

**PENGARUH EKSTRAK ETANOL PEGAGAN
(*Centella asiatica*) TERHADAP PANJANG BADAN,
EKSPRESI *INSULIN LIKE GROWTH FACTOR-1* (IGF-
1) DAN *INSULIN RESEPTOR SUBSTRAT* (IRS)
PADA LARVA *ZEBRAFISH* (*Danio rerio*) MODEL
STUNTING DENGAN INDUKSI ROTENON**

TESIS

Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Magister



OLEH :
FITRA ARSY NUR CORY'AH
156070400111007

**PROGRAM STUDI MAGISTER KEBIDANAN
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS
BRAWIJAYA
MALANG
2017**

TESIS

**PENGARUH EKSTRAK ETANOL PEGAGAN
(*Centella asiatica*) TERHADAP PANJANG BADAN,
EKSPRESI *INSULIN LIKE GROWTH FACTOR-1* (IGF-
1) DAN *INSULIN RESEPTOR SUBSTRAT* (IRS)
PADA LARVA ZEBRAFISH (*Danio rerio*) MODEL
STUNTING DENGAN INDUKSI ROTENON**

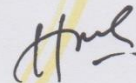
OLEH :
FITRA ARSY NUR CORY'AH
156070400111007

Dipertahankan didepan penguji
pada tanggal: 18 Agustus 2017
dan dinyatakan memenuhi syarat

KOMISI PEMBIMBING



Dr. dr. Nurdiana, M.Kes
NIP 195510151986032001
Ketua



Dr. Husnul Khotimah, S.Si. M.Kes
NIP 197511252005012001
Anggota

Malang, 25 AUG 2017



Dr. dr. Sri Andarini, M.Kes
NIP 195804141987012001

TESIS

**PENGARUH EKSTRAK ETANOL PEGAGAN
(*Centella asiatica*) TERHADAP PANJANG BADAN,
EKSPRESI *INSULIN LIKE GROWTH FACTOR-1* (IGF-
1) DAN *INSULIN RESEPTOR SUBSTRAT* (IRS)
PADA LARVA ZEBRAFISH (*Danio rerio*) MODEL
STUNTING DENGAN INDUKSI ROTENON**

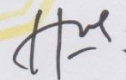
OLEH :
FITRA ARSY NUR CORY'AH
156070400111007

Dipertahankan didepan penguji
Pada tanggal: 18 Agustus 2017
dan dinyatakan memenuhi syarat

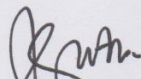
KOMISI PENGUJI



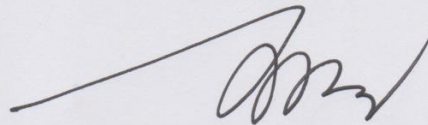
Dr. dr. Nurdiana, M.Kes
NIP 195510151986032001
Ketua



Dr. Husnul Khotimah, S.Si. M.Kes
NIP 197511252005012001
Anggota Penguji



Agustina Tri Endarti, S.Si, Ph.D
NIP 196908191998022001
Anggota Penguji



Dr. dr. I Wayan Arsana Wiyasa, SpOG (K)
NIP 195706301984121001
Anggota Penguji

IDENTITAS PENGUJI

1. Ketua Penguji (Pembimbing 1)

Nama : Dr.dr.Nurdiana, M.Kes

Devisi :Farmakologi Fakultas Kedokteran
Universitas Brawijaya Malang

2. Anggota Penguji (Pembimbing 2)

Nama : Husnul Khotimah, SSi.,M.Kes

Devisi :Farmakologi Fakultas Kedokteran
Universitas Brawijaya Malang

3. Anggota Penguji (Penguji 1)

Nama : Agustina Tri Endarti,S.Si.,Ph.D

Devisi :Parasitologi Fakultas Kedokteran
Universitas Brawijaya Malang

4. Anggota Penguji (Penguji 2)

Nama : Dr.dr.I Wayan Arsana Wiyasa,SpOG
(K)

Devisi :Obstetri dan Ginekologi Rumah Sakit
Dr. Saiful Anwar Malang

PERNYATAAN ORISINALITAS TESIS

Saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa sepanjang pengetahuan saya, di dalam Naskah TESIS ini tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan oleh orang lain untuk memperoleh gelar akademik di suatu Perguruan Tinggi, dan tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis di kutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka.

Apabila ternyata di dalam naskah TESIS ini dapat dibuktikan terdapat unsur-unsur PLAGIASI, saya bersedia tesis ini digugurkan dan gelar akademik yang telah saya peroleh (MAGISTER) dibatalkan, serta diproses sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku. (UU No. 20 Tahun 2003, Pasal 25 Ayat 2 dan pasal 70)

Malang, 18 Agustus 2017

Mahasiswa.



Nama : Fitra Arsy Nur Coryah
NIM : 156070400111007
PS : Magister Kebidanan
Fak : Kedokteran

DAFTAR RIWAYAT HIDUP

Fitra Arsy Nur Cory'ah, lahir di Surabaya, 25 Mei 1986. Anak ke tiga dari tiga bersaudara, putri dari bapak Ahmad Pribadi dan ibu Yayuk Eko Prapti Widiastuti. Lulus SD Negeri 1 Karang Jangkong Cakranegara tahun 1998, Lulus SMP Negeri 15 Mataram tahun 2001, Lulus SMA Negeri 5 Mataram tahun 2004. Melanjutkan pendidikan D-III Kebidanan di Poltekkes Depkes Mataram lulus tahun 2007. Melanjutkan pendidikan D-IV Bidan Pendidik lulus tahun 2012. Pada tahun 2015 melanjutkan pendidikan program studi Magister Kebidanan di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

Tahun 2007 sampai 2008 bekerja di Puskesmas Kediri Kabupaten Lombok Barat dan Klinik PKBI (Perkumpulan Keluarga Berencana Indonesia) Mataram. Tahun 2008 hingga sekarang penulis bekerja sebagai staf pengajar di Program Studi D-III dan D-IV Kebidanan Poltekkes Kemenkes Mataram.



UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan terimakasih yang tak terhingga atas semangat dan dukungan yang diberikan kepada berbagai pihak, sehingga Karya Tulis ini dapat terselesaikan dengan baik.

*Karya Ilmiah ini kutujukan kepada keluarga tercinta
Suamiku (dr. Wahyu Wirawan Triyono)
Kedua anakku (Faqih Haidar.A. Triyono & Fadya Auliya.A. Triyono)
Keluarga besarku (Sugeng Wiyono & Niek Moejatoen)*

RINGKASAN

Fitra Arsy Nur Cory'ah

Pengaruh Ekstrak Etanol Pegagan (*Centella asiatica*) terhadap Panjang Badan, Ekspresi *Insulin Like Growth Factor-1* (IGF-1) dan *Insulin Reseptor Substrat* (IRS) pada Larva *Zebrafish* (*Danio rerio*) Model *Stunting* dengan Induksi Rotenon. Program studi Magister Kebidanan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Ketua Komisi Pembimbing: Dr. dr. Nurdiana, M.Kes; Anggota: Dr. Husnul Khotimah, S.Si., M.Kes.

Stunting merupakan retardasi pertumbuhan linier (RPL) pada anak balita, karena malnutrisi jangka panjang. *Stunting* menurut standar baku dari WHO *Child Growth Standard* tahun 2010, didasarkan pada indikator pengukuran panjang badan dibanding umur atau tinggi badan dibanding umur dengan nilai (*z-score*) < -2 SD (Standar Deviasi). Riset Kesehatan Dasar 2013 mencatat prevalensi *stunting* nasional mencapai 37,2 %. Prevalensi *stunting* di Indonesia lebih tinggi daripada negara-negara lain di Asia Tenggara. Kriteria *stunting* adalah lahir dalam kondisi normal dan nampak pada usia 2 tahun. Faktor yang berpengaruh terhadap pertumbuhan dan perkembangan adalah faktor genetik dan faktor lingkungan. Faktor lingkungan yang berpengaruh adalah bahan kimia toksik, seperti pestisida atau bahan xenobiotik lainnya. menyebabkan gangguan sintesis, transport, metabolisme dan kerja hormon-hormon dalam tubuh. Sehingga meningkatkan resiko abnormal pada pertumbuhan dan perkembangan. Rotenone merupakan pestisida alami memiliki mekanisme kerja yaitu menghambat kompleks I mitokondria yang merupakan sumber ROS yang berakibat peningkatan tekanan oksidasi, ketersediaan ATP dan Kematian sel. Mekanisme *stunting* dapat dikaitkan dengan keadaan malnutrisi, gangguan pada hormon pertumbuhan dan inflamasi. Hormon pertumbuhan berperan menstimulasi pembentukan IGF-1 (*Insulin Like Growth Factor-1*) sebagai mediator pertumbuhan prenatal dan postnatal, pada otot, tulang rawan, dan diferensiasi tulang lainnya. Sedangkan IRS (*insulin reseptor substrat*) sebagai efektor, melaksanakan fungsi utama pada reseptor untuk transduksi sinyal, menghasilkan diferensiasi sel, proliferasi dan anti apoptosis, pengaturan metabolisme, umur dan ukuran organisme. Dua periode penting dalam menilai rendahnya *linear growth*, yaitu gangguan pertumbuhan intrauterine, serta rendahnya kadar IGF-1 dan inflamasi. *Centella asiatica* salah satu tanaman obat yang memiliki toksisitas rendah dan memiliki kandungan nutrisi lengkap yaitu makronutrien (karbohidrat, dan protein), Mikronutrien (vitamin dan mineral), serta fitonutrien (flavonoid, triterpen, karotenoid, alkaloid dan glikosida). *Centella asiatica* memiliki manfaat salah satunya mengandung senyawa bioaktif triterpenoid (*asiaticoside, medecacososida*) yang tinggi, sebagai antioksidan dan antiinflamasi mampu menghambat terjadinya reaksi oksidasi akibat paparan rotenon. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan model *stunting* larva *zebrafish* melalui induksi rotenon, dan mengetahui efek pemberian ekstrak *Centella asiatica* pada model *stunting* larva *zebrafish* yang diinduksi rotenone melalui ekspresi IGF-1 dan IRS, serta mengetahui hubungan ekspresi IGF-1 dengan IRS.

Metode penelitian ini adalah *true experimental laboratory in vivo*. Desain penelitian randomize *posttest only control group design* dengan random alokasi. Hewan coba yang digunakan adalah embrio *zebrafish* (*Danio rerio*) usia 0-9 dpf (*day post fertilization*), yang dibagi menjadi lima kelompok yaitu kelompok kontrol negatif (embrio normal); kelompok kontrol positif (embrio yang diinduksi rotenone 12,5 ppb); kelompok perlakuan 1,2 dan 3 secara berurutan(rotenon 12,5 ppb ditambah pegagan konsentrasi 1,25 µg/mL, 2,5 µg/mL dan 5 µg/mL). Pemberian rotenone dan pegagan dilakukan pada usia 2 hingga 72 hpf (*hour post fertilization*). Pengamatan panjang badan dan rasio panjang kepala dilakukan pada 3,6 dan 9 dpf dg *software image ruster* versi.3 dari *optilab* versi 2.2.1. Pada usia 9 dpf larva *zebrafish* diterminasi, selanjutnya dilakukan pengukuran ekspresi IGF-1 dan IRS dengan metode IHC (*Immunohistochemistry*) wholemount dengan pewarnaan DAB (*Diamino benzidine*). Selanjutnya dilakukan pengamatan dan kuantifikasi ekspresi melalui *integrated density* dengan *software image*

J versi 1.50. Analisis data menggunakan *software SPSS versi 18 dengan uji T-Test dan One Way Anova*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa, pada usia 3 dpf (analog bayi baru lahir) tidak ada perbedaan signifikan panjang badan antara semua kelompok (nilai p Value = 0,385). Sedangkan pada usia 6 dpf (analog usia 2 tahun) dan 9 dpf (analog usia 8 tahun) ada perbedaan signifikan panjang badan yaitu kelompok rotenon lebih pendek dibandingkan dengan kelompok kontrol dan kelompok pegagan ($p = 0,000$). Ekspresi IGF-1 mengalami penurunan signifikan pada kelompok rotenon ($p=0,000$), penambahan pegagan mampu meningkatkan ekspresi IGF-1 yang tergantung dosis. Peningkatan signifikan terjadi pada RP5 ($p=0,000$). Adanya kecenderungan peningkatan ekspresi IRS yang diberikan ekstrak pegagan, walaupun tidak berbeda signifikan dengan kelompok rotenon. Korelasi pemberian pegagan dengan IGF-1 didapatkan hubungan yang sangat kuat ($p=0,728$). Korelasi pemberian pegagan dengan IRS didapatkan hubungan yang lemah ($p=0,397$).

Dapat disimpulkan bahwa rotenon 12,5 ppb mampu menginduksi *stunting* pada larva *zebrafish*. Derajat kepercayaan 98%. Pemberian *Centella asiatica* mampu meningkatkan pertumbuhan panjang badan larva *zebrafish* melalui peningkatan ekspresi IGF-1 serta IRS pada konsentrasi 5 $\mu\text{g/mL}$.

SUMMARY

Fitra Arsy Nur Cory'ah

The Effect of Ethanolic Extract of Pegagan (*Centella asiatica*) on the Body Length, the Expression Insulin Like Growth Factor-1 (IGF-1) and Insulin Receptor Substrate (IRS) in Rotenone-Induced Zebrafish (*Danio rerio*) Larvae Stunting Model, Master of Midwifery Program, Faculty of Medicine, Universitas Brawijaya. Chairman of Supervisor Commission: Dr. dr. Nurdiana, M.Kes; Members: Dr.Husnul Khotimah, S.Si., M.Kes.

Stunting is linear growth retardation (RPL) in children under five, due to long-term malnutrition. Stunting according to WHO Child Growth Standard 2010, is based on an indicator of body length over age or height over age with a z-score < -2 SD (Standard Deviation). Primary Health Research 2013 records the national stunting prevalence is 37.2%. The Stunting criterion is born normally and it detected at 2 years old. The prevalence of stunting in Indonesia is higher than other countries in Southeast Asia. Factors that affect growth and development are genetic and environmental factors. An influential environmental factor is toxic chemicals, such as pesticides or other xenobiotic substances. Those cause disruption of synthesis, transport, metabolism and the work of hormones in the body. Therefore, it increases the risk of abnormal growth and development. Rotenone is a natural pesticide which mechanism inhibits complex I mitochondria, increasing of ROS, oxidative stress occurs, failure of production and cell death. Stunting mechanisms may be associated with malnutrition insufficiency of growth hormone and inflammatory disorders. Growth hormone stimulates the formation of IGF-1 (Insulin like Growth Factor-1) as a mediator of prenatal and postnatal growth, in muscle, cartilage, and other bone differentiation. While the IRS (insulin receptor substrate) as an effector performs major functions on receptors for signal transduction, produces cell differentiation, proliferation and anti-apoptosis, metabolic regulation, age and size of organism. The important periods in assessing low linear growth, i.e. intrauterine growth disorder, and low levels of IGF-1 and inflammation as well. *Centella asiatica* one of the medicinal plants with low toxicity and have a complete nutrient content including macronutrient (carbohydrate, and protein), micronutrients (vitamins and minerals) and phytonutrients (flavonoids, triterpenes, carotenoids, alkaloids and glycosides). *Centella asiatica* has other benefits of due to its bioactive compounds such as *triterpenoids* (*asiaticoside*, *medecasosside*) which has powerful anti-inflammatory and antioxidant that able to inhibit oxidative stress by rotenone exposure. This study aims to proved rotenone-induced zebrafish larvae stunting model through rotenone induction, observed the effects of *Centella asiatica* extract on rotenone-induced zebrafish larvae stunting model through the expression of IGF-1 and IRS, as well as determine the relationship of the expression of IGF-1 with the IRS.

This research method was true experimental laboratory in vivo. Research design randomized posttest only control group design with random allocation. The experimental animals used zebrafish (*Danio rerio*) ages 0-9 dpf, divided into five groups: the negative control group (normal embryo); Positive control group (rotenone induced embryo 12.5 ppb); Group of treatment were rotenone plus pegagan ,25 µg / mL, 2.5 µg / ml and 5 µg / L respectively. Administration of rotenone and *pegagan* was done at the age of 2 to 72 hpf. Body length and head length ratio were performed at 3.6 and 9 dpf with image ruster version.3 software from optilab version 2.2.1. At 9 dpf zebrafish larvae were terminated, subsequent measurement of the expression of IGF-1 and IRS by methods IHC (Immunohistochemistry) wholemount and stained with DAB (*diaminobenzidine*). Furthermore, the observation and quantification of expression through integrated density with image software J version 1.50. The analysis of data used SPSS software version 18 by through T-Test and One Way Anova analysis.

The results showed that, at 3 dpf (new born baby) there was no significant difference in body length among the groups ($p=0.113$). While at 6 dpf (analog to 2 years old) and 9 dpf (analog to 8 years old) there was a significant difference in length of the shorter rotenone group compared to the control group and pegagan group ($p = 0.000$).

Expression of IGF-1 significantly decreased on rotenone group ($p = 0.000$), the administration of pegagan could was the shortest length, increase the expression of IGF-1 depend on the dose, RP5 was measured significantly ($p = 0.000$). There was IRS expression was increased by administration of pegagan, but not significantly measured. The correlation of pegagan administration with IGF-1 was found to be very strong ($p = 0.728$). The correlation of pegagan administration with IRS was found to be weak relationship ($p = 0,397$).

It concluded that 12.5 ppb rotenone is could of induce stunting in zebrafish larvae. The degree of confidence is 98%. The administration of *Centella asiatica* was able to increase the growth of zebrafish larvae body length by increasing the expression of IGF-1 and IRS at 5 $\mu\text{g} / \text{mL}$ concentration.

KATA PENGANTAR

Dengan memanjatkan puji syukur kehadirat Allah SWT atas berkat rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis yang berjudul **“Pengaruh Ekstrak Etanol Pegagan (*Centella asiatica*) Terhadap Panjang Badan, Ekspresi *Insulin Like Growth Factor-1* (IGF-1) dan *Insulin Reseptor Substrat* (IRS) Pada Larva Zebrafish (*Danio rerio*) Model *Stunting* dengan Induksi Rotenon”**. Penulis menyampaikan rasa hormat dan terimakasih kepada semua pihak yang telah mendukung baik secara langsung maupun tidak langsung :

1. Prof. Dr. Ir. Mohammad Bisri, MS selaku Rektor Universitas Brawijaya Malang, beserta segenap jajarannya atas kesempatan dan fasilitas pendidikan yang diberikan selama menempuh studi di Program Magister Kebidanan, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya.
2. Dr. dr. Sri Andarini, M.Kes, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, atas ijin yang diberikan sehingga penulis dapat mengikuti pendidikan di Program Magister Kebidanan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya
3. Dr. dr. Bambang Rahardjo, SpOG (K), selaku Ketua Progran Studi Magister Kebidanan FKUB, yang telah memberikan dukungan selama mengikuti program Magister di Universitas Brawijaya Malang
4. Prof. Dr. dr. R. Muljohadi Ali, Sp.FK selaku ketua penelitian patomekanisme model *stunting* pada larva *zebrafish*
5. Dr. dr. Nurdiana M.Kes selaku pembimbing I, yang telah memberikan bimbingan, dukungan dan masukan dalam bidang ilmu kebidanan dan molekuler, untuk kesempurnaan penyusunan tesis ini .

6. Dr. Husnul Khotimah, S.Si., M.Kes selaku pembimbing II, yang telah memberikan perhatian, bimbingan, dukungan dan masukan dalam bidang ilmu kebidanan dan biologi molekuler, untuk kesempurnaan penyusunan tesis ini
7. Agustina Tri Endarti, S.Si, Ph.D, selaku penguji I yang telah memberikan masukan dalam bidang Biologi molekuler untuk kesempurnaan penyusunan tesis ini.
8. Dr. dr. I Wayan Arsana Wiyasa, SpOG (K), selaku penguji II yang telah memberikan masukan ilmu dalam bidang Kebidanan untuk kesempurnaan penyusunan tesis ini.
9. Wibi Riawan, S.Si. M.Biomed dan Ibu Ferrida, Selaku staf Laboratorium Biokimia dan Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang yang telah memberikan bimbingan selama pemeriksaan IHC dan ekstraksi pegagan.
10. Awan Dramawan, S.Pd.,M.Kes, selaku Direktur Poltekkes Kemenkes Mataram yang telah memberikan ijin dan dukungan dalam proses pendidikan di Magister Kebidanan Universitas Brawijaya Malang dan teman-teman jurusan kebidanan Poltekkes Kemenkes Mataram yang selalu menjadi penyemangat.
11. Badan PPSDM Kesehatan Kementerian Kesehatan RI, dalam memberikan bantuan pembiayaan selama tugas belajar dan penelitian.
12. Suamiku tercinta dr. Wahyu Wirawan Triyono, anak-anakku tercinta mas Faqih dan adek Lia yang telah memberikan semangat, dukungan, baik moril maupun materil dan menjadi motivasi saya untuk segera menyelesaikan tesis ini.
13. Mama Hj. Fitri Astuti, bapak drh. Wahyu Setiawan, Ibu drg. Murwani, tante endah, dek yusufa, dek hani, dek harits dan seluruh keluarga besar niek

moejatoen dan sugeng wiyono yang tidak bisa disebutkan satu persatu terimakasih atas bantuan dan dukungannya.

14. Terimakasih yang tak terhingga pada teman- teman group *stunting* (Vanda, Zakiah, Woro, Yuni, Linda dan Nita), yang telah banyak membantu dan mendukung proses penyelesaian tesis ini.
15. Teman-teman program studi Magister Kebidanan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang yang telah membantu dan memberikan motivasi selama menempuh pendidikan.
16. Kepada seluruh dosen dan staf administrasi (mbak Tria dan mbak Eka) Magister Kebidanan FKUB dan semua pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu, yang terkait proses penyelesaian tesis ini.

Sangat disadari bahwa masih banyak kekurangan dan keterbatasan sehingga, kritik dan saran saya harapkan agar tesis ini dapat digunakan dan dapat lebih bermanfaat dalam menunjang perkembangan keilmuan, dan peningkatan pelayanan kebidanan terhadap masyarakat luas.

Malang, Agustus 2017

Penulis

DAFTAR ISI

LEMBAR PERSETUJUAN -----	ii
LEMBAR PENGESAHAN-----	iii
PERNYATAAN ORISINALITAS TESIS -----	iv
HALAMAN PERUNTUKAN -----	v
RINGKASAN -----	vi
SUMMARY -----	viii
KATA PENGANTAR -----	x
DAFTAR ISI -----	xiii
DAFTAR TABEL -----	xvii
DAFTAR GAMBAR -----	xviii
DAFTAR LAMPIRAN -----	xx
DAFTAR SINGKATAN -----	xxi
BAB 1 PENDAHULUAN -----	1
1.1 Latar Belakang -----	1
1.2 Rumusan Masalah-----	6
1.2.1 Umum-----	6
1.2.2 Khusus-----	6
1.3 Tujuan Penelitian -----	6
1.3.1 Tujuan Umum -----	6
1.3.2 Tujuan Khusus -----	7
1.4 Manfaat Penelitian -----	7
1.4.1 Manfaat Akademik -----	7
1.4.2 Manfaat Praktik -----	7
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA -----	9
2.1. <i>Stunting</i> -----	9
2.1.1 Pengertian <i>Stunting</i> -----	9
2.1.2 Faktor Resiko <i>Stunting</i> -----	11
2.1.3 Mekanisme <i>Stunting</i> -----	12
2.1.4 Efek <i>Stunting</i> Jangka Pendek dan Panjang -----	14
2.2. Rotenon -----	15
2.2.1. Karakteristik Fitokimia Rotenon-----	15
2.2.2. Efek Toksikologi Rotenon-----	17
2.2.3. Mekanisme Kerja Rotenon-----	20
2.3. <i>Growth Hormone</i> (GH)-----	25
2.4. IGF-1 (<i>Insulin like growth factor-1</i>)-----	27

2.4.1.	Pengertian IGF-1-----	27
2.4.2.	Struktur IGF-1-----	28
2.4.3.	Fungsi IGF-1-----	28
2.4.4.	Kadar IGF-1-----	29
2.4.5.	Jalur Molekuler IGF-1-----	29
2.5.	IGF-1R (<i>Insulin Like Growth Factor-1</i> Reseptor)-----	31
2.6.	IRS (<i>Insulin Reseptor Substrat</i>)-----	31
2.6.1.	Pengertian IRS-----	31
2.6.2.	Fungsi IRS-----	31
2.7.	Kaitan <i>Growth Hormone</i> , IGF-1 dan IGF-1 Reseptor yang Memediasi Pertumbuhan-----	32
2.8.	Kaitan IGF-1 dan IRS dengan <i>Stunting</i> -----	33
2.9.	Pegagan (<i>Centella asiatica</i>)-----	36
2.9.1.	Klasifikasi Pegagan-----	36
2.9.2.	Habitat dan Morfologi Pegagan-----	37
2.9.3.	Kandungan Pegagan-----	39
2.9.4.	Manfaat Utama Pegagan dalam Kesehatan-----	42
2.9.5.	Efek Farmakologi Pegagan-----	42
2.9.6.	Kaitan Stress Oksidatif dengan Aktivitas Antioksidan Pegagan-----	45
2.10.	<i>Zebrafish</i> (<i>Danio rerio</i>)-----	46
2.10.1.	Karakteristik <i>Zebrafish</i> -----	46
2.10.2.	Perkembangan <i>Zebrafish</i> -----	47
2.10.3.	Faktor Lingkungan yang Mempengaruhi Perkembangan <i>Zebrafish</i> -----	52
2.10.4.	Perawatan <i>Zebrafish</i> -----	54
2.10.5.	<i>Zebrafish</i> Sebagai Hewan Coba-----	54
2.10.6.	<i>Zebrafish</i> Sebagai Model Penelitian Biomedis-----	55
BAB 3 KERANGKA TEORI DAN KONSEP PENELITIAN-----		60
3.1.	Kerangka Teori-----	60
3.2.	Kerangka Konsep-----	61
3.3.	Penjelasan Kerangka Konsep-----	62
3.4.	Hipotesis-----	63
BAB 4 METODE PENELITIAN-----		65
4.1.	Desain Penelitian-----	65
4.2.	Populasi dan Sampel Penelitian-----	65
4.2.1.	Populasi Penelitian-----	65
4.2.2.	Sampel Penelitian-----	66
4.3.	Tempat dan Waktu Penelitian-----	66
4.3.1.	Tempat Penelitian-----	66
4.3.2.	Waktu Penelitian-----	66
4.4.	Variabel Penelitian-----	67
4.5.	Kriterian Inklusi dan Eksklusi-----	67
4.6.	Definisi Operasional-----	67
4.7.	Pengolahan dan Analisis Data-----	69
4.8.	Alat dan Bahan-----	70
4.8.1.	Alat dan Bahan Pemeliharaan <i>Zebrafish</i> -----	70
4.8.2.	Alat dan Bahan Pembuatan Ekstrak Pegagan-----	71
4.8.3.	Alat dan Bahan Pembuatan Medium Embrionik (E3)--	71

4.8.4.	Alat dan Bahan Pengukuran Ekspresi IGF-1 -----	71
4.8.5.	Alat dan Bahan Pengukuran Ekspresi IRS-----	71
4.9.	Prosedur Penelitian -----	72
4.9.1.	Persiapan Fertilisasi dan Perawatan Embrio-----	72
4.9.2.	Pembuatan Embrionik Medium-----	73
4.9.3.	Pembuatan Larutan Rotenon -----	73
4.9.4.	Pembuatan Ekstrak Pegagan-----	74
4.9.5.	Pembuatan Larutan Pegagan-----	75
4.9.6.	Pemberian Larutan Rotenon dan Ekstrak Pegagan ---	76
4.9.7.	Pengukuran Panjang Badan dan Rasio Panjang Kepala -----	78
4.9.8.	Pengukuran dan Pengamatan Ekspresi IGF-1 dan IRS -----	79
4.10.	Alur Penelitian-----	81
BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA -----		82
5.1.	Hasil Studi Eksplorasi Konsentrasi Rotenon untuk Memberikan Efek Stunting-----	82
5.2.	Model <i>Stunting</i> Larva <i>Zebrafish</i> -----	83
5.3.	Pengaruh Pemberian Pegagan Terhadap Panjang Badan Larva <i>Zebrafish</i> -----	84
5.4.	Pengaruh Pemberian Rotenon dan Pegagan Terhadap Ekspresi IGF-1 pada Larva <i>Zebrafish</i> -----	86
5.5.	Pengaruh Pemberian Rotenon dan Pegagan Terhadap Ekspresi IRS pada Larva <i>Zebrafish</i> -----	89
5.6.	Hubungan Antara Panjang Badan dengan Pemberian Pegagan pada Larva <i>Zebrafish</i> -----	91
5.7.	Hubungan Antara Ekspresi IGF-1 dan Ekspresi IRS dengan Panjang Badan, Hubungan Antara Pegagan dengan Ekspresi IGF-1 dan Ekspresi IRS, Serta Hubungan antara Ekspresi IGF-1 dengan Ekspresi IRS pada Larva <i>Zebrafish</i> -----	92
5.7.1.	Hubungan antara Ekspresi IGF-1 dengan Panjang Badan-----	92
5.7.2.	Hubungan antara Ekspresi IRS dengan Panjang Badan-----	92
5.7.3.	Hubungan antara Pegagan dengan Ekspresi IGF-1--	93
5.7.4.	Hubungan antara Pegagan dengan Ekspresi IRS ----	93
5.7.5.	Hubungan antara Pegagan Ekspresi IGF-1 dengan Ekspresi IRS pada Larva <i>Zebrafish</i> Usia 9 dpf Yang diinduksi Rotenon dan Ekstrak Pegagan -----	94
BAB 6 PEMBAHASAN -----		95
6.1.	Penentuan Model <i>Stunting</i> Larva <i>Zebrafish</i> -----	95
6.2.	Pengaruh Pemberian Pegagan Terhadap Panjang Badan Larva <i>Zebrafish</i> -----	98
6.3.	Pengaruh Pemberian Rotenon dan Pegagan Terhadap Ekspresi IGF-1 pada Larva <i>Zebrafish</i> -----	100
6.4.	Pengaruh Pemberian Rotenon dan Pegagan Terhadap Ekspresi IRS pada Larva <i>Zebrafish</i> -----	103

6.5. Hubungan antara Panjang Badan dengan Pemberian Rotenon dan Pegagan pada Larva <i>Zebrafish</i> -----	104
6.6. Hubungan antara Ekspresi IGF-1 dan Ekspresi IRS dengan Panjang Badan, Hubungan antara Pegagan dengan Ekspresi IGF-1 dan Ekspresi IRS, Serta Hubungan antara Ekspresi IGF-1 dengan Ekspresi IRS pada Larva <i>Zebrafish</i> usia 9 dpf-----	106
6.7. Implikasi Asuhan Kebidanan Berdasarkan Hasil Penelitian ---	110
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN -----	113
7.1. Kesimpulan -----	113
7.2. Saran -----	113
DAFTAR PUSTAKA-----	115
LAMPIRAN -----	131
RIWAYAT HIDUP-----	161

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Klasifikasi Pegagan	36
Tabel 2.2	Hasil Ekstrak <i>Centella asiatica</i> , Kandungan Kimia dan Penggunaanya	40
Tabel 2.3	Komposisi Nutrisi yang Terkandung dalam <i>Centella asiatica</i> .	41
Tabel 2.4	Klasifikasi <i>Zebrafish</i> (<i>Danio rerio</i>).....	47
Tabel 2.5	Tahap Perkembangan <i>Zebrafish</i> (<i>Danio rerio</i>).....	49
Tabel 4.1	Koefisien Korelasi.....	70
Tabel 4.2	Konsentrasi Pegagan dan Rotenon	77
Tabel 5.1	Perbandingan Rerata Panjang Badan (mm) Larva <i>Zebrafish</i> usia 3,6 dan 9 dpf antara Kelompok Kontrol Dengan Kelompok Rotenon	83
Tabel 5.2	Perbandingan Rerata Panjang Badan (mm) Larva <i>Zebrafish</i> usia 3, 6 dan 9 dpf antara Kelompok Kontrol, Kelompok Rotenon dan Kelompok Perlakuan Rotenon + Pegagan Konsentrasi (1.25,2.5 Dan 5µg/Ml	85
Tabel 5.3	Rasio Panjang Kepala dan Panjang Badan (PK:PB) Larva <i>Zebrafish</i> usia 3, 6 dan 9 dpf, Antara Kelompok Kontrol dengan Kelompok Rotenon	86
Tabel 5.4	Hasil Analisis Statistic Uji <i>Pearson Correlation</i> Panjang Badan dengan Konsentrasi Pegagan (RP1.25,RP2.5 Dan RP5) pada Larva <i>Zebrafish</i> usia 9 dpf	91
Tabel 5.5	Hasil Analisis Statistik Uji <i>Pearson Correlation</i> IGF-1 dengan Panjang Badan pada Larva <i>Zebrafish</i> usia 9 dpf	92
Tabel 5.6	Hasil Analisis Statistic Uji <i>Pearson Correlation</i> IRS dengan Panjang Badan pada Larva <i>Zebrafish</i> Usia 9 dpf.....	92
Tabel 5.7	Hasil Analisis Statistic Uji <i>Pearson Correlation</i> Konsentrasi Pegagan (RP1.25,RP2.5 dan RP5) dengan Ekspresi IGF-1 pada Larva <i>Zebrafish</i> usia 9 dpf	93
Tabel 5.8	Hasil Analisis Statistic Uji <i>Pearson Correlation</i> Konsentrasi Pegagan (RP1.25,RP2.5 Dan RP5) dengan Ekspresi IRS pada Larva <i>Zebrafish</i> usia 9 dpf	93
Tabel 5.9	Hasil Analisis Statistic Uji <i>Pearson Correlation</i> Konsentrasi Ekspresi IGF-1 dengan IRS pada Larva <i>Zebrafish</i> usia 9 dpf	94

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Grafik <i>Growth Chart</i> (WHO) untuk Menentukan <i>Stunting</i>	10
Gambar 2.2 Teknik Pengukuran Panjang Badan dan Tinggi Badan	10
Gambar 2.3 <i>Stunting</i> Sindrom.....	12
Gambar 2.4 Kaitan Antara <i>Stunting</i> , Obesitas, Hipertensi dan Diabetes....	13
Gambar 2.5 Faktor Resiko <i>Stunting</i>	15
Gambar 2.6 Struktur Molekul Rotenon.....	17
Gambar 2.7 Proses Pemindahan Molekul secara Difusi Pasif	21
Gambar 2.8 Bagian-Bagian dari Mitokondria	21
Gambar 2.9 Proses Pembentukan Adenosine Triposphat (ATP)	22
Gambar 2.10 Mekanisme Kerja Rotenon	23
Gambar 2.11 Produksi ROS oleh Mitokondria	24
Gambar 2.12 Sekresi dan Aksi <i>Growth Hormone</i>	26
Gambar 2.13 Struktur IGF-1 pada Manusia	28
Gambar 2.14 Jalur Sinyal Transduksi IGF-1 dan Pi3K/MAPK.....	30
Gambar 2.15 IGF-1 Reseptor	31
Gambar 2.16 Skema Regulasi <i>Endocrine</i> pada Pertumbuhan	33
Gambar 2.17 Peran IGF-1 dengan IRS.....	34
Gambar 2.18 Penampilan Fisik (<i>Centella asiatica (L) Urban</i>).....	36
Gambar 2.19 Morfologi <i>Zebrafish (Danio rerio)</i>	47
Gambar 2.20 Teknik Pengukuran Panjang <i>Zebrafish</i>	52
Gambar 2. 21 Efek Toksis pada <i>Zebrafish</i> yang Dipapar Bahan Kimia	58
Gambar 3.1 Kerangka Teori Penelitian	60
Gambar 3.2 Kerangka Konsep Penelitian	61
Gambar 4.1 Pengukuran Panjang Badan dan Rasio Panjang Kepala.....	78
Gambar 4.2 Pengukuran dan Pengamatan Ekspresi IGF-1 dan IRS	80

Gambar 4.3 Alur Penelitian.....	81
Gambar 5.1 Grafik Nilai Rerata Panjang Badan Larva <i>Zebrafish</i> Usia 3,6 dan 9 dpf Antara Kelompok Kontrol dengan Rotenon	83
Gambar 5.2 Grafik Perbedaan Rerata Panjang Badan Larva <i>Zebrafish</i> pada usia 3,6 dan 9 dpf	85
Gambar 5.3 Perbedaan Ekspresi IGF-1 pada Larva <i>Zebrafish</i> usia 9 dpf diinduksi Rotenon dan Ekstrak Pegagan dengan Berbagai Konsentrasi	87
Gambar 5.4 Histogram Perbandingan Ekspresi IGF-1 dengan Metode IHC <i>Wholemout</i> pada Larva <i>Zebrafish</i> usia 9 dpf antara Kelompok Kontrol, Kelompok Rotenon dan Kelompok Ekstrak Pegagan	88
Gambar 5.5 Perbedaan Ekspresi IRS antara Kelompok Rotenon Dengan Kelompok Perlakuan Rotenon dan Ekstrak Pegagan dengan berbagai Konsentrasi pada Larva <i>Zebrafish</i> usia 9 dpf.....	89
Gambar 5.6 Histogram Perbandingan Ekspresi IRS dengan Metode IHC <i>Wholemout</i> pada Larva <i>Zebrafish</i> usia 9 dpf antara Kelompok Kontrol, Rotenon dan Kelompok Ekstrak Pegagan	90