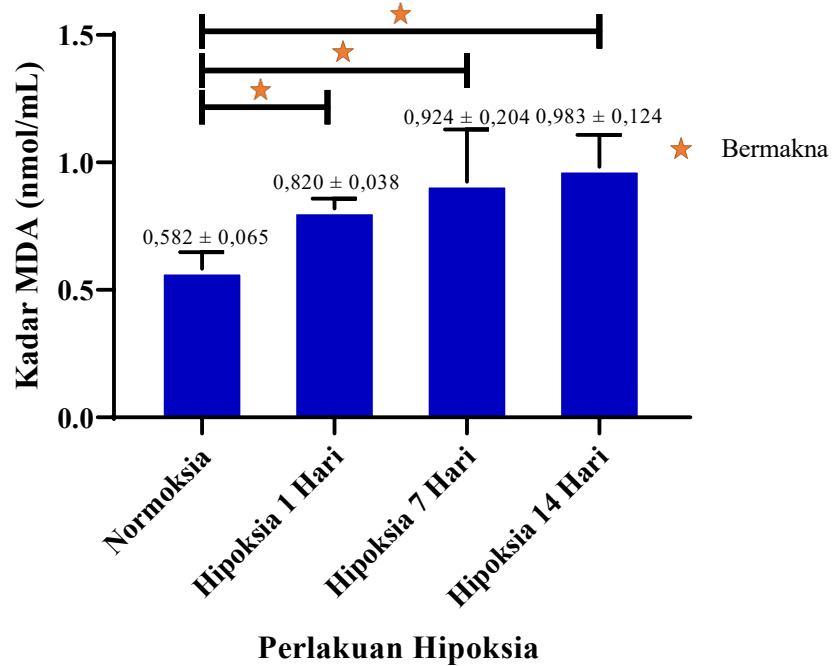
Berdasarkan uji statistik didapatkan perbedaan bermakna (*Mann-Whitney*  $p < 0,05$ ) antara masing-masing perlakuan hipoksia bila dibandingkan dengan

normoksia. Terjadi peningkatan kadar *Malondialdehyde* (MDA) seiring lamanya perlakuan hipoksia. (Tabel 4.7; Gambar 4.8)

#### 4.6.2.2 Kelompok Diberi Cekokan

**Tabel 4.8 Kadar *Malondialdehyde* (MDA) Darah Tikus Diberi Cekokan**

Perlakuan Hipoksia	Rata-rata Kadar MDA (nmol/mL)
Normoksia	0,582 ± 0,065
Hipoksia 1 hari	0,820 ± 0,038
Hipoksia 7 hari	0,924 ± 0,204
Hipoksia 14 hari	0,983 ± 0,124

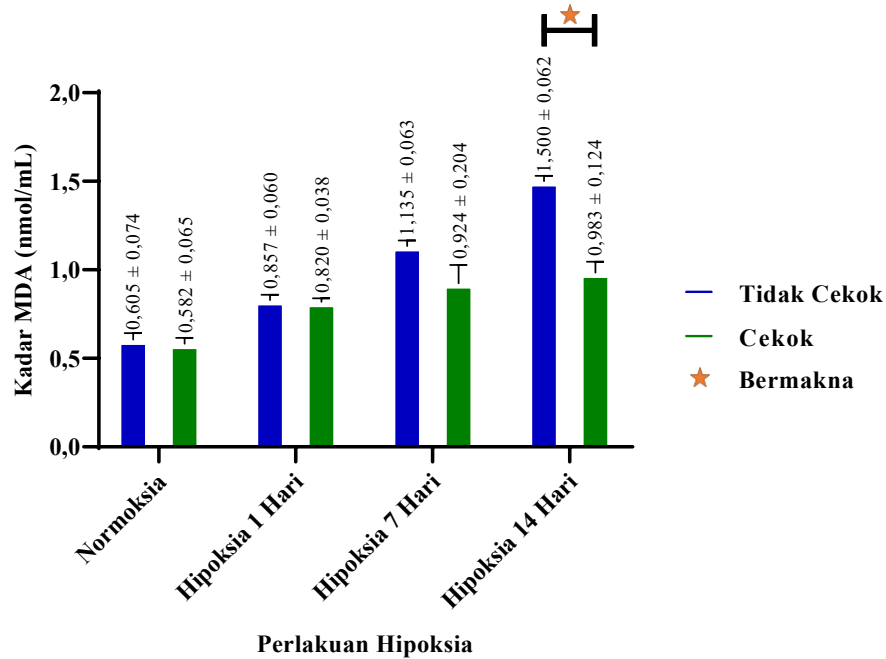


**Gambar 4.9 Kadar MDA Darah Tikus Yang Diberi Cekokan**

Berdasarkan uji statistik didapatkan perbedaan bermakna (*Mann-Whitney*  $p < 0,05$ ) antara masing-masing perlakuan hipoksia bila dibandingkan dengan normoksia. Terjadi peningkatan kadar *Malondialdehyde* (MDA) seiring lamanya perlakuan hipoksia. (Tabel 4.8 ; Gambar 4.9).

#### 4.6.2.3 Perbandingan Antara Kelompok Darah yang Tidak Diberi Cekokan dengan Diberi Cekokan

Kadar *Malondialdehyde* (MDA) darah yang didapat pada kelompok yang tidak dicekok dengan kelompok yang dicekok dibandingkan untuk melihat perbedaan berdasarkan perhitungan statistik.



**Gambar 4.9 Perbandingan Kadar MDA Darah Kelompok Tidak Cekok dengan Cekok**

Berdasarkan uji statistik didapatkan perbedaan bermakna (*Mann-Whitney*  $p < 0,05$ ) pada perlakuan hipoksia 14 hari antara kelompok yang tidak diberikan cekokan dengan diberikan cekokan. Sedangkan, pada kelompok yang lain tidak didapatkan perbedaan bermakna (*Mann-Whitney*  $p > 0,05$ ) apabila dibandingkan kelompok tidak cekok dengan kelompok cekok. (Gambar 4.9)



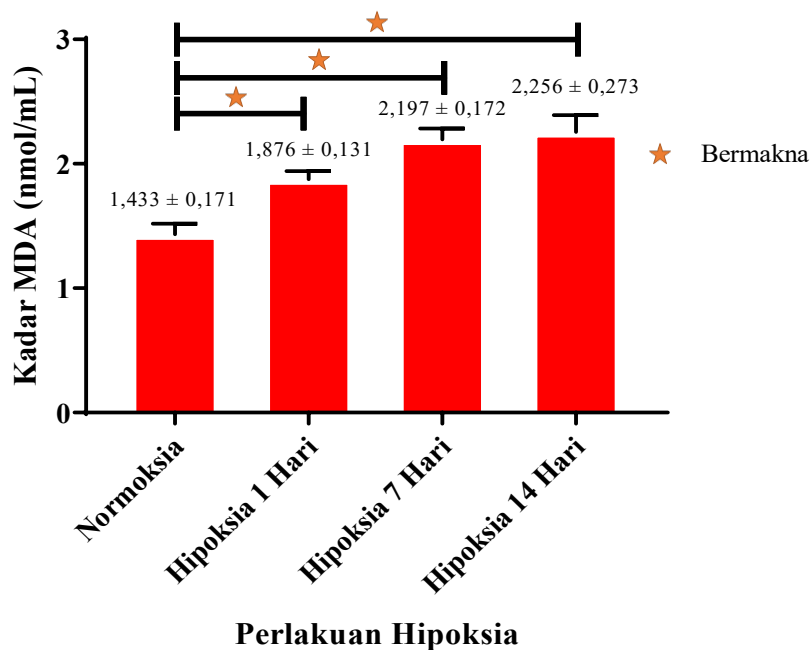
### 4.6.3 Kadar *Malondialdehyde* (MDA) pada Organ Jantung

#### 4.6.3.1 Kelompok Tidak Diberi Cekokan

Kadar *Malondialdehyde* (MDA) kelompok tidak dicekok didapat dengan mensubstitusikan absorbansi yang diukur ke persamaan linier yang didapat dari kurva standar,  $y = 0.1191x + 0.005342$ . Nilai  $y$  merupakan absorbansi sampel yang didapat, sedangkan  $x$  merupakan hasil kadar MDA sampel. (Gambar 4.7)

**Tabel 4.9 Kadar *Malondialdehyde* (MDA) Jantung Tikus Tidak Dicekok**

Perlakuan Hipoksia	Rata-rata Kadar MDA (nmol/mL)
Normoksia	1,433 ± 0,171
Hipoksia 1 hari	1,876 ± 0,131
Hipoksia 7 hari	2,197 ± 0,172
Hipoksia 14 hari	2,256 ± 0,273



**Gambar 4.11 Kadar MDA Jantung Tikus Yang Tidak Diberi Cekokan**

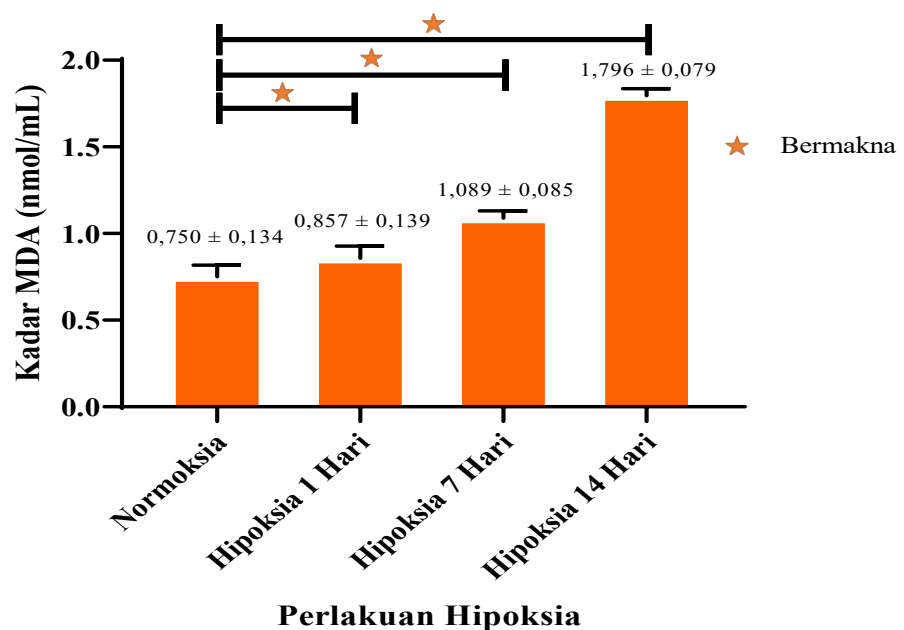
Pada uji statistik didapatkan perbedaan bermakna (*Mann-Whitney*  $p < 0,05$ ) antara masing-masing perlakuan hipoksia bila dibandingkan dengan normoksia.

Terjadi peningkatan kadar *Malondialdehyde* (MDA) seiring lamanya perlakuan hipoksia. (Tabel 4.10; Gambar 4.11)

#### 4.6.3.2 Kelompok Diberi Cekokan

**Tabel 4.10 Kadar *Malondialdehyde* (MDA) Jantung Tikus yang Dicekok Rasberi**

Perlakuan Hipoksia	Rata-rata Kadar MDA (nmol/mL)
Normoksia	0,750 ± 0,134
Hipoksia 1 hari	0,857 ± 0,139
Hipoksia 7 hari	1,089 ± 0,085
Hipoksia 14 hari	1,796 ± 0,079

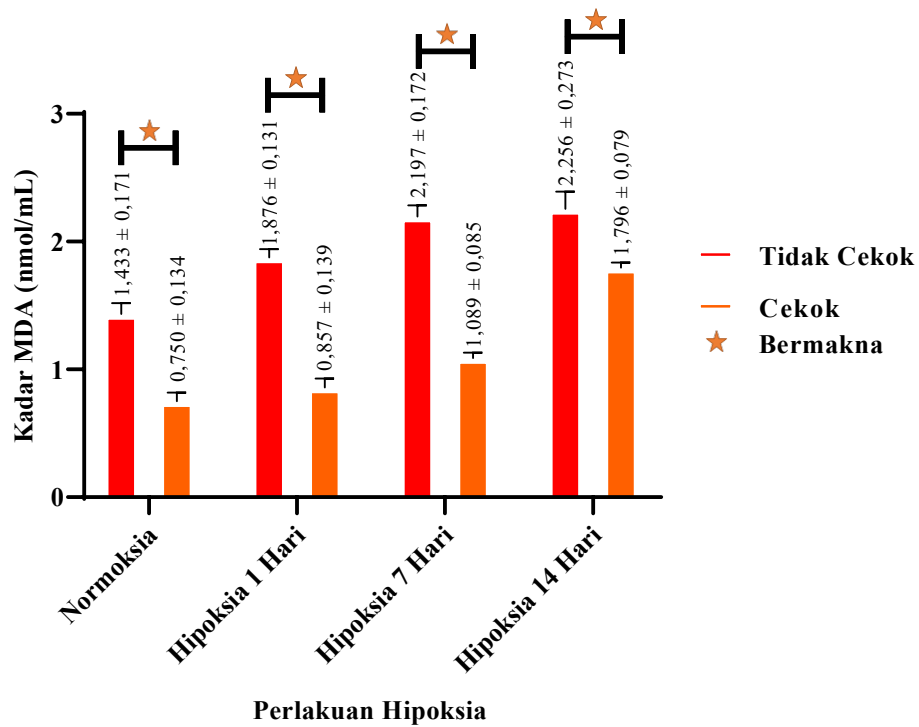


**Gambar 4.12 Kadar MDA Jantung Tikus Yang Diberi Cekokan**

Pada uji statistik didapatkan perbedaan bermakna (*Mann-Whitney*  $p < 0,05$ ) antara masing-masing perlakuan hipoksia bila dibandingkan dengan normoksia. Terjadi peningkatan kadar *Malondialdehyde* (MDA) seiring lamanya perlakuan hipoksia. (Tabel 4.10; Gambar 4.12).

#### 4.6.3.3 Perbandingan Antara Kelompok Jantung yang Tidak Diberi Cekokan dengan Diberi Cekokan

Kadar *Malondialdehyde* (MDA) darah yang didapat pada kelompok yang tidak diberikan cekokan dengan kelompok diberi cekokan dibandingkan untuk melihat perbedaan berdasarkan perhitungan statistik.



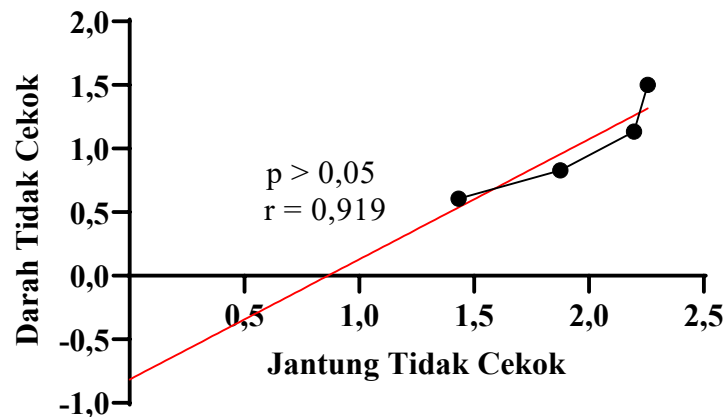
**Gambar 4.13** Perbandingan Kadar MDA Jantung Tidak Cekok dengan Cekok

Berdasarkan uji statistik didapatkan perbedaan bermakna (*Mann-Whitney*  $p < 0,05$ ) antara masing-masing perlakuan hipoksia dan normoksia bila dibandingkan kelompok tidak diberikan cekokan dengan diberikan cekokan. (Gambar 4.13)

#### 4.7 Korelasi Kadar *Malondialdehyde* (MDA) Darah dengan Jantung

##### 4.7.1 Korelasi Kadar MDA Darah dengan Jantung yang Tidak Diberi Cekokan

Kadar *Malondialdehyde* (MDA) darah kelompok tidak diberi cekokan dilakukan uji korelasi terhadap MDA jantung kelompok yang tidak diberi cekokan.

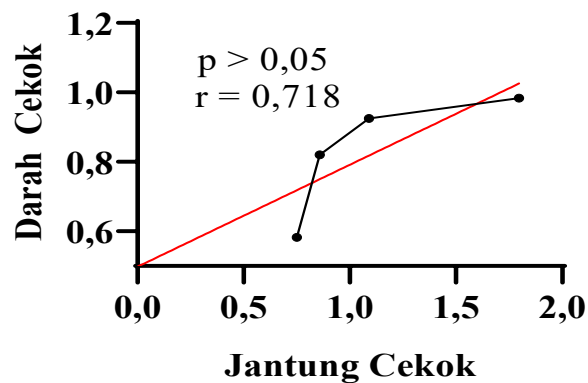


**Gambar 4.14** Korelasi Kadar MDA Darah dengan Jantung Kelompok Tidak Cekok

Uji korelasi antara kadar *Malondialdehyde* (MDA) darah dengan jantung pada kelompok tidak diberikan cekokan didapatkan hubungan tidak bermakna (*Pearson*,  $p < 0,05$ ) dengan  $r = 0,919$  dengan korelasi kuat.

##### 4.7.2 Korelasi Kadar MDA Darah dengan Jantung yang Diberi Cekokan

Kadar *Malondialdehyde* (MDA) darah kelompok diberi cekokan dilakukan uji korelasi terhadap jantung kelompok yang diberi ekstrak.

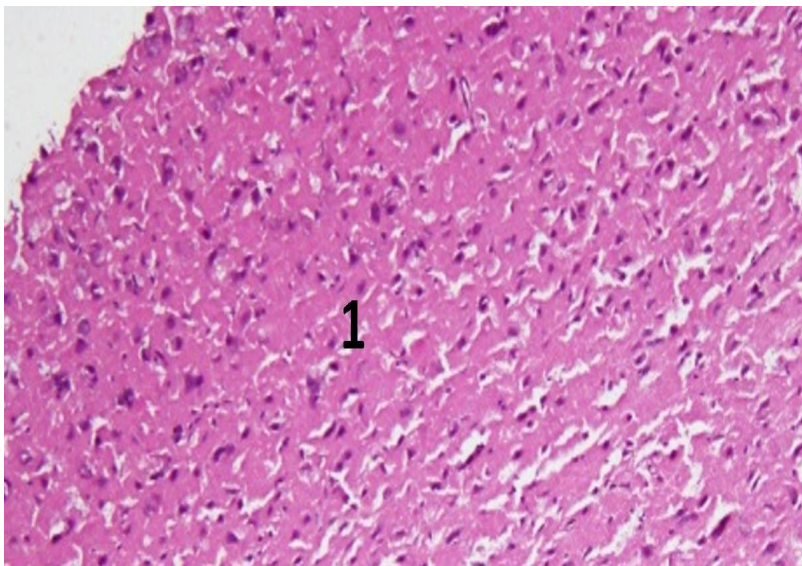


#### **Gambar 4.15 Korelasi Kadar MDA Darah dengan Jantung Kelompok Cekok**

Uji korelasi antara kadar *Malondialdehyde* (MDA) darah dengan jantung pada kelompok diberikan cekokan didapatkan hubungan tidak bermakna (*Pearson*,  $p < 0,05$ ) dengan  $r = 0,718$  dengan korelasi sedang.

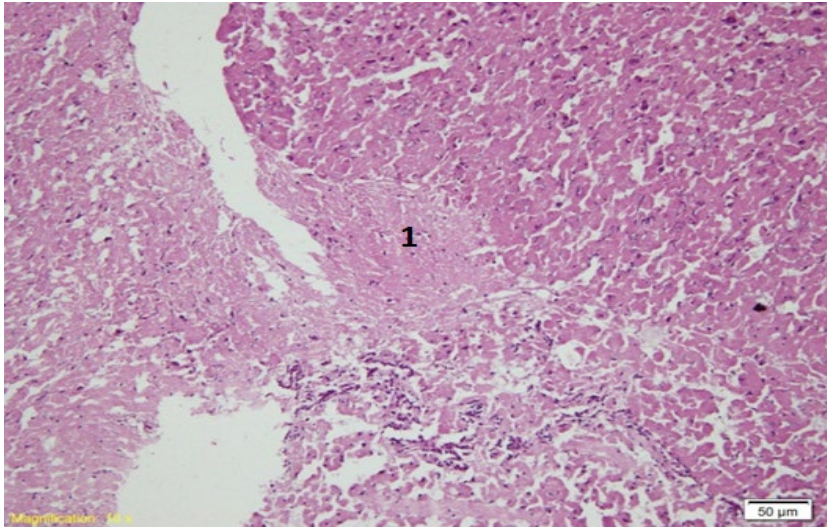
#### **4.8 Hasil Pemeriksaan Patologi Anatomi Organ Jantung Tikus (*Sprague-Dawley*)**

Pemeriksaan sediaan histopatologi pada jantung tikus dilakukan dengan metode pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE). Preparat yang dibuat dilihat dengan mikroskop cahaya dengan pembesaran 100 x. Gambar histopatologi jaringan jantung tikus baik yang dihipoksia maupun yang tidak dihipoksia dan yang dicekok maupun yang tidak dicekok dengan ekstrak daun rasberi ditemukan adanya sel jantung yang tidak memiliki kelainan yang spesifik.



**Gambar 4.16** Kelompok Uji Hipoksia 14 Hari. (1) Tidak ada kelainan spesifik. (Pewarnaan HE, 100 x).

Dari hasil pemeriksaan histopatologi jantung tikus yang diwarnai dengan pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE) dan dengan pembesaran 100 x mikroskop cahaya, didapatkan bahwa serabut jantung terlihat normal dan tidak terdapat kelainan yang spesifik (Gambar 4.16).



**Gambar 4.17** Kelompok Kontrol Hipoksia 14 Hari. *Cardiomyopathy*. (1)  
Nekrosis Serabut Otot Jantung.

Dari hasil pemeriksaan histopatologi jantung tikus yang diwarnai dengan pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE) dan dengan pembesaran 100x mikroskop cahaya, didapatkan bahwa serabut jantung terlihat adanya nekrosis (Gambar 4.17).

## BAB 5 PEMBAHASAN

### 5.1 Hasil Uji In Vitro

#### 5.1.1 Uji Fitokimia

Hasil uji fitokimia kualitatif yang dilakukan pada daun rasberi mengandung alkaloid, *anthocyanin* dan *betacyanin*, koumarin, fenol, tanin, flavonoid, glikosida, kardiak glikosida, kuinon, steroid dan terpenoid.. Hasil ini sejalan dengan penelitian dari Anulika et al<sup>55</sup>, Rafique et al<sup>14</sup> dan Burton-Freeman et al<sup>15</sup> yang menunjukkan bahwa ekstrak daun rasberi mengandung alkaloid, *anthocyanin* dan *betacyanin*, koumarin, fenol, tanin, flavonoid, glikosida, kardiak glikosida, kuinon, steroid dan terpenoid.<sup>57,58</sup>

#### 5.1.2 Uji Kapasitas Antioksidan Ekstrak Daun Rasberi

Uji kapasitas antioksidan ini dilakukan untuk pengukuran estimasi peredaman radikal bebas. Radikal bebas yang digunakan merupakan radikal bebas yang relatif stabil yaitu *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil* (DPPH). Sedangkan pembanding yang digunakan pada uji ini adalah asam askorbat (vitamin C). Dari hasil penelitian, didapatkan nilai IC<sub>50</sub> larutan vitamin C sebesar 4,793 µg/mL yang memiliki sifat antioksidan sangat kuat karena IC<sub>50</sub> < 50 mg/l, sedangkan nilai IC<sub>50</sub> ekstrak daun *Rubus idaeus* sebesar 91,822 µg/mL yang memiliki sifat antioksidan yang kuat karena IC<sub>50</sub> 50-100 mg/l. Hasil tersebut menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan yang dimiliki ekstrak daun rasberi lebih rendah dibandingkan dengan vitamin C. Hal tersebut memungkinkan karena vitamin C merupakan senyawa antioksidan yang telah dimurnikan dari bahan alam (*natural products*) atau dapat juga dibuat sintetis (asam askorbat).<sup>59</sup> Sedangkan pada daun rasberi selain terdapat metabolit yang berperan sebagai antioksidan juga terdapat metabolit lain seperti kardiak glikosida yang perannya sebagai inhibisi kanal Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase pada sel jantung sehingga meningkatkan inotropik jantung (inotropik positif).<sup>60</sup> Dalam hal lain, asam askorbat memiliki potensi lebih tinggi dalam mereduksi radikal bebas, tetapi bila dikonsumsi terlalu banyak dalam jangka panjang dapat menyebabkan pembentukan batu kalsium oksalat di ginjal sebagai hasil

metabolisme asam askorbat.<sup>44</sup>

### 5.1.3 Kadar Fenolik Total Daun Rasberi

Uji kelompok senyawa antioksidan pada ekstrak daun rasberi dapat dilakukan dengan melakukan uji fenolik. Fenolik adalah kelompok senyawa yang memiliki gugus fenol. Fenolik merupakan senyawa polar yang memiliki gugus fungsional hidroksil (-OH) yang bertugas sebagai *radical scavenger*. Oleh karena itu senyawa fenolik sering dimanfaatkan sebagai antioksidan. Dari penelitian, hasil rata-rata kadar fenolik didapatkan sebesar 1137,40 µg/ml. Kadar fenolik tersebut lebih tinggi bila dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan sebelumnya oleh *Gugala et al.* yang didapatkan kadar 266,59 mg/g. Perbedaan kadar fenolik tidak terlepas dari berbagai macam faktor yang dapat mempengaruhi, seperti metode ekstraksi, serta dapat juga dipengaruhi oleh kondisi lingkungan seperti iklim, polusi, penyakit atau jumlah pestisida yang digunakan, ataupun variasi geografi seperti ketinggian dataran, kandungan air dalam tanah, salinitas tanah, tingkat kesuburan tanah, serta faktor yang dapat mempengaruhi metode penyimpanan seperti radiasi cahaya, temperatur, maupun faktor genetik dan evolusi.<sup>61,62</sup>

### 5.1.4 Kadar Alkaloid Total Daun Rasberi

Dari hasil uji didapatkan kadar alkaloid total daun rasberi sebesar 72,24 ± 11,66 µg/mL. Alkaloid merupakan golongan senyawa yang mengandung satu atau lebih unsur nitrogen dalam cincin heterosiklik. Dalam pemanfaatannya alkaloid tidak hanya dapat berperan sebagai antioksidan, akan tetapi memiliki berbagai potensi seperti sitotoksik, antibakteri, antiinflamasi dan sebagainya.<sup>63,64,65,66</sup>

Pada jantung alkaloid dapat berifat kardioprotektif dengan mengurangi kerusakan akibat stres oksidatif. Pada penelitian yang dilakukan oleh *Li et al.*, senyawa berberin yang merupakan golongan alkaloid dapat mereduksi miokardial retikulum endoplasma stres.<sup>67</sup>

### 5.1.5 Uji Toksisitas Daun Rasberi

Uji toksisitas ekstrak daun rasberi yang dilakukan pada penelitian ini adalah uji *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Udang yang digunakan dalam uji ini adalah



*Artemia salina*. Uji ini dilakukan untuk melihat potensi toksisitas ekstrak daun rasberi serta manfaatnya untuk antikanker. Pada penelitian didapatkan nilai  $LC_{50}$  sebesar 146,892  $\mu\text{g/mL}$ . Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan sebelumnya oleh Četojević-Simin et al<sup>68</sup>, yang didapatkan hasil  $LC_{50}$  sebesar 172,42  $\mu\text{g/mL}$ . Hasil tersebut dihitung sebagai nilai  $LC_{50}$  (*Lethal Concentration*) ekstrak uji yaitu konsentrasi dari ekstrak uji yang menyebabkan kematian larva udang sebanyak 50% setelah diinkubasi selama 24 jam. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Meyer et al<sup>54</sup> pada uji toksisitas dengan menggunakan metode BSLT, nilai  $LC_{50}$  dikatakan toksik apabila  $<1000 \mu\text{g/mL}$ . Karena pada hasil penelitian ini  $LC_{50}$  sebesar 146,892  $\mu\text{g/mL}$ , maka ekstrak daun rasberi tersebut memiliki sifat sitotoksik sehingga berpotensi sebagai antikanker.<sup>54</sup>

## 5.2 Hasil Uji In Vivo

### 5.2.1 Kadar MDA Jantung dan Darah Tikus Uji

Kadar MDA didapatkan berdasarkan persamaan regresi linear  $y = 0.1191x + 0.005342$  untuk menghitung kadar MDA pada darah dan jaringan jantung tikus percobaan dengan nilai  $R^2 = 0,9992$ . Satuan dari kadar MDA dinyatakan dalam  $\text{nmol/mL}$ . Hasil statistik menunjukkan kenaikan kadar MDA jantung dan darah yang bermakna ( $p < 0,05$ ) dengan uji *Mann-Whitney* pada kelompok tikus kontrol seiring dengan lamanya waktu hipoksia yaitu 1 hari, 7 hari, dan 14 hari bila dibandingkan dengan yang normoksia. Kenaikan kadar MDA pada jantung dan darah juga bermakna (*Mann-Whitney*,  $p < 0,05$ ) pada kelompok tikus yang diberi cekokan ekstrak daun rasberi seiring dengan lamanya waktu hipoksia 1 hari, 7 hari, dan 14 hari bila dibandingkan dengan yang normoksia. Hal ini terjadi karena kerusakan lipid yang terjadi semakin lama semakin berat seiring dengan lamanya waktu hipoksia. Hal ini juga sejalan dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Janssen et al<sup>46</sup> yang menunjukkan terjadi peningkatan kadar MDA pada kelompok tikus yang mengalami stres oksidatif dibandingkan dengan kelompok yang tidak mengalami stres oksidatif.

Pada hasil percobaan terdapat kadar MDA yang lebih rendah pada kelompok tikus yang diberi cekokan ekstrak daun rasberi sehingga terjadi penurunan kadar

MDA yang bermakna pada tikus yang diberi cekokan ekstrak daun rasberi jika dibandingkan dengan tidak diberikan cekokan. Hal tersebut juga serupa pada kadar MDA darah tikus antara kelompok yang diberi cekokan ekstrak daun rasberi dibandingkan dengan tidak diberikan cekokan. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun rasberi dapat menekan terjadinya pembentukan stres oksidatif sehingga mengurangi terjadinya kerusakan lipid. Hal ini didukung dengan diketahuinya senyawa-senyawa metabolit pada daun rasberi yang berpotensi sebagai antioksidan, seperti antosianin, fenolik, dan sebagainya.<sup>69</sup> Pada penelitian ini, hasil uji korelasi *Pearson* menunjukkan hubungan yang tidak bermakna ( $p > 0,05$ ) antara kadar MDA darah dengan kadar MDA jantung tikus yang dicekok ekstrak daun rasberi. Hasil uji korelasi *Pearson* juga menunjukkan hubungan yang tidak bermakna ( $p > 0,05$ ) antara kadar MDA darah dengan kadar MDA jantung tikus yang tidak dicekok ekstrak daun rasberi. Akan tetapi kedua kelompok tersebut memiliki pola yang sama bahwa jika terdapat peningkatan kadar MDA di darah akan terlihat pula peningkatan insiden terjadinya penyakit jantung<sup>47</sup>

### **5.2.2 Pemeriksaan Patologi Anatomi pada Organ Jantung Tikus**

Hasil penelitian mikroskopis menunjukkan gambaran patologi anatomi jaringan jantung yang diberi perlakuan hipoksia sistemik kronik selama 14 hari tanpa diberi cekokan ekstrak rasberi (Gambar 4.17). Terlihat hilangnya inti sel dan diskus interkalaris, ukuran sel yang hipertrofi, terdapat nekrosis pada sel-sel jantung, hal ini menunjukkan adanya defisiensi sumber oksigen yang menyebabkan disfungsi miokard dan terjadinya proses remodeling seperti yang terjadi pada aterosklerosis, iskemi, dan penyakit jantung lainnya.<sup>21</sup> Hipoksia tersebut mengakibatkan terjadinya peningkatan ROS yang menimbulkan stres oksidatif bila ROS melebihi kapasitas antioksidan yang ada. Radikal bebas tersebut menyebabkan perubahan seluruh komponen utama sel yaitu protein, lipid, nukleotida sehingga sel dapat menjadi rusak dan mengalami kematian. Kedua hal tersebut terjadi lewat mekanisme apoptosis. Jika hal tersebut terjadi maka jumlah kardiomyosit berkurang dan fungsi jantung akan menurun. Pada gambaran patologi anatomi jaringan jantung yang diberi perlakuan hipoksia sistemik

kronik selama 14 hari dengan diberi cekokan ekstrak daun rasberi (Gambar 4.16) dapat dilihat mempunyai tingkat kerusakan juga namun nekrosis dan hipertrofi sel yang terjadi lebih ringan. Hal ini sejalan dengan penelitian *Yu et al*<sup>67</sup> dimana terdapat perubahan secara anatomi dan mikroskopik pada jantung yang di hipoksia.

## BAB 6

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 6.1 Kesimpulan

Penelitian yang dilakukan berjudul “Pengaruh Ekstrak Daun Rasberi Terhadap Kadar *Malondialdehyde* (MDA) Pada Jantung dan Darah Tikus yang Diinduksi Hipoksia” dapat disimpulkan bahwa:

1. Hasil metabolisme sekunder ekstrak daun rasberi memiliki kandungan alkaloid, *anthocyanin* dan *betacyanin*, kardioglikosida, *coumarin*, flavonoid, glikosida, fenol, kuinon, steroid, terpenoid, dan tanin.
2. Ekstrak daun rasberi kapasitas total antioksidan sebesar  $IC_{50} = 91,822 \mu\text{g/mL}$  dan vitamin sebesar  $IC_{50} = 4,793 \mu\text{g/mL}$  sehingga dapat dikatakan memiliki kapasitas antioksidan yang kuat karena  $IC_{50}$  kurang dari  $200 \mu\text{g/mL}$ .
3. Kadar fenol yang terkandung pada ekstrak daun rasberi sebesar  $1137,40 \mu\text{g/mL}$
4. Ekstrak daun rasberi memiliki total alkaloid sebesar  $72,24 \pm 11,66 \mu\text{g/mL}$ .
5. Ekstrak daun rasberi memiliki nilai toksisitas sebesar  $146,892 \mu\text{g/mL}$ .
6. Kadar MDA darah tikus yang dicekok dengan yang tidak dicekok makin meningkat
7. Kadar MDA jantung tikus yang dicekok dan yang tidak dicekok makin meningkat
8. Ada perbandingan bermakna antara kadar MDA darah tikus *Sprague-Dawley* yang dicekok dan yang tidak dicekok dengan ekstrak daun rasberi.
9. Ada perbandingan bermakna antara kadar MDA jantung tikus *Sprague-Dawley* yang dicekok dan yang tidak dicekok dengan ekstrak daun rasberi.
10. Terdapat korelasi kuat antara MDA darah dan jantung antara yang dicekok dengan yang tidak dicekok ekstrak daun rasberi.
11. Terdapat perubahan struktur organ jantung tikus *Sprague-Dawley* secara makroskopis yang dicekok dan yang tidak dicekok dengan ekstrak daun rasberi dan yang mendapat perlakuan hipoksia.

## 6.2 Saran

1. Sebaiknya dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai ekstrak daun rasberi dengan menggunakan marker lain seperti GSH, Katalase, dan SOD.
2. Sebaiknya dilakukan pengujian dengan uji fitokimia lainnya seperti *Anthocyanin*.
3. Sebaiknya penelitian ini dilakukan juga dengan jangka waktu hipoksia yang lebih lama.

## Daftar Pustaka

1. Wheaton WW, Chandel NS. Hypoxia Regulates Cellular Metabolism. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2011;303(3):c385-932.
2. Guzy R, Schumacker P. Oxygen Sensing by Mitochondria at Complex III: The Paradox of Increased Reactive Oxygen Species During Hypoxia. *EP.* 2006;91(5):807-819
3. Semenza GL. Hypoxia-Inducible Factors in Physiology and Medicine. *Cell.* 2012;148(3):399–408.
4. Sherwood L. *Human Physiology: From Cells to Systems.* 9th ed. Boston: Cengage Learning. 2015:593-94
5. Alfadda AA, Sallam RM. Reactive Oxygen Species in Health and Disease. *J Biomed Biotechnol.* 2012 Aug 8 ;2012:1-14
6. Halliwell B. Antioksidants and Human Diseases: A General Introduction .*Nutr. Rev.*1997;55:S44-S49.
7. Stief TW. The blood fibrinolysis/deep-sea analogy:A hypothesis on the cell signals singlet oxygen/photons as natural antirrhombotics. *Thromb. Res.* 2000;99:1-20
8. Ray PD, Huang BW, Tsuji Y. Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling. *Cellular signalling.* 2012;24(5):981-90. (Cited 2017 Sep 8)
9. Ayatte A, Palacino J, Horten K, Cohen P. Chronic Inhibition of Nitric Oxide Production Accelerates Neointima Formation and Impairs Endothelial Function in Hypercholesterolemic Rabbits. *Arterioscler Thromb* 1994; 14: 753-759.
10. Naik P. Free Radicals in Health Disease and Antioxidants. *Biochemistry,* 2010; 29: 593–600.
11. Santo A, Zhu H, Li YR. Free radicals: From Health to Disease. *Reactive Oxygen Species.* 2016;2(4):245-263
12. Vincent B, Vincent J. Reactive Oxygen Species in Myocardial Reperfusion Injury: From Physiopathology to Therapeutic Approaches. *Current Phamaceutical Biotechnology.* 2012;13:97-114
13. Santos CXC, Anilkumar N, Zhang M, Brewer AC, Shah AM. Redox signaling in cardiac myocytes. *Free radic Biol Med* 2011;50(7):777-93
14. Gawel S, Wardas M, Niedworok E, Wardas P. Malondialdehyde (MDA) as a lipid peroxidation marker. *Wiad Lek.* 2004 ;57(9-10):453-5
15. Meydani M, Das S, Band M, Epstein S, Roberts S. The effect of caloric restriction and glycemic load on measures of oxidative stress and antioxidants in humans: results from the Calerie Trial of Human Caloric Restriction, *J Nutr Healt Aging.*2011;15:456-460

16. Beddle C. Oxygen: the two-faced elixir of life. AANA journal. 2008;76(1): Available from: [https://www.aana.com/docs/defaultsource/aana-journal-web-documents-1/jcourse0208\\_p6168.pdf?sfvrsn=348548b1\\_4](https://www.aana.com/docs/defaultsource/aana-journal-web-documents-1/jcourse0208_p6168.pdf?sfvrsn=348548b1_4). (cited 2017 Sep 25)
17. Murray RK, Bender DA, Botham KM, Kennelly PJ, Rodwell VW, Weil PA. Biokimia Harper. Jakarta: EGC; 2003:29
18. Bhagavan NV. Medical biochemistry. Harcourt/Academic Press;2002:1016.
19. Vasudevan DM. Text Book of Biochemistry. 2013; 7: 436-438
20. Lobo V, Patil A, Phatak A, Chandra N. Free radicals, antioxidants, and functional foods: Impact on human health. Pharmacogn Rev. 2010;4(8):118
21. Shankar PS. Oxygen therapy. Quart Med Res 1980;30:1-20.
22. Halliwell B. Reactive Species and Antioxidants. Redox Biology Is a Fundamental Theme of Aerobic Life. Plant Physiol. 2006;141(2):312-322
23. Noori S. An overview of oxidative stress and antioxidant defensive system. Open access scientific reports. 2012;1(8):1-9
24. Barrera G. Oxidative stress and lipid peroxidation products in cancer progression and therapy. ISRN Oncol. 2012;2012:137289
25. Bhattacharya S. Free Radicals in Human Health and Disease: Reactive oxygen species and cellular defense system. Springer India. 2015: 17-29
26. Giordano FJ. Oxygen, oxidative stress, hypoxia, and heart failure. Journal of Clinical Investigation. 2005 ;115(3):500
27. Semenza GL. HIF 1 Mediator of Physiological and Pathophysiological Response of Hypoxia. *J Appl Physiol*. 2000;88:2474-80
28. Haddad JJ. Oxygen sensing mechanism and regulation of redoxresponsive transcription factors in development and physiology. *Respir Res*.2000;3:1-27
29. Zagorska A Dulak J. HIF-1: the knows and unknowns of hypoxia sensing. *Acta Biochimia Polonica*. 2004; 5:437-46
30. Dombrovsky P, Racz O. Hypoxia. (cited 2017 Sep 22): Available from: <http://patfyz.medic.upjs.sk/acom/hypoxia.pdf>.
31. Flora R, Freisleben H-J, Ferdinal F, Wanandi SI, Sadikin M, Correlation of hypoxia inducible factor-1  $\alpha$  and vascular endothelium growth factor in rat myocardium during aerobic and anaerobic exercise. 2012;21(3)
32. El Hasnoi-Saadani R. Adaptation to chronic Hypoxia Combined with Erythropoietin Deficiency in Cerebral and Cardiac Tissues. In : Hypoxia and Human Diseases . InTech 2017
33. Meneses AN, Wielockx B. PHD 2: from hypoxia regulation to disease progression. Dove Medical Press.2016;4:53-67
34. Birben E, Sahiner UM, Sackesen C, Erzurum S, Kalayci O. Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organ J*. 2012 Jan;5(1):9-19

35. Wikana J. Pemberian kompleks buah berry menurunkan stress oksidatif dan meningkatkan pertahanan oksidatif pada perokok aktif. Denpasar : Universitas Udayana;2011
36. Gordon, M. H., "Dietary Antioxidants in Disease Prevention," *Natural Product Reports* (1996) 13: 265-273
37. Kaliora *et al.* Wattanapityakul And Bauer dalam Durkar *et al.* 2014;12:21
38. Burton GJ, Jauniaux E. Oxidative stress. *Best Pract Res Clin Obset Gyanaecol.* 2011 Jun;25(3):287-99
39. Lawrence GS. Endothelial Dysfunction in Diabetes Mellitus. *J Med Nus* 1999;20:49-53.
40. Wahid S , Kabo P, Lawrence GS, Yusuf I, Wijaya A. High Sensitivity C-Reactive Protein in Cluster of Metabolic Syndrome. In: 8th Asia Pacific Society of Pathologists Congress. 2003;13:165
41. Avery S V. Molecular Targets of Oxidative Stress. *Biochem J.* 2011 Mar 1;434(2):201-10
42. Zarndt R, Piloto S Powell FL, Haddad GG, Bodmer R Occor K. Oxygen as a Regulator of Biological Systems; Cardiac Responses to Hypoxia and Reoxygenation in *Drosophila*. *Am Physiol – Regul Integr Comp Physiol.* 2015 Dec 1;309(11):R1347
43. Pham-Huy LA, He H, Pham-Huy C. Free radicals, Antioxidants in Disease and Health. *International Journal of Biomedical Science: IJBS.* 2008 (cited Oct 1);4(2):89
44. Eberhardt Manfred K. *Reactive Oxygen Metabolites.* 2nd. Ed. CRC Press, Washington DC, 2001:174-185
45. Jeyabalan, A., Caritis, S.N. Antioksidant and The Prevention of Preeklampsia-Unresolved Issues. *New England J Med,* 2007;354(17):1841-1843
46. Nehi Wadhwa, Blessy B Mathew SKJ and AT. Lipid Peroxidation: Mechanism, models an significance. *Int J Curr Sei.* 2012;3 (January 2012):29-38.
47. Ayala A, Munoz NF, Arguelles S, *et al.* Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanism of Malondialdehyde and 4-hydroxy-2-noenal. *Oxid Med Cell Longev.* 2014 May 8 ;2014:360438
48. Repetto M, Semprine J, Boveris A. Lipid Peroxidation: Chemical Mechanism, Biological Implications and Analytical Determination. 2012;1:1-30
49. Lin CH, *et al.*, Evaluation of in Vitro and in Vivo Depigmenting Activity of Raspberry Ketone from *Rheum officinale*, *Int J Mol Sci.* 2011;12(8):4819-35
50. Morimoto C, Satoh Y, Hara M, Inoue S, Tsujita T, Okuda H, Anti-obese Action of Raspberry Ketone, *Life Sci.* 2005;77: 194–204
51. Kawada T, Hagihara KI, Iwai K, Effects of Capsaicin on Lipid Metabolism in Rats Fed a High Fat Diet, *J Nutr.* 1986;116:1272–1278



52. Iqbal E, Salim KA, Lim LB. Phytochemical Screening, Total Phenolics and Antioxidant Activities of Bark and Leaf Extracts of *Goniothalamus Velutinus* (Airy Shaw) from Brunei Darussalam. *Journal of King Saud University Science*. 2015;27(3):224-32
53. Blois MS. Antioxidant Determinations By The Use Of a Stable Free Radical. *Nature*. 1958 Apr 26;181(4617):1199-200
54. Meyer BN, Ferrigni NR, Putnam JE, Jacobsen LB, Nichols DJ, McLaughlin JL. Brine shrimp: a Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. *Planta medica*. 1982 (cited 2017 Des 11);45(05):31-4
55. Devasagayam TP, Bolor KK, Ramasarma T. Methods for Estimating Lipid Peroxidation: an Analysis of Merits and Demerits. *Indian Journal of Biochemistry & Biophysics*. 2003;40(5):300-8
56. Anulika NP, Ignatius EO, Raymond ES, Osasere O, Hilda A. The Chemistry Of Natural Product : Plant Secondary Metabolites. 2016;4(8):1–8
57. Rafique MZ, Carvalho E, Stracke R, Palmieri L, Herrera L, Feller A, *et al*. Nonsense Mutation Inside Anthocyanidin Synthase Gene Controls Pigmentation in Yellow Raspberry (*Rubus idaeus* L.). *Frontiers in Plant Science*. 2016;7:55-61.
58. Burton-Freeman BM, Sandhu AK, Edirisinghe I. Red Raspberries and Their Bioactive Polyphenols: Cardiometabolic and Neuronal Health Links. *Adv Nutr*. 2016;7:44–65.
59. Schlueter AK, Johnston CS. Vitamin C: Overview and Update. *Journal of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine*. 2011;16(1):49-57
60. Katzung B.G, Masters S.B, Trevor A.J. *Farmakologi Dasar dan Klinik* Soeharsono R, Heriyanto P, Iskandar M, Octavius H, editors. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. 2016; 12(1):50-56
61. Yang, Li; Wen, Kui Shan; Ruan, Xiao; Zhao, Ying Xian; Wei, Feng; Wang, Qiang. Response of Plant Secondary Metabolites to Environmental Factors. *Molecules*. 2018; 23:762
62. Figueiredo AC, Barroso JG, Pedro LG, Scheffer JJC. John Wiley & Amp; Sons, Ltd. Factors Affecting Secondary Metabolite Production in Plants: Volatile Components and Essential Oils. *Flavour and Fragrance Journal*. 2008; 23:41-55
63. C.-L. Kuo, C.-W. Chi, and T.-Y. Liu, “The anti-inflammatory potential of berberine in vitro and in vivo,” *Cancer Letters*. 2004;203(2): 127–137
64. F. R. Stermitz, P. Lorenz, J. N. Tawara, L. A. Zenewicz, and K. Lewis, “Synergy in a Medicinal Plant: Antimicrobial Action of Berberine Potentiated by 5- $\alpha$ -Methoxyhydnocarpin, a Multidrug Pump Inhibitor,” *Proceedings of The National Academy of Sciences of the United States of America*. 2000; 97(4): 1433-37

65. Lee ST, Welch KD, Panter KE, Gardner DR, Garrossian M, Chang CT. Cyclopamine: from Cyclops Lambs to Cancer Treatment. *J Agric Food Chem.* 2014;62:7355–62.
66. Yang L, Stöckigt J. Trends for Diverse Production Strategies of Plant Medicinal Alkaloids. *Nat Prod Rep.* 2010;27:1469–79.
67. Yu L, Li F, Zhao G, Yang Y, Jin Z, Zhai M, et al. Protective effect of berberine against myocardial ischemia reperfusion injury: role of Notch1/Hes1-PTEN/Akt signaling. *Apoptosis.* 2015; 20: 796–810.
68. Četojević-Simin DD, Velićanski AS, Djilas SM. Bioactivity of Meeker and Willamette Raspberry (*Rubus idaeus* L.) pomace extracts. *Food chemistry.* 2015;166:407-13.
69. Buricova L, Andjelkovic M, Cermakova A, Reblova Z, Jurcek O, Kolehmainen E, et al. Antioxidant Capacity and Antioxidants of Strawberry, Blackberry, Raspberry Leaves. *Czech J. Food Sci.* 2011;29:181-89

Lampiran 1 – Lembar Persetujuan Etik untuk Hewan



**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: 145/KER/FK/I/2019**

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 INDUKSI HIPOKSIA KRONIK SISTEMIK TERHADAP KADAR MALONDIALDEHIDA (MDA) HATI DAN DARAH TIKUS *SPRAGUE DAWLEY* YANG DIBERI EKSTRAK DAUN RASBERI (*RUBUS IDAEUS L*)**

Peneliti Utama : Ria Nata Sia

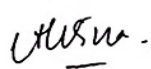
Lembaga/Tempat penelitian : FK Universitas Tarumanagara

Dinyatakan memenuhi persyaratan etik untuk dilaksanakan.

Jakarta, 17 Januari 2019

Ketua  
  
Prof. DR. dr. Adi Hidayat, MS  


Sekretaris

  
dr. Alvina SpPK

## Lampiran 2 – Tanaman Rasberi

Pohon Rasberi



Daun Rasberi



## Lampiran 3 – Identifikasi Tanaman



**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: 145/KER/FK/I/2019**

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 INDUKSI HIPOKSIA KRONIK SISTEMIK TERHADAP KADAR MALONDIALDEHIDA (MDA) HATI DAN DARAH TIKUS *SPRAGUE DAWLEY* YANG DIBERI EKSTRAK DAUN RASBERI (*RUBUS IDAEUS L*)**

Peneliti Utama : Ria Nata Sia

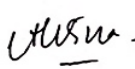
Lembaga/Tempat penelitian : FK Universitas Tarumanagara

Dinyatakan memenuhi persyaratan etik untuk dilaksanakan.

Jakarta, 17 Januari 2019

Ketua  
  
  
Dr. DR. Adi Hidayat, MS

Sekretaris

  
dr. Alvina SpPK



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, 6 April 2018

Nomor : 865/IPH.1.01/If.07/IV/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	Strawberry	<i>Fragaria vesca</i> L.	Rosaceae
2	Raspberry	<i>Rubus idaeus</i> L.	Rosaceae
3	Blackberry	<i>Rubus</i> sp.	Rosaceae

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.

Kepala Bidang Botani  
Pusat Penelitian Biologi-LIPI,  
  
Dr. Joeni Setijo Rahajoe  
NIP. 196706241993032004

**LAMPIRAN – 4 : Dokumentasi dan Alat Penelitian**

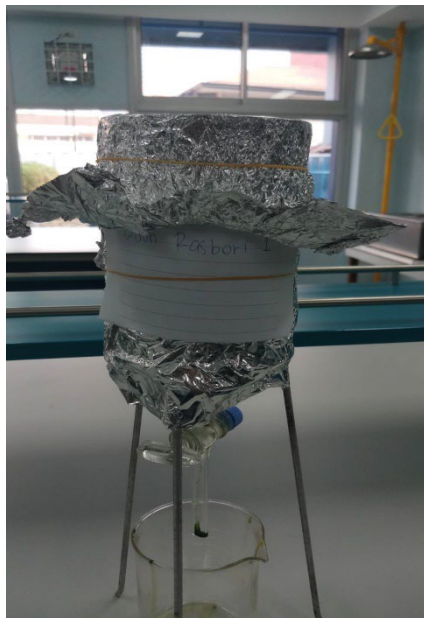
**Gambar 1. Evaporasi**



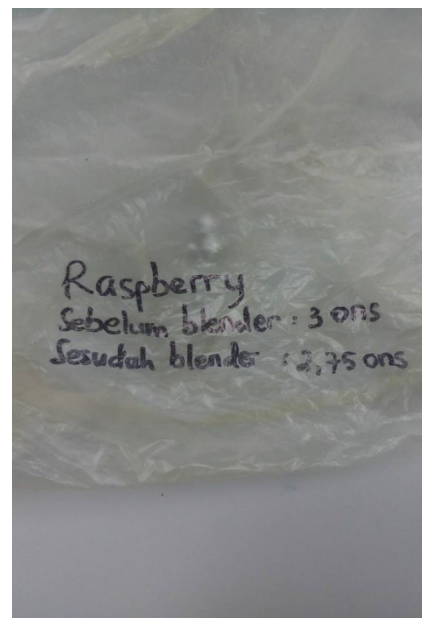
**Gambar 2. Maserasi**



**Gambar 3. Maserasi *Raspberry***



**Gambar 4. Pengukuran Berat *Raspberry***



**Gambar 5. Uji DPPH**



**Gambar 6. Jadwal Pengekukan Tikus**

Juni 12	Oket	: Yunita, Rio, Ade
Sabtu 13	Oket	: Nia, Safira, Emi
Minggu 14	Oket	: Ade, Maria, Oliv
Senin 15	Oket	: Ade, Rio, Will, Nia
Selasa 16	Oket	: Emi, Safira, Oliv
Rabu 17	Oket	: Will, Maria, Nia
Kamis 18	Oket	: Ade, Nia, Oliv, Maria
Jumat 19	Oket	: Will, Yunita, Safira, Rio
Sabtu 20	Oket	: Ade, Nia, Maria
Minggu 21	Oket	: Enshelma, Rizki
Senin 22	Oket	: Emi, Oliv, Yunita
Selasa 23	Oket	: Ade, Safira, Yunita
Rabu 24	Oket	: Will, Yunita, Nia
Kamis 25	Oket	: Will, Rio, Maria
Jumat 26	Oket	: Emi, Rio, Oliv
Sabtu 27	Oket	: Emi, Oliv, Safira
Minggu 28	Oket	: Ade, Nia, Maria
Senin 29	Oket	: Will, Oliv, Rio
Selasa 30	Oket	: Emi, Nia, Yunita
Rabu 31	Oket	: Ade, Maria, Safira
Kamis 1	Nov	: Will, Oliv, <del>Will</del> Nia, Yunita
Jumat 2	Nov	: Emi, Safira, Maria, Rio



**Gambar 7. Uji Fitokimia**

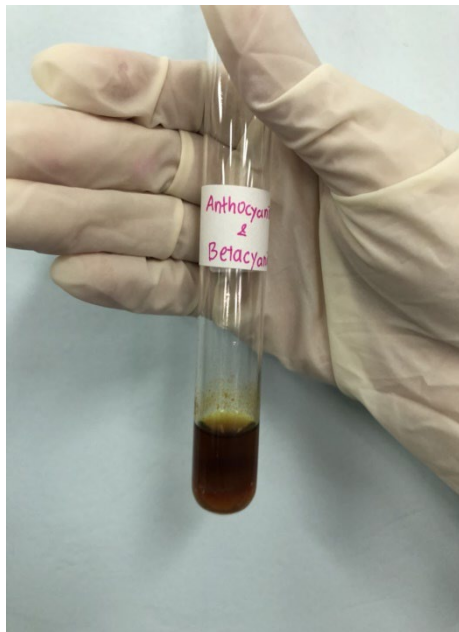
**Gambar 8. Uji Kadar Alkaloids**





**Lampiran – 5: Hasil Uji In Vitro dan In Vivo**

**Gambar 1. Uji Antosianin dan Betasianin**



**Gambar 2. Uji Kardioglikosida**



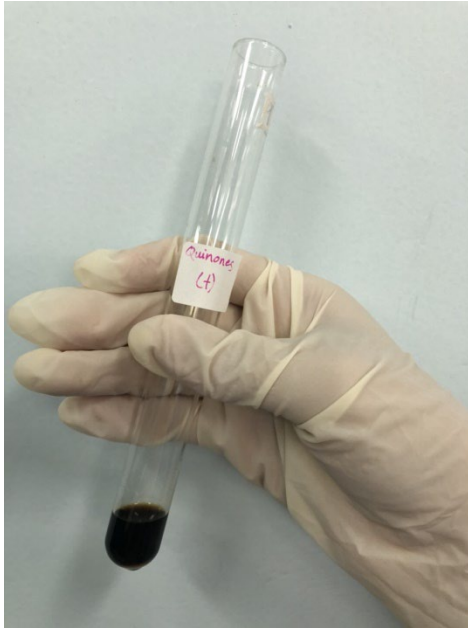
**Gambar 3. Uji Koumarin**



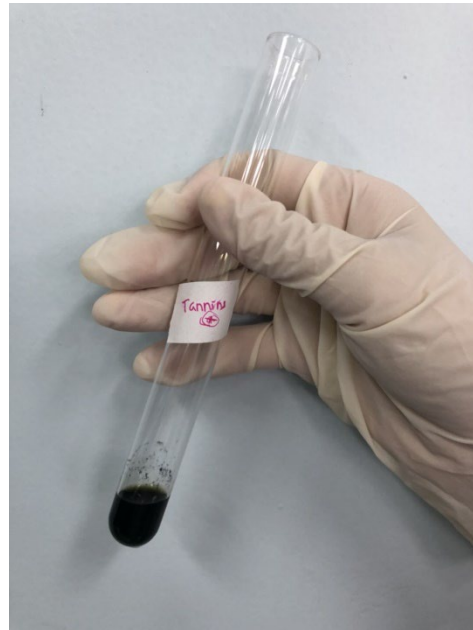
**Gambar 4. Uji Glikosida**



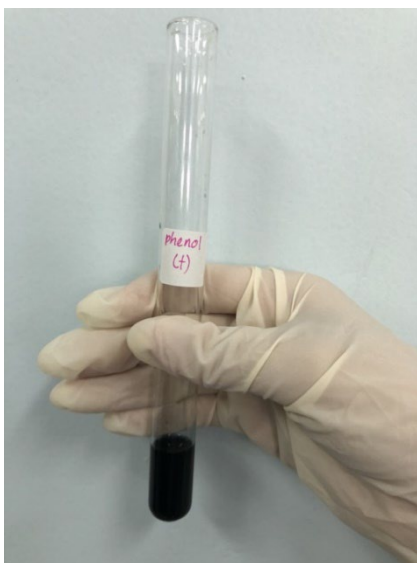
**Gambar 5. Uji Kuinon**



**Gambar 6. Uji Tanin**



**Gambar 7. Uji Fenolik**



**Gambar 8. Uji Flavonoid**



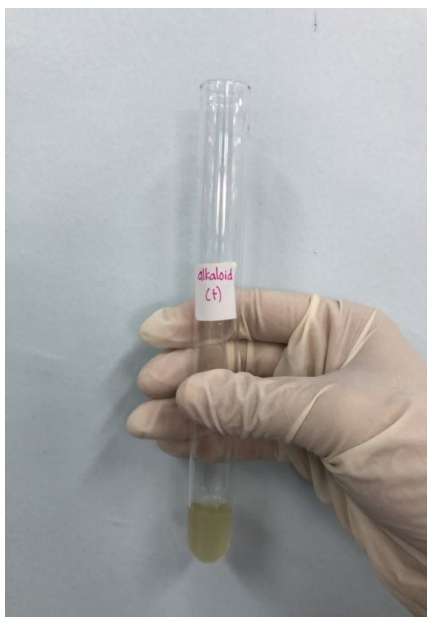
**Gambar 9. Uji Steroid**



**Gambar 10. Uji Terpenoid**



**Gambar 11. Uji Alkaloid**



## Lampiran 6 – Hasil Uji Kapasitas Total Antioksidan Ekstrak Daun Rasberi

Hasil Uji Kapasitas Antioksidan Ekstrak Daun Rasberi dan Nilai Absorbansi

Konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ )	Rata-rata Absorbansi	% Inhibisi	LC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/ml}$ )
10	0,445	13,42	
30	0,417	18,87	
50	0,362	29,57	96,28
70	0,330	35,80	
90	0,260	49,42	

### Regresi Linier DPPH Ekstrak Daun Rasberi

Best-fit values  $\pm$  SE

Slope	0.4447 $\pm$ 0.03783
Y-intercept	7.184 $\pm$ 2.173
X-intercept	-16.16
1/slope	2.249

95% Confidence Intervals

Slope	0.3243 to 0.565
Y-intercept	0.2672 to 14.1
X-intercept	-42.29 to -0.4862

Goodness of Fit

R square	0.9787
Sy.x	2.393

Is slope significantly non-zero?

F	138.1
DFn, DFd	1, 3
P value	0.0013

Deviation from zero? Significant

Equation  $Y = 0.4447 * X + 7.184$

Data

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

**Lampiran 7– Hasil Uji Kapasitas Total Antioksidan Standar Asam Askorbat (Vitamin C)**

Hasil Uji Kapasitas Antioksidan Vitamin C (Asam Askorbat) dan Nilai Absorbansi

Konsentrasi (µg/ml)	Rata-rata absorbansi	% Inhibisi	LC <sub>50</sub> (µg/ml)
2	0,346	32,68	
4	0,288	43,97	
6	0,213	58,56	4,718
8	0,152	70,43	
10	0,086	83,27	

**Regresi Linier dari Asam Askorbat Pengujian DPPH**

Best-fit values ± 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

## Lampiran 8 – Hasil Uji Fenolik

Tabel 4.4 Absorbansi Larutan Standar Tanin

Konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ )	Rata-rata Absorbansi
300	0,344
400	0,421
500	0,469
600	0,531
700	0,654

### Regresi Linier Standar Tanin Pengujian Fenolik

Best-fit values $\pm$ SE	
Slope	0.00073 $\pm$ 7.332e-005
Y-intercept	0.1188 $\pm$ 0.0381
X-intercept	-162.7
1/slope	1370
95% Confidence Intervals	
Slope	0.0004967 to 0.0009633
Y-intercept	-0.002447 to 0.24
X-intercept	-478.9 to 2.564
Goodness of Fit	
R square	0.9706
Sy.x	0.02319
Is slope significantly non-zero?	
F	99.13
DFn, DFd	1, 3
P value	0.0022
Deviation from zero?	Significant
Equation	$Y = 0.00073 * X + 0.1188$
Data	
Number of X values	5
Maximum number of Y replicates	1
Total number of values	5
Number of missing values	0

## Lampiran 9 – Hasil Uji Alkaloid

### Regresi Linier *Berberine Chloride* Pengujian *Alkaloids*

---

Best-fit values $\pm$ SE	
Slope	0.001715 $\pm$ 0.0002174
Y-intercept	0.0481 $\pm$ 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

---

## Lampiran 10 – Hasil Uji Toksisitas BSLT

Regresi Linier Pengujian BSLT	
Best-fit values ± SE	
Slope	45.73 ± 9.258
Y-intercept	-49.1 ± 21.35
X-intercept	1.074
1/slope	0.02187
95% Confidence Intervals	
Slope	5.899 to 85.56
Y-intercept	-141 to 42.78
X-intercept	-6.588 to 1.814
Goodness of Fit	
R square	0.9242
Sy.x	14.24
Is slope significantly non-zero?	
F	24.4
DFn, DFd	1, 2
P value	0.0386
Deviation from zero?	Significant
Equation	$Y = 45.73 * X - 49.1$
Data	
Number of X values	4
Maximum number of Y replicates	1
Total number of values	4
Number of missing values	0



**Lampiran 11 – Hasil Absorbansi dan Kadar *Malondyaldehyde* (MDA) Jantung**

Standar MDA	Konsentrasi (nmol/ml)	Standar	Absorbansi
S1	0,078		0,012
S2	0,156		0,021
S3	0,132		0,043
S4	0,625		0,085
S5	1,25		0,156
S6	2,5		0,301

Tabel Regresi Standar MDA

Standar MDA	Absorbansi
Best-fit values	
Slope	0.1159
Y-intercept	0.01140
X-intercept	-0.09839
1/slope	8.627
Std. Error	
Slope	0.004772
Y-intercept	0.005596
95% Confidence Intervals	
Slope	0.1027 to 0.1292
Y-intercept	-0.004132 to 0.02694
X-intercept	-0.2534 to 0.03313
Goodness of Fit	
R square	0.9933
Sy.x	0.01013
Is slope significantly non-zero?	
F	590.1
DFn, DFd	1, 4
P value	<0.0001
Deviation from zero?	
	Significant
Equation	
	$Y = 0.1159 * X + 0.01140$

Tabel Kolom Statistik Kadar MDA Jantung Kontrol

Kolom Statistik	Normoksia	Hipoksia 1 Hari	Hipoksia 7 Hari	Hipoksia 14 Hari
Jantung Tidak Cekok	4	4	4	4
Number of values	4	4	4	4
Minimum	1.273	1.735	1.978	1.937
Maximum	1.601	2.037	2.365	2.566
Range	0.3280	0.3020	0.3870	0.6290
Mean	1.433	1.876	2.197	2.256
Std. Deviation	0.1710	0.1318	0.1722	0.2730
Std. Error of Mean	0.08548	0.06589	0.08611	0.1365

Tabel Analisa Statistik Jantung Tidak Cekok: Hipoksia 1 Hari dengan Normoksia

Table Analyzed	Jantung Tidak Cekok
Column B	Hipoksia 1 Hari
vs.	vs.
Column A	Normoksia
Mann Whitney test	
P value	0.0286
Exact or approximate P value?	Exact
P value summary	*
Significantly different (P < 0.05)?	Yes
One- or two-tailed P value?	Two-tailed
Sum of ranks in column A,B	10 , 26
Mann-Whitney U	0
Difference between medians	
Median of column A	1.428, n=4
Median of column B	1.865, n=4
Difference: Actual	0.4370
Difference: Hodges-Lehmann	0.4495

Tabel Analisa Statistik Jantung Tidak Cekok: Hipoksia 7 Hari dengan Normoksia

Table Analyzed	Jantung Tidak Cekok
Column C	Hipoksia 7 Hari
vs.	vs.
Column A	Normoksia
Mann Whitney test	
P value	0.0286
Exact or approximate P value?	Exact
P value summary	*
Significantly different (P < 0.05)?	Yes
One- or two-tailed P value?	Two-tailed
Sum of ranks in column A,C	10 , 26

Mann-Whitney U	0
Difference between medians	
Median of column A	1.428, n=4
Median of column C	2.222, n=4
Difference: Actual	0.7940
Difference: Hodges-Lehmann	0.7520

Tabel Analisa Statistik Jantung Tidak Cekok: Hipoksia 14 Hari dengan Normoksia

Table Analyzed	Jantung Tidak Cekok
Column D	Hipoksia 14 Hari
vs.	vs.
Column A	Normoksia
Mann Whitney test	
P value	0.0286
Exact or approximate P value?	Exact
P value summary	*
Significantly different (P < 0.05)?	Yes
One- or two-tailed P value?	Two-tailed
Sum of ranks in column A,D	10 , 26
Mann-Whitney U	0
Difference between medians	
Median of column A	1.428, n=4
Median of column D	2.260, n=4
Difference: Actual	0.8315
Difference: Hodges-Lehmann	0.8315

Tabel Kolom Statistik Kadar MDA Jantung Kontrol

	Normoksia	Hipoksia 1 Hari	Hipoksia 7 Hari	Hipoksia 14 Hari
Number of values	4	4	4	4
Minimum	0.6185	0.7108	1.005	1.702
Maximum	0.9375	1.021	1.198	1.886
Range	0.3191	0.3107	0.1931	0.1847
Mean	0.7507	0.8577	1.089	1.796
Std. Deviation	0.1344	0.1399	0.08590	0.07917
Std. Error of Mean	0.06720	0.06996	0.04295	0.03959

Tabel Analisa Statistik Jantung Cekok: Hipoksia 1 Hari dengan Normoksia

Table Analyzed	Jantung Cekok
Column B	Hipoksia 1 Hari
vs.	vs.
Column A	Normoksia
Mann Whitney test	
P value	0.4000
Exact or approximate P value?	Exact
P value summary	Ns
Significantly different (P < 0.05)?	No
One- or two-tailed P value?	Two-tailed
Sum of ranks in column A,B	14.50 , 21.50
Mann-Whitney U	4.500
Difference between medians	
Median of column A	0.7234, n=4
Median of column B	0.8494, n=4
Difference: Actual	0.1259
Difference: Hodges-Lehmann	0.08816

Tabel Analisa Statistik Jantung Cekok: Hipoksia 7 Hari dengan Normoksia

Table Analyzed	Jantung Cekok
Column C	Hipoksia 7 Hari
vs.	vs.
Column A	Normoksia
Mann Whitney test	
P value	0.0286
Exact or approximate P value?	Exact
P value summary	*
Significantly different (P < 0.05)?	Yes
One- or two-tailed P value?	Two-tailed
Sum of ranks in column A,C	10 , 26
Mann-Whitney U	0
Difference between medians	
Median of column A	0.7234, n=4
Median of column C	1.076, n=4
Difference: Actual	0.3526
Difference: Hodges-Lehmann	0.3526

Tabel Analisa Statistik Jantung Cekok: Hipoksia 14 Hari dengan Normoksia

Table Analyzed	Jantung Cekok
Column D	Hipoksia 14 Hari
vs.	vs.
Column A	Normoksia
Mann Whitney test	
P value	0.0286
Exact or approximate P value?	Exact
P value summary	*
Significantly different (P < 0.05)?	Yes
One- or two-tailed P value?	Two-tailed
Sum of ranks in column A,D	10 , 26
Mann-Whitney U	0
Difference between medians	
Median of column A	0.7234, n=4
Median of column D	1.798, n=4
Difference: Actual	1.075
Difference: Hodges-Lehmann	1.071

**Lampiran 12 – Hasil Absorbansi dan Kadar *Malondyaldehyde* (MDA) Darah**

Tabel Kolom Statistik Kadar MDA Darah Tidak Cekok

	Normoksia	Hipoksia 1 Hari	Hipoksia 7 Hari	Hipoksia 14 Hari
Number of values	4	4	4	4
Minimum	0.5345	0.7444	1.063	1.441
Maximum	0.6856	0.8871	1.206	1.576
Range	0.1511	0.1427	0.1427	0.1343
Mean	0.6059	0.8284	1.135	1.500
Std. Deviation	0.07431	0.06016	0.06302	0.06208
Std. Error of Mean	0.03716	0.03008	0.03151	0.03104

Tabel Analisa Statistik Darah Tidak Cekok: Hipoksia 1 Hari dengan Normoksia

Table Analyzed	Darah Tidak Cekok
Column B	Hipoksia 1 Hari
vs.	vs.
Column A	Normoksia
Mann Whitney test	
P value	0.0286
Exact or approximate P value?	Exact
P value summary	*
Significantly different (P < 0.05)?	Yes
One- or two-tailed P value?	Two-tailed
Sum of ranks in column A,B	10 , 26
Mann-Whitney U	0
Difference between medians	
Median of column A	0.6017, n=4
Median of column B	0.8410, n=4
Difference: Actual	0.2393
Difference: Hodges-Lehmann	0.2057

Tabel Analisa Statistik Darah Tidak Cekok: Hipoksia 7 Hari dengan Normoksia

Table Analyzed	Darah Tidak Cekok
Column C	Hipoksia 7 Hari
vs.	vs.
Column A	Normoksia
Mann Whitney test	
P value	0.0286
Exact or approximate P value?	Exact
P value summary	*
Significantly different (P < 0.05)?	Yes
One- or two-tailed P value?	Two-tailed

Sum of ranks in column A,C	10 , 26
Mann-Whitney U	0
Difference between medians	
Median of column A	0.6017, n=4
Median of column C	1.135, n=4
Difference: Actual	0.5332
Difference: Hodges-Lehmann	0.5248

Tabel Analisa Statistik Darah Tidak Cekok: Hipoksia 14 Hari dengan Normoksia

Table Analyzed	Darah Tidak Cekok
Column D	Hipoksia 14 Hari
vs.	vs.
Column A	Normoksia
Mann Whitney test	
P value	0.0286
Exact or approximate P value?	Exact
P value summary	*
Significantly different (P < 0.05)?	Yes
One- or two-tailed P value?	Two-tailed
Sum of ranks in column A,D	10 , 26
Mann-Whitney U	0
Difference between medians	
Median of column A	0.6017, n=4
Median of column D	1.492, n=4
Difference: Actual	0.8900
Difference: Hodges-Lehmann	0.8984

Tabel Kolom Statistik Kadar MDA Darah Cekok

Tabel Analisa Statistik Darah Cekok: Hipoksia 1 Hari dengan Normoksia

Table Analyzed	Darah Cekok
Column B	Hipoksia 1 Hari
vs.	vs.
Column A	Normoksia
Mann Whitney test	
P value	0.0286
Exact or approximate P value?	Exact
P value summary	*
Significantly different (P < 0.05)?	Yes
One- or two-tailed P value?	Two-tailed
Sum of ranks in column A,B	10 , 26
Mann-Whitney U	0
Difference between medians	
Median of column A	0.5849, n=4

Median of column B	0.8242, n=4
Difference: Actual	0.2393
Difference: Hodges-Lehmann	0.2309

Tabel Analisa Statistik Darah Cekok: Hipoksia 7 Hari dengan Normoksia

<u>Table Analyzed</u>	<u>Darah Cekok</u>
Column C	Hipoksia 7 Hari
vs.	vs.
Column A	Normoksia
Mann Whitney test	
P value	0.0286
Exact or approximate P value?	Exact
P value summary	*
Significantly different (P < 0.05)?	Yes
One- or two-tailed P value?	Two-tailed
Sum of ranks in column A,C	10 , 26
Mann-Whitney U	0
Difference between medians	
Median of column A	0.5849, n=4
Median of column C	0.9375, n=4
Difference: Actual	0.3526
Difference: Hodges-Lehmann	0.3568

Tabel Analisa Statistik Darah Cekok: Hipoksia 14 Hari dengan Normoksia

<u>Table Analyzed</u>	<u>Darah Cekok</u>
Column D	Hipoksia 14 Hari
vs.	vs.
Column A	Normoksia
Mann Whitney test	
P value	0.0286
Exact or approximate P value?	Exact
P value summary	*
Significantly different (P < 0.05)?	Yes
One- or two-tailed P value?	Two-tailed
Sum of ranks in column A,D	10 , 26
Mann-Whitney U	0
Difference between medians	
Median of column A	0.5849, n=4
Median of column D	0.9921, n=4
Difference: Actual	0.4072
Difference: Hodges-Lehmann	0.4072



Tabel Analisa Statistik Jantung Cekok dengan Tidak Cekok: Normoksia

Table Analyzed	jantung cekok-tidak cekok2
Column B	NTC
vs.	vs.
Column A	NC
Mann Whitney test	
P value	0.0286
Exact or approximate P value?	Exact
P value summary	*
Significantly different (P < 0.05)?	Yes
One- or two-tailed P value?	Two-tailed
Sum of ranks in column A,B	10 , 26
Mann-Whitney U	0
Difference between medians	
Median of column A	0.7234, n=4
Median of column B	1.428, n=4
Difference: Actual	0.7046
Difference: Hodges-Lehmann	0.6590

Tabel Analisa Statistik Jantung Cekok dengan Tidak Cekok: Hipoksia 1 Hari

Table Analyzed	jantung cekok-tidak cekok2
Column D	H1TC
vs.	vs.
Column C	H1C
Mann Whitney test	
P value	0.0286
Exact or approximate P value?	Exact
P value summary	*
Significantly different (P < 0.05)?	Yes
One- or two-tailed P value?	Two-tailed
Sum of ranks in column C,D	10 , 26
Mann-Whitney U	0
Difference between medians	
Median of column C	0.8494, n=4
Median of column D	1.865, n=4
Difference: Actual	1.016
Difference: Hodges-Lehmann	1.020

Tabel Analisa Statistik Jantung Cekok dengan Tidak Cekok: Hipoksia 7 Hari

Table Analyzed	jantung cekok-tidak cekok2
Column F	H7TC
vs.	vs.
Column E	H7C
Mann Whitney test	
P value	0.0286
Exact or approximate P value?	Exact
P value summary	*
Significantly different (P < 0.05)?	Yes
One- or two-tailed P value?	Two-tailed
Sum of ranks in column E,F	10 , 26
Mann-Whitney U	0
Difference between medians	
Median of column E	1.076, n=4
Median of column F	2.222, n=4
Difference: Actual	1.146
Difference: Hodges-Lehmann	1.125

Tabel Analisa Statistik Jantung Cekok dengan Tidak Cekok: Hipoksia 14 Hari

Table Analyzed	Jantung cekok-tidak cekok2
Column H	H14TC
vs.	vs.
Column G	H14C
Mann Whitney test	
P value	0.0286
Exact or approximate P value?	Exact
P value summary	*
Significantly different (P < 0.05)?	Yes
One- or two-tailed P value?	Two-tailed
Sum of ranks in column G,H	10 , 26
Mann-Whitney U	0
Difference between medians	
Median of column G	1.798, n=4
Median of column H	2.260, n=4
Difference: Actual	0.4614
Difference: Hodges-Lehmann	0.4656

Tabel Analisa Statistik DarahCekok dengan Tidak Cekok: Normoksia  
darah cekoktdk

Table Analyzed	cekok
Column B	NTC
vs.	vs.
Column A	NC
Mann Whitney test	
P value	0.4000
Exact or approximate P value?	Exact
P value summary	ns
Significantly different (P < 0.05)?	No
One- or two-tailed P value?	Two-tailed
Sum of ranks in column A,B	14.50 , 21.50
Mann-Whitney U	4.500
Difference between medians	
Median of column A	0.5849, n=4
Median of column B	0.6017, n=4
Difference: Actual	0.01679
Difference: Hodges-Lehmann	0.01679

Tabel Analisa Statistik Darah Cekok dengan Tidak Cekok: Hipoksia 1 Hari  
darah cekoktdk

Table Analyzed	cekok
Column D	H1TC
vs.	vs.
Column C	H1C
Mann Whitney test	
P value	0.6857
Exact or approximate P value?	Exact
P value summary	ns
Significantly different (P < 0.05)?	No
One- or two-tailed P value?	Two-tailed
Sum of ranks in column C,D	16 , 20
Mann-Whitney U	6
Difference between medians	
Median of column C	0.8242, n=4
Median of column D	0.8410, n=4
Difference: Actual	0.01679
Difference: Hodges-Lehmann	0.01679

Tabel Analisa Statistik Darah Cekok dengan Tidak Cekok: Hipoksia 7 Hari

Table Analyzed	darah cekoktdk cekok
Column F	H7TC
vs.	vs.
Column E	H7C
Mann Whitney test	
P value	0.2000
Exact or approximate P value?	Exact
P value summary	Ns
Significantly different (P < 0.05)?	No
One- or two-tailed P value?	Two-tailed
Sum of ranks in column E,F	13 , 23
Mann-Whitney U	3
Difference between medians	
Median of column E	0.9375, n=4
Median of column F	1.135, n=4
Difference: Actual	0.1973
Difference: Hodges-Lehmann	0.1973

Tabel Analisa Statistik Darah Cekok dengan Tidak Cekok: Hipoksia 14 Hari

Table Analyzed	darah cekok tdk cekok
Column H	H14TC
vs.	vs.
Column G	H14C
Mann Whitney test	
P value	0.0286
Exact or approximate P value?	Exact
P value summary	*
Significantly different (P < 0.05)?	Yes
One- or two-tailed P value?	Two-tailed
Sum of ranks in column G,H	10 , 26
Mann-Whitney U	0
Difference between medians	
Median of column G	0.9921, n=4
Median of column H	1.492, n=4
Difference: Actual	0.4996
Difference: Hodges-Lehmann	0.4996

Tabel Korelasi Jantung dengan Darah Tidak Cekok

Jantung Tidak  
Cekok  
vs.  
Darah Tidak Cekok

Pearson r	
R	0.919
95% confidence interval	-0.363 to 0.998
R squared	0.844
P value	
P (two-tailed)	0.0815
P value summary	ns
Significant? (alpha = 0.05)	No
Number of XY Pairs	4

Tabel Korelasi Jantung dengan Darah Cekok

Jantung Cekok  
vs.  
Darah Cekok

Pearson r	
R	0.781
95% confidence interval	-0.722 to 0.995
R squared	0.611
P value	
P (two-tailed)	0.2186
P value summary	Ns
Significant? (alpha = 0.05)	No
Number of XY Pairs	4

## DAFTAR RIWAYAT HIDUP

### DATA PRIBADI

1. Nama : Maria Olivia Angeline Wijanto
2. NIM : 40516175
3. Jenis Kelamin : Perempuan
4. Tempat, Tanggal Lahir : Semarang, 27 Oktober 1998
5. Agama : Kristen Protestan
6. Status : Belum Menikah
7. Pendidikan Terakhir : SMA
8. Alamat : Jalan Taman S Parman no A7 , Grogol
9. Nomor Telepon : 081325294770
10. Email : marolangeline@gmail.com

### DATA PENDIDIKAN

1. 2001 - 2002 : Playgroup Tri Tunggal
2. 2002 - 2004 : TK Tri Tunggal
3. 2004 - 2010 : SD Tri Tunggal
4. 2010 - 2013 : SMP Krista Mitra
5. 2013 - 2016 : SMA Karangturi
6. 2016 - Sekarang : Universitas Tarumanagara