

**EFEK PREVENTIF EKSTRAK DAUN *Artemisia vulgaris*
TERHADAP KADAR MALONDIALDEHIDA (MDA) DAN
HISTOPATOLOGI DUODENUM TIKUS PUTIH (*Rattus
novergicus*) YANG DIINDUKSI DELTAMETRIN**

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

SKRIPSI

Oleh:
ANASTASIA MEILLY
145130107111023



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

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

Efek Preventif Ekstrak Daun *Artemisia vulgaris* terhadap Kadar Malondialdehida (MDA) dan Histopatologi Duodenum Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi Deltametrin

Oleh :

ANASTASIA MEILLY
NIM. 145130107111023

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji
Pada tanggal 20 Juni 2019
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Pembimbing 1

Pembimbing 2

Dra. Anna Roosdiana M. App. Sc

NIP. 19580711 199203 2 002

drh. Dian Vidiastuti M. Si

NIP. 19820207 200912 2 003

Mengetahui,
Dekan Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Brawijaya

Dr. Ir. Sudarmino Setyo Yuwono, M. App. Sc

NIP. 196312161 198803 1 002

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Anastasia Meilly
NIM : 145130107111023
Program Studi : Kedokteran Hewan

Penulis Skripsi berjudul:

Efek Preventif Ekstrak Daun *Artemisia vulgaris* terhadap Kadar Malondialdehida (MDA) dan Histopatologi Duodenum Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi Deltametrin

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 pustaka dalam skripsi ini.
2. Apabila dikemudian hari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya akan bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran

Malang, 20 Juni 2019

Yang menyatakan,

(Anastasia Meilly)

NIM. 145130107111023

Efek Preventif Ekstrak Daun *Artemisia vulgaris* terhadap Kadar Malondialdehida (MDA) dan Histopatologi Duodenum Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi Deltametrin

ABSTRAK

Induksi deltametrin dosis besar secara berulang mampu meningkatkan jumlah radikal bebas dan meningkatkan kadar MDA di dalam tubuh. Deltametrin dimetabolisme melalui hidrolisis ikatan ester dan oksidasi oleh sitokrom P₄₅₀, dan menghasilkan metabolit non toksik serta hasil samping berupa radikal bebas anion superoksida (O₂⁻). *Artemisia vulgaris* mengandung flavonoid sebagai antioksidan alami, tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efek preventif *A.vulgaris* terhadap kadar MDA dan histopatologi duodenum yang diinduksi deltametrin. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Hewan coba yang digunakan berupa 25 ekor tikus jantan (BB 150 – 200 g) yang dibagi menjadi lima kelompok perlakuan yaitu kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif, dan kelompok terapi ekstrak *A. vulgaris* dengan dosis: 150 mg/KgBB (P1), 300 mg/KgBB (P2) dan 600 mg/KgBB (P3). Induksi deltametrin diberikan melalui injeksi intraperitoneal pada kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan dengan dosis 7,2 mg/KgBB secara intraperitoneal selama tujuh hari. Pengambilan sampel duodenum dilakukan pada hari ke-8, selanjutnya diukur kadar MDA menggunakan spektrofotometer dan dilakukan pembuatan histopatologi duodenum pewarnaan HE. Hasil pengukuran MDA dianalisis dengan *One-Way ANOVA* dilanjutkan dengan uji *Tukey* ($\alpha = 5\%$), dan hasil histopatologi duodenum dianalisa secara deskriptif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak *A. vulgaris* dapat menurunkan kadar MDA duodenum kelompok P1 (27.46 %), P2 (26.68 %) dan P3 (13.78 %) serta memperbaiki histopatologi duodenum dengan mengurangi erosi sel, nekrosis sel serta hemoragi. Kesimpulan penelitian ini adalah ekstrak *A. vulgaris* dapat menurunkan kadar MDA duodenum dengan dosis terbaik yaitu 150-300 mg/KgBB serta memperbaiki gambaran histopatologi duodenum.

Kata kunci : *Artemisia vulgaris*, Deltametrin, Duodenum, Histopatologi, MDA.

Preventive Effect of *Artemisia vulgaris* Extract Against level of Malondialdehyde (MDA) and the Duodenum Histopathology of White Rats (*Rattus norvegicus*) Induced by Deltamethrin

ABSTRACT

Repeated large dose of deltamethrin would increase the amount of free radicals and increase MDA levels on the body. Deltamethrin are metabolized through hydrolysis of ester bonds and oxidation by P₄₅₀ cytochrome, produce non toxic metabolites and a free radicals anion superoxide (O₂⁻). *Artemisia vulgaris* contains flavonoid as natural antioxidant. The research objective is to examine the preventives benefits of *A. vulgaris* on MDA levels and duodenum histopathology induced by deltamethrin. This research were used a completely randomized design (CRD). This research were used 25 male rats (150-200 g body weigh), that devided into five groups: the negative control group, the positive control group, and the treatment of *A. vulgaris* extract groups with dosage: 150 mg/KgBW (P1), 300 mg/KgBW (P2) and 600 mg/KgBW (P3). Deltamethrin were administration with intraperitoneal injection to the positive control group and the *A. vulgaris* treatment groups with 7,2 mg/KgBW dose for 7 days. On the days 8th duodenum were collected, the MDA levels were measured by spectrophotometer, and the duodenum histopatology was staining by Haematoxylin Eosin. The MDA levels were analyzed statistically with One-Way ANOVA followed by tukey test ($\alpha = 5\%$), while the duodenal histopathology results were analyzed descriptively. The result of this research indicate that administration of *A. vulgaris* extract decrease the MDA levels of duodenum in the amount of 27.46 % (P1), 26.68 % (P2) dan 13.78 % (P3) and improve the histopathological of duodenum that decreasing cell erotion, necrosis and haemorrhage. The conclusion of this study is that *A. vulgaris* extract can reduce the MDA levels of duodenum with the best dose ranged at 150-300 mg/KgBW and also improve the histopatological of duodenum.

Keywords : *Artemisia vulgaris*, Deltametrin, Duodenum, Histopathology , Malondialdehyde.

KATA PENGANTAR

Segala puji syukur penulis panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa yang telah melimpahkan rahmat dan karunia – Nya, sehingga skripsi yang berjudul **“Efek Preventif Ekstrak Daun *Artemisia vulgaris* terhadap Kadar Malondialdehida (MDA) dan Histopatologi Duodenum Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi Deltametrin”** ini dapat terselesaikan.

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

1. Dra. Anna Roosdiana, M. App. Sc selaku dosen pembimbing atas bimbingan, kesabaran, fasilitas dan waktu dalam penulisan karya tulis ini.
2. drh. Dian Vidiastuti M. Si selaku dosen pembimbing atas bimbingan, kesabaran, fasilitas dan waktu dalam penulisan karya tulis ini.
3. drh. Albiruni Haryo, M. Sc selaku dosen penguji atas bimbingan, masukan dan wawasan yang diberikan kepada penulis dalam penulisan karya tulis ini.
4. drh. M. Arfan Lesmana, M. Sc selaku dosen pembimbing akademik sekaligus dosen penguji atas bimbingan, wawasan serta semangat yang senantiasa diberikan selama penulis menjalani pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan.
5. Dr. Ir. Sudarmino Setyo Yuwono, M. App. Sc, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan yang selalu memberikan dukungan tiada henti demi kemajuan FKH UB tercinta.
6. Keluarga besar Ayahanda Andreas Lawing, Ibunda Mirna Lawing, Kakak Fransiska Wung Lawing S.H, M.Si, Kakak Stevani Song Lawing S.Pd.Ag, Sofia Deang Wulun.Lawing S.Sos, dan Kakak Novita Theresia S.H.
7. Keluarga kedua (Dea, Intan, dan Sasa), Teman Baegopa (Ira, Lady dan Rani), Teman Forum Daerah (Igar, Qoyyim, Zharfan, Rangga,

hamka, dan kak Qoyyim) dan teman Ikatan Jomblo Indonesia (Aulia, Clara dan Yohana) atas semangat, rasa sayang, dukungan dan doanya.

8. Team asisten Praktikum Radiologi Veteriner yang menjadi pelarian disaat penulis mulai merasa emosi.
9. Kolega Angkatan 2014 D, kolega Avengers serta kolega FKH UB yang telah menjadi keluarga baru selama menjalani pendidikan di Kedokteran Hewan.
10. Semua pihak yang turut serta membantu penulis dalam menyelesaikan penulisan skripsi ini.

Akhir kata, penulis berharap semoga Tuhan Yang Maha Esa membalas segala kebaikan yang telah diberikan dan skripsi ini dapat bermanfaat dan menambah pengetahuan tidak hanya bagi penulis tetapi juga bagi pembaca.

Malang, 20 Juni 2019

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
ABSTRAK	iv
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG	xiii
 BAB I PENDAHULUAN	 1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Batasan Masalah	3
1.4 Tujuan Penelitian	4
1.5 Manfaat Penelitian	5
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA	 6
2.1 Antioksidan	6
2.2 Radikal Bebas	7
2.3 Malondialdehida (MDA)	8
2.4 Pestisida	9
2.4.1 Deltametrin.	9
2.4.2 Toksisitas Pestisida	10
2.5 Patofisiologi Deltametrin	11
2.6 <i>Artemisia vulgaris</i>	12
2.7 Gambaran Histopatologi Normal Duodenum	14
2.8 Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	15
 BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESA PENELITIAN	 17
3.1 Kerangka Konseptual	17
3.2 Hipotesis Penelitian	19
 BAB IV METODE PENELITIAN	 20
4.1 Waktu dan Tempat Penelitian	20
4.2 Rancangan Penelitian	20
4.3 Variabel penelitian	21
4.4 Alat dan Bahan	22

4.4.1 Alat	22
4.4.2 Bahan	22
4.6 Prosedur Penelitian	22
4.6.1 Aklimatisasi Hewan Coba	22
4.6.2 Ekstraksi Daun <i>Artemisia vulgaris</i>	22
4.6.3 Induksi Deltametrin.....	23
4.6.4 Pengambilan Duodenum	23
4.6.5 Penentuan Kadar MDA	24
4.6.6 Pembuatan Preparat Histopatologi Duodenum	25
4.6.7 Analisa Data	26
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	27
5.1 Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun <i>Artemisia vulgaris</i> terhadap Jumlah Radikal Bebas di dalam tubuh Berdasarkan Kadar Malondialdehida (MDA) Duodenum Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>) yang Diinduksi Deltametrin	27
5.2 Peran Ekstrak Daun <i>Artemisia vulgaris</i> terhadap Jumlah Perubahan Histopatologi Duodenum Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>) yang Diinduksi Deltametrin	30
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	36
5.1 Kesimpulan	36
5.3 Saran	36
DAFTAR PUSTAKA	37
LAMPIRAN	42

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
5.1 Rata-rata kadar MDA duodenum tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>) yang diinduksi deltametrin.....	7

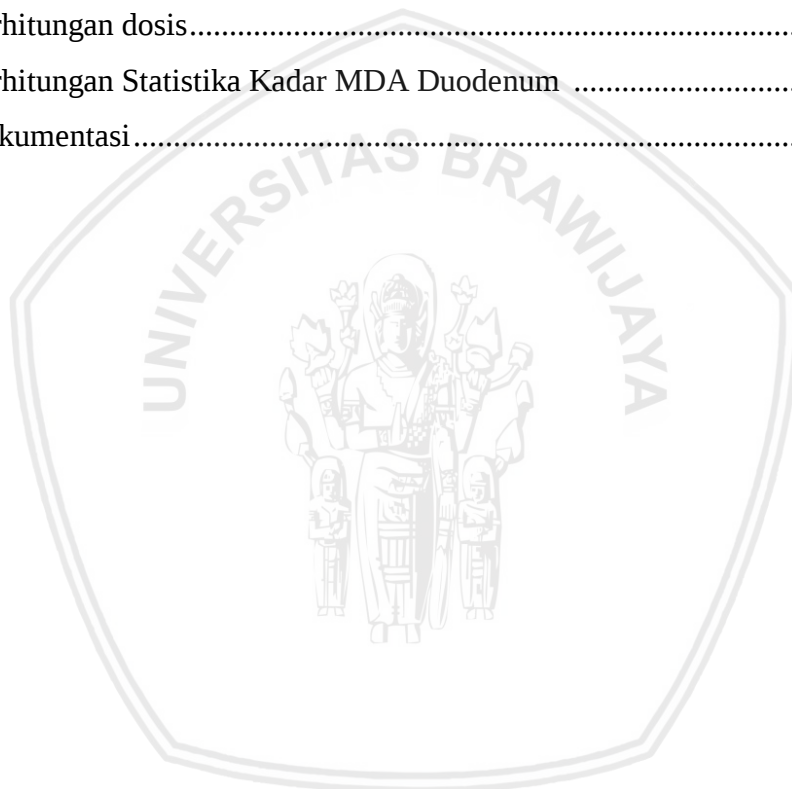


DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Target radikal bebas	6
2.2 Struktur kimia deltametrin	10
2.3 Daun <i>Artemisia vulgaris</i>	13
2.4 Gambaran histopatologi normal duodenum tikus.....	15
2.5 Tikus putih (<i>Rattus novergicus</i>) strain wistar	16
5.1 Gambaran histopatologi tikus putih kontrol negatif dengan pewarnaan HE	33
5.2 Gambaran histopatologi tikus putih kontrol positif dengan pewarnaan HE.....	33
5.3 Gambaran histopatologi tikus putih kelompok P1 dengan pewarnaan HE.....	34
5.4 Gambaran histopatologi tikus putih kelompok P2 dengan pewarnaan HE.....	34
5.5 Gambaran histopatologi tikus putih kelompok P3 dengan pewarnaan HE.....	35

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Sertifikat Laik Etik	45
2. Tahapan Penelitian	46
3. Pembuatan Ekstrak Daun <i>Artemisia vulgaris</i>	47
4. Pembuatan Histopatologi Duodenum	48
5. Pengukuran Kadar MDA	49
6. Perhitungan dosis.....	50
7. Perhitungan Statistika Kadar MDA Duodenum	52
8. Dokumentasi.....	55



DAFTAR SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG

<u>Simbol/Singkatan</u>	<u>Keterangan</u>
%	Persen
Ach	Asetilkolin
AchE	Acetylcholinesterase
ANOVA	Analysis of variance
AOAC	Association of Analytical Communities
BB	Berat Badan
°C	Derajat Celcius
Cm	Centimeter
DNA	Deoxyribonucleic Acid
DNES	Diffuse Neuroendocrine System
g	Gram
H ₂ S	Gas Hydrogen Sulfide
HCL	Hidrogen Klorida
HE	Hematoksilin-Eosin
Kg	Kilogram
LD	Lethal Dose
M	Molar
MDA	Malonidelhid
Mg	Miligram
ml	Milliliter
μL	Mikroliter
nm	Nanomikro
N	Normalitas
NMDA	N-methyl-D-asparate
PFA	Paraformaldehid
PUFA	Polyunsaturated Fatty Acid
RAL	Rancangan Acak Lengkap

RNA	Ribonucleic Acid
ROS	Reactive Oxygen Species
TCA	Trichloroacetic
VGSC	Voltage-Gated Sodium Channel



BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Radikal bebas adalah suatu senyawa yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan di orbital luarnya (*unpaired electron*), yang dapat menyerang dan mengikat elektron dari molekul di sekitarnya. Molekul yang terambil elektronnya akan mewarisi sifat reaktifnya sehingga menimbulkan reaksi berantai yang tidak terputus (Muchtadi, 2013). Sumber radikal bebas berasal dari dalam tubuh (endogen) dan dari luar tubuh (eksogen). Sumber endogen berasal dari hasil metabolisme normal tubuh dan proses fagositosis sedangkan sumber eksogen berasal dari lingkungan, polusi, asap rokok, obat-obatan, aktivitas pembakaran bahan, bakar pada mesin, kendaraan bermotor dan pestisida (Suarsana *et al.*, 2012).

Pestisida merupakan zat yang digunakan untuk mengendalikan, menolak, atau menghambat organisasi pengganggu atau hama. Salah satu jenis pestisida adalah deltametrin dari golongan piretroid. Mekanisme deltametrin dalam memproduksi radikal bebas disebabkan oleh deltametrin yang masuk ke dalam tubuh akan mengalami metabolisme di hepar melalui hidrolisis ikatan ester dan jalur oksidasi oleh sitokrom P₄₅₀, oksidasi oleh sitokrom P₄₅₀ akan menghasilkan metabolit yang non toksik berupa 3-(2,2-dibromovinyl) 2,2-cyclopropane carboxyl acid (dibromoacid) dan 3-phenoxybenzaldehyde, serta hasil samping berupa anion superoksida (O₂⁻) (Elmaghraby, 2007).

Anion superoksida (O_2^-) merupakan salah satu senyawa radikal bebas *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang merupakan produk dari metabolisme sel normal (Yustika, 2013), dimana target utamanya adalah asam lemak tak jenuh majemuk atau *Poly Unsaturated Fatty Acid* (PUFA) dalam lipid membran yang apabila didegenerasi oleh radikal bebas akan menghasilkan produk akhir yang disebut dengan Malondialdehida (MDA) (Retno *et al.*, 2012). Secara tidak langsung kadar MDA dapat menunjukkan jumlah radikal bebas di dalam tubuh, dimana tingginya kadar MDA menunjukkan meningkatnya jumlah radikal bebas di dalam tubuh (Halliwell dan Gutteridge, 2007), sebaliknya kadar MDA yang rendah menunjukkan status antioksidan yang tinggi (Winarsi, 2007).

Efek toksik yang terjadi pada saluran pencernaan khususnya duodenum belum diketahui, namun pada pemberian deltametrin secara berulang dengan dosis tinggi akan meningkatkan jumlah anion superoksida (O_2^-) di dalam tubuh, yang akan memicu stress oksidatif yang dapat merusak berbagai jaringan (Manna *et al.*, 2005).

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat kerja radikal bebas dengan cara menyerahkan satu atau lebih elektronnya kepada radikal bebas sehingga menjadi bentuk molekul yang normal kembali. Tubuh menghasilkan senyawa antioksidan alami, namun sering kali jumlahnya tidak cukup untuk menetralkan senyawa radikal bebas yang masuk kedalam tubuh secara berlebihan (Winarsi, 2007), sehingga diperlukan antioksidan tambahan untuk mengimbangi efek berbahaya dari ROS.

Berdasarkan sumbernya antioksidan dapat dibedakan menjadi antioksidan alami dan sintetik, namun antioksidan sintetik dapat memberikan efek samping berupa hepatomegali sehingga antioksidan alami menjadi alternatif yang lebih dipilih (Budiana *et al.*, 2017). *Artemisia vulgaris* atau dikenal dengan tumbuhan baru cina mengandung senyawa flavonoid dan juga dilaporkan memiliki bioaktivitas seperti antivirus, antitumor, antipiretik, antihepatitis dan antioksidan (Soetjipto, 2013), sehingga peningkatan radikal bebas yang terjadi akibat paparan deltametrin dapat dikurangi atau dihilangkan dengan aktivitas antioksidan yang terkandung dalam daun *A. vulgaris* yang dapat dilihat dari kadar malondialdehida (MDA) dan gambaran histopatologi duodenum pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi deltametrin.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana pengaruh pemberian terapi preventif ekstrak daun *A. vulgaris* terhadap kadar malondialdehida (MDA) duodenum tikus (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi deltametrin?
2. Bagaimana pengaruh pemberian terapi preventif ekstrak daun *A. vulgaris* pada gambaran histopatologi duodenum yang diinduksi deltametrin?

1.3 Batasan Masalah

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

1. Hewan model yang digunakan adalah Hewan model yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan 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 1005-KEP-UB dari Komisi Etik Penelitian Universitas Brawijaya.
3. Deltametrin yang digunakan adalah deltamet yang diperoleh dari VDB Pet Shop kota malang, dengan dosis 7,2 mg/KgBB.
4. Ekstraksi daun baru cina (*A. vulgaris*) dilakukan menggunakan metode maserasi berdasarkan penelitian (Istiqomah, 2013). Dosis yang diberikan adalah sebanyak 150 mg/KgBB, 300 mg/KgBB, dan 600 mg/KgBB (Gilani *et al.*, 2005).
5. Kadar Malondialdehida (MDA) duodenum diukur dengan metode TBA menggunakan spektrofotometer pada gelombang 532 nm (Irawan *et al.*, 2012). Prinsip metode ini berdasarkan kepada kemampuan pembentukan kompleks berwarna merah jambu antara MDA dan Asam Tiobarbiturat (TBA) (Sutarsi *et al.*, 2013).
6. Histopatologi duodenum diwarnai menggunakan pewarnaan *haematoxylin eosin* (HE) dan diamati di bawah mikroskop cahaya. Pembuatan histopatologi dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

1.4 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui efek preventif ekstrak *A. vulgaris* terhadap kadar MDA (Malondialdehida) tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi deltametrin.
2. Mengetahui efek preventif ekstrak *A. vulgaris* terhadap hasil histopatologi duodenum tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi deltametrin.

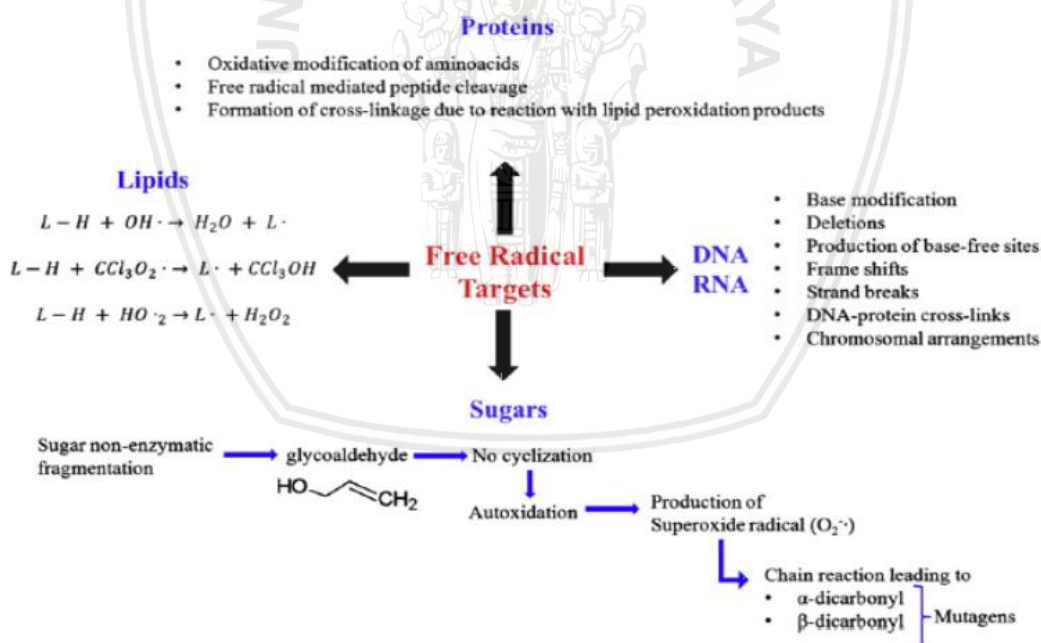
1.5 Manfaat penelitian

Manfaat yang diperoleh dari penelitian ini adalah, dapat menjadi dasar informasi tentang potensi daun *A. vulgaris* sebagai antioksidan alami dalam memberikan efek preventif terhadap kerusakan jaringan akibat radikal bebas yang disebabkan oleh insektisida.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang berfungsi menghambat kerja radikal bebas dengan menyumbangkan satu atau lebih elektronnya kepada radikal bebas sehingga radikal bebas menjadi bentuk molekul yang normal kembali (Winarsi, 2007). Antioksidan dapat juga didefinisikan sebagai senyawa yang melindungi sel dari efek berbahaya radikal bebas oksigen reaktif yang berhubungan dengan berbagai macam penyakit. Target radikal bebas adalah pada makromolekul tubuh seperti protein, lipid, gula, DNA, dan RNA.



Gambar 2.1 Target radikal bebas (Carocho, 2013).

Berdasarkan sumbernya antioksidan dapat dibagi menjadi antioksidan endogen, yaitu enzim-enzim yang bersifat antioksidan, seperti Superoksida Dismutase (SOD), katalase (Cat), dan glutathione peroksidase (Gpx), dan

antioksidan eksogen yang diperoleh dari luar tubuh seperti makanan yang mengandung vitamin C, E, A, organosulfur, *α-tocopherol*, *flavonoid*, *thymoquinone*, statin, niasin, *phycocyanin*, dan lain-lain (Werdhasari, 2014).

Antioksidan digunakan untuk mencegah stres oksidatif atau ketidakseimbangan jumlah radikal bebas dengan jumlah antioksidan di dalam tubuh, karena bersifat sangat mudah dioksidasi, sehingga radikal bebas akan mengoksidasi antioksidan dan melindungi molekul lain di dalam sel dari kerusakan (Werdhasari, 2014).

2.2 Radikal bebas

Radikal bebas adalah senyawa yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital luarnya (*unpaired electron*) yang dapat menyerang dan mengikat elektron molekul di sekitarnya. Molekul yang terambil elektronnya akan mewarisi sifat reaktifnya sehingga timbul reaksi berantai yang tidak terputus (Muchtadi 2013).

Sumber radikal bebas dapat berasal dari sumber endogen ataupun dari eksogen. Sumber endogen berasal dari hasil metabolisme normal di dalam tubuh dan proses fagositosis sedangkan secara eksogen radikal bebas berasal dari lingkungan, polusi, asap rokok, obat-obatan, aktivitas pembakaran bahan, bakar pada mesin, kendaraan bermotor dan pestisida (Suarsan *et al.*, 2012).

Kerusakan sel yang disebabkan oleh radikal bebas didahului oleh kerusakan membran sel yang terjadi melalui rangkaian proses sebagai berikut: (i) terjadi ikatan kovalen antara radikal bebas dengan komponen-komponen membran

(enzim-enzim membran, komponen karbohidrat membran plasma), sehingga terjadi perubahan struktur dari fungsi reseptor; (ii) oksidasi gugus tiol pada komponen membran oleh radikal bebas yang menyebabkan proses transpor lintas membrane terganggu; (iii) reaksi peroksidasi lipid dan kolesterol membran yang mengandung asam lemak tak jenuh majemuk atau *Poly Unsaturated Fatty Acid* (PUFA) (Halliwell and Gutteridge, 2007).

2.3 Malondialdehida (MDA)

Malondialdehida (MDA) merupakan produk akhir dari degenerasi PUFA oleh radikal-radikal bebas. Radikal bebas merupakan senyawa berupa atom atau gugus yang mempunyai elektron tidak berpasangan pada orbital luarnya, sehingga senyawa ini bersifat sangat reaktif (tidak stabil) (Yustika, 2013).

Reactive Oxygen Species (ROS) adalah bagian dari radikal bebas yang merupakan produk dari metabolisme sel normal. ROS memiliki derivat oksigen radikal dan nonradikal. Derivat oksigen radikal meliputi ion OH⁻, anion superoksida, *nitric oxide*, dan *peroxyl* (Shivanoor dan David, 2016). Sedangkan derivat oksigen yang non-radikal meliputi ozon, singlet oksigen, lipid peroksida, dan hidrogen peroksida. Selain derivat oksigen, radikal bebas juga dapat berasal dari derivat nitrogen seperti peroksi nitrit, dan ion nitroksil yang juga merupakan subklas dari ROS (Widayati, 2010).

Target utama ROS adalah asam lemak tak jenuh majemuk atau *Poly Unsaturated Fatty Acid* (PUFA) dalam lipid membran. PUFA yang didegradasi oleh radikal-radikal bebas inilah yang nantinya akan menghasilkan produk akhir

yang disebut dengan Malondialdehida (MDA) (Retno *et al.*, 2012), sehingga secara tidak langsung MDA dapat dijadikan sebagai indikator stress oksidatif akibat radikal bebas (Yustika, 2013). Kadar MDA yang tinggi menunjukkan tingginya jumlah radikal bebas di dalam tubuh, sedangkan rendahnya kadar MDA menunjukkan status antioksidan yang tinggi (Winarsi, 2007).

2.4 Pestisida

Pestisida merupakan zat kimia yang digunakan untuk membasmi organisme yang tidak diharapkan atau tidak diinginkan pada suatu hospes, jenis pestisida yaitu insektisida (pembasmi serangga), herbisida (pembasmi rumput liar), fungisida (pembasmi jamur) dan rodentisida (pembasmi hewan pengerat). Selain menjadi penyerang hama, pestisida juga mengandung agen pembawa inaktif yang tidak beracun bagi hama yang menjadi sasaran, tetapi dapat beracun bagi manusia. Kata *sida* memiliki artian membunuh, sehingga ketika dipergunakan di luar ruangan dapat mengkontaminasi udara, tanah dan juga air (Sudarmo, 2005).

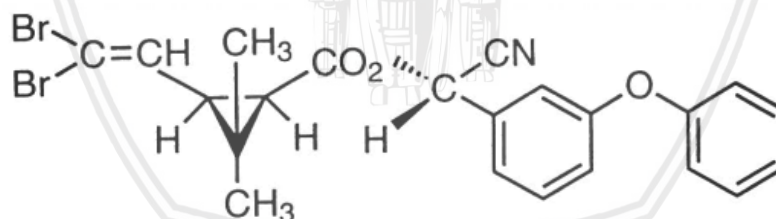
Pestisida merupakan campuran dari berbagai bahan baik bahan aktif (*active ingredient*) maupun bahan teknis (*additives*) (British Medical Association, 2003). Berdasarkan sifat kimianya pestisida dibagi menjadi 4 yaitu organoklor, organofosfat, karbamat dan piretroid (Narwanti *et al.*, 2012).

2.4.1 Deltametrin

Deltametrin merupakan salah satu pestisida dari golongan piretroid sintesis tipe II, yang memiliki sifat lebih tahan pada lingkungan dan toksik terhadap mamalia dan burung (Saodi *et al.*, 2017). Piretroid berasal dari

piretrum yang diperoleh dari bunga *chrysanthemum cinerariaefolium*. Insektisida tanaman ini merupakan yang sangat akut dan bekerja pada susunan saraf serangga. Cara kerja deltametrin 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 serangga mengalami hipereksitasi (kegelisahan) dan konvulsi (kekejangan) (Ghiffari, 2013). Deltametrin memiliki sifat tidak iritan, tidak mudah teradsorpsi ke dalam kulit, tetapi mudah terabsorpsi melalui membran pencernaan dan juga pernafasan (Narwanti *et al.*, 2012).

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



Gambar 2.2 Struktur kimia deltametrin (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).

2.4.2 Toksisitas Pestisida

Toksisitas pestisida terjadi apabila bahan mengenai atau masuk ke dalam tubuh dalam jumlah tertentu, ada beberapa faktor yang dapat mempengaruhi toksisitas pestisida dalam tubuh yaitu: (1) Dosis pestisida berpengaruh langsung terhadap bahaya toksisitas pestisida, dosis yang tinggi dapat memberikan efek buruk; (2) Jangka waktu atau lamanya terpapar pestisida, paparan yang berlangsung terus-menerus dan berlangsung lama dapat menimbulkan toksisitas kronik; dan (3) Jalan masuk pestisida dalam tubuh. Keracunan akut atau kronik dapat melalui mulut, melalui kulit dan saluran pernafasan.

Toksisitas insektisida terhadap organisme tertentu juga dinyatakan dalam nilai *Lethal Dose* (LD_{50}). LD_{50} menunjukkan dosis racun yang dapat mematikan 50 persen dari populasi hewan percobaan (Raini, 2007). Deltametrin memiliki LD_{50} sebesar 52 mg/kg (dalam minyak jagung) dan 67 mg/kg (dalam polietilen glikol 200) (Manna *et al.*, 2005).

Gejala toksisitas dari deltametrin adalah koreoatetosis (menggeliat) dan hipersalivasi (sehingga dikenal juga sebagai CS-sindrom), inkoordinasi motorik, tremor, kesulitan bernapas, kejang, hiperaktivitas dan hipersensitivitas (Rehman, 2014).

2.5 Patofisiologi Deltametrin

Deltametrin diabsorpsi oleh pembuluh darah di sekitar rongga peritoneal, melalui pembuluh darah deltametrin kemudian masuk ke hepar dan

dimetabolisme melalui hidrolisis ikatan ester dan jalur oksidasi oleh sitokrom P₄₅₀, dimana oksidasi oleh sitokrom P₄₅₀ nantinya akan menghasilkan metabolit yang bersifat non toksik berupa 3-(2,2-dibromovinyl) 2, 2-cyclopropane carboxyl acid (dibromoacid) dan 3-phenoxy benzaldehyde, serta hasil samping berupa anion superoksida (O₂⁻) (Elmaghraby, 2007). Pemberian deltametrin secara berulang dengan dosis tinggi akan menyebabkan meningkatnya oksidasi oleh sitokrom P₄₅₀ sehingga jumlah radikal bebas anion superoksida (O₂⁻) di dalam tubuh meningkat (Manna *et al.*, 2005), peningkatan jumlah radikal bebas yang tidak diimbangi dengan jumlah antioksidan di dalam tubuh menyebabkan terjadinya ketidakseimbangan antara jumlah antioksidan dengan radikal bebas, sehingga radikal bebas ini akan bereaksi dengan komponen sel dan menyebabkan stress oksidatif yang dapat memicu terjadinya kerusakan jaringan (Murray, 2003).

2.6 *Artemisia vulgaris*

Artemisia vulgaris atau biasa disebut dengan baru cina merupakan tumbuhan yang menahun, berambut halus, dan memiliki tinggi yang dapat mencapai 1 meter. *A. vulgaris* 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, berbentuk malai rata yang keluar dari ujung tangkai, warnanya kuning muda. Panjang bonggol bunga 6-8 dengan tangkai berambut, tangkai bunga keluar dari ketiak daun dan ujung tangkai. *A. vulgaris* 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. (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	: <i>Artemisia</i>
Spesies	: <i>Artemisia vulgaris</i>



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

Berdasarkan penelitian sebelumnya daun *A. vulgaris* diketahui memiliki kandungan saponin, flavonoid, dan juga polifenol (Judzentiene dan Buzelyte, 2006). Saponin memiliki aktivitas antibakteri (Yanuartono, 2017), flavonoid memiliki aktivitas antioksidan (Judzentiene dan Buzelyte, 2006), dan juga antiinflamasi (Pramitaningastuti, 2017), sedangkan polifenol memiliki aktivitas antikarsinogenik dan antimutagenik (Suryanto *et al.*, 2011). Beberapa studi in

vitro menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan flavonoid, dapat mencegah bergabungnya oksigen dengan zat lain sehingga mampu melindungi sel dari kerusakan akibat aktivitas radikal bebas (Buchler dan Miranda, 2000), sedangkan potensi flavonoid sebagai antiinflamasi bekerja dengan menghambat enzim siklooksigenase dan lipooksigenase sehingga mencegah terjadinya inflamasi (Pramitaningastuti, 2017).

2.7 Gambaran Histopatologi Normal Duodenum

Duodenum merupakan bagian dari intestin yang dimulai dari akhir pilorus lambung, terletak pada bagian kanan belakang vertebral lumbal 1, membentuk *C-shaped curve* yang mengelilingi kaput pankreas dan kemudian berhubungan dengan jejunum yang terletak pada bagian kiri dari vertebral lumbal ke 2, panjang duodenum sekitar 10 cm dan tersusun melingkar (Harjana, 2009).

Lapisan penyusun duodenum dari dalam keluar terdiri dari tunika mukosa, tunika submukosa, tunika muskularis dan tunika serosa (Frappier, 2006). Mukosa duodenum terdiri dari beberapa lapisan yaitu epitelium, lamina propia dan muskularis mukosa.

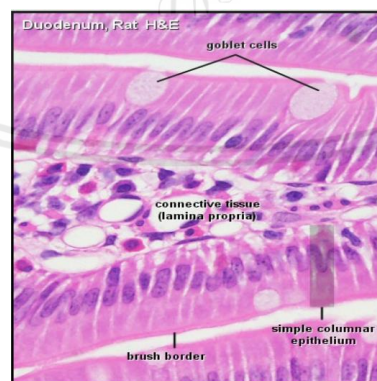
Epitel duodenum terdiri dari sel silindris sebaris yang terdiri dari beberapa sel, yaitu sel penyerap, sel goblet, dan sel DNES (*Diffuse Neuroendocrine System*) (Gartner dan Hiatt, 2001).

Lamina propia terdiri dari jaringan ikat retikular dan fibroplastik longgar yang kaya akan pembuluh darah, saraf, dan otot licin. Penyerapan di duodenum ditunjang oleh vili. Vili merupakan penjururan mukosa, pada duodenum vili

memiliki ciri khas berbentuk seperti daun. Vili memiliki tinggi yang bervariasi tergantung daerah dan jenis hewan (Shackelford dan Elwell 1999).

Submukosa duodenum terdiri dari kelenjar duodenum atau kelenjar *brunners* yang berfungsi untuk mensekresikan lendir, terdapat pula serabut-serabut saraf dan sel ganglion yang disebut plexus submukosa atau *plexus submucosal meissner*. Plexus ini berperan mengatur sekresi dan aliran darah serta membantu beberapa fungsi sensorik seperti menerima sinyal-sinyal dari epitel usus serta dari reseptor regangan di dalam dinding usus (Guyton dan Hall, 1997).

Tunika muskularis dari duodenum terdiri dari lapis eksterna longitudinal dan lapis interna sirkular dimana pada bagian ini terdapat serabut otot halus yang berbentuk sirkuler, diantara kedua lapis tersebut terdapat plexus saraf parasimpatis yang disebut *plexus Auerbach's*. Lapisan terluar duodenum atau tunika serosa merupakan suatu lapisan jaringan penyambung yang tertutup mesotel (Frappier, 2006).



Gambar 2.4 Gambaran histopatologi normal duodenum tikus (SAHB, 2009).

2.8 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) merupakan salah satu spesies yang ideal untuk dijadikan hewan coba dalam uji toksikologi karena memiliki berat badan

yang dapat mencapai hingga 500 gram, dengan ukuran tubuh yang cukup besar organ tubuh tikus pun relatif besar, hal ini membantu dalam pemberian materi sehingga dapat diberikan dengan mudah melalui berbagai rute. Reaksi yang ditunjukkan tikus pun 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)

Menurut Sharp dan Villano (2013) Tikus putih (*Rattus norvegicus*) atau dikenal juga sebagai tikus norwegia memiliki taksonomi sebagai berikut:

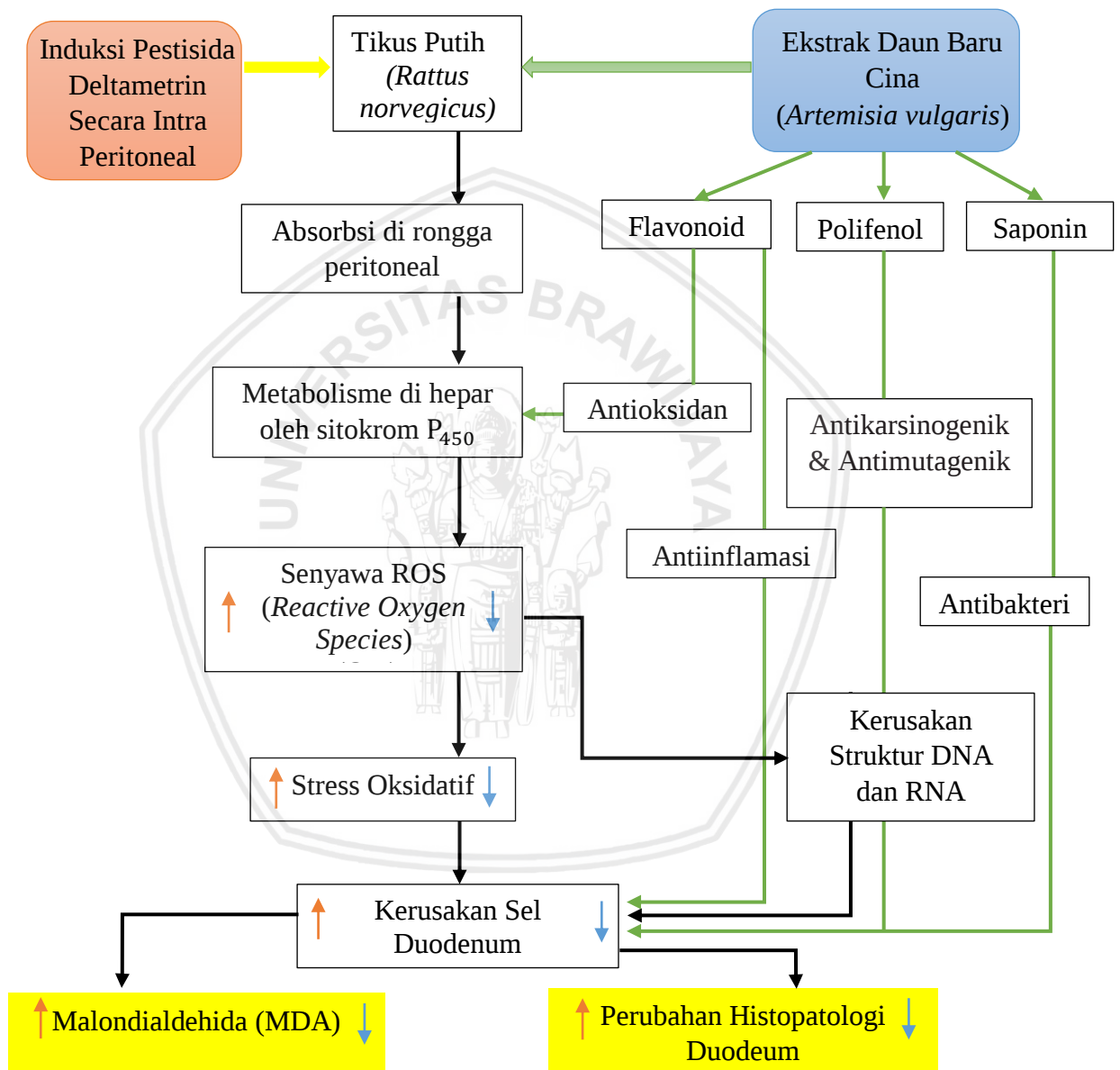
- Kingdom : Animalia
- Filum : Chordata
- Kelas : Mamalia
- Ordo : Rodentia
- Subordo : Myomorpha
- Famili : Muridae
- Genus : *Rattus*
- Spesies : *Rattus norvegicus*

Ciri morfologi tikus putih (*Rattus norvegicus*) antara lain memiliki berat 150-600 gram, hidung tumpul dan badan besar dengan panjang 18-25 cm, kepala dan badan lebih pendek dari ekornya, serta telinga relatif kecil dan tidak lebih dari 2-2,3 cm (Depkes, 2011).

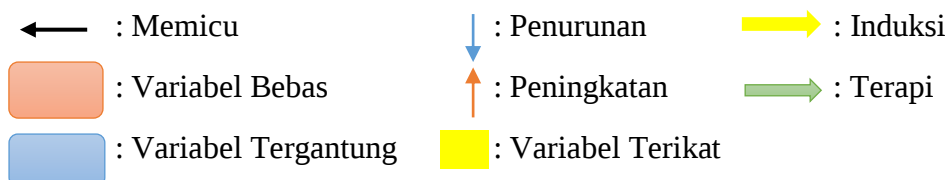


BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESA PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Keterangan :



Tikus putih (*Rattus norvegicus*) diberikan deltametrin secara intra peritoneal, kemudian deltametrin diabsorpsi oleh pembuluh darah di sekitar rongga peritoneal lalu masuk ke hepar. Deltametrin kemudian dimetabolisme di hepar melalui hidrolisis ikatan ester dan jalur oksidatif oleh sitokrom P₄₅₀. Oksidasi oleh sitokrom P₄₅₀ dalam keadaan normal akan menghasilkan radikal bebas berupa anion superoksida (O₂⁻) yang merupakan salah satu dari *Reactive Oxygen Species* (ROS), ROS dapat segera diubah menjadi metabolit yang stabil, akan tetapi pada pemberian deltametrin secara berulang dengan dosis tinggi dapat merangsang peningkatan jumlah ROS di dalam tubuh ketika jumlah radikal bebas tidak diimbangi dengan jumlah antioksidan di dalam tubuh maka akan terjadi stress oksidatif.

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

Ekstrak *A. vulgaris* atau baru cina memiliki kandungan flavonoid, polifenol dan saponin. 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. Keseimbangan antara oksidan dan antioksidan nantinya akan menurunkan jumlah ROS di dalam tubuh

sebanding dengan penurunan kadar MDA. Selain sebagai antioksidan flavonoid juga memiliki aktivitas antiinflamasi yang dapat mencegah terjadinya inflamasi pada duodenum. Polifenol yang terkandung dalam *A. vulgaris* berfungsi sebagai antikarsinogenik dan antimutagenik yang membantu mencegah kerusakan pada struktur DNA dan RNA yang disebabkan oleh radikal bebas, sedangkan saponin bekerja sebagai antibakteri untuk mencegah infeksi pada jaringan. Kemampuan flavonoid, polifenol dan saponin ini dapat mencegah kerusakan sel duodenum akibat deltametrin sehingga kerusakan membran sel duodenum dapat terhindarkan, dan perbaikan sel dapat diamati pada gambaran histopatologi duodenum.

3.2 Hipotesis Penelitian

1. Pemberian ekstrak daun Baru cina (*A. vulgaris*) dapat menurunkan kadar MDA (Malondialdehida) pada duodenum tikus yang diinduksi pestisida deltametrin.
2. Pemberian ekstrak daun Baru cina (*A. vulgaris*) dapat mencegah kerusakan histopatologi duodenum pada tikus yang diinduksi pestisida deltametrin.

BAB IV 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 (Malondialdehida) di lakukan di Laboratorium FAAL Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.
3. Pembuatan preparat histopatologi organ duodenum 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 dibagi menjadi enam kelompok dan besar sampel ditentukan dengan rumus dibawah (Kusumaningrum, 2008):

$$\begin{array}{ll}
 p(n-1) & \geq 15 \\
 5(n-1) & \geq 15 \\
 5n-5 & \geq 15 \\
 5n & \geq 20 \\
 n & \geq 20/5 \\
 n & \geq 4
 \end{array}$$

Keterangan:

p = jumlah kelompok perlakuan

n = jumlah ulangan yang diperlukan

Berdasarkan perhitungan, untuk 5 macam kelompok perlakuan dibutuhkan jumlah ulangan minimal 4 kali setiap kelompok, namun dalam penelitian ini tikus yang digunakan adalah sejumlah 30 ekor dengan jumlah pengulangan sebanyak 5 kali, dengan pembagian kelompok sebagai berikut

1. Kelompok 1 : Tikus sehat tanpa perlakuan (Kontrol negatif).
2. Kelompok 2 : Tikus diberikan deltametrin dengan dosis 7,2 mg/KgBB setiap hari selama 7 hari (Kontrol positif).
3. Kelompok 3 : Tikus diberikan ekstrak *A. vulgaris* dengan dosis 150 mg/KgBB dan deltametrin dengan dosis 7,2 mg/KgBB setiap hari selama 7 hari.
4. Kelompok 4 : Tikus diberikan ekstrak *A. vulgaris* dengan dosis 300 mg/KgBB dan deltametrin dengan dosis 7,2 mg/KgBB setiap hari selama 7 hari.
5. Kelompok 5 : Tikus diberikan ekstrak *A. vulgaris* dengan dosis 600 mg/KgBB dan deltametrin dengan dosis 7,2 mg/KgBB setiap hari selama 7 hari.

4.3 Variabel Penelitian

Adapun variabel yang diamati pada penelitian ini adalah:

Variabel bebas : dosis pemberian deltametrin dan dosis pemberian ekstrak *A. vulgaris*.

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

Variabel kendali : homogenitas tikus (berat badan, umur, dan jenis kelamin tikus), 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 digital, gelas ukur 10 ml, gelas kimia, mortar, pengaduk kaca, *object glass*, *cover glass*, mikroskop cahaya, kamera digital, 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, *A. vulgaris* dalam bentuk ekstrak, minyak jagung, formalin 10%, aquades dan alkohol.

4.5 Prosedur Penelitian

4.5.1 Aklimatisasi Hewan Coba

Aklimatisasi hewan coba dilakukan selama satu minggu dengan tujuan untuk menciptakan lingkungan nyaman sehingga mencegah stress bagi tikus (Ridwan, 2013).

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* (Saputri *et al.*, 2008).

4.5.2 Ekstraksi Daun Baru Cina (*Artemisia vulgaris*)

Daun dibersihkan dari kotoran dan batangnya, kemudian di rajang dan dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 60 °C hingga kering dan kadar air mencapai kurang dari 10%. Selanjutnya daun dibuat dalam bentuk simplisia dan dimasukkan ke dalam botol gelap, ditambahkan pelarut etanol 70% perbandingan 1:10. Simplisia kemudian direndam selama 6 jam sambil sesekali diaduk, kemudian didiamkan selama 18 jam. Setelah itu disaring menggunakan kapas dan kain kasa kemudian kertas saring. Filtrat yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* hingga menjadi ekstrak kental (Istiqomah, 2013).

Penggunaan etanol sebagai pelarut ekstraksi didasarkan pada penyesuaian pelarut dengan kepolaran senyawa yang diinginkan. Menurut prinsip *dissolves like*, suatu pelarut akan cenderung melarutkan senyawa yang mempunyai tingkat kepolaran yang sama. Pelarut polar akan melarutkan senyawa polar dan sebaliknya. Flavonoid merupakan senyawa golongan polifenol yang terdistribusi luas pada tumbuhan dalam bentuk glikosida yang berikatan dengan suatu gula, karena itu flavonoid merupakan senyawa yang bersifat polar. Pelarut polar yang biasa digunakan untuk ekstraksi flavonoid adalah metanol, aseton, etanol, air dan isopropanol (Suryani *et al.*, 2015).

4.5.3 Induksi Deltametrin

Induksi deltametrin diberikan secara intra peritoneal dengan dosis 7,2 mg/KgBB, dengan harapan akan memberikan efek toksik secara kronis namun tidak menyebabkan kematian secara cepat.

4.5.4 Pengambilan Duodenum

Pengambilan duodenum dilakukan pada semua kelompok hewan coba pada hari ke 8 minggu ke dua. Prosedur euthanasia dilakukan dengan cara dislokasi servikal. Hewan coba kemudian diposisikan rebah dorsal, bersihkan pada bagian abdomen dari rambut dengan cara dicukur, kemudian dibersihkan dengan menggunakan kapas yang diberi iodine. Bedah bagian abdomen menggunakan gunting bengkok. Duodenum diambil, diisolasi dan dipotong, selanjutnya dibilas dengan NaCl fisiologis 0,9% dan direndam dalam *Paraformaldehyd* (PFA) 10% untuk selanjutnya diproses.

4.5.5 Penentuan Kadar MDA

Prinsip metode ini berdasarkan kemampuan pembentukan kompleks berwarna merah jambu antara MDA dan Asam Tiobarbiturat (TBA). Pembuatan larutan campuran (TCA-TBA) untuk dicampurkan pada pemeriksaan kadar MDA, yaitu: 1,78 ml HCl pekat lalu ditambahkan dengan 12 g TCA dan 0,304 g, TBA kemudian diaduk dengan 80 ml akuades. Pengadukan dilakukan di atas pemanas air dengan api kecil lalu dinginkan pada suhu ruangan sebelum dicampurkan ke dalam larutan pemeriksaan kadar MDA.

Cara kerja pemeriksaan kadar malondialdehida, yaitu: Organ duodenum diambil, lalu ditimbang beratnya 2 gram. kemudian dicincang dan digerus menggunakan mortar sampai halus dan dimasukkan ke dalam tabung sentrifus yang telah diberi label untuk diambil supernatannya. Tambahkan 1 ml PBS-KCl (PBS dingin yang mengandung KCl) ke dalam tiap-tiap tabung sentrifus, lalu diaduk dengan batang pengaduk hingga rata. Kemudian disentrifus 10.000 rpm selama 20 menit dengan suhu dingin $\pm 4^{\circ}\text{C}$ dan diambil supernatannya sebanyak 2 ml dari tiap-tiap sampel, lalu ditambahkan 2 ml larutan campuran TCA-TBA (dihomogenkan). Larutan homogen disimpan dalam oven dengan suhu 80°C selama 1 jam. Setelah satu jam lalu diangkat dan didinginkan pada suhu ruangan, kemudian dilakukan sentrifus 3000 rpm selama 10 menit. Pembacaan kadar MDA dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang λ 532 nm (Sutari *et al.*, 2013).

4.5.6 Pembuatan Preparat Histopatologi Duodenum

Proses pembuatan preparat histologi menurut Junquiera dan Carneiro (2007) meliputi prosedur fiksasi, dehidrasi, penjernihan, infiltrasi parafin, *embedding*, *sectioning*, penempelan di *object glass*, dan pewarnaan. Duodenum 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).

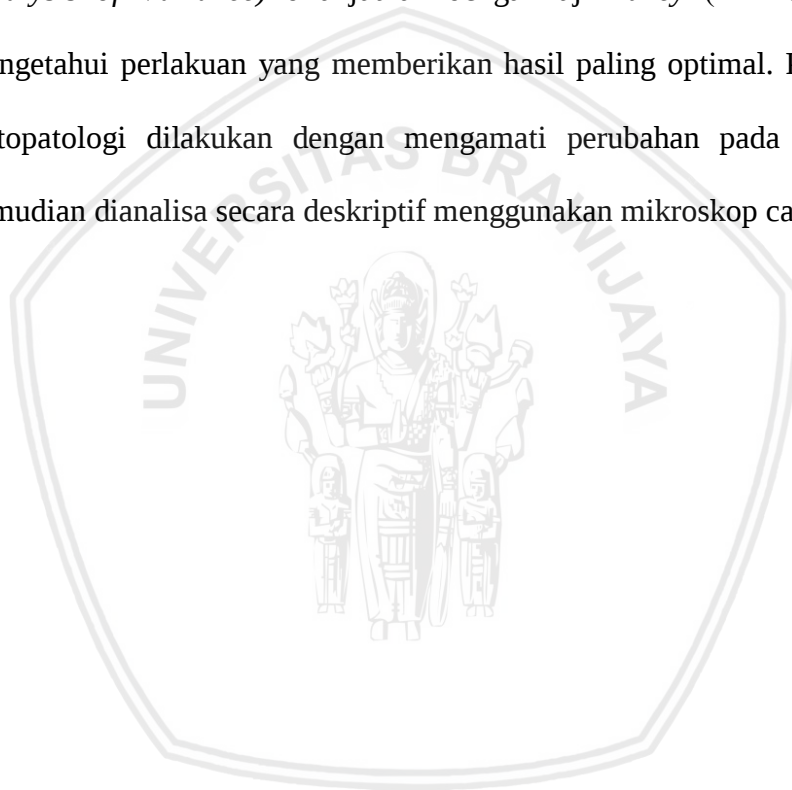
Pewarnaan HE dilakukan dengan cara meletakkan preparat yang akan diwarnai pada rak khusus dan dicelupkan secara berurutan ke dalam larutan, yaitu: xylol (2x3 menit), etanol absolut (2x3 menit), etanol 90% (3 menit), etanol 80% (3 menit), kemudian dibilas dengan aquades. Selanjutnya ditetaskan larutan *haematoxylin* selama 6 – 7 menit, lalu dibilas dengan aquades 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 duodenum dilakukan dengan cara mengamati perubahan yang terjadi pada sel epitel vili maupun bagian lain

yang mengalami perubahan patologi menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 40x - 1000x.

4.5.7 Analisa Data

Data penelitian akan didapatkan dalam bentuk data kuantitatif, selanjutnya dilakukan analisis statistika dengan metode *One-Way ANOVA* (*Analysis of Variance*) dilanjutkan dengan uji *Tukey* ($\alpha = 0,05$) untuk mengetahui perlakuan yang memberikan hasil paling optimal. Pengamatan histopatologi dilakukan dengan mengamati perubahan pada duodenum, kemudian dianalisa secara deskriptif menggunakan mikroskop cahaya.



BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Pengaruh Ekstrak Daun *Artemisia vulgaris* terhadap Jumlah Radikal Bebas di Dalam Tubuh Berdasarkan Kadar Malondialdehida (MDA) Duodenum Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Deltametrin

Malondialdehida (MDA) merupakan hasil akhir dari peroksidasi lipid dengan radikal bebas, sehingga secara tidak langsung juga menunjukkan jumlah radikal bebas didalam tubuh. Pengukuran MDA menggunakan uji *Thiobarbituric Acid Assay* (TBA) bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak *A. vulgaris* dalam menekan jumlah radikal bebas. Hasil pengukuran kadar MDA duodenum kemudian dianalisa secara statistik menggunakan uji *one way ANOVA* yang dilanjutkan dengan uji *Tukey* dengan tingkat kepercayaan 95% untuk menentukan perbedaan antar perlakuan. Hasil pengukuran MDA duodenum tikus putih yang diinduksi deltametrin dapat di lihat pada **Tabel 5.1**

Tabel 5.1 Rata-rata kadar MDA duodenum tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi deltametrin

Kelompok	Rata-rata Kadar MDA (ng/mL)	Peningkatan Kadar MDA terhadap Kontrol Negatif (%)	Penurunan Kadar MDA terhadap Kelompok Kontrol Positif (%)
K-	197.2 $\pm$ 7.93 ^a	-	-
K+	282.2 $\pm$ 12.41 ^c	43.1	-
P1 (150 mg/KgBB)	204.7 $\pm$ 5.48 ^a	-	27.46
P2 (300 mg/KgBB)	206.9 $\pm$ 6.78 ^a	-	26.68
P3 (600 mg/KgBB)	243.3 $\pm$ 7.06 ^b	-	13.78

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

Berdasarkan **Tabel 5.1**, diperoleh informasi bahwa kadar MDA duodenum tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi deltametrin pada kelompok kontrol positif menunjukkan adanya peningkatan kadar MDA sebesar 43.1% terhadap kelompok kontrol negatif yang dianggap sebagai kadar MDA normal. Pada kelompok P1 (150 mg/KgBB), P2 (300 mg/KgBB) dan P3 (600 mg/KgBB) terdapat penurunan kadar MDA dengan presentase masing-masing sebesar 26.68%, 27.46% dan 13.78%, terhadap kelompok kontrol positif.

Pada keadaan fisiologis normal, radikal bebas diproduksi oleh tubuh dalam jumlah kecil sebagai akibat dari berbagai proses metabolisme. Proses metabolisme yang terjadi seperti proses oksidasi yang berlangsung selama respirasi sel (Pham-Huy *et al.*, 2008), sehingga kadar MDA kelompok kontrol negatif dikategorikan sebagai kadar MDA normal, karena tikus putih kelompok ini tidak mendapatkan perlakuan apapun kecuali pakan dan air minum. Peningkatan kadar MDA pada kelompok kontrol positif disebabkan oleh metabolisme deltametrin melalui hidrolisis ikatan ester dan jalur oksidasi oleh sitokrom P₄₅₀. Secara fisiologis oksidasi oleh sitokrom P₄₅₀ akan menghasilkan radikal bebas berupa anion superoksida (O₂⁻) yang termasuk kedalam ROS (Manna *et al.*, 2015). 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 deltametrin 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 *A. vulgaris* dalam menurunkan jumlah radikal bebas di dalam tubuh. Hal ini dikarenakan daun *A. 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 duodenum tikus putih yang diberi deltametrin.

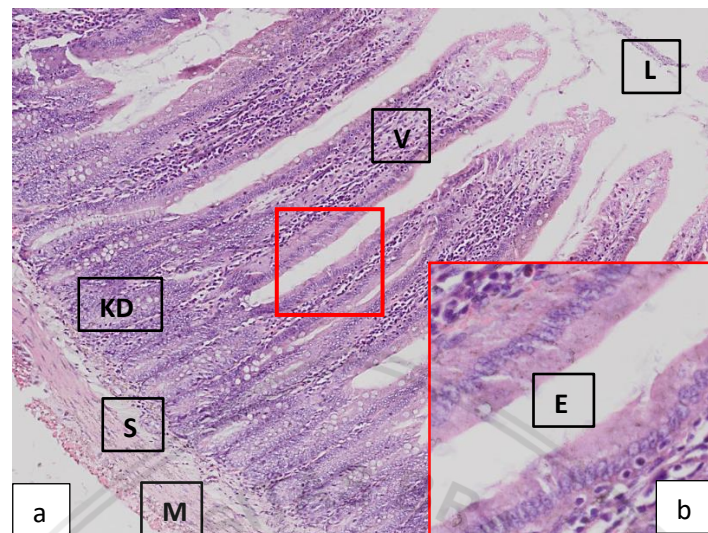
Hasil uji statistik lanjutan menggunakan uji *Tukey* kadar MDA duodenum pada kelompok P1 (150 mg/KgBB) dan kelompok P2 (300 mg/KgBB) menunjukkan hasil yang berbeda nyata dengan kadar MDA duodenum pada kelompok kontrol positif, namun tidak berbeda nyata dengan kelompok kontrol negatif, dimana kelompok P1 dan P2 memiliki kadar MDA yang lebih rendah yaitu sebesar 204.7 ± 5.48 ng/mL dan 206.9 ± 6.78 ng/mL dibandingkan dengan kadar MDA kelompok kontrol positif yaitu sebesar 282.2 ± 12.41 ng/mL, namun sedikit lebih tinggi dari kelompok kontrol negatif yang memiliki kadar MDA sebesar 197.2 ± 7.93 ng/mL. Hasil statistik pada kelompok P3 (600 mg/KgBB) menunjukkan hasil yang berbeda nyata dengan kontrol negatif, kontrol positif, P1 (150 mg/KgBB) maupun P2 (300 mg/KgBB), dengan kadar MDA duodenum sebesar 243.3 ± 7.06 ng/mL, nilai ini lebih rendah dari kelompok kontrol positif namun lebih tinggi dari kelompok kontrol negatif, P1 (150 mg/KgBB) maupun P2 (300 mg/KgBB).

Uji lanjutan ini menunjukkan bahwa terapi ekstrak daun *A. vulgaris* dengan dosis 150 mg/KgBB dan dosis 300 mg/KgBB merupakan dosis yang optimal dalam menurunkan kadar MDA duodenum tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi deltametrin. Namun pada pemberian ekstrak daun *A. vulgaris* dengan

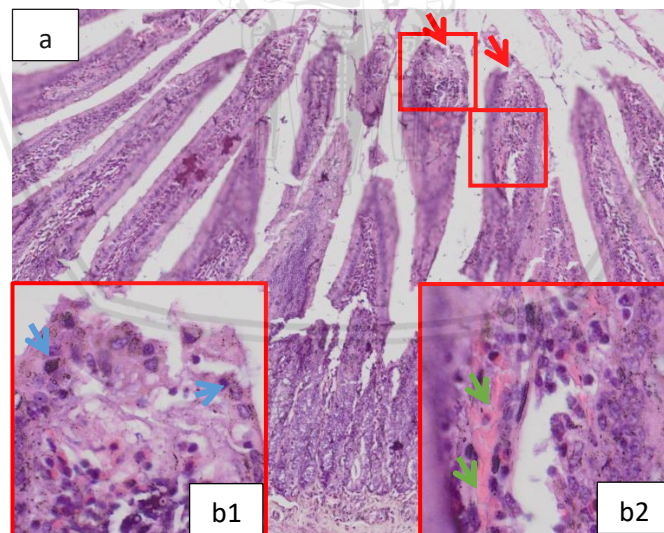
dosis 600 mg/KgBB terjadi peningkatan kembali kadar MDA duodenum meskipun tidak sebesar peningkatan kelompok kontrol positif. Hal ini disebabkan oleh tingginya dosis ekstrak yang diberikan sehingga terjadi peningkatan antioksidan yang berlebihan. Banyaknya konsentrasi antioksidan yang diberikan dapat berpengaruh pada laju oksidasi, pada konsentrasi tinggi aktivitas antioksidan grup fenolik sering lenyap bahkan antioksidan tersebut menjadi prooksidan (Simanjuntak, 2012).

5.2 Pengaruh Ekstrak Daun *Artemisia vulgaris* terhadap Perubahan Histopatologi Duodenum Tikus Putih (*Rattus noervegicus*) yang diinduksi Deltametrin

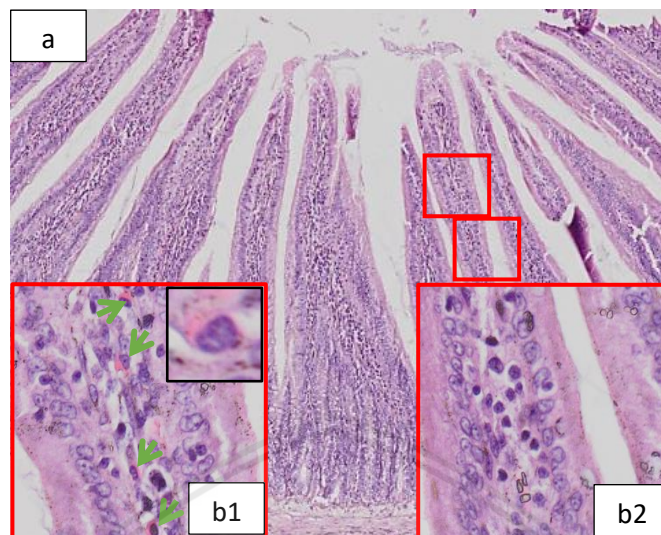
Pemeriksaan histopatologi pada jaringan menjadi salah satu parameter untuk mengetahui keberhasilan suatu terapi penyakit. Pada penelitian ini, pemeriksaan histopatologi ditujukan untuk melihat pengaruh pemberian terapi ekstrak daun *A. vulgaris* terhadap perbaikan jaringan duodenum tikus putih yang diinduksi deltametrin terhadap kontrol positif. Pada penelitian ini preparat diamati dengan menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 40-400x. Bagian yang diamati yakni vili dan abnormalitas lainnya yang dapat ditemukan pada preparat duodenum hewan coba.



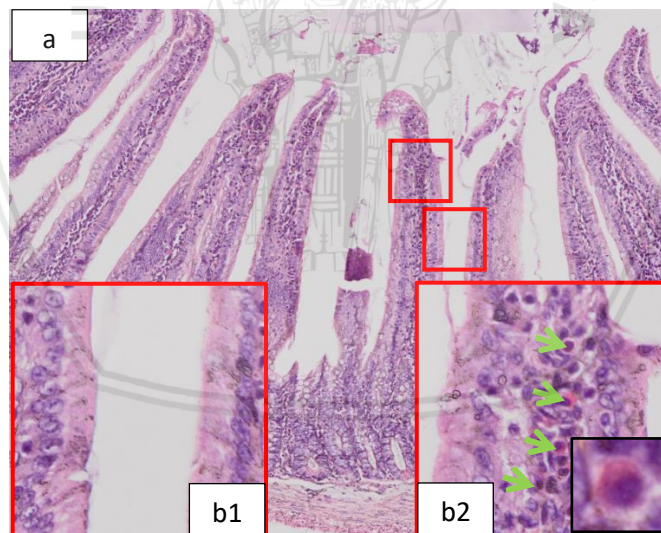
Gambar 5.1 Gambaran histopatologi tikus putih kelompok kontrol negatif dengan pewarnaan HE, (A) perbesaran 40x dan (B) perbesaran 100x. Epitel (E), Lumen (L), Tunika mukosa (TM), Vili (V), Submukosa (S) dan kelenjar duodenal (KD) terlihat normal.



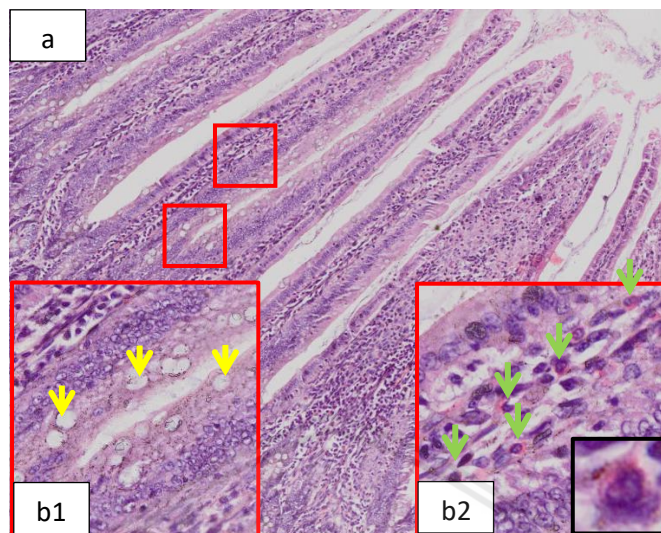
Gambar 5.2 Gambaran histopatologi tikus putih kelompok kontrol positif dengan pewarnaan HE (a) perbesaran 40x, dan (b) perbesaran 400x. Nampak kerusakan pada sel epitel vili berupa sel piknotik (panah biru), hemoragi (panah hijau) dan kerusakan lapisan mukosa (ruptur vili) (panah merah). Serta terdapat banyak celah antar sel pada tunika mukosa.



Gambar 5.3 Gambaran histopatologi tikus putih kelompok P1 (dosis 150 mg/KgBB) dengan pewarnaan HE (a) perbesaran 40x dan (b) perbesaran 400x. Sel epitel vili terlihat rapat. Terdapat infiltrasi sel leukosit (panah hijau).



Gambar 5.4 Gambaran histopatologi tikus putih kelompok P2 (dosis 300 mg/KgBB) dengan pewarnaan HE (a) perbesaran 40x, dan (b) perbesaran 400x. Sel epitel vili terlihat rapat dengan inti bulat sampai oval. Terdapat terlihat adanya infiltrasi sel leukosit (panah hijau).



Gambar 5.5 Gambaran histopatologi tikus putih kelompok P3 (dosis 600 mg/KgBB) dengan pewarnaan HE (a) perbesaran 40x dan (b) perbesaran 400x. Sel epitel vili masih terlihat rapi, namun tunika muskularis terlihat lebih renggang, terdapat infiltrasi sel leukosit (panah hijau) serta proliferasi sel goblet (panah kuning).

Gambaran histopatologi duodenum pada kelompok kontrol negatif (**Gambar 5.1**) menunjukkan struktur lapisan sel epitel duodenum yang teratur, merata dan terlihat jelas serta tidak mengalami erosi. Hal ini sesuai dengan penelitian dari Djumadi *et al.* (2008), yang mengatakan bahwa lapisan sel duodenum normal tersusun atas lapisan serosa, muskularis, submukosa dan mukosa yang teratur dan terlihat struktur vili yang terdiri dari sel epitel selapis kolumnar kompak dengan inti bulat sampai oval.

Gambaran histopatologi duodenum pada kelompok kontrol positif (**Gambar 5.2**) terlihat adanya kerusakan jaringan akibat pemberian deltametrin dengan dosis besar secara berulang, hal ini sejalan dengan hasil pengukuran kadar MDA kelompok kontrol positif yang menunjukkan peningkatan kadar MDA yang cukup tinggi. Kerusakan yang terjadi berupa nekrosis pada sel epitel vili dimana

inti sel terlihat piknotik, terlihat adanya hemoragi dan adanya ruptur vili akibat kerusakan sel. 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 terjadilah kerusakan sel. Kerusakan sel dapat menyebabkan terjadinya peradangan yang dapat memicu terjadinya hemoragi, menurut Djumadi *et al.* (2008), hemoragi yang terjadi disebabkan oleh eritrosit pada radang melalui dinding kapiler keluar melalui dinding kapiler dan masuk kedalam jaringan, eritrosit yang keluar terdorong oleh tekanan darah melalui dinding kapiler yang cidera, yang memperlihatkan cairan radang berwarna kemerah-merahan.

Gambaran histopatologi duodenum pada kelompok P2 (150 mg/KgBB) (**Gambar 5.3**) dan kelompok P2 (300 mg/KgBB) (**Gambar 5.4**) terlihat adanya perbaikan sel akibat terapi ekstrak daun *A. vulgaris*, dimana sel epitel terlihat tersusun rapat dengan inti sel yang bulat hingga oval mendekati kelompok kontrol negatif sesuai dengan hasil kadar MDA yang telah dijelaskan, dan terlihat juga adanya infiltrasi sel leukosit. Menurut Hafidzoh (2017), 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 paling tidak membatasinya serta menghilangkan penyebab kerusakan, seperti bakteri atau benda asing (Silbernagl dan Florian, 2013).

Gambaran histopatologi pada kelompok P3 (600 mg/KgBB) (**Gambar 5.5**) menunjukkan adanya infiltrasi sel leukosit, proliferasi sel goblet serta tunika mukosanya terlihat lebih renggang dibandingkan dengan kontrol negatif. Pada hasil pengukuran kadar MDA terdapat peningkatan kadar MDA kembali, yang artinya terdapat peningkatan jumlah radikal bebas didalam tubuh yang dapat memicu kerusakan jaringan. Perubahan patologis yang terjadi disebabkan oleh radikal bebas yang meningkat akibat pemberian dosis ekstrak yang cukup tinggi, menurut Bangol *et al.* (2014), 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. 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). Flavonoid dapat berubah menjadi prooksidan dengan memberntuk ROS akibat kegagalan siklus redoks (Dewi *et al.*, 2007).

BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

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

1. Pemberian ekstrak daun *A. vulgaris* berpengaruh menurunkan kadar MDA duodenum tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi deltametrin dengan dosis terbaik 150-300 mg/KgBB.
2. Pemberian ekstrak daun *A. vulgaris* berpengaruh mencegah kerusakan jaringan dan memperbaiki gambaran histopatologi duodenum tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi deltametrin.

6.2 Saran

Diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui efek preventif dari ekstrak *A. vulgaris* pada parameter organ lain seperti ginjal, hepar atau otak tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi deltametrin, serta pemberian induksi deltametrin dengan rute pemberian lain, seperti melalui oral, inhalasi maupun melalui kulit.

DAFTAR PUSTAKA

- Aboutalebi, N. 2013. Toxic Effect of Aflatoxin B1 on Duodenum Tissue. *Journal of American Science* (9).
- Ak'yunin, K. 2008. Toksisitas Beberapa Golongan Insektisida Terhadap Mortalitas *Selenothrips Rubrocinctus* (Giard) Pada Tanaman Jarak Pagar (*Jatropha Curcas L.*) [Skripsi]. Fakultas Sains dan Teknologi. UIN Malang.
- Annida, S. 2018. Hubungan Antara Frekuensi dan Lama Penyemprotan Dengan Keracunan Pestisida Pada Petani di Desa Srikaton Kecamatan Adiluwih Kabupaten Pringsewu [Skripsi]. Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran. Universitas Lampung.
- Bangol, E., Lidya I. M. dan Jemmy A. 2014. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol dan N-Heksana dari Daun Rumpun Santa Maria (*A. vulgaris L.*) pada Minyak Ikan. *Jurnal Ilmiah Sains* 14(2) : 131-135.
- Bjelakovic, G., Nikolova, D. and Gluud, C. 2013. Meta-Regression Analyses, Metaanalyses, and Trial Sequential Analyses of the Effects of Supplementation with Beta-Carotene, Vitamin A, And Vitamin E Singly Or In Different Combinations On All-Cause Mortality: Do We Have Evidence for Lack of Harm?. *Plos One*. 8 (9): E74558.
- Bradber ry, S. M., Sarah A. C., Alex T. P. dan Allister V. 2005. Poisoning Due to Piretroids. *Jurnal Toxicol* 24(2): 93-106.
- British Medical Association. 2003. Adolescent Health. British Medical Association. London.
- Buchler, D. R. and Miranda, C. 2000. Antioxidant Activities of Flavanoids. [Http://Lpi.Oregonstate.Edu/F-W00/Flavonoid.Html](http://Lpi.Oregonstate.Edu/F-W00/Flavonoid.Html). [25 Oktober 2018]
- Budiana, W., Aris S., Asep R., Isnugraheni S. dan Theodorik E. N. 2017. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Tiga Genus *Artemisia Sp* dengan Metode DPPH Serta Penetapan Kadar Total Flavonoid, Fenol dan Karotenoid. *Jurnal Ilmiah Farmasi* 5(2): 38-43.
- Contie, M. 1991. Improved Fluorometric Determination of Malonaldehyde. *Jurnal Clinical Chemistry* 7: 1273-1275.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2011. Pedoman Pengendalian Tikus. <http://www.depkes.go.id/downloads/Pengendalian%20Tikus.pdf>. [1 November 2018].
- Dewi, J. R., Teti S. dan Erni S. M. 2007. Aktivitas Antioksidan Dedak Sorgum Lokal Varietas Coklat (*Sorghum bicolor*) Hasil Ekstraksi Berbagai Pelarut. *Jurnal Teknologi Pertanian* 8(3) : 188-197.

- Djumadi, Hariyatmi dan Hanafi, S. 2008. Pengaruh Pemberian Insektisida Diazinon dan Kurkumin Kunyit (*Curcuma domestica*) Per-Oral Terhadap Perubahan Struktur Histologis Duodenum Mencit (*Mus musculus*). *Jurnal Penelitian SainTek* 9(1) : 62-83.
- El-saad, A. M. A. 2011. Lycopene Protects Against Deltamethrin-Induced Oxidative Renal Dysfunction in Rats. *Jurnal Egypt J* 7(2) : 111-121.
- El-Maghraby. 2007. Metabolism of Deltamethrin in Rats. *Jurnal Biomedical and Environmental Sciences* 20 : 212-216.
- Frappier, B. 2006. Digestive System. *Dellmann's Textbook of Veterinary Histology*. Ed Ke-6. Oxford: Blackwell Publishing. Hlm. 170-211.
- Gartner, L. P. and Hiatt J. L. 2001. *Color Textbook of Histology*. Ed Ke-8. Philadelphia: W.B Saunders Company. Hlm 398-406.
- 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
- Gilani, A. H., Sheikh Y., Qamar J. dan Nabeel M. G. 2005. Short Communication Hepatoprotective of Aqueous-Methanol Extract of *A. vulgaris*. *Jurnal Phytoter Res* 19 :170-172
- Goodman, S. 2005. *Vitamin C Generasi III*. Cetakan Ketiga. Penerbit Gramedia Pustaka Utama. Hlm. 97-100.
- Guyton A. C., and Hall J. E. 1997. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Ed. Ke-9. Irawati Setiawan, Penerjemah. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran Egc. Terjemah Dari Textbook Of Medical Physiology. Ed. Ke-9. Hlm: 996-997.
- 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.
- Halliwell, B. And Gutteridge. J. M. C. 2007. *Free Radicals*. Edisi Keempat. Biology And Medicine Oxford University Press. New York.
- Harjana, T. 2009. Pemanfaatan Daun Papaya (*Carica Papaya* L) Untuk Pertumbuhan dan Efeknya pada Gambaran Histologi Duodenum Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). Prosiding Seminar Nasional Penelitian. Fakultas FMIPA. UNY. Yogyakarta. 19-21
- 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 Esssential Oils of *A. vulgaris L.* (Mugwort) Form North Lithuania. *Journal* 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*) [Skripsi]. Institut Teknologi Bandung. Bandung.
- Kusriningrum, R. S. 2008. *Buku Ajar Perancangan Percobaan*. Fakultas kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Dani Abadi. Surabaya
- Kusumastuti, N. H. 2014. Penggunaan Insektisida Rumah Tangga Antinyamuk di Desa Pangandaran, Kabupaten Pangandaran. *Jurnal Widyariset* 17(3) : 417-424
- Kusumawati, D. 2004. *Bersahabat dengan Hewan Coba*. Cetakan pertama. Gadjah Mada University Press., Yogyakarta.
- Malole, M. B. M. dan Pramono C. S. U. 1989. Penggunaan Hewan-hewan Percobaan di Laboratorium. Bogor: PAU Pangan dan Gizi, IPB.
- Manna, S., Bhattacharyya D., Mandal T. K. and Das S. 2005. Repeated Dose Toxicity of feltamethrin in Rats. *Research Paper* 37(3) : 160-164.
- McDonald I. 1980. A Revised Model for Estimation of Protein Degradability in the Rumen. *Jurnal Agric Sci Camb* 96: 251-252.
- Muchtadi, D. 2013. *Antioksidan dan Kiat Sehat di Usia Produktif*. Alfabeta. Bandung.
- Muntiha, A. 2001. Teknik Pembuatan Preparat Histopatologi dari Jaringan Hewan dengan Penggunaan Hematoksilin dan Eosin (H7E). Balai Penelitian Veteriner., Bogor.
- Murray, R. K. 2003. *Biokimia Harper*. Edisi ke 25. ECG Jakarta.
- Narwanti, I., Eko S. dan Chairil A. 2012. Residu Pestisida Piretroid pada Bawang Merah di Desa Srigading Kecamatan Sanden Kabupaten Bantul. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian* 2(2) : 119-128.
- Nugroho, H. 2005. Pengaruh Pemberian Timbal Asetat Per Oral Terhadap Gambaran Histologi Epitel Jejunum Mencit (*Mus Musculus*) [Skripsi]. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Parmar, J. J., Parikh P. V., Kelawala D. N. dan Nauriyal D. S. 2015. Cypermethrin Toxicity in a Spitz dog. *Indian Journals Vet. Med.* 35(2) : 154.

- Pham-Huy, L. A, He, Huo, P, Chuong. 2008. Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *Int J Biomed Sci* 4 (2) : 89-96
- Raini, M. 2007. Toksikologi Pestisida dan Penanganan Akibat Keracunan Pestisida. *Jurnal Media Litbang Kesehatan* 17 (3) : 10-18
- Rehman, H. 2014. Systematic Review on Piretroid Toxicity with Special Reference to Deltametrin. *Jurnal Entomology and Zoologi* 2(6) : 60-70.
- Retno, T., Sri K. W. dan Nyoman S. 2012. Pengaruh Pemberian Isoflavon Terhadap Peroksidasi Lipid Pada Hati Tikus Normal. *Jurnal Indonesia Medicus Veterinus* 1(4) : 483-491.
- Ridwan, E. 2013. Etika Pemanfaatan Hewan Percobaan Penelitian Kesehatan. *Jurnal Indo Med Assoc* 63(3) : 112-116.
- SAHB School Of Anatomy And Human Biology. 2009. Blue Histologygastrointestinal. The University Of Western Australia. [Http://Www.Lab.Anhb.Uwa.Edu.Au](http://Www.Lab.Anhb.Uwa.Edu.Au) [1 November 2018].
- Saodi, M., Badraoui R., Bouhajja, H., Ncir, M., Rahmouni, F., Grati, M., Jamoussi, K. and Al Feki, A. 2017. Deltametrin Induced Oxidative Stress in Kidney and Brain of Rats: Protective Effect of Artemisia Campestris Essential Oil. *Biomedicine and Pharmacoterapy Journals* 94(2) : 955-963
- Shackelford and Elwell. 1999. *Small and Large Intestine and Mesentary. Pathology of the Mouse Reference and Atlas*. Vienna: Cache River Press. Hlm. 81-115.
- Sharp, P. dan Villano, J. 2013, *The Laboratory Rat*, Edisi 2. CRC Press, California.
- Silbernagl, S. dan Florian L. 2013. Teks dan Atlas Berwarna Patofisiologi. EGC. Jakarta.
- 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.
- Smith, J. B. dan S. Mangkoewidjojo. 1988. *Pemeliharaan, Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis*. UI Press. Jakarta. hlm. 37- 57.
- Soetjipto, Hartati dan E. B. Elok. 2013. Pengaruh Metoda Penyulingan Terhadap Komposisi Minyak Atsiri Daun “Baru Cina” (*A. vulgaris*). *Kimia Analitik*. ISBN 979363167-8.

- Suarsana, Nyoman, Widiastuti, Kayati S. dan Retno, T. 2012. Pengaruh Pemberian Isoflavon terhadap Peroksidasi Lipid pada Hati Tikus Normal. *Jurnal Indonesia Medicus Veterinus* (4): 483–491.
- Sudarmo, S. 2007. *Pestisida*. Kanisius. Yogyakarta.
- Suryanto, E., Momuat L. I., Taroreh M. dan Wehantouw F. 2011. Potensi Senyawa Polifenol Antioksidan dari Pisang Groho (*Musa sapiens* sp.). *Jurnal Agritech* 31(4) : 289-296.
- Sutari, V.T., Sugito, Aliza D. dan Asmarida. 2013. Kadar Malondialdehid (MDA) pada Jaringan Hati Ikan Nila (*Oreochromis Niloticus*) yang Diberi Cekaman Panas dan Pakan Suplementasi Tepung Daun Jaloh (*Salix Tetrasperma Roxb*). *Jurnal Medika Veterina* 7(1) : 35-38.
- Tamat, S. R., T. Wikanta dan L. S. Maulina. 2007. Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas Senyawa Bioaktif dari Ekstrak Rumput Laut Hijau *Ulva reticulata* Forsskal. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 5(1) : 31-36.
- Ujiantari, N. S. O., Sudarmanto B. S. dan Nurrochmad A. 2016. Kajian Molecular Docking Insektisida Piretroid terhadap Reseptor Hormon Reproduksi (Reseptor Estrogen, Androgen, dan Progesteron). Prosiding Rakernas Ikatan Apoteker Indonesia. Jakarta. 2541-0474
- Widyaningrum, H. dan Rahmat, A. 2011. *Kitab Tanaman Obat Nusantara*. Medpress. Yogyakarta.
- Yanuartono, Purmaningsih, H., Nururozi, A. dan Indrajulianto. 2017. Saponin: Dampak Terhadap Ternak (Ulasan). *Jurnal Peternakan Sriwijaya* 6 (2) : 79-90.
- Yunus, M. 2001. Pengaruh Antioksidan Vitamin C Terhadap MDA Eritrosit Tikus Wistar Akibat Latihan Anarobik. *Jurnal Pendidikan Jasmani* 1 : 9-16.
- Yustika, A. R., Aulanni A. M. dan Sasangka P. 2013. Kadar Malondialdehid (MDA) dan Gambaran Histologi pada Ginjal Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Pasca Induksi Cylosporine-A. *Jurnal Kimia Student* 1(2) : 222-228.
- Werdhasari, A. 2014. Peran Antioksidan Bagi Kesehatan. *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia* 3(2) : 59-68.
- Widayati, E. 2010. Oksidasi Biologi, Radikal Bebas, dan Antioksidan. Bagian Kimia Biokimia FK Unissula Semarang. <https://media.neliti.com/media/publications/220034-oxidasi-biologi-radikal-bebas-dan-antiox.pdf> [13 November 2018].
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas. Potensi dan Aplikasinya dalam Kesehatan*. Edisi Pertama. Kanisius. Yogyakarta. Hlm. 18-19.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Sertifikat Laik Etik



**KOMISI ETIK PENELITIAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK
"ETHICAL CLEARENCE"**

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

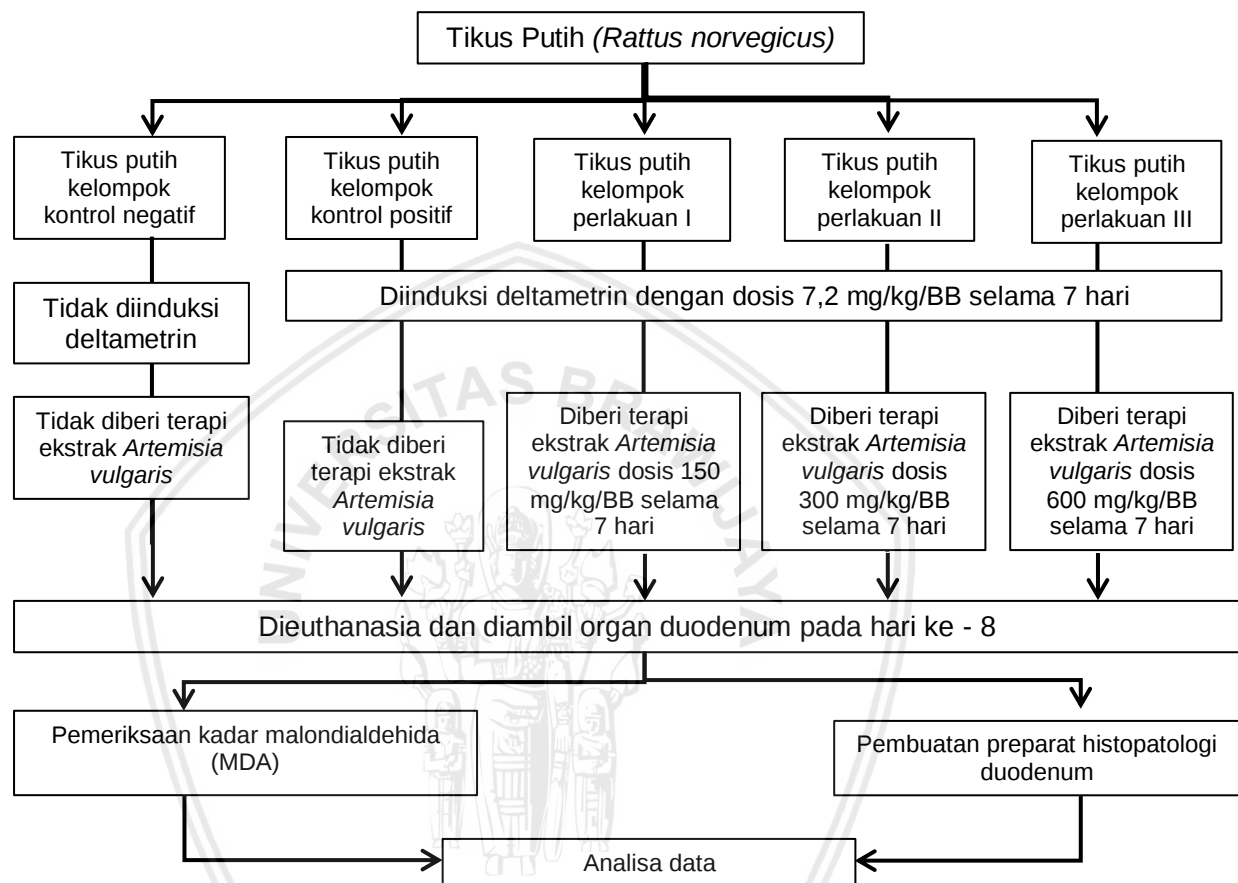
Malang, 9 Juli 2018

Ketua Komisi Etik Penelitian
Universitas Brawijaya

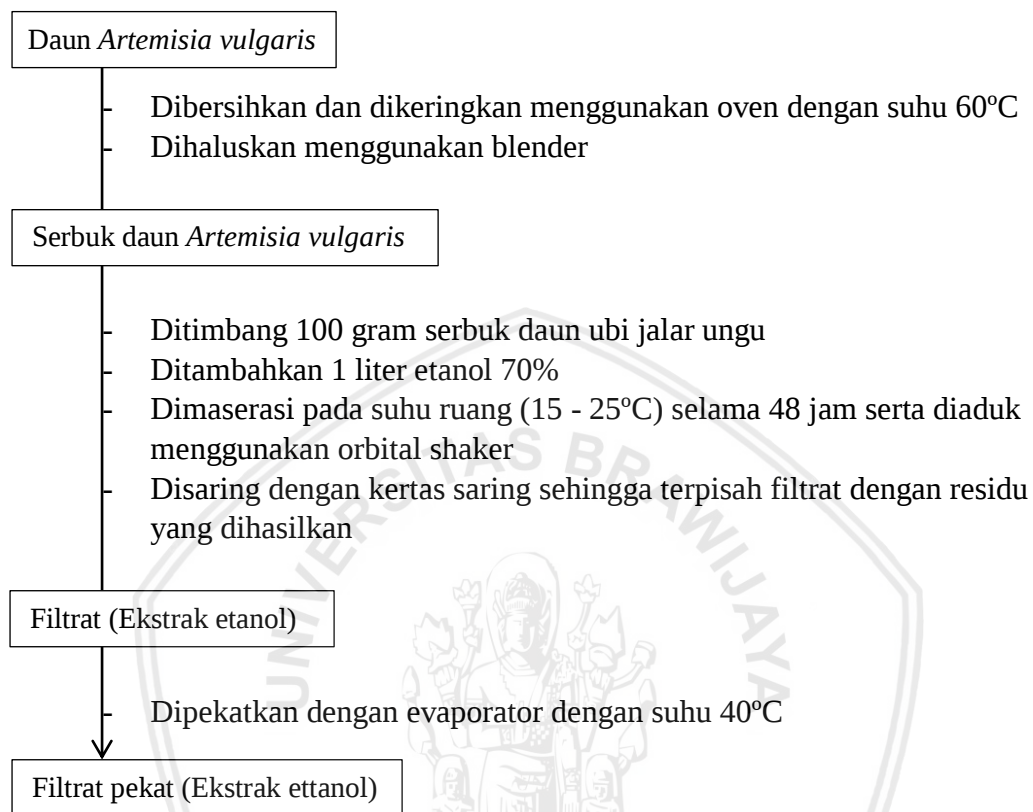


Prof. Dr. drh. Aulanni'am, DES.
NIP. 19600903 198802 2 001

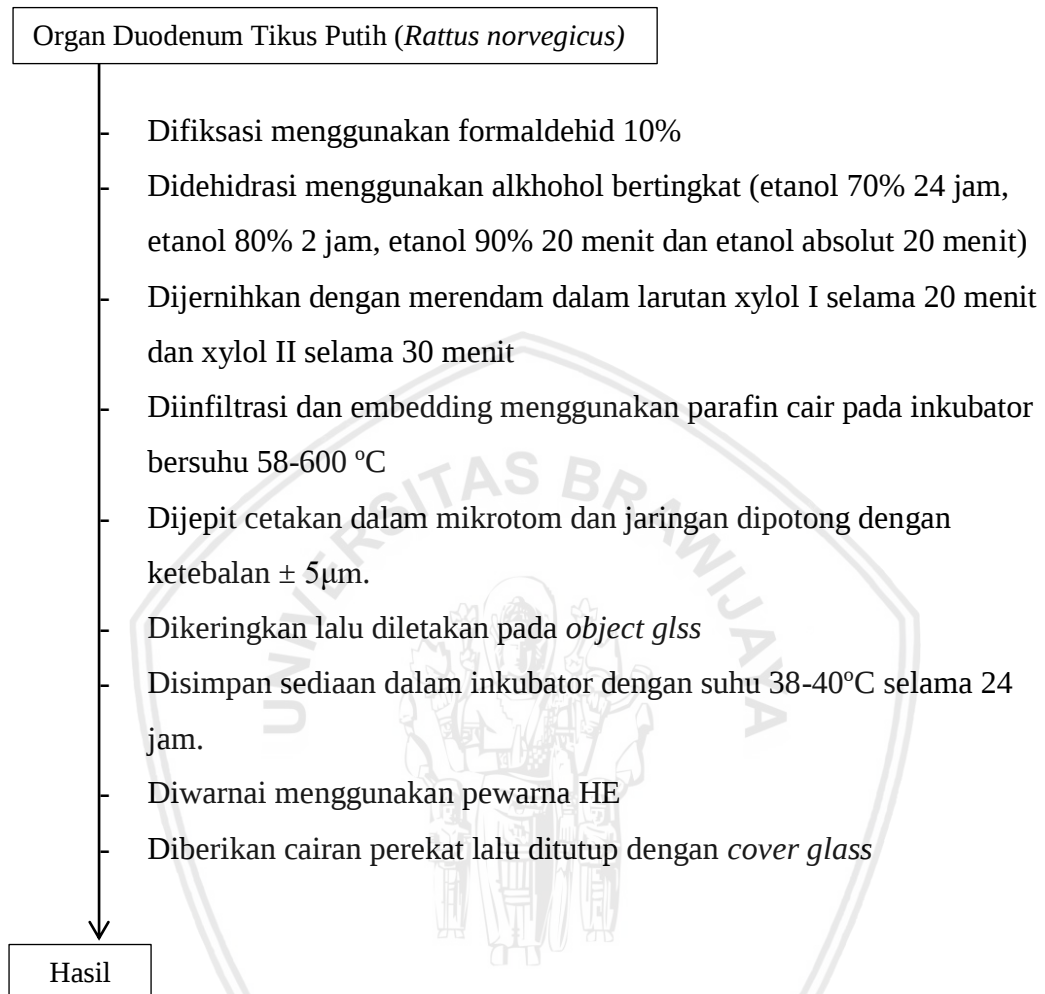
Lampiran 2. Tahapan Penelitian



Lampiran 3. Pembuatan Ekstrak Daun *A. vulgaris*



Lampiran 4. Pembuatan Histopatologi Duodenum



Lampiran 5. Pengukuran Kadar MDA

Organ Duodenum Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

ditimbang dengan berat 0,2 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. Perhitungan dosis

6.1 Perhitungan dosis deltametrin

Deltametrin yang digunakan adalah deltamed dengan kandungan deltametrin 25 mg/ml. yang diencerkan dengan pengenceran 20 % (2 ml deltamed ditambahkan 8ml minyak jagung). Dengan pengenceran 20% didapatkan sediaan dengan kandungan deltametrin sebesar 5 mg/ml sehingga:

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

$$\begin{aligned}\text{Dosis yang diperlukan} &= 0,19 \times 7,2 \\ &= 1,368 \\ &= 1,37 \text{ mg}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Volume yang diberikan} &= 1,37 / 25 \times 5 \\ &= 0,274 \\ &= 0,27 \text{ ml}\end{aligned}$$

Dalam 0,27 ml sediaan mengandung 1,35 mg deltametrin

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

$$\begin{aligned}\text{Dosis yang diperlukan} &= 0,170 \times 7,2 \\ &= 1,224 \\ &= 1,22 \text{ mg}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Volume yang diberikan} &= 1,22 / 25 \times 5 \\ &= 0,244 \\ &= 0,24 \text{ ml}\end{aligned}$$

Dalam 0,24 ml sediaan mengandung 1,2 mg deltametrin

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

$$\begin{aligned}\text{Dosis yang diperlukan} &= 0,188 \times 7,2 \\ &= 1,353 \\ &= 1,35 \text{ mg}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Volume yang diberikan} &= 1,35 / 25 \times 5 \\ &= 0,27 \text{ ml}\end{aligned}$$

Dalam 0,27 ml sediaan mengandung 1,35 mg deltametrin

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

$$\begin{aligned}\text{Dosis yang diperlukan} &= 0,177 \times 7,2 \\ &= 1,274 \\ &= 1,27 \text{ mg} \\ \text{Volume yang diberikan} &= 1,27 / 25 \times 5 \\ &= 0,254 \\ &= 0,25 \text{ ml}\end{aligned}$$

Dalam 0,25 ml sediaan mengandung 1,27 mg deltametrin

6.2 Perhitungan dosis Ekstrak *A. vulgaris*

Ekstrak *A. vulgaris* diencerkan dengan pengenceran 10% (1 g ekstrak ditambahkan 9 ml minyak jagung). Dengan pengenceran 10% didapatkan sediaan dengan kandungan ekstrak *A. vulgaris* 100 mg/ml sehingga:

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

$$\begin{aligned}\text{Dosis yang diperlukan} &= 0,19 \times 150 \\ &= 28,5 \text{ mg} \\ \text{Volume yang diberikan} &= 28,5 / 100 \times 1 \\ &= 0,285 \\ &= 0,28 \text{ ml}\end{aligned}$$

Dalam 0,28 ml sediaan mengandung 28 mg ekstrak *A. vulgaris*

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

$$\begin{aligned}\text{Dosis yang diperlukan} &= 0,170 \times 300 \\ &= 51 \text{ mg} \\ \text{Volume yang diberikan} &= 51 / 100 \times 1 \\ &= 0,51 \text{ ml}\end{aligned}$$

Dalam 0,51 ml sediaan mengandung 51 mg ekstrak *A. vulgaris*

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

$$\begin{aligned}\text{Dosis yang diperlukan} &= 0,188 \times 600 \\ &= 112,8 \text{ mg} \\ \text{Volume yang diberikan} &= 112,8 / 100 \times 1 \\ &= 1,128 \\ &= 1,12 \text{ ml}\end{aligned}$$

Dalam 1,12 ml sediaan mengandung 1,12 mg ekstrak *A. vulgaris*

Lampiran 7. Perhitungan Statistika Kadar MDA Duodenum

7.1 Uji Normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		MDA
N		25
Normal Parameters ^a	Mean	2.2685E2
	Std. Deviation	3.34639E1
Most Extreme Differences	Absolute	.267
	Positive	.267
	Negative	-.137
Kolmogorov-Smirnov Z		1.335
Asymp. Sig. (2-tailed)		.057

a. Test distribution is Normal.

Hasil uji normalitas menunjukkan nilai signifikan (p) sebesar 0,057, oleh karena nilai $p > 0,05$ maka H_0 diterima dan dapat disimpulkan bahwa data yang digunakan mempunyai distribusi yang tersebar dengan normal.

7.2 Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

MDA duodenum

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.795	4	20	.542

Hasil uji homogenitas varian menunjukkan nilai dari levene test sebesar 0,795 dengan nilai signifikan (p) sebesar 0,542. Oleh karena nilai $P > 0,05$ maka H_0 diterima dan dapat disimpulkan bahwa data yang digunakan mempunyai ragam/varian yang homogen.

Hasil dari uji normalitas dan uji homogenitas telah memenuhi asumsi sehingga pengujian dapat dilanjutkan menggunakan ANOVA.

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
k-	5	200.780	11.3147	5.0601	186.731	214.829	185.8	215.2
k+	5	269.680	12.0325	5.3811	254.740	284.620	251.3	284.7
p1	5	204.720	5.4811	2.4512	197.914	211.526	196.9	212.4
	5	206.880	6.7769	3.0307	198.465	215.295	195.8	212.4
p3	5	243.300	7.0551	3.1552	234.540	252.060	236.9	254.7
Total	25	225.072	28.7816	5.7563	213.192	236.952	185.8	284.7

ANOVA

Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	18283.95113	4	4570.987781	57.31956488	1.13 ¹⁰	2.866081
Within Groups	1594.913636	20	79.74568179			
Total	19878.86476	24				

7.3 Uji One-Way ANOVA

- Nilai $F > F_{crit}$, dengan demikian H_0 ditolak atau H_1 Diterima
- Nilai $p < 0,05$, dengan demikian H_0 ditolak, artinya terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok

7.4 Uji Tukey

Mda duodenum

Tukey HSD

kelompok	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
k-	5	200.780	243.300	269.680
p1	5	204.720		
p2	5	206.880		
p3	5			
k+	5			
Sig.		.814	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.



Lampiran 8. Dokumentasi



Penimbangan ekstrak



Pengenceran ekstrak



Induksi deltametrin intraperitoneal



Pengambilan organ duodenum

