

**PENGARUH EKSTRAK DAUN *RUBUS IDAEUS*
L. TERHADAP AKTIVITAS *SUPEROXIDE*
DISMUTASE PADA JANTUNG DAN DARAH
TIKUS *SPRAGUE DAWLEY* YANG DIINDUKSI
HIPOKSIA**

SKRIPSI



disusun oleh:

WILLIAM WIJAYA HERLIN SAPUTRA

405160223

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS TARUMANAGARA
JAKARTA**

2019

**PENGARUH EKSTRAK DAUN *RUBUS IDAEUS*
L. TERHADAP AKTIVITAS *SUPEROXIDE*
DISMUTASE PADA JANTUNG DAN DARAH
TIKUS *SPRAGUE DAWLEY* YANG DIINDUKSI
HIPOKSIA**

SKRIPSI



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

WILLIAM WIJAYA HERLIN SAPUTRA

405160223

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS TARUMANAGARA
JAKARTA**

2019

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : William Wijaya Herlin Saputra

NIM : 405160223

dengan ini menyatakan, menjamin bahwa skripsi yang diserahkan kepada Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara dengan judul :

“Pengaruh Ekstrak Daun *Rubus idaeus L.* terhadap Aktivitas *Superoxide Dismutase* pada Jantung dan Darah Tikus *Sprague Dawley* yang Diinduksi Hipoksia”

adalah hasil karya sendiri dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar dan tidak melanggar ketentuan plagiarisme atau otoplagiarisme

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

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

Jakarta, 27 Juni 2019

William Wijaya Herlin Saputra
405160223

PENGESAHAN SKRIPSI

Skripsi yang diajukan oleh:

Nama : William Wijaya Herlin Saputra

NIM : 405160223

Program Studi : Ilmu Kedokteran

Judul Skripsi :

Pengaruh Ekstrak Daun *Rubus idaeus L.* terhadap Aktivitas *Superoxide Dismutase* pada Jantung dan Darah Tikus *Sprague Dawley* yang Diinduksi Hipoksia dinyatakan telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai prasyarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran (S.Ked) pada Program Studi Sarjana Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara

Pembimbing : dr. Shirley Gunawan, Sp.FK ()

DEWAN PENGUJI

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

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

Penguji 2 : dr. Shirley Gunawan, Sp.FK ()

Mengetahui,

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

Ditetapkan di

Jakarta, 27 Juni 2019

HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : William Wijaya Herlin Saputra

NIM : 405160223

Program Studi : Sarjana Kedokteran

Fakultas : Kedokteran

Karya Ilmiah : Skripsi

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

“Pengaruh Ekstrak Daun *Rubus idaeus L.* terhadap Aktivitas *Superoxide Dismutase* pada Jantung dan Darah Tikus *Sprague Dawley* yang Diinduksi Hipoksia”

dengan mencantumkan nama Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara.

Jakarta, 27 Juni 2019

Penulis,

William Wijaya Herlin Saputra

405160223

KATA PENGANTAR

Sejuta syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, atas penyertaan dan bantuannya, penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Pengaruh Ekstrak Daun *Rubus idaeus L.* terhadap Aktivitas *Superoxide Dismutase* pada Jantung dan Darah Tikus *Sprague Dawley* yang Diinduksi Hipoksia” dengan. Penulis ingin mengucapkan terimakasih sebesar-besarnya atas dukungan yang telah diberikan oleh:

1. Dr. dr. Meilani Kumala, MS., Sp.GK (K) selaku Dekan dan Ketua Unit Penelitian dan Publikasi Ilmiah Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara
2. dr. Shirley Gunawan, Sp. FK selaku Dosen Pembimbing Skripsi
3. Prof. Dr. dr. Frans Ferdinal, M.S., selaku Ketua Bagian Biokimia dan Biologi Molekuler Universitas Tarumanagara
4. dr. David Limanan, M. Biomed, Ibu Eny, Dr. dra. Helmi, MS selaku Staf Bagian Biokimia dan Biologi Molekuler Universitas Tarumanagara
5. dr. Twidy Tarcisia, M.Biomed selaku penasihat akademik
6. Orang tua dan keluarga semua yang telah memberi dukungan
7. Teman-teman yang saling mendukung dalam penelitian ini

Skripsi ini masih belum bisa disebut sempurna baik bahasa maupun isinya dan masih membutuhkan kritik maupun saran berbagai pihak. Semoga skripsi ini bermanfaat untuk masyarakat dan negara kita tercinta Indonesia. Terima Kasih.

Jakarta, 27 Juni 2019

Penulis,

William Wijaya Herlin Saputra
405160223

ABSTRACT

Free radical can cause oxidative stress, where there is imbalance between oxidants and antioxidants. Therefore, we need antioxidants from outside the body (exogenous) to help antioxidants in the body (endogenous) resolve oxidative stress. Exogenous antioxidants can come from the berry group, as example is Rubus idaeus L. or better known as raspberry. In this study a test was conducted to determine the content in raspberry leaves and its benefits in overcoming free radicals using superoxide dismutase enzyme as antioxidants marker. This research is an experimental study in vitro and in vivo. In vivo testing was carried out using Sprague Dawley rats which were hypoxized and divided into four subgroups (normoxia, hypoxia 1 day, 7 days, and 14 days) and tested the levels of superoxide dismutase on rat cardiac and blood, also performed anatomical pathology examination of rat heart. This research found that Rubus idaeus L. leaves contained secondary metabolites in the form of alkaloids, anthocyanins and betacyanins, cardio glycosides, coumarins, flavonoids, glycosides, phenols, quinones, steroids, terpenoids, and tannins. Testing of phenolic levels and alkaloids showed raspberries leaves containing 1137.40 µg/mL of phenolic and 72,245 µg/mL of alkaloids. Antioxidant capacity testing using DPPH obtained an IC50 value of 96.28 µg/mL while toxicity testing using the BSLT (Brine Shrimp Lethality Test) method gave LC50 = 147.91 µg/mL. Examination of both blood and tissue superoxide dismutase enzymes showed a decrease with the duration of hypoxia and higher concentration in the group given raspberry leaf extract. On examination of anatomic pathology, cardiac tissue that is not given an extract has abnormalities in the form of cardiomyopathy, whereas in the extract given there is no abnormality present.

Keywords :Rubus idaeus L., superoxide dismutase, hypoxia, antioxidants

ABSTRAK

Radikal bebas dapat menyebabkan keadaan stres oksidatif, dimana terjadi ketidakseimbangan antara zat oksidan dan antioksidan. Untuk itu diperlukan antioksidan dari luar tubuh (eksogen) untuk membantu antioksidan dalam tubuh (endogen) mengatasi kondisi stres oksidatif. Antioksidan eksogen dapat berasal dari kelompok *berry*, salah satunya adalah *Rubus idaeus L.* atau yang lebih dikenal dengan nama *raspberry*. Dalam penelitian ini dilakukan uji untuk mengetahui kandungan dalam daun *raspberry* serta manfaatnya dalam mengatasi radikal bebas dengan menggunakan enzim *superoxide dismutase* sebagai marker antioksidan. Penelitian ini adalah penelitian eksperimental *in vitro* dan *in vivo*. Pengujian *in vivo* dilakukan menggunakan tikus *Sprague Dawley* yang dihipoksia dan dibagi menjadi empat subkelompok (normoksia, hipoksia 1 hari, 7 hari, dan 14 hari) dan diuji kadar *superoxide dismutase*-nya pada jaringan dan darah tikus, serta dilakukan pemeriksaan patologi anatomi jantung tikus. Setelah dilakukan pemeriksaan didapatkan bahwa daun *raspberry* mengandung metabolit sekunder berupa *alkaloids*, *anthocyanin* dan *betacyanin*, *cardio glycosides*, *coumarins*, *flavonoids*, *glycosides*, *phenols*, *quinones*, *steroids*, *terpenoids*, dan *tannins*. Pada Pengujian kadar fenolik dan *alkaloids* menunjukkan daun *raspberry* mengandung fenolik sebanyak 1137.40 µg/mL dan *alkaloids* sebanyak 72.245 µg/mL. Pengujian kapasitas antioksidan menggunakan DPPH mendapatkan nilai IC₅₀ sebesar 96.28 µg/mL sedangkan pengujian toksisitas menggunakan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) memberikan LC₅₀ = 147.91 µg/mL. Pada pemeriksaan enzim *superoxide dismutase* baik pada darah maupun jaringan menunjukkan penurunan seiring lamanya hipoksia dan memberikan hasil yang lebih tinggi pada kelompok yang diberikan ekstrak daun *raspberry*. Pada pemeriksaan patologi anatomi, jaringan jantung yang tidak diberikan ekstrak mengalami kelainan berupa *cardiomyopathy*, sedangkan pada yang diberikan ekstrak tidak terdapat kelainan.

Kata kunci : *Rubus idaeus L.*, *superoxide dismutase*, hipoksia, antioksidan

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS.....	ii
PENGESAHAN SKRIPSI.....	iii
HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI.....	iv
KATA PENGANTAR.....	v
ABSTRACT	vi
ABSTRAK	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR SINGKATAN.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.2.1 Pernyataan Masalah.....	2
1.2.2 Pertanyaan Masalah.....	3
1.3 Hipotesis Penelitian	3
1.4 Tujuan Penelitian	3
1.4.1 Tujuan Umum.....	3
1.4.2 Tujuan Khusus.....	4
1.5 Manfaat Penelitian	4
1.5.1 Peneliti.....	4
1.5.2 Instansi.....	4
1.5.3 Masyarakat	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Radikal Bebas/ <i>Reactive Oxygen Species</i> (ROS).....	5
2.2 Oksigen	7
2.3 Hipoksia	7
2.4 Stres Oksidatif.....	8
2.5 Antioksidan	9
2.6 <i>Superoxide dismutase</i>	10
2.7 <i>Raspberry</i>	11
2.8 Metabolit Sekunder.....	13
2.9 Metode Ekstraksi	14
2.10 Pelarut Ekstraksi	16
2.11 Hewan Percobaan.....	16
2.12 Kerangka Teori	18
2.13 Kerangka Konsep.....	18
BAB 3 METODOLOGI PENELITIAN	19
3.1 Desain Penelitian	19
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	19
3.2.1 Tempat.....	19

3.2.2 Waktu	19
3.3 Sampel Penelitian.....	19
3.4 Perkiraan Besar Sampel	20
3.5 Cara Kerja/Prosedur Kerja Penelitian	20
3.6.1 Pengambilan Sampel	20
3.6.2 Identifikasi Tanaman.....	20
3.6.3 Pembuatan Ekstrak Daun <i>Raspberry (Rubus idaeus L.)</i>	20
3.6.4 Uji Fitokimia Kualitatif	21
3.6.5 Uji DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil) ekstrak daun <i>raspberry</i>	23
3.6.6 Pengukuran Kadar Fenol	24
3.6.7 Pengukuran Kadar <i>Alkaloids</i>	25
3.6.8 Pengukuran Toksisitas Ekstrak Daun <i>Raspberry (Rubus idaeus L.)</i> dengan Metode <i>Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)</i>	26
3.6.9 Pembagian Kelompok Tikus	26
3.6.10 Persiapan Hipoksia	27
3.6.11 Hipoksia.....	27
3.6.12 Pencekakan ekstrak daun <i>raspberry</i>	27
3.6.13 Pengambilan Darah dan Jantung Tikus	27
3.6.14 Pengolahan Organ dan Darah Tikus.....	28
3.6.15 Pengukuran Aktivitas <i>Superoxide Dismutase(SOD)</i>	28
3.6.16 Pembuatan Sediaan Histopatologi Jantung Tikus <i>Sprague Dawley</i>	30
3.7 Variabel Penelitian.....	31
3.7.1 Variabel Bebas	31
3.7.2 Variabel Tergantung.....	31
3.7.3 Variabel Antara.....	31
3.8 Definisi Operasional	31
3.8.1 Hipoksia.....	31
3.8.2 <i>Superoxide Dismutase (SOD)</i>	32
3.9 Instrumen Penelitian	32
3.9.1 Sampel Penelitian.....	32
3.9.2 Alat dan Bahan Penelitian	32
3.10Pengumpulan Data	33
3.11Analisis Data.....	33
3.12Keterangan Lolos Kaji Etik.....	33
3.13Alur Penelitian	34
3.14Jadwal Pelaksanaan.....	34
BAB 4 HASIL PENELITIAN	35
4.1 Uji Fitokimia Ekstrak Daun <i>Raspberry</i> dengan Metode Harbone	35
4.2 Kapasitas Antioksidan Total Ekstrak Daun <i>Raspberry</i> menggunakan DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil)	35
4.2.1 Panjang Gelombang Absorbansi Optimum DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil)	35
4.2.2 Uji Standar Pembanding Asam Askorbat.....	36
4.2.3 Uji Ekstrak Daun <i>Raspberry</i>	37
4.3 Pengukuran Kadar Fenolik Ekstrak Daun <i>Raspberry</i>	38
4.4 Pengukuran Kadar <i>Alkaloids</i> Ekstrak Daun <i>Raspberry</i>	39

4.5 Pengukuran Toksisitas Ekstrak Daun Raspberry Menggunakan Metode <i>Brine Shrimp Lethality Test</i> (BSLT)	41
4.6 Hasil Uji <i>Superoxide Dismutase</i> (SOD) pada Hewan Coba	42
4.6.1 Kurva Standard <i>Superoxide Dismutase</i> (SOD)	42
4.6.2 Aktivitas <i>Superoxide dismutase</i> pada Darah Tikus.....	43
4.6.3 Aktivitas <i>Superoxide dismutase</i> pada Jantung Tikus	46
4.6.4 Korelasi aktivitas <i>Superoxide dismutase</i> pada Darah dan Jantung Tikus .	48
4.6.5 Hasil Pemeriksaan Patologi Anatomi Jantung Tikus	50
BAB 5 PEMBAHASAN	51
5.1 Uji Fitokimia Kualitatif Ekstrak Daun <i>Raspberry</i>	51
5.2 Uji Antioksidan Ekstrak Daun <i>Raspberry</i>	51
5.3 Uji Fenolik Ekstrak Daun <i>Raspberry</i>	52
5.4 Uji Alkaloids Ekstrak Daun <i>Raspberry</i>	52
5.5 Uji Toksisitas dengan <i>Brine Shrimp Lethality Test</i> (BSLT) Ekstrak Daun <i>Raspberry</i>	53
5.6 Uji <i>Superoxide Dismutase</i> Ekstrak Daun <i>Raspberry</i> pada Darah dan Jaringan Tikus.....	53
5.7 Pemeriksaan Patologi Anatomi Jantung Tikus	55
5.8 Keterbatasan Penelitian.....	56
BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN	57
6.1 Kesimpulan	57
DAFTAR PUSTAKA.....	58
DAFTAR RIWAYAT HIDUP	106

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Sumber Radikal Bebas	6
Tabel 3.1 Prosedur Kerja Pengujian <i>Superoxide dismutase</i>	29
Tabel 4.1 Hasil Uji Fitokimia Kualitatif Ekstrak Daun <i>Raspberry</i>	34
Tabel 4.2 Hasil Hitung Persentase Inhibisi dan IC ₅₀ Berdasarkan Konsentrasi Asam Askorbat	36
Tabel 4.3 Hasil Hitung Persentase Inhibisi dan IC dari Ekstrak Daun <i>Raspberry</i>	37
Tabel 4.4 Hasil Absorbansi <i>Tannins</i>	38
Tabel 4.5 Kadar Fenolik Ekstrak Daun <i>Raspberry</i>	39
Tabel 4.6 Absorbansi <i>Berberine Chloride</i> Berdasarkan Konsentrasi	40
Tabel 4.7 Kadar <i>Alkaloids</i> Ekstrak Daun <i>Raspberry</i>	40
Tabel 4.8 LC ₅₀ dan Angka Mortalitas Berdasarkan Konsentrasi Ekstrak Buah <i>Raspberry</i>	41
Tabel 4.9 Hasil % Inhibisi, kadar, log kadar larutan standar <i>superoxide dismutase</i>	42
Tabel 4.10 Hasil kadar <i>superoxide dismutase</i> pada darah tikus kontrol dan uji.....	43
Tabel 4.11 Hasil kadar <i>superoxide dismutase</i> pada jaringan tikus kontrol dan uji.....	46

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Reaksi Reduksi Oksigen	5
Gambar 2.2 Reaksi Fenton	5
Gambar 2.3 Reaksi Haber-Weiss	6
Gambar 2.4 Buah dan daun <i>Raspberry</i>	12
Gambar 2.5 Kerangka Teori	18
Gambar 2.6 Kerangka Konsep	18
Gambar 3.1 Alur Penelitian	34
Gambar 4.1 Panjang Gelombang Optimum dan Absorbansi Tertinggi DPPH.....	36
Gambar 4.2 Kurva Persentase Inhibisi Asam Askorbat.....	37
Gambar 4.3 Kurva Persentase Inhibisi Ekstrak daun <i>Raspberry</i>	38
Gambar 4.4 Kurva Standar <i>Tannins</i>	39
Gambar 4.5 Kurva Standar <i>Berberine Chloride</i>	40
Gambar 4.6 <i>Mortality Rate Artemia salina</i> terhadap konsentrasi ekstrak daun <i>raspberry</i>	41
Gambar 4.7 Kurva Standar <i>Superoxide dismutase</i>	43
Gambar 4.8 Aktivitas <i>Superoxide dismutase</i> pada Darah Kontrol	44
Gambar 4.9 Aktivitas <i>Superoxide dismutase</i> pada Darah Uji	45
Gambar 4.10 Aktivitas <i>Superoxide dismutase</i> pada Darah Kontrol dan Uji	45
Gambar 4.11 Aktivitas <i>Superoxide dismutase</i> pada Jaringan Kontrol	47
Gambar 4.12 Aktivitas <i>Superoxide dismutase</i> pada Jaringan Uji ...	47
Gambar 4.13 Aktivitas <i>Superoxide dismutase</i> pada Jaringan Kontrol dan Uji ...	48
Gambar 4.14 Korelasi Aktivitas <i>Superoxide dismutase</i> pada Jantung dan Darah Kontrol	49
Gambar 4.15 Korelasi Aktivitas <i>Superoxide dismutase</i> pada Jantung dan Darah Uji	49
Gambar 4.16 Patologi Anatomi Jantung Tikus <i>Sprague Dawley</i> Kelompok Kontrol dan Uji	50

DAFTAR SINGKATAN

ARDS	<i>Acute Respiratory Distress Syndrome</i>
ATP	<i>Adenosine Triphosphat</i>
BCG	<i>Bromocresol Green</i>
BSLT	<i>Brine Shrimp Lethality Test</i>
CH ₃ COOH	<i>Asam Asetat</i>
CHD	<i>Chronic Heart Disease</i>
Co ₂ ⁺	<i>Karbon dioksida</i>
Cu ₂ ⁺	<i>Cupric</i>
Cu/ZnSOD	<i>Copper/Zinc Superoxide dismutase</i>
DPPH	<i>2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl</i>
DNA	<i>Deoxyribonucleid Acid</i>
EcSOD	<i>Extracellular Superoxide dismutase</i>
EDTA	<i>Ethylenediaminetetraacetid acid</i>
FADH ₂	<i>Flavin Adenine Dinucleotide</i>
Fe ₂ ⁺	<i>Ferro</i>
Fe ₃ ⁺	<i>Ferri</i>
Fe (II)	<i>Besi (II) Oksida</i>
FeCl ₃	<i>Besi (III) Chloride</i>
GSH	<i>Gluthatione</i>
Hb	<i>Hemoglobin</i>
HCL ₂ N	<i>Chlorimide</i>
HE	<i>Hematoxylin Eosin</i>
HIF	<i>Hypoxia Inducible Factor</i>
H ₂ O	<i>Air</i>
H ₂ O ₂	<i>Hidrogen Peroksida</i>
HREs	<i>Hypoxia Respont Element</i>
H ₂ -SO ₄	<i>Asam Sulfat</i>
IC ₅₀	<i>Inhibiting Concentration 50</i>
LC ₅₀	<i>Lethality Concentration 50</i>
LDL	<i>Low Density Lipoprotein</i>
MAE	<i>Microwave Assisted Extraction</i>
MDA	<i>Malondialdehyde</i>
MMP-2	<i>Metalloproteinase-2</i>
MnSOD	<i>Manganese Superoxide dismutase</i>
Na ₂ CO ₃	<i>Sodium Carbonate</i>
NaOH	<i>Natrium Hidroksida</i>
NADH	<i>Nicotinamide Adenine Dinucleotide</i>
NADPH	<i>Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate</i>
NF-κB	<i>Nuclear factor-kappa B</i>
NOX	<i>Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate Oxidase</i>
NAPQI	<i>N-asetil-p-benzo-kuinon imina</i>
O ⁻	<i>Superoxide</i>

O ₂	Oksigen
OH-	Hidroksil
PPAR- α	<i>Peroxisome proliferator-activated receptors alpha</i>
PBS	<i>Phosphate Buffer Saline</i>
PPREs	<i>PPAR-responsive elements</i>
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
SFE	<i>Supercritical Fluid Extraction</i>
SOD	<i>Superoxide dismutase</i>
UAE	<i>Ultrasound-assisted Extraction</i>
u-PA	<i>Urokinasetype plasminogen activator</i>
UV	<i>Ultraviolet</i>

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Kaji Etik	63
Lampiran 2 Identifikasi LIPI Tanaman	64
Lampiran 3 Hasil Uji In Vitro dan In Vivo	65
Lampiran 4 Dokumentasi dan Alat Penelitian	98