

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK R IMPANG
PLETEKAN (*Ruellia Tuberosa Linn*) TERHADAP
PENURUNAN KADAR GLUKOSA DARAH, AKTIVITAS
PROTEASE dan PROFIL PROTEIN dalam GINJAL
TIKUS yang TERPAPAR MLD-STZ**

SKRIPSI

Oleh :
EVA NUR LAILI OKTAVIANA
135090201111007



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

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK R IMPANG
PLETEKAN (*Ruellia Tuberosa Linn*) TERHADAP
PENURUNAN KADAR GLUKOSA DARAH, AKTIVITAS
PROTEASE dan PROFIL PROTEIN dalam GINJAL
TIKUS yang TERPAPAR MLD-STZ**

SKRIPSI

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

Oleh :

**EVA NUR LAILI OKTAVIANA
135090201111007**



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

LEMBAR PENGESAHAN TUGAS AKHIR

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK AKAR PLETEKAN (*Ruellia Tuberosa Linn*) TERHADAP PENURUNAN KADAR GLUKOSA DARAH, AKTIVITAS PROTEASE dan PROFIL PROTEIN dalam GINJAL TIKUS yang TERPAPAR MLD-STZ

Oleh:
Eva Nur Laili Oktaviana
135090201111007

Setelah di pertahankan di depan Majelis Penguji pada tanggal

.....

dan dinyatakan memenuhi syarat untruk memperoleh gelar Sarjana
Sains dalam bidang Kimia

Pembimbing I

Pembimbing II

Anna Safitri, S.Si., M.Sc., Ph.D
198008132005022008

Dr. Arie Srihardyastutie, S.Si.,M.Kes
197203262002122001

Mengetahui,
Ketua Jurusan Kimia
Fakultas MIPA Universitas
Brawijaya

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

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Eva Nur Laili Oktaviana
NIM : 135090201111007
Jurusan : Kimia
Penulisan Skripsi Berjudul : **Pengaruh Pemberian Ekstrak Akar Pletekan (*Ruellia Tuberosa Linn*) Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah, Aktivitas Protease Dan Profil Protein Dalam Ginjal Tikus Yang Terpapar MLD-STZ**

Dengan ini menyatakan bahwa :

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

Demikian pernyataan ini saya buat dengan segala kesadaran.

Malang,
Yang menyatakan,

Eva Nur Laili Oktaviana
NIM. 135090201111007

Pengaruh Pemberian Ekstrak Akar Pletekan (*Ruellia Tuberosa Linn*) Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah, Aktivitas Protease Dan Profil Protein Dalam Ginjal Tikus Yang Terpapar MLD-STZ

ABSTRAK

Diabetes Mellitus (DM) merupakan penyakit gangguan metabolismik yang ditandai dengan tingginya kadar glukosa darah (hiperglikemi). Salah satu tumbuhan yang dapat digunakan untuk pengobatan DM adalah tanaman pletekan (*Ruellia Tuberosa Linn*). Bagian yang digunakan dalam penelitian ini adalah akarnya, yang diduga mengandung senyawa antioksidan. Pada penelitian ini tikus putih (*Rattus novergicus*) dipapar dengan MLD-STZ agar menjadi tikus model DM. Tikus dibagi menjadi 3 keompok yakni kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif dan kelompok terapi dengan ekstrak n-heksan akar pletekan dengan dosis 250 mg/kg BB secara oral selama 21 hari. Penelitian difokuskan untuk mempelajari efek dari ekstrak akar pletekan pada kadar glukosa darah, aktivitas protease dan profil protein pada ginjal tikus diabetes. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak akar pletekan telah menurunkan kadar glukosa darah pada tikus diabetes 60,3 % dari $299,7 \pm 24,7$ mg/dL menjadi $199 \pm 26,6$ mg/dL. Selain itu, penurunan aktivitas protease yang signifikan juga ditunjukkan sebesar 43,28% dari $0,12 \pm 0,02$ $\mu\text{mol}/\text{mL}.\text{menit}$ menjadi $0,07 \pm 0,01$ $\mu\text{mol}/\text{mL}.\text{menit}$. Profil protein pada ginjal menunjukkan bahwa protein yang diduga merupakan *hemopexin* yang disarankan dengan berat molekul 52 kDa yang muncul pada tikus diabetes hilang dalam kelompok terapi. Hasil ini menunjukkan perbaikan pada profil protein pada ginjal tikus.

Kata kunci : Diabetes Mellitus (DM), *Ruellia Tuberosa Linn*, *Streptozotocin*, Aktivitas Protease, Profil Protein, Ginjal

The Effects of Root Extract of Pletekan (*Ruellia tuberosa Linn*) on Blood Glucose Levels, Protease Activities and Protein Profiles on The Rat's Kidney Induced with MLD-STZ

ABSTRACT

Diabetes Mellitus (DM) is a metabolic disorder indicated with high blood glucose level (hyperglycemic). One of the plants that can be used for the treatment of DM is pletekan (*Ruellia Tuberosa Linn*). The part of pletekan used, since it may contain antioxidant compounds. In the current work, rats (*Rattus novergicus*) was induced with MLD-STZ. Rats were divided into 3 control groups, that is a positive control group, a negative control group, and a therapeutic group. The last group was treated with a dose of 250 mg / kg body weights of pletekan root extracts orally for 21 consecutive days. The research focused on investigating the effects of root extracts of pletekan had lowered blood glucose levels on diabetic rats by 60.3 %, from 299.7 ± 24.7 mg/dL to 199 ± 26.6 mg/dL. Moreover, significant decreases in protease activities have also shown at 43.28%, from 0.13 ± 0.02 $\mu\text{mol}/\text{mL} \cdot \text{min}$ to 0.07 ± 0.01 $\mu\text{mol}/\text{mL} \cdot \text{min}$. The protein profiles on the kidneys showed that hemopexin with molecular weights of 52 kDa appeared in the diabetic rats have been missing in the therapy groups. These suggest repairmen in protein profiles on the rats' kidneys.

Keyword : Diabetes Mellitus (DM), *Ruellia Tuberosa Linn*, *Streptozotocin*, Protease's activity, the protein bands, Kidney

KATA PENGANTAR

Segala puji bagi Allah SWT yang selalu memberi rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini yang berjudul **“Pengaruh Pemberian Ekstrak Akar Pletekan (*Ruellia Tuberosa Linn*) Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah, Aktivitas Protease Dan Profil Protein Dalam Ginjal Tikus Yang Terpapar MLD-STZ”** sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains dalam bidang Kimia, di Fakultas MIPA Universitas Brwijaya. Shalawat serta salam semoga selalu terlimpahkan kepada Rasulullah SAW, beserta keluarga dan ahli batinnya.

Penulis ini menyampaikan terima kasih kepada berbagai pihak yang telah membantu dalam penyelesaian skripsi ini, diantaranya:

1. Dr. Arie Srihardyastutie, S.Si.,M.Kes dan Anna Safitri, S.Si., M.Sc., Ph.D selaku dosen pembimbing yang telah banyak waktu untuk memberikan bimbingan, arahan serta nasihat.
2. Drs. Budi Kamulyan M.Sc selaku dosen penasehat akademik yang telah memberikan arahan, dukungan serta nasehat selama masa studi.
3. Masruri, S.Si., M.Si., Ph.D selaku Ketua Jurusan Kimia serta Staf Pengajar dan segenap Karyawan Jurusan Kimia untuk semua perhatian yang telah diberikan pada penulis.
4. Ibu, Bapak, Kakak, dan seluruh keluarga yang selalu mendoakan dan memberikan dukungan, semangat dan kasih sayang kepada penulis.
5. Seluruh rekan Kimia angkatan 2013, khususnya Rizki Rachmad S.Si., Novia Eka S.Si., Yuniesni, Yulia, Febrian atas masukan yang bermanfaat dan dukungannya
6. Bapak Maryono dan rekan Laborarium Biokimia, antara lain Hilman Nurmahdi M.Si., Alfin NurLaily, Nurwichdatul Lilla, M.Asadullah S.Si., Syathir Aziz, Wahyu Gesit., Alfiyah atas segala dukungan dan do'a yang tulus dan ikhlas.

7. Seluruh sahabatku antara lain Annisa, Taramita, Larasati, Ellyza Aprillia Ratnaningsih S.Si., Erdiyan, Bayu Arsa, Jerry Fahmi S.Si, Gheavanda Putri S.Si, Putri, Paramita Dian S.Ikom dan Sarah atas motivasi dan doanya serta semua pihak yang telah membantu dalam mendukung kelancaran skripsi ini.

Akhir kata penulis berharap semoga skripsi tentang pengaruh pemberian ekstrak n-heksan akar pletekan ini dapat memberikan manfaat maupun inspirasi terhadap pembaca.

Malang, Juli 2017

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
DAFTAR ISTILAH dan SIMBOL	xiv

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	2
1.3 Batasan Masalah	2
1.4 Tujuan Penelitian	3
1.5 Manfaat Penelitian	3

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 <i>Ruellia Tuberosa Linn</i> sebagai Agen Terapi	4
2.2 Diabetes Mellitus	5
2.3 Mekanisme <i>Streptozotocin (STZ)</i>	6
2.4 Induksi Hewan Model Diabetes Mellitus	7
2.5 Pengaruh DM terhadap Aktivitas Protease Ginjal	8
2.6 Pengaruh DM terhadap Profil Protein Ginjal	9
2.7 Hipotesis Penelitian	10

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Alat dan Bahan Penelitian	11
3.1.1 Alat	11
3.1.2 Bahan	11

3.2 Tahapan Penelitian	12
3.3 Prosedur Penelitian	12
3.3.1 Persiapan Hewan Coba	12
3.3.2 Pembuatan Ekstrak n-heksana Akar <i>Ruellia Tuberosa L.</i>	12
3.3.3 Uji Fitokimia Ekstrak Akar <i>Ruellia Tuberosa Linn</i>	13
3.3.4 Pembuatan Larutan <i>Streptozotocin</i> dan Injeksi Intraperitoneal	13
3.3.5 Pengukuran Kadar Glukosa darah pada Hewan Coba	14
3.3.6 Terapi Ekstrak n-heksana Akar Pletekan pada Tikus DM	14
3.3.7 Pengambilan Organ	14
3.3.8 Isolasi Protein pada Ginjal	15
3.3.9 Penentuan Aktivitas Protease	15
3.3.9.1 Pembuatan Kurva Baku Tirosin	15
3.3.9.2 Pengukuran Aktivitas Enzim Protease	15
3.3.9.3 Analisis Profil Protein pada Ginjal dengan Metode SDS-PAGE	16
3.3.9.3.1 Persiapan Gel	17
3.3.9.3.2 Injeksi Sampel dan <i>Running</i>	17
3.3.9.3.3 Perlakuan setelah <i>Running</i>	17
3.3.9.3.4 Penentuan Berat Molekul	18
3.3.9.3.5 Analisis Data	18

BAB IV PEMBAHASAN

4.1 Pengaruh Pemberian Ekstrak n-heksana Akar Pletekan terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah pada Tikus Putih (<i>Rattus novergicus</i>) yang terpapar MLD-STZ	19
4.2 Pengaruh Pemberian Ekstrak n-heksana Akar Pletekan terhadap Aktivitas Protease pada Ginjal Tikus Putih (<i>Rattus novergicus</i>) yang terpapar MLD-STZ	22

4.3 Pengaruh Pemberian Ekstrak n-heksana Akar Pletekan terhadap Profil Pita Protein Hasil Isolasi dari Ginjal Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>) yang terpapar MLD-STZ	24
BAB V PENUTUP	
5.1 Kesimpulan	27
5.2 Saran	27
DAFTAR PUSTAKA	28

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Kadar Glukosa Darah (mg/dL) Tikus Kontrol Negatif, Positif dan Terapi 250 mg/kg BB	20
Tabel 4.2 Aktivitas Enzim Protease ($\mu\text{mol/mLmenit}$) Tikus Kontrol Negatif, Positif dan Terapi 150 mg/kg BB	22
Tabel 4.3 Perbedaan Berat Molekul (BM) Protein Ginjal Hasil Isolasi Ginjal Tikus Kontrol Negatif, Positif dan Terapi Akar Ekstrak n-heksan	25
Tabel F.1 Absorbansi Larutan Standar Tirosin 20 ppm	44
Tabel G.1 Absorbansi Larutan Standar Tirosin λ 275 nm	45
Tabel I.1 Nilai Rf dan Berat Molekul Protein Marker	45
Tabel I.2 Nilai Rf dan Berat Molekul Protein Kontrol Negatif	48
Tabel I.3 Nilai Rf dan Berat Molekul Protein Kontrol Positif	48
Tabel I.4 Nilai Rf dan Berat Molekul Protein Kelompok Terapi	49

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 <i>Ruellia Tuberosa</i> L.	4
Gambar 2.2 <i>Rattus novergicus</i>	8
Gambar 4.1 Mekanisme reaksi <i>scavenger</i> Triterpenoid	19
Gambar 4.3 Profil pita protein ginjal tikus (<i>Rattus novergicus</i>) control negative, positif dan tikus yang diterapi dengan ekstrak n-heksan akar pletekan dengan teknik SDS-PAGE	24
Gambar F.1 Panjang Gelombang Maksimum Tirosin	44
Gambar G.1 Kurva Baku tirosin	45
Gambar H.1 Hasil Uji Fitokimia memberikan hasil positif mengandung triterpenoid	46
Gambar I.1. Kurva Standar protein Marker	47

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran A. Persetujuan Laik Etik	33
Lampiran B. Surat Determinasi	34
Lampiran C. Pembuatan Larutan	35
Lampiran D. Skema Kerja Penelitian	38
Lampiran E. Uji SPSS	40
Lampiran F. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Tirosin	44
Lampiran G. Pembuatan Kurva Baku Tirosin	45
Lampiran H. Gambar Hasul Uji Fitokimia	56
Lampiran I. Perhitungan Penentuan Berat Molekul	47

DAFTAR ISTILAH, LAMBANG dan SINGKATAN

<u>Simbol/Singkatan</u>	<u>Keterangan</u>
ADP	<i>Adenosin Diphosphate</i>
ANOVA	<i>Analysis of Variance</i>
APS	<i>Ammonium persulphate</i>
BM	Berat Molekul
BNJ	Beda Nyata Jujur
DM	Diabetes mellitus
DNA	<i>Deoxyribonucleat Acid</i>
GLUT2	<i>Glucose Transporter 2</i>
kDa	kilo Dalton
LGB	<i>Lowe Gel Buffer</i>
MLD-STZ	<i>Multiple Low Dose-Streptozotocin</i>
Mr	Massa Relatif
Mg	miligram
NaCl-fis	<i>Natrium Chloride-fisiologis</i>
NADPH	<i>Nicotinamide Adenin Dinucleotide Phosphate-oxidase</i>
nm	nano meter
PBS	<i>Phosphate Buffer Saline</i>
PFA	<i>Paraformaldehyde</i>
pH	<i>Potential of Hydrogen</i>
PMSF	<i>Phenylmethane Sulfonyl Fluoride</i>
ppm	part per million
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
rpm	rotation pr minutes
RSB	<i>Reducing Sample Buffer</i>
STZ	<i>Streptozotocin</i>
SDS-PAGE	<i>Sodium Dedocyl Sulphate-Polyacrilamide Gel Electrophoresis</i>
TCA	<i>Tri-chloro Asetic Acid</i>
TEMED	<i>N, N, N', N'-tetramethyl ethylene diamine</i>
UGB	<i>Upper Gel Buffer</i>
β	<i>Beta</i>
λ	<i>Lamda</i>

μmol	Mikro mol
M	Molar
mM	Mili Molar
L	Liter
mL	Mili Liter
μL	Mikro Liter
gr	gram