

PENGARUH PREVENTIF EKSTRAK KULIT APEL *ROME BEAUTY* (*Malus sylvestris* Mill) TERHADAP KADAR MALONDIALDEHID (MDA) DAN HISTOPATOLOGI LAMBUNG TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) YANG DIBERI PAPARAN PLUMBUM ASETAT

SKRIPSI

Oleh:

DEVINA ANDINI GHASSANA

155130101111043



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2019**

PENGARUH PREVENTIF EKSTRAK KULIT APEL *ROME BEAUTY* (*Malus sylvestris* Mill) TERHADAP KADAR MALONDIALDEHID (MDA) DAN HISTOPATOLOGI LAMBUNG TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) YANG DIBERI PAPARAN PLUMBUM ASETAT

SKRIPSI

*Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan*

Oleh:

DEVINA ANDINI GHASSANA

155130101111043



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2019**

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

**PENGARUH PREVENTIF EKSTRAK KULIT APEL *ROME BEAUTY*
(*Malus sylvestris* Mill) TERHADAP KADAR MALONDIALDEHID (MDA) DAN
HISTOPATOLOGI LAMBUNG TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) YANG
DIBERI PAPARAN PLUMBUM ASETAT**

Oleh:
DEVINA ANDINI GHASSANA
155130101111043

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

Pembimbing I

Pembimbing II

Dr. Drs. Agung Pramana W. M., M. Si.
NIP. 196506161991111001

drh. Ajeng Erika P. H., M. Si.
NIP. 198905162015042001

Mengetahui,
Dekan Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Brawijaya

Dr. Ir. Sudarminto Setyo Yuwono, M.App.Sc
NIP. 19631216 198803 1 002

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Devina Andini Ghassana
NIM : 155130101111043
Program Studi : Pendidikan Dokter Hewan
Penulis Skripsi berjudul :

Pengaruh Preventif Ekstrak Kulit Apel *Rome Beauty (Malus sylvestris Mill)* Terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) dan Histopatologi Lambung Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Diberi Paparan Plumbum Asetat.

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 risiko yang saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, 20 Januari 2019
Yang menyatakan,

(Devina Andini Ghassana)
NIM. 155130101111043

repository.ub.ac.id

Pengaruh Preventif Ekstrak Kulit Apel *Rome Beauty* (*Malus sylvestris* Mill) terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) dan Histopatologi Lambung Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Diberi Paparan Plumbum Asetat

ABSTRAK

Plumbum (Pb) merupakan salah satu logam berat dan dapat menjadi radikal bebas dalam tubuh hewan yang mengakibatkan terjadi penurunan fungsi dan perubahan struktur jaringan lambung. Apel *Rome Beauty* (*Malus sylvestris* Mill) merupakan salah satu buah yang memiliki kandungan flavonoid tinggi dan berperan sebagai antioksidan dengan memberi ion hidrogen terhadap radikal bebas. Penelitian ini menggunakan hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang dibagi dalam lima kelompok perlakuan, dengan setiap kelompok perlakuan terdiri dari empat ekor hewan coba, yaitu Kelompok A (kontrol negatif), Kelompok B (kontrol positif) dengan pemberian Pb asetat 10 mg/ekor/hari selama 14 hari, dan Kelompok C,D,E (kelompok preventif) dengan pemberian ekstrak kulit apel *Rome beauty* (*Malus sylvestris* Mill) dosis 28 mg/200 g BB, 56 mg/200 g BB, dan 112 mg/200 g BB selama 21 hari. Parameter yang diamati, yaitu kadar MDA lambung yang diukur dengan metode *Thiobarbituric Acid* (TBA) kemudian data kadar MDA dianalisa menggunakan uji *One Way ANOVA*, dilanjutkan dengan uji *Tukey* ($\alpha = 5\%$) dan gambaran histopatologi lambung menggunakan pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE) yang diamati pada mikroskop cahaya dan dianalisa secara deskriptif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kelompok preventif ekstrak kulit apel *Rome Beauty* (*Malus sylvestris* Mill) dengan dosis 112 mg/ 200 g BB mampu mencegah peningkatan kadar MDA secara signifikan ($p < 0.05$) yaitu $82.16 \pm 1.40 \mu\text{g/ml}$ dan mencegah peningkatan kerusakan gambaran histopatologi lambung yang ditunjukkan dengan erosi epitel yang berkurang pada mukosa lambung. Kesimpulan dari penelitian ini, yaitu ekstrak kulit apel *Rome Beauty* (*Malus sylvestris* Mill) mengandung antioksidan yang dapat mencegah kerusakan pada jaringan lambung akibat Pb asetat.

Kata kunci : ekstrak kulit apel *Rome Beauty*, histopatologi, lambung, MDA, Pb asetat.

The Preventive Effect of *Rome Beauty (Malus sylvestris Mill)* Apple Peel's Extract Towards The Malondialdehyde (MDA) Levels and Histopathology of Rat (*Rattus norvegicus*) Stomach Exposed To Plumbum Acetate

ABSTRACT

Plumbum (Pb) is one of heavy metals that can turn into free radicals inside animal's viscera, resulting in the descent and alteration of cell structures of the stomach. Apple of *Rome beauty (Malus sylvestris Mill)* is a fruit with high flavonoid content and contain antioxidant agents by supplying hydrogen ions to the free radicals. This research utilized white rat (*Rattus norvegicus*) divided into five treatment groups, each groups consisted of four test rat. They are Group A (negative control), Group B (positive control) which were given 10 mg of Pb acetate for each rat per day in 14 days, and Group C,D,E (preventive control) which were given the extract of *Rome Beauty (Malus sylvestris Mill)* apple peel within the dosage of 28 mg/200 g BB, 56 mg/200 g BB, and 112 mg/200 g BB for 21 days. The parameter observed were MDA levels stomach, measured with *Thiobarbituric Acid* (TBA). The result was then analyzed with *One Way ANOVA* test, and then was proceeded to the *Tukey* test ($\alpha = 5\%$). The colouring image of stomach histopathology was created by applying Hematoxylin Eosin (HE), which was observed through microscope and was analyzed descriptively. The result of this research exhibited the preventive group which was given *Rome Beauty (Malus sylvestris Mill)* apple peel within the dosage of 112 mg/ 200 g BB was able to halt the increase of MDA levels significantly ($p < 0.05$), which was $82.16 \pm 1.40 \mu\text{g/ml}$ and can prevent the damage of epithelial erosion in the stomach's mucosae. The research concluded that *Rome Beauty (Malus sylvestris Mill)* apple peel contain antioxidant that can prevent the damage of stomach tissue resulted by Pb acetate.

Keywords: histopathology, MDA, *Rome Beauty* apple peel extrect, stomach, Pb acetate.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, karena atas anugerah-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Pengaruh Preventif Ekstrak Kulit Apel *Rome Beauty (Malus sylvestris Mill)* Terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) dan Histopatologi Lambung Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Diberi Paparan Plumbum Asetat”** sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Hewan di Universitas Brawijaya.

Penulis menyampaikan terima kasih kepada seluruh pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan skripsi ini, secara khusus penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Dr. Ir. Sudarminto Setyo Yuwono, M.App.Sc., selaku Dekan FKH UB yang selalu memberikan dukungan tiada henti demi kemajuan FKH UB tercinta.
2. Dr. Drs. Agung Pramana W. M., M. Si., sebagai dosen pembimbing satu yang telah menyempatkan waktu untuk membimbing penulis pada saat penulisan skripsi.
3. drh. Ajeng Erika P. H., M. Si., sebagai dosen pembimbing dua yang juga telah menyempatkan waktu untuk membimbing penulis dalam penulisan skripsi ini.
4. Seluruh dosen yang telah memberikan ilmu dan kolega FKH UB.
5. Teman-teman Pengabdi Mamang dan *Classy Class* yang memberikan dorongan dan inspirasi agar dapat menyelesaikan studi tepat waktu.
6. Keluarga besar penulis yang selalu memberikan nasehat, dukungan, dan doa.

7. Semua pihak yang telah membantu dalam pelaksanaan dan penyusunan skripsi ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Penulis sadar bahwa penulisan skripsi ini jauh dari sempurna. Penulis berharap semoga Allah SWT membalas segala kebaikan yang telah diberikan dan skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis dan pembaca, untuk itu saran yang membangun sangat penulis harapkan.

Malang, 20 Januari 2019

Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
LEMBAR PERNYATAAN	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG	xiv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Batasan Masalah.....	5
1.4 Tujuan Penelitian.....	6
1.5 Manfaat Penelitian.....	6
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1 Apel Rome Beauty (<i>Malus sylvestris</i> Mill)	7
2.2 Plumbum Asetat	9
2.3 Patofisiologi Keracunan Plumbum Asetat	10
2.4 Malondialdehid (MDA).....	13
2.5 Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>).....	14
2.6 Lambung.....	15
2.6.1 Anatomi dan Histologi Lambung	15
2.6.2 Fisiologi Lambung.....	18

BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN	19
3.1 Kerangka Konseptual	19
3.2 Hipotesis Penelitian	22
BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN	23
4.1 Waktu dan Tempat	23
4.2 Alat dan Bahan	23
4.3 Tahapan Penelitian	24
4.3.1 Rancangan Penelitian	24
4.3.2 Penetapan Sampel Penelitian	25
4.3.3 Variabel Penelitian	25
4.4 Prosedur Kerja	26
4.4.1 Persiapan Hewan Coba	26
4.4.2 Pembuatan dan Pemberian Ekstrak Kulit Apel <i>Rome Beauty</i> (<i>Malus sylvestris</i> Mill)	26
4.4.3 Pemberian Plumbum Asetat	27
4.4.4 Pengambilan Organ Lambung Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	28
4.4.5 Pengukuran Kadar Malondialdehid (MDA) Lambung	28
4.4.6 Pembuatan dan Pembacaan Preparat Histopatologi Lambung Pewarnaan Hematoksin Eosin (HE)	29
4.5 Analisa Data	32
BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN	33
5.1 Pengaruh Pemberian Preventif Ekstrak Kulit Apel <i>Rome Beauty</i> (<i>Malus sylvestris</i> Mill) Terhadap Kadar MDA Lambung Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>) yang Dipapar Pb Asetat	33
5.2 Pengaruh Pemberian Preventif Ekstrak Kulit Apel <i>Rome Beauty</i> (<i>Malus sylvestris</i> Mill) Terhadap Histopatologi Lambung Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>) yang Dipapar Pb Asetat	36
BAB 6 PENUTUP	40
6.1 Kesimpulan	40
6.2 Saran	40
DAFTAR PUSTAKA	41
LAMPIRAN	47

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
4.1 Rancangan Penelitian.....	24
4.2 Data Hasil Kadar Malondialdehid (MDA) pada Kelompok Perlakuan	33



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Buah Apel <i>Rome Beauty</i> (<i>Malus sylvestris</i> Mill)	8
2.2 Kerangka Flavonoid dan Quarcetin	8
2.3 Struktur Logam Pb Berikatan dengan Gugus Sulfhidril	11
2.4 Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	15
2.5 Anatomi Lambung Mamalia	16
2.6 Histologi Lambung Tikus Bagian Pylorus	16
2.7 Histologi Lambung Tikus Bagian Fundus	17
3.1 Bagan Kerangka Konseptual.....	19
5.1 Histopatologi Lambung Tikus dengan Pewarnaan Hematoksilin Eosin (HE) (Perbesaran 100x dan 400x)	36

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Kerangka Operasional Penelitian.....	48
2. Sertifikat Laik Etik.....	49
3. Pembuatan Ekstrak Kulit Apel Varietas <i>Rome Beauty</i>	50
4. Hasil Uji Kualitatif Ekstrak Kulit Apel Varietas <i>Rome Beauty</i>	51
5. Perhitungan Dosis Ekstrak Kulit Apel <i>Rome Beauty</i> dan Dosis Pb Asetat	52
6. Pengambilan Organ Pada Hewan Coba	53
7. Pengukuran Kadar MDA Lambung Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	54
8. Pembuatan dan Pembacaan Preparat Histopatologi Lambung Pewarnaan Hematoksilin Eosin (HE)	55
9. Dokumentasi Penelitian	57
10. Analisa Statistik Menggunakan SPSS.....	59

DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

Simbol/singkatan	Keterangan
%	Persen
°C	Derajat Celcius
μL	Mikroliter
HE	Hematoksin Eosin
kg	Kilogram
l	Liter
MDA	Malondialdehida
mg	Miligram
ml	Mililiter
Nm	Nanometer
Pb	Plumbum
PUFA	<i>Poly Unsaturated Fatty Acid</i>
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
Rpm	Rotasi Per Menit
TBA	<i>Tiobarbituturic Acid</i>



BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Perkembangan modernisasi dan aktivitas industri di Indonesia kian meningkat seiring kemajuan ilmu, teknologi, dan kebutuhan masyarakat. Aplikasi modernisasi, antara lain penggunaan kendaraan dan aktivitas industri yang dapat menyebabkan pencemaran lingkungan, baik pada udara, tanah, maupun air. Salah satu penyebab pencemaran lingkungan, yaitu timbal (Plumbum/Pb), dimana Pb banyak dimanfaatkan dalam aktivitas manusia, seperti penggunaan Pb pada pipa ledeng dan saluran pembuangan, sebagai bahan bakar kendaraan, bahan pembuat baterai, pewarna cat, penutup kabel, dan pestisida. Timbal (Plumbum/Pb) dapat berdampak pada kesehatan manusia maupun hewan melalui makanan (65%), air (20%), dan udara (15%) (Tiwari dan Tripathi, 2012).

Pencemaran Pb pada hewan ternak dapat dipengaruhi oleh sumber pakan ternak, seperti pakan yang berasal dari lahan pertanian dimana rumput dan tanaman lain dapat terkontaminasi Pb dari pestisida dan pupuk yang digunakan. Pupuk nitrat yang digunakan dalam kegiatan pertanian mengandung Pb, yaitu 2-27 mg/ kg dan kandungan Pb pada pupuk kompos, yaitu 1.3-2240 mg/ kg (Charlena, 2004). Sumber pakan pada peternakan sapi potong di Kabupaten Deliserdang, Medan berasal dari limbah pertanian sebesar 40% sehingga pada sampel hati sapi dari peternakan tersebut mengandung Pb sebesar 0.078-1.230 ppm, berdasarkan SNI 7378 tahun 2009 tentang batas cemaran Pb dalam pangan, apabila kadar Pb dibawah 2 ppm maka hati sapi aman dikonsumsi (Irasanti dkk.,

2012). Hasil pertanian yang mengandung Pb apabila dijadikan pakan ternak dapat menyebabkan keracunan. Menurut Darmono (2006), konsentrasi Pb pada pakan dapat menimbulkan keracunan kronis pada sapi dewasa yang mengkonsumsi pakan 7 mg/kg/hari dan 600-800 mg/kg menyebabkan keracunan akut. Kandungan Pb pada pakan yang dikonsumsi ternak dapat berdampak pada daging yang berasal dari ternak tersebut, konsumsi daging yang mengandung Pb menyebabkan mual, muntah, lesu, dan diare pada responden di desa Tebuwung, Gresik (Wibowo dan Mukono, 2014).

Timbal (Plumbum/Pb) masuk kedalam tubuh dapat melalui saluran pernapasan (inhalasi), saluran pencernaan (oral), dan kulit (dermal) (Denny, 2005). Timbal (Plumbum/Pb) yang diabsorpsi dari saluran pernapasan, pencernaan, ataupun kulit akan diangkut oleh darah ke organ-organ lain (Anies, 2005). Timbal (Plumbum/Pb) kemudian diekskresikan bersama bahan sisa metabolisme tubuh melalui urin (75-80%) dan feses (15%) (Palar, 2004). Paparan Pb jangka panjang dapat menyebabkan keracunan yang berdampak pada penurunan fungsi atau kerusakan sistem saraf pusat, paru-paru, hati, ginjal, dan organ vital lain, serta gangguan neurologis (Tiwari dan Tripathi, 2012).

Timbal (Plumbum/Pb) asetat yang masuk kedalam tubuh secara oral dapat mempengaruhi organ-organ pencernaan, salah satu lambung. Timbal (Plumbum/Pb) akan menjadi ion Pb^{2+} yang mempunyai atom bebas pada lapisan luar dan menjadi radikal bebas dalam tubuh (Pala, 2007). Radikal bebas merupakan suatu molekul relatif tidak stabil, dimana atom pada orbit luar memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan (Robbins, 2007), sehingga

untuk mencapai kestabilan, maka radikal bebas akan mencari pasangan elektron dari molekul lain. Timbal (Plumbum/Pb) dapat meningkatkan jumlah *Reactive Oxygen Species* (ROS), dimana golongan ROS yang paling reaktif yaitu radikal hidroksil ($\cdot\text{OH}$) yang dapat menyebabkan terjadinya peroksidasi lipid pada membran sel yang tersusun dari *Poly Unsaturated Fatty Acid* (PUFA), yang memiliki ikatan rangkap karbon-karbon ($\text{C}=\text{C}$) (Catala, 2010). Reaksi ikatan antara radikal bebas dengan lipid tersebut disebut dengan reaksi peroksidasi lipid. Produk akhir dari peroksidasi lipid, yaitu malondialdehid (MDA) yang dapat menyebabkan kerusakan fungsi membran dan meningkatkan permeabilitas jaringan (Khennouf dkk., 2010).

Toksistas Pb asetat menyebabkan kerusakan jaringan lambung, dimana pada preparat histopatologi ditemukan banyaknya neutrofil yang terinfiltrasi ke dalam sel-sel lambung (Aziz dan Marianti, 2014), mengalami hemoraghi, dan erosi sel epitel (Kasari, 2017). Pengaruh Pb dengan dosis 10 mg/kg BB menyebabkan kadar MDA serum tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan mengalami peningkatan, dengan rerata 10,7000 $\mu\text{g/ml}$ dibandingkan dengan rerata serum kontrol, yaitu 8,7060 $\mu\text{g/ml}$ (Asterina, 2014).

Tubuh membutuhkan antioksidan untuk melindungi tubuh dari kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menangkal atau meredam dampak negatif dari oksidan yang bekerja dengan cara memberikan satu elektron kepada senyawa radikal bebas, sehingga aktivitasnya dapat dihambat (Sayuti dan Yenrina, 2015). Salah satu buah yang memiliki kandungan antioksidan, yaitu buah apel, baik bagian daging buah ataupun kulit.

Apel mengandung beberapa senyawa flavonoid, seperti *catechin*, *quarcetin*, *procyanidin*, dan vitamin C. Kulit apel lebih banyak mengandung senyawa flavonoid, sehingga aktivitas antioksidannya lebih tinggi dibandingkan daging buah (Boyer dan Liu, 2004). Flavonoid berperan sebagai antioksidan dengan memberikan atom hidrogen terhadap radikal bebas (Silasahi, 2006). Senyawa fenolik dalam 100 g kulit apel *Rome Beauty* sebesar $500,2 \pm 13,7$ mg (Wolfe dan Liu, 2003). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Octaviany (2017), pemberian ekstrak kulit apel *Rome Beauty* dapat menurunkan enzim SGPT tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diberi paparan CCl_4 hingga ke nilai normal.

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh terapi preventif ekstrak kulit apel *Rome Beauty* terhadap kadar MDA dan gambaran histopatologi lambung pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diberi paparan Pb asetat.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang, dirumuskan permasalahan sebagai berikut:

1. Apakah pemberian preventif ekstrak kulit apel *Rome Beauty* (*Malus sylvestris* Mill) dapat mencegah peningkatan kadar MDA lambung pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diberi paparan Pb asetat?
2. Apakah pemberian preventif ekstrak kulit apel *Rome Beauty* (*Malus sylvestris* Mill) dapat mencegah kerusakan jaringan lambung tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diberi paparan Pb asetat?

1.3 Batasan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka penelitian ini dibatasi pada:

1. Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu berjumlah 20 ekor, berumur 8-10 minggu, dan berat badan rata-rata 150-200 gram yang diperoleh dari Laboratorium Biologi Fakultas SAINTEK Universitas Islam Negeri (UIN) Malang.
2. Kulit apel *Rome Beauty (Malus sylvestris Mill)* yang digunakan diperoleh dari penjual apel *Rome Beauty* Batu yang diberikan selama 21 hari berturut-turut dengan dosis 28 mg/200 g BB, 56 mg/200 g BB, dan 112 mg/200 g BB untuk masing-masing tikus putih (*Rattus norvegicus*) pada setiap perlakuan.
3. Timbal (Plumbum/Pb) asetat yang digunakan diperoleh dari Panadia kota Malang. Pemberian Pb asetat diberikan sebanyak 10 mg/ekor/hari yang diberikan dalam bentuk serbuk (Pb asetat) yang dilarutkan dengan *aquadest* dan diberikan selama 14 hari yang dimulai dari hari ke 15-28 (Suprijono dkk., 2011).
4. Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah kadar MDA lambung yang diukur dengan metode TBA dan gambaran histopatologi lambung pewarnaan HE yang diamati secara kualitatif dengan mikroskop cahaya *Olympus BX51®*.

1.4 Tujuan Penelitian

Berdasarkan latar belakang, tujuan dari penelitian ini, sebagai berikut:

1. Mengetahui pengaruh pemberian preventif ekstrak kulit apel *Rome Beauty* (*Malus sylvestris* Mill) dalam mencegah peningkatan kadar MDA lambung tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diberi paparan Pb asetat.
2. Mengetahui pengaruh pemberian preventif ekstrak kulit apel *Rome Beauty* (*Malus sylvestris* Mill) dalam mencegah kerusakan gambaran histopatologi lambung tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diberi paparan Pb asetat.

1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat tentang pemanfaatan pemberian ekstrak kulit apel *Rome Beauty* (*Malus sylvestris* Mill) sebagai anternalif antioksidan untuk pencegahan kerusakan organ akibat Pb asetat.

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Apel *Rome Beauty*

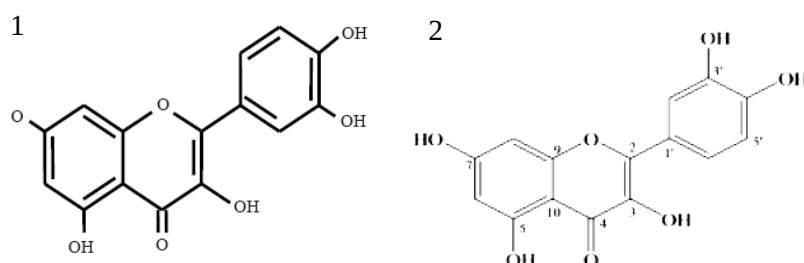
Apel *Rome Beauty* merupakan salah satu buah lokal yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat karena mudah didapatkan. Apel dapat dimanfaatkan sebagai antioksidan untuk melindungi organ tubuh dari kerusakan akibat radikal bebas karena mengandung beberapa senyawa flavonoid, seperti *catechin*, *quercetin*, *procyanidin*, dan vitamin C. Senyawa fenolik dalam 100 g kulit apel *Rome Beauty* sebesar $500,2 \pm 13,7$ mg (Wolfe dan Liu, 2003). Kulit apel lebih banyak mengandung senyawa fenol, sehingga aktivitas antioksidan lebih tinggi dibandingkan daging buah (Boyer dan Liu, 2004). Menurut Sufrida (2007), taksonomi dari apel yaitu:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledone
Ordo	: Rosales
Familia	: Rosaceae
Genus	: Malus
Spesies	: <i>Malus sylvestris</i> Mill



Gambar 2.1 Buah Apel Rome Beauty (*Malus sylvestris* Mill) (Solikha, 2016).

Flavonoid merupakan senyawa fenolik alam yang potensial sebagai antioksidan, sehingga dapat melawan proses peroksidasi lipid (Arai, 2000). Flavonoid memiliki struktur kimia $C_6-C_3-C_6$ dan dikelompokkan menjadi beberapa golongan berdasarkan pada pola substitusi pada kedua cincin aromatik dan pola yang berbeda pada C_3 menjadi flavon, flavonol, flavanon, isoflavon, dan antosianidin (Pietta, 2000). Flavonoid memiliki fungsi sebagai anti-inflamasi, kardioprotektif, anti-diabetes, anti kanker, anti penuaan, dan antioksidan (Vanessa dkk., 2014). Flavonoid berperan sebagai antioksidan dengan cara menangkap radikal bebas karena mengandung gugus hidroksil dan dapat bertindak dengan memberikan atom hidrogennya terhadap radikal bebas (Silasahi, 2006).



Gambar 2.2 Kerangka $C_6-C_3-C_6$ Flavonoid (1) (Redha, 2010) dan Struktur Senyawa Quercetin (2) (Harizon dkk, 2015).

Senyawa *cathecin* merupakan salah satu flavonoid dalam apel yang dapat menurunkan terjadi penyakit jantung koroner dan mencegah bahaya radikal bebas

(Arts, 2001). Senyawa *procyanidin* berfungsi untuk mencegah LDL dalam menimbulkan kerusakan oksidatif dan menurunkan risiko terjadi kanker (Prior, 2006).

Senyawa *quercetin* dalam apel memiliki jumlah yang tinggi, dimana 100 gram buah apel, terkandung sekitar 4,42 mg *aglikon quercetin* dan 13,2 mg *glikosida quercetin* (Boyer dan Liu, 2004). Jenis antioksidan terbanyak pada buah apel, yaitu *quercetin*. Senyawa ini memiliki sifat antioksidan karena mampu untuk menangkap radikal bebas dan mengurangi peroksidasi lipid (Octaviany dkk., 2017).

2.2 Plumbum Asetat

Timbal atau plumbum yang disimbolkan dengan Pb merupakan logam golongan IV-A dalam tabel periodik unsur kimia dengan nomor atom 82. Logam ini berwarna kebiruan, memiliki titik leleh 327°C, dan pada suhu 55-600°C (Palar, 2012).

Sumber keberadaan Pb dapat ditemukan secara alami di bebatuan sekitar 13 mg/kg, tanah berkisar 5 – 25 mg/kg, dan dibawah air tanah. Sumber Pb juga ditemukan pada bahan bakar kendaraan melalui knalpot, dan industri yang memanfaatkan Pb sebagai bahan baku maupun bahan penolong, seperti industri pengecoran, pembuatan baterai, kabel, serta industri kimia dalam pembuatan cat (Sudarmaji, 2006).

Plumbum asetat bersifat larut dalam air dan ditemukan terkandung didalam kosmetik sebagai produk pewarna rambut dan *lotion*. Pewarna rambut

mengandung Pb asetat dengan konsentrasi 2300-6000 mg/kg dan kulit tangan dapat terpapar 150-700 µg Pb asetat selama mengaplikasikan pewarna rambut (IARC, 2006).

Proses Pb masuk kedalam tubuh dapat melalui saluran pernapasan (inhalasi), saluran pencernaan (oral), dan kulit (dermal) (Denny, 2005). Jumlah Pb yang terabsorpsi melalui makanan hanya sekitar 5-10%, sedangkan jumlah Pb yang terhirup sekitar 30% yang akan diserap oleh tubuh dan dari jumlah yang terserap tersebut hanya 15% yang akan mengendap pada jaringan tubuh, sedangkan sisa akan diekskresikan bersama bahan sisa metabolisme tubuh melalui urin (75-80%) dan feses (15%) (Palar, 2004).

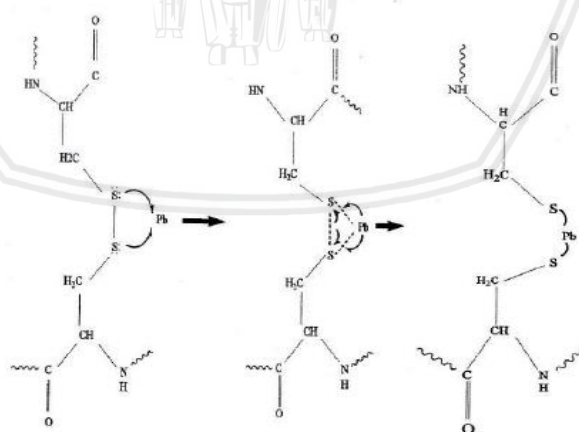
Ambang batas toksik Pb pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) per-oral, yaitu 790 mg/kg dengan pemaparan <14 hari dan ambang batas toksik >14 hari, yaitu 1100 mg/kg (Napitupulu, 2008). Dosis lethal Pb asetat pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yaitu 11000 mg/kg yang diberikan per-oral (SNI, 2009).

2.3 Patofisiologi Keracunan Plumbum Asetat

Keracunan Pb terjadi ketika Pb masuk kedalam tubuh melalui saluran pernafasan, oral, ataupun penetrasi melalui permukaan kulit (Naria, 2005). Pemaparan Pb melalui minuman (oral) dapat berasal dari air minum yang dikonsumsi karena Pb terkandung didalam pipa air dan kran air (Suciani, 2007; Agustina, 2010). Air minum yang disalurkan lewat pipa yang dilapisi Pb akan menyebabkan kandungan Pb yang terlarut dalam air menjadi tinggi, dimana pemaparan dalam jangka waktu lama akan menyebabkan efek kronis, *World Health*

Organization (WHO) menetapkan nilai ambang batas Pb dalam air minum yaitu 0,01 mg/l (Aziz dan Marianti, 2014). Timbal (Plumbum/Pb) asetat yang masuk per-oral kedalam tubuh dapat mempengaruhi organ-organ pencernaan, salah satu adalah lambung. Pada lambung terjadi pencernaan makanan secara mekanik oleh dinding lambung dan pencernaan kimiawi oleh enzim-enzim pencernaan. Timbal (Plumbum/Pb) secara langsung dapat menghambat kerja enzim. Hal ini terjadi karena senyawa Pb yang masuk kedalam tubuh akan menjadi ion Pb^{2+} yang bersifat menghambat kerja enzim proteolitik (Lu, 2006).

Timbal (Plumbum/Pb) asetat berasal dari reaksi melarutkan timbal oksida dalam asam asetat $PbO + 2 CH_3COOH \rightarrow Pb(CH_3COO)_2 + H_2O$ (Wiberg dkk., 2001), Pb asetat didalam tubuh akan terpecah oleh sitokrom P450 menjadi senyawa yang lebih sederhana dalam bentuk Pb^{2+} agar dapat diekskresikan oleh tubuh (Suhartono, 2016).



Gambar 2.3 Struktur Logam Pb Berikatan dengan Gugus Sulfhidril (Wiratama, 2018).

Timbal (Plumbum/ Pb) dapat berikatan dengan enzim yang memiliki gugus sulfhidril (-SH), ikatan ini menyebabkan penurunan fungsi enzim-enzim antioksidan, seperti *Superoxidedismutase* (SOD), dan *Catalase* (CAT). Enzim

SOD berfungsi untuk mengubah radikal superoksida ($\cdot\text{O}_2^-$) menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2) di mitokondria, sedangkan enzim CAT berperan dalam pemecahan senyawa hidrogen peroksida (H_2O_2) menjadi air (H_2O) dan oksigen (O_2). Apabila fungsi enzim SOD menurun maka radikal superoksida ($\cdot\text{O}_2^-$) yang merupakan radikal bebas akan meningkat didalam tubuh. Hidrogen peroksida (H_2O_2) yang tidak diubah menjadi air (H_2O) dan oksigen (O_2) oleh enzim CAT dapat membentuk radikal hidroksil ($\text{OH}\cdot$) apabila bereaksi dengan logam besi (Fe^{2+}) (Suhartono, 2016). Radikal hidroksil ($\text{OH}\cdot$) merupakan ROS yang dapat menyebabkan peroksidasi lipid pada membran sel yang tersusun dari PUFA yang memiliki ikatan rangkap karbon-karbon ($\text{C}=\text{C}$) (Catala, 2010). Reaksi ikatan antara radikal bebas dengan lipid tersebut disebut dengan reaksi peroksidasi lipid. Reaksi peroksidasi lipid terdiri dari tiga tahap utama, yaitu inisiasi, propagasi, dan terminasi. Tahap inisiasi, radikal hidroksil ($\cdot\text{OH}$) mengambil sebuah atom hidrogen dari PUFA (LH) sehingga terbentuk radikal lipid ($\text{L}\cdot$). Tahap propagasi, yaitu radikal lipid yang terbentuk akan berikatan dengan oksigen (O_2) yang membentuk peroksil lipid ($\text{LOO}\cdot$), peroksil lipid berikatan dengan PUFA yang lain untuk mengambil atom hidrogen yang menghasilkan peroksida lipid ($\text{LOOH}\cdot$) dan radikal lipid ($\text{L}\cdot$). Tahap terminasi, terjadi reaksi antara suatu radikal dengan non radikal menghasilkan suatu radikal baru (Catala, 2010), sehingga menimbulkan stress oksidatif pada sel mukosa lambung yang dapat mengarah pada terjadinya kerusakan pada dinding lambung (Marianti dan Aziz, 2014). Integritas sel-sel epitel sebagai lapisan pertahanan pada dinding lambung juga menurun sehingga merusak lapisan mukosa lambung dan terjadi abnormalitas

pada sel mukosa lambung (Mustaba, 2012). Hasil akhir dari reaksi peroksidasi lipid, yaitu MDA yang merupakan *biomarker* untuk menilai terjadinya stress oksidatif dalam tubuh (Singh dkk., 2014).

2.4 Malondialdehida (MDA)

Malondialdehid (MDA) merupakan *biomarker* untuk menilai stress oksidatif di bidang biomedis (Singh dkk., 2014). Malondialdehid (MDA) juga merupakan produk akhir dari peroksidasi lipid yang dapat meningkatkan permeabilitas jaringan (Khennouf dkk., 2010). Peroksidasi lipid adalah fenomena rantai yang menghasilkan pembentukan berbagai senyawa aktif yang dapat menyebabkan kerusakan seluler (Singh dkk., 2014). Reaksi peroksidasi lipid terjadi karena Pb dapat meningkatkan jumlah ROS, dimana golongan ROS yang paling reaktif yaitu radikal hidroksil ($\cdot\text{OH}$), sehingga menyebabkan terjadinya peroksidasi lipid pada membran sel yang tersusun dari PUFA yang memiliki ikatan rangkap karbon-karbon ($\text{C}=\text{C}$) (Catala, 2010). Radikal lipid yang terbentuk akan berikatan dengan oksigen membentuk rantai radikal bebas. Rantai radikal bebas tersebut akan berikatan dengan radikal lipid atau rantai radikal bebas lain dimana reaksi tersebut terjadi secara berantai, sehingga akan menimbulkan stress oksidatif (Marianti dan Aziz, 2014).

Keunggulan MDA sebagai *biomarker* untuk stress oksidatif, antara lain pembentukan MDA yang meningkat sesuai dengan stress oksidatif, bersifat stabil dalam sampel cairan tubuh yang diisolasi, pengukuran tidak dipengaruhi oleh

kandungan lemak, serta dapat dideteksi pada semua jaringan tubuh dan cairan biologis (Llurba, 2004).

Malondialdehid (MDA) dapat dilakukan dengan analisa metode *Thiobarbituric Acid* (TBA) dimana MDA dapat melakukan reaksi pertambahan nukleofilik dengan *Thiobarbituric Acid* (TBA) membentuk senyawa MDA-TBA berwarna merah jambu, yang dapat diukur intensitas dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 532 nm (Janero, 1990). Kadar MDA berbanding lurus dengan jumlah radikal bebas (Sholichah dkk., 2012).

2.5 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) merupakan salah satu hewan yang sering digunakan untuk percobaan laboratorium dimana terdapat tiga macam strain, yaitu *Sprague Dawley*, *Long Evans*, dan *Wistar*. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) mempunyai beberapa sifat yang menguntungkan sebagai hewan uji penelitian, antara lain perkembangbiakan cepat, ukuran lebih besar dibandingkan mencit, dan mudah dipelihara dalam jumlah yang banyak. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) sebagai hewan coba dalam penelitian dapat bermanfaat karena memiliki organ, sistem reproduksi, pernafasan, peredaran darah, dan eksresi yang menyerupai manusia (Bredo, 2011). Ciri-ciri morfologis tikus putih (*Rattus norvegicus*) yaitu albino, kepala kecil, ekor lebih panjang dibandingkan badan, memiliki indra pembau yang tajam, dan pertumbuhan cepat. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) termasuk hewan yang bersifat poliestrus, memiliki siklus reproduksi yang pendek (berkisar 4-5 hari). Sekali beranak tikus putih (*Rattus norvegicus*) dapat

menghasilkan hingga 15 ekor, namun rata-rata 9 ekor (Akbar, 2010). Klasifikasi tikus putih menurut Akbar (2010) sebagai berikut:

Klasifikasi	: Animalia
Filum	: Chordata
Kelas	: Mamalia
Ordo	: Rodentia
Subordo	: Odontoceti
Familia	: Muridae
Genus	: Rattus
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i>



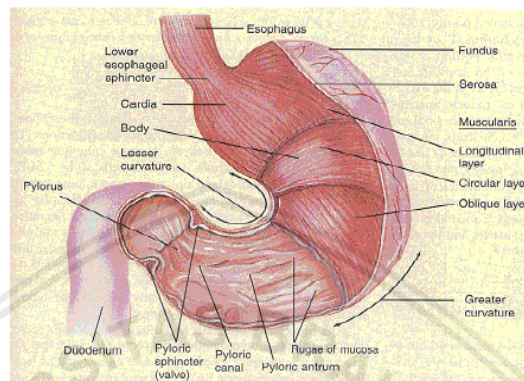
Gambar 2.4 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) (Akbar, 2010).

2.6 Lambung

2.6.1 Anatomi dan Histologi Lambung

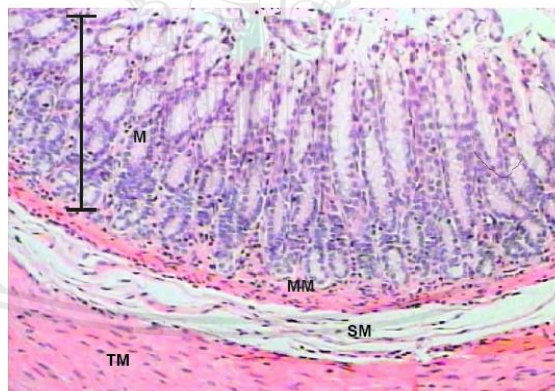
Lambung tikus putih (*Rattus norvegicus*) terletak disebelah kiri ruang abdomen dan berdekatan dengan hati. Secara anatomis, lambung mamalia dibagi atas 4 regio, yaitu *cardia*, *fundus*, *corpus*, dan *pilorus*. Cardia merupakan zona pembatas dekat *gastrophageal junction* dengan luas yang kecil. Fundus merupakan regio yang terletak disebelah kiri dari esofagus. Regio corpus

merupakan bagian terluas dari lambung (kurang lebih 2/3 bagian lambung) yang membentang dari fundus inferior sampai ke pilorus. Pilorus merupakan bagian berbentuk corong dengan perluasan kerucut (Miller, 1996).



Gambar 2.5 Anatomi Lambung Mamalia (Puspitasari, 2008).

Secara histologis, lambung dapat dibedakan menjadi beberapa bagian, yaitu mukosa, submukosa, muskularis mukosa, dan serosa (**Gambar 2.6**).

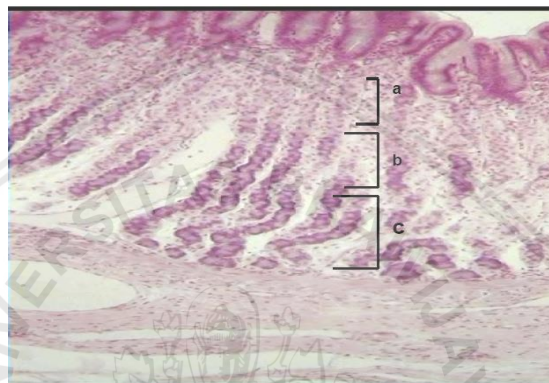


Gambar 2.6 Histologi Lambung Tikus Bagian Pilorus (Puspitasari, 2008).

Keterangan: M : Mukosa
MM : Muskularis Mukosa
SM : Submukosa
TM : Tunika Muskularis

Lapisan mukosa lambung berbentuk irreguler seperti tiang, membentuk lipatan longitudinal yang disebut *rugae*, dan terdiri dari tiga komponen, yaitu epitelium, lamina propia, dan muskularis mukosa. Bagian luar lapisan mukosa dibatasi oleh

selapis otot polos, yaitu mukosa muskularis. Lamina propria terletak dibawah epitel dan lapisan dibawah lamina propria mengandung kelenjar lambung (Bringman dkk., 1995; Gartner dan Hiatt, 2001). Kelenjar lambung berbentuk tubular dan dibagi menjadi tiga daerah, yaitu isthmus, leher, dan basal (**Gambar 2.7**).



Gambar 2.7 Histologi Kelenjar Lambung Tikus Bagian Fundus (Puspitasari, 2008).

Keterangan: a : Isthmus
b : Leher
c : Basal

Kelenjar lambung terbentuk dari empat jenis sel, yaitu sel-sel lendir leher, sel-sel utama (*Chief cell/peptic cells*), sel-sel parietal (sel oksintik), dan sel-sel enteroendokrin. Sel-sel lendir leher berukuran lebih kecil dari sel permukaan, bersifat basofil, dan berfungsi untuk mensekresikan mukus. Sel-sel utama (*Chief cell/peptic cells*) melapisi bagian bawah kelenjar lambung, bersifat basofil, serta mengandung mitokondria dan granula sekresi yang mengandung pepsinogen. Sel-sel parietal (sel oksintik) berbentuk bulat telur dengan ukuran besar dan bersifat asidofil. Sel enteroendokrin tersebar diantara membran dasar dan sel-sel utama (*Chief cell*) yang berfungsi mengatur komposisi sekresi lambung (air, enzim dan kadar elektrolit), motilitas dinding usus, proses penyerapan, dan penggunaan makanan (Bringman dkk., 1995; Gartner dan Hiatt, 2001).

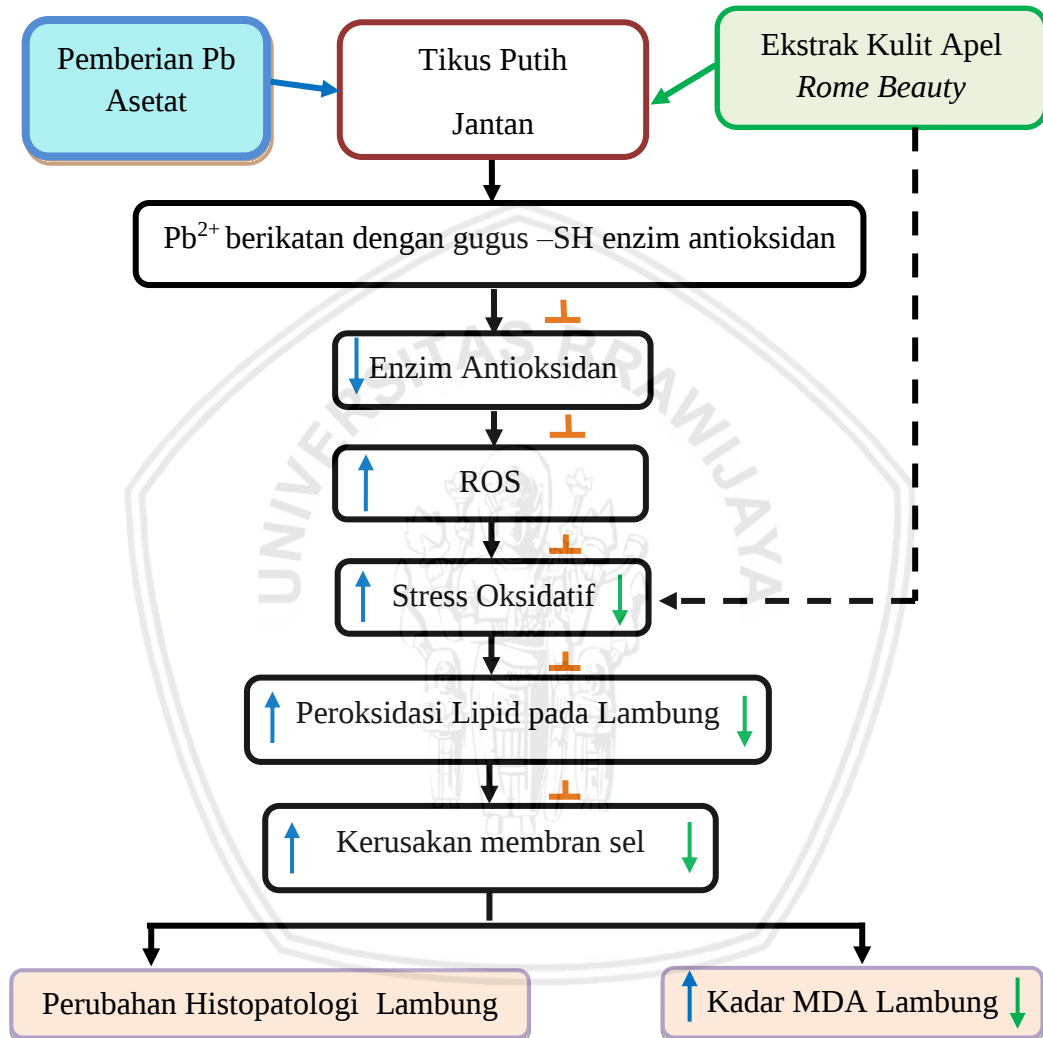
Lapisan submukosa terletak dibawah lapisan mukosa yang bersifat fibroelastis dan terdiri dari pembuluh darah, pembuluh limfatika, dan syaraf (Bringman 1995). Tunika muskularis yang terdapat dibawah lapisan submukosa terdiri dari tiga lapis otot. Lapisan dalam berupa lapisan *oblique*, lapisan tengah berupa lapisan otot sirkuler, dan lapisan luar berupa lapisan otot longitudinal. Lapisan paling luar yang melapisi saluran pencernaan adalah lapisan serosa atau adventisia yang tersusun dari jaringan longgar yang mengandung lemak, pembuluh darah, dan syaraf (Gartner dan Hiatt, 2001).

2.6.2 Fisiologi Lambung

Lambung memiliki fungsi sebagai fungsi pencernaan dan fungsi motorik. Mukosa lambung memiliki 2 kelenjar tubular yang penting yaitu kelenjar oksintik (gastrik) yang berfungsi membentuk asam dengan mensekresikan mukus, asam hidroklorida (HCl), dan pepsinogen, sedangkan kelenjar pilorik berfungsi untuk mensekresikan mukus untuk melindungi mukosa pilorus, pepsinogen, renin, dan lipase lambung. Fungsi motorik lambung, antara lain untuk penyimpanan sejumlah besar makanan, pencampuran makanan dengan sekresi lambung hingga membentuk suatu campuran setengah cair yang disebut kimus (*chyme*) (Guyton dan Hall, 1997).

BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konseptual



Gambar 3.1 Kerangka konseptual

Keterangan:

- | | |
|------------------|----------------------------|
| ↓ : Mempengaruhi | ⊥ : Menghambat |
| ↑ : Peningkatan | □ : Paparan Plumbum |
| ↓ : Penurunan | ■ : Variabel bebas |
| □ : Hewan coba | □ : Parameter yang diamati |

Hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*) diberikan ekstrak kulit apel *Rome Beauty* dengan cara sonde lambung, dimana ekstrak tersebut mengandung senyawa antioksidan, yaitu flavonoid terutama *quarcetin* yang terkandung didalamnya, yang digunakan sebagai preventif untuk mencegah terbentuk radikal bebas yang disebabkan oleh pemberian Pb asetat, sehingga diharapkan kerusakan organ lambung dan peningkatan kadar MDA dapat dicegah. Senyawa flavonoid berperan sebagai antioksidan dengan memberikan atom hidrogennya terhadap radikal bebas, sehingga radikal bebas menjadi kurang reaktif dan menurunkan stress oksidatif yang terjadi dalam tubuh. Stress oksidatif merupakan kondisi dimana jumlah radikal bebas dan antioksidan didalam tubuh tidak seimbang. Jumlah antioksidan yang tinggi mampu menekan radikal bebas, sehingga menurunkan proses peroksidasi lipid yang dilakukan oleh radikal bebas terhadap asam lemak PUFA dan menurunkan kadar MDA yang terbentuk akibat proses peroksidasi lipid. Malondialdehid (MDA) digunakan sebagai *biomarker* untuk menilai stress oksidatif yang terjadi didalam tubuh.

Timbal (Plumbum/Pb) asetat yang masuk kedalam tubuh secara oral akan masuk kedalam saluran cerna dan dapat mempengaruhi organ-organ pencernaan, salah satu adalah lambung. Timbal (Plumbum/Pb) akan menjadi ion Pb^{2+} yang mempunyai atom bebas pada lapisan luar dan menjadi radikal bebas dalam tubuh. Radikal bebas merupakan suatu molekul yang relatif tidak stabil dengan atom yang pada orbit luar memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan, sehingga untuk mencapai kestabilan maka radikal bebas akan mencari pasangan elektron dari molekul lain.

Timbal (Plumbum/ Pb) dapat memberikan elektron kepada oksigen (O_2) di mitokondria membentuk radikal superoksida ($\cdot O_2^-$) dan Pb dapat berikatan dengan enzim yang memiliki gugus sulfhidril (-SH), ikatan ini menyebabkan penurunan fungsi enzim-enzim antioksidan, seperti *Superoxidedismutase* (SOD), dan *Catalase* (CAT). Enzim SOD berfungsi untuk mengubah radikal superoksida ($\cdot O_2^-$) menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2) di mitokondria, sedangkan enzim CAT berperan dalam pemecahan senyawa hidrogen peroksida (H_2O_2) menjadi air (H_2O) dan oksigen (O_2). Apabila fungsi enzim SOD menurun maka radikal superoksida ($\cdot O_2^-$) yang merupakan radikal bebas akan meningkat didalam tubuh. Hidrogen peroksida (H_2O_2) yang tidak diubah menjadi air (H_2O) dan oksigen (O_2) oleh enzim CAT dapat membentuk radikal hidroksil ($OH\cdot$) apabila bereaksi dengan logam besi (Fe^{2+}). Radikal hidroksil ($OH\cdot$) merupakan ROS yang dapat menyebabkan peroksidasi lipid pada membran sel yang tersusun dari PUFA yang memiliki ikatan rangkap karbon-karbon ($C=C$). Reaksi ikatan antara radikal bebas dengan lipid tersebut disebut reaksi peroksidasi lipid. Radikal lipid yang terbentuk akan berikatan dengan oksigen membentuk rantai radikal bebas. Rantai radikal bebas tersebut akan berikatan dengan radikal lipid atau rantai radikal bebas lain, sehingga akan menimbulkan stress oksidatif pada sel mukosa lambung yang dapat mengarah pada kerusakan dinding lambung. Kerusakan membran sel menyebabkan perubahan struktur dan fungsi sel yang dapat diamati melalui gambaran histopatologi yang diwarnai dengan HE. Produk akhir dari peroksidasi lipid, yaitu MDA, kadar MDA digunakan sebagai *biomarker* untuk menilai stress oksidatif yang terjadi didalam tubuh.

Tubuh membutuhkan antioksidan untuk melindungi tubuh dari kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas yang berlebih didalam tubuh terutama antioksidan eksogen yang diperoleh dari bahan tambahan dari luar untuk mengurangi radikal bebas yang terbentuk. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat meredam dampak negatif dari oksidan, dengan cara memberikan satu elektronnya kepada senyawa radikal bebas sehingga aktivitasnya dapat dihambat. Antioksidan yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu ekstrak kulit apel *Rome Beauty* yang mengandung antioksidan yaitu flavonoid. Pemberian ekstrak kulit apel tersebut sebagai preventif dapat menambah antioksidan dalam tubuh. Flavonoid memiliki fungsi sebagai anti-inflamasi, melindungi struktur sel, dan antioksidan. Ekstrak kulit apel mengandung *quarcetin* yang merupakan senyawa flavonoid dengan jumlah yang tinggi. Senyawa ini memiliki sifat antioksidan karena memiliki kemampuan untuk menangkap radikal bebas dan mengurangi peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid yang menurun dapat menurunkan kadar MDA dan menghambat kerusakan pada sel-sel dan jaringan pada lambung.

3.2 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan rumusan permasalahan, maka hipotesis dari penelitian ini yaitu sebagai berikut:

1. Pemberian ekstrak kulit apel *Rome Beauty* dapat mencegah peningkatan kadar MDA lambung tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diberi paparan Pb asetat.
2. Pemberian ekstrak kulit apel *Rome Beauty* dapat mencegah kerusakan jaringan lambung tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diberi paparan Pb asetat.

BAB 4 METODE PENELITIAN

4.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Februari hingga Maret 2019 di Laboratorium Biologi Fakultas SAINTEK Universitas Islam Negeri (UIN) Malang. Pembuatan ekstrak buah apel *Rome Beauty* dilakukan di Laboratorium UPT Materia Medika Batu, pengukuran kadar MDA di Laboratorium Faal Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, dan pembuatan preparat histologi dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Kessima Medika, Malang.

4.2 Alat dan Bahan Penelitian

4.2.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian, yaitu kandang tikus berupa bak plastik dan tutup kandang dari kawat, sekam, tempat pakan dan botol minum tikus, alat sonde, *dissecting set*, papan bedah, *gloves*, *disposable syringe* 1 mL, *disposable syringe* 3 mL, *beaker glass*, *microtube*, timbangan digital, *object glass*, *cover glass*, *vortex*, alat sentrifus, pot organ, mortar, mikropipet ukuran 10-100 µl, Spektrofotometri Uv-Vis, mikroskop cahaya, *timer*, lemari pendingin, dan *waterbath*.

4.2.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu Pb (II) asetat (*powder*) yang diperoleh dari CV Panadia, Malang, tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar, jantan, pakan tikus standar berupa pelet dengan komposisi air, protein kasar, dan serat kasar, ekstrak kulit apel *Rome Beauty*, *aquadest*, NaCl

fisiologis, formaldehid 10%, HCl 1N, asam trikloroasetat (TCA), Na-Thio 1%, blok parafin, pewarna HE, alkohol (70%, 80%, 90%, 95%), xylol, etanol absolut, dan etanol (70%, 80%, 90%, 95%).

4.3 Tahapan Penelitian

4.3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) karena sampel dan faktor lingkungan dalam penelitian ini dianggap sama atau homogen (Astija, 2018). Rancangan kelompok penelitian dapat dilihat pada **Tabel 4.1**.

Tabel 4.1 Rancangan Kelompok Penelitian

Kelompok	Keterangan	Variabel yang Diamati	
		Kadar MDA	Histopatologi Lambung
A (Kontrol negatif)	Pakan standar dan air minum.		
B (Kontrol positif)	Pakan standar dan air minum + pemberian Pb asetat 10 mg/ekor/hari.		
C (Perlakuan 1)	Pakan standar dan air minum + 28 mg/200 g BB ekstrak kulit apel <i>Rome Beauty</i> + Pb asetat 10 mg/ekor/hari.		
D (Perlakuan 2)	Pakan standar dan air minum + 56 mg/200 g BB ekstrak kulit apel <i>Rome Beauty</i> + Pb asetat 10 mg/ekor/hari.		
E (Perlakuan 3)	Pakan standar dan air minum + 112 mg/200 g BB ekstrak kulit apel <i>Rome Beauty</i> + Pb asetat 10 mg/ekor/hari.		

4.3.2 Penetapan Sampel Penelitian

Penentuan jumlah sampel minimal dapat dihitung menggunakan rumus $p(n - 1) \geq 15$, dimana (p) merupakan jumlah perlakuan, dan (n) merupakan jumlah ulangan (Kusriningrum, 2008). Perhitungan banyaknya ulangan yaitu sebagai berikut:

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

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

$$5n - 5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

Penelitian ini memiliki lima perlakuan, dengan dasar rumus tersebut diperoleh jumlah pengulangan yang dibutuhkan sebanyak lebih dari atau sama dengan empat kali. Jumlah pengulangan yang diambil adalah empat, sehingga sampel yang diperoleh pada penelitian ini sebanyak 20 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*).

4.3.3 Variabel Penelitian

Variabel yang diamati dalam penelitian ini yaitu:

- a. Variabel bebas : dosis Pb asetat dan dosis ekstrak kulit apel *Rome Beauty*.
- b. Variabel terikat : kadar MDA dan histopatologi lambung tikus putih.
- c. Variabel kontrol :
 - Tikus putih (*Rattus norvegicus*) meliputi jenis kelamin, umur, berat badan, dan strain *Wistar*;
 - Pakan, suhu ruangan yang digunakan 26-27°C, kandang, dan lingkungan.

4.4 Prosedur Kerja

4.4.1 Persiapan Hewan Coba

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang digunakan dalam penelitian berjumlah 20 ekor dan dibagi menjadi lima kelompok perlakuan, dimana setiap perlakuan terdiri dari 4 ekor tikus putih. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang digunakan harus sehat secara fisik, kejernihan mata, tidak ada diare, dan lendir hidung, serta aktif (Yulia dkk., 2014). Tikus putih (*Rattus norvegicus*) diaklimatisasi selama 7 hari di laboratorium dan diberi pakan dan air minum *ad libitum*. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) dikandangkan pada kandang yang memiliki ventilasi udara disertai alas kandang sesuai dengan kelompok perlakuan dengan suhu ruang 25-27°C (Upa dkk., 2017).

4.4.2 Pembuatan dan Penentuan Dosis Ekstrak Kulit Apel *Rome Beauty*

Pembuatan ekstrak kulit apel *Rome Beauty* pada penelitian ini menggunakan metode maserasi, langkah pertama, yaitu pemisahan kulit dan buah apel, selanjutnya kulit apel dicuci hingga bersih dan dimasukkan kedalam oven dengan suhu 40°-60°C hingga kulit apel mengering. Langkah selanjutnya, yaitu dilakukan proses ekstraksi dengan cara kulit apel tersebut dihaluskan menggunakan *blender*, dan dimasukkan kedalam gelas *Erlenmayer* ukuran 1 liter. Kulit apel kering ditambahkan dengan etanol 70% hingga sediaan menjadi 1 liter lalu dikocok sampai homogen, kemudian didiamkan selama 24 jam hingga terdapat endapan. Lapisan atas campuran etanol dengan zat aktif yang sudah tercampur tersebut diambil dengan penyaringan menggunakan kertas saring, kemudian dievaporasi menggunakan penangas air (suhu 80°C) hingga

ekstrak menjadi kental, dan ditimbang berat ekstraknya. Sisa etanol dihilangkan dengan melakukan evaporasi kembali menggunakan oven (suhu 70°C), setiap 15 menit saat evaporasi ekstrak ditimbang hingga sebanyak tiga kali penimbangan berat ekstrak yang sama. Ekstrak kulit apel diencerkan dengan *aquadest* untuk mempermudah pemberian ke tikus putih (*Rattus norvegicus*) menggunakan sonde lambung.

Dosis ekstrak kulit apel *Rome Beauty* yang digunakan pada penelitian pada tikus putih (*Rattus norvegicus*), yaitu dosis 28 mg/200 g BB pada kelompok terapi C, 56 mg/200 g BB pada kelompok terapi D, dan 112 mg/200 g BB pada kelompok terapi E yang diberikan selama 21 hari (**Lampiran 5**). Penentuan dosis ini berdasarkan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Andriani (2016), dimana pemberian ekstrak kulit apel pada tikus putih (*Rattus norvegicus*), yaitu dengan dosis 28 mg/200 g BB, 56 mg/200 g BB, dan 112 mg/200 g BB. Ekstrak kulit apel *Rome Beauty* diberikan dalam bentuk serbuk yang diencerkan dengan 1 mL *aquadest* dan diberikan per-oral melalui sonde lambung.

4.4.3 Pemberian Plumbum Asetat

Timbal (Plumbum/Pb) asetat yang diberikan yaitu Pb (II) asetat yang diperoleh dari CV Panadia, Malang berbentuk serbuk berwarna putih yang dilarutkan dalam *aquadest* 1 mL dan diberikan per-oral dengan cara sonde lambung. Dosis Pb asetat yang diberikan yaitu 10 mg/ekor/hari pada kelompok B (kontrol positif), kelompok perlakuan C, perlakuan D, dan perlakuan E selama 14 hari (**Lampiran 5**). Dosis dan waktu pemberian Pb asetat disesuaikan

berdasarkan penelitian sebelumnya, pemberian Pb sebanyak 10 mg/ekor/hari selama 2 minggu dapat menyebabkan peningkatan degenerasi dan nekrosis sel-sel organ (Suprijono dkk., 2011).

4.4.4 Pengambilan Organ Lambung Tikus

Pengambilan organ lambung tikus putih (*Rattus norvegicus*) dilakukan setelah perlakuan penelitian selesai dilakukan. Pengambilan organ lambung dilakukan dengan cara euthanasi dislokasi pada leher, selanjutnya difiksasi eksktremitas kranial dan kaudal dalam posisi rebah dorsal diatas papan bedah. Pembedahan dilakukan pada rongga abdomen, dimulai dari arah kaudal ke kranial hingga terbuka rongga *thorax*. Organ lambung diambil dan diinsisi dengan gunting bedah yang sebelumnya dibilas dengan *aquadest*. Organ lambung dipotong simetris kiri dan kanan pada bagian *curvatura mayor*, kemudian dikeluarkan semua cairan dalam lambung (**Lampiran 6**). Organ lambung yang telah diambil dibilas dengan NaCl fisiologis, kemudian salah satu bagian organ lambung disimpan dalam plastik klip dan bagian lain disimpan dalam larutan formaldehid 10% untuk pembuatan preparat histopatologi menggunakan pewarnaan HE (Wati dkk., 2013).

4.4.5 Pengukuran Kadar Malondialdehid (MDA) Lambung

Pembuatan kurva Standar MDA menggunakan konsentrasi 0,1,2,3,4,5,6,7, dan 8 µg/mL, selanjutnya masing-masing diambil 100 µL dan dimasukkan ke dalam tabung *microtube*. Setiap tabung *microtube* ditambahkan 550 µL aquades, sehingga larutan standar sebanyak 650 µL. Larutan tersebut ditambahkan 100 µL TCA 10%, 250 µL HCl 1N, dan 100 µL Na-Thio 1% (Sholichah dkk., 2012),

kemudian dihomogenkan dengan vortex hingga terbentuk senyawa berwarna merah, dan disentrifugasi pada kecepatan 3500 rpm selama 10 menit. Larutan tersebut diinkubasi dalam penangas air dengan suhu 100°C selama 30 menit dan didinginkan pada suhu ruangan. Kadar MDA diukur absorbansi pada panjang gelombang 500-600 nm untuk menentukan panjang gelombang maksimum (Sholichah dkk., 2012).

Sampel yang digunakan untuk pengukuran kadar MDA, yaitu organ lambung sebanyak 0.2 gram yang dipotong kecil-kecil dan digerus menggunakan mortir hingga halus, kemudian ditambahkan 1 mL TCA. Homogenat yang terbentuk dipindahkan kedalam tabung *microtube* dan disentrifugasi pada kecepatan 3500 rpm selama 10 menit, kemudian diambil supernatan sebanyak 200 μ L, ditambahkan 200 μ L TCA dan dihomogenkan dengan vortex, ditambahkan 200 μ L Na-Thio 1% dan dihomogenkan dengan vortex, ditambahkan 1 mL *aquadest*, serta ditambahkan 200 μ L HCL 1 N dan dihomogenkan dengan vortex. Larutan tersebut disentrifugasi dengan kecepatan 3500 rpm selama 10 menit, kemudian supernatan diambil dan dipindahkan pada *microtube* baru. Larutan diinkubasi pada *waterbath* dengan suhu 100°C selama 30 menit dan dibiarkan pada suhu ruang. Sampel diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum (532 nm) (Sholichah dkk., 2012) (**Lampiran 7**).

4.4.6 Pembuatan dan Pembacaan Preparat Histopatologi Lambung Pewarnaan Hematoksilin Eosin (HE)

Proses pembuatan preparat histologi terdiri dari fiksasi, dehidrasi, *clearing*, *embedding*, *sectioning*, dan *mounting* (Junquiera dan Carneiro, 2005).

1. Fiksasi berfungsi untuk mencegah kerusakan pada jaringan. Tahapan ini dilakukan dengan cara merendam organ lambung dalam larutan PFA 10% selama 24 jam. Sampel di *trimming* 1 x 1 cm lalu dimasukkan ke dalam *tissue cassette*.
2. Dehidrasi, berfungsi untuk mengeluarkan air dari jaringan agar jaringan dapat diiris tipis dan diisi paraffin. Proses ini dilakukan dengan memasukkan lambung dalam larutan alkohol bertingkat mulai dari 70%, 80%, 90%, dan 95%, ethanol absolut I, II, III masing-masing 1 jam.
3. *Clearing*, berfungsi untuk menjernihkan jaringan organ. Proses ini dilakukan dengan memindahkan organ lambung dari ethanol absolut III ke larutan penjernihan yaitu xylol I, xylol II, dan xylol III selama 20 menit untuk masing-masing larutan hingga terlihat jernih. Tahap selanjutnya, lambung dimasukkan ke dalam parafin cair I, II, dan III pada inkubator parafin dengan suhu 56°-60°C, masing-masing 5 menit.
4. *Embedding*, berfungsi untuk memadatkan organ, dengan memasukkan jaringan lambung ke dalam parafin IV dan ditutup dengan *tissue cassette*.
5. *Sectioning*, proses pemotongan jaringan lambung dalam blok parafin dengan *microtome* dengan ketebalan 4-6 μm . Irisan yang didapat kemudian diletakkan pada *object glass* yang sudah diolesi EWIT secara tipis dan direndam pada *waterbath* dengan suhu 38°-40°C untuk menghilangkan kerusakan halus pada preparat.

6. *Mounting*, proses untuk melekatkan jaringan pada *object glass*, kemudian disimpan pada inkubator dengan suhu 37°-38°C selama 24 jam (**Lampiran 8**).

Pewarnaan HE berfungsi untuk mewarnai jaringan, dimana zat *hematoxyline* memberikan warna biru pada inti sel dan *eosin* memberikan warna merah muda pada sitoplasma sel. Tahapan pewarnaan preparat histopatologi dengan HE yaitu sebagai berikut:

1. Deparafinisasi, berfungsi untuk melarutkan atau menghilangkan parafin pada jaringan. Proses ini dilakukan dengan memasukkan preparat ke dalam xylol bertingkat I-III masing-masing selama 20 menit.
2. Rehidrasi, proses memasukkan air kedalam jaringan dengan cara preparat dimasukkan dalam alkohol bertingkat, dimulai dari ethanol absolute I, II, III, dan alkohol 95%, 90%, 80%, 70% masing-masing selama 5 menit.
3. Pewarnaan I, dilakukan dengan cara memasukkan preparat ke dalam pewarna *hematoxyline* selama 10 menit untuk memberi warna biru pada inti sel atau nukleus, kemudian dicuci dengan air mengalir selama 5 menit.
4. Pewarnaan II, dilakukan dengan cara memasukkan preparat ke dalam pewarna *eosin* selama 5 menit untuk memberi warna merah muda pada sitoplasma sel. Preparat kemudian direndam dalam *aquadest* untuk menghilangkan pewarna *eosin* yang masih menempel.
5. Dehidrasi, berfungsi untuk menghilangkan air dari jaringan. Proses ini dilakukan dengan memasukkan preparat dalam alkohol 70%, 80%, 90%, 95%, ethanol absolut I, II, dan III masing-masing selama 5 menit.

6. *Clearing*, berfungsi untuk menjernihkan jaringan. Preparat dimasukkan pada xylol I-III selama 1 menit dan dikeringkan.
7. *Mounting*, berfungsi untuk mengawetkan jaringan yang telah terwarnai. Preparat diberikan entellan dan ditutup dengan *cover glass* (**Lampiran 8**).

Pengamatan preparat histopatologi lambung dilakukan menggunakan mikroskop cahaya Olympus BX51®, dengan perbesaran 100x, dan 400x pada 3 lapangan pandang. Pengamatan pada histopatologi organ lambung, diantaranya bagian korpus dan fundus lapisan mukosa lambung (Kasari, 2017).

4.5 Analisis Data

Data perubahan kadar MDA lambung dianalisa secara kuantitatif dengan metode Analisis Ragam *one way* ANOVA, dilanjutkan dengan uji BNJ $\alpha = 5\%$ untuk menganalisa perbedaan antar kelompok perlakuan dan gambaran histopatologi lambung dianalisis secara deskriptif dengan membandingkan kerusakan mukosa lambung antar kelompok perlakuan.

BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Pengaruh Pemberian Preventif Ekstrak Kulit Apel *Rome Beauty* (*Malus sylvestris* Mill) Terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) Lambung Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Diberi paparan Plumbum Asetat

Hasil pengukuran kadar MDA dengan spektrofotometri pada lambung tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diberi paparan Pb asetat menunjukkan bahwa pemberian ekstrak kulit apel *Rome Beauty* (*Malus sylvestris* Mill) memberikan pengaruh berbeda nyata ($p < 0.05$) terhadap kadar MDA lambung antar kelompok perlakuan (**Lampiran 10**).

Tabel 5.1 Data Hasil Kadar Malondialdehid (MDA) pada Kelompok Perlakuan.

Kelompok Perlakuan	Rata-Rata MDA $\pm$ SD ($\mu\text{g/ml}$)
Kontrol (-)	79.94 $\pm$ 7.10 ^a
Kontrol (+)	133.28 $\pm$ 11.88 ^b
P1 (Dosis 28 mg/200 g BB)	117.72 $\pm$ 15.67 ^b
P2 (Dosis 56 mg/200 g BB)	114.11 $\pm$ 17.65 ^b
P3 (Dosis 112 mg/200 g BB)	82.16 $\pm$ 1.40 ^a

Keterangan: Notasi (a,b) yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($P < 0.05$) antara kelompok perlakuan.

Kadar MDA kelompok kontrol positif berbeda nyata ($p < 0.05$) dengan kelompok kontrol negatif, memiliki arti pemberian Pb asetat secara signifikan ($p < 0.05$) mampu meningkatkan kadar MDA lambung tikus putih (*Rattus norvegicus*). Rata-rata kadar MDA lambung kelompok kontrol positif (K+) mengalami peningkatan, yaitu $133.28 \pm 11.88 \mu\text{g/ml}$ apabila dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif (K-), yaitu $79.94 \pm 7.10 \mu\text{g/ml}$ (**Tabel 5.1**). Kelompok P1, P2, dan P3 merupakan kelompok tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diberikan tindakan preventif ekstrak kulit apel *Rome Beauty* (*Malus sylvestris* Mill) sebelum diberi paparan Pb asetat. Kelompok P1 yang diberi ekstrak kulit

apel *Rome Beauty (Malus sylvestris Mill)* dosis 28 mg/200 g BB menunjukkan nilai kadar MDA lambung sebesar $117.72 \pm 15.67 \mu\text{g/ml}$. Kelompok P2 yang diberi ekstrak kulit apel *Rome Beauty (Malus sylvestris Mill)* dosis 56 mg/200 g BB menunjukkan nilai kadar MDA lambung sebesar $114.11 \pm 17.65 \mu\text{g/ml}$, sedangkan kelompok P3 yang diberi ekstrak kulit apel *Rome Beauty (Malus sylvestris Mill)* dosis 112 mg/200 g BB menunjukkan nilai kadar MDA lambung sebesar $82.16 \pm 1.40 \mu\text{g/ml}$. Perbedaan pemberian dosis ekstrak kulit apel *Rome Beauty (Malus sylvestris Mill)* tersebut berpengaruh signifikan ($p < 0.05$) dalam mencegah peningkatan kadar MDA. Semakin tinggi dosis preventif yang diberikan, semakin rendah kadar MDA lambung tikus putih (*Rattus norvegicus*).

Hasil rata-rata kadar MDA lambung pada kelompok P1 (dosis 28 mg/200 g BB) dan P2 (dosis 56 mg/200 g BB) menunjukkan tidak terdapat perbedaan nyata dengan kontrol positif karena menunjukkan notasi yang sama, yaitu “b”. Kelompok P3 (dosis 112 mg/200 g BB) menunjukkan perbedaan nyata dengan rata-rata kadar MDA lambung kelompok kontrol positif (K+), namun tidak terdapat perbedaan nyata dengan kontrol negatif (K-) karena menunjukkan notasi yang sama yaitu “a”. Kelompok P3 (dosis 112 mg/200 g BB) juga menunjukkan pencegahan peningkatan kadar MDA lambung tikus putih (*Rattus norvegicus*), yaitu $82.16 \pm 1.40 \mu\text{g/ml}$ yang mendekati nilai kadar MDA kelompok kontrol negatif (K-), yaitu $79.94 \pm 7.10 \mu\text{g/ml}$ (**Tabel 5.1**).

Peningkatan kadar MDA lambung pada kelompok kontrol positif (K+) yang diberi paparan Pb asetat diakibatkan proses peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid terjadi akibat senyawa Pb yang masuk ke tubuh akan menjadi ion Pb^{2+} yang

repository.ub.ac.id

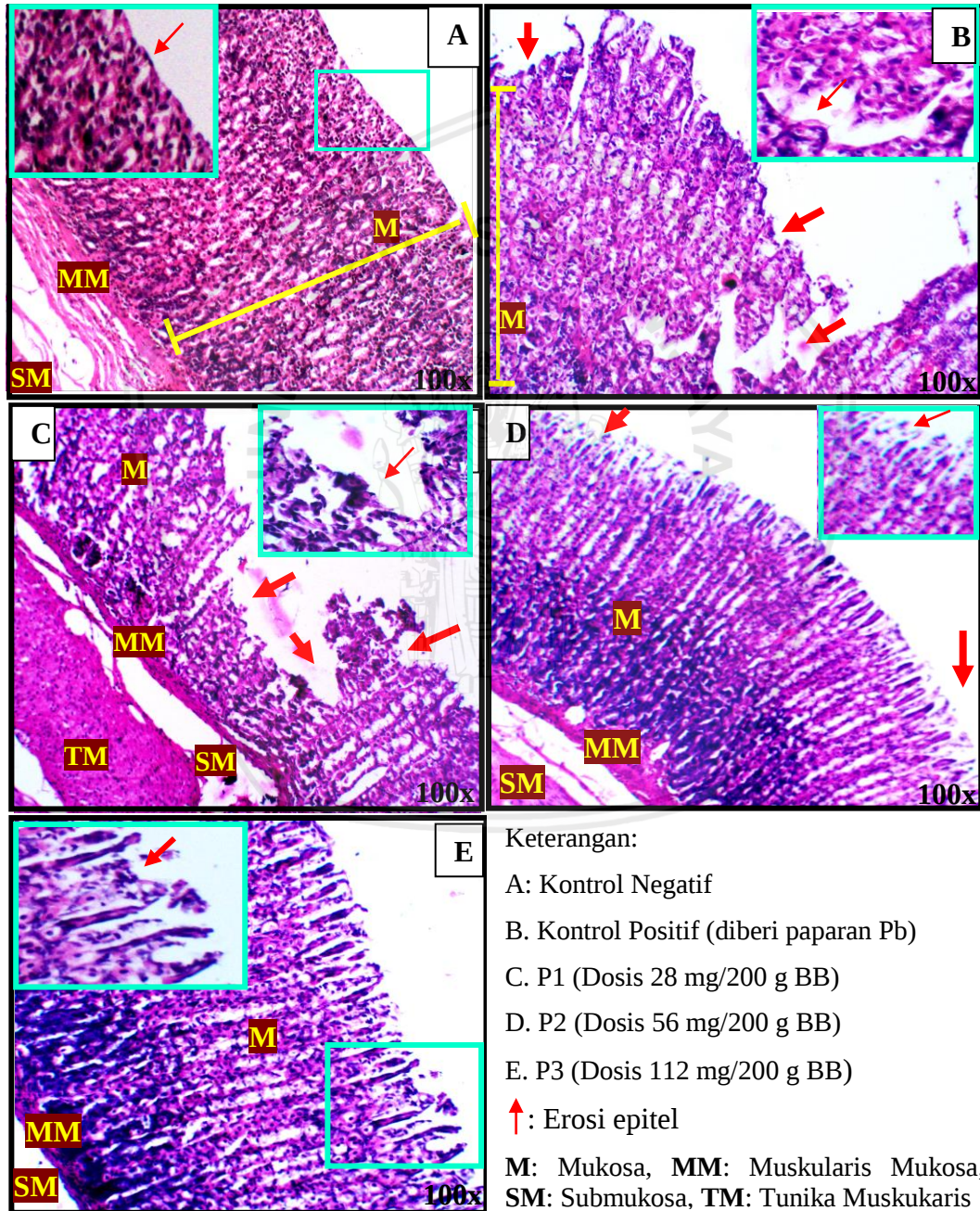
dapat berikatan dengan gugus sulfhidril yang dimiliki enzim antioksidan tubuh yang menyebabkan kemampuan enzim menurun sehingga meningkatkan jumlah ROS. Golongan ROS paling reaktif, yaitu radikal hidroksil ($\cdot\text{OH}$), ROS bereaksi dengan PUFA pada membran sel, reaksi ini disebut peroksidasi lipid (Catala, 2010). Malondialdehid (MDA) merupakan produk akhir dari peroksidasi lipid yang dapat dijadikan indikator dari radikal bebas dalam tubuh (Fadila dkk., 2018). Pemberian preventif ekstrak kulit apel *Rome Beauty* (*Malus sylvestris* Mill) pada kelompok P1, P2, dan P3 mampu mencegah peningkatan kadar MDA lambung yang diberi paparan Pb asetat, karena mengandung flavonoid. Kandungan flavonoid dalam ekstrak kulit apel *Rome Beauty* (*Malus sylvestris* Mill) berperan sebagai antioksidan dengan cara memberikan salah satu ion hidrogennya (H^+) kepada radikal peroksil lipid ($\text{LOO}\cdot$) yang merupakan hasil reaksi radikal hidroksil ($\cdot\text{OH}$) terhadap PUFA pada proses peroksidasi lipid sehingga pembentukan radikal bebas dan peroksidasi lipid dapat dihambat (Hamid, 2010). Peroksidasi lipid yang terhambat menyebabkan pencegahan peningkatan kadar MDA pada kelompok P1, P2, dan P3 yang diberi paparan Pb asetat.

Pemberian preventif ekstrak kulit apel *Rome Beauty* (*Malus sylvestris* Mill) mengandung senyawa flavonoid yang mampu menghambat proses peroksidasi lipid akibat pemberian Pb asetat, ditunjukkan dengan pencegahan peningkatan kadar MDA lambung tikus putih (*Rattus norvegicus*) pada kelompok P1, P2, dan P3 dimana kelompok P3 menunjukkan nilai kadar MDA, yaitu $82.16 \pm 1.40 \mu\text{g/ml}$ yang paling mendekati nilai kadar MDA kelompok kontrol negatif (K-), yaitu $79.94 \pm 7.10 \mu\text{g/ml}$.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

5.2 Pengaruh Pemberian Preventif Ekstrak Kulit Apel *Rome Beauty* (*Malus sylvestris* Mill) Terhadap Histopatologi Lambung Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Diberi paparan Plumbum Asetat

Pengamatan histopatologi lambung tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diberi paparan Pb asetat diamati pada perbesaran 100x dan 400x (**Gambar 5.1**).



Gambar 5.1 Histopatologi Lambung Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) dengan pewarnaan Hematoksilin Eosin (HE), perbesaran 100x dan 400x.

Hasil pengamatan preparat histopatologi lambung tikus putih (*Rattus norvegicus*) dengan pewarnaan HE menggunakan perbesaran 100x dan 400x, dengan mengamati perubahan struktur sel epitel mukosa. Kelompok kontrol negatif (K-) (**Gambar 5.1 A**) menunjukkan gambaran histopatologi lambung tikus putih (*Rattus norvegicus*) sehat yang tidak diberi paparan Pb asetat, yang tersusun atas mukosa, muskularis mukosa, dan submukosa. Lapisan mukosa lambung terlihat normal dengan epitel mukosa dan *gastric pits* yang tersusun rapi dan rapat. Histopatologi lambung kelompok kontrol positif (K+) (**Gambar 5.1 B**) menunjukkan gambaran mukosa lambung yang berbeda dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif (K-) (**Gambar 5.1 A**), dimana terjadi erosi epitel yang cukup parah.

Kelompok P1 dengan dosis 28 mg/200 g BB (**Gambar 5.1 C**) menunjukkan gambaran, yaitu masih terdapat erosi epitel pada mukosa lambung menyerupai dengan gambaran histopatologi kontrol positif (K+). Histopatologi kelompok P2 dengan dosis 56 mg/ 200 g BB (**Gambar 5.1 D**) menunjukkan ada perbaikan kerusakan epitel dimana erosi epitel pada mukosa lambung dengan tingkat keparahan yang berkurang. Histopatologi kelompok P3 dengan dosis 112 mg/ 200 g BB (**Gambar 5.1 E**) menunjukkan perbaikan gambaran mukosa lambung dimana erosi epitel pada mukosa lambung berkurang dan epitel tersusun rapi. Berdasarkan hasil tersebut, maka histopatologi lambung kelompok perlakuan preventif ekstrak kulit apel *Rome Beauty* (*Malus sylvestris* Mill) dengan dosis 28 mg/ 200 g BB (P1), 56 mg/ 200 g BB (P2), dan 112 mg/ 200 g BB (P3) menunjukkan perbedaan gambaran histopatologi dibandingkan dengan gambaran

histopatologi lambung kelompok kontrol positif (K+) dimana pemberian preventif ekstrak kulit apel *Rome Beauty (Malus sylvestris Mill)* yang paling efektif dalam penelitian ini yaitu dosis 112 mg/ 200 g BB (P3). Hal tersebut didasarkan pada terjadinya penurunan kadar MDA secara signifikan ($p < 0.05$) yaitu 82.16 ± 1.40 $\mu\text{g/ml}$ dan pada histopatologi menunjukkan perbaikan gambaran kerusakan, yaitu berkurangnya erosi epitel mukosa lambung tikus putih (*Rattus norvegicus*).

Pemberian Pb asetat pada kelompok perlakuan penelitian ini menyebabkan terjadi erosi epitel pada gambaran histopatologi mukosa lambung tikus putih (*Rattus norvegicus*). Kerusakan jaringan lambung pada 10 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) akibat toksisitas Pb asetat dengan dosis 175 mg/ekor juga ditemukan dalam penelitian lain yang dilakukan oleh Aziz dan Marianti (2014); Kasari (2017), seperti terdapat neutrofil yang terinfiltrasi ke dalam sel-sel lambung dan erosi epitel. Erosi epitel mukosa merupakan kerusakan sebagian atau separuh dari mukosa (Robbins, 2007). Terjadi erosi epitel pada mukosa lambung kelompok kontrol positif (K+) dapat disebabkan karena epitel mukosa tidak dapat mempertahankan keutuhan membran akibat peroksidasi lipid yang meningkatkan permeabilitas jaringan (Khennouf dkk., 2010). Peroksidasi lipid dapat terjadi akibat senyawa Pb yang masuk ke tubuh akan menjadi ion Pb^{2+} dan ion Pb^{2+} dapat berikatan dengan gugus sulfhidril yang dimiliki oleh enzim antioksidan seperti enzim SOD sehingga dapat meningkatkan jumlah ROS. Golongan ROS yang paling reaktif, yaitu radikal hidroksil ($\cdot\text{OH}$), ROS dapat bereaksi dengan PUFA yang memiliki ikatan rangkap karbon-karbon ($\text{C}=\text{C}$) pada membran sel yang disebut dengan reaksi peroksidasi lipid (Catala, 2010). Peroksidasi lipid pada

membran sel dapat mempengaruhi struktur membran dan menyebabkan integritas sel-sel epitel sebagai lapisan pertahanan pada dinding lambung menurun, sehingga merusak lapisan mukosa lambung dan epitel mukosa lambung tidak dapat mempertahankan keutuhan membrannya sehingga terjadi erosi epitel (Mustaba, 2012).

Pemberian preventif ekstrak kulit apel *Rome Beauty* (*Malus sylvestris* Mill) dalam penelitian ini bertujuan untuk mencegah kerusakan lambung tikus putih (*Rattus norvegicus*) akibat pemberian Pb asetat. Ekstrak kulit apel *Rome Beauty* (*Malus sylvestris* Mill) berdasarkan hasil uji fitokimia secara kualitatif mengandung senyawa antioksidan yang dapat menghambat kerusakan lambung seperti vitamin C dan flavonoid (**Lampiran 4**). Vitamin C dapat membantu aktivitas enzim SOD dalam menghambat radikal bebas dengan cara memberikan ion hidrogennya (H^+) pada superoksida (O_2^-) membentuk hidrogen peroksida (H_2O_2) (Tarigan dkk., 2018). Flavonoid berperan sebagai antioksidan karena bertindak dengan memberikan salah satu ion hidrogennya (H^+) kepada radikal peroksil lipid ($LOO\cdot$) yang merupakan hasil reaksi radikal hidroksil ($\cdot OH$) terhadap PUFA pada proses peroksidasi lipid sehingga dapat mencegah reaksi peroksidasi lipid (Hamid, 2010). Proses peroksidasi lipid yang dapat dicegah maka dapat mengurangi kerusakan pada permeabilitas membran sel sehingga dapat mencegah kerusakan jaringan lambung tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang ditunjukkan dengan erosi epitel mukosa lambung yang berkurang pada pengamatan histopatologi yang diberi preventif ekstrak kulit apel *Rome Beauty* (*Malus sylvestris* Mill) pada kelompok P1, P2, dan P3.

BAB 6 PENUTUP

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan data hasil penelitian dapat diambil kesimpulan bahwa:

1. Pemberian preventif ekstrak kulit apel *Rome Beauty (Malus sylvestris Mill)* dosis 28 mg/200 g BB, 56 mg/200 g BB, dan 112 mg/200 g BB dapat mencegah peningkatan kadar MDA lambung tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diberi paparan Pb asetat secara signifikan ($p > 0.05$) dengan dosis efektif, yaitu 112 mg/ 200 g BB.
2. Pemberian preventif ekstrak kulit apel *Rome Beauty (Malus sylvestris Mill)* dosis 28 mg/200 g BB, 56 mg/200 g BB, dan 112 mg/200 g BB berpengaruh dalam mencegah kerusakan jaringan lambung tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diberi paparan Pb asetat dibandingkan dengan kelompok perlakuan positif (K+) dengan dosis efektif, yaitu 112 mg/ 200 g BB.

6.2 Saran

Diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai pemanfaatan ekstrak kulit apel *Rome Beauty (Malus sylvestris Mill)* dalam upaya preventif terhadap paparan logam berat selain Pb asetat.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustina, T. 2010. Kontaminasi Logam Berat pada Makanan dan Dampaknya pada Kesehatan. *TEKNUBAGA*. 2(2): 53-65.
- Akbar, B. 2010. *Tumbuhan dengan Kandungan Senyawa Aktif yang Berpotensi Sebagai Bahan Antifertilitas*. Jakarta: Adabia Press.
- Anies. 2005. *Penyakit Akibat Kerja*. Jakarta: Elexmedia Komputindo. 55-57.
- Andriani, S.R.D. 2016. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Kulit Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill) Terhadap Kadar Malondialdehid dan Gambaran Histopatologi Hepar Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Terkena Diabetes Mellitus Tipe 1 dengan Induksi Streptozotocin* [Skripsi]. Malang: Universitas Brawijaya.
- Arai, Y. 2000. Dietary Intakes of Flavonols, Flavones, and Isoflavones by Japanese Women and The Inverse Correlation Between Quercetin Intake and Plasma LDL Cholesterol Concentration. *Journal of Nutrition*. 130(9): 2243-2250.
- Arts, I.C.W. 2001. Catechin Intake Might Explain The Inverse Relation Between Tea Consumption and Ischemic Heart Disease: The Zutphen Elderly Study. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 74(2): 227-232.
- Asterina, E. 2014. Pengaruh Timbal (Pb) Terhadap Kadar MDA Serum Tikus Putih Jantan. *Jurnal Kesehatan Andalas*. 3(3): 531-535.
- Astija. 2018. *Rancangan Acak Lengkap untuk Biologi dan Ilmu Farmasi*. Universitas Tadulako.
- Aziz, A.R., dan A. Marianti. 2014. Efek Paparan Kronik Timbal (Pb) Asetat Per-Oral pada Struktur Histopatologik Lambung Tikus Putih. *Unnes Journal of Life Science*. 3(2): 87-92.
- Boyer, J., dan Liu. 2004. Apple Phytochemicals and Their Health Benefit. *Nutrition Journal*. 3(5): 1-15.
- Bredo, R.M. 2011. Anatomy of the Liver In Wistar Rat (*Rattus norvegicus*). *International Journal of Morphology*. 29(1): 76-79.
- Bringman, T., dan C.F. Bringman. 1995. *Introduction to Functional Telford Bringman Histology*. Second Edition. Harper Collins College Publisher. 313-316.

- Charlena. 2004. Pencemaran Logam Berat Timbal (Pb) dan Cadmium (Cd) pada Sayur-Sayuran. *Jurnal Falsafah Sains*. 1-12.
- Catala, A. 2010. A Synopsis of The Process of Lipid Peroxidation Since The Discovery of The Essential Fatty Acids. *Biochemical and Biophysical Research*. 399(3): 318-323.
- Cempaka, A.R., S. Santoso, dan L.K. Tanuwijaya. 2014. Pengaruh Metode Pengolahan (Juicing dan Blending) Terhadap Kandungan Quercetin Berbagai Varietas Apel Lokal dan Impor (*Malus domestica*). *Indonesian Journal of Human Nutrition*. 1(1): 14-22.
- Darmono. 2006. *Lingkungan Hidup dan Pencemaran: Hubungannya dengan Toksikologi Senyawa Logam*. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Denny, A. 2005. Deteksi Pencemaran Timah Hitam (Pb) dalam Darah Masyarakat Terpajan Timbal (Plumbum). *Jurnal Kesehatan Lingkungan*. 2(1): 67-76.
- Gartner, L., dan J.L. Hiatt. 2001. *Colour Textbook of Histology*. Second Edition. Philadelphia: W. B Saunders Company. 383-396.
- Guyton, A.C., dan J.E. Hall. 1997. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi 9. Jakarta: EGC.
- Hamid, A.A. 2010. Antioxidants: Its Medicinal and Pharmacological Applications. *African Journal of Pure and Applied Chemistry*. 4(8): 142-151.
- Harizon, B. Pujiastuti, D. Kurnia, D. Sumiarsa, U. Supratman, dan Y. Shiono. 2015. Kuarsetin dan Kuarsetin 3-O-Glukosida dari Kulit Batang *Sonneratia alba* (Lythraceae). *Jurnal Kimia VALENSI*. 1(1): 33-38.
- IARC. 2006. *Inorganic and Organic Lead Compounds*. Switzerland: WHO Press.
- Irasanti, M., D.N. Santi, dan S. Dharma. 2012. Analisa Kadar Timbal (Pb) pada Hati Sapi dari Peternakan Sapi Potong di Kabupaten Deliserdang Tahun 2012. *Jurnal Kesehatan Lingkungan*. 1-6.
- Janero, D.R. 1990. Malondialdehyde and Thiobarbituric Acid Reactivity as Diagnosis Indices of Lipid Peroxidation and Peroxidative Tissue Injury. *Free Radical Biology and Medicine*. 9(6): 515-540.
- Juncqueira, L.C., dan J. Carneiro. 2007. *Histologi Dasar: Teks dan Atlas*. 10th Edition. Jakarta: EGC.
- Kasari, C.O. 2017. *Pengaruh Terapi Preventif Madu Hutan Sumbawa Terhadap Aktivitas Protease dan Histopatologi Lambung Tikus (Rattus norvegicus)*

yang Diberi Paparan Plumbum (Pb) [Skripsi]. Malang: Universitas Brawijaya.

Khennouf, S., S. Amira, L. Arrar, dan A. Baghiani. 2010. Effect of Some Phenolic Compounds and Quercus Tannins on Lipid Peroxidation. *Journal of World Applied Sciences*. 8(9): 1144-1149.

Kusriningrum, R.S. 2008. *Buku Ajar Perancangan Percobaan*. Surabaya: Dani Abadi.

Llurba, E. 2004. A Comprehensive Study Of Oxidative Stress and Antioxidant Status in Preclampsia and Normal Pregnancy. *Free Radical Biology and Medicine*. 37(4): 557-570.

Lu, F.C. 2006. *Toksikologi Dasar*. Jakarta: Universitas Indonesia.

Miller, G.K.L. 1996. *Comparative Anatomy of the Vertebrates*. Eight Edition. Ganon University: Brown Publishers. 279-281.

Mustaba, R. 2012. Studi Histopatologik Lambung pada Tikus Putih yang Diberi Madu Sebagai Pencegah Ulkus Lambung yang Diberi Paparan Aspirin. *Indonesia Medicus Veterinus*. 1(4): 471-482.

Napitupulu, R.R.J. 2008. *Pengaruh Pemberian Kalsium Secara Oral Terhadap Kadar Plumbum dalam Darah Mencit (Mus mucus L.)* [Skripsi]. Medan: USU.

Naria, E. 2005. Mewaspadai Dampak Bahan Pencemar Timbal (Pb) di Lingkungan Terhadap Kesehatan. *Jurnal Komunikasi Penelitian*. 17(4): 66-72.

Octaviany, V.D., H. Yusmaini, dan K. Simanjuntak. 2017. Uji Efektivitas Ekstrak Kulit Apel (*Malus sylvestris Mill*) Varietas Rome Beauty Terhadap Kadar Enzim SGPT Tikus (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar yang Diberi Paparan CCL₄ (Karbon Tetra Klorida). *Jurnal Profesi Medika*. 11(2): 1-9.

Pala, F.S. 2007. Free Radical: Our Enemies or friends?. *Advances in Molecular Biology*. 63-69.

Palar, H. 2004. *Pencemaran dan Toksikologi Logam Berat*. Jakarta: Rineka Cipta. 78-86.

Palar, H. 2012. *Pencemaran Dan Toksikologi Logam Berat*. Jakarta: Rineka Cipta.

Pietta, G. 2000. Flavonoids as Antioxidant. *Journal of Natural Products*. 63(7): 1035-1042.

- Prior, R.L. 2006. *Modern Nutrition in Health and Disease*. New York: Lippincott William and Wilkins. 583-593.
- Priyanto, A., dan S. Lestari. 2009. *Endoskopi Gastrointestinal*. Jakarta: Salemba Medika. 5-6.
- Puspitasari, D.A. 2008. *Gambaran Histopatologi Lambung Tikus Putih (Rattus norvegicus) Akibat Pemberian Asam Asetil Salisilat* [Skripsi]. Bogor: IPB.
- Redha, A. 2010. Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidatif, dan Peranannya dalam Sistem Biologis. *Jurnal Belian*. 9(2): 196-202.
- Robbins. 2007. *Buku Ajar Patologi*. Edisi 7. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Rofiqoh, N., dan T. Taufikurohmah. 2013. Pengaruh Infiltrasi Nanogold Terhadap Peningkatan Kualitas Jaringan dan Kuantitas Merkuri pada Lambung Mencit (*Mus musculus*) Setelah Terpapar Merkuri. *Journal of Chemistry*. 2(3): 24-33.
- Sayuti, K., dan R. Yenrina. 2015. *Antioksidan Alami dan Sintetik*. Padang: Andalas University Press. 7.
- Sholichah, N.A., Aulanni'am, dan C. Mahdi. 2012. Efek Terapi Ekstrak Air Daun Kedondong (*Lannea coromandelica*) Terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) dan Aktivitas Protease pada Ileum Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Inflammatory Bowel Disease (IBD) Akibat Paparan Indometasin. *Veterinaria Medika*. 5(3): 187-194.
- Silasahi, J. 2006. *Makanan Fungsional*. Yogyakarta: Kanisius.
- Singh, Z., I.P. Karthigesu, P. Singh, dan R. Kaur. 2014. Use of Malondialdehyde for Assesing Oxidative Stress in Different Disease Pathologies: A Review. *Iranian Journal Public Health*. 43(3): 7-16.
- SNI. 2009. *Batas Maksimum Cemaran Logam Berat dalam Pangan*. Badan Standardisasi Nasional.
- Solikha, H.P. 2016. *Pengaruh Perbandingan Wortel (Daucus carota L.) dengan Apel (Malus sylvestris Mill) Varietas Rome Beauty dan Konsentrasi Gula Terhadap Karakteristik Selai Wortel Apel* [Skripsi]. Bandung: Universitas Pasundan.
- Suciani, S. 2007. *Kadar Timbal dalam Darah Polisi Lalu Lintas dan Hubungannya dengan Kadar Hemoglobin* [Tesis]. Semarang: Universitas Diponegoro.

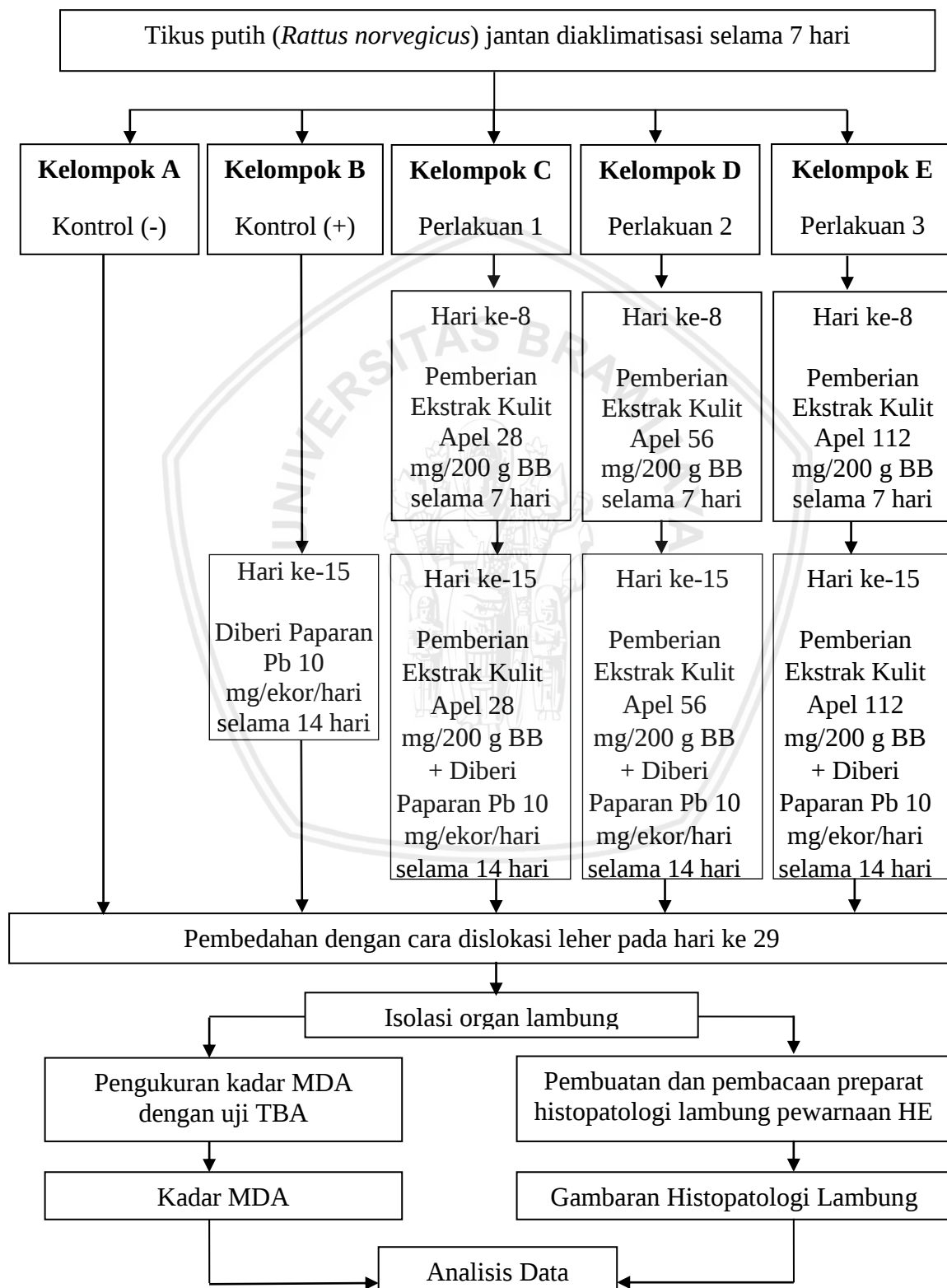
- Sudarmaji, J. Mukono, dan I.P. Corie. 2006. Toksikologi Logam Berat B3 dan Dampaknya Terhadap Kesehatan. *Jurnal Kesehatan Lingkungan*. 2(2): 129-142.
- Sufrida, Y. 2007. *Khasiat dan Manfaat Apel*. Jakarta: PT Agromedia Pustaka. 23-24.
- Suhartono, E. 2016. *Toksisitas Oksigen Reaktif dan Antioksidan di Bidang Kedokteran dan Kesehatan*. Yogyakarta: Gosyen Publishing.
- Suprijono, A., Chodijah, dan S. Banun. 2011. Pengaruh Pemberian Timbal (Pb) Per-Oral Terhadap Gambaran Histopatologi Hepar. *Jurnal Majalah Ilmiah Sultan Agung*. 49(123): 1-12.
- Tarigan, T., L. Batubara, dan D. Ngestiningsih. 2018. Uji Efektivitas Vitamin C dalam Meningkatkan Kadar Superoksida Dismutase (SOD) Plasma Tikus Sprague Dawley yang Terpapar Heat Stress. *Jurnal Kedokteran Diponegoro*. 7(2): 1334-1343.
- Tiwari, S., dan I.P. Tripathi. 2012. Lead Pollution-An Overview. *International Research Journal of Environment Sciences*. 1(4): 84-86.
- Upa, F.T., Saroyo, dan D.Y. Katili. 2017. Komposisi Pakan Tikus Ekor Putih (*Maxomys hellwandii*) di Kandang. *Jurnal Ilmiah Sains*. 17(1):7-12.
- Vanessa, M., Munhoza, R.P. José, Lopesa, dan Melloa. 2014. Extraction Of Flavonoids From *Tagetes patula*: Process Optimization And Screening For Biological Activity. *Revista Brasileira de Farmacognesia Journal*. 24(5): 576-583.
- Wardhayani, S. 2006. *Analisis Risiko Pencemaran Bahan Toksik Timbal (Pb) pada Sapi Potong di Tempat Pembuangan Akhir (TPA) Sampah Jatibarang Semarang* [Skripsi]. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Wati, I.P., Aulanni'am., dan C. Mahdi. 2013. Aktivitas Protease dan Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Pasca Induksi Cylosporin-A. *Student Journal Kimia*. Universitas Brawijaya. 1(2): 257-263.
- Wiberg, E., A.F. Holleman, dan N. Wiberg. *Inorganic Chemistry*. Academic Press.
- Wibowo, P.A., dan J. Mukono. 2014. Kandungan Timbal Dalam Darah Pasangan Usia Subur di Desa Tebuwung, Kecamatan Dukun, Gresik. *Jurnal Kesehatan Lingkungan*. 7(2): 140-147.

- Wiratama, S. 2018. Studi Bioakumulasi Ion Logam Pb dalam Rambut dan Darah Operator Stasiun Pengisian Bahan Bakar Umum, Jalan Sentosa, Samarinda. *Jurnal Atomik*. 3(1): 1-8.
- Wolfe, K.L., dan R.H. Liu. 2003. Apple Peels as A Value-Added Food Ingredient. *Journal Agriculture and Food Chemistry*. 51(6): 1676 – 1683.
- Yulia, R., K. Lidya, Veronica, dan C. Juliana. 2014. Efek *Glycine max* Varietas Anjasmoro Terhadap Kadar Timbal dan Malondialdehid pada Mencit Terintoksikasi Timbal. *Jurnal Farmasi Indonesia*. 7(1): 29-30.





Lampiran 1. Kerangka Operasional Penelitian



Lampiran 2. Sertifikat Laik Etik



**KOMISI ETIK PENELITIAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK
"ETHICAL CLEARANCE"**

No: 1087-KEP-UB

**KOMISI ETIK PENELITIAN (ANIMAL CARE AND USE COMMITTEE)
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**TELAH MEMPELAJARI SECARA SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG
DIUSULKAN, MAKA DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA:**

**PENELITIAN BERJUDUL : PENGARUH TERAPI PREVENTIF EKSTRAK KULIT
APEL (*Malus sylvestris* Mill) VARIETAS ROME BEAUTY
TERHADAP PRIFIL PITA PROTEIN DAN
HISTOPATOLOGI DUODENUM TIKUS (*Rattus
norvrgicus*) YANG DIPAPAR PLUMBUM ASETAT**

PENELITI : NUR FITRIA RAMADHANI

UNIT/LEMBAGA/TEMPAT : UNIVERSITAS BRAWIJAYA

DINYATAKAN : LAIK ETIK

Malang, 17 Februari 2019
Ketua Komisi Etik Penelitian
Universitas Brawijaya



Prof. Drh. Aulanni'am, DES.
NIP. 19600903 198802 2 001

Lampiran 3. Pembuatan Ekstrak Kulit Apel Varietas *Rome Beauty*



**PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN
UPT LABORATORIUM HERBAL
MATERIA MEDICA BATU**
Jalan Lahor No.87 Telp/Fax (0341) 593396. Batu
KOTA BATU

65313

SURAT KETERANGAN EKSTRAK

No. 074 / 17C / 102.7 / 2019

Bersama ini kami sampaikan hasil ekstraksi berikut ini :

1. Identitas Pemohon

NAMA	NIM	
GEMA ERNEST NADHRATA	155130107111030	FAKULTAS KEDOKTERAN
TARSISIUS HANDARU CAHYO P	155130101111052	HEWAN
DEVINA ANDINI GHASSANA	155130101111043	UNIVERSITAS BRAWIJAYA
AFNA HANUNNIDA	155130101111047	
NUR FITRIA RAMADHANI	155130101111050	

2. Identitas Sampel

Nama daerah sampel : Apel
Nama latin : *Malus sylvestris* Mill
Bagian sampel : Kulit
Bentuk sampel : Serbuk
Asal sampel : Batu
Jumlah sampel : 170 gram

3. Hasil

No.	Parameter	Hasil
1	Proses	
	a. Metode	Maserasi
	b. Jumlah perlakuan	1 kali
	c. Pelarut	Etanol 70%
	d. Jumlah pelarut	1700 ml
	e. Waktu evaporasi	1.5 jam
2	Hasil	
	a. Bentuk sediaan	Cair
	b. Bahan tambahan	-
	c. Kadar air	-
	d. Berat / volume	60 ml

4. Pustaka

- Ditjen POM, 1986. "Sediaan Galenik", Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Sudjadi, 1986. "Metode Pemisahan", UGM Press, Yogyakarta.
- Nugroho, Agung. 2017. "Teknologi Bahan Alam". Lambung Mangkurat University Press. Banjarmasin.

Demikian disampaikan untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 28 Februari 2019
Kepala UPT Laboratorium Herbal
Materia Medica Batu

Dr. Husni RM, Drs. Apt. MKes.
 NIP.19611102 199103 1 003

Lampiran 4. Hasil Uji Kualitatif Ekstrak Kulit Apel Varietas *Rome Beauty*



**PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN
UPT LABORATORIUM HERBAL
MATERIA MEDICA BATU**
Jalan Lahor No.87 Telp/Fax (0341) 593396. Batu
KOTA BATU

65313

Nomor : 074 / 14D / 102.7 / 2019
Sifat : Biasa
Perihal : **Surat Keterangan Analisa Kualitatif**

Bersama ini kami sampaikan hasil analisa berikut ini :

1. Identitas Pemohon

Nama	NIM	Fakultas
Gema Ernest Nadhrata	155130107111030	Kedokteran Hewan, Universitas Brawijaya
Tarsisius Handaru Cahyo Putro	155130101111052	
Devina Andini Ghassana	155130101111043	
Afna Hanunnida	155130101111047	
Nur Fitria Ramadhani	155130101111050	

2. Identitas Sampel

Nama daerah sampel : Apel
Nama latin : *Malus Sylvestris Mill.*
Bagian sampel : Kulit
Bentuk sampel : Ekstrak
Pelarut : Etanol 70%
Asal sampel : -
Tanggal penerimaan : 28 Februari 2019
Tanggal pemeriksaan : 88 Februari 2019

3. Hasil

No	Identifikasi Senyawa	Parameter	Hasil
1.	Flavonoid	Merah Bata, Merah Muda, Merah Tua	Positif
2.	Vitamin C	Endapan Hijau Kekuningan sampai Merah Bata	Positif

4. Lampiran

Nama Sampel	Flavonoid	Vitamin C
Kulit Apel Manalagi (<i>Malus Sylvestris Mill.</i>)		

5. Pustaka

- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1978. "Materia Medika Indonesia", Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta.

Demikian disampaikan untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 01 Maret 2019
Kepala UPT Materia Medica Batu

Dr. Husin RM, Drs., Apt., MKes.
NIP.19611102 199103 1 003

Lampiran 5. Perhitungan Dosis Ekstrak Kulit Apel *Rome Beauty* dan Dosis Pb Asetat

A. Perhitungan Dosis Ekstrak Kulit Apel *Rome Beauty*

1. Dosis 1 = 28mg/ 200g
 BB rata – rata tikus = 197 g
 Konsentrasi ekstrak kulit apel = 1000mg/ mL

 Dosis yang diberikan = $\frac{28\text{mg} / 200\text{g}}{1000\text{mg} / \text{mL}} \times 197\text{ g}$
 = **0,0276 mL**
 Volume *aquadest* = 1mL – 0,0276 mL = 0,97 mL
2. Dosis 2 = 56mg/ 200g
 BB rata – rata tikus = 181 g
 Konsentrasi ekstrak kulit apel = 1000mg/ mL

 Dosis yang diberikan = $\frac{56\text{mg} / 200\text{g}}{1000\text{mg} / \text{mL}} \times 181\text{ g}$
 = **0,0507 mL**
 Volume *aquadest* = 1mL – 0,0507 mL = 0,95 mL
3. Dosis 3 = 112mg/ 200g
 BB rata – rata tikus = 205.6 g
 Konsentrasi ekstrak kulit apel = 1000mg/ mL

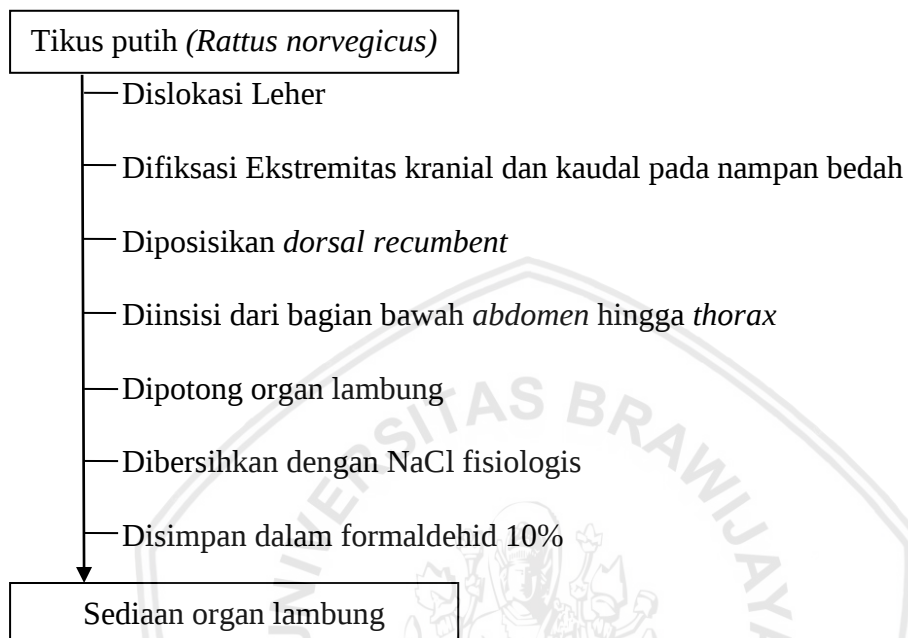
 Dosis yang diberikan = $\frac{112\text{mg} / 200\text{g}}{1000\text{mg} / \text{mL}} \times 205.6\text{ g}$
 = **0,1151 mL**
 Volume *aquadest* = 1mL – 0,1151 mL = 0,88 mL

B. Perhitungan Dosis Pb

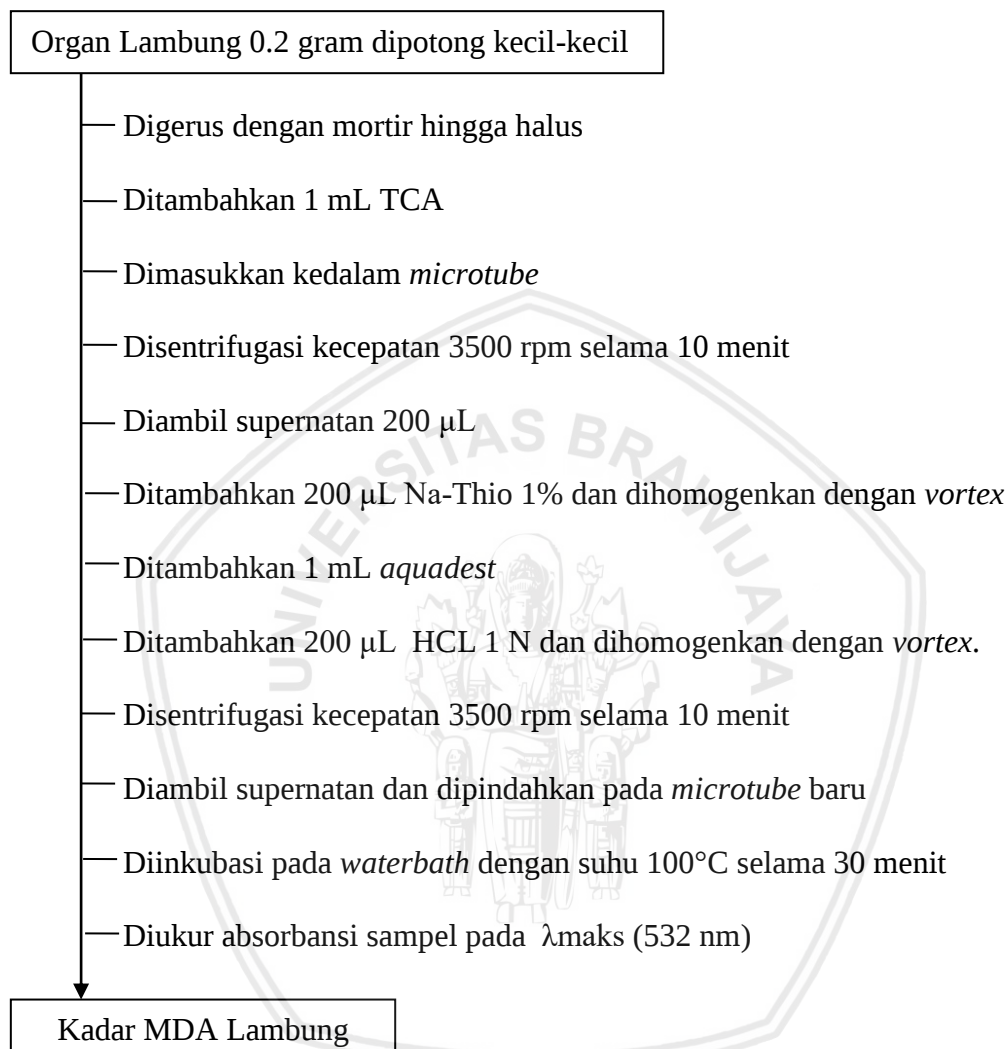
- Dosis Pb = 10 mg/ ekor/ hari
 Dosis Pb per-hari = 10 mg x jumlah tikus
 = 10 mg x 16 ekor
 = 160 mg/ hari = 0,16 g/ hari

Timbal (Plumbum/Pb) yang diberikan dilarutkan dalam 1 mL *aquadest* sehingga volume untuk satu kali pemberian yaitu 1 mL/ekor/hari.

Lampiran 6. Pengambilan Organ pada Hewan Coba

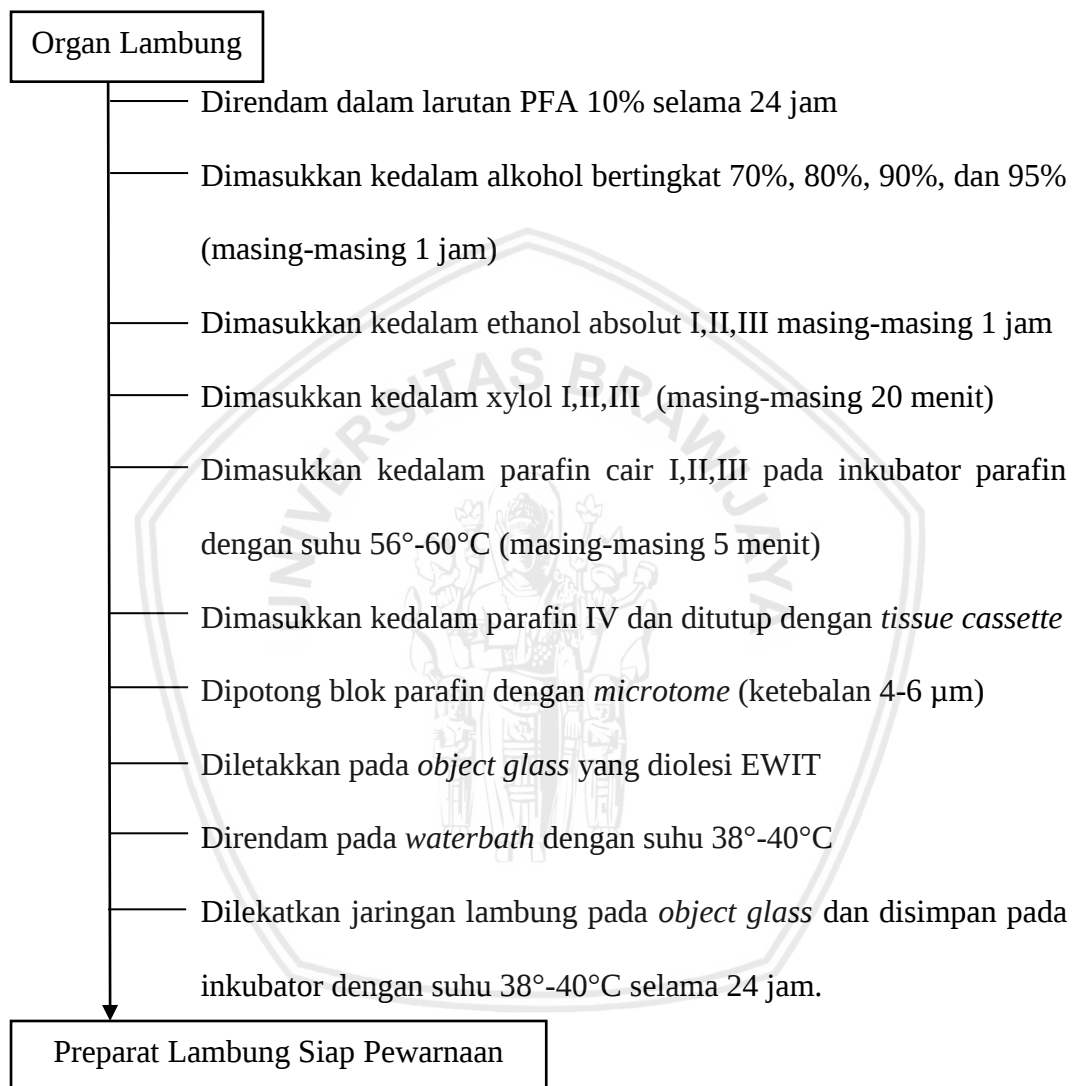


Lampiran 7. Pengukuran Kadar MDA Lambung Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

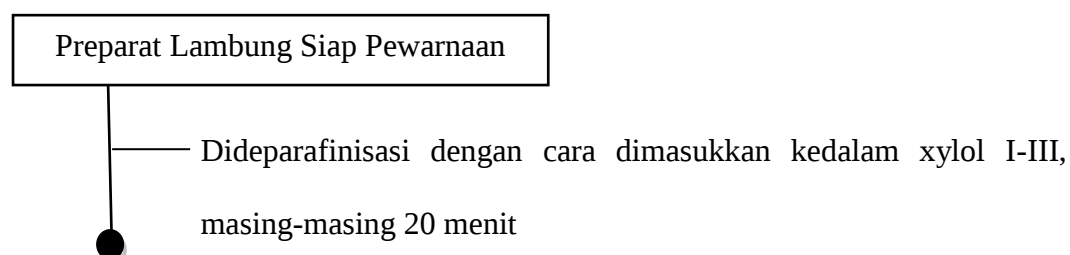


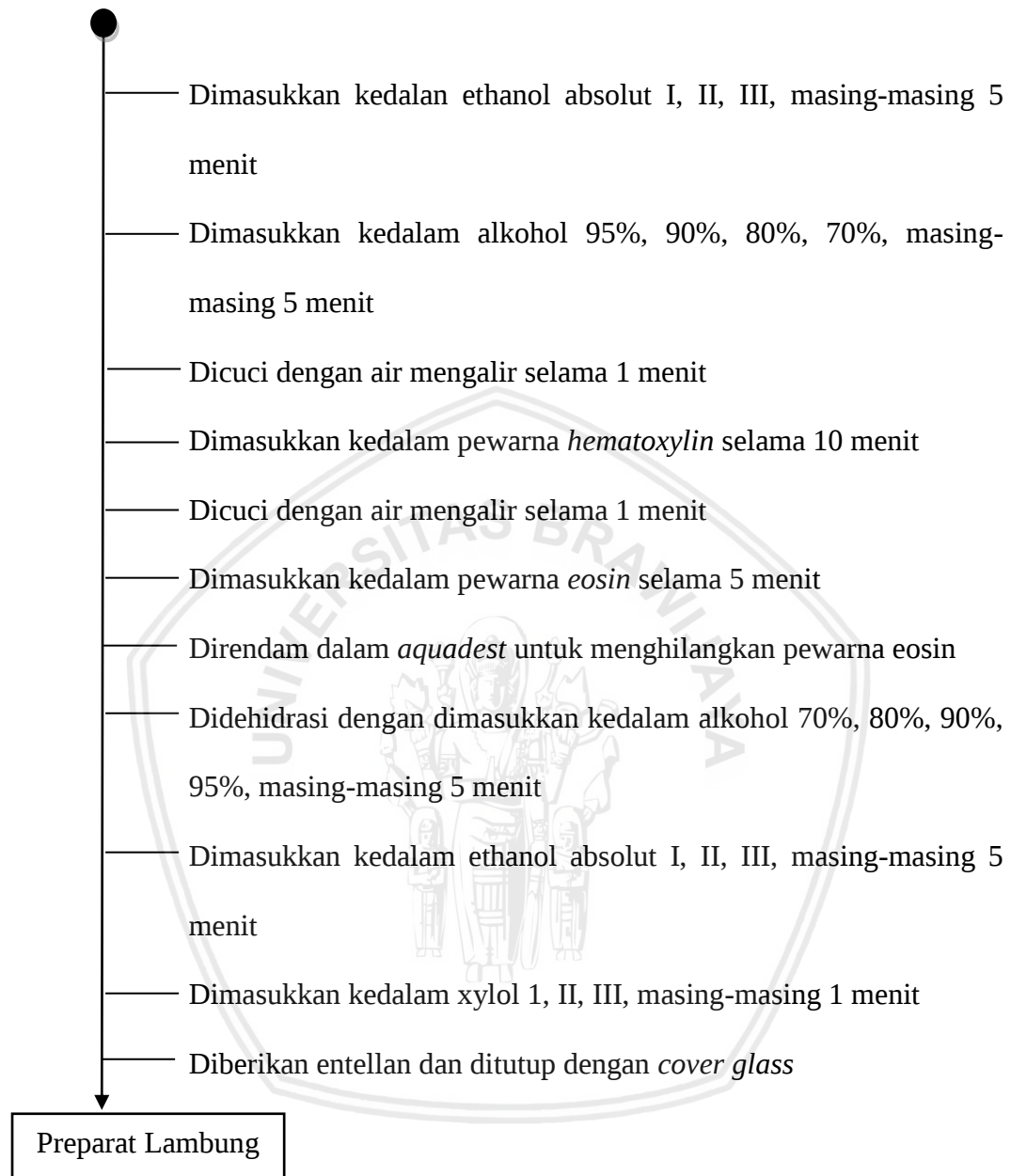
Lampiran 8. Pembuatan dan Pembacaan Preparat Histopatologi Lambung Pewarnaan Hematoksilin Eosin (HE)

8.1 Pembuatan Preparat Histopatologi Lambung

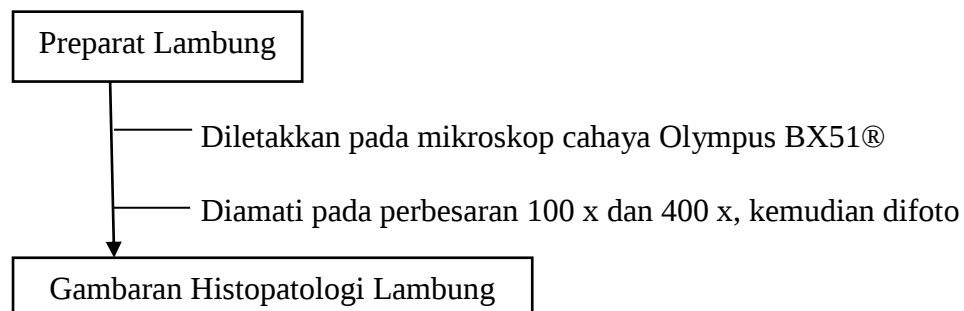


8.2 Pewarnaan Preparat Lambung dengan Hematoxylin Eosin (HE)





8.3 Pembacaan Preparat Histopatologi Lambung



Lampiran 9. Dokumentasi Penelitian



Pemberian ekstrak kulit apel *Rome Beauty* (*Malus sylvestris* Mill)



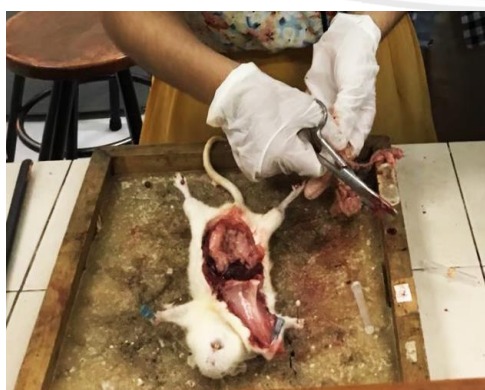
Pembuatan ekstrak kulit apel *Rome Beauty* (*Malus sylvestris* Mill) dengan aquadest



Pemberian ekstrak kulit apel *Rome Beauty* (*Malus sylvestris* Mill)



Pemberian Pb



Nekropsi dan pengambilan lambung tikus putih (*Rattus norvegicus*)



Isolasi lambung untuk pembuatan preparat histopatologi



Nekropsi dan pengambilan darah tikus putih (*Rattus norvegicus*)



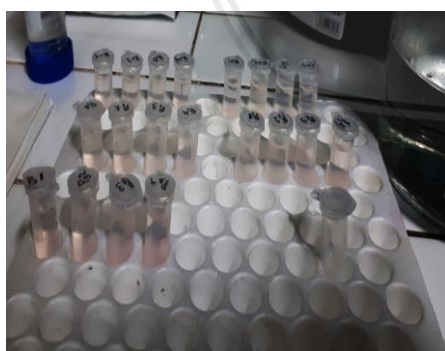
Isolasi organ lambung untuk pengukuran kadar MDA



Isolasi organ lambung untuk pengukuran kadar MDA



Sentrifugasi sampel pada kecepatan 3500 rpm selama 10 menit



Persiapan sampel untuk diukur kadar MDA



Pengukuran absorbansi sampel dengan spektrofotometri

Lampiran 10. Analisa Statistik Menggunakan SPSS

1. Uji Normalitas Data

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
MDA	.181	16	.167	.910	16	.115

a. Lilliefors Significance Correction

Hasil uji normalitas dengan uji Shapiro-Wilk menunjukkan nilai signifikansi 0.115 yang lebih besar dari α (0.05), maka data berdistribusi normal.

2. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

MDA

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.298	3	12	.320

Berdasarkan uji homogenitas nilai $\text{sig} = 0.320 > 0.05$ yang menandakan data bersifat homogen dan dapat dilanjutkan dengan uji one way ANOVA.

3. Uji Deskriptif

Descriptives

MDA

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
K Neg	4	79.9445	7.10759	3.55379	68.6347	91.2543	71.33	85.78
K Pos	4	133.2780	11.87669	5.93835	114.3795	152.1765	122.44	143.56
P1	4	117.7223	15.67112	7.83556	92.7860	142.6585	100.22	133.56
P2	4	114.1115	17.65006	8.82503	86.0263	142.1967	94.67	133.56
P3	4	82.1665	1.39831	.69915	79.9415	84.3915	80.22	83.56
Total	20	105.4446	24.08606	5.38581	94.1719	116.7172	71.33	143.56

4. Uji ANOVA

ANOVA

MDA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	8770.716	4	2192.679	14.605	.000
Within Groups	2251.913	15	150.128		
Total	11022.629	19			

Berdasarkan hasil uji one way ANOVA, diperoleh nilai signifikansi yang lebih kecil dari α ($0\% < 5\%$), maka H_0 ditolak. Berdasarkan penelitian didapatkan hasil adanya pengaruh pemberian ekstrak kulit apel Rome Beauty (*Malus sylvestris mill*) terhadap tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diberi paparan Pb.

5. Uji Lanjut Beda Nyata Jujur (BNJ)

Multiple Comparisons

Dependent Variable: MDA

Tukey HSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
K Neg	K Pos	-53.3335*	8.66394	.000	-80.0871	-26.5799
	P1	-37.7778*	8.66394	.004	-64.5313	-11.0242
	P2	-34.1670*	8.66394	.010	-60.9206	-7.4134
	P3	-2.2220	8.66394	.999	-28.9756	24.5316
K Pos	K Neg	53.3335*	8.66394	.000	26.5799	80.0871
	P1	15.5557	8.66394	.411	-11.1978	42.3093
	P2	19.1665	8.66394	.228	-7.5871	45.9201
	P3	51.1115*	8.66394	.000	24.3579	77.8651
P1	K Neg	37.7778*	8.66394	.004	11.0242	64.5313
	K Pos	-15.5557	8.66394	.411	-42.3093	11.1978
	P2	3.6107	8.66394	.993	-23.1428	30.3643
	P3	35.5558*	8.66394	.007	8.8022	62.3093
P2	K Neg	34.1670*	8.66394	.010	7.4134	60.9206
	K Pos	-19.1665	8.66394	.228	-45.9201	7.5871
	P1	-3.6107	8.66394	.993	-30.3643	23.1428
	P3	31.9450*	8.66394	.016	5.1914	58.6986
P3	K Neg	2.2220	8.66394	.999	-24.5316	28.9756
	K Pos	-51.1115*	8.66394	.000	-77.8651	-24.3579
	P1	-35.5558*	8.66394	.007	-62.3093	-8.8022
	P2	-31.9450*	8.66394	.016	-58.6986	-5.1914

*. The mean difference is significant at the .05 level.

6. Tabel Presentasi Kadar Malondialdehid (MDA)

MDA

Tukey HSD^a

Kelompok	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
K Neg	4	79.9445	
P3	4	82.1665	
P2	4		114.1115
P1	4		117.7223
K Pos	4		133.2780
Sig.		.999	.228

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

7. Grafik Presentasi Kadar Malondialdehid (MDA)

