

**UJI POTENSI EKSTRAK KULIT BUAH METE (*Anacardium occidentale* L.)
SEBAGAI ANTIINFLAMASI PADA MODEL SEL VERO**

Disusun Oleh
Widie Kemala Hapsari
16/406861/PBI/01449

Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji
Pada tanggal 18 Desember 2018
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Susunan Dewan Penguji

Pembimbing Utama/Penguji I

Dr.biol.hom. Nastiti Wijayanti, S.Si., M.Si.

Tanda Tangan

Penguji II

Prof. Dra. Sukarti Moeljopawiro, M.App.Sc, Ph.D

Tanda Tangan

Penguji III

Dr. Bambang Retnoaji, M.Sc.

Tanda Tangan

Tesis ini telah diterima sebagai salah satu persyaratan
untuk memperoleh derajat *Master of Science*

Tanggal 26 DEC 2018



Dr. Budi Setiadi Daryono, M.Agr.Sc

Dekan/Penanggungjawab Program Studi Magister Biologi
Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada

PERNYATAAN BEBAS PLAGIASI

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Widie Kemala Hapsari

NIM : 16/406861/PBI/01449

Tahun terdaftar : 2017

Program Studi : Biologi

Fakultas/Sekolah : Biologi

Menyatakan bahwa dalam dokumen ilmiah Tesis ini tidak terdapat bagian dari karya ilmiah lain yang telah diajukan untuk memperoleh gelar akademik di suatu lembaga Pendidikan Tinggi, dan juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang/lembaga lain, kecuali yang secara tertulis disitasi dalam dokumen ini dan disebutkan sumbernya secara lengkap dalam daftar pustaka.

Dengan ini saya menyatakan dokumen ilmiah ini bebas dari unsur-unsur plagiasi dan apabila dokumen Tesis ini dikemudian hari terbukti merupakan plagiasi dari hasil karya penulis dan/atau dengan sengaja mengajukan karya atau pendapat yang merupakan hasil karya penulis lain, maka penulis bersedia menerima sanksi akademik dan/atau sanksi hukum yang berlaku.

Yogyakarta, 7 Desember 2018



Widie Kemala Hapsari
NIM. 16/406861/PBI/01449

PRAKATA

Alhamdulillahhirabbil'alamin, puji syukur penulis ucapkan kepada Allah SWT, atas berkat rahmat dan karuniaNya dapat menyelesaikan tesis yang berjudul "Uji Potensi Ekstrak Kulit Buah Mete (*Anacardium occidentale* L.) Sebagai Antiinflamasi Pada Model Sel Vero". Penyusunan tesis ini dilakukan untuk memenuhi persyaratan untuk memperoleh gelar *Master of Science* di Departemen Biologi Tropika Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada.

Dalam penyusunan tesis ini, penulis mendapatkan banyak bantuan dari berbagai pihak. Semoga Allah SWT membalas segala kebaikan yang telah diberikan. Selain itu, penulis dengan segala kerendahan hati menyampaikan ucapan terima kasih kepada pihak-pihak yang telah berperan dalam penyusunan tesis ini:

1. Dr. Budi Setiadi Daryono, M.Agr.Sc selaku Dekan Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada.
2. Dr. Diah Rachmawati, S.Si, M.Si selaku Ketua Program Studi Pascasarjana Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada.
3. Dr.biol.hom. Nastiti Wijayanti, S.Si, M.Si selaku Pembimbing/Penguji I yang telah memberikan waktu, semangat, motivasi, saran, bimbingan dan ilmu yang bermanfaat kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini.
4. Prof. Dra. Sukarti Moeljopawiro, M.App.Sc, Ph.D selaku Penguji II yang telah memberikan saran, motivasi dan ilmu yang bermanfaat kepada penulis.
5. Dr. Bambang Retnoaji, M.Sc selaku Penguji III yang telah memberikan saran, motivasi, dan ilmu yang bermanfaat kepada penulis.
6. Alhamra, SE (Papa) dan Dra. Sri Misnawati (Mama) yang telah memberikan doa, dukungan, motivasi, nasehat dan semangat kepada penulis sehingga penulis dapat melanjutkan pendidikan Master dan dapat menyelesaikan tesis ini. Chanie Prastanya, S.IP (Adik) yang telah memberikan doa dan semangat

kepada penulis. Ardiyas Robi Saputra, S.Pd yang telah memberikan doa, motivasi, semangat dan bantuan sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini.

7. Raudhah Hayatillah, S.Pd teman satu tim dalam menyelesaikan tesis ini, yang telah membantu dan memberikan dukungan kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan tesis ini
8. Kepala dan Laboran Laboratorium FALITMA Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada, Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) Universitas Gadjah Mada, Laboratorium Fisiologi Hewan Universitas Gadjah Mada, Laboratorium Terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada yang telah membantu, memberikan izin penggunaan tempat dan alat kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini.
9. Teman-teman Pascasarjana Biologi Angkatan 2016 Genap yang telah memberikan arahan dan motivasi kepada penulis.
10. Semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian tesis ini.

Dalam penyusunan tesis ini penulis menyadari bahwa masih terdapat banyak kekurangan dan kekeliruan. Oleh karena itu, kritik dan saran dari para pembaca sangat penulis harapkan. Semoga tesis ini dapat memberikan manfaat bagi para pembaca dan bagi perkembangan ilmu sains di masa depan khususnya di Biologi.

Yogyakarta, Desember 2018

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN BEBAS PLAGIASI	iii
PRAKATA	iv
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
DAFTAR SINGKATAN	xii
INTISARI	xiii
ABSTRACT	xiv
BAB I. PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang	1
B. Permasalahan	4
C. Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat Penelitian	5
E. Ruang Lingkup	5
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	
A. Jambu Mete (<i>Anacardium occidentale L.</i>)	6
1. Taksonomi dan Deskripsi Umum	6
2. Pemanfaatan Jambu Mete	7
B. Ekstrak Kulit Buah Mete	8
1. Ekstraksi	8
2. Maserasi	9
3. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	9
4. Spektrofotometri Uv-Vis	10
5. Kandungan Ekstrak Kulit Buah Mete	10
6. Ekstraksi Kulit Buah Mete	13
C. Antioksidan	14
D. Inflamasi	15
1. <i>Inducible Nitric Oxide Synthase</i> (iNOS)	17
2. <i>Nitric Oxide</i> (NO)	19
E. Kultur Sel	21

1. Sel Vero	22
2. Uji Sitotoksisitas.....	25
F. <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR)	26

BAB III. LANDASAN TEORI DAN HIPOTESIS

A. Landasan Teori	27
B. Hipotesis	29

BAB IV. METODE PENELITIAN

A. Bahan	31
B. Alat	32
C. Rancangan Penelitian	33
D. Prosedur Kerja	34
1. Ekstraksi Kulit Buah Mete	34
a. n-heksana	34
b. Etanol 70%	34
2. Uji Kandungan Senyawa Ekstrak Kulit Buah Mete	35
3. Pembuatan Media Kultur Sel.....	35
4. Uji Sitotoksisitas	35
a. Kultur Sel Vero	35
b. Panen Sel Vero.....	35
c. Subkultur Sel Vero.....	36
d. Uji Sitotoksisitas	37
5. Pemberian Perlakuan Pada Sel Vero yang Diinduksi Lipopolisakarida	37
6. Pengukuran Kadar <i>Nitric oxide</i>	38
a. Pembuatan standar NO.....	38
b. Pengukuran NO sampel	39
7. Uji <i>Thiobarbituric acid reactive substances</i> (TBARS)	39
a. Pembuatan Standar MDA	39
b. Pengukuran TBARS sampel	40
8. <i>Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction</i> (RT-PCR)	40
a. Isolasi RNA.....	40
b. Sintesis cDNA.....	41
c. Pembuatan Stok Primer.....	42
d. <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR)	43
e. Elektroforesis	44
E. Analisis Data.....	45

1. Analisis WST-1 <i>assay</i>	45
2. Analisis Data Pengukuran <i>Nitric oxide</i>	46
3. Analisis Data TBARS.....	46
4. Analisis Data RT-PCR.....	46
BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN	
A. Uji Kandungan Senyawa Ekstrak Kulit Buah Mete	47
B. Uji Sitotoksisitas Ekstrak Kulit Buah Mete Pada Sel Vero.....	50
C. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Buah Mete Pada Sel Vero	52
D. Ekstrak Kulit Buah Mete Menurunkan Konsentrasi <i>Nitric Oxide</i>	54
E. Deteksi Ekspresi iNOS dengan RT-PCR.....	58
BAB VI. SIMPULAN DAN SARAN	
A. Simpulan.....	66
B. Saran	66
RINGKASAN	68
SUMMARY	70
DAFTAR PUSTAKA	72
LAMPIRAN	85

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. <i>Anacardium occidenatel</i> L	7
2. Struktur Kimia	10
3. Induksi Pembentukan NO	19
4. Sel Vero	23
5. Diagram Alir Penelitian	33
6. Hasil Sitotoksisitas Ekstrak Kulit Buah Mete Pelarut Etanol dan n-heksana pada sel Vero	51
7. Konsentrasi MDA	53
8. Konsentrasi NO	55
9. Ekstrak Kulit Buah Mete Pelarut Etanol	58
10. Image J Ekstrak Kulit Buah Mete Pelarut Etanol	60
11. Ekstrak Kulit Buah Mete Pelarut n-heksana	61
12. Image J Ekstrak Kulit Buah Mete Pelarut n-heksana.....	62
13. Penghambatan Produksi iNOS	63

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Susunan <i>Sequence</i> Primer iNOS	42
2. Susunan <i>Sequence</i> Primer GAPDH	43
3. Komposisi Reaksi PCR	43
4. Hasil Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Ekstrak Kulit Buah Mete Pelarut Etanol dan n-heksana	47
5. Persentase Perubahan Konsentrasi MDA pada Pelakuan Setelah Induksi LPS	53
6. Persentase Perubahan Konsentrasi NO pada Pelakuan Setelah Induksi LPS	55

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Foto Perlakuan di 24-well plate.....	85
2. Hasil Pengukuran Konsentrasi RNA menggunakan Nanodrop	88
3. Hasil Densitometri Pita pada Elektroforegram iNOS dan GAPDH.....	89

DAFTAR SINGKATAN

DNA	: <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
HAT	: <i>Histon Acetyl Transferases</i>
IL	: <i>Interleukin</i>
iNOS	: <i>Inducible Nitric Oxide Synthase</i>
LPS	: <i>Lipopolisakarida</i>
MDA	: <i>Malondialdehyd</i>
NF-kB	: <i>Nuclear Factor-kB</i>
NO	: <i>Nitric Oxide</i>
NOS	: <i>Nitric Oxide Synthase</i>
RNA	: <i>Ribose Nucleic Acid</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
RT-PCR	: <i>Reverse Transcription- Polymerase Chain Reaction</i>
TBARS	: <i>Thiobarbituric Acid Reactive Substances</i>