

Pengaruh Terapi Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* L.) terhadap Aktivitas Protease Plasma Darah dan Ekspresi Interleukin-10 Otak Tikus (*Rattus norvegicus*) Model *Traumatic Brain Injury* (TBI)

SKRIPSI

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

oleh:

DESSY PUSPITA SARI
135090201111029



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

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

**Pengaruh Terapi Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia mangostana*
L.) terhadap Aktivitas Protease Plasma Darah dan Ekspresi
Interleukin-10 Otak Tikus (*Rattus norvegicus*) Model *Traumatic*
Brain Injury (TBI)**

oleh:
DESSY PUSPITA SARI
135090201111029

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. 196009031988022001

Prof. Dr. Ir. Chanif Mahdi, MS
NIP. 195204121980021001

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 : Dessy Puspita Sari

NIM : 135090201111029

Jurusan : Kimia

Penulis skripsi berjudul:

**Pengaruh Terapi Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia mangostana*
L.) terhadap Aktivitas Protease Plasma Darah dan Ekspresi
Interleukin-10 Otak Tikus (*Rattus norvegicus*) Model *Traumatic
Brain Injury* (TBI)**

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 segala resiko yang akan saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran

Malang, Agustus 2017

Yang menyatakan,

(Dessy Puspita Sari)
NIM. 135090201111029

Pengaruh Terapi Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia mangostana L.*) terhadap Aktivitas Protease Plasma Darah dan Ekspresi Interleukin-10 Otak Tikus (*Rattus norvegicus*) Model *Traumatic Brain Injury* (TBI)

ABSTRAK

Traumatic Brain Injury (TBI) merupakan perubahan dalam fungsi otak yang bermanifestasi sebagai kebingungan, tingkat kesadaran yang berubah, kejang, koma, dan defisit motoris neurologis diakibatkan tekanan benda tumpul atau penetrasi benda tajam masuk dalam kepala. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek terapi menggunakan ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana L.*) terhadap penurunan protease plasma darah dan peningkatan ekspresi IL-10 pada otak tikus putih (*Rattus norvegicus*) model TBI. Hewan coba yang dipakai yaitu tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan berumur 2-3 bulan yang dibagi menjadi empat kelompok perlakuan yakni kelompok tikus kontrol, kelompok tikus TBI, kelompok terapi ekstrak kulit manggis dan kelompok terapi minocycline. Aktivitas protease dihitung menggunakan metode spektrofotometri. Ekspresi IL-10 dianalisis dengan menggunakan metode imunohistokimia. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terapi ekstrak kulit manggis secara signifikan ($p < 0,01$) menurunkan aktifitas protease sebesar 37,86 %. Terapi ekstrak kulit manggis secara signifikan ($p < 0,01$) mampu meningkatkan ekspresi IL-10 sebesar 35,94 %. Dapat disimpulkan bahwa terapi ekstrak kulit manggis mampu menurunkan aktivitas protease dan meningkatkan ekspresi IL-10 pada tikus model TBI.

Kata Kunci : Traumatic Brain Injury (TBI), Ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana L.*), Aktivitas protease, IL-10

The Effects of Mangosteen Peel Extract Therapy (*Garcinia mangostana L.*) on Blood Plasma Protease Activity and Interleukin-10 Expression on Brain's Traumatic Brain Injury (TBI) Rats (*Rattus norvegicus*)

ABSTRACT

Traumatic Brain Injury (TBI) is a change in the function of the brain that manifests as a turnaround, the level of altered consciousness, convulsions, coma, and neurological motor deficit caused by blunt object pressure or penetration of sharp objects inside the head. The aim of this study was to investigate the effect of therapy using mangosteen skin extract (*Garcinia mangostana L.*) on the decrease of blood plasma protease and increased expression of IL-10 on brain's TBI rats (*Rattus norvegicus*). The experimental animals were male rats (*Rattus norvegicus*) aged 2-3 months divided into four treatment groups ie control group of rats, group of TBI rats, mangosteen peel extract therapy group and minocycline therapy group. Protease activity was calculated using spectrophotometric method. The expression of IL-10 was analyzed using immunohistochemical methods. The results showed that treatment of mangosteen peel extract significantly ($p < 0,01$) decreased the protease activity up to 37.86%. Treatment of mangosteen peel extract significantly ($p < 0,01$) was able to increase IL-10 expression up to 35.94%. It can be concluded that mangosteen peel extract therapy can decrease protease activity and increase IL-10 expression in TBI rats.

Keywords: Traumatic Brain Injury (TBI), Mangosteen Skin Extract (*Garcinia mangostana L.*), Protease Activity, IL-10.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga penyusunan skripsi yang berjudul **“Pengaruh Terapi Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* L.) terhadap Aktivitas Protease Plasma Darah dan Ekspresi Interleukin-10 Otak Tikus (*Rattus norvegicus*) Model *Traumatic Brain Injury* (TBI)** “dapat diselesaikan dengan baik. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk mendapatkan gelar sarjana sains dalam bidang Kimia Fakultas MIPA Universitas Brawijaya.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan yang diberikan oleh berbagai pihak, maka dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih banyak kepada :

1. Prof. Dr. Aulanni'am, drh. DES selaku dosen Pembimbing I dan Prof. Dr. Ir. Chanif Mahdi, MS selaku dosen Pembimbing II atas segala bimbingan, pengarahan, perhatian, dukungan, kesabaran dan doa yang diberikan kepada penulis selama penyusunan skripsi ini.
2. Dra. Anna Roosdiana, M.App.Sc selaku dosen Penguji I dan Ellya Indahyanti S.Si, M.eng atas kritik,saran dan pengarahan yang diberikan kepada penulis selama penyusunan skripsi ini.
3. Dr. Ani Mulyasuryani, MS selaku dosen penasehat akademik yang telah memberikan bimbingan selama kuliah
4. Masruri, S.Si.,M.Si.,Ph.D selaku Ketua Jurusan Kimia yang telah memberikan fasilitas kepada penulis untuk mengadakan penelitian di seluruh laboratorium kimia.
5. Bapak Wibi Riawan, S.Si., M.Biomed terimakasih atas bantuan, arahan, nasihat dan kesempatan dalam melaksanakan penelitian ini.
6. Kepala laboratorium Biokimia dan laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran, Kepala laboratorium BiokimiaFakultas Matematika

dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya, laboran, dan staff pengawas atas bantuan yang telah diberikan selama penulis melaksanakan penelitian ini.

7. Kedua orang tua serta keluarga tercinta yang selalu mengiringi penulis dengan doa, perhatian dan kasih sayang serta dukungan hingga terselesainya tugas akhir ini.
8. Teman-teman penelitian TBI : Asdia Nosase Kayeme, Indra Novita Wardani, Nur Indah Ratnasari, Vanilla Damayanti, Fadhilah Suci Safitri atas bantuan serta kerjasama yang baik selama penelitian ini.
9. Teman-teman Kimia B dan teman-teman Kimia angkatan 2013 yang telah memberikan semangat dan motivasi hingga skripsi ini terselesaikan.

Penulis menyadari bahwa tugas akhir ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu dengan kerendahan hati, penulis mengharap kritik dan saran guna perbaikan dan penyempurnaannya sehingga dapat bermanfaat bagi kita semua.

Malang, Agustus 2017

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI	ii
LEMBAR PERNYATAAN	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	viii
ii	
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
DAFTAR LAMBANG DAN SINGKATAN	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Batasan Masalah	3
1.4 Tujuan Penelitian	4
1.5 Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Traumatic Brain Injury (TBI)	5
2.1.1 Pengertian TBI	5
2.1.2 Mekanisme Terjadinya Cedera	5
2.2 Inflamasi	6
2.2.1 Inflamasi dan <i>Reactive Oxygen Species</i> (ROS)	6
2.2.2 Interleukin-10 terhadap Inflamasi	8
2.2.3 Aktivitas Protease terhadap Inflamasi	9
2.3 Manggis	10
2.3.1 Taksonomi Manggis	10
2.3.2 Kandungan Bahan Aktif Manggis	11
2.3.3 Peran Senyawa Xanthone dalam Kulit Buah Manggis sebagai Anti-inflamasi	11
2.4 Minocycline sebagai Anti-inflamasi	13

2.5 Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>)	14
2.6 Pengukuran aktivitas protease	15
2.7 Immunohistokimia	15
BAB III METODE PENELITIAN	17
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	17
3.2 Alat dan Bahan Penelitian	17
3.3 Tahapan Penelitian	18
3.3.1 Rancangan Penelitian	18
3.3.2 Variabel Penelitian	19
3.4 Prosedur Penelitian	19
3.4.1 Persiapan Hewan Coba	19
3.4.2 Persiapan Hewan Model TBI	20
3.4.3 Terapi TBI dengan Ekstrak kulit manggis dan minocycline	20
3.4.4 Pengambilan Organ Otak Tikus	21
3.4.5 Pengambilan Plasma Darah Tikus	21
3.4.6 Pengujian Aktivitas Protease	21
3.4.6.1 Isolasi Protein dari Plasma Darah	20
3.4.6.2 Pembuatan Kurva Baku Tirosin	22
3.4.6.3 Pengukuran Aktivitas Protease	22
3.4.7 Ekspresi IL-10 pada Otak dengan metode Immunohistokimia	23
3.5 Analisis Data	24
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	25
4.1 Aktivitas Protease Plasma Darah Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>) Model TBI	25
4.2 Ekspresi IL-10 pada Otak Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>) model TBI	27
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	32
5.1 Kesimpulan	32
5.2 Saran	32
DAFTAR PUSTAKA	33
LAMPIRAN	37

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Buah Manggis (<i>Garcinia mangostana L.</i>)	10
Gambar 2.2	Struktur Senyawa Xanthone	12
Gambar 2.3	Struktur α -Mangostin dan γ -mangostin	12
Gambar 2.4	Struktur Senyawa Minocycline	13
Gambar 2.5	Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	14
Gambar 4.1	Kurva Aktivitas Protease Plasma Darah Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	26
Gambar 4.2	Ekspresi IL-10 otak tikus dengan perbesaran 400 x.	28
Gambar 4.3	Kurva Ekspresi IL-10 pada Otak Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	29

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1	Rancangan kelompok penelitian	18
Tabel 4.1	Aktivitas Protease pada Plasma Darah Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>)	25
Tabel 4.2	Ekspresi IL-10 pada Otak Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>)	29
Tabel L.1	Absorbansi Larutan standar Tirosin 10 ppm	51
Tabel L.2	Absorbansi Larutan Standar Tirosin	52
Tabel M.1	Data Konsentrasi Tirosin	54
Tabel M.2	Data Aktivitas Protease Plasma Darah Tikus	54
Tabel N.1	Uji Normalitas Data Aktivitas Protease	56
Tabel N.2	Uji Homogenitas Data Aktivitas Protease	56
Tabel N.3	Uji Statistika Anova Data Aktivitas Protease	57
Tabel N.4	Uji Lanjutan BNJ Data Aktivitas Protease	57
Tabel O.1	Data Ekspresi IL-10 Pada Otak Tikus Putih	57
Tabel P.1	Uji Normalitas Data Ekspresi IL-10	58
Tabel P.2	Uji Homogenitas Data Ekspresi IL-10	59
Tabel P.3	Uji Statistika Anova Data Ekspresi IL-10	59
Tabel P.4	Uji BNJ Data Ekspresi IL-10	60

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran A	Laik Etik	37
Lampiran B	Determinasi Tanaman Manggis	38
Lampiran C	Pembuatan Ekstrak Kulit Manggis (<i>Garcinia ostna L.</i>)	39
Lampiran D	Skema Kerja Penelitian	40
Lampiran E	Persiapan Hewan Tikus Model TBI	41
Lampiran F	Pengambilan Otak Tikus	41
Lampiran G	Pengambilan Plasma Darah Tikus	42
Lampiran H	Pembuatan Slide Preparat Histopatologi Jaringan Otak	42
Lampiran I	Pengukuran IL-10 dengan metode Immuno-histokimia	43
Lampiran J	Langkah-langkah Pengujian Aktivitas Protease Plasma Darah	44
Lampiran J.1	Isolasi Protein dari Plasma Darah	44
Lampiran J.2	Pembuatan Larutan Blanko	45
Lampiran J.3	Penentuan Aktivitas Enzim Protease	46
Lampiran J.3.1	Pembuatan Larutan Stok Tirosin	46
Lampiran J.3.2	Pembuatan Larutan Tirosin Standar	46
Lampiran J.3.3	Penentuan panjang gelombang maksimum Tirosin	47
Lampiran J.3.4	Penentuan Kurva Baku Tirosin	47
Lampiran J.3.5	Pembuatan Larutan Kasein	47
Lampiran J.3.6	Pengukuran Aktivitas Protease	48
Lampiran K	Pembuatan Larutan	49
Lampiran K.1	Pembuatan Larutan PBS pH 7,4	49
Lampiran K.2	Pembuatan Larutan Etanol Bertingkat	49
Lampiran K.3	Pembuatan TCA 4 %	50

Lampiran K.4	Pembuatan Larutan Tirosin Standar	50
Lampiran K.5	Pembuatan Larutan NaH_2PO_4 0,2 M	50
Lampiran K.6	Pembuatan Larutan Na_2HPO_4 0,2 M	50
Lampiran K.7	Pembuatan Larutan Buffer Fosfat 0,2 M pH7	51
Lampiran K.8	Pembuatan Larutan Kasein 500 ppm	51
Lampiran K.9	Pembuatan Larutan Stok Tirosin 500 ppm	51
Lampiran L	Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Tirosin	51
Lampiran M	Perhitungan Aktivitas Protease	53
Lampiran N	Hasil Uji Statistika Aktivitas Protease	56
Lampiran O	Eksprsi IL-10 pada Otak Tikus	57
Lampiran P	Uji Statistika Ekspresi IL-10 Otak Tikus	58
Lampiran Q	Dokumentasi Penelitian	61

DAFTAR LAMBANG DAN SINGKATAN

APC	: Antigen-Presenting Cell
COX	: Siklooksigenase
DaB	: Diamino Benzidine
IFN- γ	: Interferon Gamma
IL-10	: Interleukin-10
MHC	: Major Histocompatibility Complex
NF κ B	: Nuclear Factor kappa B
NSAID	: Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drug
PBS	: Phospat Buffered Saline
PGE	: Prostaglandinekstradiol
ROS	: Reactive Oxygen Species
SA-HRP	: Strep Avidin Horse Radish Peroxidase
TBI	: Traumatic Brain Injury
TCA	: Trikloroasetat
TNF- α	: Tumor Necrosis Factor Alpha
UV	: Ultra Violet
WHO	: World health Organization