

**EFEK PREVENTIF EKSTRAK ETANOL DAUN ARTEMISIA
VULGARIS TERHADAP KADAR MALONDIALDEHIDE
(MDA) DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI LAMBUNG
PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) YANG DIINDUKSI
DELTAMETHRIN**

SKRIPSI

Oleh:

MUHAMMAD IRSYAD BAIHAQI WARDHANA
155130101111027



PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG

2020

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

**Efek Preventif Ekstrak Etanol Daun *Artemisia vulgaris* Terhadap
Kadar Malondialdehyde (MDA) dan Gambaran Histopatologi Lambung
Pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Yang Diinduksi Deltamethrin**

Oleh:

Muhammad Irsyad Baihaqi Wardhana
155130101111027

Pembimbing I

Pembimbing II

Dra. Anna Roosdiana, M.App.Sc
NIP. 195807111992032002

drh. Dian Vidiastuti M.Si
NIP. 198202072009122003

Mengetahui,

Dekan Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Brawijaya

Dr. Ir. Sudarminto Setyo Yuyono, M.App.Sc
NIP. 196312161988031002

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Muhammad Irsyad Baihaqi Wardhana

NIM : 155130101111027

Program Studi : Pendidikan Dokter Hewan

Penulis Skripsi berjudul :

Efek Preventif Ekstrak Etanol Daun *Artemisia vulgaris* Terhadap Kadar Malondialdehyde (MDA) dan Gambaran Histopatologi Lambung Pada 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 termaktub di isi dan tertulis di daftar pustaka.
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, 10 Januari 2020

Yang menyatakan,

Muhammad Irsyad B. W.

NIM. 155130101111027

Efek Preventif Ekstrak Etanol Daun *Artemisia vulgaris* Terhadap Kadar Malondialdehyde (MDA) dan Gambaran Histopatologi Lambung Pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Yang Diinduksi Deltamethrin

ABSTRAK

Deltamethrin merupakan insektisida golongan piretroid yang dapat menyebabkan stress oksidatif yang berakibat pada gangguan kesehatan sistem pencernaan, pernafasan, dan saraf apabila terjadi paparan dalam jangka waktu yang lama. Kemampuan untuk menetralkan senyawa oksidan sudah dimiliki oleh tubuh namun pada keadaan stress oksidatif diperlukan antioksidan eksogen. Daun *Artemisia vulgaris* memiliki bioaktivitas sebagai antioksidan, antiinflamasi, antikarsinogenik, antimutagenik, dan antibakteri. Efek toksik akibat deltamethrin diharapkan dapat dicegah oleh aktivitas antioksidan *Artemisia vulgaris*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek preventif ekstrak daun *Artemisia vulgaris* terhadap lambung yang diinduksi dengan deltamethrin. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap dengan 25 tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar jantan umur 8-12 minggu dengan berat badan 150-200 gram yang diaklimatisasi selama 7 hari dan dibagi menjadi 5 kelompok, yaitu Kelompok kontrol negatif (kontrol negatif), Kelompok kontrol positif (kontrol positif yang diinduksi 7,2 mg/kg BB deltamethrin), P1, P2, dan P3 merupakan kelompok yang diinduksi deltamethrin dan diberikan ekstrak daun *Artemisia vulgaris* dengan dosis masing-masing 150 mg/kg BB, 300 mg/kg BB, 600 mg/kg BB tikus putih. Kadar MDA ditentukan dengan pereaksi TBA secara spektrofotometri. Data yang diperoleh dianalisis dengan metode statistik One- Way ANOVA dilanjutkan dengan uji Tukey. Pembuatan histopatologi lambung menggunakan metode pewarnaan HE. Pengamatan perubahan histopatologi lambung dianalisa secara deskriptif. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak daun *Artemisia vulgaris* mampu mencegah kenaikan kadar MDA lambung pada P1 (21,5%), P2 (20,3%), P3 (8%) dan mencegah kerusakan histopatologi lambung berupa erosi sel epitel mukosa lambung, infiltrasi sel radang, hemoragi, edema dan vasodilatasi pembuluh darah kapiler. Kesimpulan dari penelitian yaitu ekstrak daun *Artemisia vulgaris* mampu mencegah kenaikan kadar MDA dan kerusakan histopatologi lambung dengan dosis optimal 150 mg/kgBB.

Kata Kunci : *Artemisia vulgaris*, Deltamethrin, MDA, Histopatologi lambung.

The Preventive Effect of Ethanolic Extract of *Artemisia vulgaris* Leaf on MDA Levels and Gastric Histopathological of White Rat Induced by Deltamethrin

ABSTRACT

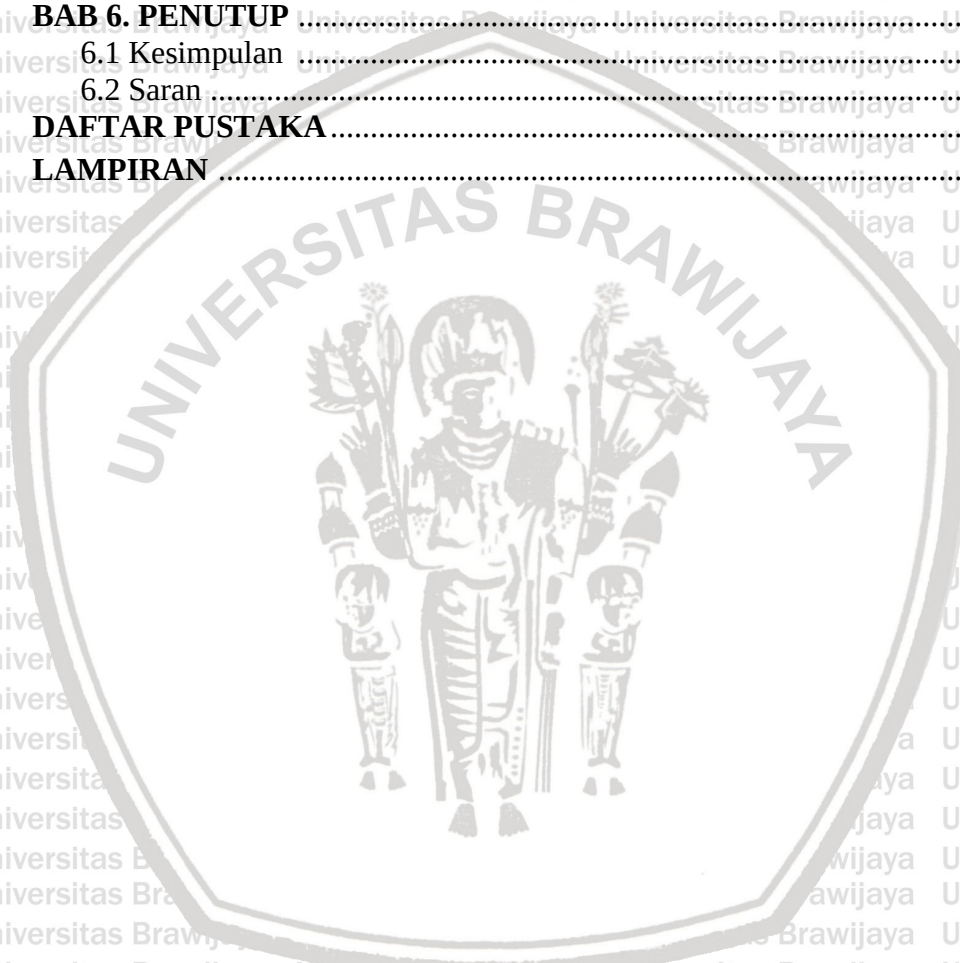
Deltamethrin is a pyrethroid insecticide that can cause oxidative stress which results in digestive, respiratory, and nerve health problems when long-term exposure occurs. The ability to neutralize oxidant compounds is already possessed by the body but in oxidative stress conditions exogenous antioxidants are needed. *Artemisia vulgaris* leaves have bioactivity as an antioxidant, anti-inflammatory, anticarcinogenic, antimutagenic, and antibacterial. The toxic effects of deltamethrin are expected to be prevented by the antioxidant activity of *Artemisia vulgaris*. This study aimed to determine the preventive effect of *Artemisia vulgaris* leaf extract on the stomach induced with deltamethrin. This study used a completely randomized design with 25 male white rats (*Rattus norvegicus*) strains aged 8-12 weeks with a body weight of 150-200 grams acclimatized for 7 days and divided into 5 groups, namely negative control, control positive (induced 7.2 mg / kg BW deltamethrin), P1, P2, and P3 were deltamethrin induced groups and receive *Artemisia vulgaris* leaf extract with a dose of 150 mg / kg BW, 300 mg / kg BW, 600 mg / kg BW white mouse. MDA levels was determined by TBA reagen with spectrophotometry. The data obtained were analyzed by the One-Way ANOVA statistical method then continued by Tukey test. The preparation of gastric histopathology uses the HE coloring method. Observation of gastric histopathological changes was analyzed descriptively. The result of this research is show that *Artemisia vulgaris* leaf's extract can prevent increase of the MDA level at P1 (21,5 %), P2 (20,3%), P3 (8%) and prevent the histopathology damage of gastric such as gastric mucosal epithelial cell erosion, infiltration of inflammatory cell, haemorrhage, oedema, and vasodilatation of capillary blood vessels. The conclusion of this research is showed that *Artemisia vulgaris* leaf's extract can prevent the increase in MDA levels and prevent the hsitopathology damage of gastric with the best dosage in 150 mg/kg body weight.

Keywords : *Artemisia vulgaris*, Deltamethrin, MDA, Gastric histopathological .

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG	xiii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Batasan Masalah	4
1.4 Tujuan Penelitian	6
1.5 Manfaat Penelitian	6
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Pestisida	7
2.1.1 Deltamethrin	7
2.1.2 Toksisitas Pestisida	8
2.2 Histologi Lambung	9
2.3 Patofisiologi	11
2.4 <i>Reactive Oxygen Species</i> (ROS)	12
2.5 Antioksidan	13
2.6 <i>Artemisia vulgaris</i>	13
2.7 Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	15
BAB 3. KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN	17
3.1 Kerangka Konsep	17
3.2 Hipotesis Penelitian	19
BAB 4. 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
4.5 Prosedur Penelitian	22
4.5.1 Aklimatisasi Hewan Coba	22
4.5.2 Ekstraksi Daun Baru Cina (<i>A. vulgaris</i>)	22
4.5.3 Induksi Deltamethrin	23
4.5.4 Pengambilan Organ Lambung	24

4.5.5 Pengukuran Kadar MDA	24
4.5.6 Pembuatan Preparat Histopatologi Lambung	25
4.5.7 Analisa Data.....	27
BAB 5. HASIL DAN PEMBAHASAN	28
5.1 Pengaruh Terapi Ekstrak <i>A.vulgaris</i> terhadap Jumlah Radikal Bebas di Dalam Tubuh Berdasarkan Kadar MDA Lambung Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>) yang Diinduksi Deltamethrin	28
5.2 Pengaruh Terapi Ekstrak <i>A.vulgaris</i> terhadap Gambaran Histopatologi Lambung Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>) yang Diinduksi Deltamethrin	32
BAB 6. PENUTUP	36
6.1 Kesimpulan	36
6.2 Saran	36
DAFTAR PUSTAKA	37
LAMPIRAN	42



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1 Klasifikasi pestisida berdasarkan toksisitasnya	9
5.1 Rata-rata Kadar MDA pada organ lambung tikus putih	28

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Struktur kimia deltamethrin	8
2.2 Gambaran histologi normal lambung bagian mukosa fundus	11
2.3 Daun <i>Artemisia vulgaris</i>	14
2.4 Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>) strain wistar	16
5.1 Mekanisme reaksi antioksidan menjadi prooksidan	31
5.2 Gambaran Histopatologi fundus lambung tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>) perbesaran 40x dan 400x dengan pewarnaan HE	32

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema Penelitian	41
2. Perhitungan Dosis	42
3. Keterangan Kelaikan Etik	44
4. Pembuatan Ekstrak <i>Artemisia vulgaris</i>	45
5. Pembuatan Preparat Histologi Lambung	46
6. Pembuatan Homogenat dan Pengukuran Kadar MDA	47
7. Analisa Statistik Kadar MDA Organ Lambung menggunakan SPSS2.2	48

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG

<u>Simbol/Singkatan</u>	<u>Keterangan</u>
%	Persen
<	Kurang dari
>	Lebih dari
BB	Berat badan
gr	Gram
mg	milligram
kg	kilogram
ml	Mililiter
mm	Milimeter
ANOVA	<i>Analisis Of Varian</i>
Cat	Katalase
Gpx	<i>Glutathione peroksidase</i>
MDA	Malondialdehid
HE	Hematoksilin Eosin
IP	Intraperitoneal
PFA	Paraformaldehyde
ROS	<i>Reactive Oxygen Spesies</i>
SOD	Superdioksida Dismutase
O ₂ ⁻	Anion Superoksida
DNA	Deoxyribo Nucleic Acid
LD50	Lethal Dose 50%
QE	Quercetin Equivalent
IC50	Inhibitory Concentration 50%
TBA	Thiobarbituric Acid
H ₂ O	Air
TCA	Trichloroacetic
P1	Perlakuan 1
P2	Perlakuan 2
P3	Perlakuan 3

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pestisida berasal dari kata pest = hama dan cida = pembunuh merupakan suatu bahan kimia yang digunakan untuk membunuh atau mengendalikan hama. Beberapa jenis dari pestisida yaitu insektisida, herbisida, bakterisida, rodentisida dan insektisida. Insektisida digunakan untuk upaya pengendalian populasi vektor penyakit oleh pemerintah maupun masyarakat (Prasetyowati *et al.*, 2016). Dampak penggunaan pestisida yang tidak aman dan berlebihan bagi kesehatan dapat terjadi akibat kontak langsung yaitu berupa keracunan akut dan kronis. Gejala keracunan akut pestisida seperti sakit kepala, mual, muntah, bahkan beberapa pestisida dapat menimbulkan iritasi kulit dan kebutaan. Gejala keracunan kronis dalam jangka waktu yang lama dapat menimbulkan gangguan kesehatan berupa, iritasi mata dan kulit, kanker, keguguran, cacat pada janin, serta gangguan syaraf, hati, ginjal dan pernafasan (Annida, 2018).

Salah satu jenis insektisida yaitu deltamethrin, merupakan insektisida golongan piretroid mempunyai sifat sebagai iritan, tidak mudah teradsorpsi kulit, tetapi mudah diadsorpsi melalui membran pencernaan dan pernafasan (Narwanti *et al.*, 2012). Deltamethrin memiliki kemampuan dalam membunuh serangga secara cepat dengan menghambat inaktivasi kanal sodium yang menyebabkan depolarisasi membran saraf yang berujung pada kerusakan sistem saraf pusat (Saoudi *et al.*, 2017). Deltamethrin dianggap tidak berbahaya bagi mamalia, namun beberapa kasus didapatkan bahwa deltamethrin memiliki toksisitas bagi mamalia, non

mamalia, dan satwa liar (Rehman *et al.*, 2014). Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) memperkirakan setiap tahun terjadi sekitar 25 juta kasus keracunan pestisida atau sekitar 68.493 kasus setiap hari (Raini, 2007).

Deltametrin yang masuk ke dalam tubuh melalui intraperitoneal akan dimetabolisme oleh hepar melalui hidrolisis ikatan ester dan jalur oksidasi oleh sitokrom P-450, dimana oksidasi oleh sitokrom P-450 nantinya 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 (O_2^-) (Elmaghraby, 2007). Namun, pemberian deltamethrin intraperitoneal secara berulang disertai dengan dosis yang tinggi dapat mengubah parameter biokimiawi, menurunkan kandungan sitokrom P450, status antioksidan berupa peningkatan jumlah anion superoksida (O_2^-) di dalam tubuh yang berkorelasi dengan perubahan histopatologis jaringan pada organ lambung (Manna *et al.*, 2005).

Anion superoksida (O_2^-) merupakan salah satu dari senyawa radikal bebas dari molekul *Reactive Oxygen Spesies* (ROS). Molekul ROS adalah molekul yang tidak berpasangan oleh karena itu sangat tidak stabil dan sangat reaktif. Berbagai jaringan yang dapat mengalami kerusakan akibat ROS diantaranya adalah Deoxyribo Nucleic Acid (DNA), lipid, dan protein. Interaksi ROS dengan basa dari DNA dapat merubah struktur kimia dan sel somatik DNA sehingga terjadi mutasi gen dan kanker. Reaksi ROS terhadap lipid tidak jenuh membran sel dan plasma lipoprotein menyebabkan pembentukan MDA (malondialdehyde) yang secara kimia dapat memodifikasi protein dan basa asam nukleat (Widayati, 2010). Pada

keadaan tertentu, produksi radikal bebas atau senyawa oksigen reaktif melebihi sistem pertahanan tubuh disebut sebagai stres oksidatif yang akan memicu kerusakan jaringan (Sinaga, 2017). Pengukuran MDA dapat dijadikan sebagai perkiraan aktivitas radikal bebas dan penanda stress oksidatif (Karin, 2011).

Bangsa Indonesia telah memanfaatkan tanaman berkhasiat obat sebagai salah satu upaya untuk menanggulangi masalah kesehatan. Salah satunya yaitu *Artemisia vulgaris* atau biasa disebut tumbuhan baru cina yang mempunyai aktivitas antioksidan dan antibakteri (Bangol *et al.*, 2014) dan bermanfaat untuk mengobati nyeri haid, obat kuat, obat batuk, obat kejang, obat mulas, menambah nafsu makan (Silvany, 2013). Berdasarkan laporan penelitian yang pernah dilakukan ekstrak daun tumbuhan Baru Cina (*Artemisia vulgaris*) efektif untuk mencegah dan mengurangi kerusakan jaringan hati dengan dosis yang diberikan sebanyak 150-600mg/KgBB pada tikus yang terpapar pestisida (Gilani *et al.*, 2005). Namun, penelitian *Artemisia vulgaris* terhadap organ lambung belum pernah dilakukan.

Artemisia vulgaris memiliki senyawa saponin sebagai antibakteri, flavonoid sebagai antioksidan, polifenol antikarsinogenik dan antimutagenik (Judzentiene dan Buzelyte, 2006). Menurut Windari (2017) flavonoid yang masuk ke dalam tubuh akan memiliki kemampuan untuk memodulasi inflamasi sel, memodulasi enzim, memodulasi gen, sebagai antioksidan untuk menangkap radikal bebas, menghambat produksi ROS (*Reactive Oxygen Species*), sedangkan polifenol dapat memberikan faktor perlindungan terhadap membran mukosa lambung.

Pengamatan terhadap gambaran histopatologi organ lambung juga dilakukan untuk mengetahui perubahan yang terjadi pada tingkat akibat radikal bebas oleh

pestisida deltamethrin dengan dilakukan pewarnaan Hematoksilin Eosin (HE) setelah itu sediaan jaringan diamati dengan mikroskopik cahaya (Baharudin *et al.*, 2013).

Studi penelitian *A. vulgaris* pada organ lambung belum pernah dilakukan, maka penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan *A. vulgaris* untuk mencegah dan mengurangi efek toksik dari deltametrin yang mengakibatkan stress oksidatif dan kerusakan pada lambung dengan aktivitas antioksidan yang terkandung dalam daun *A. vulgaris*. Penelitian ini akan meneliti mengenai efek preventif ekstrak daun *A. vulgaris* terhadap kadar *malondialdehyde* (MDA) dan gambaran histopatologi lambung 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* dalam mencegah kenaikan kadar malondialdehyde (MDA) organ lambung tikus (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi deltamethrin?
2. Bagaimana pengaruh pemberian ekstrak daun *A. vulgaris* pada gambaran histopatologi organ lambung yang diinduksi deltamethrin?

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. Deltamethrin yang digunakan dalam penelitian ini adalah deltamethrin yang diperoleh dari VDB Pet Shop kota Malang, dengan dosis 7,2 mg/KgBB secara IP untuk tikus jantan (Saoudi *et al.*, 2017).
4. Pembuatan ekstrak daun baru cina (*Artemisia vulgaris*) dilakukan menggunakan metode maserasi berdasarkan penelitian (Handayani, 2013). Dosis yang diberikan 150 mg/KgBB, 300 mg/KgBB, dan 600 mg/KgBB (Gilani *et al.*, 2005).
5. Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah kadar malondialdehid (MDA) yang diukur secara spektrofotometri menggunakan reagen TBA dan gambaran histopatologi lambung dengan pewarnaan HE.
6. Histopatologi lambung yang diamati yaitu meliputi infiltrasi sel radang, vasodilatasi pembuluh darah, dan erosi sel epitel dengan menggunakan pewarnaan *haematoxylin eosin* (HE) dan diamati dengan mikroskop cahaya (Lesmana *et al.*, 2013). Pembuatan histopatologi dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

1.4 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui kemampuan daun *A. vulgaris* dalam mencegah kenaikan kadar MDA (Malondialdehyde) lambung tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi deltamethrin.
2. Mengetahui kemampuan daun *A. vulgaris* dalam mempengaruhi hasil histopatologi lambung tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi deltamethrin.

1.5 Manfaat penelitian

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

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pestisida

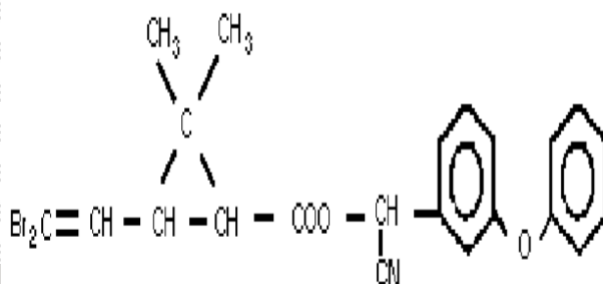
Pada dasarnya, pestisida adalah bahan racun namun dapat bermanfaat apabila cara penggunaannya dilakukan secara tepat dan benar. Kata pestisida berasal dari Bahasa Inggris yaitu Pesticides dengan asal suku kata pest berarti hama, sedangkan cide berarti membunuh. Secara umum, pestisida adalah semua zat kimia dan bahan lain yang mencakup jasad renik yang digunakan untuk mengendalikan organisme pengganggu yang dapat merugikan manusia (Annida, 2018)

Beberapa jenis dari pestisida yaitu insektisida, herbisida, bakterisida, rodentisida dan insektisida. Insektisida digunakan untuk upaya pengendalian populasi vektor penyakit oleh pemerintah maupun masyarakat (Prasetyowati *et al.*, 2016). Menurut sifat kimianya insektisida dibagi menjadi 4 yaitu organoklor, organofosfat, karbamat dan piretroid (Raini, 2007). Pada penelitian ini, pestisida yang dikaji adalah deltamethrin yang merupakan golongan insektisida piretroid.

2.1.1 Deltamethrin

Deltamethrin merupakan jenis pestisida dari golongan pyrethroid sintetis tipe II yang bekerja dengan menghambat inaktivasi kanal sodium yang menyebabkan depolarisasi membran saraf yang berujung pada kerusakan sistem saraf pusat (Saoudi *et al.*, 2017). Deltamethrin memiliki sifat lipofilik, iritan, tidak mudah diadsorpsi oleh kulit, tetapi mudah diadsorpsi melalui membran pencernaan dan juga pernafasan (Narwanti *et al.*, 2012). Deltametrin memiliki nama kimia (S)-cyano-(3-phenoxyphenyl)

methyl-(1R,3R)-3-(2,2-dibromoethenyl)-2,2-dimethylcyclopropane-1-carboxylate.



Gambar 2.1 Struktur kimia deltamethrin (Rehman *et al*, 2014).

2.1.2 Toksisitas Pestisida

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

- Dosis. Dosis pestisida berpengaruh langsung terhadap bahaya toksisitas pestisida, dosis yang melebihi aturan membahayakan.
- Jangka waktu atau lamanya terpapar pestisida. Paparan yang berlangsung terus-menerus dan berlangsung lama dapat menimbulkan toksisitas kronik.
- 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 pada **Tabel 2.1** (Raini, 2007).

Tabel 2.1. Klasifikasi pestisida berdasarkan toksisitasnya

Klasifikasi		LD50 untuk tikus (mg/kg)			
		Oral		Dermal	
		Padat	Cair	Padat	Cair
I.	a. Sangat berbahaya sekali	<5	<20	<10	<40
	b. Sangat berbahaya	5-50	20-200	10-100	40-400
II.	c. Berbahaya	50-500	10-100	100-1000	400-4000
III.	d. Cukup berbahaya	>500	>2000	>1000	>4000

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

2.2 Histologi Lambung

Lambung secara histologis terdiri atas empat lapisan yakni lapisan mukosa, lapisan submukosa, lapisan muskularis, dan lapisan serosa (Price dan Wilson, 2006).

a. Lapisan mukosa

Lapisan mukosa merupakan lapisan yang tersusun atas lipatan-lipatan longitudinal yang disebut *rugae*. Mukosa lambung terdiri atas tiga lapisan yaitu lapisan epitel, lapisan propria, dan muskularis mukosa.

Mukosa lambung mempunyai satu lapis epitel silinder yang berlekuk-

lekuk (*foveolae gastricae*). Lamina propria terdiri atas anyaman serat retikuler, kolagen dan sedikit elastin serta anyaman fibrosa yang mengandung limfosit, eosinofil, sel mast, dan sel plasma (Bloom and Fawcett, 2002). Muskularis mukosa merupakan lapisan yang memisahkan mukosa dan submukosa yang masih merupakan lapisan otot polos (Junquiera and Carneiro, 2003). Lapisan muskularis mukosa terdiri atas lapisan otot polos tipis yang tersusun sirkuler di bagian dalam serta lapisan longitudinal di bagian luar (Eroschenko, 2003).

b. Lapisan submukosa

Lapisan submukosa tersusun atas jaringan alveolar longgar yang menghubungkan lapisan mukosa dan lapisan muskularis. Jaringan ini memungkinkan mukosa bergerak dengan gerakan peristaltik. Pada lapisan ini banyak mengandung pleksus saraf, pembuluh darah, dan saluran limfe (Price dan Wilson, 2006).

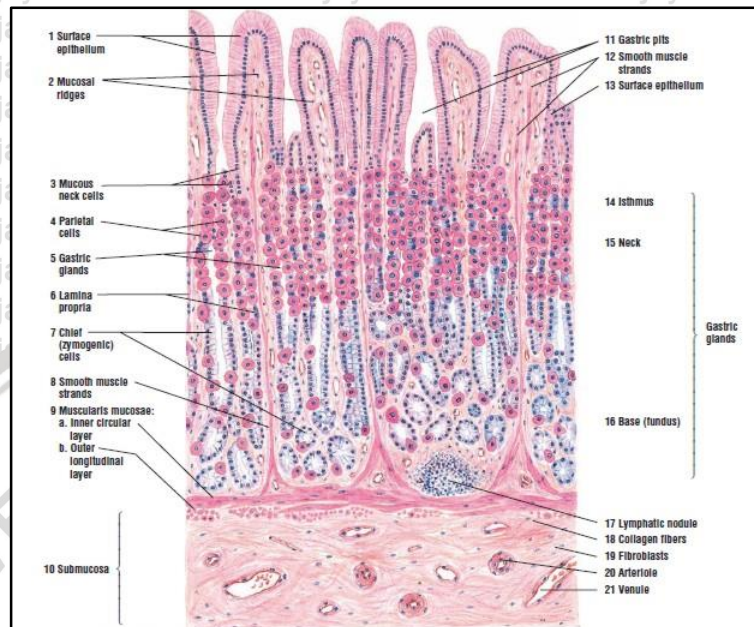
c. Lapisan muskularis

Lapisan muskularis tersusun atas tiga lapis otot polos. Bagian luar tersusun atas lapisan longitudinal, bagian tengah tersusun atas lapisan sirkuler, dan bagian dalam tersusun atas lapisan oblik (Price dan Wilson, 2006).

d. Lapisan serosa

Lapisan ini adalah lapisan tipis jaringan ikat yang menutupi lapisan muskularis. Merupakan lapisan paling luar yang termasuk bagian dari

peritonium visceralis. Jaringan ikat yang menutupi peritonium visceralis banyak mengandung sel lemak (Eroschenko, 2003).



Gambar 2.2 Histologi lambung bagian mukosa fundus (Junquiera dan Carneiro, 2003).

2.3 Patofisiologi

Deltametrin yang masuk ke dalam tubuh melalui intraperitoneal akan dimetabolisme oleh hepar melalui hidrolisis ikatan ester dan jalur oksidasi oleh sitokrom P-450, dimana oksidasi oleh sitokrom P-450 nantinya 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 (O_2^-) (Elmaghraby, 2007). Pemberian deltamethrin secara berulang disertai dengan dosis yang tinggi menyebabkan peningkatan jumlah anion superoksida (O_2^-) (Manna *et al.*, 2005). Anion superoksida (O_2^-) merupakan salah satu dari senyawa radikal bebas dari *Reactive Oxygen Spesies* (ROS). Pada saat produksi radikal bebas atau senyawa oksigen reaktif melebihi sistem pertahanan

tubuh, maka akan menyebabkan stres oksidatif yang akan memicu kerusakan jaringan (Sinaga, 2017).

2.4 Reactive Oxygen Species (ROS)

ROS merupakan representasi kategori molekul yang luas yang merupakan derivat oksigen radikal dan nonradikal yang berasal dari dalam maupun luar oleh tubuh. Derivat oksigen radikal meliputi ion OH, superoksida, nitric oxide, dan peroxy, sedangkan derivat oksigen yang non-radikal meliputi ozon, singlet oksigen, lipid peroksida, dan hydrogen peroksida. ROS adalah molekul yang tidak berpasangan dan oleh karena itu sangat tidak stabil dan sangat reaktif. Berbagai jaringan yang dapat mengalami kerusakan akibat ROS diantaranya adalah *Deoxyribo Nucleic Acid* (DNA), lipid, dan protein. Interaksi ROS dengan basa dari DNA dapat merubah struktur kimia dan sel somatik DNA sehingga terjadi mutasi gen dan kanker. Reaksi ROS terhadap lipid tidak jenuh membran sel dan plasma lipoprotein menyebabkan pembentukan MDA (*malondialdehyde*) yang secara kimia dapat memodifikasi protein dan basa asam nukleat (Widayati, 2010). Maka pengukuran MDA dapat dijadikan sebagai perkiraan aktivitas radikal bebas dan penanda stres oksidatif (Karin, 2011).

Malondialdehid (MDA) merupakan salah satu indikator yang paling sering digunakan sebagai indikasi peningkatan dan aktifitas radikal bebas di dalam sel (Ayuwandani, 2017). Menurut Halliwell dan Gutteridge (2007) kadar MDA yang tinggi menunjukkan peningkatan jumlah radikal bebas secara tidak langsung sedangkan penurunan kadar MDA menunjukkan status antioksidan yang tinggi (Winarsi, 2007).

2.5 Antioksidan

Berdasarkan sumbernya antioksidan dibagi menjadi antioksidan endogen, yaitu enzim-enzim yang bersifat antioksidan, seperti *Superoksida Dismutase* (SOD), katalase (Cat) dan glutathione peroksidase (Gpx), serta antioksidan eksogen yang didapat diluar tubuh atau dari makanan. Antioksidan yang berasal dari makanan berupa makanan yang memiliki vitamin C, E, pro vitamin A, organosulfur, *α -tocopherol*, *flavonoid*, *thymoquinone*, statin, niasin, *phycocyanin*, dan lain-lain (Werddhasari, 2014).

Antioksidan diperlukan untuk mencegah stres oksidatif. Stres oksidatif adalah kondisi ketidakseimbangan antara jumlah radikal bebas yang ada dengan jumlah antioksidan di dalam tubuh. Radikal bebas merupakan senyawa yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan dalam orbitalnya, sehingga bersifat sangat reaktif dan mampu mengoksidasi molekul di sekitarnya (lipid, protein, DNA, dan karbohidrat). Antioksidan bersifat sangat mudah dioksidasi, sehingga radikal bebas akan mengoksidasi antioksidan dan melindungi molekul lain dalam sel dari kerusakan akibat oksidasi oleh radikal bebas atau oksigen reaktif (Werddhasari, 2014).

2.6 *Artemisia vulgaris*

Tumbuhan Baru Cina (*Artemisia vulgaris*) merupakan tumbuhan liar yang tumbuh di lapangan terbuka. Tanaman ini tersebar luas di seluruh dunia yang terdiri dari lebih 800 spesies, dengan ketinggian 50-150 cm, berwarna hijau dan berbunga (Silvany, 2013). Di pulau Sumatera tumbuhan ini disebut tumbuhan Baru Cina, di Pulau Jawa disebut Suket Gajahan, di Maluku disebut Kolo. Tumbuhan ini dikenal

tidak hanya sebagai tanaman yang bisa dimakan, kebanyakan sebagai bumbu dan sebagai sumber obat-obatan tradisional menurut Judzientien dan Buzelyte (2006) spesies tumbuhan ini diladang, pinggir jalan dan lokasi pembuangan sampah yang tumbuh subur dan menyebar.

Menurut Iqbal *et al* (2014), taksonomi tumbuhan ini adalah sebagai berikut:

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

Ordo : Asterales

Familia : Asteraceae

Genus : *Artemisia*

Spesies : *Artemisia vulgaris*



Gambar 2.3 Daun *Artemisia vulgaris* (Silvany, 2013).

Daun tumbuhan Baru Cina (*Artemisia vulgaris*) berdasarkan laporan penelitian sebelumnya mengandung senyawa saponin, flavonoid, polifenol (Judzientiene dan Buzelyte, 2006). Saponin memiliki aktivitas antibakteri (Yanuartono, 2017). Flavonoid mempunyai sifat-sifat biologi antara lain sebagai

antioksidan, antimutagenik, dan antikarsinogenik menurut Rohdiana (2001) dan polifenol memiliki aktivitas antikarsinogenik dan antimutagenik (Suryanto *et al.*, 2011). Menurut Windari (2017) flavonoid yang masuk ke dalam tubuh akan memiliki kemampuan untuk memodulasi inflamasi sel, memodulasi enzim, memodulasi gen, sebagai antioksidan untuk menangkap radikal bebas, menghambat produksi ROS (*Reactive Oxygen Species*), sedangkan polifenol dapat memberikan faktor perlindungan terhadap membran mukosa lambung. Menurut penelitian yang pernah dilakukan oleh Meliala (2018), kadar flavonoid total dari *Artemisia vulgaris* yang diekstrak menggunakan etanol 96% yaitu sebesar 98,08 mgQE/g dan untuk aktivitas antioksidan diperoleh nilai IC 50 sebesar 93,94 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa tumbuhan binara mengandung flavonoid dan mempunyai aktivitas antioksidan yang sedang sampai kuat.

2.7 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Tikus yang digunakan sebagai hewan coba dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan strain Wistar. Tikus merupakan hewan mamalia yang paling umum digunakan sebagai hewan percobaan pada laboratorium, hal ini dikarenakan tikus memiliki beberapa sifat yang berbeda diantaranya yaitu: kesamaan fisiologis dengan manusia, siklus hidup yang relatif pendek, jumlah anak per kelahiran banyak, variasi sifat-sifatnya tinggi, mudah dalam penanganan serta resisten terhadap pakan yang mengandung kolesterol (Sirois, 2005).

Adapun taksonomi tikus menurut Besselsen (2004) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Animalia

Filum : Chordata

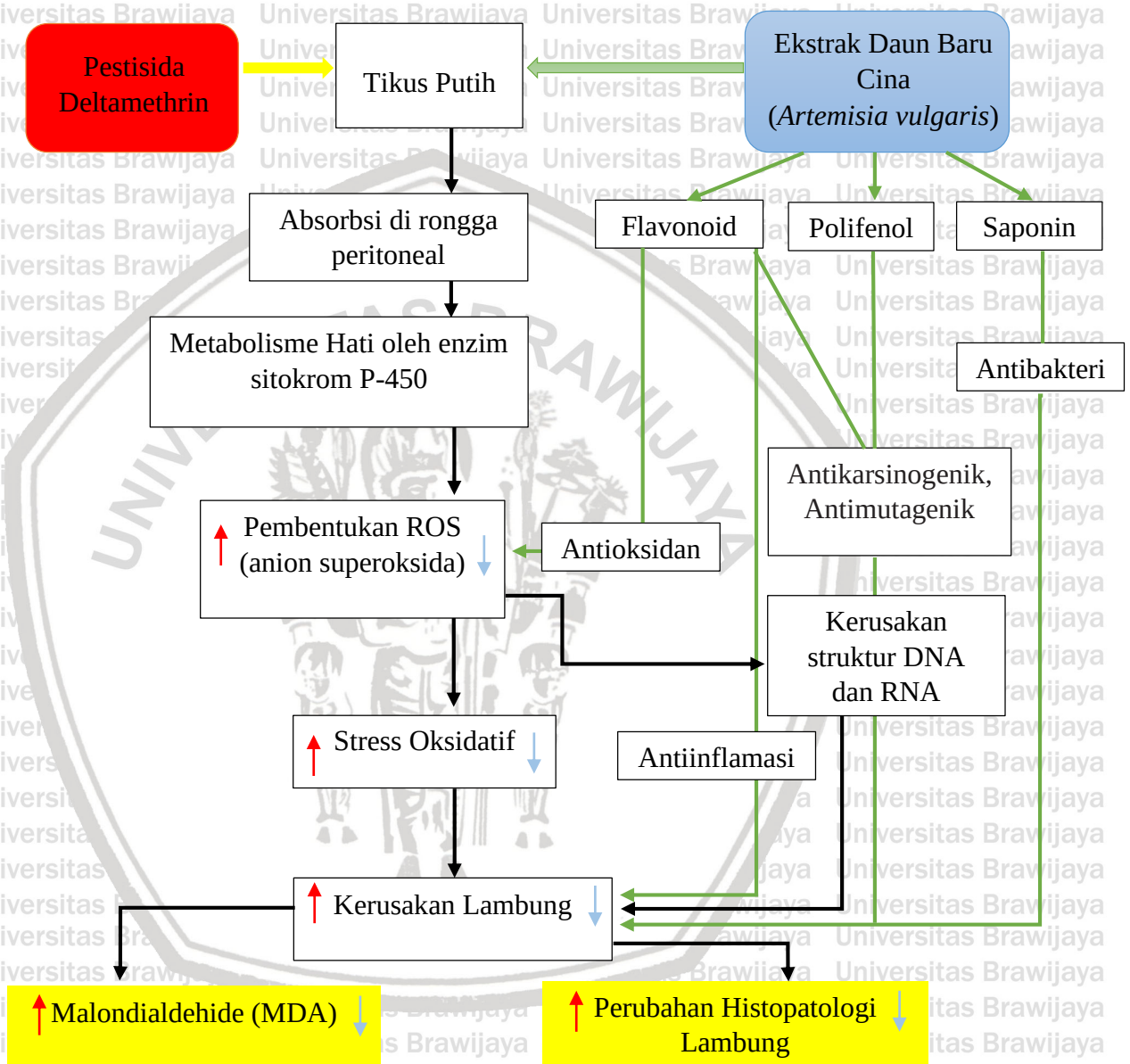
Kelas : Mamalia
 Ordo : Rodentia
 Subordo : Myomorpha
 Famili : Muridae
 Genus : Rattus
 Spesies : *Rattus norvegicus*



Gambar 2.4 Tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar (Besselsen, 2004)

BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESA PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Keterangan :

- ← : Memicu
- : Penurunan
- : Induksi
- : Peningkatan
- : Terapi
- Red box : Variabel Bebas
- Blue box : Variabel Tergantung
- Yellow box : Variabel Terikat

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) diinduksi pestisida deltamethrin mel alui intraperitoneal, kemudian diabsorbsi oleh pembuluh darah sehingga masuk ke dalam hepar. Deltamethrin di metabolisme oleh hepar melalui hidrolisis ikatan ester dan jalur oksidasi oleh sitokrom P-450, dimana oksidasi oleh sitokrom P-450 nantinya akan menghasilkan metabolit yang non toksik berupa 3-(2,2-dibromovinyl) 2,2-cyclopropane carboxyl acid (dibromoacid) dan 3-phenoxybenzaldehyde, serta hasil samping berupa derivat oksigen radikal ROS yaitu anion superoksida (O_2^-). Pemberian deltamethrin secara berulang disertai dengan dosis yang tinggi menyebabkan peningkatan jumlah anion superoksida (O_2^-). Jumlah radikal bebas anion superoksida (O_2^-) yang berlebihan akan menyebabkan stress oksidatif yang memicu kerusakan jaringan. Interaksi ROS dengan basa dari DNA dapat merubah struktur kimia dan sel somatik DNA sehingga terjadi mutasi gen dan kanker. Reaksi ROS terhadap lipid tidak jenuh membran sel dan plasma lipoprotein menyebabkan pembentukan MDA (*malondialdehyde*) dan perubahan histopatologi lambung.

Daun Baru Cina (*Artemisia vulgaris*) mengandung senyawa saponin, flavonoid, polifenol. Saponin mempunyai peran sebagai antibakteri. Flavonoid sebagai antioksidan, antiinflamasi, antimutagenik, dan antikarsinogenik dan polifenol memiliki aktivitas antikarsinogenik dan antimutagenik. Flavonoid yang masuk ke dalam tubuh akan memiliki kemampuan untuk memodulasi inflamasi sel, enzim, gen, dan sebagai antioksidan untuk menangkap radikal bebas sehingga menghambat produksi ROS. Jumlah radikal bebas yang berhasil ditangkap secara tidak langsung akan mencegah maupun mengurangi stress oksidatif yang akan

merusak jaringan lambung dan pembentukan MDA. Polifenol juga dapat memberikan faktor perlindungan terhadap membran mukosa lambung.

3.2 Hipotesis Penelitian

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

1. Pemberian ekstrak daun Baru cina (*Artemisia vulgaris*) dapat mencegah kenaikan kadar MDA (*Malondialdehyde*) pada lambung tikus yang diinduksi pestisida deltamethrin.
2. Pemberian ekstrak daun Baru cina (*A. vulgaris*) dapat mencegah kerusakan histopatologi lambung pada tikus yang terkena pestisida deltamethrin.

BAB IV METODE PENELITIAN

4.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2018 yang bertempat di:

1. Laboratorium Fisiologi Hewan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Malang.
2. Pembacaan kadar MDA (*Malondialdehyde*) di lakukan di Laboratorium FAAL Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.
3. Pembuatan preparat histopatologi organ lambung 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 Negeri Malang.

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

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

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

$$5n-5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

Keterangan:

p = jumlah kelompok perlakuan

n = jumlah ulangan yang diperlukan

$$\begin{aligned} n &\geq 20/5 \\ n &\geq 4 \end{aligned}$$

Berdasarkan perhitungan, untuk 5 macam kelompok perlakuan dibutuhkan jumlah ulangan minimal 4 kali setiap kelompok. Pada penelitian ini tikus yang digunakan berjumlah 25 ekor dengan jumlah pengulangan 5 kali.

1. Kelompok 1 : Tikus sehat tanpa perlakuan. (Kontrol negatif).
2. Kelompok 2 : Tikus hanya menerima *Deltamethrin* IP dosis 7,2 mg/KgBB/ekor setiap hari (Kontrol positif).
3. Kelompok 3 : Tikus menerima ekstrak *A. vulgaris* dosis 150 mg/KgBB dan deltamethrin IP dosis 7,2 mg/KgBB setiap hari.
4. Kelompok 4 : Tikus menerima ekstrak *A. vulgaris* dosis 300 mg/KgBB dan deltamethrin IP dosis 7,2 mg/KgBB setiap hari.
5. Kelompok 5 : Tikus menerima ekstrak *A. vulgaris* dosis 600 mg/KgBB dan deltamethrin IP dosis 7,2 mg/KgBB setiap hari.

4.3 Variabel Penelitian

Adapun variabel yang diamati pada penelitian ini adalah:

Variabel bebas : dosis pemberian Deltamethrin

Variabel terikat : kadar MDA (*Malondialdehyde*) dan histopatologi lambung

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, 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, deltamethrin, aquades, formalin, alkohol, HE (Haematoxylin Eosin), TBA, MDA, xylol, larutan PFA 4%, etanol, NaCl 0,9%.

4.5 Prosedur Penelitian

4.5.1 Aklimatisasi Hewan Coba

Aklimatisasi hewan coba selama satu minggu bertujuan untuk adaptasi terhadap lingkungan baru (Hasanah, 2017). 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* (Gani *et al.*, 2013). Pembersihan kandang dilakukan setiap 2 hari sekali.

4.5.2 Ekstraksi Daun Baru Cina (*A. vulgaris*)

Dilakukan pemisahan antara batang dan daun, dengan pengubahan bentuk dengan cara dipotong-potong kecil, lalu dikeringkan. Daun kemudian

dibuat dalam bentuk simplisia dan dimasukkan kedalam wadah gelap disertai dengan pemberian pelarut etanol 96%. 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).

Menurut Sayuti (2017) pelarut ekstraksi yang bersifat polar dan memiliki berat molekul rendah, mampu membuat ikatan hidrogen dan bisa bercampur dan larut dengan H₂O sampai dengan kelarutan yang tak terhingga.

Flavonoid yang merupakan salah satu zat yang dimiliki *A. vulgaris* adalah senyawa polar karena mempunyai sejumlah gugus hidroksil yang tak tersulih atau suatu gula, sehingga akan larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, aseton, dimetilsulfoksida, dimetilformamida, dan air. Adanya gula yang terikat pada flavonoid cenderung menyebabkan flavonoid lebih mudah larut dalam air dan dengan demikian campuran etanol dengan air merupakan pelarut yang lebih baik untuk glikosida (Sjahid, 2008).

4.5.3 Induksi Deltamethrin

Induksi deltamethrin diberikan secara IP dengan dosis 7,2 mg/KgBB (Saoudi *et al.*, 2017). Pemberian secara berulang dengan dosis tinggi diharapkan dapat meningkatkan radikal bebas di dalam tubuh.

4.5.4 Pengambilan Organ Lambung

Persiapan peralatan bedah meliputi pinset anatomis, gunting dan tempat bedah. Hewan coba dieuthanasi dengan cara dislokasi leher, posisikan tikus pada papan bedah menggunakan pin dengan posisi rebah dorsal.

Pembedahan dimulai dari organ abdomen kemudian diambil organ-organnya salah satunya yaitu lambung. Lambung yang sudah diambil kemudian dipotong menjadi 3 bagian yaitu corpus, pilorus, fundus kemudian dimasukkan ke dalam pot sampel berisi larutan formalin.

4.5.5 Pengukuran Kadar MDA

Pengukuran kadar MDA diawali dengan melakukan penggerusan organ lambung sebanyak 0,225 g pada mortar dingin, kemudian ditambahkan 500 μ l NaCl fisiologis 0,9% selanjutnya homogenat dipindahkan kedalam *microtube* dan disentrifugasi dengan kecepatan 500 rpm selama 10 menit. Supernatan yang terbentuk diambil 100 μ l dimasukkan ke dalam *microtube*, ditambahkan 550 μ l aquades, 100 μ l TCA kemudian dihomogenkan dengan vortex, ditambahkan 250 μ l HCl 1N lalu dihomogenkan kembali. Setelah itu ditambahkan 100 μ l Na-Thio 1% kemudian dihomogenkan kembali dengan vortex. Setelah itu, mulut tabung ditutup dengan menggunakan plastik *wrap* dan dipanaskan dalam *waterbath* 100°C selama 30 menit. Setelah dipanaskan, dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 500 rpm selama 10 menit. Supernatan yang terbentuk dipindahkan ke dalam tabung reaksi baru. Sampel kemudian diukur absorbansinya dengan spektrofotometer *Shimadzu UV-visible spectrophotometer UV-1601* pada panjang gelombang maksimum (533 nm) (Ayuwandani, 2017).

4.5.6 Pembuatan Preparat Histopatologi Lambung

Sampel lambung yang diperoleh, dicuci dengan NaCl fisiologis 0,9% bertujuan untuk menghilangkan darah. Proses pembuatan preparat histologi terdiri dari fiksasi, dehidrasi, penjernihan, infiltrasi parafin, *embedding*, *sectioning*, penempelan pada glass objek serta pewarnaan. Fiksasi untuk inaktivasi enzim degradasi dan mencegah kerusakan jaringan serta menjaga kontinuitas jaringan. Tahapan fiksasi yaitu dengan memasukkan jaringan ke dalam larutan PFA 4%, kemudian direndam dalam etanol 70% selama 24 jam. Kemudian dilanjutkan dengan proses dehidrasi. Proses dehidrasi diawali dengan merendam jaringan dalam larutan etanol 80% selama 2 jam, dilanjutkan etanol 90%, sampai etanol absolut masing-masing membutuhkan waktu 20 menit. Proses dehidrasi berfungsi untuk menghilangkan sisa air yang ada di dalam jaringan (Junquiera and Carneiro, 2003).

Tahapan selanjutnya yaitu penjernihan dengan cara dipindakan jaringan dari alkohol absolut ke dalam larutan penjernihan yaitu xylol I (20 menit), xylol II (30 menit). Tahap penjernihan berfungsi untuk menghilangkan sisa etanol. Kemudian dilanjutkan dengan proses infiltrasi dilakukan dalam parafin cair yang ditempatkan dalam inkubator suhu 58-60°C dan membiarkan parafin memasuki sela-sela jaringan (Junquiera and Carneiro, 2003).

Proses *embedding* dilakukan dengan mencelupkan jaringan dalam parafin cair yang telah dituang ke dalam cetakan. Setelah beberapa saat parafin akan memadat. Pembuatan preparat dilakukan dengan memasukkan hasil *embedding* pada penjepit (*block holder*). *Sectioning* diawali dengan mengatur

ketebalan irisan dengan ukuran $\pm 4-5 \mu\text{m}$ dengan menggunakan mikrotom.

Hasil irisan dipindahkan dengan kuas ke dalam air hangat $38-40^\circ\text{C}$ untuk membuka lipatan dan meluruskan kerutan halus. Irisan yang terentang sempurna diambil dengan glass objek. Potongan terpilih dikeringkan dan diletakkan di atas *hot plate* suhu $38-40^\circ\text{C}$ sampai kering. Selanjutnya preparat disimpan dalam inkubator pada suhu $38-40^\circ\text{C}$ kemudian dilakukan pewarnaan dengan hematoksilin eosin (HE).

Pewarnaan hematoksilin eosin (HE) dilakukan dengan menggunakan zat pewarna hematoksilin eosin. Proses pewarnaan diawali dengan proses deparafinasi dengan menggunakan xylol kemudian dilanjutkan dengan proses rehidrasi dengan memasukkan preparat ke dalam alkohol bertingkat dengan konsentrasi 95%, 90%, 80% dan 70% secara berurutan masing-masing selama 3 menit. Selanjutnya dicuci dengan air mengalir dan dilanjutkan dengan merendam ke dalam aquades selama 5 menit. Sediaan diwarnai dengan pewarna hematoksilin selama 1 menit, kemudian dicuci dengan air mengalir selama 10 menit dan kemudian dicuci dengan aquades selama 5 menit. Kemudian dilakukan pewarnaan dengan eosin selama 5 menit dan dicuci kembali dengan air mengalir selama 10 menit dan aquades selama 5 menit. Setelah sediaan diwarnai, dilakukan dehidrasi dengan alkohol 70%, 80%, 90%, dan 95% masing-masing selama 2 menit. Setelah itu dilanjutkan dengan proses *clearing* dengan xylol I, II dan III selama masing-masing 3 menit. Selanjutnya dilakukan *mounting* (perekatan) menggunakan entellan

serta ditutup menggunakan *coverglass* dan diamati menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 40x sampai 1000x.

4.5.7 Analisa Data

Data kuantitatif berupa kadar MDA. Data tersebut diolah dengan analisis statistika menggunakan metode *One-Way ANOVA* dengan uji *Tukey* ($\alpha = 0,05$) untuk melihat pengaruh dari perlakuan preventif yang memberikan hasil paling optimal. Pengamatan histopatologi berupa perubahan pada organ lambung akan dianalisa secara deskriptif menggunakan mikroskop cahaya.



BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Pengaruh Terapi Ekstrak *A. vulgaris* terhadap Jumlah Radikal Bebas di Dalam Tubuh Berdasarkan Kadar MDA Lambung Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Deltamethrin

Malondialdehyde (MDA) merupakan hasil dari peroksidasi lipid dengan radikal bebas sebagai biomarker jumlah radikal bebas yang terdapat di dalam tubuh.

Pengukuran kadar MDA dilakukan dengan uji Thiobarbiturate Acid Assay (TBA) yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak *A. vulgaris*. Hasil pengukuran kadar MDA kemudian dianalisa secara statistik menggunakan uji *One-way* ANOVA kemudian dilanjutkan dengan uji *Tukey* dengan tingkat kepercayaan 95 % ($\alpha < 0,05$) untuk membedakan antar perlakuan. Hasil analisa dapat dilihat dari nilai rata-rata kadar MDA pada **Tabel 5.1**.

Tabel 5.1 Rata-rata kadar MDA pada organ lambung tikus putih (*Rattus norvegicus*)

Kelompok Perlakuan	Rata-rata kadar Malondialdehida (MDA) $\mu\text{g/mL}$	Peningkatan Kadar MDA berdasarkan kontrol negative	Penurunan Kadar MDA berdasarkan kontrol positif
Kontrol negative	129,68 $\pm$ 5,14 ^a	-	-
Kontrol positif	177,54 $\pm$ 4,80 ^d	36,9%	-
P1 (150 mg/kg BB)	139,34 $\pm$ 6,13 ^{ab}	-	21,5%
P2 (300 mg/kg BB)	141,56 $\pm$ 5,94 ^b	-	20,3%
P3 (600 mg/kg BB)	163,32 $\pm$ 6,39 ^c	-	8 %

Keterangan : Perbedaan notasi a, b, c, d menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan.

Hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa pemberian ekstrak *A. vulgaris* mampu mencegah kenaikan kadar MDA secara nyata pada tikus yang telah diinduksi dengan pestisida deltamethrin. Hasil dari uji Tukey diketahui bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok P1 dengan kontrol positif. Pemberian ekstrak *A. vulgaris* 150 mg/kgBB pada kelompok P1 merupakan dosis optimal yang mampu mencegah kenaikan kadar MDA pada tikus yang telah diinduksi dengan pestisida deltamethrin.

Kadar MDA pada kelompok kontrol negatif lebih rendah dibandingkan dengan kadar MDA kelompok kontrol positif. Hal ini disebabkan oleh tikus pada kelompok kontrol negatif hanya diberikan pakan dan air minum dan pada kondisi tubuh normal, radikal bebas diproduksi dalam jumlah kecil pada proses metabolisme seperti oksidasi selama respirasi sel berlangsung (Widayati, 2010), maka kadar MDA pada kelompok kontrol negatif dianggap sebagai kadar MDA normal.

Kelompok kontrol positif memiliki perbedaan yang nyata dengan kelompok kontrol negatif. Kadar MDA lambung tikus yang diinduksi deltamethrin pada kelompok kontrol positif sebesar $177,54 \pm 4,8$) $\mu\text{g/mL}$, mengalami kenaikan 36,9% terhadap kelompok kontrol negatif yang memiliki nilai sebesar $129,68 \pm 5,1$ $\mu\text{g/mL}$. Peningkatan kadar MDA pada kelompok kontrol positif disebabkan oleh pemberian deltamethrin melalui intraperitoneal dengan dosis yang tinggi secara berulang. Deltamethrin di metabolisme oleh hepar melalui hidrolisis ikatan ester dan jalur oksidasi oleh sitokrom P-450, dimana oksidasi oleh sitokrom P-450 nantinya akan menghasilkan metabolit yang non toksik berupa 3-(2,2-

dibromovinyl) 2,2-cyclopropane carboxyl acid (dibromoacid) dan 3-phenoxybenzaldehyde, serta hasil samping berupa derivat oksigen radikal ROS yaitu anion superoksida (O_2^-). Pemberian deltamethrin secara berulang disertai dengan dosis yang tinggi menyebabkan peningkatan jumlah anion superoksida (O_2^-). Jumlah radikal bebas anion superoksida (O_2^-) yang berlebihan akan menyebabkan stress oksidatif. Reaksi ROS terhadap lipid tidak jenuh membran sel dan plasma lipoprotein menyebabkan pembentukan MDA (Manna *et al.*, 2005).

Hasil uji Tukey menunjukkan bahwa kadar MDA lambung pada kelompok P1 (150 mg/KgBB) berbeda nyata dengan kadar MDA lambung pada kelompok kontrol positif dan tidak berbeda nyata dengan kelompok kontrol negatif, dimana kelompok perlakuan negatif memiliki kadar MDA sebesar $129.68 \pm 5.14 \mu\text{g/mL}$, sedangkan kelompok P1 (150 mg/KgBB) memiliki kadar MDA senilai $139.34 \pm 6.13 \mu\text{g/mL}$ yang lebih rendah 21,5% dari kelompok perlakuan positif senilai $177.54 \pm 4.80 \mu\text{g/mL}$. Kelompok P2 (300 mg/KgBB) dengan kadar MDA sebesar $141.56 \pm 5.94 \mu\text{g/mL}$ menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata dengan kelompok P1 (150mg/KgBB), namun berbeda nyata dengan kelompok perlakuan negatif. Hal ini menandakan bahwa dosis 150 mg/KgBB merupakan dosis optimal dalam mencegah kenaikan kadar MDA. Kelompok P3 (600 mg/KgBB) memiliki kadar MDA sebesar $163.32 \pm 6.39 \mu\text{g/mL}$ yang lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok P1 maupun P2. Hal ini menandakan bahwa dosis 600mg/KgBB belum mampu mencegah kenaikan MDA secara optimal.

Uji lanjutan statistik telah menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun *A. vulgaris* mampu mencegah kenaikan kadar MDA lambung pada tikus putih (*Rattus*

norvegicus) yang diinduksi dengan deltamethrin dengan dosis optimal 150 mg/KgBB pada kelompok P1. Dosis 300 mg/KgBB pada P2 juga mampu mencegah kenaikan kadar MDA namun dosis pada P2 kurang efisien apabila dibandingkan dengan P1 yang menggunakan dosis yang lebih sedikit. Pemberian dosis sebesar 600 mg/Kg BB pada P3 kurang efisien dalam mencegah kenaikan kadar MDA, hal ini disebabkan karena banyaknya konsentrasi antioksidan yang diberikan dapat berpengaruh pada laju oksidasi, pada konsentrasi tinggi aktivitas antioksidan tersebut menjadi prooksidan (Masrifah, 2017).



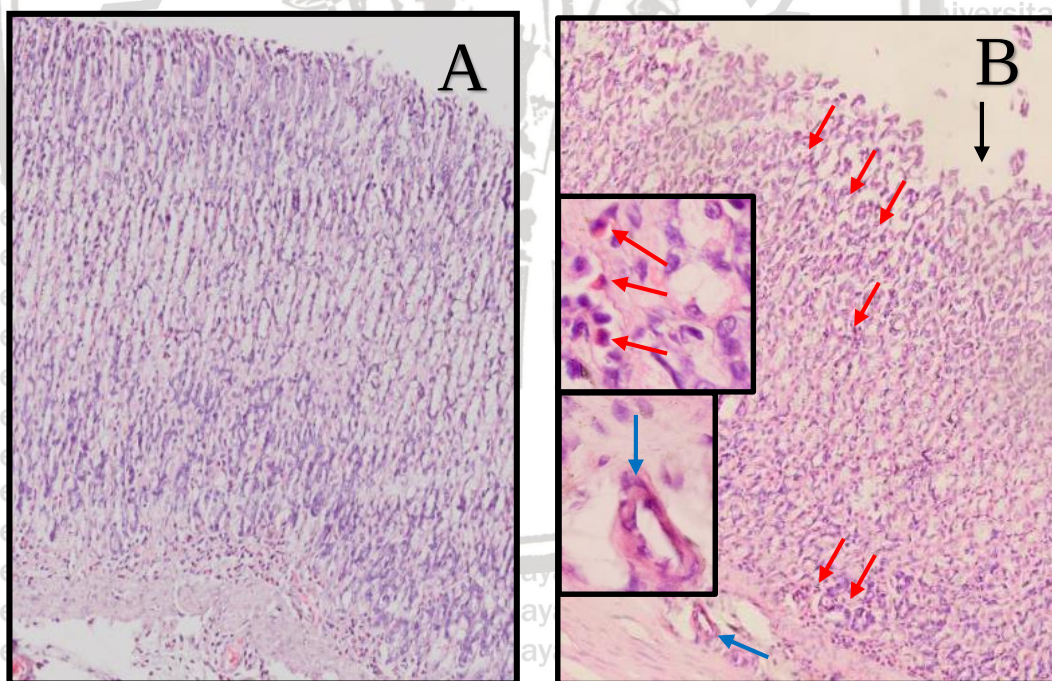
Gambar 5.1 Mekanisme reaksi antioksidan menjadi prooksidan

Kadar MDA lambung tikus yang lebih rendah pada kelompok P1 (150 mg/kgBB), P2 (300 mg/kgBB), P3 (600 mg/kgBB) apabila dibandingkan dengan kontrol positif menunjukkan adanya pengaruh dari ekstrak daun *A. vulgaris* dalam mencegah kenaikan kadar MDA dikarenakan kandungan flavonoid yang bekerja sebagai antioksidan sehingga dapat menangkap radikal bebas dan memicu aktivasi *nuclear factor erythroid 2 related factor* (Nrf2), sehingga terjadi peningkatan gen yang berperan dalam sintesis antioksidan endogen (Windari, 2007; Kusuma, 2015).

Hal ini diperkuat oleh hasil penelitian dari Meliala (2018) bahwa kadar flavonoid total dari *Artemisia vulgaris* yang diekstrak menggunakan etanol 96% yaitu sebesar 98,08 mgQE/g dan untuk aktivitas antioksidan diperoleh nilai IC50 sebesar 93,94 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa tumbuhan tersebut mengandung flavonoid dan mempunyai aktivitas antioksidan yang sedang sampai kuat.

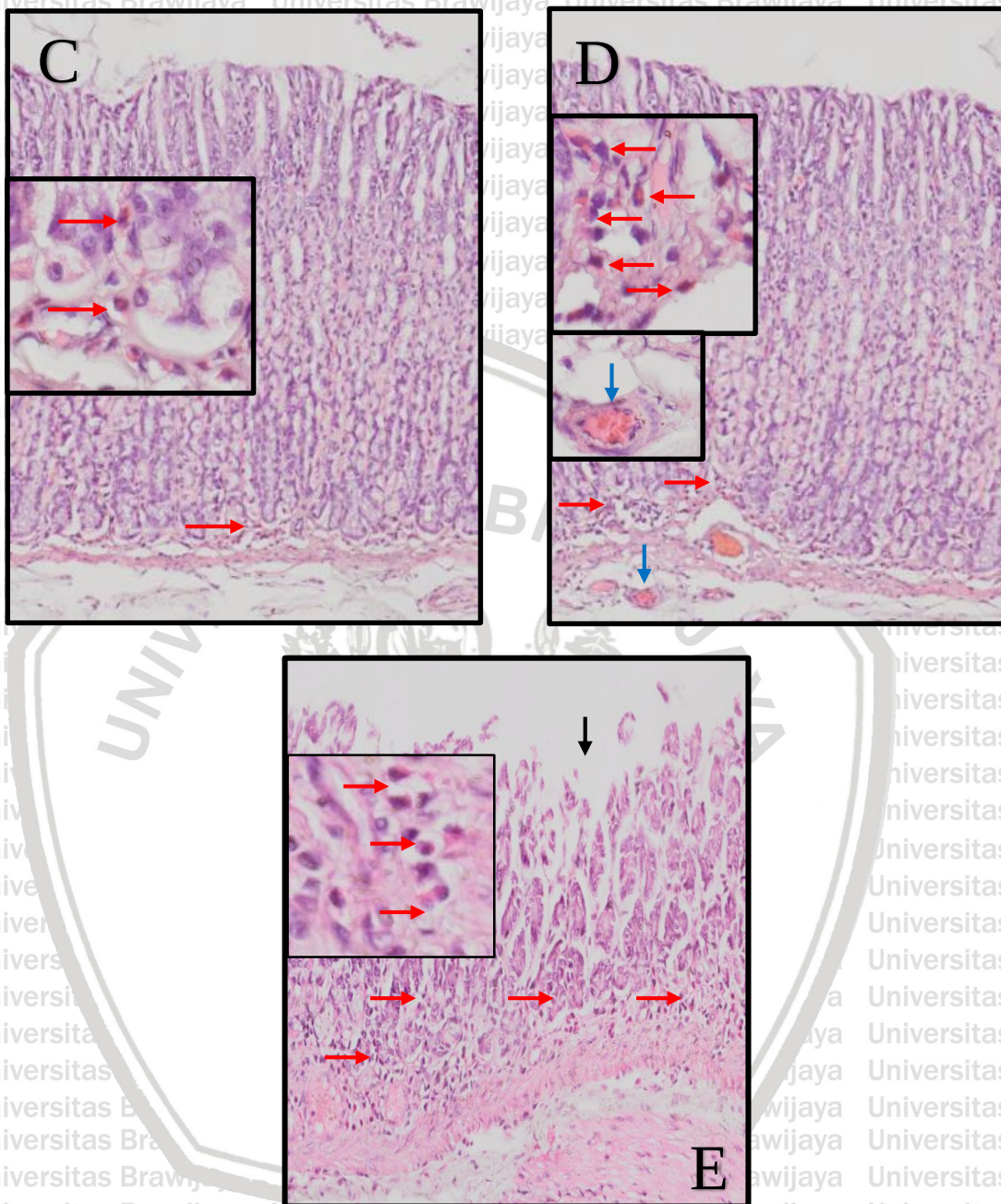
5.2 Pengaruh Terapi Ekstrak *A. vulgaris* terhadap Gambaran Histopatologi Lambung Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Deltamethrin

Pengamatan gambaran histopatologi organ lambung dengan pewarnaan Hematoksilin-Eosin (HE). Pengamatan dilakukan dengan membandingkan antar kelompok perlakuan dan dianalisis secara deskriptif. Penelitian ini menggunakan perbesaran 40x - 400x dengan mengamati perubahan struktur sel epitel, adanya edema, vasodilatasi pembuluh darah kapiler serta infiltrasi sel radang. Hasil pengamatan terhadap gambaran histopatologi lambung tikus pada masing-masing kelompok perlakuan disajikan pada **Gambar 5.2**.



Gambar 5.2. : Gambaran histopatologi fundus lambung tikus putih pewarnaan Hemtoxylen Eosin perbesaran 40x dan 400x ; **(A)** Kontrol negatif (tikus sehat) **(B)** Kontrol positif (induksi deltamethrin 7,2 mg/kgBB)

Keterangan : (↓) erosi sel epitel mukosa lambung, (↓) infiltrasi sel radang, (↓) vasodilatasi pembuluh darah kapiler.



Gambar 5.2. : Gambaran histopatologi fundus lambung tikus putih pewarnaan Hemtoxylen Eosin perbesaran 40x dan 400x yang diberikan terapi ekstrak daun *A. vulgaris* ; (C) dosis 150 mg/KgBB (D) dosis 300 mg/KgBB (E) dosis 600 mg/KgBB.

Keterangan : (↓) erosi sel epitel mukosa lambung, (↓) infiltrasi sel radang, (↓) vasodilatasi pembuluh darah kapiler.

Gambaran histologi dari kelompok kontrol negatif (**Gambar 5.2A**) menunjukkan gambaran histologi lambung dengan ciri-ciri yang sesuai dengan lambung normal karena struktur penyusun organ terlihat utuh, sehingga dapat dibedakan dan diidentifikasi dengan baik. Gambaran histopatologi kelompok kontrol positif (**Gambar 5.2B**) terlihat adanya kerusakan sel seperti erosi pada sel-sel epitel () , hemoragi, vasodilatasi pembuluh darah kapiler pada lapisan submukosa () dan infiltrasi sel radang () pada lapisan mukosa dan submukosa.

Mekanisme kerusakan sel yang terjadi diakibatkan oleh reaksi radikal bebas dengan PUFA yang terdapat di membran sel, menyebabkan sel kehilangan permeabilitasnya maka terjadilah kerusakan sel. Kerusakan sel dapat memicu terjadinya peradangan pada jaringan, leukosit akan bermigrasi langsung pada tempat yang mengalami cedera. Pada mekanisme ini, terjadi perubahan vaskular yaitu vasodilatasi pembuluh darah sehingga terjadi peningkatan permeabilitas vaskular. Perubahan vaskular ini menyebabkan terjadi difusi balik H^+ dari lumen masuk ke dalam mukosa. Difusi balik H^+ akan menyebabkan reaksi berantai yang dapat merusak mukosa lambung dan menyebabkan pepsin dilepas dalam jumlah besar. Na^+ dan protein plasma banyak yang masuk kedalam lumen dan terjadi pelepasan histamin kemudian terjadi peningkatan sekresi asam lambung oleh sel parietal, peningkatan permeabilitas kapiler, oedema dan perdarahan. Di samping itu akan merangsang parasimpatik lokal akibat sekresi asam lambung makin meningkat dan tonus muskularis mukosa meninggi, sehingga kongesti vena makin hebat dan menyebabkan perdarahan. Keadaan ini merupakan lingkaran setan yang menyebabkan kerusakan mukosa makin berlanjut, dapat terjadi erosi superfisial

atau ulserasi (Bintari *et al*, 2014). Hal ini sejalan dengan tingginya kadar MDA pada kelompok kontrol positif akibat pemberian deltamethrin secara berulang dengan dosis tinggi.

Gambaran histopatologi kelompok P1 (dosis 150 mg/KgBB) (**Gambar 5.2 C**) dan gambaran histopatologi kelompok P2 (dosis 300 mg/KgBB) (**Gambar 5.2 D**) menyerupai gambaran histologi lambung pada kelompok kontrol negatif namun masih menunjukkan adanya infiltrasi sel radang (↑) dalam jumlah sedikit. Apabila dibandingkan dengan kelompok kontrol positif, kelompok P1 tidak mengalami kerusakan pada struktur sel epitelnya, namun pada kelompok P2 masih terjadi vasodilatasi pembuluh darah kapiler (↓) disertai adanya penumpukan cairan darah atau kongesti. Kongesti adalah peningkatan cairan pada suatu tempat yang terjadi karena proses pasif yang disebabkan kegagalan aliran cairan keluar dari jaringan, misalnya pada kerusakan vena. Jika dilihat secara mikroskopis kapiler-kapiler dalam jaringan melebar penuh berisi darah. Terdapat dua mekanisme timbulnya kongesti, yaitu kongesti aktif dan kongesti pasif. Kongesti aktif adalah kenaikan jumlah darah yang mengalir ke daerah tersebut sedangkan kongesti pasif adalah penurunan jumlah darah yang mengalir dari daerah tersebut. Pada daerah yang mengalami peradangan dapat terjadi kongesti (Ayu, 2012).

Hal ini menandakan adanya reaksi antara antioksidan dari flavonoid yang terkandung pada ekstrak *Artemisia vulgaris* dengan radikal bebas yang disebabkan oleh induksi deltamethrin. Menurut Windari (2017) antioksidan tersebut bekerja dengan mengikat sebagian besar radikal bebas yang terdapat dalam tubuh, sehingga dapat mencegah kerusakan sel dan dapat dilihat dari jumlah sel radang yang

terdapat pada kelompok P1 dan P2 lebih sedikit apabila dibandingkan dengan kelompok kontrol positif. Saponin sebagai antibakteri juga membantu mencegah kerusakan jaringan dari serangan bakteri yang terdapat di dalam lambung (Yanuartono, 2017). Hal ini sejalan dengan hasil MDA P1 dan P2 yang telah dijelaskan sebelumnya.

Gambaran histopatologi kelompok P3 (dosis 600 mg/KgBB) (**Gambar 5.2 E**) terlihat adanya erosi sel epitel (↓), terdapat hemoragi, dan infiltrasi sel radang (↓) yang lebih banyak apabila dibandingkan dengan P1 dan P2. Hal ini disebabkan oleh jumlah antioksidan yang seharusnya mengikat radikal bebas akibat dari pemberian deltamethrin menjadi tidak seimbang sehingga antioksidan tersebut berubah menjadi prooksidan dan merusak jaringan. Banyaknya konsentrasi antioksidan yang diberikan dapat berpengaruh pada laju oksidasi, pada konsentrasi tinggi aktivitas antioksidan tersebut menjadi prooksidan (Masrifah, 2017). Hal ini akan menyebabkan terjadinya kerusakan sel, dan memicu terjadinya mekanisme kerusakan lambung seperti erosi sel epitel dan infiltrasi sel radang yang terjadi seperti yang sudah dijelaskan pada kelompok kontrol positif.

BAB VI PENUTUP

6.1 Kesimpulan

1. Pemberian ekstrak daun Baru cina (*Artemisia vulgaris*) pada dosis 150 mg/KgBB merupakan dosis terbaik yang dapat mencegah kenaikan kadar MDA (*Malondialdehyde*) sebesar 21,5% dibandingkan dengan kelompok perlakuan kontrol positif lambung tikus yang diinduksi pestisida deltamethrin.
2. Pemberian ekstrak daun Baru cina (*A. vulgaris*) pada dosis 150 mg/KgBB dapat mencegah kerusakan sel epitel dan mengurangi infiltrasi sel radang pada histopatologi lambung tikus yang terkena pestisida deltamethrin.

6.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui dosis optimal dengan memperpanjang waktu penelitian serta penelitian lebih lanjut untuk mengetahui jenis flavonoid secara spesifik dari daun Baru cina (*Artemisia vulgaris*) yang mampu bertindak sebagai antioksidan dan antiinflamasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Annida, S. 2018. *Hubungan Antara Frekuensi Dan Lama Penyemprotan Dengan Keracunan Pesticida Pada Petani Di Desa Srikaton Kecamatan Adiluwih Kabupaten Pringsewu*. [Skripsi]. Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran. Universitas Lampung.
- Ayu, P. E. K. 2012. *Pengaruh Infusa Buah Asam Jawa (Tamarindus indica L.) Terhadap Efek Ulserogenik Asetosal Pada Mencit*. [Naskah Publikasi]. Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Ayuwandani, V. 2017. *Pengaruh Terapi Ekstrak Etanol Daun Katuk (Sauropus androgynous (L) Merr) Terhadap Kadar Malondialdehida (MDA) dan Histopatologi Lambung Tikus (Rattus norvegicus) Model Ulkus Peptikum*. [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya
- Baharuddin, J.P.S., F.M. Durry, dan M. P. Lintong. 2013. *Gambaran Histopatologi Lambung Tikus Wistar (Rattus norvegicus) Yang Diberikan Vitamin C (Asam askorbat) Dosis Tinggi*. Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi Manado.
- Bintari GS, I. Windarti, dan D.N. Fiana. 2014. *Temulawak (Curcuma xanthorrhiza Roxb) as Gastroprotector of Mucosal Cell Damage*. Fakultas Kedokteran Universitas Negeri Lampung.
- Besselsen D. G. 2004. *Biology of Laboratory Rodent*. New York: Medical Books Inc.
- Bloom dan Fawcett. 2002. *Buku Ajar Histologi*. Edisi 9. Jakarta : EGC.
- El-Maghraby. 2007. *Metabolism of Deltamethrin in Rats*. Biomedical and Environmental Sciences 20 : 212-216.
- Eroschenko V.P. 2003. *Atlas Histologi di Fiore dengan Korelasi Fungsional*. Edisi 9. Jakarta: EGC.
- Gilani, A. H., Y Sheikh., J Qamar., and M. G. Nabeel. 2005. *Short Communication Hepatoprotective of Aqueous-Methanol Extract of Artemisia vulgaris*. Jurnal Phytoter Res 19 . 170-172
- Halliwell, B. and J.M.C .Gutteridge.. 2007. *Free Radicals. Fourth Edition*. Biology And Medicine Oxford University Press. New York.

Hasanah, A. 2017. *Efek Jus Bawang Bombay (Allium Cepa Linn.) Terhadap Motilitas Spermatozoa Mencit Yang Diinduksi Streptozotocin (STZ)*. Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Malang.

Handayani, V., A.R Ahmad., dan M. Sudir. 2013. *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Bunga dan Daun Patikala (Etlingera elatior (Jack) R.M.Sm) Menggunakan Metode DPPH*. Fakultas Farmasi Universitas Muslim Makassar.

Iqbal, M., S. P. E. Sulistyorini, dan R. Maryani. 2014. *Mungsi Arab (Artemisia vulgaris L).* Cancer Chemoprevention Research Center. Fakultas Farmasi UGM

Junqueira L. E. dan Carneiro J. 2003. *Histologi Dasar*. Jakarta: EGC..

Judzentiene, A dan J. Buzelyte, . 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

Kumar V., R.S. Cotran, S.L. Robbins. 2007. *Buku Ajar Patologi Robbins 2 (7th ed)*. Jakarta: EGC

Kusriningrum, R. S. 2008. *Buku Ajar Perancangan Percobaan*. Fakultas kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Dani Abadi. Surabaya

Kusuma, A. S. W. 2015. *The Effect of Ethanol Extract of Soursop Leaves (Annona muricata L.) to Decreased Levels of Malondialdehyde*. Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

Lesmana, L. Gita, D. Arfiati, dan A. Maizar 2013. *Pengamatan Jaringan Lambung Kijing Taiwan (Anodonta woodiana Lea) Yang Terdedah Pestisida Diazinon 60 EC Pada Beberapa Konsentrasi*. Jurusan Manajemen Sumberdaya Perairan Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Brawijaya.

Manna, S., D. Bhattacharyya . T. K. Mandal , and S. Das. 2005. *Repeated Dose Toxicity of deltamethrin in Rats*. Research Paper 37 (3) : 160 – 164

Meliala, L. 2018. *Aktivitas Antimutagenik Ekstrak Etanol Herba Binara (Artemisia vulgaris L.) Pada Mencit Yang Diinduksi Siklofosamid*. Fakultas Farmasi. Universitas Sumatera Utara.

Narwanti, I., E. Sugiharto, dan C. Anwar. 2012. *Residu Pestisida Piretroid Pada Bawang Merah Di Desa Srigading Kecamatan Sanden Kabupaten Bantul*. Jurnal Ilmiah Kefarmasian 2 (2) : 119-128.

Prasetyowati, H., P. E. Astuti, dan A. Ruliansyah. 2016. *Penggunaan Insektisida Rumah Tangga dalam Pengendalian Populasi Aedes aegypti di Daerah Endemis Demam Berdarah Dengue (DBD) di Jakarta Timur*. Loka Litbang Pengendalian Penyakit Bersumber Binatang (P2B2) Ciamis. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Kementerian Kesehatan Republik Indonesia

Price, S. A. dan L. M. Wilson. 2006. *Patofisiologi : Konsep Klinis Proses Penyakit*, Edisi 6, Volume 1. Jakarta: EGC.

Raini, M. 2007. *Toksikologi Pestisida Dan Penanganan Akibat Keracunan Pestisida*. Jurnal Media Litbang Kesehatan 17 (3) : 10-18

Rehman, H., A. T. Aziz, S. Saggu , Z. K. Abbas , A. Mohan, A. A. Abid . 2014. *Systematic Review on Pyrethroid toxicity with Special Reference to Deltamethrin*. Jurnal Entomology and Zoologi 2(6) : 60-70.

Rohdiana, D. 2001. *Aktivitas Penangkapan Radikal Polifenol Dalam Daun Teh*. Pusat Penelitian Teh dan Kina Gambung PO BOX 1013 Bandung

Saoudi, M., R. Badraoui, H. Bouhajja, , M. Ncir, F. Rahmouni, , M. Grati, K. Jamoussi, And A. A. Feki. 2017. *Deltamethrin Induced Oxidative Stress In Kidney And Brain Of Rats: Protective Effect Of Artemisia Campestris Essential Oil*. Biomedicine And Pharmacotherapy 94 (2) : 955-963

Sayuti, M. 2017. *Pengaruh Perbedaan Metode Ekstraksi, Bagian dan Jenis Pelarut Terhadap Rendemen dan Aktifitas Antioksidan Bambu Laut (Isis hipuris)*. Politeknik Kelautan dan Perikanan Sorong.

Sinaga, F. A. 2017. *Stress Oksidatif Dan Status Antioksidan Pada Aktivitas Fisik Maksimal*. Jurusan Ilmu Keolahragaan FIK Universita Negeri Medan.

Sirois M. 2005. *Laboratory animal medicine Principles and procedures*. United States of America: Mosby Inc.

Sjahid, L. R. 2008. *Isolasi Dan Identifikasi Flavonoid Dari Daun Dewandaru (Eugenia uniflora L.)*. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.

Silvany, R. 2013. *Isolasi Dan Analisis Komponen Kimia Minyak Atsiri Daun Baru Cina (Artemisia vulgaris L.) Serta Uji Aktivitas Antibakteri Dan*

Antioksidan. Departemen Kimia Fakultas MIPA Universitas Sumatera Utara.

Suryanto, E., L. I. Momuat, M. Taroreh, dan F. Wehantouw. 2011. Potensi Senyawa Polifenol Antioksidan dari Pisang Groho (*Musa sapiens* sp.). Jurnal Agritech 31 (4) : 289-296.

Werdhasari, A. 2014. *Peran Antioksidan Bagi Kesehatan*. Jurnal Biotek Medisiana Indonesia 3(2) : 59-68.

Widayati, E. 2010. *Oxidasi Biologi, Radikal Bebas, Antioxidant*. Bagian Kimia Biokimia Universitas Sam Ratulangi Semarang.

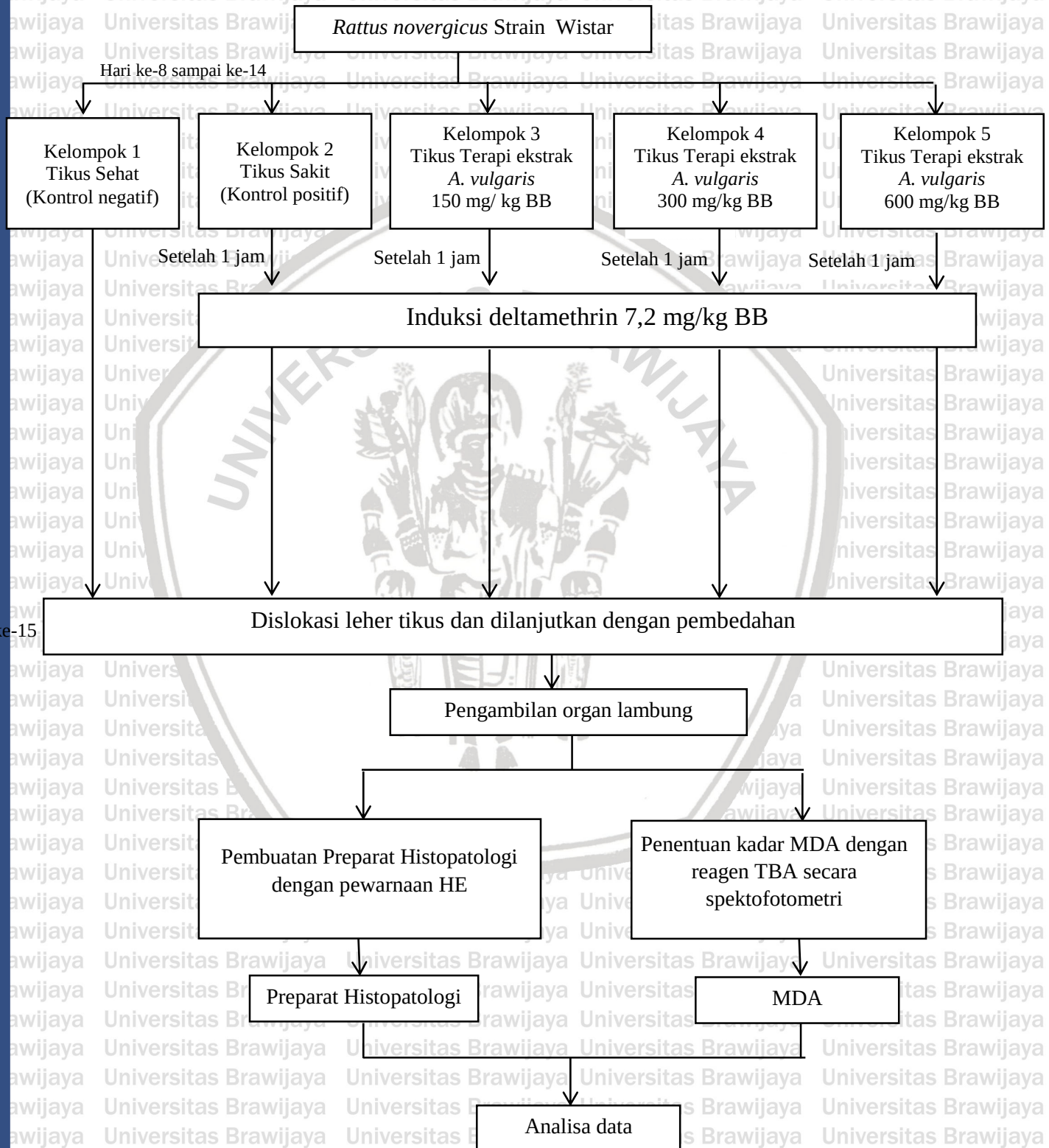
Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami Dan Radikal Bebas. Potensi Dan Aplikasinya Dalam Kesehatan*. Edisi Pertama. Kanisius. Yogyakarta. Hal. 18-19.

Windari, T. 2017. *The Role Of Bawang Dayak (Eleutherine palmifolia) Extract As Anti-Peptic Ulcer Agent In Male Wistar Rats (Rattus norvegicus) Induced By Ethanol*. Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya Malang.

Yanuartono, H. Purmaningsih, A. Nururozi, dan Indrajulianto. *Saponin: Dampak Terhadap Ternak (Ulasan)*. Jurnal Peternakan Sriwijaya 6 (2) : 79-90.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Penelitian



Hari ke-15

Lampiran 2. Perhitungan Dosis

A. Perhitungan dosis ekstrak daun *A. vulgaris*

3. Perhitungan dosis K3 (BB tikus 190 gram, dosis 150 mg/kg BB)

$$\frac{BB \times Dosis}{Konsentrasi} = \frac{0,19 \times 150 \text{ mg/kg}}{10\%}$$

$$= \frac{0,19 \times 150 \text{ mg/kg}}{100 \text{ mg/ml}}$$

$$= 0,28 \text{ ml}$$

$$= 0,3 \text{ ml}$$

4. Perhitungan dosis K4 (BB tikus 170 gram, dosis 300 mg/kg BB)

$$\frac{BB \times Dosis}{Konsentrasi} = \frac{0,17 \times 300 \text{ mg/kg}}{10\%}$$

$$= \frac{0,17 \times 300 \text{ mg/kg}}{100 \text{ mg/ml}}$$

$$= 0,51 \text{ ml}$$

$$= 0,6 \text{ ml}$$

5. Perhitungan dosis K5 (BB tikus 194 gram, dosis 600 mg/kg BB)

$$\frac{BB \times Dosis}{Konsentrasi} = \frac{0,194 \times 600 \text{ mg/kg}}{10\%}$$

$$= \frac{0,194 \times 600 \text{ mg/kg}}{100 \text{ mg/ml}}$$

$$= 1,16 \text{ ml}$$

$$= 1,2 \text{ ml}$$

B. Perhitungan dosis deltamethrin

1. Perhitungan dosis diambil dari rata-rata BB tikus secara umum yaitu 200 gram,

dosis 7,2 mg/kg BB)

$$\frac{BB \times Dosis}{Konsentrasi} = \frac{0,2 \text{ kg} \times 600 \text{ mg/kg}}{0,7\%}$$

$$= \frac{0,2 \text{ kg} \times 7,2 \text{ mg/kg}}{7 \text{ mg/ml}}$$

$$= 0,2 \text{ ml}$$

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



Lampiran 3. Keterangan Kelaikan 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

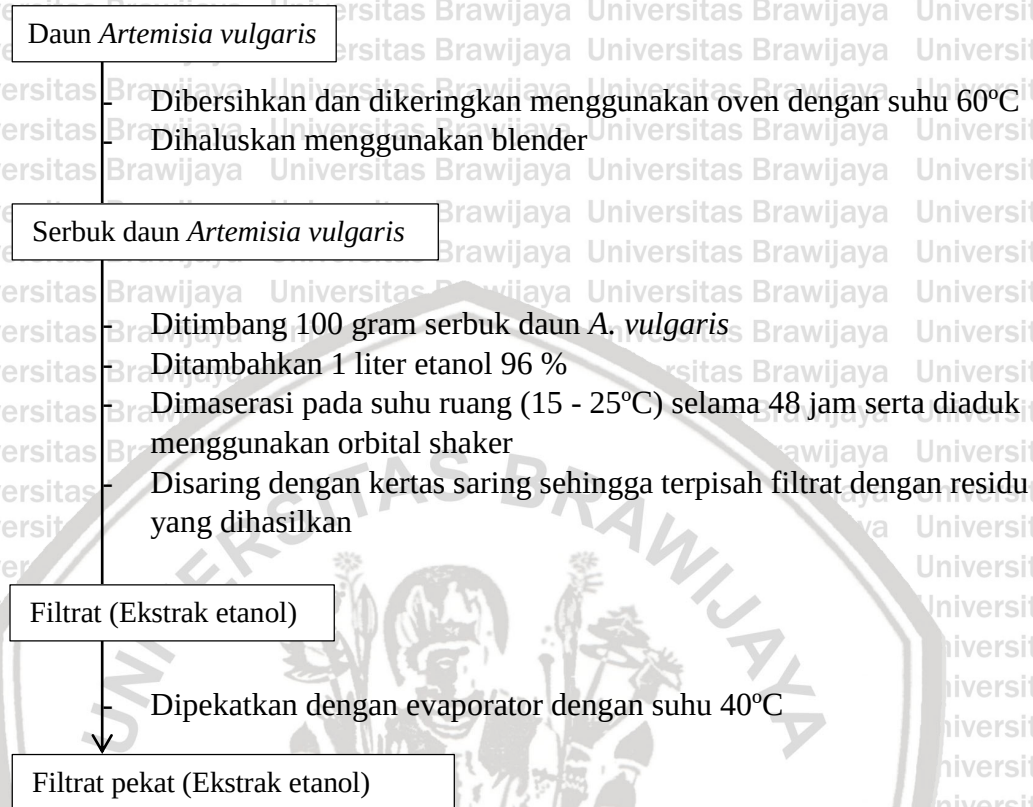
UNIT/LEMBAGA/TEMPAT : UNIVERSITAS BRAWIJAYA

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 4. Pembuatan Ekstrak Daun *A. vulgaris*

Lampiran 5. Pembuatan Histopatologi Lambung

Organ lambung Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Difiksasi menggunakan formaldehid 10%

Didehidrasi menggunakan alkohol bertingkat (etanol 70% 24 jam, etanol 80% 2 jam, etanol 90% 20 menit dan etanol absolut 20 menit)

Dijernihkan dengan merendam dalam larutan xylol I selama 20 menit dan xylol II selama 30 menit

Diinfiltrasi dan embedding menggunakan parafin cair pada inkubator bersuhu 58-600 °C

Dijepit cetakan dalam mikrotom dan jaringan dipotong dengan ketebalan $\pm 5\mu\text{m}$.

Dikeringkan lalu diletakan pada *object glass*

Disimpan sediaan dalam inkubator dengan suhu 38-40°C selama 24 jam.

Diwarnai menggunakan pewarna HE

Diberikan cairan perekat lalu ditutup dengan *cover glass*

Hasil

Lampiran 6. Pembuatan Homogenat dan Pengukuran Kadar MDA**Organ Lambung**

- Ditimbang 0,225 gram
- Dipotong kecil-kecil dan digerus dalam mortar dingin
- Ditambahkan 1 ml NaCl 0,9%
- Disentrifugasi pada kecepatan 8000 rpm selama 2 menit dan diambil supernatannya

Supernatan

- Diambil 100 μ l sampel supernatan
- Ditambahkan 550 μ l Aquades dan 1 ml NaCl 0,9%
- Ditambahkan 100 μ l Asam Trikloroasetat atau TCA 10%
- Dihomogenkan dengan vortex
- Dipanaskan dalam waterbath dengan suhu 100°C selama 20 menit
- Diangkat dan didinginkan pada suhu ruang
- Diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada α maksimum
- Diperoleh nilai absorbansinya sampel

Hasil

Lampiran 7. Analisa Statistik Kadar MDA Organ Lambung menggunakan SPSS 2.2

A. Uji Deskriptif

Descriptives

MDA	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
kelompok negatif	5	1.2968E2	5.14364	2.30030	123.2933	136.0667	124.70	136.90
kelompok positif	5	1.7754E2	4.80187	2.14746	171.5777	183.5023	171.30	182.40
perlakuan 1	5	1.3934E2	6.13457	2.74346	131.7229	146.9571	133.60	149.10
perlakuan 2	5	1.4156E2	5.94710	2.65962	134.1757	148.9443	136.90	149.10
perlakuan 3	5	1.6332E2	6.39195	2.85857	155.3833	171.2567	156.90	170.20
Total	25	1.5029E2	18.61859	3.72372	142.6026	157.9734	124.70	182.40

B. Uji Normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		MDA
N		25
Normal Parameters ^a	Mean	1.5029E2
	Std. Deviation	1.86186E1
	Most Extreme Differences	
	Absolute	.186
	Positive	.186
	Negative	-.138
Kolmogorov-Smirnov Z		.930
Asymp. Sig. (2-tailed)		.352

Test distribution is Normal.

Hasil uji normalitas menunjukkan nilai signifikan (p) sebesar 0,352, oleh karena nilai $p > 0,05$ maka H_0 diterima dan dapat disimpulkan bahwa data yang digunakan mempunyai distribusi yang tersebar dengan normal.

C. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

MDA

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.414	4	20	.796

Uji homogenitas digunakan sebagai bahan acuan untuk menentukan keputusan berlaku atau tidaknya asumsi uji ANOVA, yaitu apakah kelima sampel mempunyai varian yang sama. Untuk mengetahui apakah asumsi dari kelima kelompok sampel yang ada mempunyai varian yang sama (homogen), maka diperlukan dasar 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 pada hasil yang diperoleh pada uji homogenitas, dimana dihasilkan bahwa probabilitas atau signifikansinya adalah 0,796 yang berarti lebih dari 0,05 maka dapat disimpulkan bahwa hipotesis nol (H_0) diterima, maka asumsi dari kelima varian populasi adalah sama (homogen).

D. Uji ANOVA

MDA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	7666.154	4	1916.539	58.655	.000
Within Groups	653.492	20	32.675		
Total	8319.646	24			

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

H_0 = tidak dapat perbedaan antara kadar MDA dengan pemberian ekstrak *Artemisia vulgaris*

H_1 = terdapat perbedaan antara kadar MDA dengan pemberian ekstrak *Artemisia vulgaris*

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

Berdasarkan pada hasil yang diperoleh pada uji ANOVA, dimana dilihat pada F hitung = 58,655 > F tabel = 2,87, yang berarti H_0 ditolak. Pada signifikan dapat dilihat nilainya $0,000 < 0,05$ dengan taraf kepercayaan 95%. Dengan demikian H_0 ditolak dan menerima H_1 , sehingga menunjukkan bahwa terdapat perbedaan kadar MDA dengan pemberian ekstrak *Artemisia vulgaris*.

E. Uji Lanjutan Tukey

Multiple Comparisons

MDA

Tukey HSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kelompok negatif	kelompok positif	-47.86000*	3.61522	.000	-58.6781	-37.0419
	perlakuan 1	-9.66000	3.61522	.094	-20.4781	1.1581
	perlakuan 2	-11.88000*	3.61522	.027	-22.6981	-1.0619
	perlakuan 3	-33.64000*	3.61522	.000	-44.4581	-22.8219
kelompok positif	kelompok negatif	47.86000*	3.61522	.000	37.0419	58.6781
	perlakuan 1	38.20000*	3.61522	.000	27.3819	49.0181
	perlakuan 2	35.98000*	3.61522	.000	25.1619	46.7981
	perlakuan 3	14.22000*	3.61522	.007	3.4019	25.0381
perlakuan 1	kelompok negatif	9.66000	3.61522	.094	-1.1581	20.4781
	kelompok positif	-38.20000*	3.61522	.000	-49.0181	-27.3819
	perlakuan 2	-2.22000	3.61522	.971	-13.0381	8.5981
	perlakuan 3	-23.98000*	3.61522	.000	-34.7981	-13.1619
perlakuan 2	kelompok negatif	11.88000*	3.61522	.027	1.0619	22.6981
	kelompok positif	-35.98000*	3.61522	.000	-46.7981	-25.1619
	perlakuan 1	2.22000	3.61522	.971	-8.5981	13.0381
	perlakuan 3	-21.76000*	3.61522	.000	-32.5781	-10.9419
perlakuan 3	kelompok negatif	33.64000*	3.61522	.000	22.8219	44.4581
	kelompok positif	-14.22000*	3.61522	.007	-25.0381	-3.4019
	perlakuan 1	23.98000*	3.61522	.000	13.1619	34.7981
	perlakuan 2	21.76000*	3.61522	.000	10.9419	32.5781

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

F. Pemberian Notasi pada Uji Tukey

MDA

Tukey HSD

kelompok	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
kelompok negatif	5	1.2968E2			
perlakuan 1	5	1.3934E2	1.3934E2		
perlakuan 2	5		1.4156E2		
perlakuan 3	5			1.6332E2	
kelompok positif	5				1.7754E2
Sig.		.094	.971	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

