

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK BIJI ANGGUR (*Vitis vinifera*) TERHADAP EKSPRESI INTERLEUKIN-1-BETA (IL-1 $\beta$ ) DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI TESTIS TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) STRAIN Wistar YANG DIBERIKAN PAPARAN ASAP ROKOK**

**SKRIPSI**

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh :

**DITYA SULANDA BAPRASTYO**  
**NIM. 105130101111059**



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN**  
**PROGRAM KEDOKTERAN HEWAN**  
**UNIVERSITAS BRAWIJAYA**  
**MALANG**  
**2014**

**LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK BIJI ANGGUR (*Vitis vinifera*) TERHADAP EKSPRESI INTERLEUKIN-1-BETA (IL-1 $\beta$ ) DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI TESTIS TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) STRAIN Wistar YANG DIBERIKAN PAPARAN ASAP ROKOK**

**Oleh:**

**DITYA SULANDA B**

**105130101111059**

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji  
pada tanggal .....  
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Kedokteran Hewan

Dosen Pembimbing I

Dosen Pembimbing II

**Dr. Agung Pramana W. M, MSi**  
NIP. 19650616 199111 1 0001

**drh. Dyah Ayu Oktavianie A.P., M. Biotech**  
NIP. 19841026 200812 2 004

Mengetahui,

Ketua Program Studi Kedokteran Hewan

Program Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya

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

**LEMBAR PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : DITYA SULANDA BAPRASTYO

NIM : 105130101111069

Program Studi : Pendidikan Dokter Hewan

Penulis Skripsi berjudul : Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Anggur (*Vitis Vinifera*) Terhadap Ekspresi Interleukin-1-Beta (IL-1 $\beta$ ) Dan Gambaran Histopatologi Testis Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Strain Wistar Yang Diberikan Paparan Asap Rokok

Dengan ini menyatakan bahwa :

1. Isi dari skripsi yang saya buat benar-benar karya saya 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,  
Yang menyatakan,

**(DITYA SULANDA BAPRASTYO)**  
**NIM. 105130101111059**

**Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Anggur (*Vitis vinifera*) Terhadap Ekspresi Interleukin-1-Beta (IL-1 $\beta$ ) Dan Gambaran Histopatologi Testis Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Strain Wistar Yang Diberikan Paparan Asap Rokok**

**ABSTRAK**

Radikal bebas yang dihasilkan oleh asap rokok telah diketahui dapat mengganggu fungsi organ reproduksi termasuk jaringan testis. Efek lokal maupun sistemik dari paparan asap rokok dapat dijelaskan melalui mekanisme stres oksidatif dan inflamasi. Biji anggur (*Vitis vinifera*) diketahui mengandung proantosianidin, flavonoid, katekin, dan epikatekin yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Penelitian bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak biji anggur (*Vitis vinifera*) terhadap ekspresi Interleukin-1-Beta (IL-1 $\beta$ ) dan gambaran histopatologi testis tikus yang diberi paparan asap rokok. Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap dengan 20 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar jantan umur 12 minggu dan BB 175-200 gram dibagi menjadi 5 kelompok: K1 (kelompok negatif), K2 (kelompok positif yang dipaparan asap rokok selama 14 hari pertama), P1 (kelompok perlakuan pasca pemaparan asap rokok yang diberikan ekstrak air biji anggur (*Vitis vinifera*) dosis 0,9 mg/200 gram BB tikus selama 14 hari), P2 (dosis 2,7/200 gram BB tikus), dan P3 (dosis 5,4/200 gram BB tikus). Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak biji anggur (*Vitis vinifera*) dapat menurunkan ekspresi IL-1 $\beta$  testis tikus pada kelompok terapi dibandingkan dengan kelompok kontrol positif. Penurunan ekspresi IL-1 $\beta$  yang paling rendah ditemukan pada kelompok P3 (dosis 5,4 mg/200 gram BB tikus) sebesar 48% dibandingkan dengan kelompok kontrol positif yaitu sebesar  $0.979 \pm 0.009$ . Pemberian ekstrak biji anggur (*Vitis vinifera*) dengan dosis 5,4 mg/200 gram BB tikus juga paling efektif dalam memperbaiki kerusakan sel sertoli, sel leydig dan diameter tubulus seminiferus yang ditandai dengan perkembangan sel spermatogenik pada jaringan testis tikus.

Kata kunci : *Vitis vinifera*, antioksidan, radikal bebas, sel Leydig, sel Sertoli, diameter Tubulus seminiferus, sel Spermatogenik, asap rokok, IL-1 $\beta$ .

**The Influence of Grape (*Vitis vinifera*) Seed Extract Treatment on The Expression of Interleukin-1-Beta (IL-1 $\beta$ ) and Testis Histopathology Appearance of Wistar strain Rat (*Rattus norvegicus*) Exposed by Cigarette Smoke**

**ABSTRACT**

Free radicals produced by cigarette smoke can disturb the function of reproductive organs, including testis. Local and systemic influences of cigarette smoke exposure may be through the occurrence of oxidative stress and inflammation. Grape (*Vitis vinifera*) seed contains of porantocyanidin, flavonoid, catechin, and epycathecin which have antioxidant activity. Research is aimed to understand the influence of treatment by grape (*Vitis vinifera*) seed extract on the expression of *Interleukin-1-Beta* (IL-1 $\beta$ ) and testis histopathology appearance of rat exposed by cigarette smoke. Research design is complete random planning. The object of research is 20 Wistar strain rat (*Rattus norvegicus*) with 12 weeks old and 175-200 grams body weight. Rat are assigned into 5 groups which are K1 (negative group), K2 (positive group exposed by cigarette smoke for first 14 days), P1 (treatment group which is after cigarette smoke exposure, given with the liquid extract of grape (*Vitis vinifera*) seed for 14 days at dose 0.9 mg/200 grams body weight), P2 (similar to P1 but at dose 2.7 mg/200 grams body weight), and P3 (similar to P1 but at dose 5.4/200 grams body weight). Result of research indicates that the treatment of grape (*Vitis vinifera*) seed extract can reduce the expression of IL-1 $\beta$  of rat testis in therapy group if compared to positive control group. The lowest reduction of IL-1 $\beta$  expression is found at P3 (at dose 5.4 mg/200 grams body weight) by 48 % if compared to positive control group which reaches  $0.979 \pm 0.009$ . Treating mouse with grape (*Vitis vinifera*) see extract at dose 5.4 mg/200 grams body weight is the most effective method to repair the damages on sertoli cells, leydig cells, and tubulus seminiferus diameter which is signed by the development of spermatogenic cells in rat testis.

**Keywords:** *Vitis vinifera*, antioxidant, free radicals, leydig cell, sertoli cell, tubulus seminiferus diameter, spermatogenic cells, cigarette smoke, IL-1 $\beta$

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga menyelesaikan proposal skripsi yang berjudul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Anggur (*Vitis Vinifera*) Terhadap Ekspresi Interleukin-1-Beta (IL-1 $\beta$ ) Dan Gambaran Histopatologi Testis Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Strain *Wistar* Yang Diberikan Paparan Asap Rokok”

Penyusun menyampaikan terima kasih sebesar-besarnya kepada seluruh pihak yang telah membantu membimbing dalam menyelesaikan skripsi ini, secara khusus penyusun menyampaikan terima kasih kepada:

1. Dr. Agung Pramana Warih Marhendra, MSi dan drh. Dyah Ayu Oktavianie A.P., M. Biotech selaku dosen pembimbing atas bimbingan, kesabaran, fasilitas dan waktu dalam penulisan proposal ini.
2. drh. Analis Wisnu Wardhana, M. Biomed dan drh. Handayu Untari selaku dosen penguji.
3. Dr. Agung Pramana Warih Marhendra, MSi selaku Ketua Program Kedokteran Hewan Brawijaya yang selalu memberikan dukungan tiada henti demi kemajuan PKH UB tercinta.
4. Keluarga penulis, Bapak dan Ibu tercinta yang senantiasa memberikan dorongan, semangat, dan doa yang tiada henti demi keberhasilan putra - putrinya.
5. Semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian penulisan ini yang tidak mungkin penulis sebutkan satu persatu.

Akhir kata, penulis berharap semoga Allah SWT membalas segala kebaikan yang telah diberikan dan Skripsi ini dapat memberikan manfaat dan menambah pengetahuan tidak hanya bagi penulis tetapi juga bagi pembaca.

Malang, 28 November 2014

Penulis

## DAFTAR ISI

## Halaman

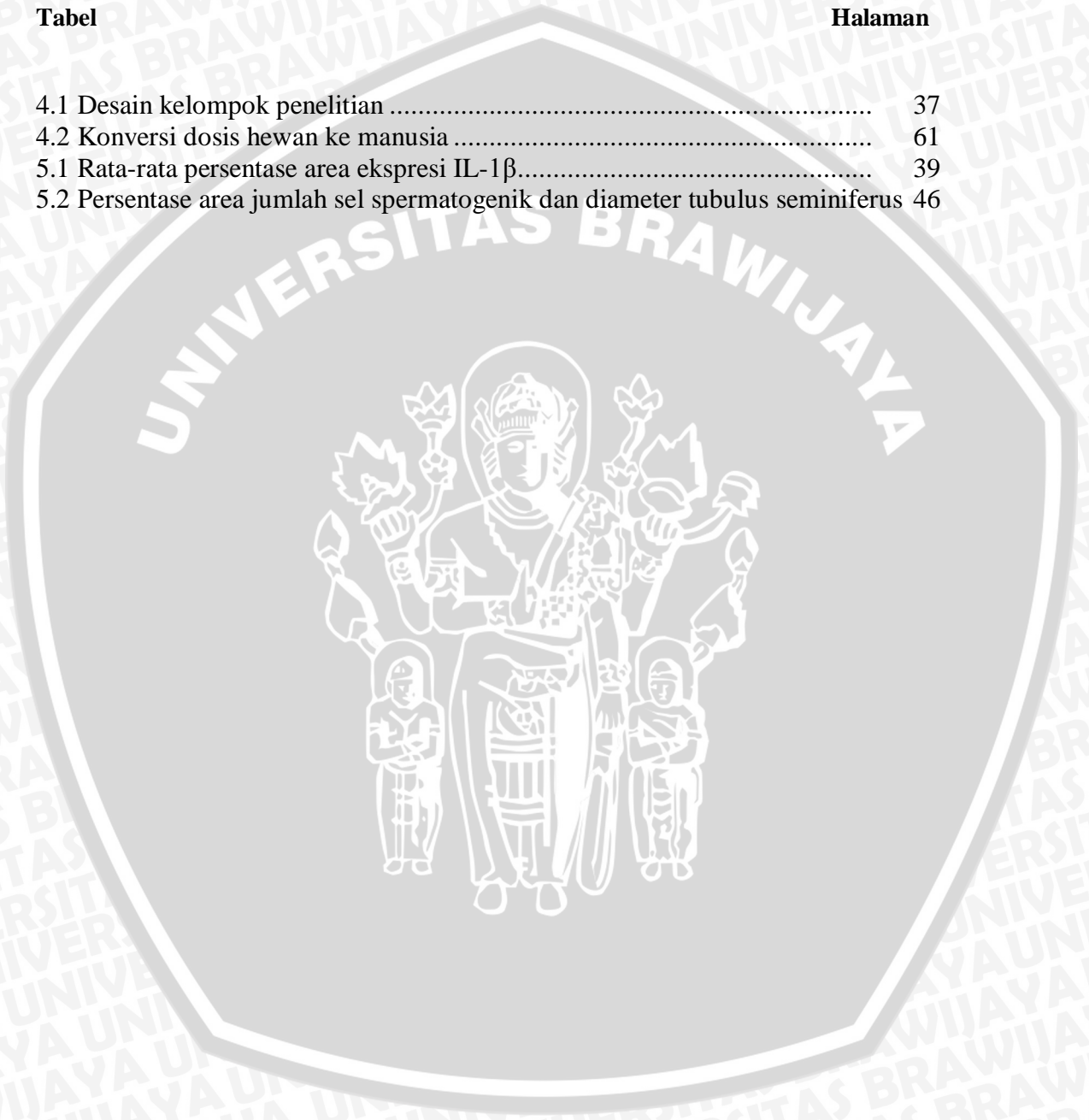
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	i
<b>LEMBAR PENGESAHAN</b> .....	ii
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	iii
<b>ABSTRAK</b> .....	iv
<b>ABSTRACT</b> .....	v
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	vi
<b>DAFTAR ISI</b> .....	vii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	ix
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	x
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xi
<b>DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG</b> .....	xii
<b>BAB 1 PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	3
1.3 Batasan Masalah .....	4
1.3 Tujuan Penelitian .....	5
1.4 Manfaat Penelitian .....	5
<b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	6
2.1 Rokok .....	6
2.2.1 Kandungan Rokok dan Asap Rokok .....	6
2.2.2 Radikal Bebas Asap Rokok .....	7
2.2 Patomekanisme Paparan Asap Rokok .....	8
2.3 Pengaruh Paparan Asap Rokok Terhadap Jaringan Testis .....	9
2.3.1 Spermatogenesis .....	11
2.4 Biji Anggur .....	14
2.4.1 Taksonomi dan Morfologi Anggur .....	14
2.4.2 Manfaat Biji Anggur .....	15
2.5 Antioksidan .....	17
2.5.1 Potensi Ekstrak Biji Anggur sebagai Antioksidan untuk Mengatasi Paparan Asap Rokok .....	18
2.6 Hewan Percobaan Tikus ( <i>Rattus norvegicus</i> ) .....	20
<b>BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS</b> .....	22
3.1 Kerangka Konsep .....	22
3.2 Hipotesis .....	23
<b>BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN</b> .....	26
4.1 Lokasi dan Waktu penelitian .....	26

4.2 Alat dan Bahan .....	26
4.3 Rancangan Penelitian.....	27
4.3.1 Pengulangan.....	27
4.3.2 Variabel Penelitian .....	28
4.4 Prosedur Penelitian .....	28
4.4.1 Persiapan Hewan Coba.....	28
4.4.2 Paparan Asap Rokok .....	29
4.4.3 Ekstraksi Biji Anggur .....	30
4.4.4 Perhitungan Dosis .....	30
4.4.5 Pemberian Terapi Ekstrak Biji Anggur .....	30
4.4.6 Pengambilan Sampel Jaringan Testis .....	31
4.4.7 Pembuatan Sediaan Histopatologi.....	31
4.4.8 Pewarnaan Hematoksilin-Eosin .....	32
4.4.9 Ekspresi Interleukin-1-beta (IL-1 $\beta$ ) dengan Pewarnaan Imunohistokimia .....	34
4.5 Analisa Data .....	35
<b>BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>36</b>
5.1 Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Anggur ( <i>Vitis vinifera</i> ) Terhadap Ekspresi IL-1 $\beta$ Tikus Putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ) Strain Wistar Yang Dipapar Asap Rokok.....	36
5.2 Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Anggur ( <i>Vitis vinifera</i> ) Terhadap Gambaran Histopatologi Testis Tikus Putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ) Strain Wistar Yang Dipapar Asap Rokok.....	42
<b>BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>49</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>50</b>
<b>LAMPIRAN-LAMPIRAN.....</b>	<b>59</b>



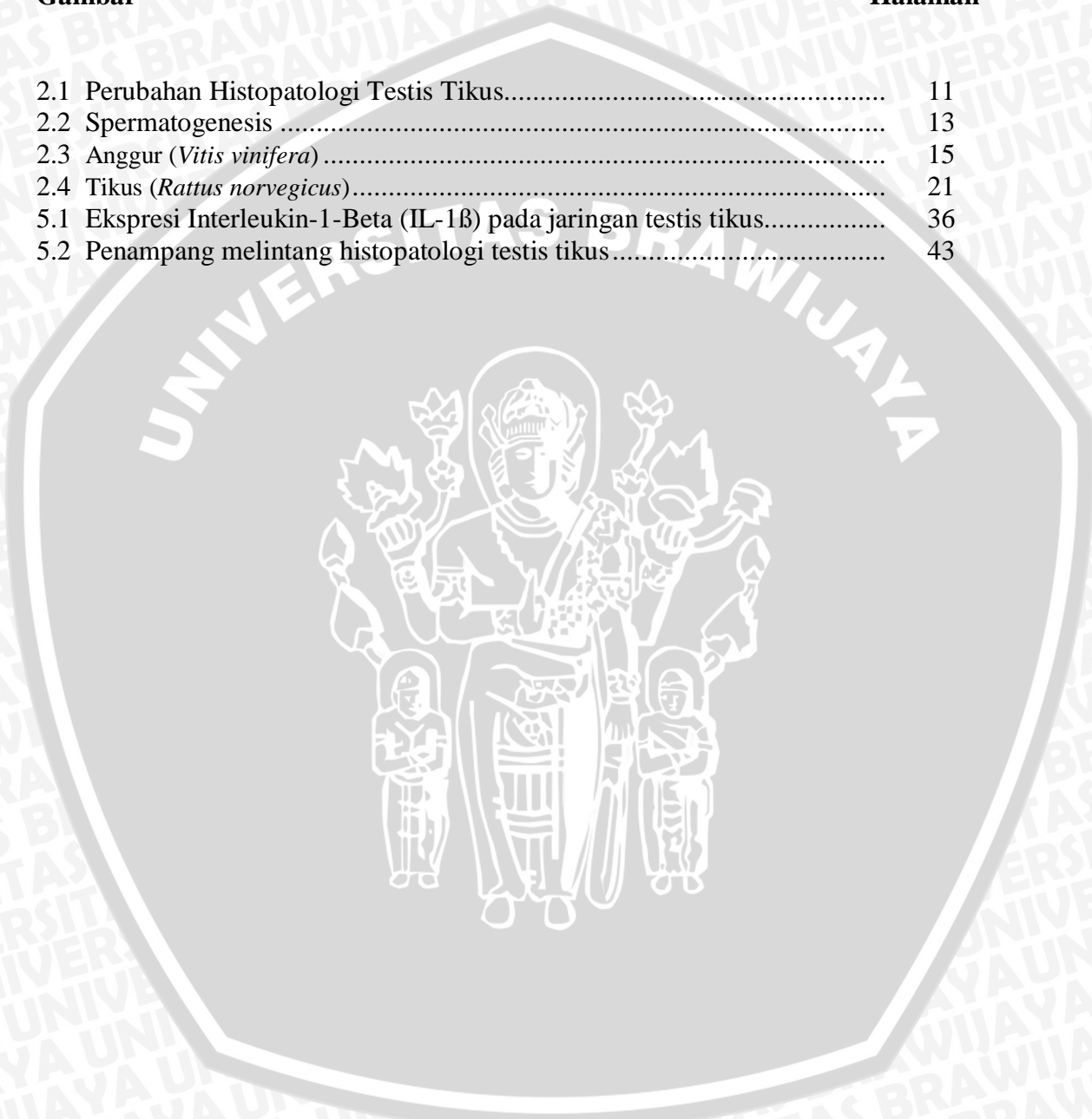
## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
4.1 Desain kelompok penelitian .....	37
4.2 Konversi dosis hewan ke manusia .....	61
5.1 Rata-rata persentase area ekspresi IL-1 $\beta$ .....	39
5.2 Persentase area jumlah sel spermatogenik dan diameter tubulus seminiferus	46



## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Perubahan Histopatologi Testis Tikus.....	11
2.2 Spermatogenesis .....	13
2.3 Anggur ( <i>Vitis vinifera</i> ) .....	15
2.4 Tikus ( <i>Rattus norvegicus</i> ).....	21
5.1 Ekspresi Interleukin-1-Beta (IL-1 $\beta$ ) pada jaringan testis tikus.....	36
5.2 Penampang melintang histopatologi testis tikus.....	43



DAFTAR LAMPIRAN

<b>Lampiran</b>	<b>Halaman</b>
Lampiran 1. Sertifikat Laik Etik.....	59
Lampiran 2. Kerangka Operasional.....	60
Lampiran 3. Perhitungan Dosis.....	61
Lampiran 4. Pembuatan larutan.....	63
Lampiran 5. Diagram Alir Penelitian.....	64
Lampiran 6. Sertifikat taksonomi <i>Vitis vinifera</i> .....	67
Lampiran 7. Hasil Analisa Ekspresi IL-1 $\beta$ .....	68
Lampiran 8. Hasil Analisa Jumlah Sel Spermatojenik.....	70
Lampiran 9. Hasil Analisa Diameter Tubulus Seminiferus.....	72



## DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG

<u>Simbol/Singkatan</u>	<u>Keterangan</u>
ANOVA	<i>Analysis of variance</i>
IL-1 $\beta$	<i>Interleukin-1<math>\beta</math></i>
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
TNF- $\alpha$	<i>Tumor necrosis factor alpha</i>
IL-8	<i>Interleukin-8</i>
IL-6	<i>Interleukin-6</i>
IL-10	<i>Interleukin-10</i>
BNJ	Beda nyata jujur
CO <sub>2</sub>	<i>Carbon dioxide</i>
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	<i>Hydrogen peroxide</i>
NO	<i>Nitrogen monoxide</i>
PAH	<i>Polynuclear Aromatic Hydrogen</i>
FSH	<i>Follicle stimulating hormone</i>
O <sub>2</sub> <sup>•-</sup>	<i>Superoxide anion</i>
OH <sup>•</sup>	<i>Hydroxyl radicals</i>
RO <sub>2</sub> <sup>•</sup>	<i>Peroxyl radicals</i>
DNA	<i>Deoxyribonucleic acid</i>
LH	<i>Luteinizing hormone</i>
EAFUS	<i>Everything Added to Food in the United States</i>
GRAS	<i>Generally Recognized as Safe</i>
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
DPPH	<i>Difenilpikril hidrazil</i>
HAT	<i>Hydrogen Atom Transfer</i>
ET	<i>Electron Transfer</i>
X*	Senyawa radikal bebas
AH	Senyawa antioksidan
XH	Senyawa produk atom stabil
H <sub>2</sub> O	Air
SOD	<i>Superoxide dismutase</i>
PMN	<i>Polymorfonuclear</i>
UPHP	Unit pelayanan hewan percobaan
RAL	Rancangan acak lengkap
AOAC	<i>Association of Analytical Communities</i>
HE	<i>Hematoxylin-Eosin</i>
IHK	Imunohistokimia
SA-HRP	<i>Strepta avidin-Horseradish Peroxidase</i>
DAB	<i>3,3-Diaminobenzidine tetrahydrochloride</i>
C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>7</sub>	Asam sitrat
C <sub>2</sub> H <sub>3</sub> Cl <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	<i>Chloral hydrate</i>