

**Efek Preventif Ekstrak Daun *Artemisia vulgaris*
Terhadap Kadar Malondialdehida Ileum dan
Gambaran Histopatologi Ileum Tikus
Putih (*Rattus norvegicus*) yang
Diinduksi Deltamethrin**

SKRIPSI

Oleh :
SUCHESKA MONDAYANA
155130101111036



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

**Efek Preventif Ekstrak Daun *Artemisia vulgaris*
Terhadap Kadar Malondialdehida Ileum dan
Gambaran Histopatologi Ileum Tikus
Putih (*Rattus norvegicus*) yang
Diinduksi Deltamethrin**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh :

SUCHESKA MONDAYANA
155130101111036



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

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

Efek Preventif Ekstrak Daun *Artemisia vulgaris* Terhadap Kadar Malondialdehida Ileum dan Gambaran Histopatologi Ileum Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Yang Diinduksi Deltamethrin

Oleh:

**SUCHESKA MONDAYANA
155130101111036**

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji
Pada Tanggal 19 Agustus 2019
Dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh
gelar Sarjana Kedokteran Hewan

Pembimbing I

Pembimbing II

Prof.Dr.Ir. Chanif Mahdi, MS
NIP. 195204121980021001

drh. Ahmad Fauzi, M. Sc
NIP. 2011068406071001

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 di bawah ini :

Nama : Sucheska Mondayana

NIM : 155130101111036

Program Studi : Pendidikan Kedokteran Hewan

Penulis Skripsi Berjudul : “Efek Preventif Ekstrak Daun *Artemisia vulgaris* Terhadap Kadar Malondialdehidra Ileum dan Gambaran Histopatologi Ileum Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Yang Diinduksi Deltamethrin ”

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 termaksud di isi dan tertulis di daftar pustka 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, 20 Agustus 2019

Yang Menyatakan,

Sucheska Mondayana

NIM. 155130101111036

Efek Preventif Ekstrak Daun *Artemisia vulgaris* Terhadap Kadar Malondialdehida Ileum dan Gambaran Histopatologi Ileum Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Yang Diinduksi Deltamethrin

ABSTRAK

Secara global *World Health Organization* (WHO) memperkirakan keracunan pestisida jenis *highly toxic* menyebabkan 300.000 kematian per tahun. *Artemisia vulgaris* mengandung flavonoid yang dikenal sebagai antioksidan alami, yang dapat menekan jumlah radikal bebas sehingga mampu menurunkan kadar MDA ileum. Efek toksik akibat paparan insektisida golongan piretroid deltamethrin diharapkan dapat dikurangi oleh aktivitas antioksidan *Artemisia vulgaris*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan ekstrak daun *Artemisia vulgaris* dalam mempengaruhi kadar malondialdehida (MDA) dan histopatologi ileum tikus putih yang diinduksi deltamethrin. Penelitian ini bersifat *true experimental* menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Penelitian ini menggunakan tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar jantan sebanyak 25 ekor berumur 8 – 12 minggu dengan berat badan 150 - 200 g. Tikus dibagi dalam 5 perlakuan dengan 5 kali ulangan pada masing-masing perlakuan. Kontrol negatif merupakan tikus tanpa perlakuan atau hanya diberi pakan standar. Kontrol positif yaitu tikus diinduksi deltamethrin 7,2 mg/KgBB. Kelompok 1, 2, dan 3 yaitu tikus diinduksi deltamethrin dan diberi ekstrak daun *Artemisia vulgaris* dosis masing-masing 150 mg/KBB, 300 mg/KgBB, dan 600 mg/KgBB secara per oral selama 7 hari. Pada hari ke 15, kadar kerusakan diukur secara kuantitatif menggunakan MDA serta dianalisis statistika dengan ragam *One Way ANOVA*, $\alpha = 5\%$. Pengamatan perubahan histopatologi ileum dianalisa secara deskriptif. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun *Artemisia vulgaris* secara sangat signifikan ($P < 0,01$) dapat menurunkan kadar MDA ileum dan memperbaiki gambaran histopatologi ileum. Kesimpulan dari penelitian ini adalah ekstrak daun *Artemisia vulgaris* dapat menurunkan kadar MDA ileum dengan dosis terbaik yaitu 150 – 300 mg/KgBB serta memperbaiki gambaran histopatologi ileum.

Kata kunci : Antioksidan, *Artemisia vulgaris*, Deltamethrin, Histopatologi ileum, Malondialdehida

**Preventive Effect of *Artemisia vulgaris* Leaf Extract on Ileum
Malondialdehyde Levels and Histopathological
Features of White Rat (*Rattus norvegicus*)
Ileum Induced by Deltamethrin**

ABSTRACT

Globally World Health Organization (WHO) estimates that highly toxic pesticide poisoning causes 300.000 deaths per year. *Artemisia vulgaris* is a plant that contains flavonoid as natural antioxidant, that can reduce the amount of free radicals and reduce the MDA levels of ileum. The aim of this study is to determine the ability of *Artemisia vulgaris* extract to affect malondialdehyde (MDA) levels and ileum histopathology of white rats that induced by deltamethrin. This study uses a completely randomized design (CRD). This study uses white rats (*Rattus norvegicus*) wistar strain as many as 25 rats which are 8 – 12 weeks old around 150 – 200 g. Rats were divided into 5 groups with 5 repetition in each groups. Negative control is rats without any treatment or only fed *ad libitum*. Positive control is rats which are induced by deltamethrin 7,2 mg/KgBW. Group 1, 2, and 3 are rats which are iduced by deltamethrin and given *Artemisia vulgaris* each dose 150 mg/KgBW, 300 mg/KgBW, and 600 mg/KgBW. The *Artemisia vulgaris* extract is given oral route in 7 days. Day 15th, MDA levels were calculated and histopathology of ileum were observed, and then the result were analyzed statically with a variety of One Way ANOVA, $\alpha = 5\%$, hystopathology of ileum results were analyzed descriptively. The result of this study indicate that administration of *Artemisia vulgaris* extract very significantly ($P < 0,01$) reduce MDA levels of ileum and improve the histopathological of ileum. The conclusion of this study is that *Artemisia vulgaris* extract can reduce the MDA levels of ileum with the best dose range at 150 – 300 mg/KgBW and also improve the histological of duodenum.

Keywords : Antioxidant, *Artemisia vulgaris*, Deltamethrin, Ileum Histopathology, Malondialdehyde

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Allah SWT Pencipta semesta alam dan segala isi di dalamnya, Maha Kuasa Allah dalam menentukan apapun sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan proposal skripsi, dengan judul “Efek Preventif Ekstrak Daun *Artemisia vulgaris* Terhadap Kadar Malondialdehida (MDA) Ileum dan Gambaran Histopatologi Ileum Pada Tikus putih (*Rattus norvegicus*) Yang Diinduksi Deltamethrin”. Shalawat serta salam semoga tetap tercurah limpahkan kepada baginda Rasulullah Muhammad SAW, iman dan teladan terbaik bagi kehidupan ini.

Penulis menyampaikan terima kasih sebesar-besarnya kepada seluruh pihak yang telah membantu serta membimbing dalam pembuatan proposal skripsi ini, secara khusus penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Dr. Ir. Sudarminto Setyo Yuwono, M.App.Sc selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya.
2. drh. Dyah Ayu Oktavianie A.P. M.Biotech selaku Wakil Dekan I Bidang Akademik Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya.
3. Prof.Dr.Ir. Chanif Mahdi, MS selaku Dosen Pembimbing I yang telah memberikan bimbingan serta arahnya dalam penyusunan proposal skripsi.
4. drh. Ahmad Fauzi, M.Sc selaku Dosen Pembimbing II yang telah memberikan bimbingan serta arahan dalam penyusunan proposal skripsi.
5. drh. M. Arfan Lesmana, M. Sc selaku Dosen Penguji I yang telah memberikan kritik dan saran serta arahan dalam penyusunan proposal skripsi.
6. drh. Tiara Widyaputri, M. Si selaku Dosen Penguji II yang telah memberikan kritik dan saran serta arahan dalam penyusunan proposal skripsi.

7. Kedua orang tua penulis, Ayahanda Syamsul Bahri dan Ibunda Isnita, yang telah memberikan doa, kasih sayang, dukungan, pengorbanan baik secara moril maupun materil kepada penulis, semoga Allah SWT membalas dengan sebaik-baik balasan.
8. Teman seperjuangan, Indri Widayas Tutik, Safira Zulfaya, Bestari Ebhi K. R, Eka Wulandari, dan Sari Murni Indah A selaku partner diskusi yang telah memberi masukan dan semangat serta membantu dalam penyusunan proposal skripsi.
9. Segenap Keluarga Kelas 2015-B Veteriner yang menjadi pendorong untuk meraih kesuksesan bersama.

Penulis menyadari bahwa masih terdapat kekurangan dalam penulisan proposal skripsi ini. Oleh karena itu, penulis sangat menerima kritik atau saran yang membangun. Semoga proposal ini dapat bermanfaat dan menambah pengetahuan tidak hanya bagi penulis tetapi juga bagi pembaca.

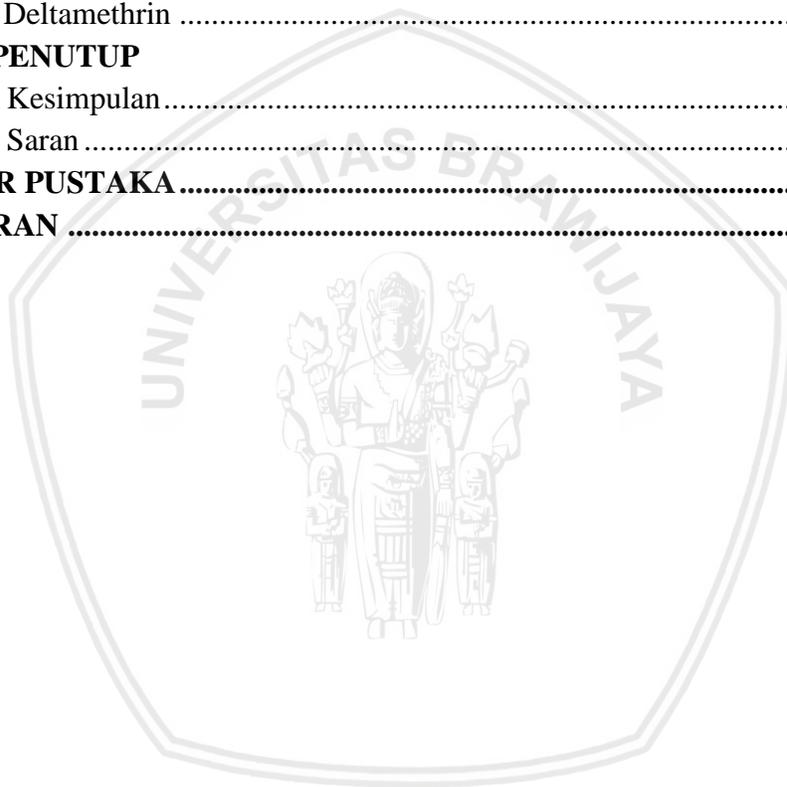
Malang, 20 Agustus 2019

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
ABSTRAK	v
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG	xiv
BAB 1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Batasan Masalah.....	4
1.4 Tujuan.....	5
1.5 Manfaat.....	5
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Pestisida.....	6
2.2 Deltamethrin	6
2.3 Toksisitas Pestisida.....	8
2.4 Ileum.....	8
2.5 Malondialdehida (MDA).....	9
2.6 <i>Artemisia vulgaris</i>	10
2.7 Hewan Coba	13
BAB 3. KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN	
3.1 Kerangka Teori.....	15
3.1 Kerangka Konsep	18
3.2 Hipotesis Penelitian	18
BAB 4. METODE PENELITIAN	
4.1 Tempat dan Waktu Penelitian	19
4.2 Rancangan Penelitian	19
4.3 Variabel Penelitian	21
4.4 Alat dan Bahan	21
4.5 Prosedur Penelitian	22
4.5.1 Aklimatisasi Hewan Coba	22
4.5.2 Ekstraksi Daun <i>Artemisia vulgaris</i>	22

4.5.3 Induksi Deltamethrin	23
4.5.4 Pengambilan Organ Ileum	23
4.5.5 Penentuan Kadar MDA	23
4.5.6 Pembuatan Preparat Histopatologi Ileum	24
4.5.7 Analisa Data	25
BAB 5. HASIL DAN PEMBAHASAN	
5.1 Peran Ekstrak <i>Artemisia vulgaris</i> Terhadap Jumlah Radikal Bebas di Dalam Tubuh Berdasarkan Kadar Malondialdehida (MDA) Ileum Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>) yang Diinduksi Deltamethrin	26
5.2 Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun <i>Artemisia vulgaris</i> terhadap Perubahan Histopatologi Ileum Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>) yang Diinduksi Deltamethrin	29
BAB 6. PENUTUP	
6.1 Kesimpulan	35
6.2 Saran	35
DAFTAR PUSTAKA	36
LAMPIRAN	39



DAFTAR GAMBAR

2.1 Struktur kimia deltamethrin	7
2.2 Histopatologi ileum yang terdiri dari lamina propia, vili-vili usus, epitel usus, sel goblet	9
2.3 Daun <i>Artemisia vulgaris</i>	11
2.4 Struktur kimia flavonoid.....	12
2.5 Tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>) strain wistar.....	13
5.1 Gambaran histopatologi ileum tikus putih kelompok kontrol negatif.....	30
5.2 Gambaran histopatologi ileum tikus putih kelompok kontrol positif.....	30
5.3 Gambaran histopatologi ileum tikus putih kelompok P1	31
5.4 Gambaran histopatologi ileum tikus putih kelompok P2	31
5.5 Gambaran histopatologi ileum tikus putih kelompok P3	32



DAFTAR TABEL

4.1 Tabel perlakuan.....20
 4.2 Rancangan penelitian20
 4.3 ANOVA (*Analysis of Variance*)20
 5.1 ANOVA Kadar MDA26
 5.2 Rata-rata kadar MDA ileum tikus putih (*Rattus norvegicus*)27



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Laik Etik	39
Lampiran 2. Perhitungan Dosis.....	40
Lampiran 3. Kerangka Operasional	42
Lampiran 4. Pembuatan Ekstrak Daun <i>Artemisia vulgaris</i>	43
Lampiran 5. Pengukuran Kadar MDA	44
Lampiran 6. Pembuatan Histopatologi Ileum	45
Lampiran 7. Hasil Uji <i>One Way</i> dan Uji <i>Tukey</i>	46
Lampiran 8. Determinasi	48
Lampiran 9. Analisa Uji Kualitatif	49
Lampiran 10. Dokumentasi.....	50



DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

<u>Simbol/Singkatan</u>	<u>Keterangan</u>
Ach	Asetilkolin
AchE	Acetylcholinesterase
ANOVA	Analysis of variance
AOAC	Association of Analytical Communities
°C	Derajat Celcius
Cm	Centimeter
DNA	Deoxyribonucleic Acid
DNES	Diffuse Neuroendocrine System
H ₂ S	Gas Hydrogen Sulfide
HE	Hematoksilin-Eosin
Kg	Kilogram
LD	Lethal Dose
MDA	Malonidelhid
Mg	Miligram
mL	Milliliter
nm	Nanometer
NMDA	N-methyl-D-asparate
PFA	Paraformaldehid
PUFA	<i>Polyunsaturated Fatty Acid</i>
RAL	Rancangan Acak Lengkap
RNA	Ribonucleic Acid
ROS	Reactive Oxygen Species
TCA	Trichloroacetic
VGSC	Voltage-Gated Sodium Channel

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penggunaan pestisida di dunia mencapai 3,5 juta ton per tahun. Penggunaan pestisida dengan jenis *highly toxic* kebanyakan dipergunakan di negara-negara berkembang termasuk Indonesia. Secara global *World Health Organization* (WHO) memperkirakan keracunan pestisida menyebabkan 300.000 kematian per tahun dan kebanyakan terjadi di negara-negara berpenghasilan rendah dan menengah (Minaka dkk., 2016).

Pestisida merupakan zat untuk membunuh atau mengendalikan hama. Pestisida banyak diaplikasikan dalam bidang pertanian dan kesehatan untuk membasmi organisme pengganggu sehingga dapat meningkatkan produktifitas pertanian dan mencegah penyakit pada manusia. Insektisida merupakan salah satu jenis pestisida yang berfungsi untuk mengusir serangga. Senyawa yang tergolong insektisida antara lain organofosfat, metilkarbamat, dan piretroid (Ujiantari dkk., 2016).

Deltamethrin merupakan insektisida golongan piretroid sintetis yang digunakan untuk mengendalikan hama. Deltamethrin adalah insektisida spektrum luas bertindak sebagai racun kontak dan racun perut. Deltamethrin mempengaruhi sistem periferik dan saraf pusat serangga melalui kerja saluran sodium, memperpanjang pembukaan saluran sodium, menstimulasi sel saraf untuk menghasilkan *repetitive discharge*, menyebabkan paralisis atau *knockdown* pada serangga dan akhirnya serangga mati (Meilin dan Praptana, 2014).

Artemisia merupakan salah satu tanaman genus terbesar dari familia Asteraceae yang tersebar di seluruh dunia. Tumbuhan ini dikenal mengandung

senyawa artemisinin. Tanaman ini juga dikenal sebagai tanaman obat karena dilaporkan memiliki bioaktivitas seperti antivirus, antitumor, antipiretik, antihepatitis dan antioksidan (Soetjipto, 2013).

Antioksidan merupakan senyawa kimia yang dapat menghambat reaksi oksidasi. Antioksidan bertindak sebagai penyumbang radikal hidrogen atau bertindak sebagai akseptor radikal bebas. Senyawa antioksidan yang sering digunakan terdiri dari antioksidan sintesis dan antioksidan alami, tetapi antioksidan sintesis diduga dapat menimbulkan efek negatif bagi kesehatan seperti dapat menyebabkan kanker (Bangol dkk., 2014).

Kemampuan untuk menetralkan senyawa oksidan sebenarnya telah dimiliki oleh tubuh maupun sel itu sendiri, namun kemampuan tubuh tidak cukup untuk menetralkan senyawa oksidan yang diakibatkan adanya paparan bahan beracun yang berasal dari lingkungan yang bersifat radikal bebas. Termasuk insektisida seperti deltamethrin (Goodman, 2005).

Malondialdehida (MDA) merupakan produk akhir dari peroksidasi lipid yang terbentuk akibat degradasi radikal bebas. MDA dapat menggambarkan aktivitas radikal bebas dalam sel dan jika jumlahnya banyak dapat menyebabkan toksisitas. Untuk itu pengukuran MDA dapat memberikan perkiraan aktivitas radikal bebas serta sebagai penanda adanya stress oksidatif di dalam tubuh (Karin, 2011). Pengamatan terhadap gambaran histopatologi ileum dilakukan untuk mengetahui perubahan yang terjadi pada tingkat seluler organ ileum. Kerusakan tingkat seluler dapat diketahui dari adanya degenerasi sampai dengan nekrosis (Nugroho, 2005).

Penelitian yang telah dilakukan terkait *Artemisia vulgaris* sebagai anti-inflamasi yang diekstrak dengan 70% methanol didapati bahwa pada dosis 400 mg/kg memberikan penghambatan yang signifikan terhadap pembentukan jaringan granulosus yang mengindikasikan bahwa ekstrak ini dapat menghambat inflamasi sub kronis, yang membuktikan bahwa tanaman baru cina memiliki potensi sebagai bahan baku pada obat-obatan modern (Afsar *et al.*, 2013). Sebuah penelitian melaporkan bahwa pemberian deltamethrin (5,6 dan 18 mg/kg BB) secara signifikan meningkatkan nilai *thiobarbituric acid reactive substance* (TBARS) pada hati dan ginjal tikus (Rehman *et al.*, 2006).

Efek toksik yang dapat terjadi akibat paparan insektisida golongan piretroid deltamethrin diharapkan dapat dikurangi atau dihilangkan dengan aktivitas antioksidan yang terkandung dalam daun *Artemisia vulgaris*. Sehingga dalam penelitian ini akan dibahas mengenai Efek Preventif Ekstrak Daun *Artemisia vulgaris* Terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) dan Gambaran Histopatologi Ileum Pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Yang Diinduksi Deltamethrin.

1.2 Rumusan Masalah

Berikut ini adalah rumusan masalah berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan:

1. Bagaimana pengaruh pemberian ekstrak daun *Artemisia vulgaris* terhadap kadar malondialdehid (MDA) organ ileum tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi deltamethrin.?
2. Bagaimana pengaruh pemberian ekstrak daun *Artemisia vulgaris* pada gambaran histopatologi organ ileum yang diinduksi deltamethrin?

1.3 Batasan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka penelitian ini dibatasi pada:

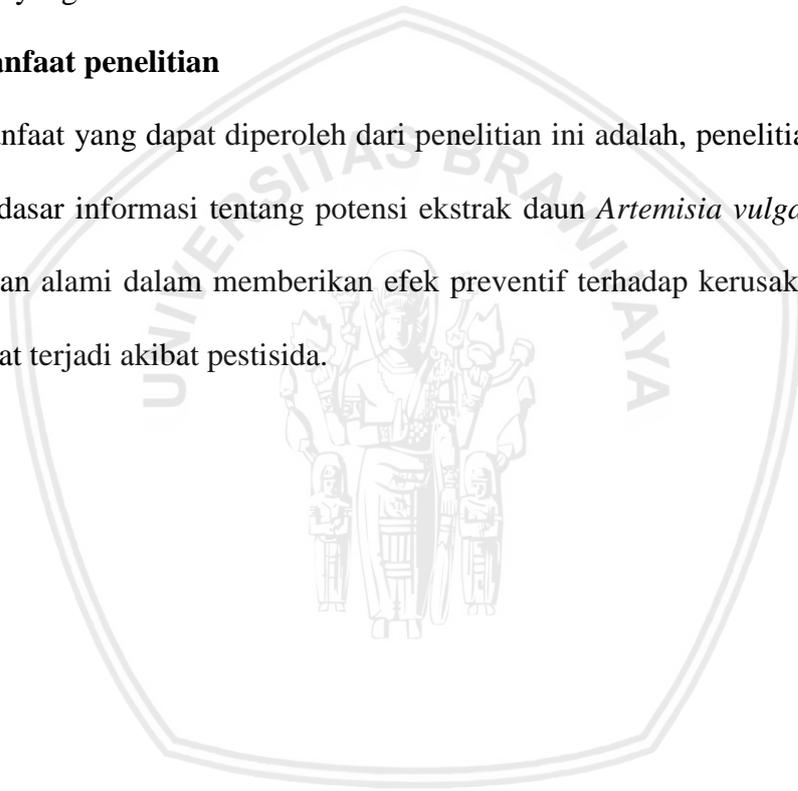
1. Hewan model yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar jantan dengan umur 8 – 10 minggu dan berat badan 150 – 200 g. Tikus diperoleh dari pedagang tikus di daerah singosari malang.
2. Penggunaan hewan coba pada penelitian ini mendapatkan sertifikat laik etik dengan nomor 868-KEP-UB dari Komisi Etik Penelitian Universitas Brawijaya.
3. Deltamethrin yang digunakan dalam penelitian ini adalah deltamethrin yang diperoleh dari VDB Pet Shop kota malang.
4. Ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi berdasarkan penelitian (Istiqomah, 2013).
5. Kadar MDA organ ileum yang diamati diukur dengan metode TBA menggunakan alat spektrofotometer pada gelombang 532 nm (Irawan *et al*, 2012). Pengukuran kadar MDA dilakukan di Laboratorium FAAL Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
6. Histopatologi ileum yang diamati yaitu meliputi pemendekan vili dan nekrosis sel epitel dengan menggunakan pewarnaan *haematoxylin eosin* (HE) dan diamati dengan mikroskop cahaya (Aboutelebi, 2013). Pembuatan histopatologi dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

1.4 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui kemampuan ekstrak daun *Artemisia vulgaris* dalam mempengaruhi kadar Malondialdehida (MDA) organ ileum tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi deltamethrin.
2. Mengetahui kemampuan ekstrak daun *Artemisia vulgaris* dalam mempengaruhi hasil histopatologi ileum tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi deltamethrin.

1.5 Manfaat penelitian

Manfaat yang dapat diperoleh dari penelitian ini adalah, penelitian ini dapat menjadi dasar informasi tentang potensi ekstrak daun *Artemisia vulgaris* sebagai antioksidan alami dalam memberikan efek preventif terhadap kerusakan jaringan yang dapat terjadi akibat pestisida.



BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pestisida

Pestisida merupakan substansi yang digunakan untuk mengendalikan atau membunuh berbagai hama. Kata pestisida berasal dari kata pest yang berarti hama dan cida yang berarti pembunuh. Pestisida adalah sebagai pembunuh hama yaitu tungau, bakteri, virus, siput, nematode, burung, tikus, dan hewan lain yang dianggap merugikan (Priyanto, 2009).

Pestisida merupakan substansi kimia dan bahan lain serta jasad renik dan virus yang digunakan untuk mengendalikan hama. Pemakaian pestisida dapat membahayakan organisme non target. Pestisida juga dapat menimbulkan dampak negatif terhadap lingkungan. Semua bahan kimia pestisida secara umum menghambat proses metabolisme penting suatu organisme, oleh karena itu pestisida dianggap sebagai senyawa yang bersifat toksik (Nugroho dkk., 2015).

2.2 Deltamethrin

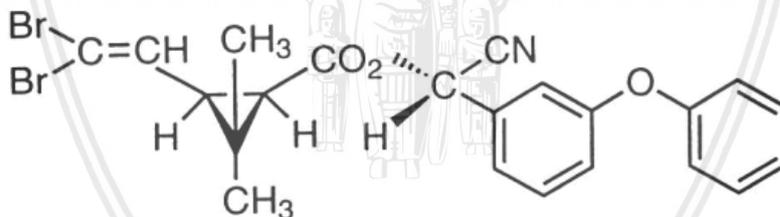
Deltamethrin merupakan insektisida golongan piretroid sintetis berspektrum luas yang digunakan sebagai pengganti organoklorin dan organophospat dalam program *pestcontrol* pada peternakan ayam, sapi, babi, dan anjing karena memiliki efek *knock down* pada organisme sasaran (Ndaong dkk., 2014).

Piretroid bekerja terutama pada sistem saraf. Mekanisme aksi piretroid yang umum diterima adalah perpanjangan keadaan terbuka kanal natrium yang bergantung pada tegangan di jaringan saraf. Kanal natrium yang berubah menghasilkan blok neuron yang berulang atau depolarisasi, tergantung pada berapa lama kanal terbuka diperpanjang. Kanal dan sistem reseptor lain dalam jaringan saraf berperan dalam generasi gejala klinis majemuk spesifik pada

mamalia, termasuk kanal kalsium dan reseptor gamma aminobutyric acid (GABAA) (Wolansky *et al.*, 2006).

Secara proporsional deltamethrin tergantung pada elemen racun. Racun dapat sebagai racun kontak, racun perut, dan fugimen. Kekuatan racun dapat 50-10.000 kali dibandingkan dengan ester lainnya (Sudira, 2009). Cara kerja deltamethrin pada sistem saraf yaitu dengan menghambat akson pada kanal ion sehingga terjadi aksi potensial yang terus menerus, piretroid mengikat protein *Voltage-Gated Sodium Channel* (VGSC) yang mengatur impuls saraf, sehingga hewan mengalami hipereksitasi (kegelisahan) dan konvulsi (kekejangan) (Ghiffari, 2013).

Struktur kimianya yaitu ($C_{22}H_{19}Br_2NO_2$; *(S)*-Cyano-3-fenoxibensyl-(1*R*,3*R*)-3-(2,2-dibromovinyl)-2,2-dimethylcyclopropankarboxyl).



Gambar 2.1 Struktur kimia deltamethrin (Christina, 2004).

Deltametrin memiliki sisi bagian alkohol yang mampu mendominasi untuk membentuk ikatan dengan residu asam lemak pada reseptor terutama gugus difenil eter, gugus siano, dan gugus karbonil (Ujiantari *et al.*, 2016).

2.3 Toksisitas Pestisida

Terjadinya toksisitas pestisida apabila terdapat bahan yang mengenai atau masuk kedalam tubuh dalam jumlah tertentu, ada beberapa faktor yang dapat mempengaruhi toksisitas pestisida dalam tubuh yaitu:

- a. Dosis. Dosis pestisida berpengaruh langsung terhadap bahaya toksisitas pestisida, dosis yang melebihi aturan membahayakan.
- b. Jangka waktu atau lamanya terpapar pestisida. Paparan yang berlangsung terus-menerus dan berlangsung lama dapat menimbulkan toksisitas kronik.
- c. Jalan masuk pestisida dalam tubuh. Keracunan akut atau kronik dapat melalui mulut, melalui kulit dan saluran pernafasan.

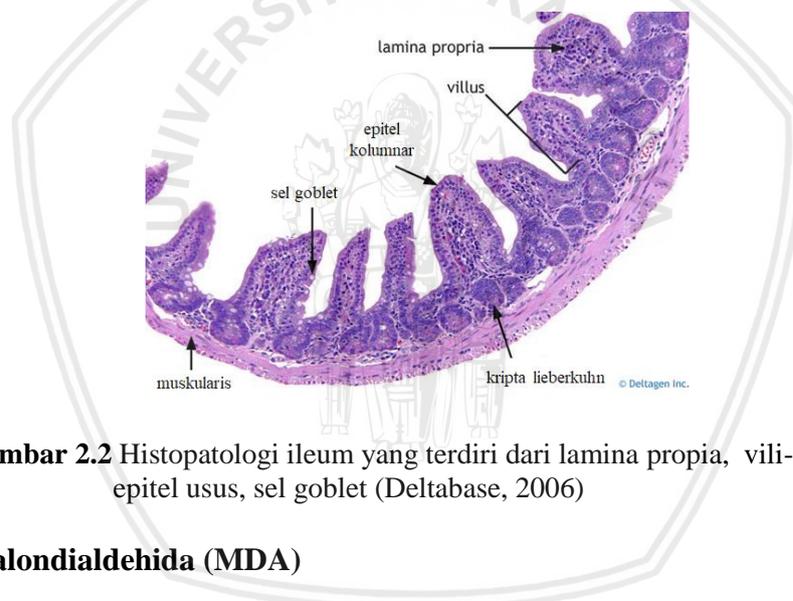
Semua jenis insektisida baik organoklorin, organofosfat, karbamat dan piretroid adalah racun saraf. Hal ini dapat terjadi pada saraf perifer dan /atau pada sistem saraf pusat melalui mekanisme yang berbeda. Toksisitas insektisida terhadap organisme tertentu juga dinyatakan dalam nilai Lethal Dose (LD50), yaitu, menunjukkan dosis racun yang dapat mematikan 50 persen dari populasi hewan percobaan. Insektisida ini dapat diklasifikasikan atas dasar LD50 (Raini, 2007).

2.4 Ileum

Usus halus atau intestinum tenue merupakan saluran panjang berkelok-kelok dengan panjang kira-kira 5-7 meter yang merupakan bagian dari saluran pencernaan terpanjang. Usus halus dibagi menjadi tiga bagian yaitu duodenum, jejunum, dan ileum (Theodore dkk, 2017). Usus halus berfungsi mengabsorpsi zat-zat yang bernutrisi seperti karbohidrat, protein, lemak, dan lainnya.

Ileum merupakan bagian terakhir usus halus memiliki bentuk vili seperti ibu jari dengan jumlah kelenjar liberkun sedikit. Ileum merupakan bagian dari usus halus yang paling sedikit memiliki sel goblet namun dilengkapi dengan jaringan limfatik yang besar yaitu daun Peyer (Junqueira *et al.*, 2007).

Ileum terletak di sebelah kanan bawah berhubungan dengan sekum dengan perantara lubang orifisium ileokelis yang diperkuat oleh sfingter dan katup valvula ceicalis yang berfungsi untuk mencegah cairan dalam kolon agar tidak masuk lagi ke ileum. Ileum terdiri dari beberapa bagian seperti lapisan muskuler, epitel usus, vili-vili usus, dan sel goblet seperti yang ada pada **Gambar 2.2**



Gambar 2.2 Histopatologi ileum yang terdiri dari lamina propria, vili-vili usus, epitel usus, sel goblet (Deltabase, 2006)

2.5 Malondialdehida (MDA)

Malondialdehida (MDA) merupakan indikator stres oksidatif yang terbentuk dari kerusakan membran sel karena terdapat *reactive oxygen species* (ROS) pada fase stress oksidatif. MDA terbentuk dari peroksidasi lipid pada membran sel yaitu reaksi radikal bebas (radikal hidroksil) dengan *poly unsaturated fatty acid* (PUFA). Peningkatan MDA menandakan adanya proses peroksidasi lipid yang berpotensi besar terjadinya komplikasi baik mikro maupun makrovaskular (Marjani, 2010).

Kadar MDA dapat meningkat melalui beberapa proses seperti aktivitas fisik yang meningkat sehingga metabolisme juga meningkat. Aktivitas fisik berat dan pengaruh lingkungan menyebabkan terbentuknya radikal bebas sulit dihindari. Antioksidan diketahui dapat mencegah terbentuknya radikal bebas (Droge, 2002).

Saat ini MDA banyak digunakan sebagai parameter peroksidasi lipid untuk mengukur tingkat stres oksidatif suatu organ. Kadar MDA suatu organ dapat diukur menggunakan dasar reaksi MDA dengan asam tiobarbiturat (TBA) yang membentuk senyawa berwarna MDA-TBA₂ dan mengabsorpsi sinar dengan panjang gelombang 532-534 nm. Konsentrasi senyawa berwarna dapat diukur berdasarkan absorbansi warna larutan standar yang telah diketahui konsentrasinya menggunakan spektrofotometer (NWLSSTM *Malondialdehyde Assay*) (Mardiany, 2008).

2.6 *Artemisia vulgaris*

Artemisia vulgaris atau biasa disebut dengan baru cina merupakan tumbuhan yang menahun, berambut halus, memiliki tinggi yang dapat mencapai 1 meter, tumbuhan ini tumbuh di tanah yang lembab dan tumbuh liar di hutan dan di ladang. Tumbuhan ini terdapat 3.000 meter di atas permukaan laut yang berasal dari Cina. Baru cina merupakan herba berkayu, percabangan banyak, beralur dan berambut. Daun berbentuk bulat telur dengan tepi ujung daun runcing dan kedua permukaan daun berambut halus. Warna daun hijau pada bagian depan daun, dibagian belakang daun berwarna putih. Bunga majemuk berkumpul 3 atau lebih, warnanya kuning muda. Panjang bonggol bunga 6-8 dengan tangkai berambut (Widyaningrum dan Rahmat, 2011).

Menurut Tjitrosoepomo (2010), taksonomi tumbuhan ini adalah sebagai berikut:

- Divisio : Spermatophyta
Sub divisio : Angiospermae
Kelas : Dicotyledoneae
Ordo : Asterales
Familia : Compositae
Genus : *Artemisia*
Spesies : *Artemisia vulgaris*



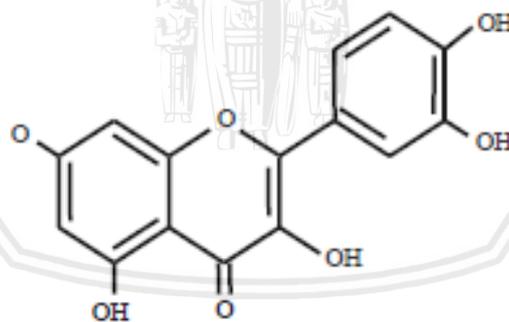
Gambar 2.3 Daun *Artemisia vulgaris* (Tjitrosoepomo, 2010).

Menurut penelitian Arisandi dan Andriani (2006) tanaman *Artemisia vulgaris* memiliki kandungan antara lain minyak atsiri, alfa-amirin, fernenol, dehidromatricaria ester, cincole. *Artemisia vulgaris* juga mengandung flavonoid, saponin, dan polifenol (Judzentiene dan Buzelyte, 2006). Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa yang paling luas terdistribusi di tanaman, terdapat hampir dalam semua bagian tanaman. Kelompok flavonoid yaitu antosianin, proantosianin, katekin, flavonol, flavon, dan isoflavon (Santoso, 2016).

Beberapa studi in vitro menunjukkan aktivitas antioksidan flavonoid, yaitu mencegah bergabungnya oksigen dengan zat lain sehingga tidak menimbulkan

kerusakan pada sel-sel tubuh. Senyawa flavonoid juga bersifat antibakteri, antiinflamasi, antialergi, antimutagen, antineoplastik, dan antitrombosit. Potensi flavonoid sebagai antioksidan yang mempunyai kemampuan melindungi sel dari kerusakan akibat aktivitas radikal hidroksi, anion superoksida, peroksinitrit dan radikal peroksida (Buchler dan Miranda, 2000).

Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan di dalam jaringan tanaman. Flavonoid termasuk dalam golongan senyawa phenolik dengan struktur kimia $C_6-C_3-C_6$ (**Gambar 2.4**). Kerangka flavonoid terdiri atas satu cincin aromatik A, satu cincin aromatik B, dan cincin tengah berupa heterosiklik yang mengandung oksigen dan bentuk teroksidasi cincin ini dijadikan dasar pembagian flavonoid ke dalam sub-sub kelompoknya. Sistem penomoran digunakan untuk membedakan posisi karbon di sekitar molekulnya (Redha, 2010).



Gambar 2.4 Struktur kimia flavonoid

Antioksidan merupakan molekul yang memiliki kemampuan memperlambat proses oksidasi molekul lain. Oksidasi adalah reaksi kimia yang dapat menghasilkan radikal bebas, sehingga memicu reaksi berantai yang mampu merusak sel. Antioksidan juga dapat didefinisikan sebagai senyawa yang melindungi sel dari efek berbahaya radikal bebas oksigen reaktif yang erat

kaitanya dengan berbagai penyakit, radikal bebas ini dapat berasal dari metabolisme tubuh maupun faktor eksternal (Budiana dkk., 2017).

Salah satu metode yang digunakan untuk penemuan obat tradisional adalah metode ekstraksi. Pemilihan metode ekstraksi tergantung pada sifat bahan dan senyawa yang akan diisolasi. Jenis-jenis metode ekstraksi yang dapat digunakan adalah maserasi, perlokasi, *ultrasound*, soxhlet, serta reflux dan destilasi uap. Metode sederhana yang paling banyak digunakan adalah maserasi. Metode ini dilakukan dengan memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah inert yang tertutup rapat pada suhu kamar. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan (Mukhrianti, 2014).

2.7 Hewan Coba

Hewan coba atau hewan laboratorium adalah hewan yang dipelihara dan ditenakan secara sengaja dengan tujuan sebagai hewan model guna mempelajari serta mengembangkan berbagai macam bidang ilmu dalam skala penelitian atau pengamatan laboratorik yang dipilih berdasarkan syarat atau standart yang diperlukan dalam penelitian (Ridwan, 2013).

Salah satu spesies yang ideal untuk dijadikan hewan coba dalam uji toksikologi adalah tikus putih karena memiliki berat badan yang dapat mencapai hingga 500 gram, dengan ukuran tubuh yang cukup besar organ tubuh tikus relatif besar, hal ini membantu dalam pemberian materi sehingga dapat diberikan dengan mudah melalui berbagai rute. Reaksi yang ditunjukkan tikus pada umumnya

serupa dengan yang terjadi pada mencit, anjing, dan kera yang juga sering digunakan untuk uji toksikologi (Kusumawati, 2004).



Gambar 2.5 Tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar (Sharp dan Villano, 2013)

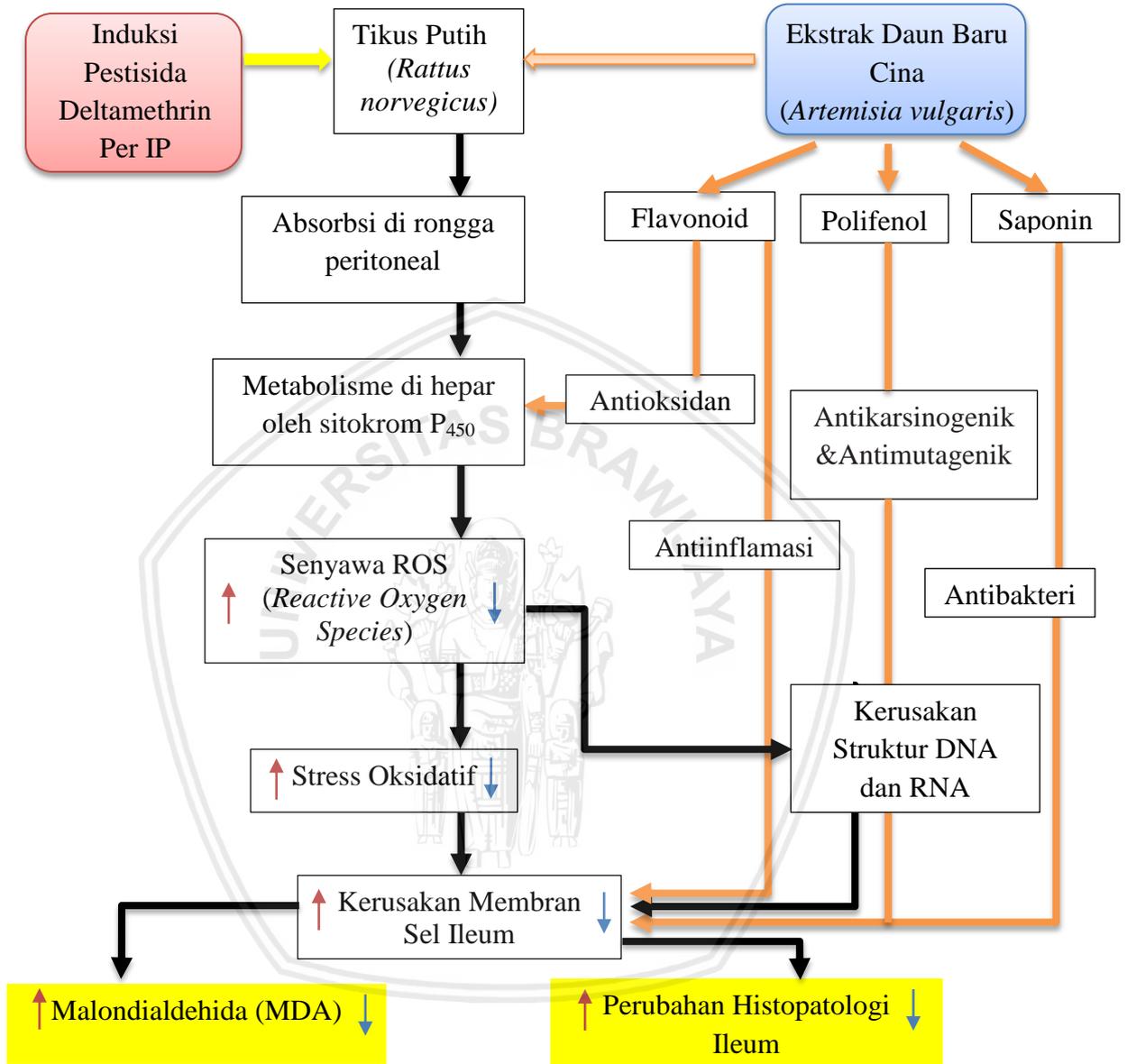
Karakteristik tikus putih (*Rattus norvegicus*) antara lain panjang badan 18-25 cm, kepala dan badan lebih pendek dari ekornya, hidung tumpul serta telinga kecil (Armitage, 2004). Kebutuhan makan masing-masing 15 hingga 30 g/hari dan konsumsi minum sebanyak 20-45 mL/hari. Pakan yang diberikan pada tikus umumnya tersusun dari komposisi alami dan mudah diperoleh dari sumber daya komersial (Hubrecht *and* Kirkwood, 2010).

Keunggulan tikus putih yaitu mudah untuk pemberian obat secara oral karena tidak ada respon muntah (Mangkoewidjojo, 2008). Klasifikasi tikus putih strain wistar yang digunakan sebagai hewan coba dalam penelitian ini adalah:

- Kingdom : Animalia
- Filum : Chordata
- Kelas : Mammalia
- Ordo : Rodentia
- Famili : Muridae
- Genus : *Rattus*
- Spesies : *Rattus norvegicus*

BAB 3. KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESA PENELITIAN

3.1 Kerangka Teori



Keterangan :

- ← : Memicu
- ↓ : Penurunan
- (Yellow) : Induksi
- (Red) : Variabel Bebas
- ↑ : Peningkatan
- (Orange) : Terapi
- (Blue) : Variabel Tergantung
- (Yellow) : Variabel Terikat

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) diberikan pestisida deltamethrin menggunakan spuit secara intraperitoneal, pestisida akan memenuhi rongga peritoneal. Deltamethrin diabsorpsi oleh pembuluh darah di sekitar rongga peritoneal lalu masuk ke hepar. Deltamethrin kemudian dimetabolisme melalui hidrolisis ikatan ester dan jalur oksidatif oleh sitokrom P₄₅₀. Oksidasi oleh sitokrom P₄₅₀ akan menghasilkan radikal bebas berupa anion superoksida yang merupakan salah satu dari *Reactive Oxygen Species* (ROS).

Toksisitas deltamethrin dapat segera diubah menjadi metabolit yang stabil, akan tetapi menimbulkan stress oksidatif akibat reaksi peroksidasi lipid pada pemberian deltamethrin secara berulang dengan dosis tinggi dapat merangsang peningkatan jumlah ROS. ROS yang meningkat akan mengakibatkan ketidakseimbangan antara antioksidan dan radikal bebas. Sehingga terjadi penumpukan radikal bebas menyebabkan timbulnya stress oksidatif.

Asam lemak tak jenuh majemuk atau *Polyunsaturated Fatty Acid* (PUFA) dalam lipid membran merupakan target utama peroksidasi ROS. Degenerasi PUFA oleh radikal bebas akan menghasilkan MDA, sehingga secara tidak langsung peningkatan MDA dapat digunakan sebagai biomarker terhadap jumlah radikal bebas di dalam tubuh. Kadar MDA yang tinggi menunjukkan tingginya radikal bebas di dalam tubuh sedangkan rendahnya kadar MDA di dalam tubuh menunjukkan tingginya kadar antioksidan di dalam tubuh.

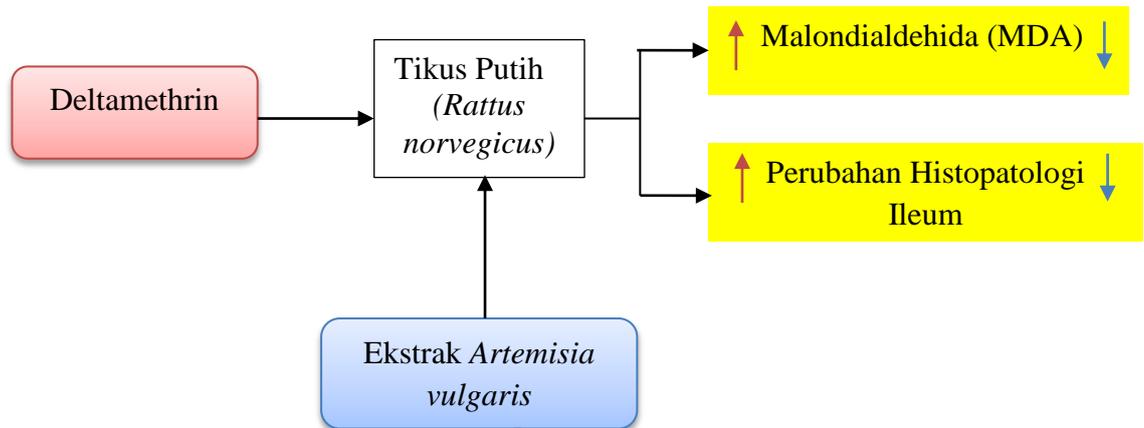
Ekstrak *Artemisia vulgaris* memiliki kandungan flavonoid, saponin, dan polifenol. Kandungan flavonoid dikenal sebagai antioksidan yang bekerja melindungi sel terhadap peroksidasi lipid dengan cara mereduksi radikal bebas, sehingga senyawa tersebut menjadi stabil dan kurang reaktif. ROS akan menurun

yang diakibatkan oleh keseimbangan antara oksidan dan antioksidan, sehingga stress oksidatif akan menurun sebanding dengan penurunan kadar MDA di dalam jaringan. Flavonoid juga memiliki aktivitas antiinflamasi yang mencegah terjadinya inflamasi pada ileum.

Polifenol berfungsi sebagai antikarsinogenik dan antimutagenik yang membantu mencegah kerusakan pada struktur DNA dan RNA yang disebabkan oleh radikal bebas. Saponin bekerja sebagai antibakteri untuk mencegah infeksi jaringan. Kemampuan flavonoid, polifenol, dan saponin dapat mencegah kerusakan sel ileum akibat deltamethrin sehingga dapat menghindari kerusakan membran sel ileum serta perbaikan sel dapat diamati pada gambaran histopatologi ileum.

MDA merupakan senyawa yang mampu menggambarkan aktivitas dari radikal bebas di dalam sel sehingga dapat dijadikan sebagai petunjuk dari adanya stress oksidatif akibat radikal bebas. MDA merupakan produk akhir dari peroksidasi lipid, MDA dilaporkan sangat toksik terhadap membran sel, karena dianggap sebagai inisiator suatu reaksi karsinogen, maupun sebagai mutagen. Kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh ROS mengakibatkan terjadinya kerusakan struktur molekul penyusun membran sehingga sel menjadi lisis dan melepaskan MDA yang selanjutnya senyawa ini dapat menyebabkan kerusakan sel. Mediator MDA merupakan produk akhir dari peroksidasi lipid yang digunakan sebagai biomarker biologis peroksidasi lipid dan dapat menggambarkan stress oksidatif.

3.2 Kerangka Konsep



3.3 Hipotesis Penelitian

Dari rumusan masalah yang tertera, maka hipotesis penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Pemberian ekstrak daun Baru cina (*Artemisia vulgaris*) dapat menurunkan kadar MDA ileum tikus yang diinduksi pestisida deltamethrin.
2. Pemberian ekstrak daun Baru cina (*Artemisia vulgaris*) dapat mencegah kerusakan histopatologi ileum tikus yang diinduksi pestisida deltamethrin.

BAB 4. METODE PENELITIAN

4.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober 2018 – November 2018 yang bertempat di:

1. Laboratorium Fisiologi Hewan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negri Malang.
2. Pembacaan kadar MDA di lakukan di Laboratorium FAAL Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.
3. Pembuatan preparat histopatologi organ ileum dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang.

4.2 Rancangan Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) menggunakan tikus putih (*Rattus norvegicus*) sebagai model percobaan dengan berat 150-200 gram dengan umur 8-12 minggu. Hewan coba diaklimatisasi selama 7 hari, ditempatkan di Laboratorium Fisiologi Hewan Universitas Islam Negri Malang.

Hewan coba dibagi menjadi lima kelompok dan besar sampel ditentukan dengan rumus dibawah (Kusumaningrum, 2008):

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

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

$$5n-5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

Keterangan:

t = jumlah kelompok perlakuan

n= jumlah ulangan yang diperlukan

Tabel 4.1 Tabel Perlakuan

No	Kelompok Perlakuan (empat ulangan)	Perlakuan
1	K-	Tanpa perlakuan
2	K+	Tikus diinduksi deltamethrin dosis 7,2 mg/KgBB per IP
3	P1	Tikus diberi ekstrak <i>Artemisia vulgaris</i> dosis 150 mg/KgBB per oral dan diinduksi deltamethrin dosis 7,2 mg/KgBB per IP
4	P2	Tikus diberi ekstrak <i>Artemisia vulgaris</i> dosis 300 mg/KgBB per oral dan diinduksi deltamethrin dosis 7,2 mg/KgBB per IP
5	P3	Tikus diberi ekstrak <i>Artemisia vulgaris</i> dosis 600 mg/KgBB per oral dan diinduksi deltamethrin dosis 7,2 mg/KgBB per IP

Tabel 4.2 Rancangan Penelitian

Perlakuan	Ulangan					Total	Rata-Rata
	1	2	3	4	5		
K-	K-1.1	K-1.2	K-1.3	K-1.4	K-1.5		
K+	K+1.1	K+1.2	K+1.3	K+1.4	K+1.5		
P1	P1.1	P1.2	P1.3	P1.4	P1.5		
P2	P2.1	P2.2	P2.3	P2.4	P2.5		
P3	P3.1	P3.2	P3.3	P3.4	P3.5		

Tabel 4.3 ANOVA (*Analysis of Variance*)

S.V.	df ^x	SS	MS ^{xx}	F ^{xxx} Calc	F5%	F1%
<i>Treatment</i>	T-1	SST	MST	<u>MST</u>	3.06	4.89
<i>Error</i>	T(n-1)	SSE	MSE	MSE		
Total	Tn-1	SS total				

Keterangan :

$$\text{x). d.f. varietas (treatment)} = t - 1 = 5 - 1 = 4$$

$$\text{d.f. total} = nt - 1 = 20 - 1 = 19$$

$$\text{d.f. error} = \text{df total} - \text{df varietas} = 19 - 4 = 15$$

$$\text{xx). MS Varietas} = \frac{SS \text{ Varietas}}{df \text{ Varietas}}$$

$$\text{MS error} = \frac{SS \text{ error}}{df \text{ error}}$$

$$\text{xxx). F Calculated} = \frac{MS \text{ Varietas}}{MS \text{ error}}$$

4.3 Variabel Penelitian

Adapun variabel yang diamati pada penelitian ini adalah:

Variabel bebas : dosis pemberian deltamethrin dan dosis pemberian ekstrak *Artemisia vulgaris*.

Variabel terikat : kadar Malondialdehida (MDA) dan histopatologi ileum.

Variabel kendali : homogenitas tikus (berat badan, jenis kelamin, dan umur), pakan, dan kondisi kandang.

4.4 Alat dan Bahan

4.4.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: kandang tikus, botol minum tikus, sekam, alat sonde, *dissecting set*, papan bedah, sarung tangan (*glove*), *masker*, spuit 3 cc, spuit 1 cc, timbangan di gital, gelas ukur 10 ml, gelas kimia, mortar, pengaduk kaca, *object glass*, *coverglass*, mikroskop cahaya, pot organ, lemari pendingin, blender, dan botol kaca.

4.4.2 Bahan

Bahan yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar umur 8 – 12 minggu, *Artemisia vulgaris* dalam bentuk ekstrak, *corn oil*, deltamethrin, alkohol, aquades, dan formalin 10%.

4.5 Prosedur Penelitian

4.5.1 Aklimatisasi Hewan Coba

Aklimatisasi hewan coba selama satu minggu dengan tujuan mengadaptasikan hewan coba dengan lingkungannya yang baru. Pada tahap ini dilakukan pengamatan terhadap keadaan umum hewan coba. Pemberian pakan selama masa adaptasi berupa pakan standar sesuai kebutuhan yaitu 20 gram/ekor/hari dalam bentuk pelet (10% dari berat badan) dan air minum diberikan secara *ad libitum*.

Komposisi pakan standar berdasarkan *Association of Analytical Communities* (2005) terdiri atas 5% karbohidrat, 10% protein, 3% lemak, dan 13% vitamin dan mineral. Tikus putih harus dikandangkan sesuai kelompok perlakuan dan dipelihara di suhu ruang dengan kelembaban ruang 83% (Saputri *et al.*, 2008).

4.5.2 Ekstraksi Daun Baru Cina (*Artemisia vulgaris*)

Daun dibersihkan dari kotoran dan batangnya, kemudian di rajang dan dijemur hingga kering dengan kadar air mencapai kurang dari 10%. Dibuat dalam bentuk simplisia dan dimasukkan dalam botol gelap, ditambahkan pelarut etanol 95% perbandingan 1:10. Direndam selama 6 jam sambil sesekali diaduk, kemudian didiamkan selama 18 jam. Setelah itu disaring menggunakan kapas dan kain kasa. Ampas yang di dapatkan kemudian

dimaserasi. Filtrat yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* (Istiqomah, 2013).

4.5.3 Induksi Deltamethrin

Induksi deltamethrin dilakukan dengan cara penyuntikan pada tikus dengan dosis 7,2 mg/KgBB, penyuntikan dilakukan secara intraperitoneal. Dosis 7,2 mg/KgBB dipilih dengan harapan akan memberikan efek toksik secara kronis dan tidak menyebabkan kematian secara cepat.

4.5.4 Pengambilan Organ Ileum

Pengambilan organ illeum dilakukan pada semua kelompok hewan coba pada hari ke-8 setelah perlakuan. Prosedur euthanasia dilakukan dengan memberikan anestesi berupa ketamine dengan dosis 0,5 ml secara IM. Hewan coba kemudian diposisikan rebah dorsal, dibersihkan rambut pada bagian abdomen dari rambut dengan cara dicukur, kemudian dibersihkan dengan menggunakan kapas yang diberi iodin. Dibedah bagian abdomen menggunakan gunting bengkok. Diambil organ illeum, diisolasi dan dipotong, dibilas dengan NaCl fisiologis 0,9% dan direndam dalam alkohol 10% selama 24 jam untuk selanjutnya diproses.

4.5.5 Penentuan Kadar MDA

Jaringan ileum dialmbil dari setiap sampel sebanyak 0,1 gram dan dipotong kecil-kecil kemudian digerus menggunakan mortar. Selanjutnya ditambahkan 1 mL aquades. Homogenan yang terbentuk kemudian dipindahkan ke dalam *microtube* dan ditambahkan 100 μ L TCA, 250 μ L HCL 1N, dan 100 μ L Na-thio 1%. Pada setiap penambahan reagen, larutan dihomogenkan dengan *vortex*. Larutan lalu diinkubasi dalam *waterbath*

pada suhu 100°C selama 20 menit dan dibiarkan dingin pada suhu ruang. Kemudian larutan disentrifugasi dengan kecepatan 3500 rpm selama 10 menit. Supernatan yang terbentuk diambil dan ditambahkan aquades sebanyak 3500 µL. Kemudian larutan tersebut diukur absorbansinya dengan panjang gelombang 532 nm dan dipotkan pada kurva standar yang telah dibuat untuk menghitung konsentrasi sampel (Contie, 1991).

4.5.6 Pembuatan Preparat Histopatologi Ileum

Proses pembuatan preparat histologi menurut Junquiera dan Carneiro (2007) meliputi prosedur fiksasi, dehidrasi, penjernihan, infiltrasi parafin, *embedding*, *sectioning*, penempelan di *object glass*, dan pewarnaan. Organ ileum difiksasi menggunakan PFA 4%, kemudian didehidrasi menggunakan alkohol bertingkat dari konsentrasi 70% selama 24 jam, etanol 80% selama 2 jam, etanol 90%, 95%, dan etanol absolut selama 20 menit. Selanjutnya dilakukan penjernihan dengan cara merendam jaringan dalam larutan Xylol I selama 20 menit dan Xylol II selama 30 menit. Infiltrasi dan *embedding* dengan menggunakan parafin cair pada inkubator bersuhu 58°C – 60°C. *Trimming* dilakukan dengan cara menjepit cetakan dalam mikrotom dan jaringan dipotong dengan ketebalan 5 µm. Sediaan disimpan dalam inkubator suhu 38°C – 40°C selama 24 jam untuk selanjutnya diwarnai dengan pewarna *Haematoxylin* dan *Eosin* (Muntiha, 2001).

Pewarnaan HE dilakukan dengan cara meletakkan preparat yang akan diwarnai pada rak khusus dan dicelupkan secara berurutan ke dalam larutan, yaitu: xylol (2x3 menit), etanol absolut (2x3 menit), etanol 90% (3 menit), etanol 80% (3 menit), kemudian dibilas dengan aquades. Selanjutnya

diteteskan larutan *haematoxylin* selama 6 – 7 menit, lalu dibilas dengan aquades selama satu menit. Kemudian preparat ditetesi dengan larutan pembiru selama satu menit dan dibilas lagi dengan aquades 47 selama satu menit. Prosedur selanjutnya adalah ditetesi larutan *eosin* selama 1 – 5 menit dan kembali dibilas dengan aquades selama satu menit. Kemudian preparat dicelupkan ke dalam etanol 80% sebanyak 10 kali celupan, ke dalam etanol 90% sebanyak 10 kali celupan, ke dalam etanol absolut sebanyak 10 kali celupan, lalu direndam dalam etanol absolut selama satu menit. Setelah itu preparat direndam dalam xylol sebanyak tiga kali 3 menit. Kemudian preparat diangkat satu persatu dari larutan xylol dalam keadaan basah, diberi satu tetes cairan perekat dan selanjutnya ditutup dengan *cover glass*. Hasil pewarnaan diamati di bawah mikroskop cahaya (Muntiha, 2001).

Pembacaan histopatologi ileum dilakukan dengan cara tiap sediaan preparat sampel ileum dilakukan pembacaan dalam lima lapangan pandang dengan pembesaran 40-400x.

4.5.7 Analisa Data

Analisa data untuk kadar MDA dilakukan secara kuantitatif dengan menggunakan uji statistik *One Way Analysis of Variance* (ANOVA) dengan uji *Tukey* ($\alpha = 0,05$) menggunakan *software* Microsoft Office Excel dan SPSS untuk windows bertujuan untuk mengetahui pengaruh dari perlakuan preventif yang memberikan hasil paling optimal. Pengamatan histopatologi berupa perubahan pada organ ileum akan dianalisa secara deskriptif menggunakan mikroskop cahaya.

BAB 5. HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Peran Ekstrak Daun *Artemisia vulgaris* Terhadap Jumlah Radikal Bebas di Dalam Tubuh Berdasarkan Kadar Malondialdehida (MDA) Ileum Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Deltamethrin

Malondialdehida (MDA) merupakan hasil akhir dari peroksidasi lipid dengan radikal bebas, sehingga secara tidak langsung juga menunjukkan jumlah radikal bebas di dalam tubuh. Prinsip pengukuran MDA adalah reaksi satu molekul MDA dengan dua molekul asam tiobarbiturat (TBA) membentuk kompleks senyawa MDA-TBA yang berwarna merah muda dan nilai absorpsinya yang sebanding dengan konsentrasi MDA dapat diketahui dengan spektrofotometer (Tokur *et al.*, 2006). Hasil Pengukuran kadar MDA ileum kemudian dianalisis secara statistik menggunakan uji *one way* ANOVA yang dilanjutkan dengan uji *Tukey* dengan tingkat kepercayaan 95% untuk menentukan perbedaan antar perlakuan.

Tabel 5.1 ANOVA (*Analysis of Variance*) Kadar MDA

S.V.	df	SS	MS	F _{calculated}	F _{5%}	F _{1%}
<i>Treatment</i>	4	170316.048	42579.012	119.561	3.06	4.89
<i>Error</i>	20	7122.532	356.127			
Total	24	177438.580				

Data uji *One Way* ANOVA (**Tabel 5.1**) disajikan dalam tingkat kepercayaan 95% menunjukkan hasil pengaruh yang sangat berbeda nyata karena $F_{hitung} (119,561) > F_{tabel} 5\% (3,06)$, maka dapat disimpulkan bahwa diantara perlakuan terdapat perbedaan sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap kadar MDA.

Tabel 5.2 Rata-rata kadar MDA ileum tikus putih (*Rattus norvegicus*)

Kelompok	Kadar MDA Rata-rata (ng/mL) \pm SD	Peningkatan Kadar MDA terhadap Kontrol Negatif (%)	Penurunan Kadar MDA terhadap Kelompok Kontrol Positif (%)
K-	436.42 \pm 19.95 ^b	-	-
K+	597.10 \pm 25.66 ^c	36.81	-
P1 (150 mg/KgBB)	371.94 \pm 15.65 ^a	-	37.70
P2 (300 mg/KgBB)	371.10 \pm 21.32 ^a	-	37.84
P3 (600 mg/KgBB)	435.54 \pm 4.86 ^b	-	27.05

Keterangan : Notasi a, b, dan c menunjukkan adanya perbedaan antar kelompok perlakuan.

Berdasarkan **Tabel 5.2**, diperoleh informasi bahwa kadar MDA ileum tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi deltamethrin pada kelompok kontrol positif menunjukkan adanya peningkatan kadar MDA sebesar 36.81% terhadap kelompok kontrol negatif yang dianggap sebagai kadar MDA normal. Kelompok P1 (150 mg/KgBB), P2 (300 mg/KgBB), dan P3 (600 mg/KgBB) terdapat penurunan kadar MDA dengan persentase masing-masing sebesar 37.70%, 37.84%, dan 27.05% terhadap kelompok kontrol positif.

Radikal bebas diproduksi oleh tubuh dalam jumlah kecil pada keadaan fisiologi normal sebagai akibat dari berbagai proses metabolisme. Proses metabolisme yang terjadi seperti proses oksidasi yang berlangsung selama respirasi sel, sehingga kadar MDA kelompok kontrol negatif dikategorikan sebagai kadar MDA normal, karena kelompok ini tidak mendapatkan perlakuan apapun kecuali makan dan minum secara *ad libitum*. Kadar MDA pada kelompok kontrol positif meningkat disebabkan oleh metabolisme deltamethrin melalui hidrolisis ikatan ester dan jalur oksidasi oleh sitokrom P₄₅₀. Secara fisiologis

oksidasi oleh sitokrom P₄₅₀ akan menghasilkan radikal bebas berupa anion superoksida yang termasuk kedalam ROS (Manna *et al.*, 2005). Target utama ROS adalah PUFA pada membran lipid sel, degenerasi senyawa radikal ROS dengan PUFA akan menghasilkan hasil akhir berupa MDA. Sehingga pada kelompok kontrol positif yang menerima deltamethrin secara terus-menerus dengan dosis besar, mengalami peningkatan kadar MDA.

Penurunan kadar MDA pada kelompok P1 (150 mg/KgBB), P2 (300 mg/KgBB), dan P3 (600 mg/KgBB) menunjukkan bahwa adanya pengaruh ekstrak *Artemisia vulgaris* dalam menurunkan jumlah radikal bebas di dalam tubuh. Hal ini dikarenakan daun *Artemisia vulgaris* memiliki kandungan flavonoid yang berfungsi sebagai antioksidan yang bekerja menangkap radikal bebas di dalam tubuh dan menjadikannya senyawa non radikal (Bangol *et al.*, 2014), sehingga mampu menurunkan kadar MDA ileum tikus putih yang diberi deltamethrin.

Hasil uji statistik lanjutan menggunakan uji *Tukey* kadar MDA ileum pada kelompok P1 (150 mg/KgBB) dan kelompok P2 (300 mg/KgBB) menunjukkan hasil yang berbeda nyata dengan kadar MDA ileum pada kelompok kontrol positif dan kelompok kontrol negatif, dimana kelompok P1 dan P2 memiliki kadar MDA yang lebih rendah yaitu sebesar 371.94 ± 15.65 ng/mL dan 371.10 ± 21.32 ng/mL dibandingkan dengan kadar MDA kelompok kontrol positif dan kelompok kontrol negatif yaitu sebesar 597.10 ± 25.66 ng/mL dan 436.42 ± 19.95 ng/mL. Hasil statistik pada kelompok P3 (600 mg/KgBB) menunjukkan hasil yang berbeda nyata dengan kelompok kontrol positif, P1 (150 mg/KgBB) maupun P2 (300 mg/KgBB) dengan kadar MDA ileum sebesar 435.54 ± 4.86 ng/mL,

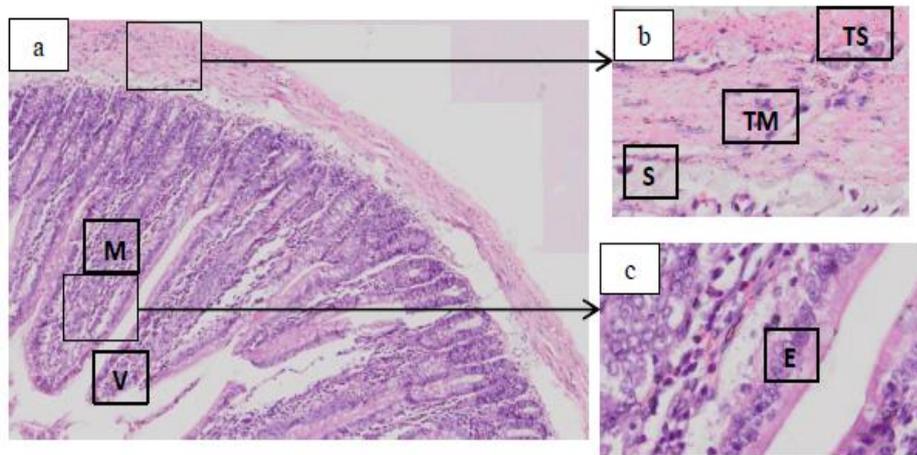
nilai ini lebih rendah dari kelompok kontrol positif, P1 (150 mg/KgBB) maupun P2 (300 mg/KgBB). Sedangkan dengan kelompok kontrol negatif, hasil statistika pada kelompok P3 (600mg/KgBB) menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata, dimana hasil kelompok P3 (600mg/KgBB) lebih rendah dibandingkan dengan hasil kelompok kontrol negatif.

Uji lanjutan menunjukkan bahwa terapi ekstrak daun *Artemisia vulgaris* dengan dosis 150 mg/KgBB dan dosis 300 mg/KgBB merupakan dosis yang optimal dalam menurunkan kadar MDA ileum tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi deltamethrin.

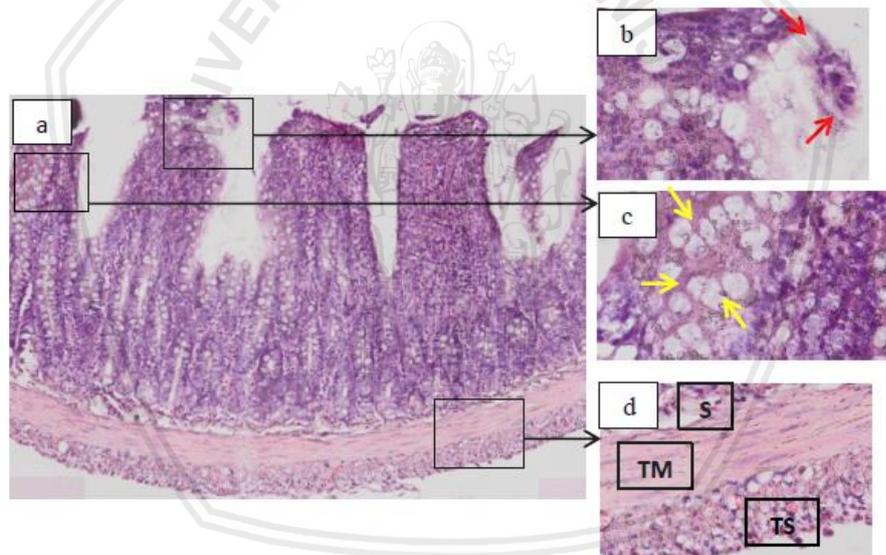
5.2 Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun *Artemisia vulgaris* terhadap Perubahan Histopatologi Ileum Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Deltamethrin

Pemeriksaan histopatologi pada jaringan menjadi salah satu parameter untuk mengukur suatu keberhasilan preventif. Ileum normal terdiri atas vili, sel-sel epitel dan sel goblet, lapisan mukosa, lapisan submukosa, tunika muskularis, dan tunika serosa (Xu and Cranwell, 2003). Lapisan mukosa usus terdapat suatu bentuk khusus berupa vili-vili.

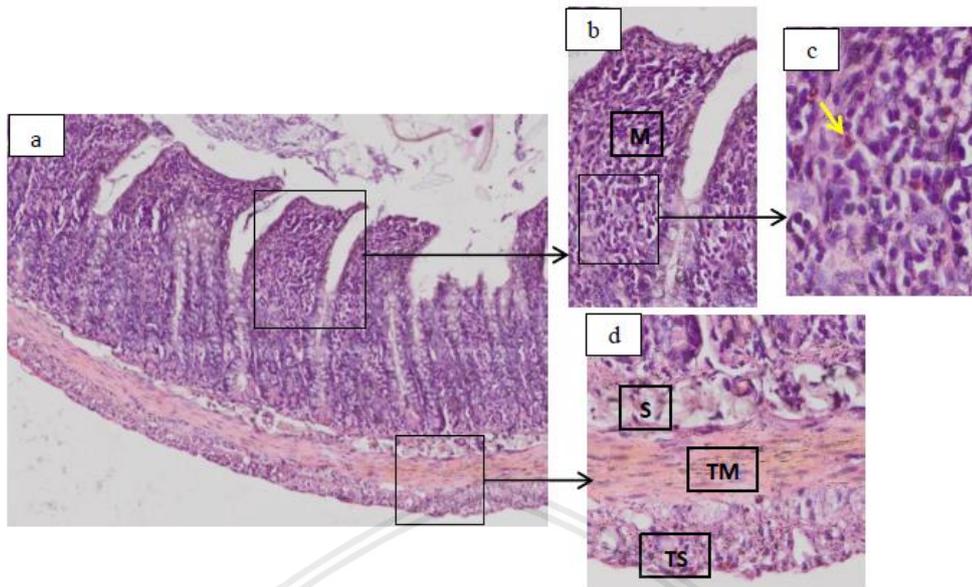
Pengaruh preventif pemberian ekstrak daun *Artemisia vulgaris* terhadap struktur epitel dan abnormalitas lainnya pada hewan model yang diinduksi deltamethrin dapat diamati dengan melihat perubahan gambar histopatologi ileum secara mikroskopis. Preparat histopatologi yang diamati dengan menggunakan teknik pewarnaan Hematoksilin Eosin (HE) untuk dapat memperlihatkan gambaran struktur epitel ileum menjadi lebih jelas.



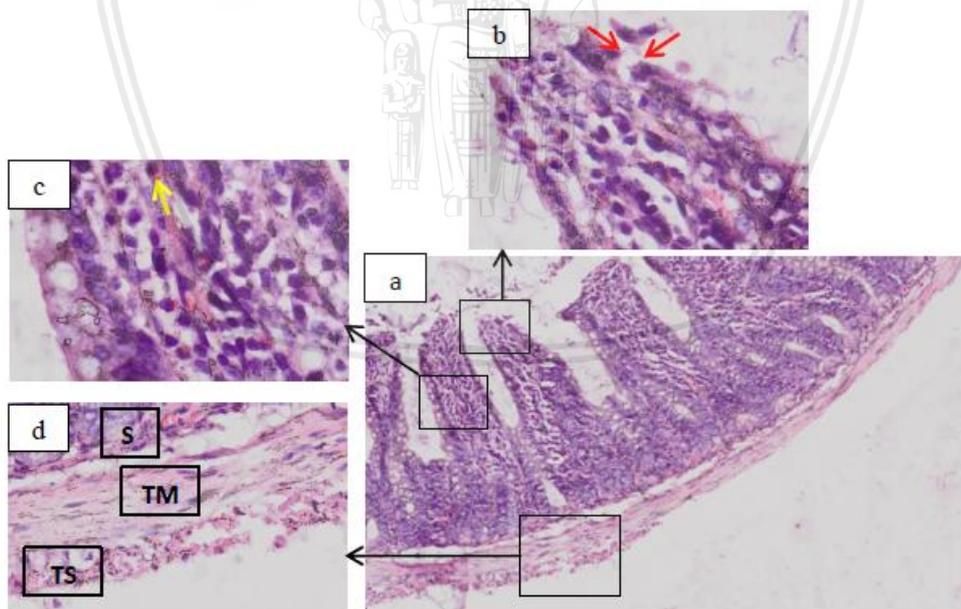
Gambar 5.1 Gambaran histopatologi ileum tikus putih kelompok kontrol negatif. (a) perbesaran 40x, (b) perbesaran 200x, dan (c) perbesaran 400x. Tunika Serosa (TS), Tunika Muskularis (TM), Submukosa (S), Mukosa (M), Vili (V), dan Epitel kolumnar (E) terlihat normal.



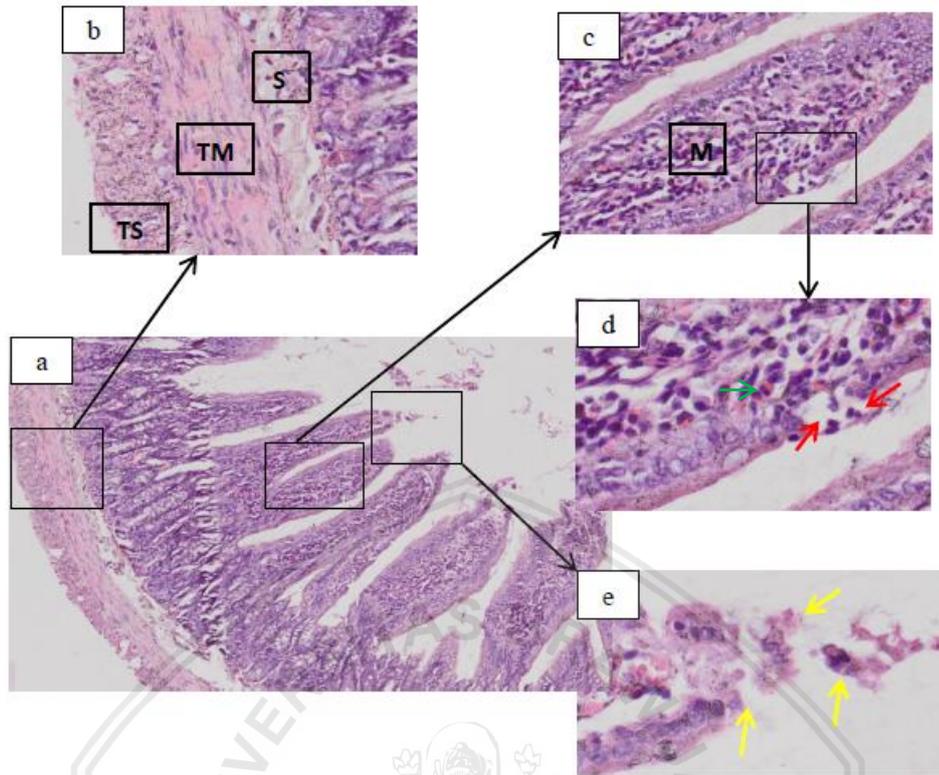
Gambar 5.2 Gambaran histopatologi ileum tikus putih kelompok kontrol positif. (a) perbesaran 40x, (b) perbesaran 400x terlihat adanya erosi epitel vili (panah merah), (c) perbesaran 400x terlihat adanya hiperplasia sel goblet (panah kuning), dan (d) perbesaran 200x. Tunika serosa (TS), Tunika Muskularis (TM), dan Submukosa (S) terlihat normal. Bagian Mukosa (M) batas antara sel epitel vili (epitel kolumnar selapis) dengan lamina propia sudah tidak terlihat.



Gambar 5.3 Gambaran histopatologi ileum tikus putih kelompok P1 (dosis 150 mg/KgBB). (a) perbesaran 40x, (b) perbesaran 200x; Mukosa (M), (c) perbesaran 400x terlihat adanya infiltrasi sel leukosit (panah kuning), dan (d) perbesaran 200x; Tunika serosa (TS), Tunika Muskularis (TM), dan Submukosa (S).



Gambar 5.4 Gambaran histopatologi ileum tikus kelompok P2 (dosis 300mg/KgBB). (a) perbesaran 40x, (b) perbesaran 400x terlihat adanya erosi epitel vili (panah merah), (c) perbesaran 400x terlihat adanya infiltrasi sel leukosit (panah kuning), (d) perbesaran 200x yaitu Tunika Serosa (TS), Tunika Muskularis (TM), dan Submukosa (S). Sel epitel vili terlihat rapat dengan inti bulat sampai oval.



Gambar 5.5 Gambaran histopatologi ileum tikus putih kelompok P3 (dosis 600 mg/KgBB). (a) perbesaran 40x, (b) perbesaran 200x yaitu Tunika Serosa (TS), Tunika Muskularis (TM), dan Submukosa (S), (c) perbesaran 200x; Mukosa (M), (d) perbesaran 200x terlihat adanya erosi epitel vili (panah merah), dan (e) perbesaran 400x terlihat adanya ruptur epitel vili (panah kuning) dan infiltrasi sel leukosit (panah hijau).

Gambaran histopatologi ileum pada kelompok kontrol negatif (**Gambar 5.1**) menunjukkan struktur lapisan sel epitel ileum (epitel kolumnar selapis) yang teratur, merata, dan terlihat jelas serta tidak mengalami erosi. Gambaran histopatologi ileum pada kelompok kontrol positif (**Gambar 5.2**) terlihat adanya kerusakan jaringan akibat pemberian deltamethrin dengan dosis besar secara berulang, hal ini sejalan dengan hasil pengukuran kadar MDA yang cukup tinggi. Kerusakan yang terjadi berupa hiperplasia sel goblet, erosi epitel vili, dan epitel vili sudah tidak terlihat jelas.

Gambaran histopatologi ileum pada kelompok P1 (150 mg/KgBB) (**Gambar 5.3**) terlihat adanya infiltrasi sel leukosit dan kelompok P2 (300 mg/KgBB) (**Gambar 5.4**) terlihat adanya erosi epitel vili namun erosi tidak separah kontrol positif, dimana sel epitel terlihat tersusun rapat dengan inti sel bulat hingga oval mendekati kelompok kontrol negatif dan terlihat juga adanya infiltrasi sel leukosit. Terjadinya infiltrasi sel leukosit disebabkan oleh respon terhadap inflamasi, dimana proses ini bertujuan untuk menyingkirkan jaringan nekrotik serta benda asing. Inflamasi merupakan reaksi pertahanan organisme dan jaringan terhadap kerusakan, tujuannya adalah memperbaiki kerusakan atau membatasi serta menghilangkan penyebab kerusakan (Hafidzoh, 2017).

Gambaran histopatologi pada kelompok P3 (**Gambar 5.5**) menunjukkan adanya infiltrasi sel leukosit, ruptur epitel vili, dan erosi epitel vili. Pada hasil pengukuran kadar MDA terdapat peningkatan kadar MDA kembali, yang artinya terdapat peningkatan jumlah radikal bebas di dalam tubuh yang dapat memicu kerusakan jaringan. Perubahan patologis yang terjadi disebabkan oleh radikal bebas yang meningkat akibat pemberian dosis ekstrak yang cukup tinggi. Tingginya konsentrasi ekstrak yang diuji tidak selalu seiring dengan tingginya aktivitas antioksidan yang diperoleh, karena pada konsentrasi tinggi senyawa fenolik atau antioksidan dapat berubah menjadi prooksidan (Bangol *et al.*, 2014). Banyaknya konsentrasi antioksidan yang diberikan dapat berpengaruh pada laju oksidasi, pada konsentrasi tinggi aktivitas antioksidan grup fenolik sering lenyap bahkan antioksidan tersebut menjadi prooksidan (Simanjuntak, 2012).

Kerusakan epitel vili ileum paling parah yaitu pada kelompok kontrol positif yang diinduksi deltamethrin tanpa pemberian ekstrak daun *Artemisia vulgaris*.

Menurut Sinaga (2016), mekanisme kerusakan sel akibat radikal bebas diawali dengan reaksi peroksidasi lipid akibat tingginya jumlah radikal bebas di dalam tubuh, yang menyerang PUFA sebagai komponen penting penyusun membran sel, sehingga menyebabkan sel kehilangan permeabilitasnya dan kemudian terjadi kerusakan sel.

Pencegahan kerusakan struktur vili ileum paling efektif yaitu pada perlakuan 1 kemudian perlakuan 2 dan terakhir perlakuan 3. Hal ini menunjukkan efektivitas dari ekstrak daun *Artemisia vulgaris* dosis 150 mg/KgBB dan 300 mg/KgBB. Adanya aktivitas antioksidan dan antiinflamasi dari flavonoid yang terkandung dalam ekstrak daun *Artemisia vulgaris* menyebabkan penurunan produksi dan aktivitas dari sel radang. Aktivitas antioksidan flavonoid yaitu menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas yang dapat menimbulkan stress oksidatif sehingga menimbulkan kerusakan jaringan (Zuraida, dkk., 2017).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa dosis ekstrak paling efektif yaitu pada perlakuan 1 dengan pemberian ekstrak dosis 150 mg/KgBB yang ditunjukkan dengan kondisi struktur ileum yang mendekati kontrol negatif. Kemudian diikuti kelompok 2 yang menunjukkan kerusakan epitel vili ileum tidak separah kelompok perlakuan 3 dan kontrol positif. Pada perlakuan 3 ekstrak memberikan efek pencegahan kerusakan vili lebih baik dibandingkan kontrol positif namun lebih parah dari perlakuan 1 dan 2. Hal ini diduga karena dosis ekstrak yang diberikan cukup tinggi sehingga antioksidan yang diproduksi akan berubah menjadi prooksidan.

BAB 6. PENUTUP

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Ekstrak daun *Artemisia vulgaris* mampu menekan jumlah radikal bebas di dalam tubuh sehingga menurunkan kadar MDA di dalam tubuh.
2. Ekstrak daun *Artemisia vulgaris* mampu menekan jumlah radikal bebas di dalam tubuh sehingga mampu mencegah kerusakan jaringan dan memperbaiki gambaran histopatologi ileum tikus putih.

6.2 Saran

1. Diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui penyebab meningkatnya kadar MDA kembali pada pemberian dosis tinggi.
2. Diperlukan penelitian lebih lanjut untuk menginduksi radikal bebas dengan pestisida lain.

DAFTAR PUSTAKA

- Afsar, S. K., K. R, Kumar., J. V, Gopal., P, Raveesha. 2013. Assesment Of Anti-inflammatory Activity Of *Artemisia vulgaris* Leaves By Cotton Pellet Granuloma Method In Wistar Albino Rats. *Journal Of Pharmacy Research*. 7(5) : 463-467
- Arisandi, Y., Y, Andriani. 2006. *Khasiat Berbagai Tanaman Untuk Pengobatan Berisi 158 Jenis Obat*. Jakarta: Eska Media
- Ayala, A., M. F, Munoz., S, Arguelles. 2014. Review Article Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of MALondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Noneal. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 10(1155): 1-31
- Bangol, E., L. I, Momuat., J, Abidjulu. 2014. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol dan n-Heksana dari Daun Rumput Santa Maria (*Artemisia vulgaris* L.) pada Minyak Ikan. *Jurnal Ilmiah Sains*. 14(2): 130
- Buchler, D.R., Dan Miranda, C. 2000. *Antioxidant Activities Of Flavanoids*. [Http://Lpi.Oregonstate.Edu/F-W00/Flavonoid.Html](http://Lpi.Oregonstate.Edu/F-W00/Flavonoid.Html). [15Desember 2018]
- Contie, M. 1991. *Improved Fluorometric Determination of Malonaldehyde*. *Clin.Chem*. 7, 1273-1275
- Deltabase. 2006. Digestive System. Deltagen Inc. <http://www.deltagen.com/target/histologyatlas/HistologyAtlas.html>. [15 Desember 2018]
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2011. *Pedoman Pengendalian Tikus*. <http://www.depkes.go.id/downloads/Pengendalian%20Tikus.pdf>. [15Desember 2018]
- Ghiffari, A. 2013. Deteksi Resistansi Insektisida Sintetik Piretroid Pada *Aedes Aegypti* (L.) Strain Palembang Menggunakan Teknik Polymerase Chain Reaction. *Jurnal Aspirator*. 5 (2) : 37-44
- Goodman, S. 2005. *Vitamin C Generasi III*. Cetakan Ketiga. Penerbit Gramedia Pustaka Utama. Hlm. 97-100
- Hafidzoh, F. 2017. *Efek Ekstrak Etanol Daun Zaitun (*Olea europaea* L.) terhadap Jumlah Neutrofil pada Telapak Kaki Tikus Sprague Dawley setelah diinduksi Karagenan* [Skripsi]. Fakultas Kedokteran. UIN Syarif Hidayatullah Jakarta
- Hubrecht, R. C., and J. Kirkwood. 2010. *The UFAW Handbook on The Care and Management of Laboratory and Other Research Animals*. John Wiley and Sons Ltd. United Kingdom
- Istiqomah. 2013. *Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi Dan Sokletasi Terhadap Kadar Piperin Buah Cabe Jawa (*Piperis Retrofracti Fructus*)*. Skripsi. Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan. UIN Hidayatullah. Jakarta
- Janquiera, L.C. dan Carneiro, J. 2007. *Organ – organ yang Berhubungan dengan Saluran Cerna. Dalam: Histologi Dasar Teks dan Atlas*. Penerbit Buku Kedokteran EGC., Jakarta
- Judzentiene, A Dan Buzelyte, J. 2006. *Chemical Composition Of Essential Oils Of *Artemisia Vulgaris* L. (Mugwort) Form North Lithuania*. 8 (1). 12-15



- Karin, D. 2011. *Pengaruh Paparan Asap Rokok Elektrik Terhadap Motilitas Jumlah Sel Sperma Dan Kadar Mda Testis Mencit Jantan (Mus Musculus L)*. Tesis. Institut Teknologi Bandung. Bandung
- Kusriningrum, R. S. 2008. *Buku Ajar Perancangan Percobaan*. Fakultas kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Dani Abadi. Surabaya
- Kusumawati, D. 2004. *Bersahabat dengan Hewan Coba*. Cetakan pertama. Gadjah Mada University Press., Yogyakarta
- Manna, S., Bhattacharyya D., Mandal T. K., and Das S. 2005. Repeated Dose Toxicity of feldamethrin in Rats. *Research Paper* 37(3) : 160-164
- Marjani, A. 2010. Lipid Peroxidation Alterations In Type 2 Diabetic Patients. *Pak J Biol Sci*. 13(15): 723-730
- Meilin, A dan R. H, Praptana. 2014. Dampak Insektisida Deltametrin Konsentrasi Subletal pada Perilaku dan Biologi Parasitoid. *IPTEK Tanaman Pangan*. 9(2): 79
- Minaka, I. A. D. A., A. A. S, Sawitri., D. N, Wirawan. 2016. Hubungan Penggunaan Pestisida dan Alat Pelindung Diri dengan Keluhan Kesehatan pada Petani Hortikultura di Buleleng, Bali. *Public Health and Preventive Medicine Archive*. 4(1): 95
- Mukhrianti. 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*. 7(2): 361-367
- Muntiha, A. 2001. *Teknik Pembuatan Preparat Histopatologi dari Jaringan Hewan dengan Penggunaan Hematoksilin dan Eosin (H7E)*. Balai Penelitian Veteriner., Bogor
- Ndaong, N. A., A. D, Wijayanti., S, Widyarini. 2014. Efek Pemaparan Deltamethrin pada Broiler Terhadap Aktivitas Enzim Alanin Aminotransferase, Aspartat Aminotransferase dan Gambaran Histopatologi Hepar. *Jurnal Kajian Veteriner*. 2(1): 79-87
- Nugroho, B. Y. H., S. Y, Wulandari., A, Ridlo. 2015. Analisis Residu Pestisida Organofosfat di Perairan Mlonggo Kabupaten Jepara. *Jurnal Oseanografi*. 4(3): 541-544
- Nugroho, H. 2005. *Pengaruh Pemberian Timbal Asetat Per Oral Terhadap Gambaran Histologi Epitel Jejenum Mencit (Mus Musculus)[Skripsi]*. Universitas Airlangga. Surabaya
- Prijanto, T. B. 2009. *Analisa Faktor Risiko Keracunan Pestisida Organofosfat pada Keluarga Petani Hortikultura di Kecamatan Ngablak Kabupaten Magelang [Tesis]*. Universitas Diponegoro. Semarang
- Raini, M. 2007. *Toksikologi Pestisida Dan Penanganan Akibat Keracunan Pestisida*. *Jurnal Media Litbang Kesehatan* 17 (3) : 10-18
- Redha, A. 2010. Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidatif dan Peranannya dalam Sistem Biologis. *Jurnal Belian*. 9 (2): 196-202
- Rehman, H., M, Ali., F, Atif., M, Kaur., K, Bhatia., S, Raisuddin. 2006. The Modulatory Effect Of Deltamethrin On Antioxidants In Mice. *Clin.Chim*.369 : 61-65
- Ridwan, E. 2013. *Etika Pemanfaatan Hewan Percobaan dalam Penelitian Kesehatan*. *J Indon Med Assoc*. 63(3): 112-116
- Santoso, B., R. S, Utomo., M. D, Wiyoga. Analisis Hubungan Senyawa Golongan Flavonoid Dari 24 Famili Tanaman Terhadap Aktivitas Penangkap

- Radikalnya. *Prosiding Seminar Nasional Kimia UNJANI-HKI*. 139-146
- Sharp, P., dan Villano, J., 2013, *The Laboratory Rat*, Edisi 2, 9-11, CRC Press, California
- Simanjuntak, K. 2012. Peran Antioksidan Flavonoid dalam Meningkatkan Kesehatan. *Jurnal Bina Widya* 23(3) : 135-140
- Sinaga, F. A. 2016. Stress Oksidatif dan Status Antioksidan pada Aktivitas Fisik Maksimal. *Jurnal Generasi Kampus* 9(2) : 176-189
- Soetjipto, Hartati Dan E. B. Elok. 2013. *Pengaruh Metoda Penyulingan Terhadap Komposisi Minyak Atsiri Daun "Baru Cina" (Artemisia Vulgaris)*. Kimia Analitik. Isbn 979363167-8
- Sudira, I. W. 2009. Evaluasi Insektisida Deltametrin 0,6% Ec Terhadap Rhipicephalus Sanguineus. *Buletin Veteriner Udayana*. 1(1): 35-40
- Theodore, V. J., S, Wangko., S. J. R, Kalangi. 2017. Gambaran Histologik Usus Halus pada Hewan Coba Selama 24 Jam Postmortem. *Jurnal e-Biomedik*. 5(1): 1-5
- Ujiantari, N. S. O., B. S. A, Sudarmanto., A, Nurrochmad. Kajian *Molecular Docking* Insektisida Piretroid Terhadap Reseptor Hormon Reproduksi (Reseptor Estrogen, Androgen, dan Progesteron). *Prosiding Rakernas dan Pertemuan Ilmiah Tahunan Ikatan Apoteker Indonesia*. e-ISSN: 2541-0474
- Widyaningrum, H. Dan Rahmat, A. 2011. *Kitab Tanaman Obat Nusantara*. Medpress. Yogyakarta
- Xu and Cranwell. 2003. *Gastrointestinal and Nutrition The Neonatal Pig*. United
- Zuraida., Sulistiyani., D, Sajuti., dan I. H, Suprpto. 2017. Fenol, Flavonoid, dan Aktivitas Antioksidan Pada Ekstrak Kulit Batang Pulai (*Alstonia scholaris* R.Br). *Jurnal Penelitian Hasil Hutan*. 35(3):211-219.

Lampiran 1. Laik etik



**KOMISI ETIK PENELITIAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK
"ETHICAL CLEARANCE"**

No: 1005-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 : EFEK PROTEKTIF ARTEMISIA VULGARIS PADA
TIKUS (*Rattus norvegicus*) TERINDUKSI STRES
OKSIDATIF DELTAMETHRIN TERHADAP GAMBARAN
DARAH DAN HISTOPATOLOGI HARI

PENELITI : M. ARFAN LESMANA

UNIT/LEMBAGA/TEMPAT : UNIVERSITAS BRAWIJAYA

DINYATAKAN : LAIK ETIK

Malang, 9 Juli 2018
Ketua Komisi Etik Penelitian
Universitas Brawijaya



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

Lampiran 2. Perhitungan Dosis

A. Perhitungan dosis ekstrak daun *Artemisia vulgaris*

1. Perhitungan dosis P1 (BB tikus 190 gram, dosis 150 mg/KgBB)

$$\begin{aligned} \frac{\text{BB x Dosis}}{\text{Konsentrasi}} &= \frac{0,190 \text{ Kg} \times 150 \text{ mg/Kg BB}}{10\%} \\ &= \frac{0,190 \text{ Kg} \times 150 \text{ mg/Kg BB}}{100 \text{ mg/ml}} \\ &= 0,28 \text{ ml} \\ &= 0,3 \text{ ml} \end{aligned}$$

2. Perhitungan dosis P2 (BB tikus 170 gram, dosis 300 mg/KgBB)

$$\begin{aligned} \frac{\text{BB x Dosis}}{\text{Konsentrasi}} &= \frac{0,170 \text{ Kg} \times 300 \text{ mg/Kg BB}}{10\%} \\ &= \frac{0,170 \text{ Kg} \times 300 \text{ mg/KgBB}}{100 \text{ mg/ml}} \\ &= 0,51 \text{ ml} \\ &= 0,6 \text{ ml} \end{aligned}$$

3. Perhitungan dosis P3 (BB tikus 188 gram, dosis 600 mg/KgBB)

$$\begin{aligned} \frac{\text{BB x Dosis}}{\text{Konsentrasi}} &= \frac{0,188 \text{ Kg} \times 600 \text{ mg/KgBB}}{10\%} \\ &= \frac{0,188 \text{ Kg} \times 600 \text{ mg/KgBB}}{100 \text{ mg/ml}} \\ &= 1,12 \text{ ml} \\ &= 1,2 \text{ ml} \end{aligned}$$

B. Perhitungan dosis deltamethrin

1. Perhitungan dosis P1 (BB tikus 190 gram, dosis 7,2 mg/KgBB)

$$\begin{aligned} \frac{\text{BB x Dosis}}{\text{Konsentrasi}} &= \frac{0,190 \text{ Kg} \times 7,2 \text{ mg/KgBB}}{10\%} \\ &= \frac{0,190 \text{ Kg} \times 7,2 \text{ mg/KgBB}}{100 \text{ mg/ml}} \\ &= 0,013 \text{ ml} \end{aligned}$$

2. Perhitungan dosis P2 (BB tikus 170 gram, dosis 7,2 mg/KgBB)

$$\begin{aligned} \frac{\text{BB x Dosis}}{\text{Konsentrasi}} &= \frac{0,170 \text{ Kg} \times 7,2 \text{ mg/KgBB}}{10\%} \\ &= \frac{0,170 \text{ Kg} \times 7,2 \text{ mg/KgBB}}{100 \text{ mg/ml}} \\ &= 0,012 \text{ ml} \end{aligned}$$

3. Perhitungan dosis P3 (BB tikus 188 gram, dosis 7,2 mg/KgBB)

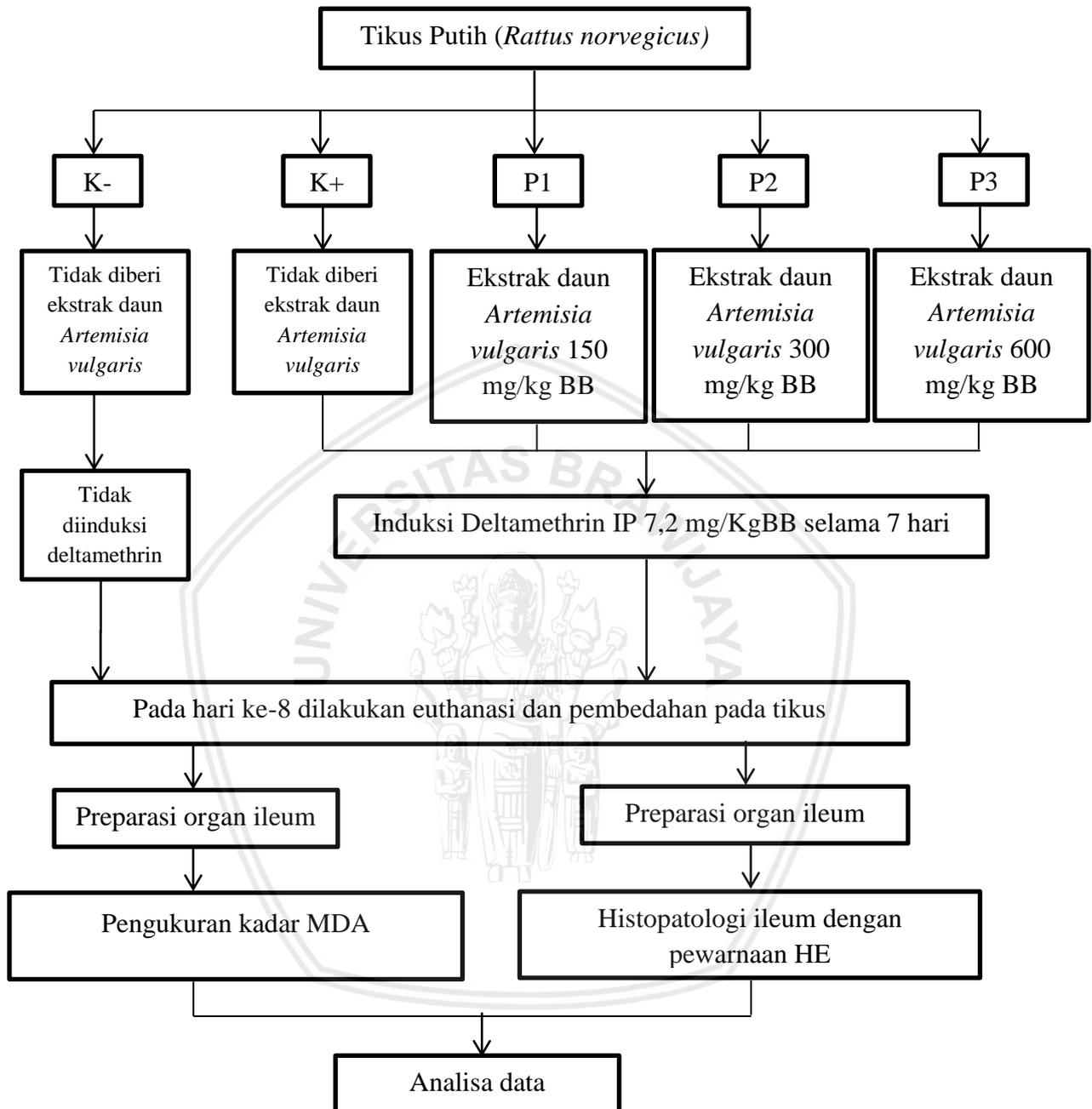
$$\begin{aligned} \frac{\text{BB x Dosis}}{\text{Konsentrasi}} &= \frac{0,188 \text{ Kg} \times 7,2 \text{ mg/KgBB}}{10\%} \\ &= \frac{0,188 \text{ Kg} \times 7,2 \text{ mg/KgBB}}{100 \text{ mg/ml}} \\ &= 0,013 \text{ ml} \end{aligned}$$

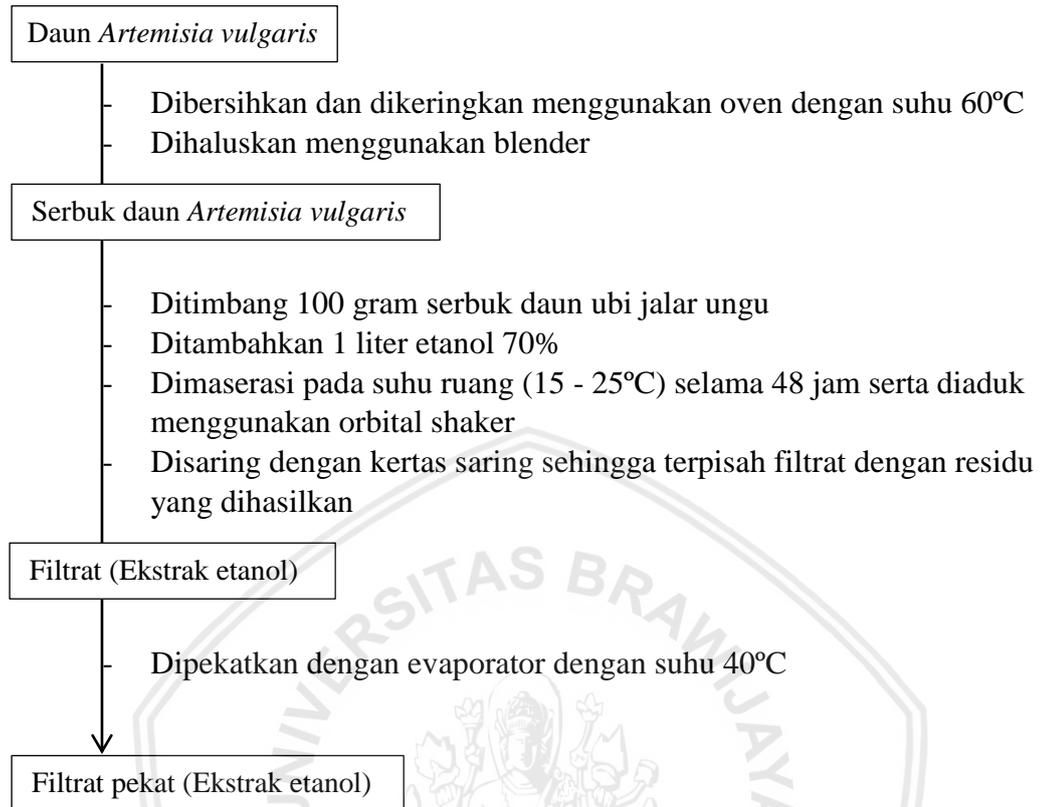
4. Perhitungan dosis K+ (BB tikus 177 gram, dosis 7,2 mg/KgBB)

$$\begin{aligned} \frac{\text{BB x Dosis}}{\text{Konsentrasi}} &= \frac{0,177 \text{ Kg} \times 7,2 \text{ mg/KgBB}}{10\%} \\ &= \frac{0,177 \text{ Kg} \times 7,2 \text{ mg/KgBB}}{100 \text{ mg/ml}} \\ &= 0,012 \text{ ml} \end{aligned}$$



Lampiran 3. Kerangka Operasional



Lampiran 4. Pembuatan ekstrak daun *Artemisia vulgaris*

Lampiran 5. Pengukuran kadar MDA

Organ Ileum Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

ditimbang dengan berat 0,1 gram

Dipotong kecil-kecil lalu digerus menggunakan mortar

Ditambahkan larutan TCA sebanyak 100 μL

Disentrifugasu dengan kecepatan 8000 rpm selama 20 menit

Diambil sebanyak 100 μL sampel supernatan

Dihomogenkan

Ditambahkan 200 μL HCL 0,1 N

Dihomogenkan

Ditambah 100 μL Na-thio 1 %

Dihomogenkan

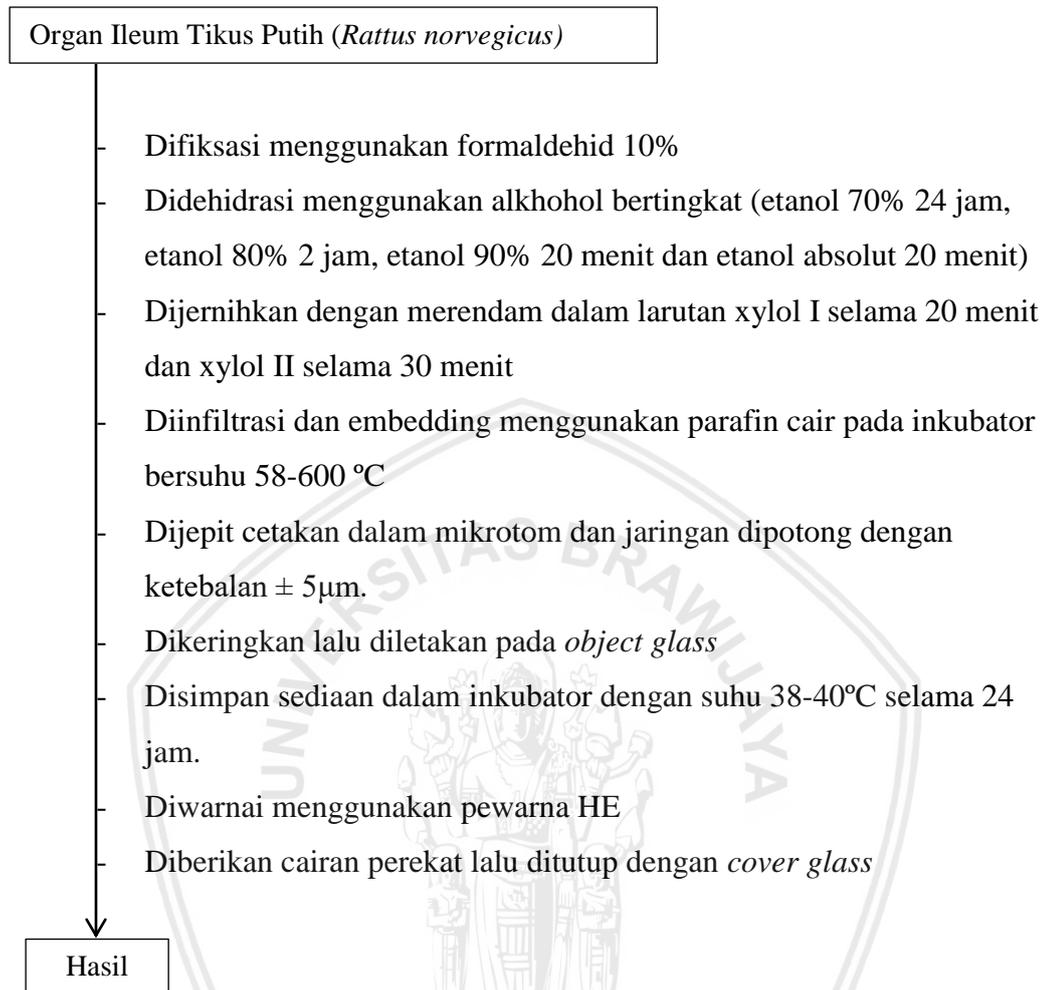
Dipanaskan dalam waterbath dengan suhu 100 °C selama 20 menit

Diangkat dan didinginkan pada suhu ruang

Ditambahkan aquades sebanyak 3500 μL

Diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 532 nm

Hasil

Lampiran 6. Pembuatan Histopatologi Ileum

Lampiran 7. Hasil Uji *One Way ANOVA* dan *Uji Tukey*

Test of Homogeneity of Variances

kadar MDA

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.865	4	20	.156

Uji homogenitas digunakan sebagai acuan untuk menentukan keputusan berlaku atau tidaknya asumsi uji ANOVA, yaitu dengan adanya kelima sampel apakah mempunyai varian yang sama. Asumsi dari kelima kelompok sampel yang ada mempunyai varian yang sama (homogen) dapat diketahui dengan pengambilan keputusan dan hipotesis dalam uji homogenitas.

Adapun hipotesisnya adalah sebagai berikut:

H_0 = Kelima varian populasi adalah sama

H_1 = Kelima varian populasi tidak sama

Dengan pengambilan keputusan yaitu :

- Jika signifikan $> 0,05$ maka H_0 diterima
- Jika signifikan $< 0,05$ maka H_0 ditolak

Berdasarkan hasil yang diperoleh pada *Test of Homogeneity of Variance*, menunjukkan probabilitas atau signifikansinya adalah 0,156 yang berarti lebih dari 0,05 maka dapat disimpulkan bahwa hipotesis nol (H_0) diterima, maka asumsi dari kelima varian populasi adalah sama (homogen).

ANOVA

kadar MDA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	170316.048	4	42579.012	119.561	.000
Within Groups	7122.532	20	356.127		
Total	177438.580	24			

Setelah kelima varian terbukti sama, dilakukan uji ANOVA untuk menguji kelima sampel apakah mempunyai rata-rata yang sama. Output ANOVA adalah akhir dari perhitungan yang digunakan sebagai penentuan terhadap analisis terhadap hipotesis yang akan diterima atau ditolak.

Untuk menentukan H_0 atau H_1 yang diterima maka ketentuan yang harus diikuti adalah sebagai berikut:

- Jika $F_{hitung} > F_{table}$ maka H_0 ditolak
- Jika $F_{hitung} < F_{table}$ maka H_1 ditolak
- Jika signifikansi atau probabilitas $> 0,05$ maka H_0 diterima
- Jika signifikansi atau probabilitas $< 0,05$ maka H_1 diterima

Berdasarkan hasil yang didapat pada uji ANOVA, dimana:

- $F_{hitung} > F_{table}$, dengan demikian H_0 ditolak
- Signifikansi $< 0,05$, dengan demikian H_1 diterima artinya terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok

Tukey HSD

kelompok	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
perlakuan 2	5	3.7110E2		
perlakuan 1	5	3.7194E2		
perlakuan 3	5		4.3554E2	
kelompok negatif	5		4.3642E2	
kelompok positif	5			5.9710E2
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Berdasarkan hasil table uji *Tukey* menunjukkan bahwa dosis preventif ekstrak daun *Artemisia vulgaris* dengan dosis 150 mg/KgBB dapat menurunkan kadar MDA dalam jumlah yang kecil atau berbeda signifikan dengan kelompok kontrol positif. Pada kelompok perlakuan 2 dengan dosis 300 mg/KgBB dapat menurunkan kadar MDA. Pada perlakuan 3 dengan dosis 600 mg/KgBB diketahui dapat menurunkan kadar MDA.

Lampiran 8. Determinasi



PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN
UPT MATERIA MEDICA BATU
Jalan Lahor No.87 Telp. (0341) 593396
KOTA BATU 65313

Nomor : 074/351A/102.7/2018
Sifat : Biasa
Perihal : Determinasi Tanaman Baru Cina

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : JOSEP I. A.
NIM : 155130120111001
Fakultas : FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA MALANG

1. Perihal determinasi tanaman baru cina

Kingdom : Plantae (Tumbuhan)
Subkingdom : Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi : Spermatophyta (Menghasilkan biji)
Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas : Magnoliopsida
Bangsa : Asterales
Suku : Asteraceae
Marga : Artemisia
Jenis : *Artemisia vulgaris* L.
Nama Umum : Baru cina, artemisia, mugwort, sundamala, daun manis, Beunghar kucing (Sunda), Suket gajahan (Jawa Tengah), Kolo (Halmahera), Goro-goro cina (Ternate)

Kunci Determinasi : 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14a-15a-109b-119b-120a-121a-122a.

2. Morfologi : Habitus: Semak, menahun, tinggi 30-90 cm. Batang: Berkayu, bulat, bercabang, putih kotor. Daun: Tunggal, tersebar, berbagi menyirip, berbulu, panjang 8-12 cm, lebar 6-8 cm, pertulangan menyirip, permukaan daun atas hijau, permukaan bawah keputih-putihan. Bunga: Majemuk, bentuk malai, di ketiak dan di ujung batang, daun kelopak lima, hijau, benang sari kuning, kepala putik bercabang dua, ungu, coklat. Kotak, bentuk jarum, kecil, coklat. Biji: Kecil, coklat. Akar: Tunggang, kuning kecoklatan.

3. NamaSimplisia : *Artemisiae vulgari Folium*/ Daun Baru cina.

4. Kandungan kimia : Daun mengandung saponin, flavonoida dan polifenol, minyak atsiri (Phellandrene, cadinene, thujvl alkohol), alfa-amirin, fernenol, dehydromatricaria ester, cineole, terpinen-4-ol, beta-karyophyllene, 1-quebrachitol.

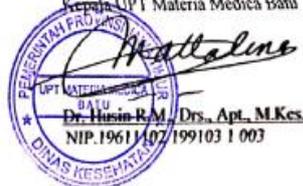
5. Penggunaan : Penelitian.

6. Daftar Pustaka

- Syamsuhidayat, Sri Sugati dan Hutapea, Johny Ria. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia I*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
- Van Steenis, CGGJ. 2008. *FLORA: untuk Sekolah di Indonesia*. Pradnya Paramita, Jakarta.

Demikian surat keterangan determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 09 November 2018
Kepala UPT Materia Medica Batu



Lampiran 9. Analisa Kualitatif



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

65313

Nomor : 074 / 126D / 102.7 / 2018
 Sifat : Biasa
 Perihal : Surat Keterangan Analisa Kualitatif

Bersama ini kami sampaikan hasil analisa berikut ini :

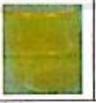
1. Identitas Pemohon
 Nama : drh. M. Arfan Lesmana, M.Sc
 NIK : 2013098410041001
 Instansi : Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Brawijaya
 Alamat Instansi : Malang
 Nomor Telp. Instansi : -
2. Identitas Sampel
 Nama daerah sampel : Baru Cina
 Nama latin : *Artemisia vulgaris L.*
 Bagian sampel : Daun
 Bentuk sampel : Ekstrak
 Asal sampel : -
 Tanggal penerimaan : 12 November 2018
 Tanggal pemeriksaan : 13 November 2018

3. Hasil

No	Identifikasi Senyawa	Parameter	Hasil
1.	Alkaloid		
	Meyer	Endapan Putih	Negatif
	Dragendrof	Endapan Jingga	Negatif
	Bouchardat	Endapan Cokelat	Positif
2.	Tanin	Hijau Kehitaman, Biru Kehitaman, Coklat Kehitaman	Positif
3.	Saponin	Busa Permanen	Negatif
4.	Fenol	Hijau Kehitaman, Biru Kehitaman	Positif

4. Lampiran

Nama Sampel	Alkaloid		
	Meyer	Dragendrof	Bouchardat
Baru Cina (<i>Artemisia vulgaris L.</i>)			

Nama Sampel	Tanin	Saponin	Fenol
Baru Cina (<i>Artemisia vulgaris L.</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.



Scanned by CamScanner

Lampiran 10. Dokumentasi

Penimbangan ekstrak



Pengenceran ekstrak



Induksi deltamethrin intraperitoneal



Pe ngambilan organ ileum

