

Pengaruh Terapi Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* L.) terhadap Kadar Malondialdehida Serum Darah dan Ekspresi HSP70 pada Otak Tikus (*Rattus norvegicus*) Model *Traumatic Brain Injury*

SKRIPSI

**Oleh:
ASDIA NOSASE KAYEME
135090201111041**



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2017**

Pengaruh Terapi Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* L.) terhadap Kadar Malondialdehida Serum Darah dan Ekspresi HSP70 pada Otak Tikus (*Rattus norvegicus*) Model *Traumatic Brain Injury*

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains dalam Bidang Kimia

Oleh:
ASDIA NOSASE KAYEME
135090201111041



JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2017

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

Pengaruh Terapi Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* L.) terhadap Kadar Malondialdehida Serum Darah dan Ekspresi HSP70 pada Otak Tikus (*Rattus norvegicus*) Model *Traumatic Brain Injury*

Oleh:
ASDIA NOSASE KAYEME
135090201111041

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji
pada tanggal
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains dalam Bidang Kimia

Pembimbing I

Pembimbing II

Prof. Dr. Aulanni'am, drh. DES
NIP. 19600903 198802 2 001

Prof. Dr. Ir. Chanif Mahdi, MS
NIP. 19520412 198002 1 001

Mengetahui,
Ketua Jurusan Kimia
Fakultas MIPA Universitas Brawijaya

Masruri, S.Si., M.Si., Ph.D
NIP. 197310202002121001

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Asdia Nosase Kayeme

NIM : 135090201111041

Jurusan : Kimia

Penulis skripsi berjudul :

Pengaruh Terapi Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* L.) terhadap Kadar Malondialdehida Serum Darah dan Ekspresi HSP70 pada Otak Tikus (*Rattus norvegicus*) Model *Traumatic Brain Injury*

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Isi dari skripsi yang saya buat adalah benar-benar karya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang termaktub di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini.
2. Apabila dikemudian hari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya akan bersedia menanggung resiko yang akan saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, Agustus 2017
Yang menyatakan,

(Asdia Nosase Kayeme)
NIM. 135090201111041

Pengaruh Terapi Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* L.) terhadap Kadar Malondialdehida Serum Darah dan Ekspresi HSP70 pada Otak Tikus (*Rattus norvegicus*) Model *Traumatic Brain Injury*

ABSTRAK

Traumatic Brain Injury merupakan cedera yang terjadi karena adanya tekanan mekanik eksternal yang mengenai cranium dan komponen intrakranial, sehingga menimbulkan kerusakan sementara atau permanen pada otak. Pasca terjadinya cedera otak, terjadi over produksi radikal bebas yang menyebabkan stres oksidatif. Ekstrak kulit manggis mengandung xanthone yang bekerja sebagai antiinflamasi dan penangkal radikal bebas. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh terapi ekstrak kulit manggis terhadap penurunan kadar MDA serum darah dan ekspresi HSP70 pada otak tikus (*Rattus norvegicus*) model TBI. Penelitian ini menggunakan hewan coba tikus putih yang dikelompokkan menjadi 4 perlakuan yaitu kelompok negatif, kelompok positif (model TBI), kelompok TBI dengan terapi ekstrak kulit manggis dosis 0,5 mL/hari selama 5 hari dan kelompok TBI dengan terapi minocycline dosis 0,5 mL/hari selama 5 hari. Kadar MDA serum darah tikus diukur menggunakan uji Thiobarbituric Acid (TBA) sedangkan ekspresi HSP70 pada otak dianalisis secara deskriptif sel-sel yang terekspresi serta dihitung jumlah sel yang terekspresi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terapi ekstrak kulit manggis menurunkan kadar MDA serum darah sebesar 23,41%. Terapi ekstrak kulit manggis memperbaiki gambaran histopatologi dan menurunkan ekspresi HSP70 pada jaringan otak tikus sebesar 39,36%. Hasil analisa statistik uji kadar MDA dan ekspresi HSP70 menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan ($p < 0,01$). Penelitian ini dapat disimpulkan bahwa terapi ekstrak kulit manggis dapat digunakan untuk terapi pasca terjadinya cedera otak.

Kata kunci: *Garcinia mangostana* L., HSP70, malondialdehida, *traumatic brain injury*.

The Effect of Mangosteen Pericarp Extract (*Garcinia mangostana* L.) Therapy on Blood Serum Malondialdehyde Levels and HSP70 Expression of Brain on TBI rats (*Rattus norvegicus*)

ABSTRACT

Traumatic Brain Injury is an injury that occurs due to external mechanical forces that affect the cranium and intracranial components, causing temporary or permanent damage to the brain. After the occurrence of brain injury, there is over-production of free radicals that cause oxidative stress. Mangosteen pericarp extract contains xanthone that work as anti-inflammatory and free radical antidote. The purpose of this study was to determine the effect of mangosteen pericarp extract therapy on decreasing blood serum MDA level and HSP70 expression of brain on TBI rats. This study used white mouse experimental animals grouped into 4 groups of treatment: negative group, positive group (TBI model), TBI group with mangosteen pericarp extract therapy dose 0.5 mL / day for 5 days and TBI group with minocycline therapy dose 0, 5 mL / day for 5 days. Blood serum MDA level was measured using Thiobarbituric Acid (TBA) test while HSP70 expression in brain was analyzed descriptively by expressed cells and calculated number of expressed cells. The results showed that mangosteen pericarp extract therapy decreased blood serum MDA level up to 23.41%. Treatment of mangosteen pericarp extracts improved histopathology and reduced HSP70 expression of brain up to 39.36%. The result of statistical analysis of MDA and HSP70 expression showed that there were significantly differences between treatment groups ($p < 0.01$). This study can be concluded that mangosteen pericarp extract therapy can be used for therapy after the occurrence of brain injury.

Keywords: *Garcinia mangostana* L., HSP70, malondialdehyde, traumatic brain injury.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT Yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang atas segala limpahan rahmat, taufik, serta hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Pengaruh Terapi Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* L.) terhadap Kadar Malodialdehida Serum Darah dan Ekspresi HSP70 pada Otak Tikus (*Rattus norvegicus*) Model *Traumatic Brain Injury*”** ini sesuai dengan waktu yang telah direncanakan.

Penyusunan skripsi ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains di Jurusan Kimia Universitas Brawijaya. Dalam penulisannya, tentunya banyak pihak yang telah memberikan bantuan baik moril maupun materil. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan ucapan terimakasih kepada:

1. Prof. Dr. Aulanni'am, drh. DES selaku dosen pembimbing 1 dan Prof. Dr. Ir. Chanif Mahdi, MS selaku dosen pembimbing 2 yang berkenan meluangkan waktu, tenaga, pikiran, kesabaran serta senantiasa memberikan dorongan dan arahan dalam penyusunan skripsi ini.
2. Dra. Anna Roosdiana, M.App, Sc selaku dosen penasehat akademik serta dosen penguji yang berkenan memberi masukan, arahan dan motivasi dalam penyempurnaan skripsi ini.
3. Masruri, S. Si., M. Si., Ph.D selaku Ketua Jurusan Kimia yang selalu memberikan dukungan tiada henti demi kemajuan jurusan kimia tercinta.
4. Wibi Riawan, S.Si selaku dosen biokimia Fakultas Kedokteran UB atas bantuan selama melaksanakan penelitian.
5. Kepala Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran dan MIPA UB, laboran dan staf pegawai atas bantuan yang telah diberikan selama penulis melaksanakan penelitian.
6. Bapak dan Ibu serta adik tercinta yang senantiasa memberikan doa, motivasi, dukungan dan semangat.
7. Teman-teman seperjuangan tugas akhir di laboratorium biokimia MIPA UB yang selalu memberikan dukungan, semangat, inspirasi dan motivasi.

8. Tim penelitian “*Traumatic Brain Injury*” Dessy Puspitasari, Fadhilah Suci, Indra Novita, Nur Indah dan Vanila Damayanti atas kerjasamanya selama penelitian.
9. Semua sahabat angkatan 2013 Kimia UB yang telah memberikan bantuan, dorongan serta motivasi sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, maka saran dan kritik yang konstruktif dari semua pihak sangat diharapkan demi penyempurnaan selanjutnya. Akhir kata, semoga skripsi ini dapat memberi manfaat, menambah wawasan serta pengetahuan.

Malang, Agustus 2017

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
LEMBAR PERNYATAAN	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG	xiii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Batasan Masalah	4
1.4 Tujuan Penelitian	4
1.5 Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 <i>Traumatic Brain Injury</i> (TBI)	5
2.1.1 <i>Traumatic Brain Injury</i> (TBI) primer	6
2.1.2 <i>Traumatic Brain Injury</i> (TBI) sekunder	6
2.1.3 Patofisiologi <i>Traumatic Brain Injury</i> (TBI)	7
2.2 Hewan Coba Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>) Model TBI	8
2.3 Malondialdehida (MDA)	11
2.4 Apoptosis Akibat ROS pada TBI	13
2.5 <i>Heat Shock Protein 70</i> (HSP70)	13
2.6 Antioksidan	15
2.7 Manggis (<i>Garcinia mangostana</i> L.)	16
2.7.1 Gambaran umum	16
2.7.2 Kandungan kulit manggis	17
2.8 Minocycline	21
BAB III METODE PENELITIAN	23
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	23
3.2 Bahan dan Alat Penelitian	23
3.2.1 Bahan penelitian	23
3.2.2 Bahan kimia	23

3.2.3 Alat penelitian	24
3.3 Tahapan Penelitian	24
3.4 Prosedur Kerja	24
3.4.1 Persiapan hewan coba tikus (<i>Rattus norvegicus</i>)	24
3.4.2 Perlakuan hewan tikus (<i>Rattus norvegicus</i>) model TBI	26
3.4.3 Pemberian terapi ekstrak kulit manggis dan minocycline	27
3.4.4 Pengambilan otak dan serum darah tikus	27
3.4.5 Pembuatan slide preparat histopatologi jaringan otak	27
3.4.6 Pembuatan kurva standar MDA	28
3.4.7 Pengukuran kadar MDA serum darah	28
3.4.8 Pengukuran ekspresi HSP70 secara immunohistokimia	29
3.4.9 Analisis data	30
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	31
4.1 Pengaruh Terapi Ekstrak Kulit Manggis (<i>Garcinia mangostana</i> L.) terhadap Kadar Malondialdehida Serum Darah Tikus Model TBI	31
4.2 Pengaruh Terapi Ekstrak Kulit Manggis (<i>Garcinia mangostana</i> L.) terhadap Ekspresi HSP70 Tikus Model TBI	37
BAB V PENUTUP	43
5.1 Kesimpulan	43
5.2 Saran	43
DAFTAR PUSTAKA	44
LAMPIRAN	50

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>) strain wistar	10
Gambar 2.2	Proses peroksidasi lipid	12
Gambar 2.3	Struktur HSP70	15
Gambar 2.4	(A) Pohon manggis, (B) Buah manggis	17
Gambar 2.5	Senyawa xanthone	20
Gambar 2.6	Struktur tetracycline dan minocycline	21
Gambar 4.1	Reaksi antara malondialdehida dengan TBA	31
Gambar 4.2	Rata-rata kadar MDA serum darah tikus tiap kelompok perlakuan	33
Gambar 4.3	Mekanisme reaksi peroksidasi lipid	35
Gambar 4.4	Reaksi <i>scavenging</i> radikal bebas oleh flavonoid	36
Gambar 4.5	Gambaran histopatologi ekspresi HSP70 pada jaringan otak tikus	38
Gambar 4.6	Rata-rata ekspresi HSP70 otak tikus tiap kelompok perlakuan	40
Gambar G.1	Kurva penentuan panjang gelombang maksimum MDA	63
Gambar G.2	Kurva baku MDA pada λ_{maks} 530nm	64
Gambar K.1	Pemeliharaan tikus	74
Gambar K.2	Immunohistokimia	74
Gambar K.3	Pengambilan darah tikus	74
Gambar K.4	Pengambilan otak tikus	74

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Jenis xanthone yang ditemukan dalam kulit buah manggis	19
Tabel 3.1	Rancangan kelompok perlakuan tikus	25
Tabel 4.1	Kadar MDA serum darah tikus model TBI	32
Tabel 4.2	Ekspresi HSP70 otak tikus model TBI	39
Tabel G.1	Absorbansi larutan standar pada berbagai panjang gelombang	63
Tabel G.2	Absorbansi larutan standar MDA dengan λ_{maks} 530nm pada berbagai konsentrasi	64
Tabel G.3	Data absorbansi serum darah tikus pada setiap perlakuan	65
Tabel G.4	Data kadar MDA serum darah tikus	66
Tabel I.1	Data ekspresi HSP70 otak tikus	70

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran A	Sertifikat Laik Etik	50
Lampiran B	Determinasi Tanaman Manggis	51
Lampiran C	Surat Keterangan Ekstrak Tanaman Manggis	52
Lampiran D	Skema Penelitian	53
Lampiran E	Diagram Alir Penelitian	54
E.1	Perlakuan hewan tikus model TBI	54
E.2	Pengambilan otak tikus	55
E.3	Pengambilan serum darah tikus	55
E.4	Pembuatan slide preparat histopatologi jaringan otak	56
E.5	Pembuatan kurva standar MDA	57
E.6	Pengukuran kadar MDA serum darah	58
E.7	Pengukuran ekspresi HSP70 pada otak	59
Lampiran F	Pembuatan Larutan	60
F.1	Pembuatan larutan PBS pH 7,4	60
F.2	Pembuatan larutan TCA 10%	60
F.3	Pembuatan larutan Na-Thio 1%	60
F.4	Pembuatan larutan HCl 1N	60
F.5	Preparasi larutan stok MDA	61
Lampiran G	Data Kadar MDA Serum Darah Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>) Model TBI	63
G.1	Penentuan panjang gelombang maksimum	63
G.2	Penentuan kurva baku larutan MDA	64
G.3	Data absorbansi sampel serum darah tikus	65
G.4	Perhitungan kadar MDA serum darah tikus	65
Lampiran H	Uji Statistika Kadar MDA Serum Darah Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>) Model TBI	68
Lampiran I	Data Ekspresi HSP70 Otak Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>) Model TBI	70
Lampiran J	Uji Statistika Kadar Ekspresi HSP70 Otak Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>) Model TBI	72
Lampiran K	Dokumentasi Penelitian	74

DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG

Symbol/singkatan	Keterangan
ANOVA	Analysis of Varians
ATP	Adenosin Tri-Phosphate
CBF	Cerebral Blood Flow
CT Scan	Computed (Axial) Tomography
DAB	Diaminobenzidine tetrahydrochloride
DAI	Diffuse Axonal Injury
HSP	Heat Shock Protein
IHK	Immunohistokimia
kDa	kilo Dalton
KEP UB	Komisi Etik Penelitian Universitas Brawijaya
MDA	Malondialdehyde
MRI	Magnetic Resonance Imaging
PBS	Phosphate Buffer Saline
PUFA	Poly Unsaturated Fatty Acid
ROS	Reactive Oxygen Species
SA-HRP	Strep Avidin-Horse Radish Peroxidase
SOD	Superoksida Dismutase
TBA	Thiobarbituric Acid
TBI	Traumatic Brain Injury