

**TERAPI PREVENTIF EKSTRAK BUAH SEMANGKA
(*Citrullus lanatus*) TERHADAP KADAR *Malondialdehid* (MDA)
DAN AKTIVITAS *Superoxide Dismutase* (SOD) SERUM TIKUS
(*Rattus norvegicus*) YANG DIBERI PAPARAN ASAP OBAT
NYAMUK**

SKRIPSI

Oleh:
Miranti Verdiana Aizah
135130107111001



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

**TERAPI PREVENTIF EKSTRAK BUAH SEMANGKA
(*Citrullus lanatus*) TERHADAP KADAR *Malondialdehid* (MDA)
DAN AKTIVITAS *Superoxide Dismutase* (SOD) SERUM TIKUS
(*Rattus norvegicus*) YANG DIBERI PAPARAN ASAP OBAT
NYAMUK**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh:
Miranti Verdiana Aizah
135130107111001



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI**TERAPI PREVENTIF EKSTRAK BUAH SEMANGKA (*Citrullus lanatus*)
TERHADAP KADAR *Malondialdehid* (MDA) DAN AKTIVITAS *Superoxide
Dismutase* (SOD) SERUM TIKUS (*Rattus norvegicus*) YANG DIBERI
PAPARAN ASAP OBAT NYAMUK**

Oleh:

**Miranti Verdiana Aizah
NIM. 135130101111001**

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji
pada tanggal 7 Agustus 2018
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh
gelar Sarjana Kedokteran Hewan

Dosen Pembimbing I

Dosen Pembimbing II

Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES
NIP. 19600903 198802 2 001**drh. Ajeng Erika PH, M.Si**
NIK. 19890516 201504 2 001

Mengetahui,
Dekan Fakultas 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 : Miranti Verdiana Azizah

NIM : 135130107111001

Program Studi : Pendidikan Dokter Hewan

Penulis Skripsi berjudul:

Terapi Preventif Ekstrak Buah Semangka (*Citrullus lanatus*) terhadap Kadar *Malondialdehid* (MDA) dan Aktivitas *Superoxide Dismutase* (SOD) Serum Tikus (*Rattus norvegicus*) yang Diberikan Paparan Asap Obat Nyamuk

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Isi dari skripsi yang saya buat adalah 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, 7 Agustus 2018

Yang menyatakan,

(Miranti Verdiana Azizah)

NIM. 135130107111001

**TERAPI PREVENTIF EKSTRAK BUAH SEMANGKA (*Citrullus lanatus*)
TERHADAP KADAR *Malondialdehid* (MDA) DAN AKTIVITAS *Superoxide
Dismutase* (SOD) PADA SERUM TIKUS (*Rattus norvegicus*) YANG DIBERI
PAPARAN ASAP OBAT NYAMUK**

ABSTRAK

Penggunaan obat nyamuk bakar dapat mengemisikan partikel yang melebihi standar kualitas udara sehat yang beresiko terhadap penyakit pernafasan. *D-allethrin* dalam obat nyamuk merupakan radikal bebas yang akan menyebabkan gangguan pada sistem respirasi, seperti iritasi pada jaringan paru-paru, batuk, radang tenggorokan (*faringitis*), dan asma. Buah semangka (*Citrullus lanatus*) memiliki kandungan antioksidan berupa likopen yang tinggi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui terapi preventif ekstrak semangka (*Citrullus lanatus*) terhadap kadar MDA dan aktivitas SOD serum tikus (*Rattus norvegicus*) yang dipapar asap obat nyamuk. Penelitian ini menggunakan tikus (*Rattus norvegicus*) yang terbagi dari lima kelompok, yaitu kelompok K(-) yang tidak diberi perlakuan dan paparan, dan kelompok yang diberi paparan asap obat nyamuk Tigaroda[®] selama 4 jam/hari yang terdiri dari kelompok K(+), P1, P2, dan P3 selama 20 hari. Sebelum dipapar asap obat nyamuk tersebut, kelompok perlakuan P1, P2 dan P3 diberikan ekstrak semangka (*Citrullus lanatus*) secara berturut-turut sebanyak 25 mg/kg BB, 50 mg/kg BB, dan 100 mg/kg BB. Parameter yang diamati adalah kadar MDA menggunakan metode spektrofotometer dan aktivitas SOD menggunakan metode spektrofotometer. Analisa data kadar MDA dan aktivitas SOD dilakukan secara statistik kuantitatif dengan metode ANOVA dilanjutkan dengan BNJ ($\alpha=0,05$). Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian preventif ekstrak semangka (*Citrullus lanatus*) secara signifikan ($p<0,05$) mampu meningkatkan aktivitas SOD dan mencegah peningkatan kadar MDA. Dosis 100 mg/kgBB merupakan dosis preventif terbaik. Kesimpulan dari penelitian ini adalah ekstrak semangka (*Citrullus lanatus*) dapat digunakan sebagai preventif terhadap paparan asap obat nyamuk.

Kata kunci: Asap Obat Nyamuk, Semangka (*Citrullus lanatus*), MDA, SOD

**PREVENTIVE THERAPY OF WATERMELON (*Citrullus lanatus*)
EXTRACT TOWARD MALONDIALDEHID (MDA) AND SUPEROXIDE
DISMUTASE (SOD) ACTIVITY ON RATS (*Rattus norvegicus*) EXPOSED
BY MOSQUITO COILS SMOKE**

ABSTRACT

The used of mosquito coils can produce emission particles greater than the standard of healthy air quality that have risks causing both of acute and chronic respiration disease. *D-allothrin* containing in mosquito coils is a free radical which has potential causing respiratory disorders such as lung tissues irritation, cough, sore throat (pharyngitis) and asthma. Watermelon (*Citrullus lanatus*) contains high concentration of lycopene as antioxidant. The aims of this study is to analyze the preventive effects watermelon (*Citrullus lanatus*) extract toward MDA and SOD activity in rats (*Rattus Novergicus*) serum exposed to mosquito coils smoke. This study used mice (*Rattus norvegicus*), which were divided into five groups, the untreated and exposed group K (-), and the group exposed to Tigaroda® mosquito smoke for 4 hours / day consisting of K (+) groups , P1, P2, and P3 for 20 days. Prior to exposure to the smoke, the treatment groups P1, P2 and P3 were given watermelon extract (*Citrullus lanatus*) at 25 mg/kg BW, 50 mg/kg BW, and 100 mg/kg BW, respectively. The parameters observed were MDA content using spectrophotometer method and SOD activity using spectrophotometer method. The observed parameters are MDA and SOD activity using spectrophotometer method. Data of MDA and SOD activity were analyzed using quantitative statistic with ANOVA method followed by BNJ ($\alpha=0.05$). The results showed that the administration of preventive extract of watermelon (*Citrullus lanatus*) significantly ($p < 0.05$) was able to increase the activity of SOD and prevent the increase of MDA levels. The dose of 100 mg/kg body weight is the recommended preventive dose. The conclusion of this research is watermelon extract (*Citrullus lanatus*) can be used as preventive against exposed to mosquito coils smoke.

Key word: Mosquito Coils Smoke, Watermelon (*Citrullus lanatus*), MDA, SOD

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas berkat dan anugerah-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul

“Terapi Preventif Ekstrak Buah Semangka (*Citrullus lanatus*) terhadap Kadar *Malondialdehid* (MDA) dan Aktivitas *Superoxide Dismutase* (SOD) Serum Tikus (*Rattus norvegicus*) yang Diberikan Paparan Asap Obat Nyamuk”.

Penyusun menyampaikan terima kasih banyak kepada seluruh pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan proposal skripsi ini, secara khusus penyusun menyampaikan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES., dan drh. Ajeng Erika P.H., M.Si., yang telah menyempatkan dan menyisihkan waktu untuk membimbing penulis pada saat penulisan skripsi ini.
2. Drh. Dodik Prasetyo, M.Vet., dan drh. Rahadi Swastomo, M.Biomed., selaku dosen penguji skripsi atas segala kritik, saran, dan bimbingan dalam penulisan skripsi ini.
3. Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya (FKH UB)
4. Papa Hairul Fatah dan Mama Tutik Wahyuni yang telah memberikan segala dukungan serta doa, sehingga penulisan skripsi dapat berjalan dengan lancar.
5. Imam Malik Qhaznawi yang telah memberikan segala dukungan serta doa.
6. Teman-teman tim penelitian serta semua kolega di FKH UB dan saudara di Malang yang telah memberikan semangat dan bantuan.

Penulis sadar bahwa skripsi ini jauh dari sempurna. Penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat khususnya bagi penulis dan umumnya bagi pembaca, untuk itu saran yang membangun sangat penulis harapkan.

Malang, 7 Agustus 2018

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
LEMBAR PERNYATAAN	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG	xiii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Batasan Masalah	4
1.4 Tujuan Penelitian.....	5
1.5 Manfaat Penelitian.....	5
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1 Radikal Bebas	7
2.2 Obat Nyamuk.....	9
2.3 Antioksidan.....	11
2.4 Buah Semangka (<i>Citrullus lanatus</i>)	13
2.4.1 Morfologi Buah Semangka (<i>Citrullus lanatus</i>)	14
2.4.2 Kandungan Buah Semangka (<i>Citrullus lanatus</i>).....	15
2.5 <i>Malondialdehida</i> (MDA).....	17
2.6 <i>Superoxide Dismutase</i> (SOD).....	18
2.7 Tikus Putih (<i>Rattus novergicus</i>)	19
BAB 3. KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESA	
PENELITIAN	21
3.1 Kerangka Konsep	21
3.2 Hipotesa Penelitian.....	24
BAB 4. METODOLOGI PENELITIAN.....	25
4.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	25
4.2 Alat dan Bahan Penelitian	25

4.2.1	Alat Penelitian	25
4.2.2	Bahan Penelitian.....	25
4.3	Tahapan Penelitian.....	26
4.3.1	Sampel Penelitian.....	26
4.3.2	Rancangan Penelitian	26
4.3.3	Variabel Penelitian	28
4.4	Prosedur Kerja	28
4.4.1	Persiapan Hewan Coba	28
4.4.2	Pembuatan Ekstrak Buah Semangka (<i>Citrullus lanatus</i>)... ..	28
4.4.3	Penentuan Dosis Ekstrak Buah Semangka (<i>Citrullus lanatus</i>)	29
4.4.4	Penentuan Tata Laksana Paparan Asap Obat Nyamuk	30
4.4.5	Perlakuan Hewan Coba	31
4.4.6	Koleksi Serum Darah	31
4.4.7	Pengukuran Kadar <i>Malondialdehida</i> (MDA)	32
4.4.8	Pengukuran Aktivitas <i>Superoxide Dismutase</i> (SOD).....	33
4.5	Analisa Data	34
BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN		35
5.1	Pengaruh Pemberian Ekstrak Buah Semangka (<i>Citrullus lanatus</i>) terhadap Aktivitas <i>Superoxide Dismutase</i> (SOD) serum Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>) yang Diberi Paparan Asap Obat Nyamuk	35
5.2	Pengaruh Pemberian Ekstrak Buah Semangka (<i>Citrullus lanatus</i>) terhadap Kadar <i>Malondialdehida</i> (MDA) serum Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>) yang Diberi Paparan Asap Obat Nyamuk	39
BAB VI. PENUTUP		44
DAFTAR PUSTAKA		45

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
3.1 Rancangan Penelitian	27
5.1 Rata-Rata Aktivitas <i>Superoxide Dismutase</i> (SOD) Serum Tikus (<i>Rattus novergicus</i>).....	35
5.2 Rata-Rata Kadar <i>Malondialdehida</i> (MDA) Serum Tikus (<i>Rattus novergicus</i>).....	39



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Obat Nyamuk Bakar.....	9
2.2 Struktur Buah Semangka (<i>Citrullus lanatus</i>).....	15
2.3 Skema Pembentukan <i>Malondialdehida</i> (MDA)	18
2.4 Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>).....	20
3.1 Kerangka Konseptual	21



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1 Keterangan Kelaiakan Etik	49
2 Determinasi Buah Semangka (<i>Citrullus lanatus</i>)	50
3 Komposisi Pakan Standar AIN-93	51
4 Perhitungan Dosis Pemberian Ekstrak Buah Semangka (<i>Citrullus lanatus</i>).....	52
5 Kerangka Operasional.....	53
6 Skema Kerja.....	54
7 Data Aktivitas <i>Superoxide Dismutase</i> (SOD).....	57
8 Hasil Uji Statistika Aktivitas <i>Superoxide Dismutase</i> (SOD).....	58
9 Data Ekspresi Kadar <i>Malondialdehida</i> (MDA).....	60
10 Hasil Uji Statistika Kadar <i>Malondialdehida</i> (MDA).....	61
11 Dokumentasi	63

DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

%	: Persen
μl	: microliter
ANOVA	: <i>analysis of variance</i>
b/v	: berat per volume
BB	: Berat Badan
BNJ	: Beda Nyata Jujur
BSA	: <i>Bovine Serum Albumin</i>
C	: Celcius
$\text{C}_3\text{H}_4\text{O}_2$: Malondialdehid
Cat	: Katalase
COX	: <i>Cyclooxygenase</i>
DAB	: <i>Diamino Benzidine</i>
EDTA	: <i>ethylene diamine tetra acetic acid</i>
H_2O_2	: Hidrogen
H_2O_2	: Hidrogen Peroksida
HCl	: Hidro Klorida
mL	: Mililiter
mL/kgBB	: milliliter per kilo gram berat badan
NaCl	: Natrium klorida
Na-Thio	: Natrium Thiosulfat
nm	: nanometer
O_2	: Oksigen
O_2^-	: anion superoksida
O_2	: oksigen
PBS	: <i>Phosphate Buffered Saline</i>
PUFA	: <i>Poly-Unsaturated Fatty Acid</i>
PUFAs	: <i>polyunsaturated fatty acid</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
rpm	: <i>rotation per minutes</i>
SPSS	: <i>Statistical Package for the Social Sciences</i>
TCA	: <i>Trichloroacetic Acid</i>
$^\circ$: Derajat

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia adalah daerah beriklim tropis, menjadi tempat yang cocok untuk perkembangbiakan nyamuk yang dapat menimbulkan masalah kesehatan bagi masyarakat, sehingga mayoritas menggunakan obat nyamuk, meliputi obat anti nyamuk *liquid*, bakar atau *coil*, *aerosol* dan *vaporizer* (*mat*, *liquid* elektrik, *lotion*) (Putri, 2015). Penggunaan obat nyamuk bakar dapat mengemisikan partikel yang melebihi standar kualitas udara sehat yang beresiko terhadap penyakit pernafasan baik akut maupun kronis (Becker *et al.*, 2010). Proporsi dalam upaya pencegahan gigitan nyamuk di masyarakat dengan menggunakan obat nyamuk bakar (48,4%), penggunaan kelambu (25,9%), repelen (16,9%), insektisida (12,2%), dan kasa nyamuk (8,0%) (Hazel, 2013).

Obat nyamuk mempunyai bahan aktif bermacam-macam, yaitu *dichlorvos*, *propoxur*, *pyrethroid*, *diethyltoluamide*, *d-allethrin* dan *transflutrin*, serta bahan kombinasi (Intisari, 2007). *D-allethrin* masuk ke dalam tubuh secara inhalasi akan menyebabkan gangguan pada pernafasan seperti iritasi pada jaringan paru-paru, batuk, radang tenggorokan (faringitis) dan asma (Iswara, 2009; Wulan, 2010; Lasjuardi, 2016).

Paparan asap anti nyamuk merupakan salah satu faktor peningkatan kadar radikal bebas dalam tubuh. Radikal bebas tersebut dapat memicu kerusakan sel pada alat pernafasan, baik trakea dan pulmo. Paparan melalui pernafasan sangat berbahaya karena partikel-partikel bahan aktif dapat dengan cepat diserap oleh paru-paru menuju peredaran darah, sehingga dapat menyebabkan kerusakan serius

pada hidung, tenggorokan dan jaringan paru-paru apabila terhirup dengan jumlah yang cukup dan dalam waktu yang lama (Iswara, 2009). Gangguan pernafasan yang terjadi berupa iritasi atau peradangan pada faring (faringitis) dan penyempitan saluran pernafasan yang mengakibatkan sulit bernafas (asma) (Wulan, 2010; Lasjuardi, 2016).

Pemaparan asap obat nyamuk akan mengakibatkan peningkatan radikal bebas didalam tubuh, ditandai dengan peningkatan kadar Malondialdehida (MDA) yang merupakan salah satu biomarker terjadinya kerusakan sel (Putri, 2015). Menurunnya kadar MDA dapat dijadikan penanda terjadinya perbaikan sel. Selain itu tingginya jumlah radikal bebas mengakibatkan terjadinya penurunan aktivitas enzim antioksidan seperti enzim *Superoxide Dismutase* (SOD) yang berfungsi sebagai scavenger radikal bebas. Sehingga diperlukan antioksidan eksogenus dalam menyeimbangkan peningkatan radikal bebas didalam tubuh (Widyaningsih, 2015).

Asap obat nyamuk mengandung radikal bebas yang sangat tinggi, dalam satu hisapan diperkirakan sebanyak 10 molekul radikal bebas masuk ke dalam tubuh, sehingga dapat melemahkan enzim *Superoxide Dismutase* (SOD) yang merupakan antioksidan endogenus didalam tubuh . Radikal bebas yang berlebihan didalam tubuh dapat ditekan dengan senyawa antioksidan eksogenus, merupakan senyawa pemberi elektron (*electron donor*) atau reduktan yang memiliki berat molekul kecil dari luar tubuh, namun mampu menginaktivasi reaksi oksidasi yang berkembang dengan cara dengan cara mencegah terbentuk radikal (Karolin, 2017). Stres oksidatif yang meningkat dalam tubuh disebabkan oleh adanya

radikal bebas, maka akan meningkatkan terjadi peroksidasi lipid yang nanti akan mengalami perubahan bentuk menjadi *Malondialdehid* (MDA) (Suwandi, 2012).

Buah semangka (*Citrullus lanatus*) adalah salah satu buah yang kurang banyak dimanfaatkan dan ditanam di bagian hangat dunia (Dianing, 2014). Semangka merupakan salah satu tanaman penghasil buah yang banyak terdapat di Indonesia, buah semangka terdapat kandungan zat-zat berupa asam amino, sirulin, asam aminoasetat, asam malat, asam fosfat, arginine, betain, likopen, karoten, bromine, natrium, kalium, silvit, lisin, fruktosa, dekstrosa dan sukrosa yang sangat berguna bagi kesehatan tubuh manusia (Riasman, 2012). Kadar antioksidan yang tinggi pada semangka dapat diandalkan sebagai penetral radikal bebas dan mengurangi kerusakan sel dalam tubuh (Rochmatika, 2012). Kandungan flavonoid dalam buah semangka berupa likopen; merupakan pigmen karotenoid yang disintesis oleh tanaman dan mikroorganisme yang memberikan warna merah kekuningan pada buah dan sayuran (Dianing, 2014). Kemampuan likopen dalam mengendalikan radikal bebas 100 kali lebih efisien dari pada vitamin E atau 12.500 kali dari pada glutathion (Maulida, 2011). Hal tersebut menjadikan semangka berpotensi sebagai kandidat sumber antioksidan yang baik.

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui terapi preventif pemberian ekstrak buah semangka (*Citrullus lanatus*) terhadap kadar MDA dan aktivitas SOD pada serum tikus (*Rattus norvegicus*) yang dipapar asap obat nyamuk.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Apakah pemberian ekstrak buah semangka (*Citrullus lanatus*) secara preventif dapat mencegah peningkatan kadar MDA pada serum tikus (*Rattus norvegicus*) yang diberi asap paparan obat nyamuk?
2. Apakah pemberian ekstrak buah semangka (*Citrullus lanatus*) secara preventif dapat mencegah penurunan aktivitas SOD pada serum tikus (*Rattus norvegicus*) yang diberi paparan asap obat nyamuk?

1.3 Batasan Masalah

Beberapa batasan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Hewan coba yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan, strain *Wistar* umur 2 bulan dengan berat 150-200 gram yang diperoleh dari Unit Pengembangan Hewan Percobaan (UPHP) Universitas Gajah Mada Yogyakarta. Penggunaan tikus putih (*Rattus norvegicus*) sedang dalam proses persetujuan dari Komisi Etik Penelitian UB.
2. Buah semangka (*Citrullus lanatus*) yang digunakan adalah daging dan kulit putihnya dengan kualitas A (Berat \geq 4 kg). Ekstraksi daging dan kulit putih buah semangka (*Citrullus lanatus*) dilakukan dengan cara maserasi menggunakan etanol 96%, dilakukan di Unit Pelaksana Teknis Materia Medica, Batu.
3. Ekstrak buah semangka (*Citrullus lanatus*) secara preventif diberikan *per-oral* dengan sonde selama 20 hari (Muthia, 2017).

4. Dosis preventif ekstrak buah semangka (*Citrullus lanatus*) yang diberikan, yaitu 25 mg/kgBB/hari (P1), 50 mg/kgBB/hari (P2), dan 100 mg/kgBB/hari (P3) selama 20 hari (Muthia, 2017).
5. Pemaparan asap obat nyamuk dengan menggunakan obat nyamuk Tigaroda[®] selama 4 jam/hari selama 20 hari untuk perlakuan pemaparan akut pada setiap kelompok pelakuan 1, 2, 3, dan K Pemaparan dilakukan dalam kandang transparan berbahan plastik dengan ukuran panjang sebesar 30 cm, lebar sebesar 45 cm, dan tinggi sebesar 20 cm. Kapasitas kandang maksimal 4 ekor tikus (Putri, 2015; Arifin, 2014; Wahjuni, 2011).

1.4 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak buah semangka (*Citrullus lanatus*) secara preventif dalam mencegah peningkatan kadar MDA serum tikus (*Rattus norvegicus*) yang diberi paparan asap obat nyamuk.
2. Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak buah semangka (*Citrullus lanatus*) secara preventif dalam mencegah penurunan aktivitas SOD pada serum tikus (*Rattus norvegicus*) yang diberi paparan asap obat nyamuk.

1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi informasi dalam kajian ilmiah tentang manfaat dari ekstrak buah semangka (*Citrullus lanatus*) sebagai alternatif preventif gangguan pernafasan meliputi batuk, faringitis dan asma yang

disebabkan oleh paparan asap obat nyamuk yang mengandung bahan kimia yang berbahaya, baik pada manusia maupun hewan.



BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Radikal Bebas

Radikal bebas adalah atom, molekul atau senyawa yang dapat berdiri sendiri yang mempunyai elektron tidak berpasangan, oleh karena itu bersifat sangat reaktif dan tidak stabil. Elektron yang tidak berpasangan selalu berusaha untuk mencari pasangan baru, sehingga mudah bereaksi dengan zat lain (protein, lemak maupun DNA) dalam tubuh (Winarti, 2010). Radikal bebas dalam kadar normal dibutuhkan untuk perkembangan sel dan juga membantu sistem imun, sehingga pada pembakaran yang menghasilkan asap dapat menghasilkan radikal bebas berkali-kali lipat dibandingkan dengan radikal bebas pada metabolisme tubuh pada keadaan normal (Astuti, 2008). Jika radikal bebas tidak diinaktivasi, reaktivitasnya dapat merusak seluruh tipe makromolekul seluler dan asam nukleat (Dawn dkk., 2000). Secara alami dalam tubuh manusia telah memiliki mekanisme pertahanan terhadap radikal bebas, yaitu antioksidan endogen intrasel yang terdiri atas enzim-enzim yang disintesis oleh tubuh seperti *superoksida dismutase* (SOD), *katalase* dan *glutathion peroksidase* (Astuti, 2008).

Radikal bebas terpenting dalam tubuh adalah senyawa pengoksidasi turunan oksigen yang bersifat sangat reaktif yang terdiri atas kelompok radikal bebas dan kelompok nonradikal yang disebut ROS (reactive oxygen species), yang terdapat dalam bentuk singlet oxygen ($^1\text{O}_2^*$), anion superoksida (O_2^*), radikal hidroksil (OH^*), nitrogen oksida (NO^*), peroksinitrit (ONOO^-), asam hipoklorus (HOCl), hidrogen peroksida (H_2O_2), radikal alkoxy (LO^*), dan radikal peroksil (LO_2^*). Radikal bebas yang mengandung karbon (CCL_3^-) yang

berasal dari oksidasi radikal molekul organik. Radikal yang mengandung hidrogen hasil dari penyerangan atom H (H⁻). Bentuk lain adalah radikal yang mengandung sulfur yang diproduksi pada oksidasi 4-glutation menghasilkan radikal thiyl (R-S). Radikal yang mengandung nitrogen juga ditemukan, misalnya radikal fenoldiazine (Halliwell dan Whiteman, 2004).

Radikal bebas bersifat sangat reaktif sehingga dapat menimbulkan perubahan kimiawi dan merusak berbagai komponen sel hidup seperti protein, lipid dan nukleotida. Pada protein, radikal bebas dapat menyebabkan fragmentasi sehingga mempercepat terjadinya proteolisis, Pada lipid dapat menyebabkan reaksi peroksidasi yang akan mencetus proses otokatalik dan pada nukleotida dapat menyebabkan terjadinya perubahan struktur DNA dan RNA sehingga terjadi mutasi atau sitotoksitas. Kerusakan sel oleh radikal bebas didahului oleh kerusakan membran sel dengan proses sebagai berikut: 1) Terjadi ikatan kovalen antara radikal bebas dengan komponen membran, sehingga terjadi perubahan struktur dari fungsi reseptor; 2) Oksidasi gugus tiol pada komponen membran oleh radikal bebas yang menyebabkan proses transpor lintas membran terganggu; 3) Reaksi peroksidasi lipid dan kolesterol membran yang mengandung asam lemak tidak jenuh majemuk (PUFA). Hasil peroksidasi lipid membran oleh radikal bebas berpengaruh langsung terhadap kerusakan membran sel antara lain struktur dan fungsi dalam keadaan yang lebih ekstrim yang akhirnya akan menyebabkan kematian sel (Yuni, 2009).

2.2 Obat Nyamuk

Iklm tropis di Indonesia menyebabkan suburnya perkembangbiakan nyamuk sehingga menyebabkan Indonesia menjadi salah satu pasar potensial dalam memasarkan produk pembunuh nyamuk atau obat nyamuk, khususnya obat nyamuk bakar karena hampir setiap rumah tangga memanfaatkan obat nyamuk untuk mengatasi gangguan nyamuk dengan pemakaian terbanyak terutama pada musim pancaroba, yang di tengarai banyak berkembang nyamuk (Wahjuni, 2011). Obat nyamuk memiliki berbagai jenis, diantaranya obat ati nyamuk *liquid*, bakar atau *coil*, *aerosol* dan *vaporizer* (*mat*, *liquid* elektrik, *lotion*), setiap jenis obat nyamuk tersebut terkandung bahan aktif yang berbeda-beda tergantung merk dan jenisnya (Putri, 2015). Penggunaan obat nyamuk bakar (**Gambar 2.1**) dapat menghasilkan asap yang mudah dihirup oleh pernafasan berupa polutan yang dapat melebihi dari kualitas udara sehat yang berbahaya bagi kesehatan baik akut maupun kronis (Becker *et al.*, 2010).



Gambar 2.1 Obat Nyamuk Bakar (Nurul, 2014)

Obat nyamuk merupakan salah satu jenis pestisida pembunuh serangga (insektisida). Salah satu bahan aktif yang terkandung dalam obat nyamuk adalah *d-allethrin*. Pemberian formulasi insektisida yang mengandung bahan aktif *matofluthrin*, *transfluthrin*, *d-phenothrin* dan *d-allethrin* sangat berbahaya (Joharina, 2014). *D-allethrin* adalah salah satu bahan aktif pada beberapa jenis/merek obat anti nyamuk yang memiliki rumus molekul $C_{19}H_{26}O_3$ dan memiliki 8 stereoisomer, Jika masuk ke tubuh secara inhalasi dalam waktu lama dapat menyebabkan gangguan pada paru-paru juga akan menyebabkan hati tidak mampu melakukan detoksifikasi secara sempurna sehingga munculnya metabolit sekunder yang bertindak sebagai radikal bebas, Selanjutnya radikal bebas akan menuju peredaran darah menuju ke seluruh tubuh. Radikal bebas tersebut dapat memicu kerusakan sel pada alat pernafasan, baik trakea dan pulmo sehingga penyalur udara (rongga hidung, nasofaring, laring, trakhea, bronkhus dan bronkiolus) berfungsi menyalurkan udara pernafasan dari dan ke daerah pertukaran udara dalam paru-paru, mengatur kelembapan udara, menjaga suhu tubuh dan kandungan air pada saat proses respirasi dan menyaring partikel asing udara pernapasan tidak akan berfungsi dengan normal (Wulan, 2010).

Paparan asap anti nyamuk merupakan salah satu faktor peningkatan kadar radikal bebas dalam tubuh. Paparan melalui pernafasan sangat berbahaya karena partikel-partikel bahan aktif dapat dengan cepat diserap oleh paru-paru (Iswara, 2009). Kandungan radikal bebas dalam asap obat nyamuk yang mampu menurunkan antioksidan endogenus didalam tubuh sebesar 10 molekul radikal bebas dalam satu hisapan (Intisari, 2007).

Radikal bebas dalam jumlah normal dapat di netralisasi dengan antioksidan tubuh, namun saat terpapar asap obat nyamuk jumlah radikal bebas akan meningkat sehingga antioksidan dalam tubuh tidak mampu untuk menetralsasi radikal bebas, sehingga terjadi penurunan jumlah antioksidan dalam tubuh (Karolin, 2017).

Obat nyamuk memiliki tiga komponen meliputi formulasi, bahan aktif dan konsentrasi bahan aktif; formulasi adalah wujud atau hasil proses pengolahan bahan teknis, bahan aktif adalah bahan kimia bersifat insektisida dan konsentrasi bahan aktif adalah kandungan bahan aktif suatu insektisida (Sigit dan Hadi, 2006). Berbagai macam merk obat nyamuk yang beredar di supermarket meliputi Baygon®, Bagus® dan Tigaroda® yang memiliki bahan aktif *d-allethrin* dengan konsentrasi berturut-turut 0,1%, 0,20% dan 0,25% (Arum, 2011).

2.3 Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron (electron donor) atau reduktan yang memiliki berat molekul kecil, namun mampu menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi dengan cara mencegah terbentuknya radikal (Karolin, 2017). Antioksidan dapat menetralsir atau menghancurkan radikal bebas dengan cara berinteraksi langsung dengan oksidan atau radikal bebas, mencegah pembentukan jenis oksigen reaktif, mengubah oksigen reaktif menjadi kurang toksik dan memperbaiki kerusakan yang timbul, Antioksidan bekerja sebagai sebuah sistem untuk menghentikan kerusakan akibat radikal bebas (Sizer and Whitney, 2000).

Berdasarkan penghasilnya (penyedia), maka antioksidan dapat dibagi menjadi tiga jenis yaitu: 1) antioksidan yang dibuat oleh tubuh sendiri yang disebut antioksidan endogenus yang berupa enzim antara lain; *superoksida dismutase* (SOD), *glutathione peroxidase* (GSH Px) dan katalase; 2) antioksidan alami yang diperoleh dari tumbuhan atau hewan seperti tokoferol, vitamin C, betakaroten, flavonoid dan senyawa fenolik; dan 3) antioksidan sintetis yang dibuat dari bahan-bahan kimia seperti *butylated hydroxyanisole* (BHA), *butil hidroksi toluen* (BHT), *tert butil hidroksi quinon* (TBHQ), dan *propil galat* (PG) (Kumalaningsih, 2007).

Secara fisiologis tubuh mempunyai dua sistem pertahanan utama untuk melawan radikal bebas, yaitu antioksidan yang berupa enzim dan nonenzim. Antioksidan enzimatik ini bekerja secara intraseluler yang sebagian besar terdapat pada mitokondria dan sitoplasma. Antioksidan enzimatik merupakan antioksidan endogenus yang termasuk di dalamnya adalah enzim *superoksida dismutase* (SOD), katalase, *glutathione peroxidase* (GSH-PX), serta *glutathione reduktase* (GSHR). Antioksidan nonenzim antioksidan eksogenus, Terbentuknya senyawa oksigen reaktif dihambat dengan cara pengkelatan metal, atau dirusak pembentukannya. Antioksidan nonenzim bisa didapatkan di sayuran, buah-buahan dan rempah-rempah. Kandungan antioksidan nonenzim salah satunya yaitu flavonoid. Flavonoid berperan penting dalam melindungi sel dari kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh radikal bebas (Burits and Bucar, 2000).

Menurut Sayuti dan Yenrina (2015), mekanisme antioksidan dalam menghambat oksidasi atau menghentikan reaksi berantai pada radikal bebas dari

lemak yang teroksidasi, dapat disebabkan oleh empat macam mekanisme reaksi meliputi pelepasan hidrogen dari antioksidan, pelepasan elektron dari antioksidan, disubstitusi asam lemak ke cincin aromatik pada antioksidan dan pembentukan senyawa kompleks antara lemak dan cincin aromatik dari antioksidan.

2.4 Buah Semangka (*Citrullus lanatus*)

Indonesia merupakan negara yang memiliki keanekaragaman hayati terkaya kedua didunia setelah Brazil, Spesies tumbuhan yang terdapat di dunia sekitar 40.000 sedangkan di Indonesia terdapat 30.000 spesies. Dari 30.000 spesies tumbuhan yang hidup di Indonesia terdapat sekitar 9600 spesies berkhasiat sebagai tanaman obat dan sekitar 300 spesies tumbuhan sudah digunakan sebagai sumber obat tradisional, tumbuhan yang digunakan sebagai obat tradisional antara lain buah semangka (Savitri, 2016).

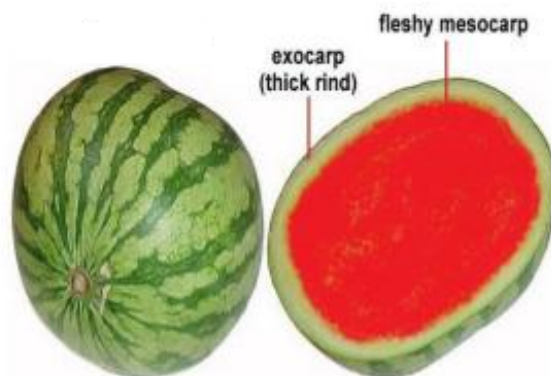
Menurut Made (2016) tanaman semangka berasal dari Afrika dan saat ini telah menyebar di seluruh dunia, yang tergolong tanaman labu-labuan seperti melon, blewah, dan timun. Kulit buahnya tebal dan berdaging, licin, warna hijau tua, kuning agak putih, atau hijau muda bergaris-garis putih. Klasifikasi taksonomi tanaman semangka menurut *Integrated Taxonomic Information System* (ITIS) adalah sebagai berikut:

- Kingdom : *Plantae*
- Sub kingdom : *Viridaeplantae*
- Infrakingdom : *Streptophyta*
- Divisi : *Tracheophyta*
- Subdivisi : *Spermatophytina*

Infradivisi	: <i>Angiospermae</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Superordo	: <i>Rosanae</i>
Ordo	: <i>Curcubitales</i>
Famili	: <i>Cucurbitaceae</i>
Genus	: <i>Citrullus</i>
Spesies	: <i>Citrullus lanatus</i>

2.4.1 Morfologi Buah Semangka (*Citrullus lanatus*)

Buah semangka hanya dikonsumsi pada bagian daging yang berwarna mencolok (misalnya merah, merah muda, dan kuning) sedangkan pada bagian lapisan putih kurang diminati masyarakat untuk dikonsumsi (Dianing, 2012). Buah semangka merupakan jenis khusus dari buah yang dikenal oleh ahli botani sebagai *pepo*, yaitu suatu *berry* yang memiliki kulit tebal (*eksokarp*) dan pusat daging (*mesokarp dan endokarp*) pada **Gambar 2.2**, Semangka adalah salah satu buah yang kurang banyak dimanfaatkan dan buah ini ditanam di bagian hangat dunia (Oseni dan Okoye, 2013).



Gambar 2.2 Struktur Buah Semangka (*Citrullus lanatus*) (Dianing, 2012).

Keberhasilan kualitas dalam usaha pertanian buah semangka dapat dilihat dari besar kecilnya produksi buah semangka, Berdasarkan kualitas buah semangka yang dihasilkan terdiri dari 3 kelas yaitu A, B dan C; Kualitas A memiliki berat ≥ 4 kg, Kualitas B memiliki berat sekitar 3 kg – 3,9 kg dan Kualitas C memiliki berat sekitar 2,5 kg – 2,9 kg (Efrizal, 2011).

2.4.2 Kandungan Buah Semangka (*Citrullus lanatus*)

Daging buah semangka mengandung air sebanyak 93.4%, protein 0.5%, karbohidrat 5.3%, lemak 0.1%, serat 0.2%, dan berbagai macam vitamin (A, B, dan C), antioksidan (likopen) dan asam amino (citrulline dan arginine) (Made, 2016). Pengujian meliputi uji fitokimia, uji identifikasi likopen (KLT dan spektrofotometer IR), penetapan kadar likopen dalam isolat (spektrofotometer UV -VIS) dilakukan pada buah semangka, pada kulit putih semangka didapatkan isolat likopen sebesar 0,018 % dengan kadar likopen 0,502 % sedangkan

pada daging buah semangka didapatkan isolat likopen sebesar 0,054 % dengan kadar likopen sebesar 21,49 % (Dianing, 2012).

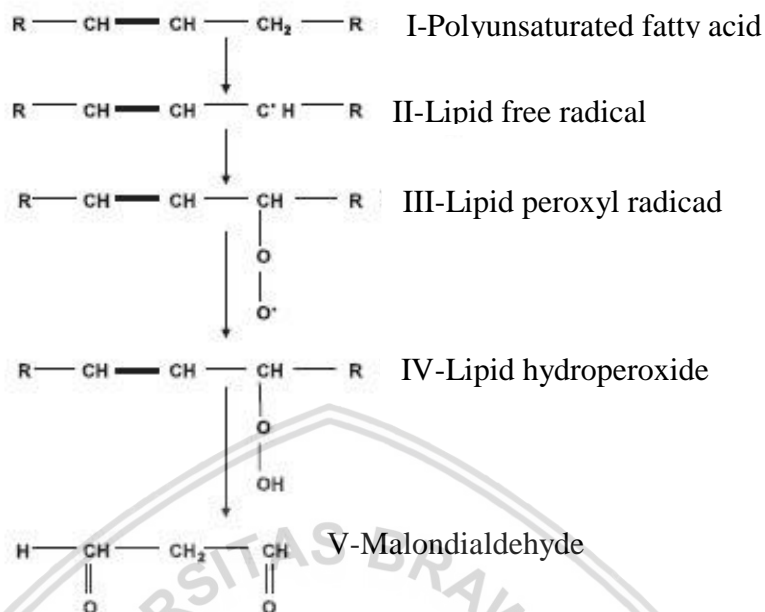
Likopen merupakan pigmen karotenoid yang disintesis oleh tanaman dan mikroorganisme yang memberikan warna merah kekuningan pada buah dan sayuran (Dianing, 2012). Likopen termasuk golongan antioksidan kuat yang berpotensi menghambat radikal bebas. Aktivitas antioksidan likopen lima kali lebih kuat dibandingkan dengan α -tokoferol atau vitamin E (Sary, 2011). Kemampuan likopen dalam mengendalikan radikal bebas 100 kali lebih efisien daripada vitamin E atau 12.500 kali dari pada glutathion. Selain sebagai anti skin aging, likopen juga memiliki manfaat untuk mencegah penyakit kardiovaskular, pernafasan, kencing manis, osteoporosis, infertilitas, dan kanker terutama kanker prostat (Maulida, 2011).

Beberapa studi *in vitro* menunjukkan bahwa likopen memiliki aktivitas antioksidan yang berfungsi sebagai pelindung dari efek perusakan radikal bebas. *Inhibition Concentration* 50 (IC50) adalah konsentrasi suatu zat antioksidan yang dapat menyebabkan 50 % *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH) kehilangan karakter radikal atau konsentrasi suatu zat antioksidan yang memberikan penghambatan 50 %. Zat yang mempunyai antioksidan tinggi, akan mempunyai nilai IC50 yang rendah (Satiti 2012). Kulit putih dan daging buah semangka memiliki nilai IC50 masing-masing sebesar 55,04 $\mu\text{g/mL}$ dan 26,00 $\mu\text{g/mL}$, nilai ini menunjukkan bahwa baik bagian kulit putih maupun daging buah

semangka memiliki aktivitas antioksidan yang aktif karena memiliki nilai IC50 kurang dari 100 µg/mL (Dianing, 2012).

2.5 Malondialdehyde (MDA)

Malondialdehyde (MDA) merupakan penanda pengukuran peroksidasi lipid yang paling banyak diteliti. Terbentuk sebagai suatu senyawa dialdehida yang merupakan hasil dari pemecahan lipid peroksida dan salah satu penanda adanya stres oksidatif. Lipid peroksida adalah hasil reaksi oksidasi radikal bebas dengan lipid membran sel jaringan tubuh atau dengan asam lemak tak jenuh (PUFAs) (Suwandi, 2012). Skema pembentukan MDA dapat dilihat pada **Gambar 2.3**, hasil akhir dari reaksi ini akan membentuk hidrogen peroksida, yang berdampak pada kerusakan membran sel antara lain dengan mengubah struktur dan fungsi membran, dalam kondisi yang lebih ekstrem menimbulkan kematian sel (Halliwell and Gutteridge, 2007). Stres oksidatif dalam tubuh disebabkan oleh adanya radikal bebas yang dihasilkan oleh ROS (Halliwell dan Whiteman, 2004).



Gambar 2.3 Skema Pembentukan MDA dari *Polyunsaturated fatty acid* (Groto *et al.*, 2009).

2.6 Superoksida Dismutase (SOD)

Antioksidan adalah suatu substansi yang dapat menghentikan atau menghambat kerusakan oksidatif (Halliwell, 2006). Antioksidan merupakan senyawa yang memiliki struktur molekul yang dapat memberikan elektronnya kepada molekul radikal bebas. Antioksidan dapat memutus reaksi berantai dari radikal bebas sehingga dapat melindungi sel dari efek bahaya radikal bebas oksigen reaktif (Kumalaningsih, 2006).

Tubuh memiliki mekanisme sistem pertahanan alami berupa antioksidan endogen yang berfungsi menetralkan dan mempercepat degradasi senyawa radikal bebas untuk mencegah kerusakan komponen makromolekul. Sistem ini dibagi dalam dua kelompok besar, yaitu: sistem pertahanan preventif seperti *superoxide dismutase* (SOD), glutathion (GSH) dan katalase (Cat) serta sistem pertahanan

melalui pemutusan reaksi radikal bebas seperti penambahan isoflavon, vitamin A, vitamin C, dan vitamin E ke dalam tubuh (Valko *et al.*, 2007). SOD, GSH dan Cat termasuk enzim antioksidan intrasel yang diproduksi dalam tubuh yang berfungsi penting bagi tubuh untuk meredam radikal bebas sehingga dapat mencegah kerusakan sel. SOD sebagai salah satu enzim antioksidan intrasel bekerja dengan cara membersihkan radikal bebas atau *Reactive Oxygen Spesies* (ROS) dengan reaksi enzimatik dan mengubahnya menjadi produk yang lebih stabil. SOD merupakan salah satu antioksidan endogen yang berfungsi mengkatalisis reaksi dismutasi radikal bebas anion superoksida (O_2^-) menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2) dan molekul oksigen (O_2) (Halliwell, 2006). Pada mamalia terdapat 2 bentuk SOD yaitu:

- a. CuZn-SOD yang berada di dalam sitoplasma; dan
- b. Mn-SOD yang terdapat di dalam matriks mitokondria.

2.7 Hewan Coba Tikus (*Rattus norvegicus*)

Hewan coba adalah hewan yang dapat digunakan untuk tujuan suatu penelitian. Pemakaian hewan coba dilakukan dalam berbagai penelitian biomedikal seperti penelitian toksikologi, mikrobiologi, imunologi, pengembangan obat-obatan dan vaksin. Tikus *Rattus norvegicus* (**Gambar 2.4**) merupakan hewan yang umum digunakan dalam penelitian, karena mudah dipelihara, secara garis besar fungsi dan bentuk organ serta proses biokimia antara tikus dan manusia memiliki banyak kesamaan (Suckow *et al.*, 2006). Klasifikasi

tikus yang digunakan dalam penelitian menurut Armitage (2004), adalah sebagai berikut:

Kingdom : *Animalia*
Kelas : *Mamalia*
Ordo : *Rodentia*
Famili : *Muridae*
Genus : *Rattus*
Spesies : *Rattus norvegicus*

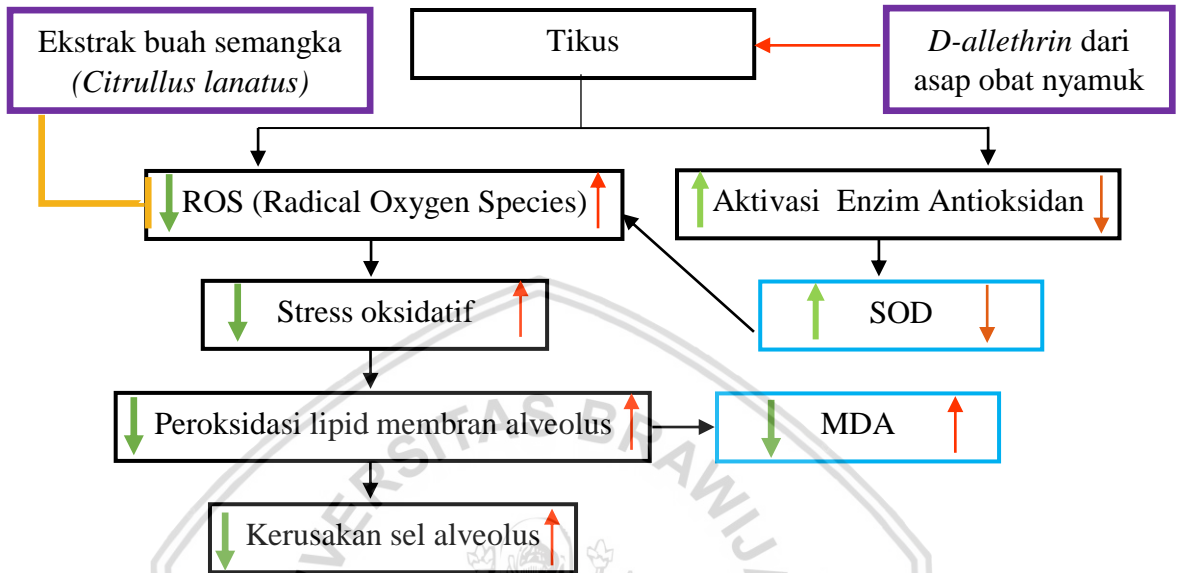
Tikus *Rattus norvegicus* memiliki waktu hidup 2,5-3,5 tahun, berat badan jantan 300-500 gram dan betina 250-300 gram, denyut jantung 330-480 kali per menit, frekuensi respirasi 85 kali per menit dan memasuki masa dewasa pada usia 40-60 hari.



Gambar 2.4 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar (Armitage, 2004).

BAB 3. KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Gambar 3.1 Kerangka konseptual

Keterangan:

- ↑ = Pengaruh paparan obat nyamuk
- ↑ = Pengaruh pemberian ekstrak buah semangka
- ⊥ = Penghambatan oleh ekstrak buah semangka
- ↓ = Perlakuan
- = Variabel yang diamati
- = Variabel bebas



Dalam paparan asap obat nyamuk terjadi dua reaksi, yaitu reaksi pembakaran dan reaksi pirolisa. Reaksi pembakaran dengan oksigen akan membentuk senyawa CO₂, H₂O₂, NO, SO₂, dan CO. Reaksi pirolisa menyebabkan pemecahan struktur kimia obat nyamuk menjadi banyak senyawa kimia yang memiliki struktur sangat kompleks meliputi, *dichlorvos*, *propoxur*, *pyrethroid*, *diethyltoluamide*, *d-allethrin*, dan *transflutrin*. *D-allethrin* merupakan senyawa yang berbahaya bagi pernafasan dan merupakan radikal bebas.

D-allethrin dalam asap obat nyamuk akan masuk secara inhalasi melalui saluran pernafasan, sehingga menghasilkan radikal bebas eksogenus. *D-allethrin* akan mengalami proses kimia didalam tubuh yang sangat reaktif dan mengandung *unpaired* elektron pada orbital luarnya sehingga bersifat tidak stabil yang dapat mempengaruhi membran lipid dari sel. Peningkatan ROS karena tingginya radikal bebas yang dapat melebihi jumlah antioksidan endogenus, akan menimbulkan terjadi stress oksidatif dan mengakibatkan kerusakan sel, sehingga menyebabkan gangguan pada paru-paru, seperti iritasi juga akan menyebabkan hati tidak mampu untuk melakukan detoksifikasi secara sempurna.

Radikal bebas yang tinggi dalam tubuh akan mengakibatkan penurunan aktivitas enzim SOD. *Superoksida dismutase* (SOD) merupakan salah satu contoh antioksidan endogen. *Superoksida dismutase* (SOD) akan menurun karena radikal bebas yang tinggi tanpa adanya asupan antioksidan eksogenus. *Superoksida dismutase* (SOD) bertugas untuk melindungi sel dari cedera yang disebabkan paparan obat nyamuk dengan menurunkan stress oksidatif.

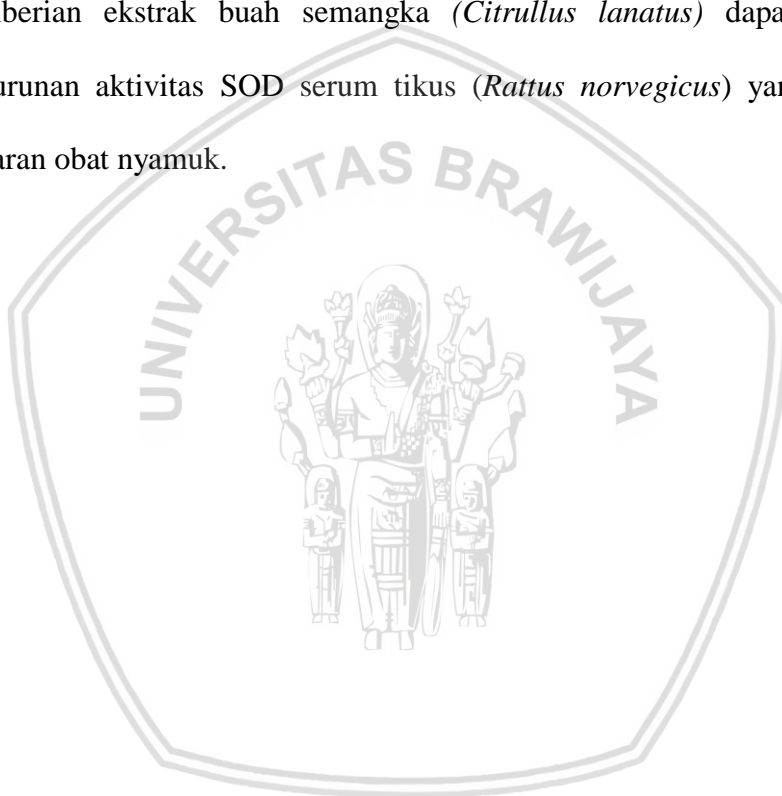
Radikal bebas yang berlebihan di dalam tubuh juga dapat menyebabkan peroksidasi lipid, yaitu ikatan radikal bebas akan bereaksi dengan asam lemak tidak jenuh (PUFAs) penyusun membran sel untuk mencapai keseimbangan atau disebut sebagai proses peroksidasi lipid yang menghasilkan produk aldehida berupa MDA. Selain itu radikal bebas didalam serum akan bereaksi dengan kolesterol, trigleserida dan protein. *Malondialdehida* (MDA) digunakan sebagai indikator kerusakan oksidatif dan produk akhir dari peroksidasi lipid yang dapat dihasilkan melalui oksidasi oleh radikal bebas. Radikal bebas yang tinggi dalam sirkulasi dapat mengakibatkan peningkatan aktivitas MDA pada serum.

Aktivitas radikal bebas dapat ditekan dengan senyawa antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron (*electron donor*) atau reduktan yang memiliki berat molekul kecil, namun mampu menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi dengan cara mencegah terbentuk radikal. Buah semangka (*Citrullus lanatus*) terdapat kandungan zat-zat yang sangat berguna bagi kesehatan. Kadar antioksidan berupa likopen yang tinggi pada daging dan kulit putih buah semangka dapat diandalkan sebagai penetral radikal bebas dan mengurangi kerusakan sel dalam tubuh. Kinerja likopen sebagai antioksidan sebagai *scavenger* untuk mengurangi kerusakan oksidatif pada lipid (termasuk lipid membran dan lipoprotein), protein, dan DNA. Dengan demikian, likopen yang terkandung dalam ekstrak etanol daging dan kulit putih buah semangka dapat menghambat menurunkan kadar MDA dan meningkatkan kadar SOD pada tikus yang dipapar asap obat nyamuk.

3.2 Hipotesis Penelitian

Hipotesis yang dapat diajukan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Pemberian ekstrak buah semangka (*Citrullus lanatus*) dapat mencegah peningkatan kadar MDA serum pada tikus (*Rattus norvegicus*) yang diberikan paparan obat nyamuk.
2. Pemberian ekstrak buah semangka (*Citrullus lanatus*) dapat mencegah penurunan aktivitas SOD serum tikus (*Rattus norvegicus*) yang diberikan paparan obat nyamuk.



BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November hingga Desember 2017. Pelaksanaan penelitian terdiri atas beberapa tahapan, meliputi tahapan ekstraksi etanol daging dan kulit putih buah semangka (*Citrullus lanatus*) dilakukan di Unit Pelaksana Teknis Materia Medica, Batu. Tahapan perawatan, perlakuan, dan pembedahan hewan coba dilakukan di Laboratorium Farmakologi, Fakultas Kedokteran, UB. Pengukuran kadar MDA dan aktivitas SOD dilaksanakan di Laboratorium Farmakologi, Fakultas Kedokteran, UB.

4.2 Alat dan Bahan Penelitian

4.2.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah oven, timbangan analitik, labu evaporasi, *rotary evaporator*, *water bath*, botol vial, *disposable syringe* 3 mL, sonde, sentrifugator, *vortex mixer*, cawan petri, *blender*, erlenmeyer, gelas ukur, pipet, pot, kandang hewan coba, *dissecting set*, *vacutainer red stopper*, *microtube*, dan Spektrofotometer.

4.2.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daging dan kulit putih buah semangka (*Citrullus lanatus*), tikus putih (*Rattus norvegicus*), obat nyamuk Tigaroda[®], Pakan standar AIN-93, NaCl 0,9%, PBS, *Aquadest*,

fibrin bovine blood, HCl, etanol 96%, asetonitrit, amonium format, TCA 100%, Na-Thio 1%, Natrium bikarbonat, Xantin dan BSA.

4.3 Tahapan Penelitian

4.3.1 Sampel Penelitian

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan, strain *Wistar*, umur 2 bulan, berat 150-200 gram (Costandinou *et.al.*, 2005). Hewan coba diadaptasikan selama tujuh hari untuk menyesuaikan dengan kondisi di laboratorium. Estimasi besar sampel dihitung berdasar rumus

(Kusriningrum, 2008):

$$t(n-1) \geq 15$$

$$5(n-1) \geq 15$$

$$5n-5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 20/5$$

$$n \geq 4$$

Keterangan:

t: jumlah kelompok perlakuan

n: jumlah ulangan yang diperlukan

Berdasarkan perhitungan diatas, maka untuk 5 macam kelompok perlakuan diperlukan jumlah ulangan paling sedikit 4 kali dalam setiap kelompok, sehingga dibutuhkan 20 ekor hewan coba.

4.3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan *post-test control design only*. Rancangan penelitian ditunjukkan **Tabel 4.1**.

Tabel 4.1 Rancangan Penelitian

Kelompok	Keterangan Perlakuan
Kontrol negatif (K-)	Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>) tidak diberikan ekstrak buah semangka (<i>Citrullus lanatus</i>) dan tidak diberikan paparan asap obat nyamuk.
Kontrol positif (K+)	Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>) diberikan paparan asap obat nyamuk selama 4 jam/hari selama waktu 20 hari.
Kelompok perlakuan 1 (P1)	Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>) diberikan ekstrak buah semangka (<i>Citrullus lanatus</i>) sebanyak 25 mg/kgBB/hari <i>per-oral</i> selama 20 hari dan diberikan paparan asap obat nyamuk selama 4 jam/hari selama 20 hari.
Kelompok perlakuan 2 (P2)	Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>) diberikan ekstrak buah semangka (<i>Citrullus lanatus</i>) sebanyak 50 mg/kgBB/hari <i>per-oral</i> selama 20 hari dan diberikan paparan asap obat nyamuk selama 4 jam/hari selama 20 hari.
Kelompok perlakuan 3 (P3)	Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>) diberikan ekstrak buah semangka (<i>Citrullus lanatus</i>) sebanyak 100 mg/kgBB/hari <i>per-oral</i> selama 20 hari dan

	diberikan paparan asap obat nyamuk selama 4 jam/hari selama 20 hari
--	---

4.3.3 Variabel Penelitian

Adapun variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah:

- a. Variabel bebas : Dosis pemberian ekstrak daging dan kulit putih buang semangka (*Citrullus lanatus*) dan lama paparan asap obat nyamuk obat nyamuk.
- b. Variabel tergantung : Kadar MDA dan aktivitas SOD
- c. Variabel kendali : Hewan coba, jenis kelamin, berat badan, umur, pakan, air minum dan kondisi pemeliharaan.

4.4 Prosedur Kerja

4.4.1 Persiapan Hewan Coba

Hewan coba pada semua kelompok perlakuan dikandangkan secara terpisah dan diaklimatisasi selama lebih kurang 7 hari agar kondisi fisiologis hewan coba dapat menyesuaikan dengan lingkungan disekitar laboratorium. Selama penelitian hewan coba diberikan pakan standar AIN-93 dengan komposisi pada **Lampiran 1** dan minum secara *ad-libitum*.

4.4.2 Pembuatan Ekstrak Buah Semangka (*Citrullus lanatus*)

Prosedur pembuatan ekstrak buah semangks (*Citrullus lanatus*) dilakukan dengan tiga prosedur, yaitu pengeringan, ekstraksi, dan evaporasi.

Proses pengeringan, daging dan kulit putih buah semangka dicuci sampai bersih (sampel basah), kemudian dipanggang dalam oven dengan suhu 80°C atau dengan panas matahari sampai kering (bebas kandungan air). Pada proses ekstraksi, daging dan kulit putih buah semangka dihaluskan dengan *blender* hingga menyerupai bubuk, ditimbang dengan timbangan analitik sebanyak 100 gram (sampel kering), dimasukkan ke dalam gelas ekstraksi atau labu erlenmeyer ukuran 1 L, dan direndam dalam etanol 96%, setelah itu, dikocok sampai benar-benar tercampur (\pm 30 menit) dan diinapkan selama satu malam (12 jam) sampai mengendap. Dalam proses evaporasi, larutan yang telah diinapkan selama satu malam, diambil lapisan atas dari hasil campuran etanol dengan zat aktif yang sudah terambil, dimasukkan dalam labu evaporasi 1L, kemudian labu evaporasi dipasang pada evaporator dan diisi water bath dengan air sampai penuh. Semua rangkaian alat dipasang, termasuk *rotary evaporator*, pemanas *water bath* (diatur sampai 90°C), disambungkan dengan alat listrik, selanjutnya dibiarkan sampai larutan etanol memisah dengan zat aktif yang sudah ada dalam labu (\pm 1,5–2 jam untuk 1 labu). Hasil sebelum penggunaan perlu dibiarkan terlebih dahulu agar suhu sama dengan suhu ruangan (Muthia, 2017).

4.4.3 Penentuan Dosis Ekstrak Buah Semangka (*Citrullus lanatus*)

Penelitian dengan variasi dosis ekstrak buah semangka (*Citrullus lanatus*) 25 mg/kgBB, 50 mg/kgBB, dan 100 mg/kgBB sebelumnya telah dilakukan oleh Muthia (2011) untuk mengetahui aktivitas *in vivo* ekstrak etanol buah semangka (*Citrulus lanatus*) sebagai diuretik dengan pembanding

furosemid. Penelitian tersebut telah membuktikan bahwa ekstrak etanol buah semangka (*Citrulus lanatus*) memiliki efek antioksidan yang dapat memberikan perbaikan dan mencegah stres oksidatif. Penelitian perbandingan variasi dosis ekstrak buah semangka (*Citrullus lanatus*) 250 mg/kgBB, 500 mg/kgBB, dan 1000 mg/kgBB dilakukan oleh Sugianta (2011) untuk mengetahui pengaruh pemberian air ekstrak buah semangka (*Citrullus lanatus*) terhadap kadar glukosa pada tikus (*Rattus norvegicus*). Berdasarkan penelitian ini ekstrak yang digunakan terlalu banyak karena berasal dari air buah semangka dan lebih sedikit mengandung kadar antioksidan. Sehingga peneliti menentukan dosis ekstrak daging dan kulit putih buah semangka (*Citrullus lanatus*) 25 mg/ekor/hari, 50 mg/ekor/hari dan 100 mg/ekor/hari untuk mengetahui terapi preventif pada hewan coba yang dipapar asap obat nyamuk.

4.4.4 Penentuan Tata Pemberian Asap Obat Nyamuk

Penggunaan obat nyamuk bakar dibandingkan obat nyamuk lainnya berdasarkan referensi Hasel (2013) yang menyatakan penggunaan obat nyamuk bakar sebagai solusi pencegahan gigitan nyamuk mencapai 48,4%, angka ini paling tinggi dibandingkan dengan solusi lainnya dan Becker *et al.*, (2010) menyatakan penggunaan obat nyamuk bakar dapat menghasilkan asap yang mudah dihirup oleh pernafasan berupa polutan yang dapat melebihi dari kualitas udara sehat yang berbahaya bagi kesehatan baik akut maupun kronis sedangkan penggunaan obat nyamuk elektrik tidak menimbulkan asap.

Pemilihan Tigaroda[®] berdasarkan Arum (2011) yang membandingkan kandungan bahan aktif *d-allethrin* pada Baygon[®], Bagus[®] dan Tigaroda[®] dengan konsentrasi berturut-turut 0,1%, 0,20% dan 0,25%, sehingga peneliti menggunakan Tigaroda[®] karena memiliki kandungan bahan aktif *d-allethrin* paling besar dibandingkan tiga merk lainnya.

Berdasarkan penelitian Putri (2015) yang membandingkan paparan obat nyamuk bakar dan elektrik selama 20 hari dengan waktu 4 jam, 8 jam dan 12 jam, menyatakan bahwa pemaparan tersebut memiliki efek terhadap parameter yang diamati, sehingga peneliti menentukan pemaparan obat nyamuk selama 4 jam/hari selama 20 hari.

4.4.5 Perlakuan Hewan Coba

Perlakuan awal pada hewan coba adalah dilakukan aklimatisasi pada hari ke-1 sampai hari ke-7 dalam kandang pemeliharaan. Selanjutnya pada hari ke-8 sampai hari ke-27 diberi ekstrak daging dan kulit putih buah semangka (*Citrullus lanatus*) sebagai antioksidan yang dilarutkan dengan aquades sampai 2 mL karena kapasitas lambung tikus sanggup menampung 2 mL pada pukul 08.00 WIB dan dilakukan pemaparan asap obat nyamuk pada pukul 11.00-15.00 WIB menggunakan jenis obat nyamuk Tigaroda[®] selama 4 jam. Paparan asap obat nyamuk bertujuan sebagai sumber radikal bebas, sehingga dapat menyebabkan stres oksidatif yang dapat mempengaruhi kadar MDA dan aktivitas SOD. Asap obat nyamuk dihembuskan dengan *smoking pump* kedalam kandang berbentuk kaca selama 4 jam/hari setiap kelompok dalam waktu 20 hari.

4.4.6 Koleksi Serum Darah

Euthanasi tikus dilakukan dengan cara diberikan anastesi dengan ketamin HCL 1 % sebanyak 0,16 ml per tikus secara intramuskular, kemudian dilakukan pembedahan. Tikus (*Rattus norvegicus*) diposisikan pada posisi rebah *dorsal*, kemudian dilakukan nekropsi. Dibuat insisi pada *ventral midline abdomen*, diinsisi kulit, dan subkutan ke arah kranial, juga insisi musculus daerah abdomen ke arah kranial. *Prosesus xiphoideus* diangkat, kemudian dipotong beserta sternum hingga cavum thoraks terbuka. Sampel darah diambil dengan menusukkan *disposable syringe* 3 mL ke atrium kiri jantung. Darah yang didapat dimasukkan kedalam vacutainer *red stopper* dan diposisikan miring 45°, lalu dibiarkan mengendap pada suhu kamar. Dilakukan sentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 2500 rpm untuk mendapatkan serum. Serum dikoleksi dan dimasukkan kedalam tabung *microtube* dan disimpan di lemari pendingin dengan suhu 4°C.

4.4.7 Pengukuran Kadar *Malondialdehyde* (MDA)

Pembuatan kurva baku MDA dengan serum darah tikus (*Rattus norvegicus*), standar MDA konsentrasi 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 dan 8 mg/mL masing-masing diambil 100 µL, kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi yang berbeda, setelah itu ditambahkan 550 µL *aquades*. Setiap tabung tersebut ditambahkan 100 µL TCA 100%, 250 µL HCl 1N, dan 100 µL Na-Thio 1%. Campuran yang terbentuk dihomogenkan dengan vortex. Tabung ditutup dengan plastik dan diberi lubang. Tabung diinkubasi dalam penangas air dengan suhu 100°C selama 30 menit. Setelah itu, didinginkan pada suhu

ruangan. Larutan standar kemudian dibaca pada panjang gelombang maksimum (533 nm) menggunakan spektrofotometer (*Shimadzu UV-visible spectrophotometer UV-1601*). Kurva standar MDA dihasilkan dari persamaan regresi antara absorbansi (y) dan konsentrasi MDA (x) (Amin, 2009) .

Sebanyak 100 μ L serum darah tikus (*Rattus norvegicus*) (supernatan) dimasukkan kedalam ependorf, ditambah 550 μ L *aquades*, 100 μ L TCA, kemudian dihomogenkan dengan vortex. Ditambahkan 250 μ L HCL 1N dan dihomogenkan dengan vortex. Ditambahkan dengan 100 μ L Na-Thio 1% dan dihomogenkan kembali dengan vortex. Setelah itu, mulut tabung ditutup menggunakan plastik *wrap* dan dipanaskan dalam *water bath* 100°C selama 30 menit. Setelah dipanaskan, dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 500 rpm selama 10 menit. Supernatan yang terbentuk dipindah kedalam tabung reaksi baru. Sampel kemudian diukur absorbansi dengan spektrofotometer *Shimadzu UV-visible spectrophotometer UV-1601* pada panjang gelombang maksimum (533 nm) (Amin, 2009).

4.4.8 Pengukuran Aktivitas *Superoxide Dismutase* (SOD)

Sampel darah tikus (*Rattus norvegicus*) dimasukkan ke dalam tabung reaksi tanpa antikoagulan diendapkan selama 30 menit pada suhu kamar kemudian dipindahkan dalam tabung sentrifuse dan disentrifugasi dengan kecepatan 1500 rpm selama 30 menit. Serum diambil dengan mikropipet sebanyak 100 μ L kemudian dimasukkan ke dalam tabung eppendoft. Sampel serum sebanyak 100 μ L dimasukkan ke dalam tabung reaksi kecil, ditambah 100 μ L xantine, 100 μ L xantine oxidase kemudian dihomogenkan dengan

vortex, ditambah 1600 μ L NBT kemudian dihomogenkan dengan vortex. Mulut tabung ditutup dengan plastik wrap dan diinkubasi 30 $^{\circ}$ C selama 30 menit. Setelah dipanaskan, dilakukan sentrifugasi 500 rpm selama 10 menit kemudian diambil supernatan dipindah ke tabung reaksi baru. Sampel kemudian diukur absorbansinya dengan spektrofotometer Shimadzu UV-visible spectrophotometer UV-1601 pada panjang gelombang (580nm) (Astuti dkk, 2009).

4.5 Analisa Data

Analisis data yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu menggunakan analisa statistik kuantitatif untuk data kadar MDA dan aktivitas SOD. Data kadar MDA dan aktivitas SOD ditabulasi menggunakan *Microsoft Office Excel* kemudian dianalisa menggunakan *one-way Analysis of Variance* (ANOVA) dengan *IBM SPSS Statistic 24*. Analisa *one-way ANOVA* didahului dengan uji distribusi data, selanjutnya dilakukan uji homogenitas untuk mengetahui data tersebut memiliki varian yang sama atau tidak. Hasil uji *one-way ANOVA* menunjukkan hasil yang signifikan ($p < 0,05$), maka dilanjutkan uji *post-hoc* Tukey (Beda Nyata Jujur) dengan α 5% (Kusriningrum, 2008).

BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Pengaruh Preventif Pemberian Ekstrak Buah Semangka (*Citrullus lanatus*) terhadap Aktivitas *Superoxide dismutase* (SOD) Serum Tikus (*Rattus norvegicus*) yang Diberi Paparan Asap Obat Nyamuk

Tubuh memiliki mekanisme sistem pertahanan alami berupa antioksidan endogen yang berfungsi menetralkan dan mempercepat degradasi senyawa radikal bebas untuk mencegah kerusakan komponen makromolekul seperti SOD. *Superoxide dismutase* (SOD) adalah enzim yang terdapat pada sitoplasma dan mitokondria yang berfungsi sebagai penangkal ROS yang dapat melindungi dari kerusakan sel dan membran (Valko *et al.*, 2007). Pengukuran Aktivitas SOD pada serum tikus (*Rattus norvegicus*) hasil paparan asap obat nyamuk, yang sebelumnya diberikan preventif ekstrak daging dan kulit putih buah semangka (*Citrullus lanatus*) ditampilkan pada **Tabel 5.1**.

Tabel 5.1 Rata-Rata Aktivitas SOD Serum Tikus (*Rattus norvegicus*)

Perlakuan	Rata-rata Aktivitas SOD (U/mL)	Aktivitas SOD (%)	
		Penurunan Terhadap Kontrol Negatif	Peningkatan Terhadap Kontrol Positif
Kontrol Negatif	6,17 ± 336,7 ^d	-	-
Kontrol Positif	1,50 ± 426,5 ^a	75,7%	-
Kelompok Perlakuan 1 (Dosis 25 mg/kgBB)	3,01 ± 630,6 ^b	-	50,2%
Kelompok Perlakuan 2 (Dosis 50 mg/kgBB)	3,57 ± 695,0 ^{bc}	-	58,0%
Kelompok Perlakuan 3 (Dosis 100 mg/kgBB)	4,85 ± 809,5 ^{cd}	-	69,0%

Keterangan: Perbedaan notasi a, b, c, d menunjukkan ada perbedaan yang signifikan ($p < 0.05$) antara kelompok perlakuan.

Hasil analisa statistik menggunakan *IBM SPSS Statistic 24* menunjukkan bahwa uji normalitas dan homogenitas memiliki hasil data yang terdistribusi normal dan homogen ($p > 0.05$), sehingga dilanjutkan dengan uji *one way*

ANOVA. Uji *one way* ANOVA menunjukkan bahwa preventif ekstrak daging dan kulit putih buah semangka (*Citrullus lanatus*) dapat mempertahankan aktivitas SOD tetap tinggi secara signifikan. Pada hasil uji *post-hoc* Tukey menunjukkan bahwa kelompok perlakuan preventif ekstrak daging dan kulit putih buah semangka (*Citrullus lanatus*) memiliki perbedaan. Data pada **Tabel 5.1** menunjukkan bahwa aktivitas SOD pada kelompok K(-) memiliki aktivitas SOD paling tinggi yaitu $6,17 \pm 336,7$ U/mL. Kelompok P1 kadar rata-rata enzim SOD sebanyak $3,01 \pm 630,6$ U/mL, kelompok P2 kadar rata-rata enzim SOD sebanyak $3,57 \pm 695,0$ U/mL dan kelompok P3 kadar rata-rata enzim SOD sebanyak $4,85 \pm 809,5$ U/mL lebih tinggi dari pada kelompok K(+) ($1,50 \pm 426,5$ U/mL). Rata-rata aktivitas SOD pada kelompok P1 tidak memiliki perbedaan yang nyata ($p > 0,05$) dengan K(-) atau sehat tetapi masih memiliki efek yang sama, hal ini dapat diartikan bahwa kelompok P3 mempunyai respon terhadap radikal bebas yang hampir sama dengan kelompok negatif atau merupakan dosis efektif dalam menghambat penurunan aktivitas SOD.

Aktivitas SOD kelompok K(+) lebih rendah dibandingkan K(-) (**Tabel 5.1**). Penurunan aktivitas SOD diakibatkan oleh paparan asap anti nyamuk mengandung bahan kimia aktif berupa *d-allethrin* yang merupakan salah satu faktor peningkatan kadar radikal bebas dalam tubuh (Astuti, 2008). Tubuh dilengkapi oleh seperangkat sistem pertahanan untuk menangkal serangan radikal bebas, sistem pertahanan antioksidan ini antara lain adalah enzim SOD (Astuti, 2008). Enzim SOD bekerja dengan beberapa cara antara lain berinteraksi langsung dengan radikal bebas, oksidan atau oksigen tunggal, mencegah

pembentukan senyawa oksigen reaktif atau mengubah senyawa reaktif menjadi kurang reaktif (Karolin,2017). Enzim SOD bekerja mengkatalis dismutase anion O_2^{*-} yang merupakan ROS menjadi H_2O_2 dan O_2 didalam mitokondria. H_2O_2 yang terbentuk menyebabkan inaktivasi SOD. Namun, inaktivasi SOD tidak akan terjadi selama jumlah radikal bebas yang ditangani oleh antioksidan eksogen bersifat non-enzimatis. Kerja antara antioksidan tersebut menyebabkan oksidan dalam tubuh dalam dipertahankan konsentrasinya dalam tingkat yang dapat diterima, sehingga tidak menyebabkan kerusakan jaringan (Widyaningsih, 2015).

Pada pemaparan asap obat nyamuk yang mengandung *d-allethrin* , menyebabkan produksi radikal bebas atau ROS melebihi sistem pertahanan tubuh atau yang disebut dengan kondisi stress oksidatif, ketika terjadi stress oksidatif keseimbangan antara produksi radikal bebas atau ROS dengan kemampuan antioksidan alami untuk mengeliminasinya mengalami gangguan sehingga akan mengalami penurunan aktivitas SOD (Karolin,2017).

Pemberian preventif ekstrak daging dan kulit putih buah semangka (*Citrullus lanatus*) dengan dosis 25 mg/kg BB, 50 mg/kg BB dan 100 mg/kg BB pada **Gambar 5.1** menunjukkan bahwa terjadi peningkatan aktivitas enzim SOD sebesar 50,2%, 58,0% dan 69,0% jika dibandingkan dengan kontrol positif. Peningkatan aktivitas SOD dikarenakan adanya antioksidan di dalam preventif ekstrak daging dan kulit putih buah semangka (*Citrullus lanatus*). Hal ini sesuai dengan penelitian Dianing, 2011 bahwa buah semangka (*Citrullus lanatus*) memiliki senyawa antioksidan seperti likopen yang diketahui dapat

meningkatkan enzim antioksidan endogen seperti *Superoxide dismutase* (SOD).

Likopen dalam mengeliminasi radikal bebas bekerja dengan cara menstimulasi kerja enzim superoksida dismutase yang merupakan antioksidan intraseluler. Likopen mampu mempertahankan kinerja enzim SOD karena likopen mampu meningkatkan regulasi ekspresi gen yang mengakibatkan terjadinya fosforilasi pada *extracellular-signal regulated kinase* dan *nuclear factor κB* yang dapat mengakibatkan teraktivasi ekspresi MnSOD, Hal ini dapat meminimalisir peroksidasi lipid. Likopen mampu mempertahankan aktivitas enzim SOD diduga karena peran likopen menginduksi gen yang bertanggung jawab pada sintesis enzim SOD, likopen meningkatkan regulasi ekspresi gen antioksidan dengan melibatkan reseptor estrogen, ERK1/2 (*extracellular-signal regulated kinase*), dan NFκB (*nuclear factor κB*). Likopen berikatan dengan reseptor estrogen mengakibatkan terjadinya fosforilasi secara cepat pada ERK1/2 dan IκB mengakibatkan translokasi subunit P50 dari NFκB menuju inti dan mengakibatkan teraktivasi ekspresi MnSOD (Sulistiyowati,2006).

Hasil tersebut membuktikan ekstrak daging dan kulit putih buah semangka (*Citrullus lanatus*) dapat digunakan sebagai preventif pada tikus (*Rattus novergicus*) yang diberikan paparan obat nyamuk karena dapat meningkatkan aktivitas SOD. Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa dosis pemberian ekstrak daging dan kulit putih buah semangka (*Citrullus lanatus*) sebesar 100 mg/kgBB merupakan dosis terbaik sebagai preventif paparan asap obat nyamuk pada tikus (*Rattus novergicus*).

5.2 Pengaruh Pemberian Ekstrak Buah Semangka (*Citrullus lanatus*) terhadap Kadar *Malondialdehida* (MDA) Serum Tikus (*Rattus norvegicus*) yang Diberi Paparan Asap Obat Nyamuk

Malondialdehida (MDA) terbentuk sebagai suatu senyawa dialdehida yang merupakan hasil reaksi oksidasi radikal bebas dengan lipid membran sel jaringan tubuh atau dengan asam lemak tak jenuh (PUFAs), yang merupakan salah satu penanda adanya stres oksidatif (Suwandi, 2012). *Malondialdehida* (MDA) merupakan biomarker terjadi kerusakan sel, penurunan kadar MDA merupakan salah satu penanda terjadi perbaikan organ (Widyaningsih, 2015). Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh preventif ekstrak daging dan kulit putih buah semangka (*Citrullus lanatus*) pada tikus (*Rattus norvegicus*) yang diberi paparan asap obat nyamuk terhadap penurunan kadar MDA. Pengukuran kadar MDA dilakukan menggunakan spektrofotometer *Shimadzu UV-visible spectrophotometer UV-1601* pada panjang gelombang maksimum (533 nm), hasil ditampilkan pada **Tabel 5.2**.

Tabel 5.2 Rata-Rata Kadar MDA Serum Tikus (*Rattus norvegicus*)

Perlakuan	Rata-rata Kadar MDA ($\mu\text{g/mL}$)	Aktivitas MDA (%)	
		Peningkatan Terhadap Kontrol Negatif	Penurunan Terhadap Kontrol Positif
Kontrol Negatif	1,05 \pm 45,93 ^a	-	-
Kontrol Positif	1,40 \pm 70,00 ^c	25,0%	-
Kelompok Perlakuan 1 (Dosis 25 mg/kgBB)	1,24 \pm 43,28 ^b	-	11,4%
Kelompok Perlakuan 2 (Dosis 50 mg/kgBB)	1,20 \pm 15,48 ^b	-	14,3%
Kelompok Perlakuan 3 (Dosis 100 mg/kgBB)	1,08 \pm 76,41 ^a	-	22,8%

Keterangan: Perbedaan notasi a, b, c menunjukkan ada perbedaan yang signifikan ($p < 0.05$) antara kelompok perlakuan.

Hasil analisa statistik menggunakan *IBM SPSS Statistic 24* menunjukkan bahwa uji normalitas dan homogenitas memiliki hasil data yang terdistribusi normal dan homogen ($p>0.05$) sehingga dilanjutkan dengan uji *one way ANOVA*. Uji *one way ANOVA* menunjukkan bahwa preventif ekstrak buah daging dan kulit putih semangka (*Citrullus lanatus*) dapat meningkatkan kadar MDA secara signifikan. Pada hasil uji *post-hoc* Tukey menunjukkan bahwa kelompok perlakuan preventif ekstrak daging dan kulit putih buah semangka (*Citrullus lanatus*) memiliki perbedaan yang nyata, kecuali pada kelompok P1 dan P2 karena memiliki notasi yang sama.

Kelompok K(-) memiliki kadar MDA paling rendah jika dibandingkan dengan kelompok K(-) lain. Pada **Tabel 5.2**, Kelompok K(-) menunjukkan rata-rata kadar MDA sebesar $1,05 \pm 45,93 \mu\text{g/mL}$, nilai rata-rata kadar MDA pada K(-) digunakan sebagai standart untuk mengetahui adanya peningkatan kadar MDA pada kontrol positif. Pada kelompok K(+) lebih rendah dibandingkan dengan K(-). Berdasarkan hasil analisa statistik menggunakan Uji *post-hoc* Tukey, kelompok K(+) menunjukkan hasil yang berbeda signifikan dengan kelompok K(-), yang ditandai dengan perbedaan notasi. Kelompok K(+) memiliki kadar MDA paling tinggi jika dibandingkan dengan kelompok lain. Pada **Tabel 5.2** K(+) menunjukkan kadar MDA sebesar $1,40 \pm 70,00 \mu\text{g/mL}$, nilai rata-rata kadar MDA pada K(+) digunakan sebagai standart untuk mengetahui ada penurunan kadar MDA pada Kelompok Perlakuan.

Paparan asap obat nyamuk yang mengandung *d-allethrin*, jika masuk ke tubuh secara inhalasi bertindak sebagai radikal bebas yang akan menuju

peredaran darah menuju ke seluruh tubuh (Wulan, 2010). Kandungan radikal bebas dalam obat nyamuk sangat tinggi, dalam satu hisapan sebanyak 10 molekul radikal (Intisari, 2007). Radikal bebas ROS dihasilkan dari fagositosis *d-allethrin* yang dilakukan oleh makrofag dan menghasilkan sel inflamatori (Wahjuni, 2011). Produk dari ROS berupa Hidrogen peroksida (H_2O_2), Radikal Hidroksil (OH), Radikal superoksida (O_2^-), dan Nitrit oksida (NO), senyawa oksigen reaktif ini memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan dan bersifat sangat reaktif yang terbentuk secara bebas di dalam tubuh (Kumalaningsih, 2006). *D-allethrin* dalam obat nyamuk lebih aktif melepaskan hidrogen dari asam lemak rantai panjang tak jenuh (PUFAs) yang menyebabkan peroksidasi lipid dan terjadi kerusakan pada membran lipid dan protein, reaksi berantai oleh radikal bebas ini akan membentuk MDA (Wahjuni, 2011). Pembentukan MDA dapat dilihat pada **Gambar 2.3**, hasil akhir dari reaksi ini akan membentuk hidrogen peroksida, sehingga MDA didalam tubuh kadar akan meningkat (Halliwell and Gutteridge, 2007).

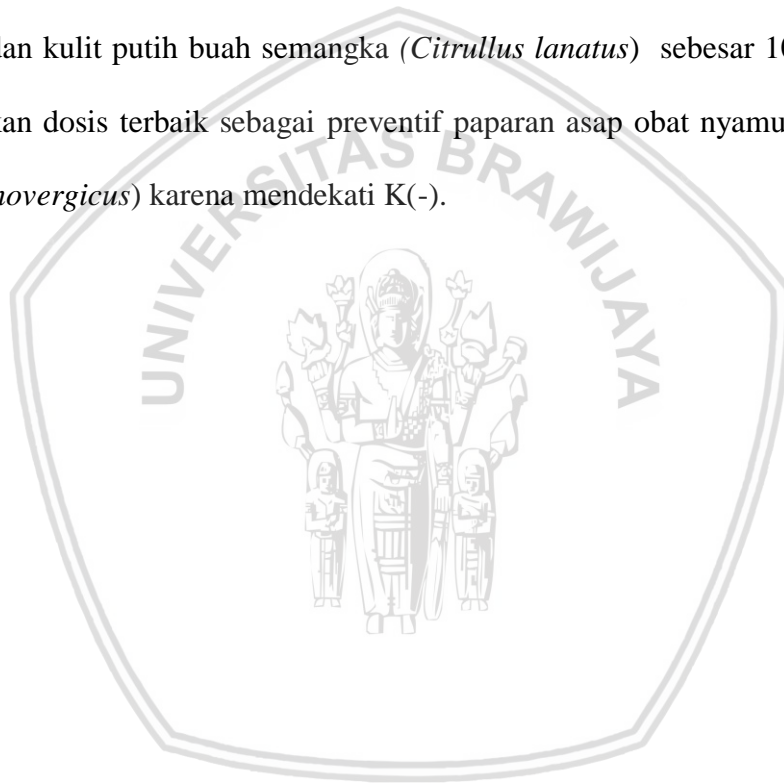
Pada **Tabel 5.2** berdasarkan hasil uji *post-hoc* Tukey P1 dan P2 memiliki notasi yang sama, sedangkan perlakuan 3 menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan K(+) tetapi memiliki notasi yang sama dengan K(-). Kelompok perlakuan dibandingkan dengan K(+) dengan dosis 25 mg/kgBB ($1,24 \pm 43,28 \mu\text{g/mL}$), dosis 50 mg/kgBB ($1,20 \pm 15,48 \mu\text{g/mL}$) dan dosis 100 mg/kgBB ($1,08 \pm 76,41 \mu\text{g/mL}$) mengalami penurunan seiring dengan peningkatan dosis preventif ekstrak daging dan kulit putih buah semangka (*Citrullus lanatus*) sebesar 11,4%, 14,3% dan 22,8%.

Penurunan kadar MDA pada Kelompok perlakuan disebabkan karena pemberian preventif ekstrak buah semangka (*Citrullus lanatus*) memiliki kandungan antioksidan berupa likopen merupakan senyawa pemberi elektron (electron donor) atau reduktan yang memiliki berat molekul kecil, namun mampu menginaktivasi berkembang reaksi oksidasi dengan cara mencegah terbentuknya radikal. Likopen bereaksi dengan radikal bebas peroksil atau hidroksil yang terbentuk dari hidroperoksida yang berasal dari lipid dengan reaksi oksidatif dalam mendonor elektron sehingga tidak berbahaya bagi tubuh. Likopen mempunyai aktivitas antioksidan yang ampuh. Likopen dapat mencegah rusak sel-sel akibat radikal bebas. Kemampuan mengendalikan radikal bebas 100 kali lebih efisien dari pada vitamin E atau 12.500 kali dari pada glutathion (Maulida, 2010).

Kandungan antioksidan ekstrak buah semangka (*Citrullus lanatus*) menghambat proses inisiasi sehingga dapat mencegah pembentukan radikal lipid yang bersifat tidak stabil karena hilang satu atom hidrogen (H) dari molekul lipid akibat radikal hidroksil (OH-) (Dianing, 2014). Likopen dapat menetralsir atau menghancurkan radikal bebas dengan cara berinteraksi langsung dengan oksidan atau radikal bebas, mencegah pembentukan jenis oksigen reaktif, mengubah oksigen reaktif menjadi kurang toksik dan memperbaiki kerusakan yang timbul, Antioksidan bekerja sebagai sebuah sistem untuk menghentikan kerusakan akibat radikal bebas. Likopen menyumbangkan atom hidrogen untuk menangkap radikal hidroksil (OH-) agar tidak menjadi reaktif sehingga mencegah terbentuk radikal bebas, Likopen bekerja melalui penangkapan dan menghilangkan O- pada

peroksida nitrit (ONOO-) yang terbentuk dari nitrit oksida (NO) dengan superoksida (O₂⁻) yang bersifat radikal bebas (Sizer and Whitney, 2000).

Hasil tersebut membuktikan ekstrak daging dan kulit putih buah semangka (*Citrullus lanatus*) dapat digunakan sebagai preventif pada tikus (*Rattus novergicus*) yang diberikan paparan obat nyamuk karena dapat menurunkan kadar MDA. Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa dosis pemberian ekstrak daging dan kulit putih buah semangka (*Citrullus lanatus*) sebesar 100 mg/kgBB merupakan dosis terbaik sebagai preventif paparan asap obat nyamuk pada tikus (*Rattus novergicus*) karena mendekati K(-).



BAB 6 PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan bahwa:

1. Pemberian ekstrak buah semangka (*Citrullus lanatus*) secara preventif pada tikus (*Rattus novergicus*) yang diberi paparan asap obat nyamuk, dapat mencegah penurunan aktivitas SOD dan peningkatan kadar MDA.
2. Dosis 100 mg/kg BB merupakan dosis terbaik yang dapat mencegah penurunan aktivitas SOD 4,85 U/L dan mencegah peningkatan kadar MDA.

5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait peningkatan dosis preventif ekstrak buah semangka (*Citrullus lanatus*) agar hasil yang diperoleh didalam penelitian lebih signifikan lagi.

Kajian ini bisa dimanfaatkan untuk semua kepentingan hewan dan manusia.

DAFTAR PUSTAKA

- Amin, M.H.F, A.P.W. Marhendra, dan Aulanni'am. 2009. *Pengaruh Paparan Lipopolisakarida pada Rongga Mulut dan Assisted Drainage Therapy (Adt) terhadap Kadar S-Ige dan Profil Radikal Bebas Pada Tikus Asma*. Hal:437-443.
- Armitage, D. 2004. *Rattus norvegicus*. *Animal Diversity Web Online*. at: [//animaldiversity.ummz.umich.edu/accounts/Rattus_norvegicus/](http://animaldiversity.ummz.umich.edu/accounts/Rattus_norvegicus/). [06 Januari 2017].
- Arum, S.J. 2011. *Analisa Deskriptif Insektisida yang Beredar di Rumah Tangga. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Vektor dan Reservoir Penyakit*. Salatiga.
- Astuti, S. 2008. Soflavin Kedelai Dan Potensinya Sebagai Penangkap Radikal Bebas. *Jurnal Teknologi Industri dan Hasil Pertanian* Volume 13, No. 2.
- Astuti, S., D. Muchtadi, dan M. Astawan. 2009. Pengaruh Pemberian Tepung Kedelai Kaya Isoflavin Terhadap Kadar Malonaldehid (Mda), Aktivitas Superoksida Dismutase (Sod) Testis Dan Profil Cu,Zn- Sod Tubuli Seminiferi Testis Tikus Jantan. *J.Tekmol. dan Industri Pangan*, Vol. XX No. 2.
- Becker, N., et al. 2010. *Musquitos and Their Control*. Heidelberg:Springer.
- Burits, M dan F. Bucar. 2000. Antioxidant Activity of Nigella Sativa Essential Oil. *Phytother Res*, 14: 323-328
- Dawn, H., M. Hisamoto, K. Hirose, K. Akiyama, dan H. Taniguchi, 2002, Antioxidant Isolated from Leaf Wax of Eucalyptus Leaves, *J. Agric Biol Chem.*, 45, 735-739.
- Dianing, T.H. 2014. *Isolasi Likopen dan Uji Aktivitas Antioksidan dalam Kulit dan Buah Semangka (Citrullus lanatus)*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pakuan Bogor.
- Efrizal, Y.M. 2011. *Analisa Pendapatan, Efisiensi dan Pemasaran Semangka (Citrulus Vulgaris) di Kampung Tempuran Kecamatan Trimurjo Kabupaten Lampung Tengah*. Fakultas Pertanian Universitas Bengkulu.
- Grotto, D., L. Santa Maria, J. Valentini, C. Paniz., G. Schmitt, Solange Cristina Garcia., Valdeci Juarez Pomblum. 2009. *Importance of the Lipid Peroxidation Biomarkers and Methodological Aspects for Malondialdehyde Quantification*. Brazil: Quím. Nova vol.32 no.1 São Paulo.

- Halliwell B and M. Whiteman. 2004. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean?. *British Journal of Pharmacology*. 142: 231-255.
- Halliwell, B and J.M.C. Gutteridge. 2007. *Free Radicals in Biology and Medicine. Fourth edition*. New York: Oxford University Press.
- Halliwell, B. 2006. Reactive Spesies And Antioxidants: Redox Biology Is A Fundamental Theme Of Aerobic Life. *Plant Physiol*. 141:312-322.
- Hazel, Y.M. 2013. *Upaya Pencegahan Malaria oleg Masyarakat di Wilayah Kerja PUSKESMAS Kayeli, Kecamatan Wayapo, Kabupaten Buru, Maluku*. Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Hasanuddin Makassar.
- Intisari, 2007, Bahan Aktif Obat Nyamuk, Available at <<http://www.depkes.go.id>>. Diakses 08 Agustus 2017.
- Iswara, A. 2009. *Pengaruh Pemberian Antioksidan Vitamin C Dan E Terhadap Kualitas Spermatozoa Tikus Putih Terpapar Allethrin*. Skripsi. Universitas Negeri Semarang, Semarang.
- Joharina, A. S., dan S. Alfiah. 2014. Analisis Deskriptif Insektisida Rumah Tangga Yang Beredar Di Masyarakat. *Jurnal Vektora* 4 (1): 23-32.
- Karolin, T. Y, Eti., dan L. Irawati. 2017. Pengaruh Lama Pemaparan Obat Antinyamuk Elektrik-mat Berbahan Aktif Allethrin Terhadap Aktivitas Katalase Tikus. *Jurnal Kesehatan Andalas*. 2017; 6(1).
- Kumalaningsih, S. 2006, *Antioksidan Alami Penangkal Radikal Bebas*. Trubus Agrisarana. Surabaya.
- Kusriningrum. 2008. *Dasar Perancangan Percobaan dan Rancangan Acak Lengkap*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Made S.I. 2016. *Pengaruh Pemberian Jus Semangka Terhadap Penurunan Tekanan Darah Lansia*. Bagian Gizi, Fakultas Kedokteran. Universitas Lampung.
- Maulida, D dan N. Zulkarnaen., 2011. *Ekstraksi Antioksidan (Likopen) dari Buah Tomat dengan Menggunakan Solvent Campuran n-Heksana, Aseton dan Etanol*. Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Diponegoro.
- Muthia,R. 2017. *Uji Aktivitas In Vivo Ekstrak Etanol Buah Semangka (Citrus lanatus L.) Sebagai Diuretik dengan Pembanding Furosemid*. Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Borneo Lestari. Banjarbaru.

- Oseni, O. A. and V. I. Okoye. 2013, Studies of Phytochemical and Antioxidant properties of the Fruit of Watermelon (*Citrullus lanatus*). (Thunb.). *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Sciences*. 27 (27). hal. 508-514.
- Putri, E.P. 2015. *Pengaruh Penggunaan Obat Nyamuk Coil dan Met Elektrik Terhadap Sel Darah Mencit (Mus musculus, L.)*. Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan. Universitas Muhamaddiyah Surakarta.
- Riasman, U. 2012. *Isolasi Dan Karakterisasi Pektin Dari Kulit Buah Semangka (Citrullus Lanatus)*. Skripsi. Kimia Fmipa Universitas Tadulako, Palu.
- Rochmatika, L.D. 2012. Analisis Kadar Antioksidan pada Masker Wajah Berbahan Dasar *Lapisan Putih Kulit Semangka (Citrullus Vulgaris Schrad)*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Yogyakarta.
- Sary , M. A. 2011. *Penerapan Model Kinetika Reaksi untuk Menduga Umur Simpan Likopen dari Buah Semangka (Citrullus Vulgaris Schrad) dalam Kemasan Kapsul*. Skripsi. Program Studi Kimia. FMIPA. Universitas Tadulako, Palu.
- Satiti, T., 2012. Aktivitas Antioksidan Penangkap Radikal Bebas Beberapa Kecambah dari Biji Tanaman Familia Papilionaceae. *Jurnal Farmasi Indonesia* 2 (2). hal. 53-61.
- Savitri, M.N. 2016. Uji efek air perasan albedo semangka kuning (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. & Nakai) terhadap kadar glukosa darah pada tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi aloksan. Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi Manado. *Jurnal e-Biomedik (eBm)*, Volume 4, Nomor 1, Januari-Juni 2016.
- Sayuti, K, dan R. Yenrina. 2015. *Antioksidan Alami dan Sintetik*. Andalas Press. Padang.
- Sigit, S.H dan U.K. Hadi. 2006. *Hama Pemukiman Indonesia (Pengenalan, Biologi dan Pengendalian)*. Bogor. Fakultas Kedokteran Hewan IPB.
- Sizer, F. dan E. Whitney. 2000. *Nutrition Concept and Controversies. America : Thomson Learning Library of Congress Cataloging*.
- Suckow, M.A., H. Steven, C. L. Frangklin. 2006. *The Laboratory Rat Second Edition*. A volume in American College of Laboratory Animal Medicine. Academic Press.2006
- Sulistyowati, Y. 2006. Pengaruh Pemberian Likopen Terhadap Status Antioksidan (Vitamin C, Vitamin E Dan Gluthathion Peroksidase) Tikus (*Rattus*

Norvegicus Galur Sprague Dawley) Hiperkolesterolemik. Tesis. Program Studi Magister Ilmu Biomedik Program Pascasarjana Universitas Diponegoro.

- Suwandi. 2012. *Uji Penangkapan Radikal Bebas DPPH, Penentuan Kandungan Fenolik dan Flavonoid Total dalam Ekstrak Meniran (Phyllanthus urinaria Linn.)*. Skripsi. Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Valko, M., D. Leibfritz, J. Moncol, M. Cronin, M. Mazzur, J. Telser. 2007. Free Radical And Antioxidants In Normal Physiological Functions And Human Disease. *Inter J Biochem Cell Biol. Review* 39: 44-84
- Wahjuni, S. 2011. *Residu Bahan Aktif Asap Obat Nyamuk Bakar yang Terbuat dari Daun Legudi (Vitex trifolia L.) pada Organ Paru Mencit*. Bali. Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana, Bukit Jimbaran. ISM, VOL.1 NO.1, JANUARI-APRIL, HAL.1-6.
- Widyaningsih, W., R. Sativa, I. Primardiana. 2015. Efek Antioksidan Ekstrak Etanol Ganggang Hijau (*Ulva Lactuca L.*) Terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) Dan Aktivitas Enzim Superoksida Dismutase (SOD) Hepar Tikus Yang Diinduksi CCl₄. *Media Farmasi Vol 12(2): 163-175*
- Winarti, Sri. 2010. *Makanan Fungsional*. Surabaya: Graha Ilmu.
- Wulan, C., N.R. Utami, Arya Iswara. *Efek Pemberian Antioksidan Vitamin C dan E terhadap Kualitas Spermatozoa Tikus Putih Terpapar Allethrin*. *Biosaintifika*. Vol. 2 No 1, 2010 : Hal 18-26.
- Yuni, N. A. 2009. *Uji Aktivitas Penangkap Radikal Dpph Oleh Analog Kurkumin Monoketon Dan N-Heteroalifatik Monoketon*. Skripsi. Fakultas Farmasi. Universitas Muhammadiyah Surakarta.