

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN
STRAWBERRY (FRAGARIA VESCA L.)
TERHADAP KADAR MALONDIALDEHID
(MDA) PARU DAN DARAH TIKUS *SPRAGUE*
DAWLEY SETELAH DIINDUKSI HIPOKSIA**

SKRIPSI



disusun oleh:

OLIVIA MARGARETHA

405160165

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS TARUMANAGARA
JAKARTA
2019**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN
STRAWBERRY (FRAGARIA VESCA L.)
TERHADAP KADAR MALONDIALDEHID
(MDA) PARU DAN DARAH TIKUS *SPRAGUE*
DAWLEY SETELAH DIINDUKSI HIPOKSIA**

SKRIPSI



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

OLIVIA MARGARETHA

405160165

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS TARUMANAGARA
JAKARTA
2019**

PERNYATAAN ORISINALITAS KARYA ILMIAH

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Olivia Margaretha

NIM : 405160165

dengan ini menyatakan dan menjamin bahwa skripsi yang saya serahkan kepada Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara berjudul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun *Strawberry* (*Fragaria vesca* L.) Terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) Paru dan Darah Tikus *Sprague Dawley* setelah Diinduksi Hipoksia” merupakan hasil karya sendiri, dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar dan tidak melanggar ketentuan plagiarisme dan otoplagiarisme.

Saya memahami dan akan menerima segala konsekuensi yang berlaku di lingkungan Universitas Tarumanagara apabila terbukti melakukan pelanggaran plagiarisme atau otoplagiarisme.

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

Jakarta, 8 Juli 2019

Penulis,

Olivia Margaretha

405160165

PENGESAHAN SKRIPSI

Skripsi yang diajukan oleh :

Nama : Olivia Margaretha

NIM : 405160165

Program Studi : Ilmu Kedokteran

Judul Skripsi :

Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun *Strawberry* (*Fragaria vesca* L.) Terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) Paru dan Darah Tikus *Sprague Dawley* setelah Diinduksi Hipoksia

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

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

DEWAN PENGUJI

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

Penguji 1 : Prof. Dr. dr. Frans Ferdinal, M.S ()

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

Mengetahui,

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

Ditetapkan di

Jakarta, 8 Juli 2019

PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Olivia Margaretha

NIM : 405160165

Program Studi : Ilmu Kedokteran

Fakultas : Kedokteran

Karya Ilmiah : Skripsi

demi pengembangan ilmu dan pengetahuan, menyetujui untuk memublikasikan karya ilmiah berjudul:

Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun *Strawberry* (*Fragaria vesca* L.) Terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) Paru dan Darah Tikus *Sprague Dawley* setelah Diinduksi Hipoksia

dengan menyantumkan Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara.

Jakarta, 8 Juli 2019

Penulis,

Olivia Margaretha

405160165

KATA PENGANTAR

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

Selama proses penyusunan skripsi ini penulis mengalami banyak pembelajaran dan pengalaman khususnya dalam pelaksanaan penelitian.

Oleh karena itu penulis menyampaikan ucapan terima kasih atas dukungan dalam penyusunan skripsi ini dari awal hingga akhir, kepada:

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

Akhir kata, semoga skripsi ini membawa manfaat sebesar-besarnya bagi pengembangan ilmu pengetahuan dan kesehatan.

Jakarta, 8 Juli 2019

Penulis,

Olivia Margaretha

405160165

ABSTRACT

Hypoxia is a state of reduced oxygen level causing ROS increase resulting in oxidative stress triggering lipid peroxidization (marker MDA) and impacting on the lung leading to diseases such as COPD. Antioxidants such as strawberry leaves (Fragaria vesca L.) can hamper the incidence of oxidative stress. The study is intended to cognize impacts to the giving of extract of strawberry leaves against malondialdehyde (MDA) level of the lungs and blood of Sprague Dawley mice after being induced hypoxia. The study has been conducted in vitro i.e. phytochemical screening, antioxidant capacity with DPPH, phenolic test (Singleton & Rossi), alkaloid test (Trivedi et al) and toxicity test (Meyer) and also in vitro with Sprague Dawley mice divided into groups given extract of strawberry leaves (400 mg/kg/day; 14 days) and not given the extract with normoxia treatment duration, hypoxia (8% O₂, 92% N₂) 1, 7, 14 days. Examinations of MDA (Wills E.D) and lung histopathology (HE) with 40 and 100 times magnification have also been conducted. The phytochemical test (alkaloids, anthocyanin and betacyanin, cardio glycosides, coumarins, flavonoids, glycosides, phenolic, quinones, steroids, terpenoids, tannins), gains positive results, antioxidant capacity IC-50 125.58 µg/L, phenolic level 508.493 µg/L, alkaloids 29.679 µg/L, and toxicity LC-50 21.6 µg/L. There is a meaningful increase (t- test, p0.05) MDA level on blood and lungs of Sprague Dawley mice induced hypoxia 1, 7, and 14 days compared with normoxia in all groups. Those not given extract of strawberry leaves have higher MDA level. There is a meaningful correlation between the lungs and blood of the mice given and not given extract of strawberry leaves. Histopathology of lungs induced hypoxia for 14 days and not given extract of strawberry leaves shows lungs with pneumonia and peribroncheolitis whereas the ones given the extract show minimal detriment. In conclusion, strawberry leaves have antioxidant and anticancer effects.

Key words: Fragaria vesca L., Oxydative Stress, Malondialdehyde (MDA), Antioxidant, Lung.

ABSTRAK

Hipoksia adalah suatu keadaan berkurangnya kadar oksigen yang menyebabkan peningkatan ROS sehingga terjadi stres oksidatif yang memicu terjadinya peroksidasi lipid (marker MDA) dan berdampak pada organ paru sehingga dapat menimbulkan penyakit seperti PPOK. Maka dibutuhkan antioksidan seperti daun *strawberry* (*Fragaria vesca* L.) untuk menghambat terjadinya stres oksidatif. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun *strawberry* terhadap kadar malondialdehid (MDA) paru dan darah tikus *Sprague Dawley* setelah diinduksi hipoksia. Penelitian dilakukan secara *in vitro* yaitu skrining fitokimia, kapasitas antioksidan dengan DPPH, uji fenolik (*Singleton & Rossi*), uji alkaloid (*Trivedi et al*) serta uji toksisitas (*Meyer*) dan juga *in vivo* dengan tikus *Sprague Dawley* yang dibagi menjadi kelompok yang diberi ekstrak daun *strawberry* (400 mg/kgBB/hari; 14 hari) dan tidak diberi ekstrak dengan durasi perlakuan normoksia, hipoksia (8% O₂, 92% N₂) 1, 7, 14 hari. Dilakukan pemeriksaan MDA (Wills E.D) dan pemeriksaan histopatologi paru (HE) dengan pembesaran 40 dan 100 kali. Pada uji fitokimia (alkaloid, antosianin dan betasianin, kardio glikosida, *coumarins*, flavonoid, glikosida, fenolik, kuinon, *steroids*, *terpenoids*, tanin) didapatkan hasil positif, uji kapasitas antioksidan IC-50 125.58 µg/mL, kadar fenolik 508.493 µg /L, alkaloid 29.679 µg/L, dan uji toksisitas LC-50 21.606 µg/mL. Terdapat peningkatan bermakna (*t-test*, *p*<0.05) kadar MDA pada darah dan paru tikus *Sprague Dawley* yang diinduksi hipoksia 1, 7, dan 14 hari dibandingkan dengan normoksia pada semua kelompok. Kelompok yang tidak diberi ekstrak daun *strawberry* memiliki kadar MDA yang lebih tinggi. Terdapat korelasi bermakna antara paru dengan darah tikus yang diberi maupun yang tidak diberi ekstrak daun *strawberry*. Histopatologi paru yang diinduksi hipoksia dan tidak diberi ekstrak daun *strawberry* menunjukkan paru mengalami pneumonia dan peribronkeolitis sedangkan yang diberi ekstrak kerusakannya minimal. Dapat disimpulkan bahwa daun *strawberry* memiliki efek antioksidan dan antikanker.

Kata kunci: *Fragaria vesca* L., Stres Oksidatif, Malondialdehid (MDA), Antioksidan, Paru.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
PERNYATAAN ORISINALITAS KARYA ILMIAH	ii
PENGESAHAN SKRIPSI.....	iii
PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH	iv
KATA PENGANTAR.....	v
ABSTRACT	vi
ABSTRAK	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR SINGKATAN.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvi
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.2.1 Pernyataan Masalah	3
1.2.2 Pertanyaan Masalah	3
1.3 Hipotesis Penelitian	3
1.4 Tujuan Penelitian	4
1.4.1 Tujuan Umum	4
1.4.2 Tujuan Khusus	4
1.5 Manfaat Penelitian	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Oksigen	6
2.2 Hipoksia	7
2.3 Spesies Oksigen Reaktif (ROS).....	8
2.4 Stres Oksidatif.....	10
2.5 Paru	11
2.6 Malondialdehid (MDA)	13
2.7 Strawberry.....	15
2.8 Kerangka Teori	18
2.9 Kerangka Konsep.....	19
BAB 3 METODOLOGI PENELITIAN.....	20
3.1 Desain Penelitian	20
3.2 Tempat dan Waktu	20
3.3 Sampel Penelitian.....	20
3.4 Perhitungan Besar Sampel	20
3.5 Cara Kerja Penelitian	21
3.5.1 Pengambilan Daun <i>Strawberry</i>	21
3.5.2 Identifikasi Daun <i>Strawberry</i>	21
3.5.3 Pembuatan Ekstrak Daun <i>Strawberry</i>	21
3.5.4 Uji Fitokimia Kualitatif Berdasarkan Harborne.....	22

3.5.4.1 Uji Alkaloid dengan Metode Mayer	22
3.5.4.2 Uji Antosianin dan Betasianin dengan Metode NaOH	22
3.5.4.3 Uji Kardio Glikosida dengan Metode <i>Concentrate H₂SO₄</i>	22
3.5.4.4 Uji <i>Coumarins</i> dengan Metode NaOH	23
3.5.4.5 Uji Flavonoid dengan Metode <i>Ammonium</i>	23
3.5.4.6 Uji Glikosida dengan Metode <i>Modified</i> Borntrager	23
3.5.4.7 Uji Fenolik dengan Metode Folin Ciocalteu.....	23
3.5.4.8 Uji Kuinon dengan Metode H ₂ SO ₄	23
3.5.4.9 Uji <i>Steroids</i> dengan Metode Salkowski	24
3.5.4.10 Uji <i>Terpenoids</i> dengan Metode Salkowski	24
3.5.4.11 Uji Tanin dengan Metode <i>Ferric Chloride</i>	24
3.5.5 Penentuan Kapasitas Total Antioksidan DPPH dengan Metode Blois	24
3.5.5.1 Menentukan Panjang Gelombang Maksimal dan Absorbansi Kontrol.....	24
3.5.5.2 Menentukan Absorbansi Asam Askorbat	25
3.5.5.3 Menentukan Absorbansi Uji	25
3.5.5.4 Pengolahan Data DPPH	26
3.5.6 Uji Fenolik dengan Metode Singleton dan Rossi	26
3.5.6.1 Pembuatan Kurva Standar Tanin..	26
3.5.6.2 Pengukuran Kadar Fenolik Daun <i>Strawberry</i>	27
3.5.7 Uji Kadar Alkaloid Total dengan Metode Trivedi et al	27
3.5.7.1 Pembuatan Larutan Standar Stok <i>Berberine Chloride</i>	27
3.5.7.2 Pembuatan Larutan Standar Alkaloid	27
3.5.7.3 Pembuatan Larutan Sampel Alkaloid	28
3.5.8 Uji Toksisitas Daun <i>Strawberry</i> dengan Metode Meyer	28
3.5.8.1 Proses Penetasan <i>Artemia salina</i>	28
3.5.8.2 Mempersiapkan Ekstrak Daun <i>Strawberry</i> yang di Uji	28
3.5.8.3 Prosedur Pengujian Toksisitas dengan BSLT	29
3.5.9 Perlakuan Hewan Coba	29
3.5.9.1 Perlakuan Hipoksia	29
3.5.9.2 Pemberian Ekstrak pada Hewan Coba	30
3.5.10 Pengambilan Sampel Darah dan Paru Tikus.....	30
3.5.11 Pembuatan Buffer Fosfat 0,1 M pH 7,2 (<i>Phospate Buffer</i>)	31
3.5.12 Pembuatan Homogenat Paru dan Lisat Darah	31
3.5.13 Pengukuran MDA	32
3.5.13.1 Pembuatan Larutan TCA 20 %	32
3.5.13.2 Pembuatan Larutan TBA 0,67 %	32
3.5.13.3 Pembuatan dan Pengukuran Larutan Standar MDA	32
3.5.13.4 Pengukuran Kadar MDA Darah dan Paru.....	32
3.5.14 Pemeriksaan Patologi Anatomi Paru Hewan Coba.....	33
3.6 Variabel Penelitian	34
3.6.1 Variabel Bebas	34
3.6.2 Variabel Terikat	34
3.6.3 Variabel Antara	34
3.7 Definisi Operasional	34
3.7.1 Hipoksia	34
3.7.2 Malondialdehid (MDA)	35
3.8 Instrumen Penelitian	35

3.8.1 Alat Penelitian.....	35
3.8.2 Bahan Penelitian	35
3.9 Pengumpulan Data	36
3.10 Analisis Data	36
3.11 Alur Penelitian	37
BAB 4 HASIL PENELITIAN	38
4.1 Uji Fitokimia Kualitatif Berdasarkan Harborne.....	38
4.2 Kapasitas Antioksidan Total Ekstrak Daun <i>Strawberry</i> menggunakan DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil).....	38
4.2.1 Panjang Gelombang dan Absorbansi Optimum DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil).....	38
4.2.2 Uji Larutan Standar Asam Askorbat.....	39
4.2.3 Uji Ekstrak Daun <i>Strawberry</i>	40
4.3 Kadar Fenolik Daun <i>Strawberry</i>	42
4.4 Kadar Alkaloid Total	43
4.5 Toksisitas Ekstrak Daun <i>Strawberry</i> dengan Metode <i>Brine Shrimp Lethality Test</i> (BSLT)	44
4.6 Aktivitas Spesifik MDA dengan Metode Wills	46
4.6.1 Kurva Standar MDA	46
4.6.2 Kadar MDA Darah.....	47
4.6.2.1 Kadar MDA Darah Tikus yang Tidak Diberi Ekstrak Daun <i>Strawberry</i> .	47
4.6.2.2 Kadar MDA Darah Tikus yang Diberi Ekstrak Daun <i>Strawberry</i>	48
4.6.2.3 Perbandingan Kadar MDA Darah Tikus yang Tidak Diberi Ekstrak Daun <i>Strawberry</i> dan Diberi Ekstrak Daun <i>Strawberry</i>	49
4.6.3 Kadar MDA Paru	49
4.6.3.1 Kadar MDA Paru Tikus yang Tidak Diberi Ekstrak Daun <i>Strawberry</i>	49
4.6.3.2 Kadar MDA Paru Tikus yang Diberi Ekstrak Daun <i>Strawberry</i>	50
4.6.3.3 Perbandingan Kadar MDA Paru Tikus yang Tidak Diberi Ekstrak Daun <i>Strawberry</i> dan Diberi Ekstrak Daun <i>Strawberry</i>	51
4.6.4 Korelasi kadar MDA	52
4.6.4.1 Korelasi Kadar MDA Darah dan Paru Tikus yang Tidak Diberi Ekstrak Daun <i>Strawberry</i>	52
4.6.4.2 Korelasi Kadar MDA Darah dan Paru Tikus yang Diberi Ekstrak Daun <i>Strawberry</i>	53
4.7 Hasil Pemeriksaan Patologi Anatomi	54
BAB 5 PEMBAHASAN	56
5.1 Hasil Uji Fitokimia Kualitatif	56
5.2 Hasil Kapasitas Total Antioksidan Ekstrak Daun <i>Strawberry</i> Menggunakan DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil)	56
5.3 Hasil Uji Fenolik dan Alkaloid Total.....	57
5.4 Hasil Uji Toksisitas.....	57
5.5 Hasil Pemeriksaan Kadar MDA pada Darah dan Organ Paru Tikus <i>Sprague Dawley</i>	58
5.6 Hasil Pemeriksaan Patologi Anatomi Organ Paru	59
BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN.....	60
6.1 Kesimpulan	60
6.2 Saran	61

DAFTAR PUSTAKA.....	62
LAMPIRAN.....	66
DAFTAR RIWAYAT HIDUP	93

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Uji Fitokimia Kualitatif Ekstrak Daun <i>Strawberry</i>	38
Tabel 4.2 Hasil Hitung Persentase Inhibisi Berdasarkan Konsentrasi Asam Askorbat.....	39
Tabel 4.3 Hasil Hitung Persentase Inhibisi Berdasarkan Konsentrasi Sampel.....	41
Tabel 4.4 Absorbansi Tanin Berdasarkan Konsentrasi.....	42
Tabel 4.5 Kadar Fenolik Ekstrak Daun <i>Strawberry</i>	43
Tabel 4.6 Absorbansi Standar Stok <i>Berberine Chloride</i> Berdasarkan Konsentrasi.....	43
Tabel 4.7 Kadar Alkaloid Konten Ekstrak Daun <i>Strawberry</i>	44
Tabel 4.8 Angka Kematian dan LC-50 Berdasarkan Konsentrasi Sampel	45
Tabel 4.9 Kadar dan Absorbansi Standar MDA	46

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Proses Terbentuknya MDA dan Metabolisme	15
Gambar 2.2 <i>Fragaria vesca</i> L.....	16
Gambar 2.3 Kerangka Teori.....	18
Gambar 2.4 Kerangka Konsep	19
Gambar 3.1 Alur Penelitian	37
Gambar 4.1 Panjang Gelombang dan Absorbansi Optimum DPPH.....	39
Gambar 4.2 Kurva Aktivitas Asam Askorbat	40
Gambar 4.3 Kurva Kapasitas Antioksidan Ekstrak Daun <i>Strawberry</i>	41
Gambar 4.4 Kurva Standar Tanin	42
Gambar 4.5 Kurva Standar <i>Alkaloid</i>	44
Gambar 4.6 Kurva Uji Toksisitas Ekstrak Daun <i>Strawberry</i>	45
Gambar 4.7 Kurva Standar MDA	46
Gambar 4.8 Grafik Kadar MDA Darah Tikus yang Tidak Diberi Ekstrak Daun <i>Strawberry</i>	47
Gambar 4.9 Grafik Kadar MDA Darah Tikus yang Diberi Ekstrak Daun <i>Strawberry</i>	48
Gambar 4.10 Grafik Kadar MDA Darah Tikus yang Tidak Diberi dan Diberi Ekstrak Daun <i>Strawberry</i>	49
Gambar 4.11 Grafik Kadar MDA Paru Tikus yang Tidak Diberi Ekstrak Daun <i>Strawberry</i>	50
Gambar 4.12 Grafik Kadar MDA Paru Tikus yang Diberi Ekstrak Daun <i>Strawberry</i>	51
Gambar 4.13 Grafik Kadar MDA Paru Tikus yang Tidak Diberi dan Diberi Ekstrak Daun <i>Strawberry</i>	52
Gambar 4.14 Grafik Korelasi Kadar MDA Darah dan Paru Tikus yang Tidak Diberi Ekstrak Daun <i>Strawberry</i>	53
Gambar 4.15 Grafik Korelasi Kadar MDA Darah dan Paru Tikus yang Diberi Ekstrak Daun <i>Strawberry</i>	53
Gambar 4.16 Analisis Patologi Anatomi Paru Tikus yang Dihipoksia dan Tidak Diberi Ekstrak Daun <i>Strawberry</i>	54
Gambar 4.17 Analisis Patologi Anatomi Paru Tikus yang Diberi Ekstrak Daun <i>Strawberry</i>	55

DAFTAR SINGKATAN

4HNE	<i>4-hydroxynonenal</i>
ARNT	<i>Aryl Hydrocarbon Receptor Nuclear Translocator</i>
ATP	<i>Adenosine Triphosphate.</i>
AP-1	<i>Active Protein-1</i>
BCG	<i>Bromocresol Green</i>
BSLT	<i>Brine Shrimp Lethality Test.</i>
CAT	Katalase
CO ₂	Karbon Dioksida.
CoQ	<i>Coenzyme Q</i>
Cu	Tembaga.
CuZnSOD	Tembaga Seng Superoksida Dismutase
DPPH	<i>2,2-difenil-1-pikrilhidrazil</i>
EcSOD	Ekstraseluler Superoksida Dismutase
EDTA	<i>Ethylenediaminetetraacetic Acid</i>
ELF	Cairan Epitel Lapisan
Fe	Besi
GC-MS/MS	Spektrometri Massa Kromatografi Gas
GSH-Px	Glutation Peroksidase
GRx	Glutation Reduktase
GSH	Glutation
HE	<i>Hematoxylin-Eosin</i>
HIF	<i>Hypoxia-Inducible Factor</i>
HIFs	<i>Hypoxia-Inducible Factors</i>
HCl	<i>Hydrochloric Acid</i>
H ₂ O ₂	Hidrogen Peroksida
H ₂ O	Air
HRE	Hipoksida Respon Elemen
H ₂ SO ₄	Asam Sulfat
IC-50	<i>The half maximal inhibitory concentration.</i>
LC-50	<i>Lethal Dose at which 50% population killed</i>
LC-MS/MS	Spektrometri Massa Kromatografi Cair
LOO•	<i>Lipid Peroxyl</i>
LOOH	Lipid Peroksida
MDA	<i>Malondialdehyde</i>
MG	Metilglioksal
mmHg	Milimeter Air Raksa
MnSOD	Mangan Superoksida Dismutase
NaCl	Natrium Klorida.
Na ₂ CO ₃	Sodium Karbonat.
NaOH	<i>Sodium Hydroxide</i>
NO ₂ •	<i>Nitrogen Dioxide</i>
N ₂ O ₃	Dinitrogen trioksida
NO	<i>Nitric Oxide</i>
O ₂	Oksigen
O ₂ • ⁻	Superoksida

$^1\text{O}_2$	Oksigen Singlet
O_3	Ozon
$\cdot\text{OH}$	Hidroksil
OSA	<i>Obstructive Sleep Apnea</i>
PaO_2	Tekanan Parsial Oksigen
PBS	<i>Phosphate Buffer Saline</i>
PGH_2	Prostaglandin H_2
PHDs	<i>Prolyl Hidroxylases</i>
PO_4	Fosfat
PPOK	Penyakit Paru Obstruktif Kronik
RNS	<i>Reactive Nitrogen Species</i>
$\text{RO}^\cdot$	Alkoksi
$\text{RO}_2^\cdot$	Radikal Peroksil
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
SiO_2	Silika
SOD	Superoksida Dismutase
TAC	<i>Total Alkaloid Content</i>
TBA	<i>Thiobarbituric Acid</i>
TCA	<i>Trichloroacetic Acid</i>
TEP	<i>1,1,3,3-tetraethoxypropane</i>
TPC	<i>Total Phenolic Content</i>
TRx	<i>Thioredoxin</i>
TXA_2	Thromboxane A_2
WHO	<i>World Health Organisation</i>

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Kaji Etik	66
Lampiran 2 Identifikasi Tumbuhan LIPL.	67
Lampiran 3 Hasil Uji <i>In Vitro</i>	68
Lampiran 4 Hasil Absorbansi MDA Darah	72
Lampiran 5 Hasil Absorbansi MDA Paru.....	74
Lampiran 6 Uji Statistik Kadar MDA Darah dan Paru.....	76
Lampiran 7 Perbandingan Kadar MDA Darah dan Paru yang Tidak Diberi Dibandingkan dengan Diberi Ekstrak Daun <i>Strawberry</i>	84
Lampiran 8 Uji Korelasi Kadar MDA Darah dan Paru yang Tidak Diberi dan Diberi Ekstrak Daun <i>Strawberry</i>	89
Lampiran 9 Dokumentasi.....	90

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit paru merupakan salah satu masalah utama kesehatan masyarakat di dunia. Salah satu penyakit paru yang memiliki tingkat morbiditas dan mortalitas tinggi di dunia adalah Penyakit Paru Obstruktif Kronik (PPOK).^{1,2} Sebagian besar penyebab utama PPOK adalah rokok, baik pengguna aktif maupun pasif. Seiring meningkatnya perokok, kasus PPOK semakin meningkat dari tahun ke tahun.¹ Selain PPOK, penyakit paru lain yang dapat disebabkan oleh asap rokok adalah kanker paru.² Menurut *World Health Organization* (WHO), tembakau merupakan penyumbang kematian dengan jumlah 7 juta orang per tahun.³ Rokok merupakan salah satu faktor yang dapat meningkatkan keadaan stres oksidatif dengan memproduksi radikal oksigen.⁴

Stres oksidatif merupakan suatu keadaan terjadinya gangguan keseimbangan antara produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan antioksidan.⁵ Keadaan hipoksia atau kekurangan oksigen dalam sel, jaringan, dan organ dapat menyebabkan stres oksidatif karena terjadi penurunan proses respirasi oksidatif aerob sel. Oksigen merupakan komponen penting dalam kehidupan manusia yang diperlukan untuk menghasilkan energi secara aerob dan anaerob. Proses aerob satu molekul glukosa menghasilkan energi sebesar 38 ATP, sedangkan proses anaerob hanya menghasilkan 2 ATP.⁶

Kekurangan oksigen pada keadaan hipoksia menyebabkan energi yang dihasilkan sedikit. Keadaan hipoksia ini dapat juga memicu peningkatan produksi radikal bebas seperti ROS.⁶ *Reactive Oxygen Species* (ROS) merupakan produk-produk yang sebagian telah mengalami reduksi sebagian dan dapat digambarkan sebagai kelompok molekul, dan merupakan radikal bebas (spesies kimia tidak berpasangan) yang berasal dari molekul oksigen. Produksi ROS yang tinggi dalam tubuh dapat menyebabkan peroksidasi lipid dan kerusakan DNA, RNA, dan protein.^{5,7,8}

Malondialdehid (MDA) merupakan salah satu produk peroksidasi lipid yang digunakan sebagai biomarker stres oksidatif karena memiliki reaktivitas dan

toksisitas yang tinggi. Malondialdehid (MDA) adalah hasil produk akhir dari dekomposisi asam arakidonat dan asam lemak tak jenuh ganda. Peningkatan kadar MDA yang berlebih berhubungan dengan berbagai keadaan seperti peroksidasi lipid, kerusakan DNA, kematian sel, dan masalah neurologis karena stres oksidatif. Keseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan diperlukan untuk mencegah keadaan stres oksidatif.^{9,10,11}

Untuk mengatasi stress oksidatif diperlukan antioksidan yang dapat berasal dari tanaman *strawberry*. Tanaman *strawberry* (*Fragaria vesca* L.) merupakan tanaman yang sering dijumpai di hutan dan padang rumput di Eropa, Asia Barat, Amerika Utara.^{12,13} Daun *strawberry* dipercaya memiliki kapasitas antioksidan yang lebih tinggi daripada buahnya.¹³

Daun *strawberry* mengandung asam galat, asam askorbat, *quercetin-3-o-β-d-glucopyranoside*, *quercetin-3-o-β-d-galactopyranoside*, *quercetin-3-O-α-l-arabinopyranose*, *kaempferol-3-o-β-d-galactopyranoside*, *kaempferol-3-o-α-l-arabinopyranose*, *quercetin-3-o-glukosida*, *rutin*, *quercetin glucuronide*, dan beberapa turunan feniletosa fenilpropanoid glukosida lainnya yang diduga dapat sebagai antioksidan untuk mencegah terjadinya stres oksidatif.¹³

Melihat banyaknya kandungan metabolit sekunder yang dapat berperan sebagai antioksidan dari daun *strawberry* maka peneliti ingin mengetahui pengaruh ekstrak daun *strawberry* terhadap kadar MDA pada organ paru dan darah tikus *Sprague Dawley* setelah diinduksi hipoksia sistemik kronik.

1.2 Rumusan Masalah

1.2.1 Pernyataan Masalah

Kurangnya pengetahuan tentang efek antioksidan ekstrak daun *strawberry* terhadap marker stres oksidatif pada paru dan darah tikus *Sprague Dawley* yang diinduksi hipoksia.

1.2.2 Pertanyaan Masalah

1. Apakah kandungan metabolit sekunder pada ekstrak daun *strawberry*?
2. Berapa kapasitas total antioksidan yang dimiliki ekstrak daun *strawberry*?
3. Berapa kadar fenolik dan alkaloid total pada ekstrak daun *strawberry*?
4. Bagaimana toksisitas ekstrak daun *strawberry*?
5. Bagaimana kadar malondialdehid (MDA) pada paru dan darah tikus *Sprague Dawley* yang diinduksi hipoksia kemudian diberi ekstrak daun *strawberry*?
6. Bagaimana kadar malondialdehid (MDA) pada paru dan darah tikus *Sprague Dawley* yang diinduksi hipoksia tanpa diberi ekstrak daun *strawberry*?
7. Bagaimana kadar malondialdehid (MDA) pada paru dan darah tikus *Sprague Dawley* yang diinduksi hipoksia antara kelompok yang diberikan ekstrak daun *strawberry* dengan yang tidak diberikan ekstrak daun *strawberry*?
8. Bagaimana korelasi antara kadar malondialdehid (MDA) pada paru dan darah tikus *Sprague Dawley* yang diinduksi hipoksia kemudian diberi ekstrak daun *strawberry*?
9. Bagaimana korelasi antara kadar malondialdehid (MDA) pada paru dan darah tikus *Sprague Dawley* yang diinduksi hipoksia tanpa diberi ekstrak daun *strawberry*?
10. Bagaimana perubahan struktur histopatologi paru pada tikus yang diinduksi hipoksia setelah pemberian ekstrak daun *strawberry*?

1.3 Hipotesis

1. Terdapat peningkatan kadar MDA pada paru dan darah tikus *Sprague Dawley* baik yang diberi ekstrak daun *strawberry* maupun tidak diberi ekstrak daun *strawberry* yang diinduksi hipoksia.

2. Terdapat perbedaan bermakna kadar malondialdehid (MDA) pada paru dan darah tikus *Sprague Dawley* yang diinduksi hipoksia pada kelompok yang diberikan ekstrak daun *strawberry* dengan yang tidak diberikan ekstrak daun *strawberry*.
3. Terdapat korelasi antara kadar MDA pada paru dengan darah tikus *Sprague Dawley* yang diinduksi hipoksia kemudian diberi ekstrak daun *strawberry* maupun yang tidak diberikan ekstrak daun *strawberry*.

1.4 Tujuan Penelitian

1.4.1 Tujuan Umum

Diketahui efek antioksidan ekstrak daun *strawberry* terhadap marker stres oksidatif pada paru dan darah tikus *Sprague Dawley* yang diinduksi hipoksia.

1.4.2 Tujuan Khusus

1. Diketahui kandungan metabolit sekunder pada ekstrak daun *strawberry*.
2. Diketahui kapasitas total antioksidan yang dimiliki ekstrak daun *strawberry*.
3. Diketahui kadar fenolik dan alkaloid total pada ekstrak daun *strawberry*.
4. Diketahui kadar toksisitas ekstrak daun *strawberry*.
5. Diketahui adanya perubahan kadar malondialdehid (MDA) pada paru dan darah tikus *Sprague Dawley* yang diinduksi hipoksia kemudian diberi ekstrak daun *strawberry*.
6. Diketahui adanya perubahan kadar malondialdehid (MDA) pada paru dan darah tikus *Sprague Dawley* yang diinduksi hipoksia tanpa diberi ekstrak daun *strawberry*.
7. Diketahui perbedaan kadar malondialdehid (MDA) pada paru dan darah tikus *Sprague Dawley* yang diinduksi hipoksia antara kelompok yang diberikan ekstrak daun *strawberry* dengan yang tidak diberikan ekstrak daun *strawberry*.
8. Diketahui korelasi antara kadar malondialdehid (MDA) pada paru dan darah tikus *Sprague Dawley* yang diinduksi hipoksia kemudian diberi ekstrak daun *strawberry*.

9. Diketahui korelasi antara kadar malondialdehid (MDA) pada paru dan darah tikus *Sprague Dawley* yang diinduksi hipoksia tanpa diberi ekstrak daun *strawberry*.
10. Diketahui perubahan struktur histopatologi paru pada tikus yang diinduksi hipoksia setelah pemberian ekstrak daun *strawberry*.

1.5 Manfaat Penelitian

1. Menjembatani kesenjangan antar bidang biomedik dasar dan uji klinik.
2. Menambah pengetahuan mengenai gambaran spesifik dan peranan MDA pada paru dan darah tikus *Sprague Dawley* yang diinduksi hipoksia.
3. Mengetahui kapasitas potensi ekstrak daun *strawberry* sebagai antioksidan.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Oksigen

Oksigen mulai terdapat di atmosfer bumi sekitar 2,5 miliar tahun yang lalu. Peningkatan ketersediaan oksigen di atmosfer menyebabkan evolusi sistem fosforilasi oksidatif menjadi sangat efisien, yang menyalurkan energi kimia yang tersimpan dalam ikatan-ikatan karbon dari molekul organik ke ikatan fosfat energi tinggi di ATP, yang digunakan sebagai energi dalam sel hidup.¹⁴

Oksigen merupakan molekul diatomik yang tidak berbau dan tidak berwarna. Setelah hidrogen dan helium, oksigen merupakan gas paling berlimpah ketiga di alam semesta dan di bumi sebesar 20,95% sebagai hasil dari proses fotosintesis . Oksigen memiliki nomor atom 8 yang dapat membentuk air (H_2O) , karbondioksida (CO_2), fosfat (PO_4), dan bersama dengan silika membentuk pasir (SiO_2).¹⁵

Manusia sangat membutuhkan oksigen untuk bertahan hidup karena perannya sebagai pemeliharaan sel dan juga dapat sebagai pengobatan. Oksigen juga berperan dalam metabolisme karbohidrat, protein, dan lemak, dimana oksigen memfasilitasi pengangkutan senyawa, menghancurkan toksin dan sisa produk yang tidak dipakai, mengatur keseimbangan asam basa, serta meningkatkan daya tahan tubuh. Oksigen merupakan elemen yang sangat dibutuhkan untuk memproduksi energi terutama pada organisme aerobik, dimana oksigen yang dihirup akan masuk ke dalam darah dan diikat oleh hemoglobin lalu menjadi bentuk oksihemoglobin. Oksigen dibawa ke organ tubuh untuk proses fosforilasi oksidatif.¹⁵

Pada sisi lain, oksigen dipercaya sebagai suatu gas toksik karena dapat menyebabkan timbulnya radikal bebas. Konsentrasi oksigen yang tinggi di paru dapat menyebabkan inflamasi jaringan paru, ateletasis, dan depresi napas karena efek toksik dari radikal bebas oksigen yang dapat menyebabkan kerusakan jaringan, DNA dan kematian sel.¹⁵ Sedangkan kurangnya konsentrasi dan tekanan parsial oksigen pada jaringan akan menimbulkan suatu keadaan hipoksia.¹⁶

2.2 Hipoksia

Hipoksia merupakan suatu keadaan dimana kadar dan tekanan parsial oksigen dalam sel rendah, dapat disebabkan melalui 3 kelainan, yaitu hipoksemia, gangguan penyaluran oksigen ke jaringan, serta gangguan pengambilan oksigen oleh jaringan. Hipoksemi merupakan suatu keadaan rendahnya kadar oksigen pada arteri. Gangguan penyaluran oksigen terjadi pada saat kebutuhan jaringan akan darah dan oksigen tidak tercukupi oleh karena rendahnya *cardiac output*. Gangguan pengambilan oksigen oleh jaringan dapat disebabkan oleh suatu keadaan sepsis dan racun sianida karena terhambatnya penyaluran oksigen ke mitokondria.¹⁶ Hipoksia dapat terjadi dalam keadaan fisiologis dan patologis. Terjadinya hipoksia pada keadaan fisiologis seperti olahraga, menyelam, perkembangan embrio, dan dataran tinggi. Hipoksia pada keadaan patologis dapat terjadi pada peradangan, pembentukan tumor, infark miokard, dan penyakit paru.⁷

Hipoksia dapat dikompensasi melalui vasokonstriksi pembuluh darah, hiperventilasi untuk meningkatkan tekanan parsial oksigen (PaO_2), dan peningkatan *cardiac output*. Hipoksemi juga terkait dengan peningkatan 2,3-*diphosphoglycerate* untuk memfasilitasi O_2 ke jaringan. Jika terjadi hipoksia, darah akan lebih banyak mengalir ke daerah yang kekurangan oksigen.¹⁶ Mekanisme adaptif seperti *hypoxia-inducible factors* (HIFs) juga sangat penting pada keadaan hipoksia karena dapat mendeteksi dan mengatur adaptasi sel terhadap hipoksia. *Hypoxia-inducible factors* (HIFs) dapat memberikan respon secara akut untuk melindungi sel dari keadaan hipoksia.^{16,7}

Hypoxia-inducible factor (HIF) merupakan suatu kelompok protein heterodimer yang terdiri atas 3 subunit α dan satu subunit β yang dapat berinteraksi dengan ratusan gen dalam respon terhadap hipoksia dimana subunit α labil terhadap oksigen sedangkan subunit β stabil.^{7,16,17} *Hypoxia-inducible factor* β diekspresikan secara terus menerus sedangkan HIF α hanya diekspresikan dalam keadaan hipoksia.⁷ Pada mamalia, HIF α memiliki 3 bentuk dimana HIF 1 α dan HIF 2 α sangat mirip dimana keduanya dapat menstabilkan hipoksia dan berikatan dengan reseptor aril hidrokarbon translocator nuklir (ARNT), serta HIF 3 α yang merupakan keluarga HIF terbaru. *Hypoxia-inducible factor* 1 α termasuk dalam keluarga HIF yang paling mapan.^{7,17} *Hypoxia-inducible factor* 1 α dapat

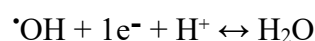
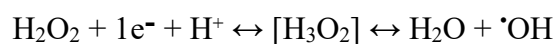
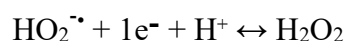
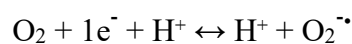
diekspresikan dalam semua sel tetapi HIF 2 α dan HIF 3 α hanya diekspresikan dalam jaringan tertentu seperti sel-sel endotel vaskular, pneumosit tipe II, sel interstisial ginjal, sel parenkim hati, dan sel myeloid.¹⁷

Pada keadaan normoksia, akan terjadi degradasi HIF 1 α secara cepat oleh *prolyl hydroxylases* (PHDs) sedangkan pada keadaan hipoksia HIF 1 α akan menjadi stabil dan ditranslokasikan ke nukleus serta mengalami dimerisasi dengan HIF 1 β serta dapat menginduksi ekspresi gen tertentu dengan mengikat hipoksia respon elemen (HRE). Pada keadaan hipoksia, gen yang diinduksi tersebut akan mengaktifasi angiogenesis, eritropoiesis, metabolisme glukosa, dan apoptosis.^{7,18} Keadaan hipoksia diketahui juga dapat memicu mitokondria untuk menghasilkan ROS dan memicu terbentuknya HIF.⁷ Hipoksia sangat terkait dengan berbagai proses patologis paru. Hipoksia kronis dapat menyebabkan proliferasi vaskular, peningkatan reaktivitas vaskular, hipertensi pulmonal kronis, dan gagal jantung kanan.¹⁹

2.3 Spesies Oksigen Reaktif (ROS)

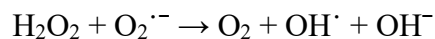
Spesies oksigen reaktif (ROS) merupakan molekul radikal bebas yang berasal dari turunan oksigen yang diproduksi oleh mitokondria. Contohnya seperti superoksida (O₂^{•-}), hidroksil ([•]OH), peroksil (RO₂[•]), dan alkoksi (RO[•]) serta asam hipoklorit (HOCl), ozon (O₃), oksigen singlet (¹O₂), dan hidrogen peroksida (H₂O₂) yang non radikal. Spesies oksigen reaktif (ROS) juga mudah mengoksidasi molekul lain yang non radikal menjadi bentuk radikal yang sangat reaktif serta memiliki masa hidup yang pendek. Tingginya kadar ROS dapat menyebabkan kerusakan lipid, karbohidrat, protein, dan asam nukleat.^{7,20,21}

Spesies oksigen reaktif (ROS) umumnya dapat terbentuk melalui tahapan berikut :



Tahap-tahap diatas menunjukkan adanya reduksi oksigen menjadi air (H₂O). Dengan adanya proses reduksi, akan dihasilkan tiga produk ROS yaitu : anion superoksida, hidrogen peroksida dan radikal hidroksil.²⁰

Anion superoksida adalah ROS yang terbentuk melalui penambahan 1 elektron dari O₂ dimana sebagian besar dihasilkan di mitokondria karena kebocoran elektron pada rantai pernapasan. Pada organisme aerobik, hanya sebagian kecil molekul oksigen yang diubah ke bentuk anion superoksida, sisanya diubah menjadi air. Anion superoksida dapat merusak enzim yang penting dalam metabolisme energi di siklus kreb dan juga dalam proses biosintesis asam amino. Anion superoksida merupakan ROS primer yang dapat menjadi ROS sekunder jika berinteraksi dengan molekul lain melalui reaksi Haber-Weiss yang diperantarai zat besi. Dalam reaksi ini, akan terbentuk radikal hidroksil (OH[•]) dan anion hidroksida (OH⁻) melalui reaksi antara superoksida dengan hidrogen peroksida.^{20,21,22}

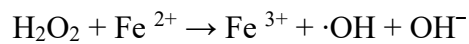


Hidrogen peroksida adalah ROS biologis utama yang tingkat reaktifnya paling rendah dibanding ROS yang lain, namun mampu menyebabkan kerusakan sel dan jaringan. Tanpa keberadaan logam sifatnya stabil dalam pH dan suhu tertentu. Hidrogen peroksida merupakan produk akhir dari reaksi metabolik dan dihasilkan oleh organel peroksisom. Kadar hidrogen peroksida yang berlebih akan menyebabkan sitotoksitas maka produksinya diatur secara ketat di dalam sel, dalam kadar fisiologis ROS ini relatif lemah dan dapat berperan dalam berbagai proses biologis, seperti transduksi sinyal, respons imun, dan diferensiasi sel dan proliferasi. Hidrogen peroksida juga diketahui terlibat dalam proses penuaan karena sifatnya yang dapat menyebabkan kerusakan oksidatif. Melalui reaksi dismutasi dengan superoksida dismutase (SOD), xantin oksidase dan asam amino oksidase, anion superoksida dapat menghasilkan hidrogen peroksida.^{20,22}

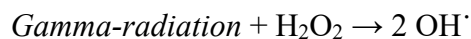
Radikal hidroksil merupakan radikal bebas yang sangat aktif secara biologis karena paling reaktif dan berbahaya yang dapat merusak asam nukleat, protein, dan lipid. Radikal hidroksil dapat terbentuk dari superoksida dan hidrogen

peroksida yang terpajan oleh ion logam, serta memiliki waktu paruh yang sangat singkat sekitar 10^{-9} detik. Melalui reaksi Haber Weiss, sebagian besar radikal hidroksil dibentuk oleh superoksida dan hidrogen peroksida.^{20,22}

Radikal hidroksil juga dapat terbentuk melalui reaksi Fenton dimana terjadi reaksi kimia antara H_2O_2 dengan katalis besi.^{20,22}



Selain itu, radikal oksigen juga dapat terbentuk melalui induksi sinar UV yang mengakibatkan pembelahan hidrogen. Radiasi gamma merupakan radiasi energi tinggi yang sangat berbahaya.^{20,22}



Tingginya kadar ROS dalam tubuh dapat menimbulkan berbagai kerusakan sel dan jaringan, maka dari itu tubuh memiliki antioksidan yang dapat melawan ROS untuk menghindari kerusakan sel dan jaringan yang lebih lanjut.²²

2.4 Stres Oksidatif

Spesies oksigen reaktif (ROS) merupakan suatu radikal bebas yang memiliki efek berbahaya seperti stres oksidatif yang dapat menyebabkan kerusakan biologis. Stres oksidatif dapat terjadi jika adanya ketidakseimbangan antara kapasitas oksidan atau radikal bebas dengan kapasitas antioksidan. Oksidan sendiri sebenarnya produk normal dari metabolisme aerob dalam tubuh. Pada organisme yang sehat, akan terjadi keseimbangan antara produksi oksidan dan antioksidan. Keseimbangan ini tidak sepenuhnya sempurna, maka stres oksidatif dapat terjadi jika terdapat peningkatan oksidan dan penurunan antioksidan.^{22,23}

Dalam mengatasi efek berbahaya seperti stres oksidatif, sel memiliki strategi seperti pencegahan kerusakan, mekanisme perbaikan dalam mengurangi kerusakan oksidatif, perlindungan fisik terhadap kerusakan, dan mekanisme pertahanan antioksidan yang sangat penting. Antioksidan diketahui sebagai sistem pertahanan pertama dalam melawan keadaan stres oksidatif dan prooksidan

mengarah pada endobiotik dan xenobiotik yang dapat menyebabkan keadaan stress oksidatif karena dapat memicu terbentuknya ROS maupun menghambat antioksidan.²³

Antioksidan termasuk sebagai mekanisme pertahanan yang dapat dibagi menjadi 2 macam yaitu endogen dan eksogen. Antioksidan endogen dibagi lagi menjadi non enzimatis seperti *glutathione*, asam alfa-lipoik, koenzim Q, ferritin, asam urat, bilirubin, *metallothionein*, l-karnitin, melatonin, albumin, dan kofaktor enzim sedangkan enzimatis seperti superoksida dismutase, katalase, *glutathione peroksidase*, tioredoksin, dan peroksiredoksin. Antioksidan eksogen dapat berasal dari bahan makanan, seperti karotenoid, vitamin E, vitamin D, asam fenolat, flavonoid, atau vitamin C.^{8,24} Antioksidan sering dianggap sebagai pereduksi karena dapat menghambat proses oksidasi molekul lain dengan mengoksidasi dirinya sendiri dan menghilangkan produk antara untuk menghambat terbentuknya radikal bebas. Oksidasi adalah suatu proses yang dapat membentuk radikal bebas dimana terjadi transfer elektron antara molekul ke suatu oksidator.²⁵

Keadaan stres oksidatif juga dapat timbul karena adanya gangguan keseimbangan yang mengarah pada respon adaptasi homeostasis terhadap perubahan lingkungan, hal ini memicu timbulnya kerusakan jaringan.²³ Faktor eksternal yang mempengaruhinya dapat berasal dari rokok, radiasi UV, logam berat, ozon, dan nitrogen oksida.⁵

Stres oksidatif terbukti berperan dalam patofisiologi berbagai penyakit, salah satunya adalah penyakit paru kronik. Penyakit paru yang dapat disebabkan oleh stres oksidatif contohnya seperti asma dan penyakit paru obstruktif kronik (PPOK) yang ditandai dengan adanya peradangan kronik lokal. Peradangan ini dapat dipicu oleh oksidan yang berperan melalui aktivasi kinase dan faktor transkripsi seperti NF-kappa B and *activator protein 1* (AP-1).²⁶

2.5 Paru

Paru merupakan organ yang menempati sebagian besar rongga toraks manusia. Fungsi utama paru adalah pertukaran gas antara oksigen dari luar tubuh dan karbondioksida yang dihasilkan oleh tubuh. Kedua paru dibagi menjadi beberapa

lobus, paru kanan terdiri dari 3 lobus sedangkan paru kiri terdiri dari 2 lobus. Dalam lobus terdapat alveolus yang berbentuk seperti anggur dan memiliki dinding tipis yang dapat mengembang serta mengempis. Paru memiliki tempat khusus untuk pertukaran oksigen dan karbon dioksida yaitu alveolus yang dikelilingi oleh pembuluh darah arteri dan vena. Arteri pada paru membawa darah yang mengandung karbon dioksida yang akan dibawa ke paru, sedangkan vena pada paru membawa darah yang kaya akan oksigen yang akan dibawa ke jantung.²⁷

Berbagai keadaan patologi paru seperti *obstructive sleep apnea* (OSA), cedera paru akut, serangan asma, atelektasis, penyakit paru obstruktif kronik (PPOK), dan hipertensi pulmonal idiopatik dapat terjadi karena stres oksidatif yang dipicu oleh keadaan hipoksia. Keadaan hipoksia dapat terjadi saat berada di dataran tinggi atau terpapar gas yang terkontaminasi. Hipoksia paru dapat terjadi secara akut atau kronis. Hipoksia paru akut merupakan faktor penyebab terjadinya peningkatan tekanan arteri pulmonalis, kerusakan epitel, edema, dan peradangan paru-paru. Sedangkan hipoksia paru kronik terkait dengan terjadinya proliferasi pembuluh darah, hipertensi paru kronis, peningkatan reaktivitas vaskular, dan gagal jantung kanan. Berbagai penyakit paru lain juga dihubungkan dengan adanya ROS yang dipicu oleh keadaan stres oksidatif pada setiap patogenesisnya.¹⁹

Paru memiliki antioksidan untuk mencegah pembentukan ROS yang berlebih. Antioksidan pada paru dapat diklasifikasikan menjadi 2 bentuk yaitu enzimatis dan non enzimatis. Antioksidan enzimatis reduktase utama di paru adalah superoksida dismutase (SOD), katalase (CAT), *glutathione peroxidase* (GSH-Px), dan thioredoxin (TRx). Superoksida dismutase (SOD) memiliki peranan penting dalam konversi superoksida menjadi H_2O_2 dan O_2 . Superoksida dismutase (SOD) mempunyai tiga bentuk isoform yaitu tembaga seng SOD (CuZnSOD) yang terdapat di dalam nukleus, sitoplasma, dan peroksisom, mangan SOD (MnSOD) terdapat di mitokondria, dan ekstraseluler SOD (EcSOD) terdapat di luar membran plasma paru-paru, sedangkan antioksidan non enzimatis di paru adalah musin, urat, *glutathione* (GSH), askorbat, seruloplasmin, transferin, vitamin E, ferritin, dan molekul kecil seperti bilirubin. Terdapat juga cairan epitel lapisan

(ELF) sebagai film pelindung tipis yang mengandung antioksidan baik yang enzimatis maupun non enzimatis. Komponen antioksidan enzimatis yang penting dalam ELF adalah SOD, CAT, dan GSH-Px, sedangkan antioksidan non enzimatis adalah musin, urat, askorbat, dan GSH.¹⁹

2.6 Malondialdehid (MDA)

Peroksidasi lipid dapat timbul karena adanya ROS dengan cara menghancurkan susunan membran lipid bilayer terutama *Polyunsaturated Fatty Acid* (PUFA) karena asam lemak yang memiliki ikatan rangkap besar lebih mudah mengalami peroksidasi lipid. *Polyunsaturated Fatty Acid* memiliki karakteristik permeabilitas bilayer yang berpotensi untuk menyebabkan gradien konsentrasi metabolit dan elektrolit diantara ruang intraseluler dan ekstraseluler.^{8,22}

Terjadinya kerusakan PUFA dapat menghilangkan integritas membran, terganggunya gradien, maupun fungsi seluler. Serangan radikal bebas yang menyebabkan peroksidasi lipid serta produk akhir dari reaksi peroksidasi lipid akan membahayakan kelangsungan hidup sel. Radikal hidroksil dan peroksinitrit merupakan dua spesies reaktif yang umumnya menyebabkan peroksidasi lipid. Biasanya reaksi peroksidasi lipid terdiri atas 3 langkah yaitu inisiasi, propagasi, dan terminasi.^{8,22}

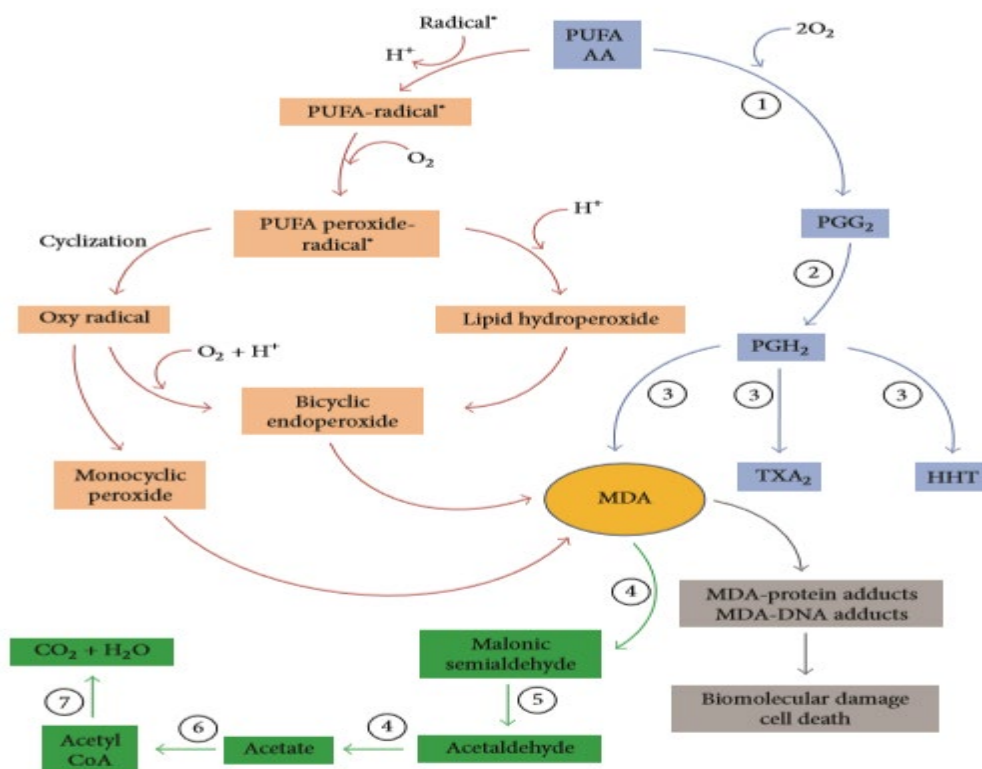
Langkah awal terjadinya peroksidasi lipid oleh ROS yaitu melalui abstraksi atom hidrogen dari *acyl chain* untuk membentuk radikal lipid. Langkah berikutnya dalam fase propagasi, terjadi penambahan oksigen molekuler ke radikal lipid untuk membentuk radikal lipid peroksil yang dapat menyebabkan pemisahan atom hidrogen dari PUFA yang berdekatan dimana akan terbentuk radikal lipid baru dan lipid hidroperoksida (LOOH). Langkah terakhir yaitu terminasi, adanya donor atom hidrogen oleh antioksidan seperti ke radikal lipid peroksil yang menyebabkan pembentukan produk non radikal. Setelah memasuki reaksi inisiasi, fase propagasi akan terus terjadi sampai terbentuknya produk dari reaksi terminasi.^{8,22}

Terdapat berbagai macam produk yang dihasilkan dari peroksidasi lipid, tetapi hanya satu yang utama yaitu lipid hidroperoksida (LOOH). Selain itu, terdapat produk sekunder dari peroksidasi lipid seperti malondialdehid (MDA), propanal,

heksanal, and *4-hydroxynonenal* (4HNE). Malondialdehid (MDA) merupakan produk mutagenik terbanyak yang dihasilkan oleh peroksidasi lipid dimana dapat dibentuk oleh penguraian asam arakidonat dan PUFA baik melalui proses enzimatik maupun non enzimatik.⁹

Malondialdehid (MDA) dapat dihasilkan secara *in vivo* melalui proses enzimatik, sebagai produk sampingan selama biosintesis *thromboxane A2* (TXA₂). *Thromboxane A2* (TXA₂) secara biologis merupakan metabolit aktif asam arakidonat yang terbentuk melalui sintase TXA₂, pada prostaglandin endoperoksida atau prostaglandin H₂ (PGH₂). Sedangkan pada proses non enzimatik, radikal bebas yang terbentuk setelah proses siklisasi akan kembali melakukan siklisasi untuk memicu pembentukan *bicycle endoperoxide* dimana prekursor utamanya adalah asam arakidonat, selanjutnya akan terjadi pembelahan untuk menghasilkan MDA.⁹

Malondialdehid (MDA) akan mengalami metabolisme enzimatik dan membentuk *adduct* yang dapat menyebabkan kerusakan biomolekuler karena bereaksi dengan protein seluler dan jaringan atau DNA. Metabolisme MDA dapat terjadi melalui proses oksidasi oleh mitokondria *aldehyde dehydrogenase*, lalu terjadi dekarboksilasi yang akan menghasilkan asetaldehida, dimana aldehid dehidrogenase mengoksidasi asetaldehid menjadi asetat dan selanjutnya ke CO₂ dan H₂O. Di sisi lain, *isomerase phosphoglucose* juga berperan dalam metabolisme MDA sitoplasma ke metilglioksal (MG) dan selanjutnya ke D-laktat oleh enzim sistem glioksalase dengan menggunakan GSH sebagai kofaktor (Gambar 2.1).⁹



Gambar 2.1 Proses Terbentuknya MDA dan Metabolisme⁹

Selama bertahun-tahun MDA digunakan sebagai biomarker bagi peroksidasi lipid asam lemak omega-3 dan omega-6 karena dapat bereaksi dengan asam tiobarbiturat (TBA). Tes TBA dapat menghasilkan warna merah kecoklatan *fluorescent* yang sangat berwarna melalui reaktivitas TBA terhadap MDA. Selain itu juga terdapat beberapa teknologi untuk pemeriksaan MDA bebas dan total, yaitu seperti spektrometri massa kromatografi gas (GC-MS / MS), spektrometri massa kromatografi cair (LC-MS / MS), dan juga telah dikembangkan beberapa strategi berbasis derivatisasi.⁹

2.7 Strawberry

Fragaria vesca L. merupakan salah satu spesies tanaman yang sangat terkenal, tetapi kultivasinya masih buruk. Tanaman ini banyak ditemukan di hutan dan padang rumput di Eropa, Asia Barat, Amerika Utara, serta daerah beriklim sedang di Chili sebagai spesies liar. Perkebunan di Eropa sudah sejak lama

membudidayakan tanaman *Fragaria vesca ssp.* dan sudah banyak di konsumsi karena warna dan rasanya yang menarik (Gambar 2.2).²⁸



Gambar 2.2 *Fragaria vesca* L.²⁹

Taksonomi tanaman *strawberry* yaitu,²⁹

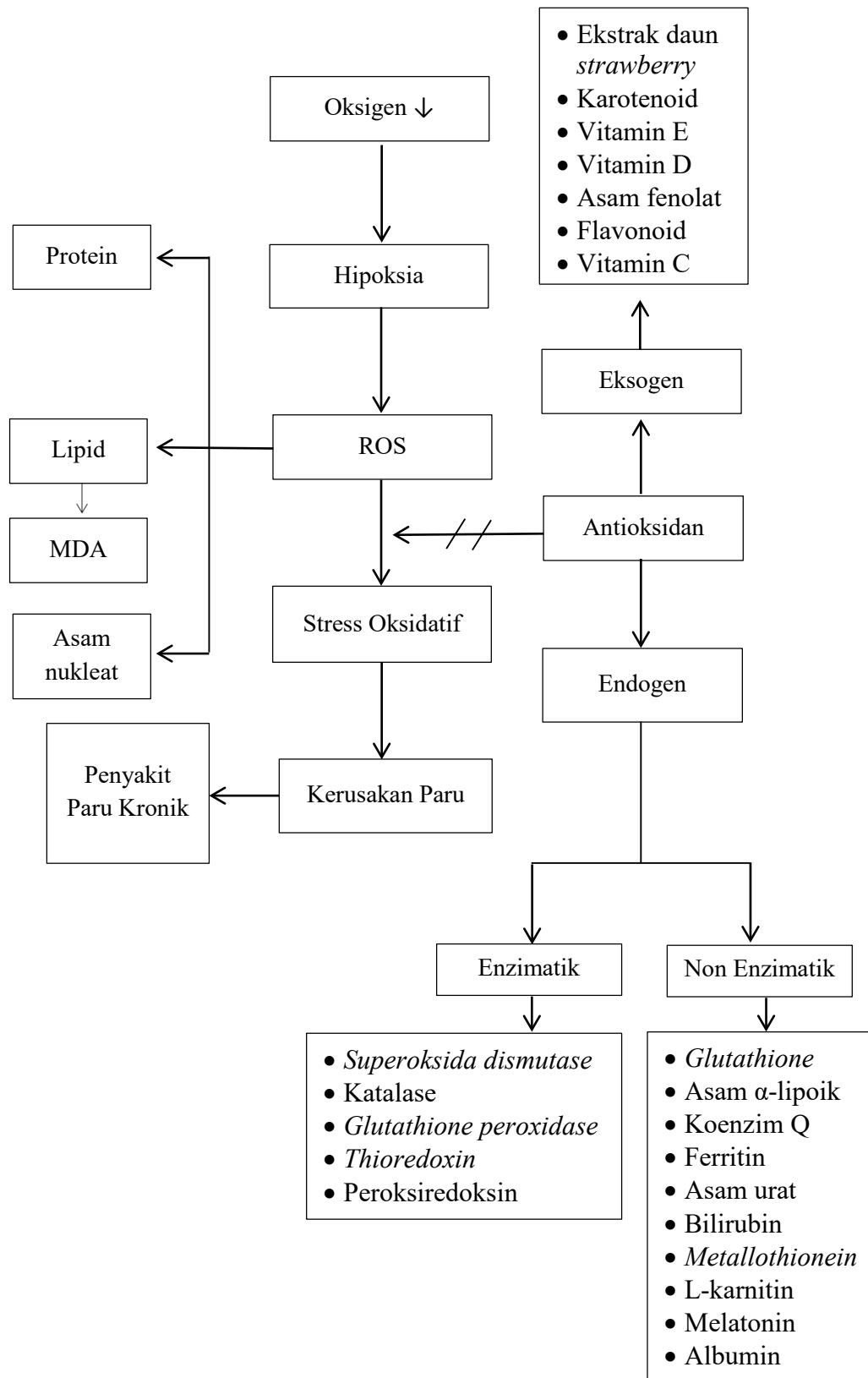
Domain : Eukaryota
Kingdom : Plantae
Phylum : Spermatophyta
Subphylum : Angiospermae
Class : Dicotyledonae
Order : Rosales
Family : Rosaceae
Genus : *Fragaria*
Species : *Fragaria vesca*

Selain aroma dan warna yang menarik serta kandungan gizi yang tinggi, *strawberry* juga kaya akan antioksidan. Antioksidan yang terkandung dalam *strawberry* meliputi vitamin C serta bioaktif senyawa fenolik termasuk flavonoid dan asam fenolik, seperti *hydroxycinnamic acids*, *ellagic acids*, *ellagitannins*, *xavan-3-ols*, *xavonols*, dan *anthocyanin*.³⁰ *Strawberry* telah dibuktikan dapat menangkal senyawa radikal yang dibentuk melalui proses kimia. Aktivitas

antioksidan pada *strawberry* dapat berpengaruh dalam pencegahan berbagai penyakit seperti kanker, penyakit kronik, dan penyakit kardiovaskular.¹³

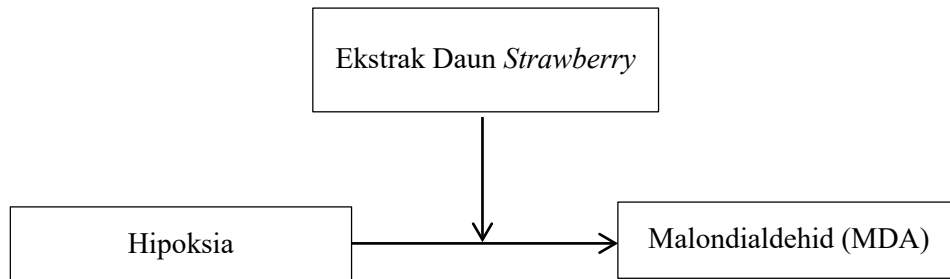
Daun *strawberry* terbukti mengandung kapasitas antioksidan yang lebih tinggi daripada buahnya. Kandungan antioksidannya meliputi asam galat, asam askorbat, *quercetin-3-o-β-d-glucopyranoside*, *quercetin-3-o-β-d-galactopyranoside*, *quercetin-3-O-α-l-arabinopyranose*, *kaempferol-3-o-β-d-galactopyranoside*, *kaempferol-3-o-α-l-arabinopyranose*, *quercetin-3-o-glukosida*, *rutin*, *quercetin glucuronide*, dan beberapa turunan feniletosa fenilpropanoid glukosida lainnya yang dapat mencegah terjadinya stres oksidatif.¹³

2.8 Kerangka Teori



Gambar 2.3 Kerangka Teori

2.9 Kerangka Konsep



Gambar 2.4 Kerangka Konsep

BAB 3

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental *in vitro* dengan uji fitokimia, uji kapasitas antioksidan, uji fenolik, uji alkaloid, uji toksisitas, dan uji *in vivo* dengan menggunakan hewan coba tikus *Sprague Dawley* jantan untuk menguji potensi antioksidan buah *strawberry* terhadap kadar MDA pada organ paru dan darah tikus yang diinduksi hipoksia. Tikus akan dibagi menjadi dua kelompok yaitu kelompok pertama sebagai kelompok yang tidak diberi ekstrak daun *strawberry* dan kelompok kedua sebagai kelompok yang diberi ekstrak daun *strawberry*. Masing-masing kelompok dibagi menjadi kelompok normoksia, hipoksia 1, 7, dan 14 hari.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian akan dilaksanakan di Laboratorium Departemen Biokimia dan Biologi Molekuler Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara, Jl. Letjen S. Parman No. 1, Grogol, Jakarta Barat.

Penelitian berlangsung pada bulan Februari 2019 – Juni 2019.

3.3 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus *Sprague Dawley* jantan dalam keadaan sehat yang berusia 10-12 minggu dengan berat badan 200-250 g dan daun *strawberry* yang didapat dari Rumah Stroberi.

3.4 Perhitungan Besar Sampel

Dalam penelitian ini, jumlah sampel ditentukan berdasarkan rumus *Federer* (1963)³¹, yaitu:

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

Keterangan:

t = kelompok perlakuan

n = jumlah sampel

Penyelesaian:

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

$$(8 - 1) (n-1) \geq 15$$

$$(7) (n-1) \geq 15$$

$$7n - 7 \geq 15$$

$$7n \geq 22$$

$$n \geq 3.14$$

$$n = 4$$

Hewan percobaan yang digunakan untuk penelitian ini berjumlah 32 ekor tikus *Sprague Dawley*.

3.5 Cara Kerja Penelitian

3.5.1 Pengambil Daun *Strawberry*

Sampel daun *strawberry* yang digunakan untuk penelitian diambil dari Rumah Stroberi Jalan Cigugur Girang No. 145, Cigugur Girang, Parongpong, Karyawangi, Kabupaten Bandung Barat, Jawa Barat.

3.5.2 Identifikasi Daun *Strawberry*

Daun *strawberry* yang telah diambil dari Rumah Stroberi dikirimkan ke LIPI (Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia) / *Indonesian Institute of Science* di Herbarium Bogoriens, Cibinong sehingga didapatkan identifikasi jenis daun tersebut.

3.5.3 Pembuatan ekstrak Daun *Strawberry*

Daun *strawberry* yang telah diambil dipisahkan dengan rantingnya. Setelah itu ditimbang terlebih dahulu, lalu pengeringan daun dilakukan dengan cara daun dibolak-balik satu kali setiap hari. Setelah kering, daun dihancurkan dengan menggunakan blender hingga halus dan hasilnya berupa bubuk (simplisia). Teknik maserasi dilakukan dengan cara simplisia dicampurkan pelarut etanol. Tabung yang akan digunakan untuk maserasi dilapisi kapas pada bagian dalamnya, lalu ditetaskan etanol dengan pipet tetes ke lapisan kapas pada bagian dalam tabung maserasi hingga seluruh kapas basah. Kemudian simplisia dituang ke dalam

tabung maserasi dan etanol dituangkan sampai simplisia terendam $\pm 3 - 5$ cm. Seluruh tabung (atas dan samping) ditutup dengan kertas aluminium supaya tidak teroksidasi oleh sinar uv. Campuran simplisia dan pelarut etanol murni didiamkan dan diaduk secara berkala setiap pagi dan sore. Campuran tersebut juga ditampung setiap 2 hari, lalu ditambahkan etanol kembali sampai simplisia terendam. Perlakuan tersebut diulang sebanyak 2 kali hingga didapatkan jumlah ekstrak yang dibutuhkan. Kemudian dilakukan evaporasi dengan menggunakan *rotary evaporator* pada hasil ekstraksi untuk memisahkan ekstrak dengan etanol sampai didapatkan hasil berupa pasta.

3.5.4 Uji Fitokimia Kualitatif Berdasarkan Harborne³²

3.5.4.1 Uji Alkaloid dengan Metode Mayer

Ekstrak disiapkan sebanyak 15 mL dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 10 mL kloroform. Sebanyak 5 mL diambil dari campuran tersebut lalu dipindahkan ke tabung reaksi lain lalu ditetaskan sebanyak 3 tetes ammonia dan dikocok. Setelah itu ditambahkan 5 mL asam sulfat (H_2SO_4) dan diamkan sampai terbentuk dua lapisan. Kemudian lapisan atasnya diambil dengan menggunakan pipet dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi lain. Lalu ditambahkan reagen mayer dengan cara ditetaskan tetes-pertetes hingga maksimal 2 mL. Alkaloid dikatakan positif jika terbentuk endapan putih.

3.5.4.2 Uji Antosianin dan Betasianin dengan Metode NaOH

Ekstrak daun *strawberry* diambil sebanyak 2 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan NaOH 2 N sebanyak 1 mL. Larutan tersebut dipanaskan pada suhu $100^\circ C$ selama 5 menit di penangas air. Antosianin dinyatakan positif jika diperoleh larutan yang berwarna hijau kebiruan dan betasianin positif jika terdapat warna kuning.

3.5.4.3 Uji Kardio Glikosida dengan Metode *Concentrate H₂SO₄*

Ekstrak daun *strawberry* diambil sebanyak 1 mL, lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan beberapa tetes $FeCl_3$ 5% dengan menggunakan

pipet. Kemudian larutan tersebut ditambahkan dengan 1 mL asam sulfat pekat. Uji kardio glikosida dinyatakan positif jika terbentuk cincin coklat.

3.5.4.4 Uji *Coumarins* dengan Metode NaOH

Ekstrak daun *strawberry* yang telah diambil sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditutup dengan kertas saring yang sudah dibasahi dengan NaOH 1 N. Tabung reaksi tersebut diletakkan pada air mendidih selama beberapa menit. Kemudian kertas saring dilepaskan dari tabung dan didiamkan hingga kering. Kertas saring yang telah kering dilihat warnanya dengan sinar UV. Uji *coumarins* dinyatakan positif jika pada kertas saring terdapat fluoresensi kuning.

3.5.4.5 Uji Flavonoid dengan Metode *Ammonium*

Ekstrak daun *strawberry* dimasukkan sebanyak 3 mL ke dalam tabung reaksi, lalu dicampurkan dengan 4 mL NaOH 1 N. Uji flavonoid dinyatakan positif jika larutan tersebut berwarna kuning gelap.

3.5.4.6 Uji Glikosida dengan Metode *Modified Borntrager*

Ekstrak daun *strawberry* sebanyak 2 mL, kloroform sebanyak 3 mL dan larutan amonium 10% sebanyak 1 mL dicampurkan ke dalam tabung reaksi. Uji glikosida dinyatakan positif jika larutan berwarna merah muda.

3.5.4.7 Uji Fenolik dengan Metode Folin Ciocalteu

Satu mL ekstrak daun *strawberry*, 2 mL air suling, 0.5 mL natrium karbonat, dan 0.5 mL reagen Folin-Ciocalteu dicampurkan ke dalam tabung reaksi. Jika didapatkan larutan warna biru/ hijau, uji fenolik dinyatakan positif.

3.5.4.8 Uji Kuinon dengan Metode H₂SO₄

Satu mL ekstrak daun *strawberry* ditambahkan dengan 1 mL asam sulfat (H₂SO₄) dalam tabung reaksi. Jika hasil larutan adalah merah maka uji kuinon dinyatakan positif.

3.5.4.9 Uji *Steroids* dengan Metode Salkowski

Ekstrak daun *strawberry* sebanyak 0.5 mL dan 1 mL kloroform diletakkan dalam piring reaksi dan diaduk rata. Kemudian campuran tersebut diuapkan di udara hingga kering. Setelah itu ditambahkan dengan asam asetat glasial sebanyak 1 mL dan diaduk sampai rata. Lalu diberikan H_2SO_4 sebanyak 1-2 tetes. Terbentuknya warna biru kehijauan, maka menandakan bahwa uji *steroids* positif.

3.5.4.10 Uji *Terpenoids* dengan Metode Salkowski

Ekstrak daun *strawberry* sebanyak 0.5 mL dan 1 mL kloroform diletakkan dalam piring reaksi dan diaduk rata. Kemudian campuran tersebut diuapkan di udara hingga kering. Setelah itu ditambahkan dengan asam asetat glasial sebanyak 1 mL dan diaduk sampai rata. Lalu diberikan H_2SO_4 sebanyak 1-2 tetes. Jika hasil uji ini menunjukkan adanya cincin berwarna coklat kemerahan di bawah warna biru kehijauan maka uji *terpenoids* dinyatakan positif.

3.5.4.11 Uji Tanin dengan Metode *Ferric Chloride*

Ekstrak daun *strawberry* sebanyak 0.5 g dicampur dengan 20 mL air suling dalam tabung reaksi dan larutan dipanaskan, kemudian larutan tersebut difiltrasi. Setelah itu ekstrak daun *strawberry* yang sudah dipanaskan diambil sebanyak 1 mL dan ditambahkan dengan $FeCl_3$ 5% sebanyak 1 mL. Terlihatnya warna hijau kecoklatan menandakan uji tanin positif.

3.5.5 Penentuan Kapasitas Total Antioksidan DPPH dengan Metode Blois³³

3.5.5.1 Menentukan Panjang Gelombang Maksimal dan Absorbansi Kontrol

Stok DPPH dengan konsentrasi 50 μM didapatkan dengan mengambil DPPH sebanyak 1.97 mg dan ditambahkan 10 mL metanol di dalam gelas kimia supaya larut. Setelah larut, dimasukkan ke dalam labu ukur dan ditambahkan metanol hingga 100 mL. Labu ukur yang berisi stok DPPH diambil 3.8 mL dengan pipet lalu dipindahkan ke tabung reaksi dan ditambahkan 0.2 mL metanol. Tabung reaksi tersebut didiamkan dalam ruang gelap selama 30 menit. Setelah didiamkan 30 menit dalam ruang gelap, isi tabung reaksi dipindahkan ke dalam kuvet dan

dibaca panjang gelombang maksimal antara 400 – 800 nm serta absorbansi kontrol dengan menggunakan spektrofotometer uv-vis.

3.5.5.2 Menentukan Absorbansi Asam Askorbat

Bubuk asam askorbat diambil sebanyak 0.01 gram dan ditambahkan dengan metanol hingga 100 mL maka akan didapatkan konsentrasi 100 µg/mL. Asam askorbat diambil sebanyak 0.2 mL, 0.4 mL, 0.6 mL, 0.8 mL, 1 mL dengan menggunakan pipet dan diencerkan dengan akuabides sampai 10 mL sehingga didapatkan konsentrasi 2, 4, 6, 8, 10 µg/mL. Kemudian agar larutan tercampur rata, setiap gelas kimia diaduk dengan menggunakan vortex. Setiap konsentrasi asam askorbat diambil sebanyak 0.2 mL dengan pipet kemudian ditambahkan dengan 3.8 mL larutan DPPH 50 µM. Ujung tabung reaksi ditutup dengan kertas aluminium serta larutan dihomogenkan dan didiamkan selama 30 menit dalam ruang gelap. Selanjutnya, absorbansi diukur pada panjang gelombang maksimal dengan menggunakan spektrofotometer uv-vis. Kemudian persentase inhibisi dihitung dengan menggunakan absorbansi yang telah dibaca, lalu dibuat kurva persentase inhibisi dan persamaan liniernya. Persamaan linier yang sudah didapat akan digunakan untuk mencari IC-50.

3.5.5.3 Menentukan Absorbansi Uji Ekstrak Daun *Strawberry*

Ekstrak daun *strawberry* diambil sebanyak 10 mg dan ditambahkan metanol sebanyak 10 mL sehingga didapatkan konsentrasi 1 mg/mL atau 1000 µg/mL. Selanjutnya, larutan ekstrak daun *strawberry* diambil sebanyak 0.25 mL, 0.75 mL, 1.25 mL, 1.75 mL, dan 2.25 mL yang masing-masing diencerkan dengan metanol sampai 25 mL sehingga didapatkan larutan uji dengan konsentrasi masing-masing 10, 30, 50, 70, 90 µg/mL. Masing-masing larutan uji diambil sebanyak 0.2 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 3.8 mL DPPH 50 µM. Semua tabung reaksi tersebut didiamkan selama 30 menit dalam ruang gelap. Setelah itu, absorbansi diukur dengan panjang gelombang maksimal. Kemudian persentase inhibisi dihitung dengan menggunakan absorbansi yang telah dibaca, lalu dibuat kurva persentase inhibisi dan persamaan liniernya. Persamaan linier yang sudah didapat akan digunakan untuk mencari IC-50.

3.5.5.4 Pengolahan Data DPPH

Dari absorbansi kontrol dan absorbansi sampel (asam askorbat dan ekstrak daun *strawberry*) akan dihitung % inhibisi dengan persamaan:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi Kontrol} - \text{Absorbansi Sampel}}{\text{Absorbansi Kontrol}} \times 100\%$$

Keterangan:

Absorbansi kontrol: Serapan pada radikal DPPH 50 μM dengan panjang gelombang maksimal

Absorbansi Sampel: Serapan sampel pada radikal DPPH 50 μM dengan panjang gelombang maksimal

Hasil % inhibisi akan dibuat kurva dan dicari persamaan liniernya. Nilai IC-50 akan dihitung dengan menggunakan persamaan linier yang sudah didapat, dimana IC-50 merupakan kemampuan menghambat radikal DPPH sebanyak 50% oleh asam askorbat ataupun ekstrak daun *strawberry*.

3.5.6 Uji Fenolik dengan Metode Singleton dan Rossi³⁴

3.5.6.1 Pembuatan Kurva Standar Tanin

Larutan standar dibuat dengan cara tanin diambil sebanyak 0.25 gram dan dilarutkan dengan 5 mL etanol 95%, kemudian ditambahkan dengan akuades sampai 50 mL sehingga akan didapatkan stok standar fenolik dengan konsentrasi 5 mg/mL. Selanjutnya dibuat larutan dengan konsentrasi sebesar 300, 400, 500, 600, 700 $\mu\text{g/mL}$ dengan cara stok standar tanin diambil sebanyak 0.6 mL, 0.8 mL, 1 mL, 1.2 mL, 1.4 mL dan masing-masing ditambahkan akuades sampai 10 mL.

Masing-masing larutan dengan konsentrasi 300, 400, 500, 600, 700 $\mu\text{g/mL}$ diambil 0.2 mL dengan menggunakan pipet, lalu ditambahkan 15.8 mL akuades dan 1 mL reagen Folin-Ciocalteu. Kemudian didiamkan selama 8 menit. Setelah itu masing-masing larutan ditambahkan 3 mL Na_2CO_3 , lalu dikocok secara homogen dan didiamkan selama 2 jam pada suhu kamar. Absorbansi masing-masing larutan dibaca dengan panjang gelombang 765 nm dengan menggunakan spektrofotometer uv-vis.

Kurva standar dibuat dengan cara memasukkan absorbansi standar tanin. Nilai x pada kurva adalah konsentrasi pengenceran stok tanin (300, 400, 500, 600, 700 $\mu\text{g/mL}$) dan nilai y adalah absorbansi masing-masing konsentrasi pengenceran stok tanin. Lalu didapatkan persamaan linier $y = ax + b$ pada kurva.

3.5.6.2 Pengukuran Kadar Fenolik Ekstrak Daun *Strawberry*

Metanol sebanyak 10 mL dicampur dengan 10 mL akuades sehingga didapatkan larutan metanol : akuades (1:1). Ekstrak daun *strawberry* diambil sebanyak 0.3 gram, lalu ditambahkan dengan larutan metanol : akuades sampai 10 mL. Kemudian mengambil larutan tersebut sebanyak 0.2 mL lalu ditambahkan dengan 15,8 mL akuades dan 1 mL reagen Folin-Ciocalteu. Setelah didiamkan selama 8 menit, ditambahkan dengan 3 mL Na_2CO_3 . Lalu campuran tersebut dikocok dan didiamkan selama 2 jam. Absorbansi dibaca pada panjang gelombang 765 nm dengan menggunakan spektrofotometer uv-vis. Nilai absorbansi yang telah didapat kemudian dimasukkan ke persamaan linier kurva untuk menentukan kadar fenolik ekstrak daun *strawberry*.

3.5.7 Uji Kadar Alkaloid Total dengan Metode Trivedi et al³⁵

3.5.7.1 Pembuatan Larutan Standar Stok *Berberine Chloride*

Untuk membuat larutan standar *berberine chloride* diperlukan 1 mg bubuk *berberine chloride*, lalu dilarutkan dengan metanol sampai 10 mL ke dalam labu ukur sebagai stok.

3.5.7.2 Pembuatan Larutan Standar Alkaloid

Larutan stok *berberine chloride* sebanyak 0.2 mL, 0.4 mL, 0.6 mL, 0.8 mL, dan 1 mL dimasukkan ke dalam lima tabung reaksi yang berbeda dan masing-masing ditambahkan 5 mL dapar fosfat serta 5 mL *Bromocresol Green* (BCG). Selanjutnya setiap isi tabung reaksi dipindahkan ke dalam labu pemisah dan ditambahkan 5 mL kloroform. Setelah itu labu pemisah ditutup dan dikocok dengan kuat. Larutan yang sudah dikocok, didiamkan sampai terbentuk dua lapisan. Setiap labu pemisah diambil lapisan bawahnya dan dimasukkan ke labu ukur 10 mL dan ditambahkan kloroform sampai 10 mL dalam labu ukur. Salah

satu larutan labu digunakan sebagai penentu panjang gelombang maksimal, kemudian setiap larutan diukur absorbansinya dengan spektrofotometer uv-vis pada panjang gelombang maksimal yang telah didapat lalu dibuat kurva standar serta persamaan garis linernya.

3.5.7.3 Pembuatan Larutan Sampel Alkaloid

Ekstrak *strawberry* diambil sebanyak 50 mg dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Lalu tabung reaksi tersebut ditambahkan dengan 3 mL HCl 2 N, 5 mL dapar fosfat, dan 5 mL *Bromocresol Green* (BCG). Campuran tersebut dimasukkan ke dalam labu pemisah dan ditambahkan kloroform sebanyak 5 mL, kemudian labu pemisah ditutup dan dikocok dengan kuat. Larutan tersebut didiamkan sampai terlihat ada dua lapisan. Selanjutnya lapisan bawah dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan kloroform sampai 10 mL dalam labu ukur. Kemudian larutan tersebut diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimal yang didapat dari larutan standar alkaloid. Setelah itu, kadar alkaloid dihitung berdasarkan persamaan linier yang sudah didapat.

3.5.8 Uji Toksikitas Ekstrak Daun *Strawberry* dengan Metode Meyer³⁶

3.5.8.1 Proses Penetasan *Artemia salina*

Telur udang *Artemia salina* ditimbang sebanyak 10 mg, lalu disiapkan wadah yang terisi 250 mL air laut. Wadah tersebut diletakkan dekat dengan lampu agar suhu tetap hangat. Aerator diletakkan ke dalam wadah untuk memberikan udara. Setelah itu, telur udang yang telah ditimbang dimasukkan ke dalam wadah. Lampu dinyalakan selama 48 jam agar telur terinkubasi. Telur udang akan menetas menjadi larva setelah 48 jam.

3.5.8.2 Mempersiapkan Ekstrak Daun *Strawberry* yang di Uji

Ekstrak daun *strawberry* diambil sebanyak 20 mg, lalu ditambahkan dengan 10 mL air laut. Kemudian larutan tersebut dihomogenkan sehingga didapatkan stok dengan konsentrasi 2000 µg/mL.

3.5.8.3 Prosedur Pengujian Toksisitas dengan BSLT

Empat tabung reaksi disiapkan, lalu masing-masing diisi 10 larva udang *Artemia salina* dan air laut sebanyak 1000 μL dengan menggunakan *micropipette*. Lalu sampel diambil sebanyak 1000 μL , 500 μL , 100 μL , 10 μL , dan dimasukkan ke 4 tabung reaksi yang berbeda dengan menggunakan *micropipette*. Pada sampel berukuran 500 μL , 100 μL , dan 10 μL ditambahkan air laut sampai 1000 μL . Setelah itu, sampel-sampel tersebut dimasukkan ke dalam tabung yang telah terisi larva udang serta 1000 μL air laut. Campuran tersebut didiamkan di bawah lampu selama 24 jam. Kemudian dihitung jumlah larva udang yang mati. Lalu dibuat kurva korelasi antara konsentrasi sampel terhadap angka kematian larva dan dihitung persamaan liniernya. Setelah mendapatkan persamaan linier, *Lethality Concentration 50* (LC-50) dihitung dengan satuan $\mu\text{g/mL}$. *Lethality Concentration 50* (LC-50) merupakan nilai 50 % mortalitas yang artinya konsentrasi sampel dapat mematikan 50 % dari total larva udang. Nilai x pada persamaan linier dianggap sebagai konsentrasi ekstrak, sedangkan nilai y sebagai nilai % mortalitas.

3.5.9 Perlakuan pada Hewan Coba

3.5.9.1 Perlakuan Hipoksia

Tikus *Sprague Dawley* jantan dibagi menjadi 2 kelompok. Kelompok pertama yaitu kelompok yang tidak diberi ekstrak daun *strawberry* dan kelompok kedua merupakan kelompok yang diberi ekstrak daun *strawberry*. Masing-masing kelompok akan dibagi lagi menjadi kelompok normoksia, hipoksia 1 hari, hipoksia 7 hari, dan hipoksia 14 hari. Kelompok tikus yang akan diinduksi hipoksia dimasukkan ke dalam sungkup yang disebut *hypoxia chamber* masing-masing selama 1 hari, 7 hari, 14 hari. Perlakuan hipoksia dilakukan pada periode yang berbeda pada setiap kelompok, bertujuan untuk menghindari terjadinya bias tertukarnya tikus antar kelompok. Perlakuan hipoksia diawali dengan tahap persiapan yaitu optimasi kondisi sungkup dimana digunakan sungkup yang bersih serta pada dasar sungkup dibubuhi serbuk gergaji. Kemudian sungkup hipoksia dihubungkan pada tabung gas yang mengandung oksigen 10% dan nitrogen 90%. Terdapat kipas pada bagian samping sungkup hipoksia yang berguna untuk

menjaga sirkulasi udara dan hasil ekspirasi tikus disalurkan keluar lewat pipa yang dihubungkan pada labu berisi *soda lime* untuk mengikat CO₂. Sebelum dimasukkan sungkup hipoksia, setiap tikus pada kelompok yang diinduksi hipoksia ditimbang terlebih dahulu. Sungkup hipoksia dibersihkan setiap hari, serta makanan dan minuman tikus diberikan setiap hari secara *ad libitum*.

3.5.9.2 Pemberian Ekstrak pada Hewan Coba

Tikus yang telah selesai diberi perlakuan hipoksia ditimbang kembali satu per satu. Pada kelompok tikus yang diberi ekstrak daun *strawberry* segera diberi ekstrak daun *strawberry* selama 14 hari dengan larutan ekstrak *strawberry* sebanyak 400 mg/kgBB/hari yang dibagi dalam 2 dosis (40 mg/mL/kali).

3.5.10 Pengambilan Sampel Darah dan Paru Tikus

Kelompok tikus pertama dan kedua yang tidak diinduksi hipoksia diletakkan dalam kandang dan diberikan makanan serta minuman setiap hari secara *ad libitum* selama 14 hari, sedangkan semua kelompok tikus yang diinduksi hipoksia juga dilakukan hal serupa setelah keluar dari sungkup hipoksia. Pada waktu yang bersamaan, seluruh kelompok kedua dimana juga diberikan ekstrak daun *strawberry* selama 14 hari. Kemudian dilakukan pembedahan pada kelompok tikus yang sudah mendapatkan perlakuan sesuai. Setiap tikus yang dibedah dibius terlebih dahulu dengan cara disuntik menggunakan spuit 1 cc berisi campuran *ketamine* 75-100 mg/kgBB dan *xylazine* 5-10 mg/kgBB pada bagian intraperitoneal, kemudian ditunggu hingga tikus dipastikan tidak sadar lagi dengan cara kuku tikus dijepit dengan pinset. Lalu setiap tikus tersebut segera ditimbang dan dilakukan fiksasi di atas *sterofoam* yang sudah berlapis plastik. Pada area bawah yang ingin dibedah diberikan antiseptik, kemudian kulit bagian bawah tikus dijepit dengan menggunakan pinset. Pembedahan dilakukan dengan cara menggunting ke arah atas hingga rusuk terbuka. Setelah badan tikus sudah terbuka, sampel darah segera diambil di daerah apeks jantung tikus dengan menggunakan spuit 3 cc yang berisi EDTA (*Ethylenediaminetetraacetic Acid*), lalu dipindahkan ke dalam tabung yang berisi EDTA untuk dibuat lisat darah.

Organ paru tikus diambil dengan menggunakan pinset, lalu diletakkan diatas cawan kaca yang dibawahnya terdapat es batu sebagai pendingin. Paru tikus yang sudah diambil kemudian ditimbang dan dimasukkan ke dalam plastik klip yang sudah diberi nama sesuai kelompok tikus. Agar tidak rusak, paru yang sudah dimasukkan ke dalam plastik klip disimpan dalam lemari pendingin dengan suhu -20⁰ C. Setelah proses pembedahan selesai badan tikus yang terbuka dijahit kembali, kemudian dikuburkan.

3.5.11 Pembuatan Buffer Fosfat 0.1 M pH 7.2 (*Phospate Buffer*)

Dinatrium hidrogen fosfat (Na_2HPO_4) diambil sebanyak 11.87 gram lalu ditambah akuades sampai 1000 mL. Kemudian kalium dihidrogen fosfat (KH_2PO_4) sebanyak 9.08 gram dilarutkan dan ditambahkan akuades sampai 1000 mL. Selanjutnya, buffer pH 7.2 dengan konsentrasi 0.1 M ditambahkan dengan Na_2HPO_4 dan KH_2PO_4 masing-masing 71.5 mL dan 28.5 mL ke dalam labu ukur 100 mL. Setelah itu, didapatkan buffer dengan kadar pH 7.2.

3.5.12 Pembuatan Homogenat Paru dan Lisat Darah

Organ paru yang telah diambil ditimbang sampai seberat 0.1 gram dan dimasukkan ke dalam *microtube*, serta ditambahkan 500 μL buffer 0.1 M pH 7.2 pada *microtube* tersebut. Kemudian organ yang sudah di dalam *microtube* di *grinder* sampai halus, setelah itu ditambahkan dengan 500 μL buffer 0.1 M pH 7.2 sampai 1 mL. Sentrifugasi dilakukan selama 10 menit dengan kecepatan 5000 rpm dan hasilnya berupa supernatan. Supernatan tersebut diambil dan dipindahkan ke *microtube* baru. Lalu *microtube* yang berisi supernatan disimpan pada di lemari pendingin dengan suhu -20⁰ C.

Pembuatan lisat darah dengan cara tabung EDTA yang berisi darah diberi tanda setinggi jumlah darah yang diperoleh. Setelah itu, darah disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 20 menit, lalu supernatan yang terbentuk dipindahkan ke tabung lain dan tambahkan PBS pH 7.2 pada tabung EDTA tersebut sampai batas yang telah diberi tanda. Proses ini diulang beberapa kali sampai didapatkan hasil supernatan yang jernih. Setelah didapatkan supernatan

yang jernih, endapan ditambahkan akuabides dingin yang bertujuan supaya sel-sel pecah dan ini merupakan lisat darah 50%.

3.5.13 Pengukuran MDA dengan Metode Wills³⁷

3.5.13.1 Pembuatan Larutan TCA 20%

Trichloroacetat acid (TCA) sebanyak 20 gram dilarutkan dengan 100 mL akuades maka didapatkan larutan TCA dengan konsentrasi 20%.

3.5.13.2 Pembuatan Larutan TBA 0.67%

Thiobarbituric acid (TBA) sebanyak 0.67 gram dilarutkan dengan 100 mL akuades maka didapatkan larutan TBA dengan konsentrasi 0.67%.

3.5.13.3 Pembuatan dan Pengukuran Larutan Standar MDA

Larutan standar MDA dibuat dengan menggunakan 1,1,3,3-*tetraethoxypropane* (TEP) 1:80.000 sebagai prekursor MDA, lalu dimasukkan ke dalam tabung dengan konsentrasi 0.078 nmol/mL, 0.156 nmol/mL, 0.312 nmol/mL, 0.625 nmol/mL, 1,25 nmol/mL, dan 2,5 nmol/mL dan konsentrasi tersebut didapatkan dengan cara masing-masing tabung reaksi ditambahkan TEP sebanyak 0.625 µL, 1.25 µL, 2.5 µL, 5 µL, 10 µL, dan 20 µL dengan menggunakan *micropipette* serta ditambahkan akuabides sampai 400 µL. Kemudian masing-masing tabung reaksi ditambahkan TCA 20% sebanyak 200 µL. Setelah itu dilakukan *vortex* pada setiap larutan lalu ditambahkan TBA 0.67% sebanyak 400 µL pada setiap tabung reaksi. Sesudah itu dipanaskan pada suhu 96-100⁰ C di penangas air selama 10 menit. Setelah dipanaskan, setiap tabung didinginkan dalam air pada suhu ruangan. Setiap larutan dimasukkan ke dalam kuvet untuk diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer uv-vis dengan panjang gelombang 530 nm. Setelah hasil absorbansi didapatkan dari masing-masing larutan, lalu dibuat kurva standarnya dan dicari persamaan liniernya.

3.5.13.4 Pengukuran Kadar MDA Darah dan Paru

Pengukuran kadar MDA dilakukan dengan metode Wills. Larutan dibagi menjadi 2 yaitu uji dan blanko. Blanko berisi akuabides sebanyak 400 µL, larutan uji berisi

400 μ L homogenat dicampurkan dengan 200 μ L larutan TCA 20%. Setelah itu, dilakukan vortex pada larutan campuran tersebut sampai homogen dan dilakukan sentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 5000 rpm. Supernatan yang terbentuk diambil menggunakan pipet mikro, lalu ditambahkan 400 μ L larutan TBA 0.67%. Selanjutnya diinkubasi di penangas air dengan suhu 96-100⁰ C selama 10 menit. Setelah dipanaskan, setiap tabung yang berisi larutan tersebut diletakkan dalam gelas beker yang berisi air pada suhu ruangan untuk didinginkan. Setiap isi tabung yang sudah didinginkan, dimasukkan ke dalam kuvet untuk diukur dengan menggunakan spektrofotometer uv-vis pada panjang gelombang 530 nm. Nilai absorbansi dimasukkan ke dalam persamaan linier. Kadar MDA darah dan paru tikus dinyatakan dengan satuan masing-masing nmol/mL.

3.5.14 Pemeriksaan Patologi Anatomi Paru Hewan Coba

Paru yang akan diperiksa dipotong, lalu direndam dengan larutan formalin 10% selama 2 jam. Setelah itu jaringan paru tersebut diangkat. Untuk menghilangkan formalin yang masih menempel, jaringan paru harus dialiri dengan air mengalir. Selanjutnya jaringan paru dimasukkan ke dalam alkohol 70%, selama 15 menit lalu dipindah ke alkohol 80% dan dipindah lagi ke alkohol 96%. Setelah itu, jaringan diletakkan di atas kertas saring dan dipres agar sisa alkohol terserap. Kemudian dimasukkan ke dalam aseton 1, 2, dan 3 selama 15 menit. Jaringan paru yang sudah selesai direndam di dalam aseton, segera diletakkan di atas kertas saring dan dipres agar sisa aseton terserap di kertas saring, lalu dimasukkan ke dalam benzol 1, 2, dan 3 selama 15 menit. Setelah selesai, jaringan paru dimasukkan ke dalam oven yang sudah terisi parafin cair dengan temperatur 90⁰ C selama 2 jam. Kemudian parafin cair yang sudah di oven selama 2 jam dituangkan ke dalam cetakan besi yang berbentuk leter L dan didiamkan sampai mengeras. Setelah itu dengan menggunakan mikrotom, jaringan tersebut dipotong tipis lalu diletakkan ke dalam *water bath* selama kurang dari 30 detik pada suhu ruangan dan jaringan tersebut diletakkan di atas *object glass*, kemudian dikeringkan pada lempeng pemanas selama 10 menit dengan suhu 40⁰ C. Jaringan yang sudah kering lalu diberi pewarnaan *hematoxylin-eosin* (HE).

Pewarnaan *hematoxylin-eosin* (HE) dilakukan melalui beberapa tahap yaitu dengan dicelupkan satu kali ke dalam alkohol 96% kemudian diangkat dan dicelupkan lagi ke dalam alkohol 80%, setelah itu diangkat lagi dan dicelupkan ke dalam alkohol 70% dan angkat, lalu direndam dengan *hematoxylin* selama 5 menit. Setelah itu, dicuci dengan air mengalir dengan cara mencelupkan naik turun sampai menjadi bersih. Lalu dicelupkan ke eosin selama 5 menit kemudian diangkat dan dicelupkan ke dalam alkohol sebanyak 10 celup dengan cara naik turun dan dipindahkan dengan cara yang sama ke dalam alkohol berikutnya. Setelah itu, dicelupkan ke xilol sebanyak 10 celup kemudian dipindahkan ke xilol 1, 2, dan 3 sebanyak 10 celup. Setelah pewarnaan selesai, kemudian dibersihkan dengan lap pada bagian belakang *object glass* dan ditetaskan *enthelan* lalu ditutup dengan kaca penutup. Sediaan akan diamati dibawah mikroskop cahaya.

3.6 Variabel Penelitian

3.6.1 Variabel Bebas

Durasi perlakuan hipoksia pada tikus *Sprague Dawley*

3.6.2 Variabel Terikat

Kadar Malondialdehyde (MDA) paru dan darah tikus *Sprague Dawley*

3.6.3 Variabel Antara

Pemberian ekstrak daun *strawberry*

3.7 Definisi Operasional

3.7.1 Hipoksia

Definisi : Pemberian gas oksigen 10% dan nitrogen 90%

Alat ukur : *Oxygenmeter*

Cara ukur : Gas dialirkan melalui *oxygenmeter* dan dilihat angkanya.

Hasil ukur : Numerik

Skala ukur : Interval

3.7.2 Malondialdehid (MDA)

Definisi : Hasil akhir dari peroksidasi lipid yang mengandung senyawa tiga karbon aldehid.

Alat ukur : Spektrofotometer uv-vis

Cara ukur : Menggunakan metode Wills dan spektrofotometer uv-vis dengan panjang gelombang 530 nm

Hasil ukur : Numerik

Skala ukur : Interval

3.8 Instrumen Penelitian

3.8.1 Alat Penelitian

Lempeng pemanas (*hot plate*), lemari pendingin, blender, penangas air (*water bath*), *rotary evaporator*, kertas saring, kertas aluminium, corong pisah, rak beserta tabung reaksi, pipet ukur, pipet mikro, gelas ukur, gelas kimia, labu ukur, labu erlenmeyer, corong kimia, sendok logam, spatula, batang pengaduk, alat putar (*vortex*), kuvet kaca, timbangan digital, *hypoxic chamber* / sungkup hipoksia, *oxygenmeter*, spektrofotometer uv-vis, alat sentrifugasi, alat bedah (*minor set*), *homogenizer*, pencatat waktu, termometer, mikrotom putar, botol semprot, kaca objek, kaca penutup, mikroskop, spuit, dan tabung plastik.

3.8.2 Bahan Penelitian

Ekstrak daun *strawberry*, air, akuades, akuabides, larutan metanol, larutan etanol 96%, kuersetin, tanin, larutan aluminium klorida (AlCl_3) 10%, larutan Na_2CO_3 20%, larutan natrium hidroksida (NaOH) 4%, DPPH 50 μM , reagen Folin-Ciocalteu, asam askorbat, air laut, larva *A.salina*, gas campuran khusus (oksigen 10% dan nitrogen 90%), Cairan anestesi (*xylazine* 25 mL dan *ketamine* 50 mL), sampel organ paru dan darah tikus *Sprague Dawley* yang telah diinduksi hipoksia sistemik kronik dan diberi ekstrak daun *strawberry*, PBS (*phosphate buffer saline*) pH 7.2, es batu, EDTA (asam etilenadiaminatetraasetat), TBA 0.67% (asam tiobarbiturat), TCA 20% (asam trikarboksilat), aseton (CH_3COCH_3), *hematoxylin-eosin* (HE).

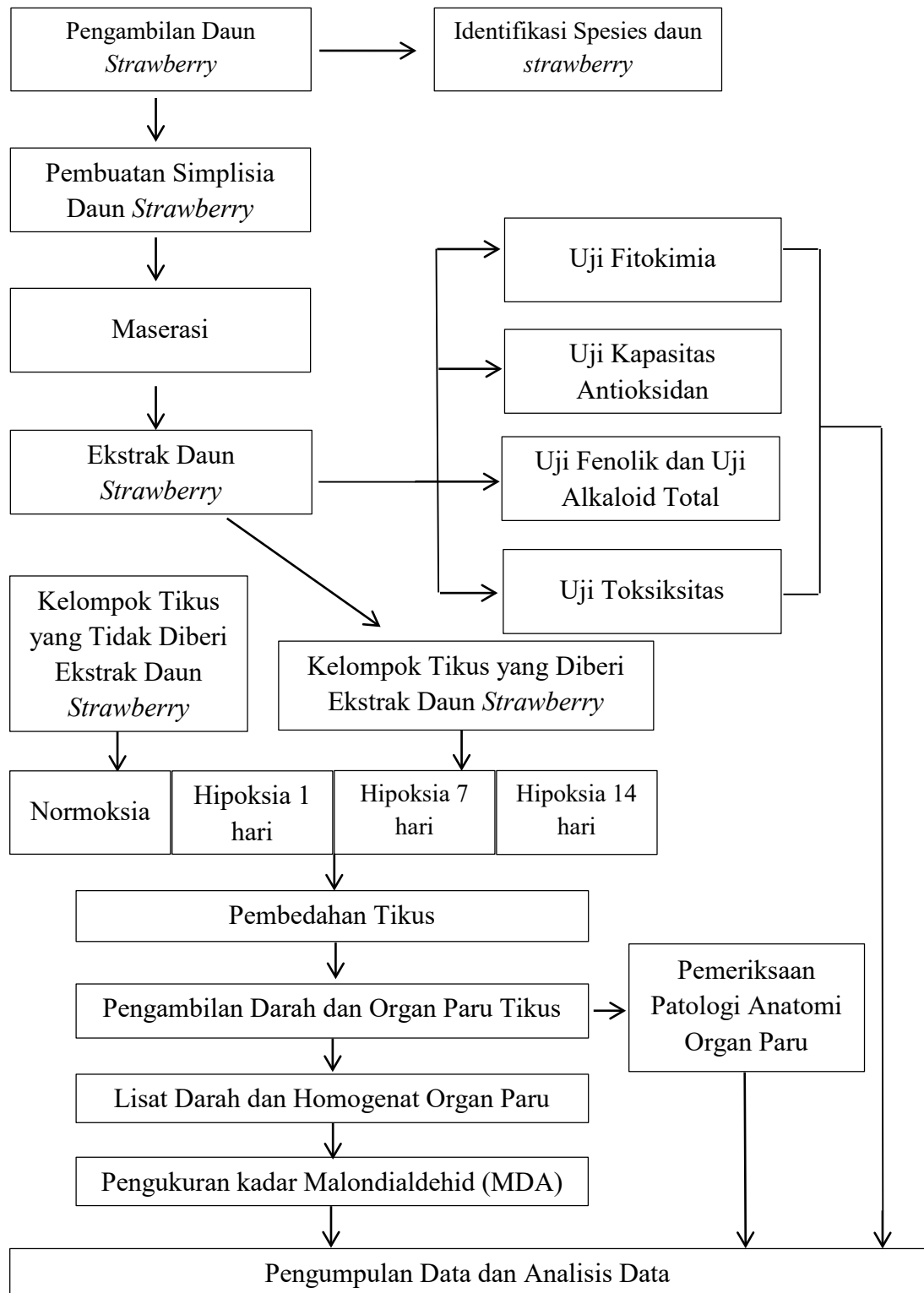
3.9 Pengumpulan Data

Dalam penelitian ini, pengumpulan data dilakukan melalui ambilan data dari hasil uji *in vitro* yaitu uji fitokimia kualitatif, uji kapasitas antioksidan, uji fenolik, alkaloid total, dan uji toksisitas, serta uji *in vivo* yaitu kadar MDA paru dan darah tikus *Sprague Dawley* dan pemeriksaan patologi anatomi paru.

3.10 Analisis Data

Penelitian ini menggunakan *GraphPad Prism v7.04* sebagai aplikasi untuk uji statistik. Data yang telah didapat kemudian diolah dalam bentuk tabel dan grafik. Metode yang digunakan untuk perbandingan antar kelompok perlakuan menggunakan metode analisis *t-test*. Hasil dianggap bermakna secara statistik jika variabel yang dianalisis $p < 0.05$. Uji korelasi antar variabel menggunakan *Pearson's Correlation Coefficient*.

3.11 Alur Penelitian



Gambar 3.1 Alur Penelitian

BAB 4 HASIL PENELITIAN

4.1 Uji Fitokimia Kualitatif Berdasarkan Harborne³²

Pada uji fitokimia yang telah dilakukan, hasil untuk semua senyawa fitokimia yang diperiksa yaitu alkaloid, antosianin dan betasianin, kardio glikosida, *coumarins*, flavonoid, glikosida, fenolik, kuinon, *steroids*, *terpenoids*, tanin dinyatakan positif (Tabel 4.1).

Tabel 4.1 Uji Fitokimia Kualitatif Ekstrak Daun *Strawberry*

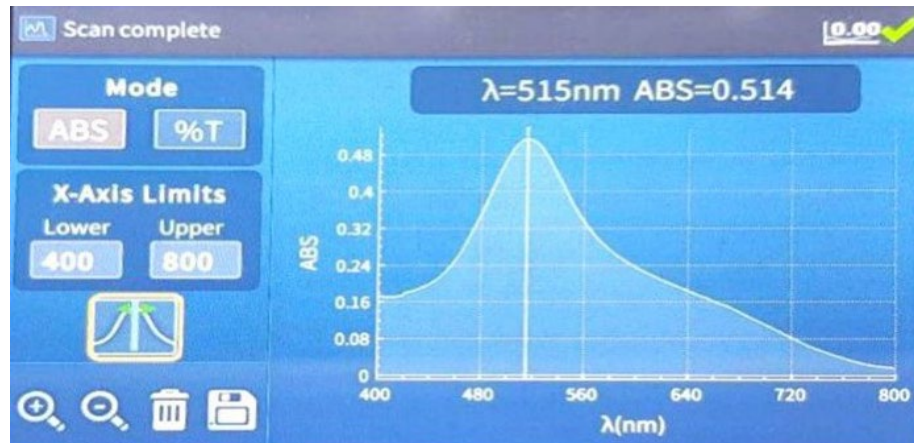
Senyawa Fitokimia	Hasil	Metode
Alkaloid	Positif	Mayer
Antosianin dan Betasianin	Positif	NaOH
Kardio Glikosida	Positif	<i>Concentrate H₂SO₄</i>
<i>Coumarins</i>	Positif	NaOH
Flavonoid	Positif	<i>Ammonium</i>
Glikosida	Positif	<i>Modified Borntrager</i>
Fenolik	Positif	Folin Ciocalteu
Kuinon	Positif	H ₂ SO ₄
<i>Steroids</i>	Positif	Salkowski
<i>Terpenoids</i>	Positif	Salkowski
Tanin	Positif	<i>Ferric Chloride</i>

4.2 Kapasitas Antioksidan Total Ekstrak Daun *Strawberry* Menggunakan DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil)

4.2.1 Panjang Gelombang dan Absorbansi Optimum DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil)

Panjang gelombang optimum DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil) ditetapkan dengan mengukur menggunakan spektrofotometer. Melalui pengukuran tersebut, didapatkan panjang gelombang optimum sebesar 515 nm dan juga didapatkan absorban tertinggi sebesar 0.514 (Gambar 4.1). Kemudian absorban yang telah

didapat akan digunakan sebagai blanko serta juga digunakan untuk mengukur absorbansi uji ekstrak daun *strawberry* dan asam askorbat.



Gambar 4.1 Panjang Gelombang dan Absorbansi Optimum DPPH

4.2.2 Uji Larutan Standar Asam Askorbat

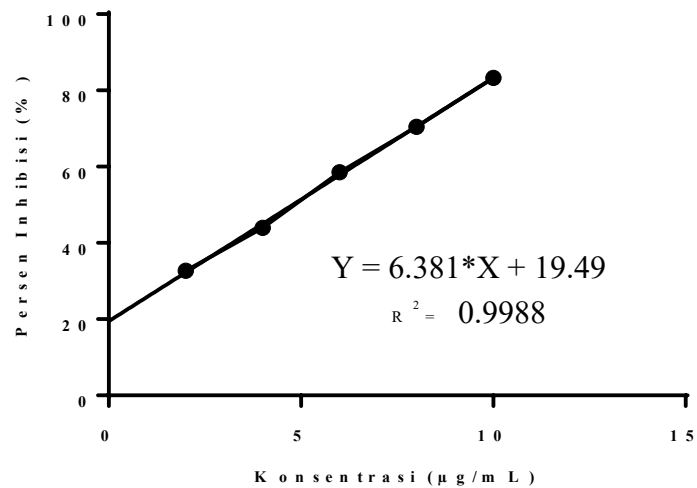
Asam askorbat digunakan sebagai pembanding pada uji DPPH. Melalui hasil uji asam askorbat akan didapatkan absorbansi dari masing-masing konsentrasi. Setelah didapatkan nilai absorbansi, kemudian persentase inhibisi dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi Kontrol} - \text{Absorbansi Sampel}}{\text{Absorbansi Kontrol}} \times 100\%$$

Tabel 4.2 Hasil Hitung Persentase Inhibisi Berdasarkan Konsentrasi Asam Askorbat

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Persentase Inhibisi (%)
2	32.68
4	43.97
6	58.56
8	70.43
10	83.27

Konsentrasi dan hasil persentase inhibisi yang telah didapat akan digunakan untuk membuat kurva standar, lalu didapatkan hasil persamaan linier (Tabel 4.2). Persamaan linier yang didapat adalah $y = 6.381x + 19.49$ dengan $R^2 = 0.9988$ (Gambar 4.2).



Gambar 4.2 Kurva Aktivitas Asam Askorbat

Persamaan linier yang didapat akan digunakan untuk mengukur IC-50 asam askorbat dimana IC-50 merupakan kemampuan menghambat radikal DPPH sebanyak 50% oleh asam askorbat, yang akan digunakan sebagai pembanding kadar DPPH daun *strawberry*. Hasil IC-50 asam askorbat yang didapat adalah 4.781 µg/mL.

4.2.3 Uji Ekstrak Daun *Strawberry*

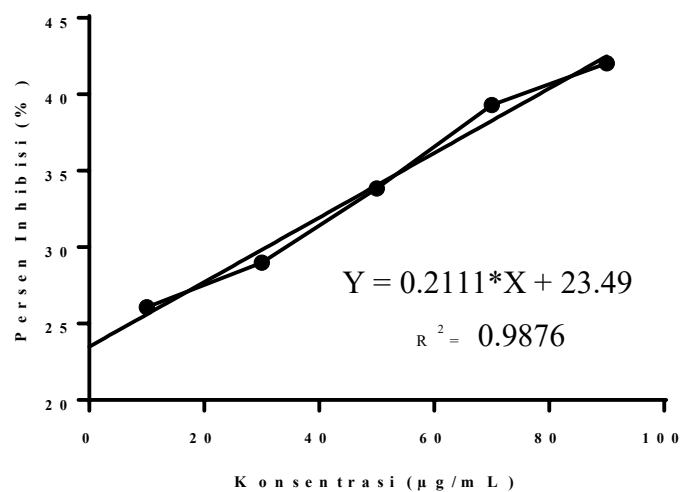
Nilai absorbansi tiap konsentrasi dari hasil uji ekstrak daun *strawberry* dapat diukur dengan menggunakan spektrofotometer. Setelah didapatkan nilai absorbansi, persentase inhibisinya dihitung dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi Kontrol} - \text{Absorbansi Sampel}}{\text{Absorbansi Kontrol}} \times 100\%$$

Tabel 4.3 Hasil Hitung Persentase Inhibisi Berdasarkan Konsentrasi Sampel

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Persentase Inhibisi (%)
10	4.67
30	9.33
50	14.3
70	18.3
90	22.7

Konsentrasi dan hasil persentase inhibisi yang telah didapat akan digunakan untuk membuat kurva standar (Tabel 4.3), lalu didapatkan hasil persamaan linier. Persamaan linier yang didapat adalah $y = 0.2111x + 23.49$ dengan $R^2 = 0.9876$ (Gambar 4.3).



Gambar 4.3 Kurva Kapasitas Antioksidan Ekstrak Daun *Strawberry*

Persamaan linier yang didapat akan digunakan untuk mengukur IC-50 ekstrak daun *strawberry* dimana IC-50 merupakan kemampuan menghambat radikal DPPH sebanyak 50% oleh ekstrak daun *strawberry*. Hasil IC-50 ekstrak daun *strawberry* yang didapat adalah $125.58 \mu\text{g/mL}$.

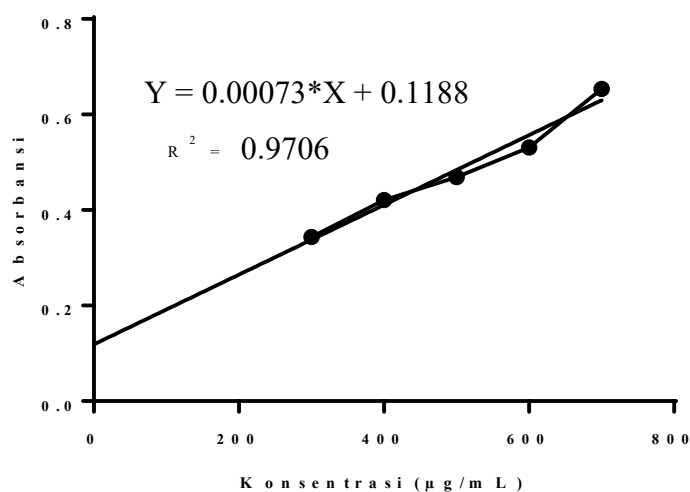
4.3 Kadar Fenolik Daun *Strawberry*

Dari pemeriksaan larutan standar tanin, akan didapatkan absorbansi masing-masing konsentrasi dengan menggunakan spektrofotometer (Tabel 4.4). Kemudian kurva standar dibuat dan dihitung persamaan liniernya berdasarkan konsentrasi dan absorbansi yang didapat.

Tabel 4.4 Absorbansi Tanin Berdasarkan Konsentrasi

Konsentrasi $\mu\text{g/mL}$	Absorbansi
300	0.410
400	0.413
500	0.421
600	0.531
700	0.654

Konsentrasi dan hasil absorbansi yang telah didapat akan digunakan untuk membuat kurva standar, lalu didapatkan hasil persamaan linier. Persamaan linier yang didapat adalah $y = 0.00073x + 0.1188$ dengan $R^2 = 0.9706$ (Gambar 4.4).



Gambar 4.4 Kurva Standar Tanin

Persamaan linier yang didapat akan digunakan untuk mengukur kadar fenolik daun *strawberry* dimana variabel x adalah kadar fenolik daun *strawberry* dan y adalah nilai absorbansi. Hasil perhitungan menunjukkan kadar fenolik ekstrak daun *strawberry* sebesar 508.493 µg/mL (Tabel 4.5).

Tabel 4.5 Kadar Fenolik Ekstrak Daun *Strawberry*

Sampel	Absorbansi	Rata-rata Absorbansi	Konsentrasi (µg/mL)
1	0.465	0.490	508.493
2	0.515		

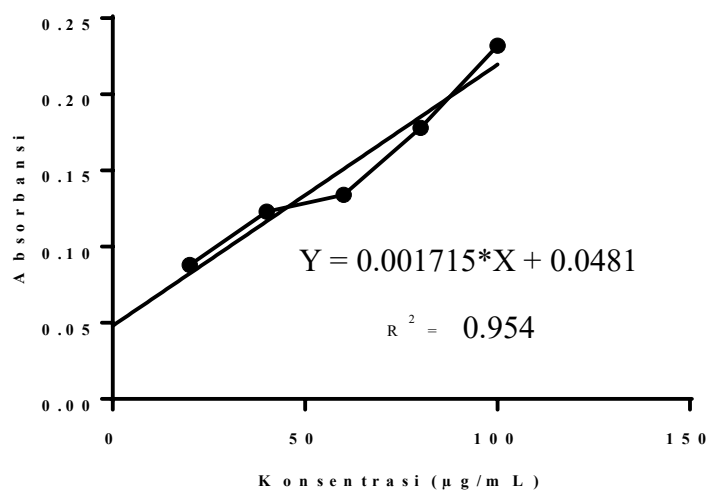
4.4 Kadar Alkaloid Total

Dari pemeriksaan larutan standar stok *berberine chloride*, akan didapatkan absorbansi masing-masing konsentrasi dengan menggunakan spektrofotometer (Tabel 4.6). Kemudian kurva standar dibuat dan dihitung persamaan liniernya berdasarkan konsentrasi dan absorbansi yang didapat

Tabel 4.6 Absorbansi Standar Stok *Berberine Chloride* Berdasarkan Konsentrasi

Konsentrasi µg/mL	Absorbansi
20	0.088
40	0.123
60	0.134
80	0.178
100	0.232

Konsentrasi dan hasil absorbansi yang telah didapat akan digunakan untuk membuat kurva standar, lalu didapatkan hasil persamaan linier. Persamaan linier yang didapat adalah $y = 0.001715x + 0.0481$ dengan $R^2 = 0.954$ (Gambar 4.5).



Gambar 4.5 Kurva Standar Alkaloid

Persamaan linier yang didapat akan digunakan untuk mengukur kadar alkaloid konten daun *strawberry* dimana variabel x adalah kadar total alkaloid konten daun *strawberry* dan y adalah nilai absorbansi. Hasil perhitungan menunjukkan kadar fenolik ekstrak daun *strawberry* sebesar 29.679 µg/mL (Tabel 4.7).

Tabel 4.7 Kadar Alkaloid Total Ekstrak Daun *Strawberry*

Sampel	Absorbansi	Rata-rata Absorbansi	Konsentrasi (µg/mL)
1	0.101	0.099	29.679
2	0.097		

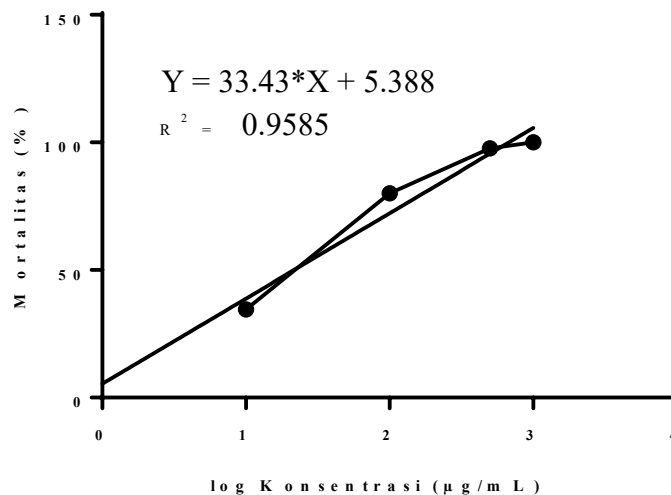
4.5 Toksisitas Ekstrak Daun *Strawberry* dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Melalui hasil pemeriksaan BSLT akan didapatkan konsentrasi dan angka kematian *Artemia salina*. Kemudian akan dibuat kurva kematian berdasarkan konsentrasi dan angka mortalitas terhadap konsentrasi ekstrak daun *strawberry* (Tabel 4.8).

Tabel 4.8 Angka Kematian dan LC-50 Berdasarkan Konsentrasi Sampel

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Jumlah Hidup	Jumlah Mati	Akumulasi Hidup	Akumulasi Mati	Angka Mortalitas (%)
10	11	9	17	9	34.62
100	5	15	6	24	80.0
500	1	19	1	43	97.72
1000	0	20	0	63	100

Konsentrasi dan angka mortalitas yang telah didapat akan digunakan untuk membuat kurva standar, lalu didapatkan hasil persamaan linier. Persamaan linier yang didapat adalah $y = 33.43x + 5.388$ dengan $R^2 = 0.9585$ (Gambar 4.6).



Gambar 4.6 Kurva Uji Toksisitas Ekstrak Daun *Strawberry*

Persamaan linier yang didapat akan digunakan untuk mengukur LC-50 dimana LC-50 merupakan konsentrasi sampel yang dapat mematikan 50 % dari total larva udang. Hasil LC-50 dari pengukuran sampel ekstrak daun *strawberry* yang didapat adalah $21.606 \mu\text{g/mL}$.

4.6 Aktivitas Spesifik MDA dengan Metode Wills³⁷

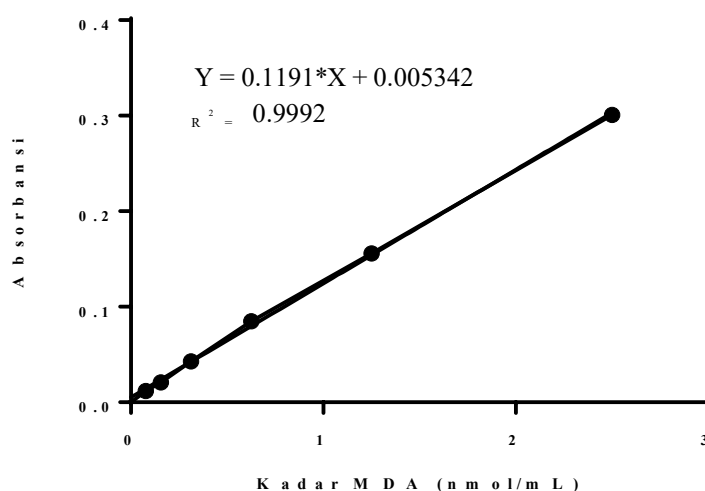
4.6.1 Kurva Standar MDA

Kurva standar dibuat melalui hasil absorbansi dari MDA dengan kadar 0.078 nmol/mL, 0.156 nmol/mL, 0.312 nmol/mL, 0.625 nmol/mL, 1.25 nmol/mL, dan 2.5 nmol/mL yang telah diukur dengan menggunakan spektrofotometri uv-vis dengan panjang gelombang 530 nm (Tabel 4.9).

Dari kurva standar, dengan menggunakan rumus persamaan linier didapatkan persamaan $y = 0.1191x + 0.005342$ dengan $R^2 = 0.9992$ dimana variabel x adalah kadar MDA dan y adalah nilai absorbansi. Persamaan garis linear yang didapatkan akan digunakan untuk menghitung kadar MDA pada darah dan paru tikus yang diuji (Gambar 4.7).

Tabel 4.9 Kadar dan Absorbansi Standar MDA

Standar MDA	Kadar MDA (nmol/mL)	Absorbansi
S1	0.078	0.012
S2	0.156	0.021
S3	0.312	0.043
S4	0.625	0.085
S5	1.25	0.156
S6	2.5	0.301

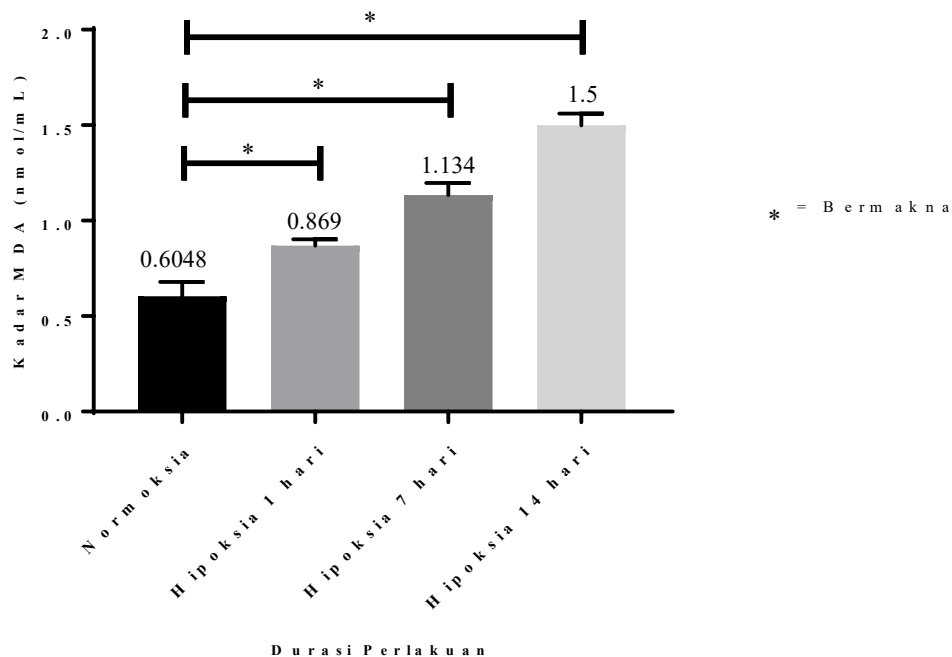


Gambar 4.7 Kurva Standar MDA

4.6.2 Kadar MDA Darah

4.6.2.1 Kadar MDA Darah Tikus yang Tidak Diberi Ekstrak Daun *Strawberry*

Kadar MDA darah didapatkan melalui persamaan linier $y = 0.1191x + 0.005342$ yang didapatkan dari kurva standar dimana variabel x adalah kadar MDA dan y adalah nilai absorbansi. Hasil absorbansi MDA dimasukkan ke dalam variabel y maka akan didapatkan nilai variabel x yang menunjukkan nilai kadar MDA darah.

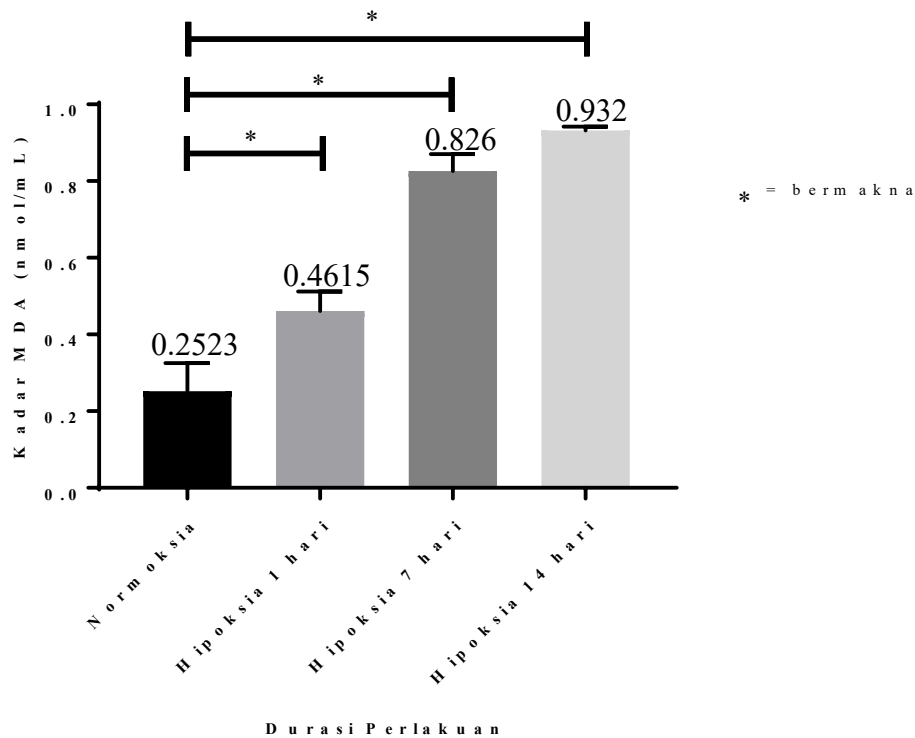


Gambar 4.8 Grafik Kadar MDA Darah Tikus yang Tidak Diberi Ekstrak Daun *Strawberry*

Kadar MDA darah kelompok tikus yang tidak diberi ekstrak daun *strawberry* berbanding lurus dengan durasi perlakuan yaitu dengan adanya peningkatan sesuai dengan durasi perlakuan yang diberikan. Perbandingan antara kelompok normoksia dengan hipoksia 1 hari, hipoksia 7 hari, dan hipoksia 14 hari dengan menggunakan *t-test* menunjukkan perbandingan yang bermakna dengan $p < 0.05$ (Gambar 4.8).

4.6.2.2 Kadar MDA Darah Tikus yang Diberi Ekstrak Daun *Strawberry*

Kadar MDA darah didapatkan melalui persamaan linier $y = 0.1191x + 0.005342$ yang didapatkan dari kurva standar dimana variabel x adalah kadar MDA dan y adalah nilai absorbansi. Hasil absorbansi MDA dimasukkan ke dalam variabel y maka akan didapatkan nilai variabel x yang menunjukkan nilai kadar MDA darah.

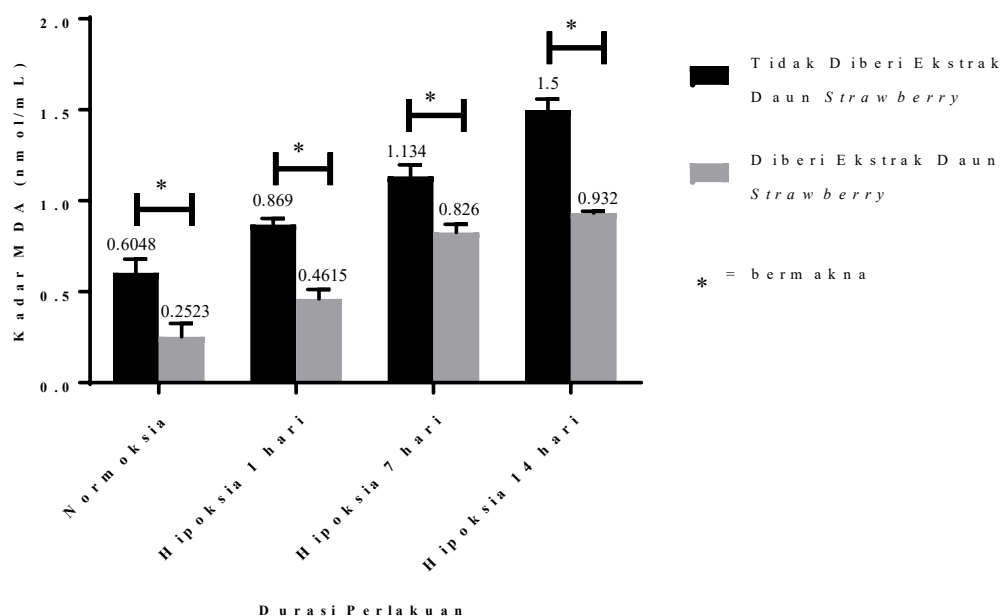


Gambar 4.9 Grafik Kadar MDA Darah Tikus yang Diberi Ekstrak Daun *Strawberry*

Kadar MDA darah kelompok tikus yang diberi ekstrak daun *strawberry* berbanding lurus dengan durasi perlakuan yaitu dengan adanya peningkatan sesuai dengan durasi perlakuan yang diberikan. Perbandingan antara kelompok normoksia dengan hipoksia 1 hari, hipoksia 7 hari, dan hipoksia 14 hari dengan menggunakan *t-test* menunjukkan perbedaan yang bermakna dengan $p < 0.05$ (Gambar 4.9).

4.6.2.3 Perbandingan Kadar MDA Darah Tikus yang Tidak Diberi Ekstrak Daun *Strawberry* dan Diberi Ekstrak Daun *Strawberry*

Perbandingan antara kadar MDA darah kelompok tikus yang tidak diberi ekstrak daun *strawberry* dengan kelompok tikus yang diberi ekstrak daun *strawberry* dengan menggunakan *t-test* akan dikatakan bermakna jika $p < 0.05$, terlihat pada semua kelompok perlakuan. Kadar MDA darah pada kelompok tikus yang tidak diberi ekstrak daun *strawberry* terlihat lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok tikus yang diberi ekstrak daun *strawberry* (Gambar 4.10).

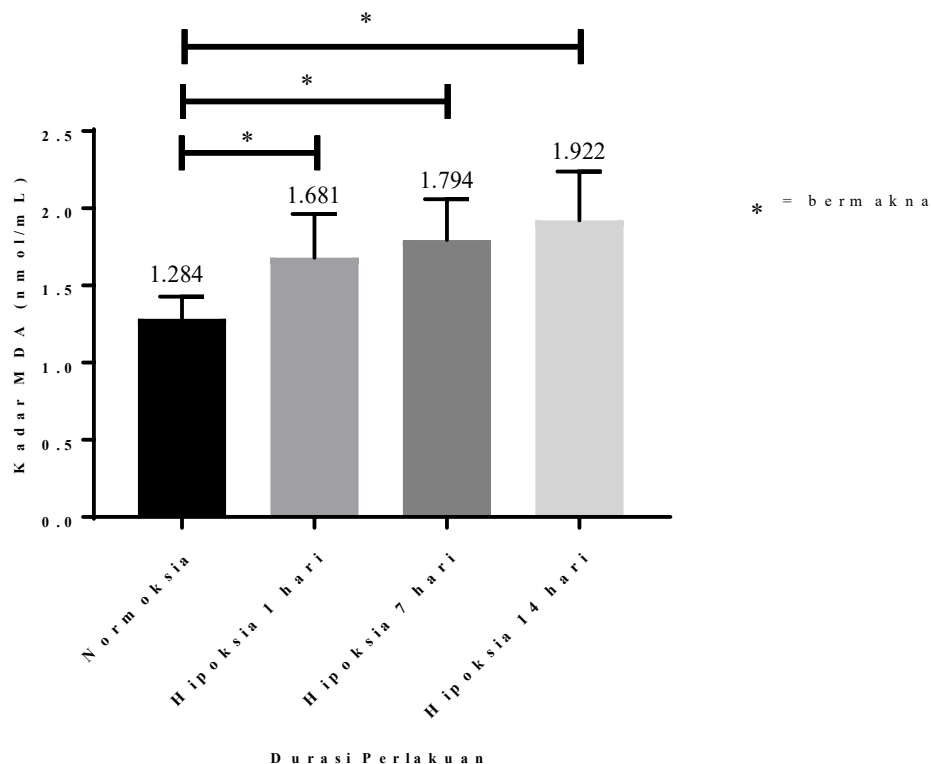


Gambar 4.10 Grafik Kadar MDA Darah Tikus yang Tidak Diberi dan Diberi Ekstrak Daun *Strawberry*

4.6.3 Kadar MDA Paru

4.6.3.1 Kadar MDA Paru Tikus yang Tidak Diberi Ekstrak Daun *Strawberry*

Kadar MDA paru didapatkan melalui persamaan linier $y = 0.1191x + 0.005342$ yang didapatkan dari kurva standar dimana variabel x adalah kadar MDA dan y adalah nilai absorbansi. Hasil absorbansi MDA dimasukkan ke dalam variabel y maka akan didapatkan nilai variabel x yang menunjukkan nilai kadar MDA paru.

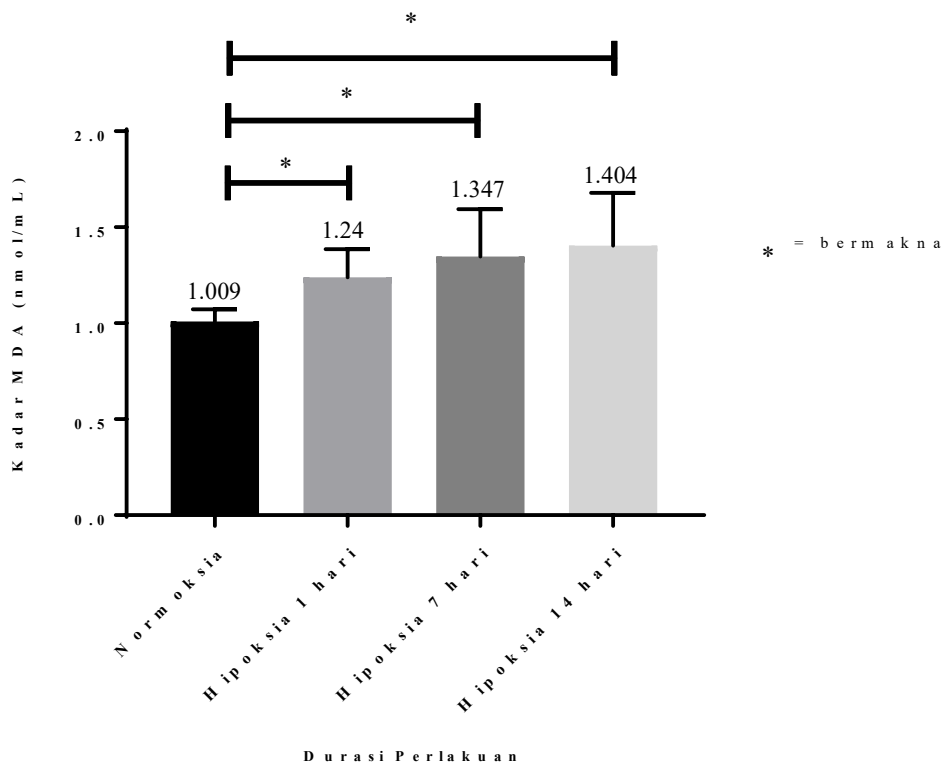


Gambar 4.11 Grafik Kadar MDA Paru Tikus yang Tidak Diberi Ekstrak Daun *Strawberry*

Kadar MDA paru kelompok tikus yang tidak diberi ekstrak daun *strawberry* berbanding lurus dengan durasi perlakuan yaitu dengan adanya peningkatan sesuai dengan durasi perlakuan yang diberikan. Perbandingan antara kelompok normoksia dengan hipoksia 1 hari, hipoksia 7 hari, dan hipoksia 14 hari dengan menggunakan *t-test* menunjukkan perbandingan yang bermakna dengan $p < 0.05$ (Gambar 4.11).

4.6.3.2 Kadar MDA Paru Tikus yang Diberi Ekstrak Daun *Strawberry*

Kadar MDA paru didapatkan melalui persamaan linier $y = 0.1191x + 0.005342$ yang didapatkan dari kurva standar dimana variabel x adalah kadar MDA dan y adalah nilai absorbansi. Hasil absorbansi MDA dimasukkan ke dalam variabel y maka akan didapatkan nilai variabel x yang menunjukkan nilai kadar MDA paru.



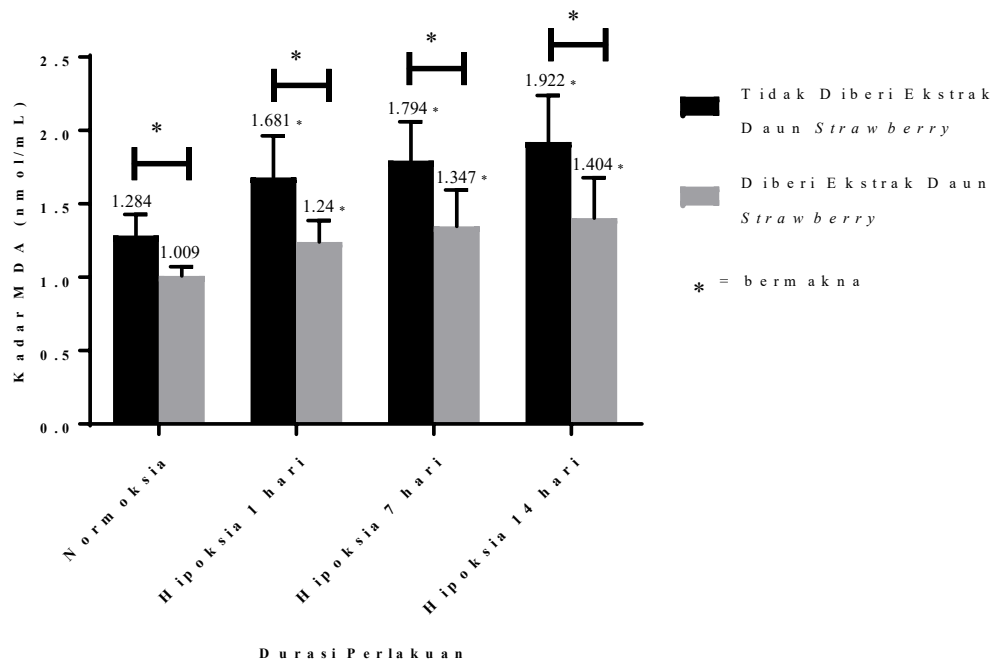
Gambar 4.12 Grafik Kadar MDA Paru Tikus yang Diberi Ekstrak Daun *Strawberry*

Kadar MDA paru kelompok tikus yang diberi ekstrak daun *strawberry* berbanding lurus dengan durasi perlakuan yaitu dengan adanya peningkatan sesuai dengan durasi perlakuan yang diberikan. Perbandingan antara kelompok normoksia dengan hipoksia 1 hari, hipoksia 7 hari, dan hipoksia 14 hari dengan menggunakan *t-test* menunjukkan perbandingan yang bermakna dengan $p < 0.05$ (Gambar 4.12).

4.6.3.3 Perbandingan Kadar MDA Paru Tikus yang Tidak Diberi Ekstrak Daun *Strawberry* dan Diberi Ekstrak Daun *Strawberry*

Perbandingan antara kadar MDA paru kelompok tikus yang tidak diberi ekstrak daun *strawberry* dengan kelompok tikus yang diberi ekstrak daun *strawberry* dengan menggunakan *t-test* akan dikatakan bermakna jika $p < 0.05$, terlihat pada kelompok hipoksia 1 hari, hipoksia 7 hari, dan hipoksia 14 hari. Kadar MDA paru

pada kelompok tikus yang tidak diberi ekstrak daun *strawberry* terlihat lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok tikus yang diberi ekstrak daun *strawberry* (Gambar 4.13).

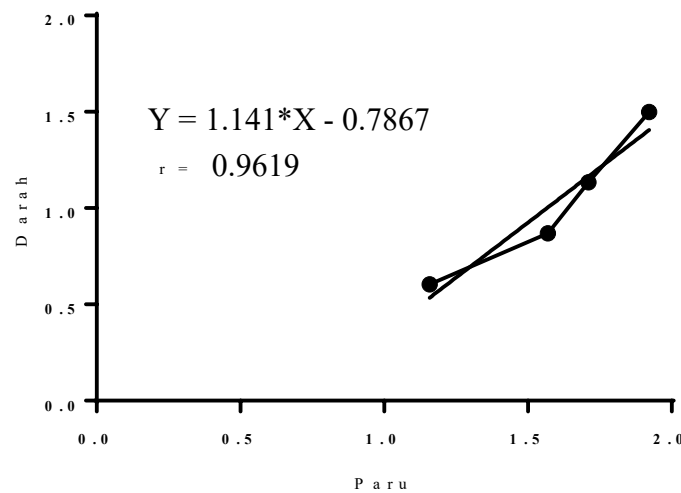


Gambar 4.13 Grafik Kadar MDA Paru Tikus yang Tidak Diberi dan Diberi Ekstrak Daun *Strawberry*

4.6.4 Korelasi Kadar MDA

4.6.4.1 Korelasi Kadar MDA Darah dan Paru Tikus yang Tidak Diberi Ekstrak Daun *Strawberry*

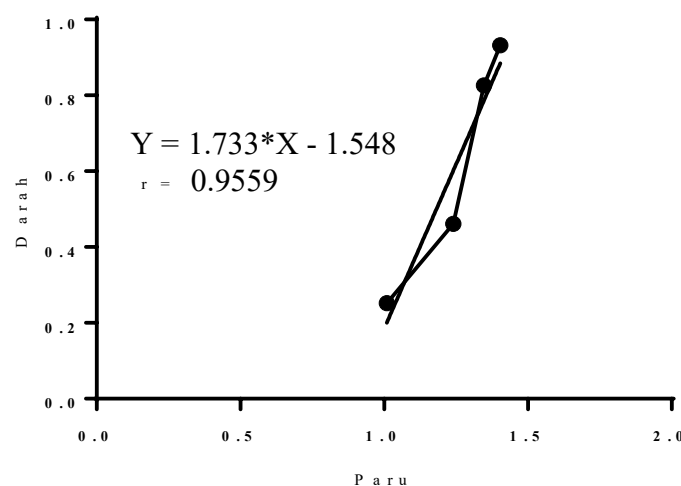
Pada hasil uji korelasi antara kadar MDA darah dan paru tikus yang tidak diberi ekstrak daun *strawberry* yang didapat dengan menggunakan metode *Pearson's Correlation Coefficient* didapatkan adanya korelasi yang bermakna dan kuat (p value = 0.0381, r = 0.9619), serta menunjukkan adanya peningkatan kadar MDA yang berbanding lurus antara darah dan paru tikus yang tidak diberi ekstrak daun *strawberry* (Gambar 4.14).



Gambar 4.14 Grafik Korelasi Kadar MDA Darah dan Paru Tikus yang Tidak Diberi Ekstrak Daun *Strawberry*

4.6.4.2 Korelasi Kadar MDA Darah dan Paru Tikus yang Diberi Ekstrak Daun *Strawberry*

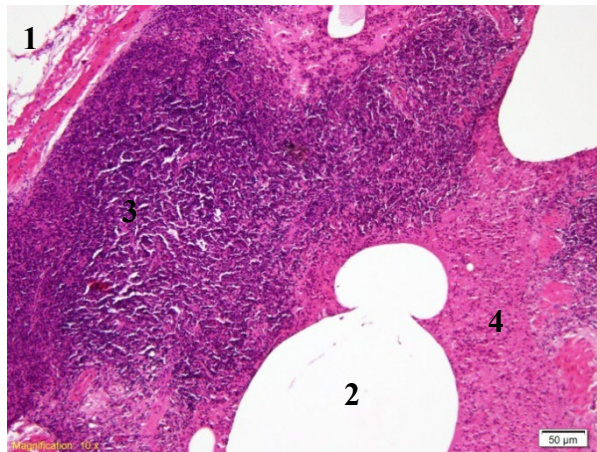
Pada hasil uji korelasi antara kadar MDA darah dan paru tikus yang diberi ekstrak daun *strawberry* yang didapat dengan menggunakan metode *Pearson's Correlation Coefficient* didapatkan adanya korelasi yang bermakna dan kuat (p value = 0.0441, $r = 0.9559$) dan menunjukkan adanya peningkatan kadar MDA yang berbanding lurus antara darah dan paru tikus yang diberi ekstrak daun *strawberry* (Gambar 4.15).



Gambar 4.15 Grafik Korelasi Kadar MDA Darah dan Paru Tikus yang Diberi Ekstrak Daun *Strawberry*

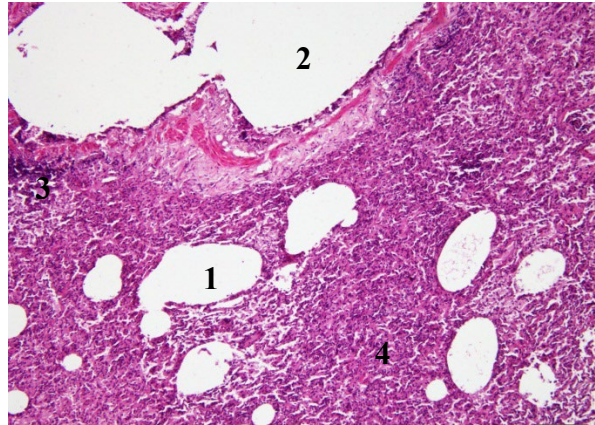
4.7 Hasil Pemeriksaan Patologi Anatomi

Pemeriksaan patologi anatomi paru tikus dilakukan dengan menggunakan pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE) dan dilihat menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 100x (Gambar 4.16 dan 4.17). Pada pemeriksaan patologi anatomi paru tikus yang diinduksi hipoksia dan tidak diberi ekstrak daun *strawberry* menunjukkan adanya kerusakan paru seperti pneumonia dan peribronkiolitis pada tikus yang dihipoksia dan tidak diberi ekstrak daun *strawberry* (Gambar 4.16). Sedangkan pada pemeriksaan patologi anatomi paru tikus yang diberi ekstrak daun *strawberry* menunjukkan adanya kerusakan paru yang lebih minimal seperti pneumonia pada tikus yang diberi ekstrak daun *strawberry* (Gambar 4.17).



Gambar 4.16 Analisis Patologi Anatomi Paru Tikus yang Dihipoksia dan Tidak Diberi Ekstrak Daun Strawberry.

Keterangan: (1) Bronkeolus, (2) Alveol, (3) Akumulasi sel mononuklear, dan (4) Pneumonia. Pewarnaan HE, Pembesaran 100x.



Gambar 4.17 Analisis Patologi Anatomi Paru Tikus yang Diberi Ekstrak Daun *Strawberry*

Keterangan: (1) Alveolus, (2) Bronkeolus, (3) Infiltrasi sel mononuklear, dan (4) Pneumonia. Pewarnaan HE, Pembesaran 100x.

BAB 5

PEMBAHASAN

5.1 Hasil Uji Fitokimia Kualitatif

Pada uji fitokimia kualitatif yang telah dilakukan menunjukkan hasil yaitu daun *strawberry* mengandung alkaloid, antosianin dan betasianin, kardio glikosida, *coumarins*, flavonoid, glikosida, fenolik, kuinon, *steroids*, *terpenoids*, tanin (Tabel 4.1). Hasil ini sejalan dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Dyduch-Sieminska *et al*²⁸ dimana *Fragaria vesca* L. mengandung flavonoid, fenolik, tanin, antosianin dan penelitian oleh Urrutia *et al*³⁸ terbukti *Fragaria vesca* mengandung *terpenoids*. Pada penelitian oleh penelitian oleh Dhole *et al*³⁹ menunjukkan bahwa *Fragaria vesca* L. memiliki kandungan alkaloid, glikosida, *steroids*, dan kardio glikosida, sedangkan pada Buricova *et al*¹³ menunjukkan bahwa daun *strawberry* mengandung *coumarins*, kuinon, antosianin dan betasianin, dan glikosida.

5.2 Hasil Kapasitas Total Antioksidan Ekstrak Daun Strawberry Menggunakan DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil)

Pada uji DPPH akan didapatkan kapasitas total antioksidan dengan cara mengukur IC-50 asam askorbat dan ekstrak daun *strawberry*. IC-50 merupakan kemampuan menghambat radikal DPPH sebanyak 50% oleh asam askorbat maupun ekstrak daun *strawberry*, dimana hasil IC-50 asam askorbat yang didapat akan dibandingkan terhadap hasil IC-50 ekstrak daun *strawberry*. Hasil IC-50 asam askorbat yang didapat adalah 4.781 µg/mL, sedangkan hasil IC-50 ekstrak daun *strawberry* yang didapat adalah 125.58 µg/mL. Hasil tersebut menyatakan bahwa aktivitas antioksidan pada asam askorbat lebih tinggi dibandingkan dengan daun *strawberry*. Hal ini serupa dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Widyastuti, dkk⁴⁰ dimana hasil IC-50 pada asam askorbat adalah 33.573 µg/mL, sedangkan hasil IC-50 ekstrak daun *strawberry* adalah 363.551 µg/mL, serta pada penelitian yang dilakukan oleh Buricova *et al*¹³ didapatkan hasil IC-50 pada ekstrak daun *strawberry* sebesar 110.1 µg/mL. Kapasitas antioksidan pada ekstrak daun *strawberry* tetap dianggap memiliki potensi yang sedang karena sesuai

dengan klasifikasi antioksidan berdasarkan nilai IC-50 dalam penelitian Jun *et al*⁴¹ dimana nilai IC-50 <50 µg/mL dinyatakan memiliki kapasitas antioksidan sangat kuat, 50-100 µg/mL kuat, 101-250 µg/mL sedang, 250-500 µg/mL lemah, dan >500 µg/mL tidak aktif. Pada hasil penelitian yang didapat, diketahui bahwa ekstrak daun *strawberry* tetap dapat menghambat berbagai penyakit yang dipicu oleh stres oksidatif.

5.3 Hasil Uji Fenolik dan Alkaloid Total

Pada penelitian yang dilakukan, didapatkan hasil rata-rata kadar fenolik ekstrak daun *strawberry* sebesar 508.493 µg/mL. Pada penelitian yang dilakukan oleh Dias *et al*⁴² menunjukkan bahwa kadar fenolik pada akar tanaman *strawberry* 253.42 µg/mL. Hal ini menunjukkan kadar fenolik ekstrak daun *strawberry* lebih tinggi dari kadar fenolik pada akar tanaman *strawberry*, maka sesuai dengan studi Pereira *et al*⁴³ sebelumnya yang menyatakan bahwa fenolik dapat menunjukkan aktivitas sebagai antioksidan karena struktur fenolik berpotensi untuk berinteraksi dengan protein dimana struktur cincin benzenoid hidrofobik dan potensi ikatan hidrogen dari gugus hidroksil fenolik dapat membuat fenolik memiliki kemampuan sebagai antioksidan.

Pada uji alkaloid total didapatkan hasil rata-rata kadar alkaloid ekstrak daun *strawberry* sebesar 29.679 µg/mL sehingga dapat berpotensi sebagai antimikroba dan antioksidan. Hal ini didukung oleh penelitian Novelli *et al*⁴⁴ yang menyatakan bahwa alkaloid dapat berpotensi sebagai antimikroba dan antioksidan.

5.4 Hasil Uji Toksisitas

Pada hasil pemeriksaan BSLT akan didapatkan nilai toksisitas dengan mengukur nilai LC-50, dimana LC-50 merupakan konsentrasi sampel yang dapat mematikan 50 % dari total larva udang. Sampel akan dinyatakan toksik jika hasil LC-50 yang didapat kurang dari 1000 µg/mL. Hasil LC-50 dari pengukuran sampel ekstrak daun *strawberry* yang didapat adalah 21.606 µg/mL. Hasil ini didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Khan *et al*⁴⁵ pada ekstrak daun *Fragaria × ananassa* dengan nilai LC-50 sebesar 53.7 µg/mL dimana daun ini memiliki genus yang sama dengan *Fragaria vesca* L. Toksisitas pada daun *strawberry*

dianggap sangat toksik, hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Clarkson *et al*⁴⁶ dimana ekstrak dengan LC-50 >1000 µg/ml dianggap tidak toksik, 500 - 1000 µg/ml memiliki toksisitas rendah, 100 - 500 µg/ml memiliki toksisitas sedang, sedangkan ekstrak dengan LC-50 0 - 100 µg/ml dianggap sangat toksik. Maka dari itu, sesuai dengan hasil penelitian yang didapat dimana daun *strawberry* memiliki toksisitas yang sangat tinggi dianggap dapat berpotensi sebagai antikanker, hal ini didukung oleh studi Mirzaei *and* Mirzaei⁴⁷ yang menyatakan bila LC-50 nya rendah dapat berpotensi sebagai antikanker maupun antitumor.

5.5 Hasil Pemeriksaan Kadar MDA pada Darah dan Organ Paru Tikus *Sprague Dawley*

Pemeriksaan kadar MDA pada darah dan organ paru tikus bertujuan untuk melihat seberapa besar kerusakan pada darah dan organ paru tikus setelah diinduksi hipoksia dan diberi ekstrak daun *strawberry*. Kadar MDA akan didapatkan menggunakan persamaan linier yang telah didapat yaitu $y = 0.1191x + 0.005342$ dengan satuan nmol/mL.

Pada hasil pemeriksaan darah dan organ paru tikus yang tidak diberi maupun yang diberi ekstrak daun *strawberry* didapatkan adanya peningkatan kadar MDA yang berbanding lurus dengan durasi perlakuan hipoksia (normoksia, hipoksia 1 hari, hipoksia 7 hari, hipoksia 14 hari). Hal ini menunjukkan terjadinya peningkatan kadar MDA dalam terjadinya stres oksidatif. Hasil tersebut sejalan dengan penelitian Alkan *et al*⁴⁸ dimana terdapat peningkatan kadar MDA pada organ tikus yang diinduksi hipoksia. Pada darah dan organ paru tikus yang diberi ekstrak daun *strawberry* menunjukkan kadar MDA yang lebih rendah dibandingkan dengan kadar MDA pada darah dan organ paru tikus yang tidak diberi ekstrak daun *strawberry*, hal ini membuktikan bahwa ekstrak daun *strawberry* dapat berfungsi sebagai antioksidan sehingga dapat menghambat kerusakan organ yang disebabkan oleh adanya stres oksidatif. Hal ini sejalan dengan penelitian Tanideh *et al*⁴⁹ dimana menunjukkan adanya penurunan kadar MDA pada tikus yang mengalami stres oksidatif setelah diberi ekstrak buah *strawberry*.

Pada uji korelasi *Pearson* menunjukkan korelasi yang bermakna (p value = 0.0381) antara kadar MDA darah dengan organ paru tikus yang tidak diberi ekstrak daun *strawberry* serta memiliki tingkat korelasi yang sangat kuat ($r = 0.9619$). Sedangkan pada uji korelasi *Pearson* antara kadar MDA darah dengan kadar MDA organ paru tikus yang diberi ekstrak daun *strawberry* juga menunjukkan korelasi yang bermakna (p value = 0.0441) dengan tingkat korelasi yang sangat kuat ($r = 0.9559$). Hal ini membuktikan bahwa keadaan hipoksia dapat menimbulkan kerusakan sistemik maka kerusakan yang terjadi akan melibatkan semua organ sehingga mengakibatkan peningkatan kadar MDA. Hal ini didukung oleh penelitian Gonenc *et al*⁵⁰ yang menunjukkan adanya korelasi bermakna antara kadar MDA darah dan jaringan pada keadaan stres oksidatif.

5.6 Hasil Pemeriksaan Patologi Anatomi Paru

Pemeriksaan patologi anatomi paru tikus dilakukan dengan menggunakan pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE) dan dilihat menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 100x. Pemeriksaan ini dilakukan untuk melihat adanya perubahan histopatologi pada organ paru. Pada pemeriksaan patologi anatomi paru tikus yang diinduksi hipoksia selama 14 hari dan tidak diberi ekstrak daun *strawberry* menunjukkan adanya kerusakan paru seperti pneumonia dan peribronkiolitis (Gambar 4.16), sedangkan pada paru tikus yang diinduksi hipoksia selama 14 hari dan diberi ekstrak daun *strawberry* menunjukkan adanya kerusakan paru yang lebih minimal seperti pneumonia (Gambar 4.17). Penelitian ini didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Uzun *et al*⁵¹ dimana pada pemeriksaan patologi anatomi paru tikus yang diinduksi hipoksia didapatkan adanya inflamasi, serta pada tikus yang tidak diberi antioksidan memiliki kerusakan lebih berat daripada yang diberikan antioksidan.

BAB 6

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Sesuai dengan hasil serta pembahasan penelitian yang berjudul Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Strawberry (*Fragaria vesca* L.) Terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) Paru dan Darah Tikus *Sprague Dawley* Setelah Diinduksi Hipoksia, maka didapatkan kesimpulan sebagai berikut:

1. Ekstrak daun *strawberry* memiliki kandungan metabolit sekunder seperti alkaloid, antosianin dan betasianin, kardio glikosida, *coumarins*, flavonoid, glikosida, fenolik, kuinon, *steroids*, *terpenoids*, dan tanin.
2. Kapasitas antioksidan total ekstrak daun *strawberry* diperoleh dengan IC-50 sebesar 125.58 µg/mL.
3. Kadar fenolik ekstrak daun *strawberry* diperoleh sebesar 508.493 µg/mL dan kadar alkaloid ekstrak daun *strawberry* sebesar 29.679 µg/mL.
4. Toksisitas ekstrak daun *strawberry* pada uji toksisitas didapatkan dengan nilai LC-50 sebesar 21.606 µg/mL.
5. Terjadi peningkatan bermakna kadar malondialdehid (MDA) pada paru dan darah tikus *Sprague Dawley* yang diinduksi hipoksia kemudian diberi ekstrak daun *strawberry*.
6. Terjadi peningkatan bermakna kadar malondialdehid (MDA) pada paru dan darah tikus *Sprague Dawley* yang diinduksi hipoksia tanpa diberi ekstrak daun *strawberry*.
7. Terjadi perbedaan bermakna kadar malondialdehid (MDA) pada paru dan darah tikus *Sprague Dawley* yang diinduksi hipoksia antara kelompok yang diberikan ekstrak daun *strawberry* dengan yang tidak diberikan ekstrak daun *strawberry*.
8. Terdapat korelasi sangat kuat dan bermakna antara kadar malondialdehid (MDA) pada paru dan darah tikus *Sprague Dawley* yang diinduksi hipoksia kemudian diberikan ekstrak daun *strawberry*.

9. Terdapat korelasi sangat kuat dan bermakna antara kadar MDA pada paru dan darah tikus *Sprague Dawley* yang diinduksi hipoksia tanpa diberikan ekstrak daun *strawberry*.
10. Terjadi perubahan struktur histopatologi berupa peribronkiolitis paru tikus *Sprague Dawley* yang diinduksi hipoksia tanpa pemberian ekstrak daun *strawberry* dan terjadi kerusakan lebih ringan pada kelompok yang diberikan ekstrak daun *strawberry*.

6.2 Saran

1. Diperlukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan marker lain seperti GSH, Katalase, maupun SOD.
2. Diperlukan pemeriksaan lebih lanjut dengan menggunakan marker peroksidasi lipid yang lebih spesifik seperti *8-isoprostane* dan *4-hydroxynonenal*.

DAFTAR PUSTAKA

1. World Health Organisation. Chronic obstructive pulmonary disease (COPD). (updated 2017 Dec 1; cited 2018 Dec 4). Available from: [http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chronic-obstructive-pulmonary-disease-\(copd\)](http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chronic-obstructive-pulmonary-disease-(copd))
2. Caminati A, Cavazza A, Sverzellati N, Harari S. An integrated approach in the diagnosis of smoking-related interstitial lung diseases. *Eur Respir Rev*. 2012;21(125):207–17.
3. World Health Organisation. Smoking causes lung cancer and chronic bronchitis. WHO. (cited 2018 Dec 4). Available from: <http://www.who.int/tobacco/healthwarningsdatabase/tobacco-large-indonesia-lung-cancer/en/>
4. Schumacher F-R, Schubert S, Hannus M, Sönnichsen B, Ittrich C, Kreideweiss S, et al. RNAi screen for NRF2 inducers identifies targets that rescue primary lung epithelial cells from cigarette smoke induced radical stress. *PLoS One*. 2016;11(11):1-18.
5. Poljšak B, Jamnik P, Polona, Raspor P, Peter, Pesti M, et al. Oxidation-antioxidation-reduction processes in the cell: impacts of environmental pollution. Jerome N, editor. *Encyclopedia of environmental health*. Hungary: Elsevier; 2011.
6. Asni E, Harahap IP, Prijanti AR, Wanandi SI, Jusman SWA, Sadikin M. Pengaruh hipoksia berkelanjutan terhadap kadar malondialdehid, glutathione tereduksi dan aktivitas katalase ginjal tikus. 2009 (cited 2018 Dec 4);59(12): Available from: <https://docplayer.info/46466642-Pengaruh-hipoksia-berkelanjutan-terhadap-kadar-malondialdehid-glutathione-tereduksi-dan-aktivitas-katalase-ginjal-tikus.html>
7. Kumar H, Choi DK. Hypoxia inducible factor pathway and physiological adaptation: a cell survival pathway?. *Mediators Inflamm*. 2015 (cited 2018 Dec 4);2015: Available from: <https://www.hindawi.com/journals/mi/2015/584758/>
8. Birben E, Sahiner UM, Sackesen C, Erzurum S, Kalayci O. Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organ J*. 2012;5(1):9–19.
9. Ayala A, Muñoz MF, Argüelles S. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxid Med Cell Longev*. 2014 (cited 2018 Dec 4);2014: Available from: <https://www.hindawi.com/journals/omcl/2014/360438/>
10. Khajehnasiri F, Mortazavi SB, Allameh A, Akhondzadeh S, Hashemi H. Total antioxidant capacity and malondialdehyde in depressive rotational shift workers. *J Environ Public Health*. 2013 (cited 2018 Dec 4);2013: Available from: <https://www.hindawi.com/journals/jeph/2013/150693/>
11. Moreto F, de Oliveira EP, Manda RM, Burini RC. The higher plasma malondialdehyde concentrations are determined by metabolic syndrome-related glucolipotoxicity. *Oxid Med Cell Longev*. 2014 (cited 2018 Dec 4);2014: Available from: <https://www.hindawi.com/journals/omcl/2014/505368/>

12. Basu A, Morris S, Nguyen A, Betts NM, Fu D, Lyons TJ. Effects of dietary strawberry supplementation on antioxidant biomarkers in obese adults with above optimal serum lipids. *J Nutr Metab*. 2016 (cited 2018 Dec 4);2016: Available from: <https://www.hindawi.com/journals/jnme/2016/3910630/>
13. Buřičová L, Andjelkovic M, Čermáková A, Réblová Z, Jurček O, Kolehmainen E, et al. Antioxidant capacity and antioxidants of strawberry, blackberry, and raspberry leaves. *Czech J Food Sci*. 2011;29(2):181–189.
14. Semenza GL. Hypoxia-inducible factors in physiology and medicine. *Cell*. 2012;148(3):399–408.
15. Biddle C. Oxygen: the two-faced elixir of life. *AANA J*. 2008;76(1):61–68.
16. MacIntyre NR. Tissue hypoxia: implications for the respiratory clinician. *Respir Care*. 2014;59(10):1590–1596.
17. Majmundar AJ, Wong WJ, Simon MC. Hypoxia-inducible factors and the response to hypoxic stress. *Mol Cell*. 2010;40(2):294–309.
18. Hendrawan S, Jusman SWA, Ferdinal F, Prijanti AR, Wanandi SI, Sadikin M. Expression of hypoxia inducible factor-1a (HIF-1a) gene and apoptosis in the heart induced by systemic hypoxia. *Med J Indones*. 2009;(2):97–101.
19. Araneda OF, Tuesta M. Lung oxidative damage by hypoxia. *Oxid Med Cell Longev*. 2012 (cited 2018 Dec 5);2012: Available from: <https://www.hindawi.com/journals/omcl/2012/856918/cta/>
20. Ozcan A, Ogun M. Biochemistry of reactive oxygen and nitrogen species. In: Gowder SJT, editor. *Basic principles and clinical significance of oxidative stress*. London: Intechopen; 2015. p.37–58.
21. Sena LA, Chandel NS. Physiological roles of mitochondrial reactive oxygen species. *Mol Cell*. 2012;48(2):158–167.
22. Santo A, Zhu H, Li YR. Free radicals: from health to disease. *ROS*. 2016 (cited 2018 Dec 13);2(4):245–263. Available from: <https://aimsci.com/ros/index.php/ros/article/view/33>
23. Rahal A, Kumar A, Singh V, Yadav B, Tiwari R, Chakraborty S, et al. Oxidative stress, prooxidants, and antioxidants: the interplay. *BioMed Res Int*. 2014 (cited 2018 Dec 13);2014: Available from: <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2014/761264/>
24. Pisoschi AM, Pop A, Cimpeanu C, Predoi G. Antioxidant capacity determination in plants and plant-derived products: a review. *Oxid Med Cell Longev*. 2016 (cited 2018 Dec 13);2016: Available from: <https://www.hindawi.com/journals/omcl/2016/9130976/>
25. Sirisha N, Sreenivasulu M, Sangeeta K, Chetty CM. Antioxidant properties of ficus species – a review. *Int J Pharma Techn Res*. 2010;2(4):2174–2182.
26. Pham-Huy LA, He H, Pham-Huy C. Free radicals, antioxidants in disease and health. *Int J Biomed Sci*. 2008;4(2):89–96.
27. Sherwood L. *Introduction to human physiology*. 8th ed. Boston: Brooks/Cole; 2012. p.488–535.
28. Dyduch-Siemińska M, Najda A, Dyduch J, Gantner M, Klimek K. The content of secondary metabolites and antioxidant activity of wild strawberry fruit (*Fragaria vesca* L.). *J Anal Methods Chem*. 2015 (cited 2018 Dec 13);2015: Available from: <https://www.hindawi.com/journals/jamc/2015/831238/>

29. Jones I. *Fragaria vesca* (wild strawberry). (updated 2018 Nov 19; cited 2018 Dec 13). Available from: <https://www.cabi.org/isc/datasheet/24409>
30. Huang W, Zhang H, Liu W, Li C. Survey of antioxidant capacity and phenolic composition of blueberry, blackberry, and strawberry in Nanjing. *J Zhejiang Univ Sci B*. 2012;13(2):94–102.
31. Federer WT. *Experimental Design: Theory and Application*. 1st ed. New York: Macmillan; 1955.
32. Harborne JB. *Metode fitokimia: penuntun cara modern menganalisis tumbuhan*. Bandung: ITB; 1987.
33. Blois MS. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*. 1958;181:1199.
34. Singleton VL, Rossi JA. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic*. 1965;16(3):144–58.
35. Patel RK, Patel JB, Trivedi PD. Spectrophotometric method for the estimation of total alkaloids in the *tinospora cordifolia* m. and its herbal formulations. *Int J Pharm Pharm Sci*. 2015;7(10):249-251.
36. Meyer B, Ferrigni N, Putnam J, Jacobsen L, Nichols D, McLaughlin J. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Medica*. 1982;45(05):31–4.
37. Wills E. Mechanisms of lipid peroxide formation in animal tissues. *Biochem J*. 1966;99(3):667–676.
38. Urrutia M, Rambla JL, Alexiou KG, Granell A, Monfort A. Genetic analysis of the wild strawberry (*fragaria vesca*) volatile composition. *Plant Physiol Biochem*. 2017;121:99–117.
39. Dhole AR, Mohite SK, Magdum C. Pharmacognostical evaluation of *Fragaria vesca* Linn leaf. *Int J Phytopharmacy*. 2014;4(4).
40. Widyastuti W, Kusuma AE, Nurlaili N, Sukmawati F. Aktivitas antioksidan dan tabir surya ekstrak etanol daun stroberi (*fragaria x ananassa* a.n. duchesne). *J Sains Farm Klin*. 2016;3(1):19.
41. Jun M, Fu HY, Hong J, Wan X, Yang CS, Ho CT. Comparison of antioxidant activities of isoflavones from kudzu root (*pueraria lobata* ohwi). *J Food Sci*. 2003;68(6):2117–22.
42. Dias MI, Barros L, Oliveira MBPP, Santos-Buelga C, Ferreira ICFR. Phenolic profile and antioxidant properties of commercial and wild *Fragaria vesca* L. roots: a comparison between hydromethanolic and aqueous extracts. *Ind Crops Prod*. 2015;63:125–32.
43. Pereira DM, Valentão P, Pereira JA, Andrade PB. Phenolics: From chemistry to biology. *Molecules*. 2009;14(6):2202–11.
44. Novelli S, Lorena C, Antonella C. Identification of alkaloid's profile in *figus benjamina* l. extracts with higher antioxidant power. *Am J Plant Sci*. 2014;05(26):4029–39.
45. Khan I, Tababum S, Rehman T-U, Ikram M, Haq I, Zia M. Antioxidant, cytotoxicity, protein kinase inhibition and antibacterial activities of *fragaria x ananaba* leaves. *Pak J Pharm Sci*. 2018;31:1423–9.

46. Clarkson C, Maharaj VJ, Crouch NR, Grace OM, Pillay P, Matsabisa MG, et al. In vitro antiparasmodial activity of medicinal plants native to or naturalised in south africa. *J Ethnopharmacol*. 2004;92(2):177–91.
47. Mirzaei M, Mirzaei A. Comparison of the *Artemia salina* and *Artemia urmiana* bioassays for toxicity of 4 Iranian medicinal plants. *Int Res J Biol Sci*. 2013;2(3):49–54.
48. Alkan T, Gören B, Vatansever E, Sarandöl E. Effects of hypoxic preconditioning in antioxidant enzyme activities in hypoxic-ischemic brain damage in immature rats. *Turk Neurosurg*. 2008 Apr;18(2):165–71.
49. Tanideh N, Baseri A, Jamshidzadeh A, Ashraf MJ, Kuhi O, Mehrabani D. The healing effect of strawberry extract on acetic acid-induced ulcerative colitis in rat. *World Appl Sci J*. 2014;31(3):281–8.
50. Gönenç A, Erten D, Aslan S, Akinci M, Simsek B, Torun M. Lipid peroxidation and antioxidant status in blood and tissue of malignant breast tumor and benign breast disease. *Cell Biol Int*. 2006;30(4):376–80.
51. Uzun Ö, Balbay Ö, Üstündag Ç, Çomunog˘lu N, Yavuz Ö, Nihat Annakkaya A, Güler S, Arbak P. Hypobaric-hypoxia-induced pulmonary damage in rats ameliorated by antioxidant erdosteine. *Acta Histochemica*. 2016;108(1), 59–68.

Lampiran 1 Kaji Etik



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

PERSETUJUAN ETIK
Ethical Clearance
Nomor: 143/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 PEMBERIAN EKSTRAK DAUN STROBERI
(FRAGARIA VESCA) TERHADAP KADAR MALONDIALDEHID
(MDA) PADA ORGAN PARU DAN DARAH TIKUS SPRAGUE
DAWLEY SETELAH DIINDUKSI HIPOKSIA"**

Peneliti Utama : Olivia Margaretha

Lembaga/Tempat penelitian : FK Universitas Tarumanagara

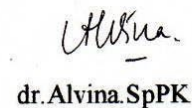
Dinyatakan memenuhi persyaratan etik untuk dilaksanakan.

Jakarta, 17 Januari 2019

Ketua

Prof. DR. dr. Adi Hidayat, MS

Sekretaris


dr. Alvina SpPK

Lampiran 2 Identifikasi Tumbuhan LIPI



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 3 Hasil Uji *In Vitro*

Tabel 1 Regresi Linear Asam Askorbat

Regresi Linear	
Best-fit values $\pm$ SE	
Slope	6.381 $\pm$ 0.1261
Y-intercept	19.49 $\pm$ 0.8362
X-intercept	-3.055
1/slope	0.1567
95% Confidence Intervals	
Slope	5.98 to 6.782
Y-intercept	16.83 to 22.16
X-intercept	-3.69 to -2.492
Goodness of Fit	
R square	0.9988
Sy.x	0.7973
Is slope significantly non-zero?	
F	2562
DFn, DFd	1, 3
P value	<0.0001
Deviation from zero?	Significant
Equation	$Y = 6.381 \cdot X + 19.49$
Data	
Number of X values	5
Maximum number of Y replicates	1
Total number of values	5
Number of missing values	0

Tabel 2 Regresi Linear DPPH

Regresi Linear	
Best-fit values $\pm$ SE	
Slope	0.2111 $\pm$ 0.01365
Y-intercept	23.49 $\pm$ 0.7843
X-intercept	-111.3
1/slope	4.737
95% Confidence Intervals	
Slope	0.1676 to 0.2545
Y-intercept	21 to 25.99
X-intercept	-153.6 to -83.25
Goodness of Fit	
R square	0.9876
Sy.x	0.8635
Is slope significantly non-zero?	
F	239
DFn, DFd	1, 3
Universitas Tarumanagara	68

P value	0.0006
Deviation from zero?	Significant
Equation	$Y = 0.2111 * X + 23.49$
Data	
Number of X values	5
Maximum number of Y replicates	1
Total number of values	5
Number of missing values	0

Tabel 3 Regresi Linear Fenolik

Regresi Linear	
Best-fit values $\pm$ SE	
Slope	$0.00073 \pm 7.332e-005$
Y-intercept	0.1188 ± 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

Tabel 4 Regresi Linear Alkaloid

Regresi Linear	
Best-fit values $\pm$ SE	
Slope	0.001715 ± 0.0002174
Y-intercept	0.0481 ± 0.01442
X-intercept	-28.05
1/slope	583.1
95% Confidence Intervals	
Slope	0.001023 to 0.002407
Y-intercept	0.002209 to 0.09399
X-intercept	-89.38 to -0.9434
Goodness of Fit	
R square	0.954
Sy.x	0.01375
Is slope significantly non-zero?	
F	62.24
DFn, DFd	1, 3
P value	0.0042
Deviation from zero?	Significant
Equation	$Y = 0.001715 \cdot X + 0.0481$
Data	
Number of X values	5
Maximum number of Y replicates	1
Total number of values	5
Number of missing values	0

Tabel 5 Regresi Linear Toksisitas BSLT

Regresi Linear	
Best-fit values $\pm$ SE	
Slope	33.43 ± 4.916
Y-intercept	5.388 ± 11.34
X-intercept	-0.1612
1/slope	0.02992
95% Confidence Intervals	
Slope	12.28 to 54.58
Y-intercept	-43.41 to 54.18
X-intercept	-4.265 to 0.823
Goodness of Fit	
R square	0.9585
Universitas Tarumanagara	70

Sy.x	7.563
Is slope significantly non-zero?	
F	46.23
DFn, DFd	1, 2
P value	0.0210
Deviation from zero?	Significant
Equation	$Y = 33.43 * X + 5.388$
Data	
Number of X values	4
Maximum number of Y replicates	1
Total number of values	4
Number of missing values	0

Lampiran 4 Hasil Absorbansi MDA Darah

Tabel 1 Nilai Absorbansi MDA Darah yang Tidak Diberi Ekstrak Daun Strawberry Normoksia

NORMOKSIA	Absorbansi Pertama (A1)	Absorbansi Kedua (A2)	Rata-Rata Absorbansi
TIKUS A	0.089	0.085	0.087
TIKUS B	0.069	0.073	0.071
TIKUS C	0.068	0.070	0.069
TIKUS D	0.086	0.080	0.083

Tabel 2 Nilai Absorbansi MDA Darah yang Tidak Diberi Ekstrak Daun Strawberry Hipoksia 1 Hari

HIPOKSIA 1 HARI	Absorbansi Pertama (A1)	Absorbansi Kedua (A2)	Rata-Rata Absorbansi
TIKUS A	0.106	0.104	0.105
TIKUS B	0.112	0.109	0.111
TIKUS C	0.107	0.105	0.106
TIKUS D	0.113	0.114	0.114

Tabel 3 Nilai Absorbansi MDA Darah yang Tidak Diberi Ekstrak Daun Strawberry Hipoksia 7 Hari

HIPOKSIA 7 HARI	Absorbansi Pertama (A1)	Absorbansi Kedua (A2)	Rata-Rata Absorbansi
TIKUS A	0.135	0.139	0.137
TIKUS B	0.151	0.147	0.149
TIKUS C	0.129	0.134	0.132
TIKUS D	0.144	0.143	0.144

Tabel 4 Nilai Absorbansi MDA Darah yang Tidak Diberi Ekstrak Daun Strawberry Hipoksia 14 hari

HIPOKSIA 14 HARI	Absorbansi Pertama (A1)	Absorbansi Kedua (A2)	Rata-Rata Absorbansi
TIKUS A	0.176	0.178	0.177
TIKUS B	0.192	0.193	0.193
TIKUS C	0.189	0.185	0.187
TIKUS D	0.181	0.177	0.179

Tabel 5 Nilai Absorbansi MDA Darah yang Diberi Ekstrak Daun Strawberry Normoksia

NORMOKSIA	Absorbansi Pertama (A1)	Absorbansi Kedua (A2)	Rata-Rata Absorbansi
TIKUS A	0.037	0.013	0.025
TIKUS B	0.040	0.023	0.032
TIKUS C	0.048	0.039	0.044
TIKUS D	0.043	0.040	0.042

Tabel 6 Nilai Absorbansi MDA Darah yang Diberi Ekstrak Daun Strawberry Hipoksia 1 Hari

HIPOKSIA 1 HARI	Absorbansi Pertama (A1)	Absorbansi Kedua (A2)	Rata-Rata Absorbansi
TIKUS A	0.051	0.055	0.053
TIKUS B	0.062	0.054	0.058
TIKUS C	0.069	0.063	0.066
TIKUS D	0.063	0.065	0.064

Tabel 7 Nilai Absorbansi MDA Darah yang Diberi Ekstrak Daun Strawberry Hipoksia 7 Hari

HIPOKSIA 7 HARI	Absorbansi Pertama (A1)	Absorbansi Kedua (A2)	Rata-Rata Absorbansi
TIKUS A	0.094	0.107	0.101
TIKUS B	0.105	0.109	0.107
TIKUS C	0.107	0.111	0.109
TIKUS D	0.093	0.103	0.098

Tabel 8 Nilai Absorbansi MDA Darah yang Diberi Ekstrak Daun Strawberry Hipoksia 14 Hari

HIPOKSIA 14 HARI	Absorbansi Pertama (A1)	Absorbansi Kedua (A2)	Rata-Rata Absorbansi
TIKUS A	0.116	0.119	0.117
TIKUS B	0.118	0.113	0.115
TIKUS C	0.121	0.114	0.118
TIKUS D	0.114	0.117	0.116

Lampiran 5 Hasil Absorbansi MDA Paru

Tabel 1 Nilai Absorbansi MDA Paru yang Tidak Diberi Ekstrak Daun Strawberry Normoksia

NORMOKSIA	Absorbansi Pertama (A1)	Absorbansi Kedua (A2)	Rata-Rata Absorbansi
TIKUS A	0.174	0.180	0.177
TIKUS B	0.164	0.168	0.166
TIKUS C	0.136	0.139	0.137
TIKUS D	0.151	0.156	0.153

Tabel 2 Nilai Absorbansi MDA Paru yang Tidak Diberi Ekstrak Daun Strawberry Hipoksia 1 Hari

HIPOKSIA 1 HARI	Absorbansi Pertama (A1)	Absorbansi Kedua (A2)	Rata-Rata Absorbansi
TIKUS A	0.195	0.202	0.198
TIKUS B	0.252	0.258	0.255
TIKUS C	0.181	0.183	0.182
TIKUS D	0.182	0.191	0.187

Tabel 3 Nilai Absorbansi MDA Paru yang Tidak Diberi Ekstrak Daun Strawberry Hipoksia 7 Hari

HIPOKSIA 7 HARI	Absorbansi Pertama (A1)	Absorbansi Kedua (A2)	Rata-Rata Absorbansi
TIKUS A	0.214	0.219	0.216
TIKUS B	0.261	0.267	0.264
TIKUS C	0.202	0.207	0.204
TIKUS D	0.196	0.189	0.192

Tabel 4 Nilai Absorbansi MDA Paru yang Tidak Diberi Ekstrak Daun Strawberry Hipoksia 14 Hari

HIPOKSIA 14 HARI	Absorbansi Pertama (A1)	Absorbansi Kedua (A2)	% INHIBISI
TIKUS A	0.233	0.239	0.236
TIKUS B	0.284	0.290	0.287
TIKUS C	0.203	0.209	0.206
TIKUS D	0.204	0.212	0.208

Tabel 5 Nilai Absorbansi MDA Paru yang Diberi Ekstrak Daun Strawberry Normoksia

NORMOKSIA	Absorbansi Pertama (A1)	Absorbansi Kedua (A2)	Rata-Rata Absorbansi
TIKUS A	0.131	0.135	0.133
TIKUS B	0.119	0.127	0.123
TIKUS C	0.114	0.118	0.116
TIKUS D	0.129	0.131	0.13

Tabel 6 Nilai Absorbansi MDA Paru yang Diberi Ekstrak Daun Strawberry Hipoksia 1 Hari

HIPOKSIA 1 HARI	Absorbansi Pertama (A1)	Absorbansi Kedua (A2)	Rata-Rata Absorbansi
TIKUS A	0.156	0.160	0.158
TIKUS B	0.172	0.178	0.175
TIKUS C	0.134	0.136	0.135
TIKUS D	0.143	0.145	0.144

Tabel 7 Nilai Absorbansi MDA Paru yang Diberi Ekstrak Daun Strawberry Hipoksia 7 Hari

HIPOKSIA 7 HARI	Absorbansi Pertama (A1)	Absorbansi Kedua (A2)	Rata-Rata Absorbansi
TIKUS A	0.161	0.167	0.164
TIKUS B	0.205	0.211	0.208
TIKUS C	0.139	0.149	0.144
TIKUS D	0.143	0.151	0.147

Tabel 8 Nilai Absorbansi MDA Paru yang Diberi Ekstrak Daun Strawberry Hipoksia 14 Hari

HIPOKSIA 14 HARI	Absorbansi Pertama (A1)	Absorbansi Kedua (A2)	Rata-Rata Absorbansi
TIKUS A	0.164	0.17	0.167
TIKUS B	0.221	0.219	0.22
TIKUS C	0.149	0.143	0.146
TIKUS D	0.155	0.159	0.157

Lampiran 6 Uji Statistik Kadar MDA Darah dan Paru

Tabel 1 Perbandingan Kadar MDA Darah yang Tidak Diberi Ekstrak Daun *Strawberry* Normoksia dengan Hipoksia 1 Hari

T-Test	
Table Analyzed	Darah Tidak Diberi Ekstrak Daun Strawberry
Column B	Hipoksia 1 hari
vs.	± vs.
Column A	Normoksia
Unpaired t test	
P value	0.0006
P value summary	***
Significantly different (P < 0.05)?	Yes
One- or two-tailed P value?	Two-tailed
t, df	t=6.509 df=6
How big is the difference?	
Mean ± SEM of column A	0.6048 ± 0.03693, n=4
Mean ± SEM of column B	0.869 0.01686, n=4
Difference between means	0.2643 ± 0.0406
95% confidence interval	0.1649 to 0.3636
R squared (eta squared)	0.876
F test to compare variances	
F, DFn, Dfd	4.8, 3, 3
P value	0.2301
P value summary	Ns
Significantly different (P < 0.05)?	No

Tabel 2 Perbandingan Kadar MDA Darah yang Tidak Diberi Ekstrak Daun *Strawberry* Normoksia dengan Hipoksia 7 Hari

T-Test	
Table Analyzed	Darah Tidak Diberi Ekstrak Daun Strawberry
Column C	Hipoksia 7 hari
vs.	vs.
Column A	Normoksia
Unpaired t test	
P value	<0.0001
P value summary	****
Significantly different (P < 0.05)?	Yes
One- or two-tailed P value?	Two-tailed
t, df	t=10.91 df=6

How big is the difference?	
Mean $\pm$ SEM of column A	0.6048 $\pm$ 0.03693, n=4
Mean $\pm$ SEM of column C	1.134 $\pm$ 0.0315, n=4
Difference between means	0.5295 $\pm$ 0.04854
95% confidence interval	0.4107 to 0.6483
R squared (eta squared)	0.952
F test to compare variances	
F, DF _n , Df _d	1.375, 3, 3
P value	0.8000
P value summary	Ns
Significantly different (P < 0.05)?	No

Tabel 3 Perbandingan Kadar MDA Darah yang Tidak Diberi Ekstrak Daun *Strawberry* Normoksia dengan Hipoksia 14 Hari

T-Test	
Table Analyzed	Darah Tidak Diberi Ekstrak Daun Strawberry
Column D	Hipoksia 14 hari
vs.	vs.
Column A	Normoksia
Unpaired t test	
P value	<0.0001
P value summary	****
Significantly different (P < 0.05)?	Yes
One- or two-tailed P value?	Two-tailed
t, df	t=18.57 df=6
How big is the difference?	
Mean $\pm$ SEM of column A	0.6048 $\pm$ 0.03693, n=4
Mean $\pm$ SEM of column D	1.5 $\pm$ 0.03095, n=4
Difference between means	0.895 $\pm$ 0.04818
95% confidence interval	0.7771 to 1.013
R squared (eta squared)	0.9829
F test to compare variances	
F, DF _n , Df _d	1.424, 3, 3
P value	0.7785
P value summary	Ns
Significantly different (P < 0.05)?	No

Tabel 4 Perbandingan Kadar MDA Darah yang Diberi Ekstrak Daun *Strawberry* Normoksia dengan Hipoksia 1 Hari

T-Test	
Table Analyzed	Darah Diberi Ekstrak Daun Strawberry
Column B	Hipoksia 1 hari
vs.	vs.
Column A	Normoksia
Unpaired t test	
P value	0.0032
P value summary	**
Significantly different (P < 0.05)?	Yes
One- or two-tailed P value?	Two-tailed
t, df	t=4.729 df=6
How big is the difference?	
Mean ± SEM of column A	0.2523 ± 0.03642, n=4
Mean ± SEM of column B	0.4615 ± 0.02512, n=4
Difference between means	0.2093 ± 0.04425
95% confidence interval	0.101 to 0.3175
R squared (eta squared)	0.7885
F test to compare variances	
F, DFn, Dfd	2.103, 3, 3
P value	0.5572
P value summary	Ns
Significantly different (P < 0.05)?	No

Tabel 5 Perbandingan Kadar MDA Darah yang Diberi Ekstrak Daun *Strawberry* Normoksia dengan Hipoksia 7 Hari

T-Test	
Table Analyzed	Darah Diberi Ekstrak Daun Strawberry
Column C	Hipoksia 7 hari
vs.	vs.
Column A	Normoksia
Unpaired t test	
P value	<0.0001
P value summary	****
Significantly different (P < 0.05)?	Yes
One- or two-tailed P value?	Two-tailed
t, df	t=13.46 df=6
How big is the difference?	

Mean $\pm$ SEM of column A	0.2523 $\pm$ 0.03642, n=4
Mean $\pm$ SEM of column C	0.826 $\pm$ 0.02213, n=4
Difference between means	0.5738 $\pm$ 0.04262
95% confidence interval	0.4695 to 0.678
R squared (eta squared)	0.968
F test to compare variances	
F, DF _n , Df _d	2.709, 3, 3
P value	0.4347
P value summary	Ns
Significantly different (P < 0.05)?	No

Tabel 6 Perbandingan Kadar MDA Darah yang Diberi Ekstrak Daun *Strawberry* Normoksia dengan Hipoksia 14 Hari

T-Test	
Table Analyzed	Darah Diberi Ekstrak Daun Strawberry
Column D	Hipoksia 14 hari
vs.	vs.
Column A	Normoksia
Unpaired t test	
P value	<0.0001
P value summary	****
Significantly different (P < 0.05)?	Yes
One- or two-tailed P value?	Two-tailed
t, df	t=18.49 df=6
How big is the difference?	
Mean $\pm$ SEM of column A	0.2523 $\pm$ 0.03642, n=4
Mean $\pm$ SEM of column D	0.932 $\pm$ 0.004983, n=4
Difference between means	0.6798 $\pm$ 0.03676
95% confidence interval	0.5898 to 0.7697
R squared (eta squared)	0.9828
F test to compare variances	
F, DF _n , Df _d	53.43, 3, 3
P value	0.0084
P value summary	**
Significantly different (P < 0.05)?	Yes

Tabel 7 Perbandingan Kadar MDA Paru yang Tidak Diberi Ekstrak Daun *Strawberry* Normoksia dengan Hipoksia 1 Hari

T-Test	
Table Analyzed	Paru Tidak Diberi Ekstrak Daun Strawberry
Column B	Hipoksia 1 hari
vs.	vs.
Column A	Normoksia
Unpaired t test	
P value	0.0466
P value summary	*
Significantly different (P < 0.05)?	Yes
One- or two-tailed P value?	Two-tailed
t, df	t=2.498 df=6
How big is the difference?	
Mean ± SEM of column A	1.284 ± 0.07234, n=4
Mean ± SEM of column B	1.681 ± 0.1414, n=4
Difference between means	0.3967 ± 0.1588
95% confidence interval	0.008188 to 0.7853
R squared (eta squared)	0.5099
F test to compare variances	
F, DFn, Dfd	3.818, 3, 3
P value	0.3002
P value summary	Ns
Significantly different (P < 0.05)?	No

Tabel 8 Perbandingan Kadar MDA Paru yang Tidak Diberi Ekstrak Daun *Strawberry* Normoksia dengan Hipoksia 7 Hari

T-Test	
Table Analyzed	Paru Tidak Diberi Ekstrak Daun Strawberry
Column C	Hipoksia 7 hari
vs.	vs.
Column A	Normoksia
Unpaired t test	
P value	0.0149
P value summary	*
Significantly different (P < 0.05)?	Yes
One- or two-tailed P value?	Two-tailed
t, df	t=3.379 df=6
How big is the difference?	

Mean $\pm$ SEM of column A	1.284 $\pm$ 0.07234, n=4
Mean $\pm$ SEM of column C	1.794 $\pm$ 0.1325, n=4
Difference between means	0.5101 $\pm$ 0.151
95% confidence interval	0.1407 to 0.8794
R squared (eta squared)	0.6555
F test to compare variances	
F, DF _n , Df _d	3.354, 3, 3
P value	0.3468
P value summary	Ns
Significantly different (P < 0.05)?	No

Tabel 9 Perbandingan Kadar MDA Paru yang Tidak Diberi Ekstrak Daun *Strawberry* Normoksia dengan Hipoksia 14 Hari

T-Test	
Table Analyzed	Paru Tidak Diberi Ekstrak Daun Strawberry
Column D	Hipoksia 14 hari
vs.	vs.
Column A	Normoksia
Unpaired t test	
P value	0.0105
P value summary	*
Significantly different (P < 0.05)?	Yes
One- or two-tailed P value?	Two-tailed
t, df	t=3.664 df=6
How big is the difference?	
Mean $\pm$ SEM of column A	1.284 $\pm$ 0.07234, n=4
Mean $\pm$ SEM of column D	1.922 $\pm$ 0.1584, n=4
Difference between means	0.6381 $\pm$ 0.1742
95% confidence interval	0.2119 to 1.064
R squared (eta squared)	0.6911
F test to compare variances	
F, DF _n , Df _d	4.797, 3, 3
P value	0.2303
P value summary	Ns
Significantly different (P < 0.05)?	No

Tabel 10 Perbandingan Kadar MDA Paru yang Diberi Ekstrak Daun *Strawberry* Normoksia dengan Hipoksia 1 Hari

T-Test	
Table Analyzed	Paru Diberi Ekstrak Daun Strawberry
Column B	Hipoksia 1 hari
vs.	vs.
Column A	Normoksia
Unpaired t test	
P value	0.0277
P value summary	*
Significantly different (P < 0.05)?	Yes
One- or two-tailed P value?	Two-tailed
t, df	t=2.889 df=6
How big is the difference?	
Mean ± SEM of column A	1.009 ± 0.03188, n=4
Mean ± SEM of column B	1.24 ± 0.07328, n=4
Difference between means	0.2309 ± 0.07991
95% confidence interval	0.03536 to 0.4264
R squared (eta squared)	0.5818
F test to compare variances	
F, DFn, Dfd	5.283, 3, 3
P value	0.2050
P value summary	Ns
Significantly different (P < 0.05)?	No

Tabel 11 Perbandingan Kadar MDA Paru yang Diberi Ekstrak Daun *Strawberry* Normoksia dengan Hipoksia 7 Hari

T-Test	
Table Analyzed	Paru Diberi Ekstrak Daun Strawberry
Column C	Hipoksia 7 hari
vs.	vs.
Column A	Normoksia
Unpaired t test	
P value	0.0385
P value summary	*
Significantly different (P < 0.05)?	Yes
One- or two-tailed P value?	Two-tailed
t, df	t=2.642 df=6
How big is the difference?	

Mean $\pm$ SEM of column A	1.009 $\pm$ 0.03188, n=4
Mean $\pm$ SEM of column C	1.347 $\pm$ 0.1239, n=4
Difference between means	0.338 $\pm$ 0.1279
95% confidence interval	0.02492 to 0.651
R squared (eta squared)	0.5377
F test to compare variances	
F, DFn, Dfd	15.1, 3, 3
P value	0.0516
P value summary	Ns
Significantly different (P < 0.05)?	No

Tabel 12 Perbandingan Kadar MDA Paru yang Diberi Ekstrak Daun *Strawberry* Normoksia dengan Hipoksia 14 Hari

T-Test	
Table Analyzed	Paru Diberi Ekstrak Daun Strawberry
Column D	Hipoksia 14 hari
vs.	vs.
Column A	Normoksia
Unpaired t test	
P value	0.0315
P value summary	*
Significantly different (P < 0.05)?	Yes
One- or two-tailed P value?	Two-tailed
t, df	t=2.791 df=6
How big is the difference?	
Mean $\pm$ SEM of column A	1.009 $\pm$ 0.03188, n=4
Mean $\pm$ SEM of column D	1.404 $\pm$ 0.1377, n=4
Difference between means	0.3946 $\pm$ 0.1414
95% confidence interval	0.0487 to 0.7406
R squared (eta squared)	0.565
F test to compare variances	
F, DFn, Dfd	18.66, 3, 3
P value	0.0383
P value summary	*
Significantly different (P < 0.05)?	Yes

Lampiran 7 Perbandingan Kadar MDA Darah dan Paru yang Tidak Diberi Dibandingkan dengan Diberi Ekstrak Daun *Strawberry*

Tabel 1 Perbandingan Kadar MDA Darah Normoksia Tidak Diberi Ekstrak Daun *Strawberry* dengan Normoksia Diberi Ekstrak Daun *Strawberry*

T-Test	
Table Analyzed	perbandingan darah
Column E	cekok Normoksia
vs.	vs.
Column A	tidak cekok Normoksia
Unpaired t test	
P value	0.0005
P value summary	***
Significantly different (P < 0.05)?	Yes
One- or two-tailed P value?	Two-tailed
t, df	t=6.796 df=6
How big is the difference?	
Mean ± SEM of column A	0.6048 ± 0.03693, n=4
Mean ± SEM of column E	0.2523 ± 0.03642, n=4
Difference between means	-0.3525 ± 0.05187
95% confidence interval	-0.4794 to -0.2256
R squared (eta squared)	0.885
F test to compare variances	
F, DFn, Dfd	1.028, 3, 3
P value	0.9824
P value summary	Ns
Significantly different (P < 0.05)?	No

Tabel 2 Perbandingan Kadar MDA Darah Hipoksia 1 Hari Tidak Diberi Ekstrak Daun *Strawberry* dengan Hipoksia 1 Hari Diberi Ekstrak Daun *Strawberry*

T-Test	
Table Analyzed	perbandingan darah
Column F	Hipoksia 1 hari
vs.	vs.
Column B	Hipoksia 1 hari
Unpaired t test	
P value	<0.0001
P value summary	****
Significantly different (P < 0.05)?	Yes
One- or two-tailed P value?	Two-tailed

t, df	t=13.47 df=6
How big is the difference?	
Mean $\pm$ SEM of column B	0.869 $\pm$ 0.01686, n=4
Mean $\pm$ SEM of column F	0.4615 $\pm$ 0.02512, n=4
Difference between means	-0.4075 $\pm$ 0.03025
95% confidence interval	-0.4815 to -0.3335
R squared (eta squared)	0.968
F test to compare variances	
F, DF _n , Df _d	2.22, 3, 3
P value	0.5293
P value summary	Ns
Significantly different (P < 0.05)?	No

Tabel 3 Perbandingan Kadar MDA Darah Hipoksia 7 Hari Tidak Diberi Ekstrak Daun *Strawberry* dengan Hipoksia 7 Hari Diberi Ekstrak Daun *Strawberry*

T-Test	
Table Analyzed	perbandingan darah
Column G	Hipoksia 7 hari
vs.	vs.
Column C	Hipoksia 7 hari
Unpaired t test	
P value	0.0002
P value summary	***
Significantly different (P < 0.05)?	Yes
One- or two-tailed P value?	Two-tailed
t, df	t=8.007 df=6
How big is the difference?	
Mean $\pm$ SEM of column C	1.134 $\pm$ 0.0315, n=4
Mean $\pm$ SEM of column G	0.826 $\pm$ 0.02213, n=4
Difference between means	-0.3083 $\pm$ 0.0385
95% confidence interval	-0.4024 to -0.2141
R squared (eta squared)	0.9144
F test to compare variances	
F, DF _n , Df _d	2.026, 3, 3
P value	0.5766
P value summary	Ns
Significantly different (P < 0.05)?	No

Tabel 4 Perbandingan Kadar MDA Darah Hipoksia 14 Hari Tidak Diberi Ekstrak Daun *Strawberry* dengan Hipoksia 14 Hari Diberi Ekstrak Daun *Strawberry*

T-Test	
Table Analyzed	perbandingan darah
Column H	Hipoksia 14 hari
vs.	vs.
Column D	Hipoksia 14 hari
Unpaired t test	
P value	<0.0001
P value summary	****
Significantly different (P < 0.05)?	Yes
One- or two-tailed P value?	Two-tailed
t, df	t=18.11 df=6
How big is the difference?	
Mean ± SEM of column D	1.5 ± 0.03095, n=4
Mean ± SEM of column H	0.932 ± 0.004983, n=4
Difference between means	-0.5678 ± 0.03135
95% confidence interval	-0.6445 to -0.491
R squared (eta squared)	0.982
F test to compare variances	
F, DFn, Dfd	38.57, 3, 3
P value	0.0135
P value summary	*
Significantly different (P < 0.05)?	Yes

Tabel 5 Perbandingan Kadar MDA Paru Normoksia Tidak Diberi Ekstrak Daun *Strawberry* dengan Normoksia Diberi Ekstrak Daun *Strawberry*

T-Test	
Table Analyzed	perbandingan paru
Column E	cekok Normoksia
vs.	vs.
Column A	tidak cekok Normoksia
Unpaired t test	
P value	0.0132
P value summary	*
Significantly different (P < 0.05)?	Yes
One- or two-tailed P value?	Two-tailed
t, df	t=3.478 df=6
How big is the difference?	

Mean $\pm$ SEM of column A	1.284 $\pm$ 0.07234, n=4
Mean $\pm$ SEM of column E	1.009 $\pm$ 0.03188, n=4
Difference between means	-0.275 $\pm$ 0.07905
95% confidence interval	-0.4684 to -0.08154
R squared (eta squared)	0.6685
F test to compare variances	
F, DF _n , Df _d	5.149, 3, 3
P value	0.2115
P value summary	Ns
Significantly different (P < 0.05)?	No

Tabel 6 Perbandingan Kadar MDA Paru Hipoksia 1 Hari Tidak Diberi Ekstrak Daun *Strawberry* dengan Hipoksia 1 Hari Diberi Ekstrak Daun *Strawberry*

T-Test	
Table Analyzed	perbandingan paru
Column F	Hipoksia 1 hari
vs.	vs.
Column B	Hipoksia 1 hari
Unpaired t test	
P value	0.0325
P value summary	*
Significantly different (P < 0.05)?	Yes
One- or two-tailed P value?	Two-tailed
t, df	t=2.769 df=6
How big is the difference?	
Mean $\pm$ SEM of column B	1.681 $\pm$ 0.1414, n=4
Mean $\pm$ SEM of column F	1.24 $\pm$ 0.07328, n=4
Difference between means	-0.4408 $\pm$ 0.1592
95% confidence interval	-0.8304 to -0.05122
R squared (eta squared)	0.5609
F test to compare variances	
F, DF _n , Df _d	3.721, 3, 3
P value	0.3091
P value summary	Ns
Significantly different (P < 0.05)?	No

Tabel 7 Perbandingan Kadar MDA Paru Hipoksia 7 Hari Tidak Diberi Ekstrak Daun *Strawberry* dengan Hipoksia 7 Hari Diberi Ekstrak Daun *Strawberry*

T-Test	
Table Analyzed	perbandingan paru
Column G	Hipoksia 7 hari
vs.	vs.
Column C	Hipoksia 7 hari
Unpaired t test	
P value	0.048
P value summary	
Significantly different (P < 0.05)?	Yes
One- or two-tailed P value?	Two-tailed
t, df	t=2.465 df=6
How big is the difference?	
Mean $\pm$ SEM of column C	1.794 $\pm$ 0.1325, n=4
Mean $\pm$ SEM of column G	1.347 $\pm$ 0.1239, n=4
Difference between means	-0.4471 $\pm$ 0.1814
95% confidence interval	-0.891 to -0.00325
R squared (eta squared)	0.5031
F test to compare variances	
F, DFn, Dfd	1.144, 3, 3
P value	0.9148
P value summary	Ns
Significantly different (P < 0.05)?	No

Tabel 8 Perbandingan Kadar MDA Paru Hipoksia 14 Hari Tidak Diberi Ekstrak Daun *Strawberry* dengan Hipoksia 14 Hari Diberi Ekstrak Daun *Strawberry*

T-Test	
Table Analyzed	perbandingan paru
Column H	Hipoksia 14 hari
vs.	vs.
Column D	Hipoksia 14 hari
Unpaired t test	
P value	0.0485
P value summary	*
Significantly different (P < 0.05)?	Yes
One- or two-tailed P value?	Two-tailed
t, df	t=2.47 df=6
How big is the difference?	

Mean $\pm$ SEM of column D	1.922 $\pm$ 0.1584, n=4
Mean $\pm$ SEM of column H	1.404 $\pm$ 0.1377, n=4
Difference between means	-0.5185 $\pm$ 0.2099
95% confidence interval	-1.032 to -0.004787
R squared (eta squared)	0.5041
F test to compare variances	
F, DF _n , DF _d	1.323, 3, 3
P value	0.8234
P value summary	Ns
Significantly different (P < 0.05)?	No

Lampiran 8 Uji Korelasi Kadar MDA Darah dan Paru yang Tidak Diberi dan Diberi Ekstrak Daun *Strawberry*

Tabel 1 Korelasi Kadar MDA Darah Tidak Diberi Ekstrak Daun *Strawberry* dengan Paru Tidak Diberi Ekstrak Daun *Strawberry*

Pearson R	
R	0.9619
95% confidence interval	0.01134 to 0.9992
R squared	0.9253
P value	
P (two-tailed)	0.0381
P value summary	*
Significant? (alpha = 0.05)	Yes

Tabel 2 Korelasi Kadar MDA Darah Diberi Ekstrak Daun *Strawberry* dengan Paru Diberi Ekstrak Daun *Strawberry*

Pearson R	
R	0.9559
95% confidence interval	-0.06371 to 0.9991
R squared	0.9138
P value	
P (two-tailed)	0.0441
P value summary	*
Significant? (alpha = 0.05)	Yes
Number of XY Pairs	4

Lampiran 9 Dokumentasi



Gambar 1 Proses Pengeringan Daun



Gambar 2 Proses Maserasi



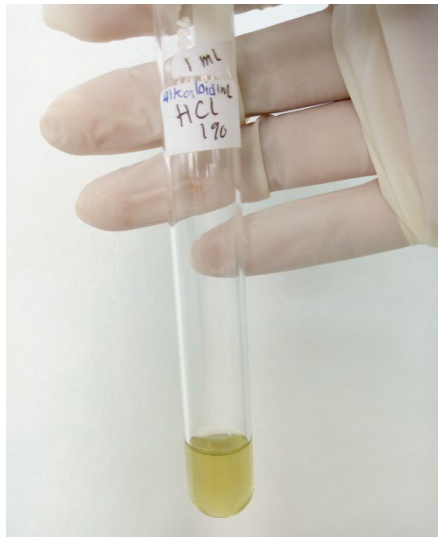
Gambar 3 Proses Evaporasi



Gambar 4 Hasil Uji Betasianin



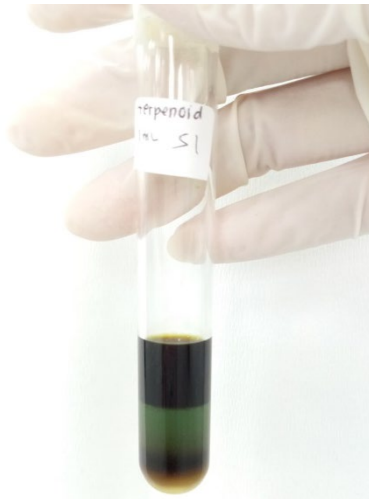
Gambar 5 Hasil Uji Flavonoid



Gambar 6 Hasil Uji Alkaloid



Gambar 7 Hasil Uji Fenolik



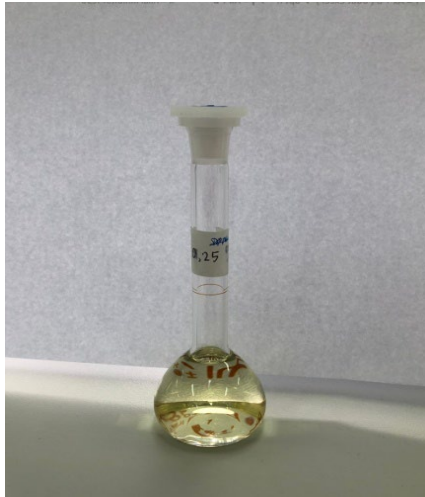
Gambar 8 Hasil Uji *Terpenoids*



Gambar 9 Hasil Uji Kardio Glikosida



Gambar 10 Hasil Uji *Steroids*



Gambar 11 Hasil Uji DPPH



Gambar 12 Hasil Uji Fenolik



Gambar 13 Hasil Uji Alkaloid Total



Gambar 14 Hasil Uji BSLT

DAFTAR RIWAYAT HIDUP

DATA PRIBADI

- | | |
|--------------------------|-----------------------------------|
| 1. Nama | : Olivia Margaretha |
| 2. NIM | : 405160165 |
| 3. Jenis kelamin | : Perempuan |
| 4. Tempat, Tanggal Lahir | : Semarang, 7 Oktober 1998 |
| 5. Agama | : Kristen |
| 6. Status | : Belum Menikah |
| 7. Pendidikan Terakhir | : SMA |
| 8. Alamat | : Jalan Seroja Barat 2A, Semarang |
| 9. Nomor Telepon | : 087832076186 |
| 10. Email | : oliviamargaretha98@gmail.com |

DATA PENDIDIKAN

- | | |
|--------------------|----------------------------|
| 1. 2003 – 2004 | : TK Kristen Tri Tunggal |
| 2. 2004 – 2010 | : SD Kristen Tri Tunggal |
| 3. 2010 – 2013 | : SMP Kristen Tri Tunggal |
| 4. 2013 – 2016 | : SMA Karangturi Semarang |
| 5. 2016 – sekarang | : Universitas Tarumanagara |

PENGALAMAN ORGANISASI

1. Anggota Paduan Suara Karangturi Semarang
2. Anggota Unit Medis Reaksi Cepat (UMRC) Universitas Tarumanagara 2017/2018
3. Bendahara Pendidikan Lanjutan XVI “3R : *Responsive, Responsible, Reliable*” UMRC 2018
4. Koor Divisi Medis Unit Medis Reaksi Cepat (UMRC) Universitas Tarumanagara 2018/2019