

**PENGARUH TERAPI TEPUNG TAPIOKA TERHADAP  
KADAR MDA DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI  
DUODENUM PADA TIKUS (*Rattus norvegicus*)  
MODEL INFLAMMATORY BOWEL DISEASE  
HASIL INDUKSI INDOMETASIN**

**SKRIPSI**

Oleh:

VANNESLYA LEIWAKABESSY

155130120111002



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

**PENGARUH TERAPI TEPUNG TAPIOKA TERHADAP  
KADAR MDA DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI  
DUODENUM PADA TIKUS (*Rattus norvegicus*)  
MODEL INFLAMMATORY BOWEL DISEASE  
HASIL INDUKSI INDOMETASIN**

**SKRIPSI**

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh:

**VANNESLYA LEIWAKABESSY**

**155130120111002**



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

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

**PENGARUH TERAPI TEPUNG TAPIOKA TERHADAP  
KADAR MDA DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI  
DUODENUM PADA TIKUS (*Rattus norvegicus*)  
MODEL INFLAMMATORY BOWEL DISEASE  
HASIL INDUKSI INDOMETASIN**

Oleh :

**VANNESLYA LEIWAKABESSY**

NIM. 155130120111002

Pembimbing I

Pembimbing II



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

**Wibi Riawan, S.Si.M.Biomed**  
NIP. 197701312005011001

Mengetahui,  
Dekan Fakultas Kedokteran Hewan  
Universitas Brawijaya

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

## LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Vanneslya Leiwakabessy

NIM : 155130120111002

Program Studi : Pendidikan Kedokteran Hewan

Penulis Skripsi berjudul : Pengaruh Terapi Tepung Tapioka Terhadap Kadar MDA dan Gambaran Histopatologi Duodenum Tikus (*Rattus norvegicus*) Model Inflammatory Bowel Disease Hasil Induksi Indometasin.

Dengan ini menyatakan bahwa :

1. Isi dari skripsi yang saya buat adalah benar-benar karya saya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang termaksud di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini.
2. Apabila dikemudian hari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya akan bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, 29 Agustus 2019

Yang menyatakan,

**(Vanneslya Leiwakabessy)**

**NIM. 155130120111002**

**Pengaruh Terapi Tepung Tapioka Terhadap Kadar MDA dan Gambaran  
Histopatologi Duodenum pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Model  
Inflammatory Bowel Disease Hasil Induksi Indometasin**

**ABSTRAK**

*Inflammatory Bowel Disease* merupakan penyakit yang berkaitan dengan inflamasi pada saluran pencernaan yang dapat menimbulkan gejala seperti feses berdarah, nyeri perut, takikardia, dan anemia. IBD dapat disebabkan salah satunya dengan adanya stres oksidatif dari induksi NSAIDs seperti indometasin. Adanya kerusakan jaringan dapat dilihat dari peningkatan kadar Malondialdehida (MDA) dan perubahan pada mukosa duodenum. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh terapi tepung tapioka terhadap kadar Malondialdehida (MDA) dan histopatologi duodenum pada tikus (*Rattus norvegicus*). Penelitian ini dibagi menjadi 5 kelompok, yang terdiri dari kelompok kontrol negatif , kelompok kontrol positif, kelompok P1 (tikus IBD dengan terapi dosis 0,9 mg/kg BB), kelompok P2 (tikus IBD dengan terapi dosis 1,8 mg/kg BB) , dan kelompok P3 (tikus IBD dengan terapi dosis 3,6 mg/kg BB). Pengukuran kadar MDA duodenum diukur dengan menggunakan uji asam tiobarbiturat (TBA) yang diukur secara spektrofotometri. Gambaran histopatologi duodenum diamati secara kualitatif menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400x. Analisis data menggunakan *One Way Anova (Analysis of Variance)* dengan taraf kepercayaan 95% dan dilanjutkan dengan uji BNJ. Hasil penelitian menunjukan bahwa pemberian terapi tepung tapioka dapat menurunkan kadar MDA duodenum dengan signifikan ( $P>0,01$ ) hingga mencapai rata-rata  $261,89 \pm 28,41$  dengan peningkatan 49,306%. Gambaran histopatologi menunjukan bahwa indometasin dapat memicu inflamasi ditandai dengan erosi vili, adanya edema, dan infiltrasi sel radang. Pemberian tepung tapioka dapat memperbaiki inflamasi di duodenum.

**Kata Kunci :** IBD, MDA, tepung tapioka, duodenum

# The Induct of Tapioca Flour Therapy Toward MDA Levels and Duodenum Histopathology on Rats (*Rattus norvegicus*) Inflammatory Bowel Disease

## Induct on Indomethacin

### ABSTRACT

*Inflammatory Bowel Disease* is an inflammatory disease of the digestive tract that can cause symptoms such as bloody stools, abdominal pain, fever, tachycardia, and anemia. IBD can be caused either by the presence of oxidative stress from the induction of NSAIDs such as indomethacin. The presence of tissue damage can be seen from increased levels of Malondialdehyde (MDA) and changes in the duodenal mucosa. This study aimed to determine the effect of tapioca flour therapy on levels of Malondialdehyde (MDA) and duodenal histopathology in white rats (*Rattus norvegicus*). This study was divided into 5 groups, which consisted of negative control group, positive control group, P1 group (IBD rats with therapeutic dose 0.9 mg / kg BW), P2 group (IBD rats with dose therapy 1,8 mg / kg BW), and P3 group (IBD rats with therapeutic dose of 3.6 mg / kg BW). The measurement of MDA levels was measured using the thiobarbituric acid (TBA) test which was measured by spectrophotometry. Duodenal histopathology description was observed qualitatively using a microscope with 400x magnification. Data analysis using One Way Anova (Analysis of Variants). The results showed that administration of tapioca flour can reduce MDA levels significantly ( $P > 0.01$ ) to reach an average of  $261.89 \pm 28.41$  with an increase of 49.306%. Histopathological features show that indomethacin can trigger inflammation characterized by villous erosion, edema, and inflammatory cell infiltration. Giving tapioca flour can improve inflammation in the duodenum.

**Keywords:** IBD, MDA, tapioca flour, duodenum

## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kepada Tuhan yang Maha Esa, Pengasih dan Maha Penyayang karena berkat Kebaikan dan Kasih SayangNya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Terapi Tepung Tapioka Terhadap Kadar MDA dan Gambaran Histopatologi Duodenum pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Model Inflammatory Bowel Disease Hasil Induksi Indometasin”. Melalui tulisan ini, penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada seluruh pihak yang telah membantu penulisan skripsi :

1. Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES., selaku pembimbing I dan Wibi Riawan S,si.M.Biomed selaku pembimbing II yang telah mengarahkan, memberi bimbingan, kesabaran, kritik, saran, dan waktu selama penelitian dan penulisan sampai penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik
2. drh.Ani Setianingrum M.Sc selaku dosen penguji I dan drh.Albiruni Haryo M.Sc selaku dosen penguji II yang telah memberi kritik dan saran yang sangat membangun.
3. Dr.Ir.Sudarminto Setyo Yuwono, M.App.Sc selaku dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya (FKH UB).
4. Untuk Keluarga saya kedua orang tua yang sangat saya cintai dan hormati Bapak Valentino dan Ibu Ines dan juga untuk adik saya Nevaldo yang terus memberikan dukungan, nasehat, dan motivasi hingga sampai saat ini penulis tetap kuat dan bersemangat dalam menyelesaikan studi.
5. Untuk Keluarga saya yang berada di Malang, Om Nikson dan Tante Wiwin, Adik Agatha , Franco, dan Marco terimakasih atas waktu , dukungan masukan dan nasihat yang diberikan sejak penulis masih mahasiswa baru sampai saat ini penulis dapat menyelesaikan studi
6. Teman-teman satu tim penelitian, Zahrania Marsha, Dyah Pramesthi, dan Melita Nono Lebang terimakasih untuk kekompakan dan kerjasamanya.

7. Nathania Aryani dan Syasya Yusrina terimakasih dorongannya selama ini, sudah menjadi pendengar yang baik untuk keluh kesah penulis selama proses penyelesaian skripsi.
8. Rina Andriyani , Agam Yudha Pratama terimakasih telah memberikan motivasi dan dorongan positif dalam mengerjakan skripsi ini.
9. Pak Basyar yang sudah berkenan untuk mengizinkan kelompok kami dapat melaksanakan penelitian selama kurang lebih satu bulan di Laboratorium Fisiologi Hewan Universitas Islam Maulana Malik Ibrahim Malang.
10. Pak Budi yang sudah berkenan membimbing saya untuk membuat kadar MDA di Laboratorium Faal Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
11. Pak Mijan yang sudah membantu untuk pembuatan preparat histopatologi duodenum di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
12. Teman-teman PMK Veteriner, DNA dan Kabinet Asique atas saran, dukungan, kerjasama, dan doa.
13. Serta kepada semua pihak yang telah membantu dalam pelaksanaan dan penyusunan skripsi ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu

Penulis menyadari bahwa skripsi ini jauh dari kata sempurna.Untuk itu saran dan kritik yang membangun sangat diharapkan.Akhir kata, penulis berharap semoga Tuhan Yang Maha Esa membala segala kebaikan yang telah diberikan kepada penulis dan semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat serta menambah pengetahuan tidak hanya bagi penulis tetapi juga bagi pembaca.Amin.

Malang, 29 Agustus 2019

Penulis

<b>DAFTAR ISI</b>	
<b>HALAMAN JUDUL.....</b>	<b>i</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN.....</b>	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN.....</b>	<b>iii</b>
<b>ABSTRAK.....</b>	<b>v</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>vi</b>
<b>KATA PENGANTAR.....</b>	<b>vii</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>ix</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>xiv</b>
<b>DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG .....</b>	<b>xv</b>
<b>BAB 1 PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusah Masalah.....	4
1.3 Batasan Masalah .....	4
1.4 Tujuan.....	5
1.5 Manfaat.....	5
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>7</b>
2.1 <i>Inflammatory Bowel Disease</i> .....	7
2.2 Histopatologi Duodenum.....	9
2.3 Indometasin.....	12
2.4 Tikus Putih.....	14
2.5 Singkong .....	16
2.6 Tepung Tapioka .....	18
2.7 Malondialdehida .....	20

<b>BAB III KERANGKA KONSEP.....</b>	<b>22</b>
3.1Kerangka Konseptual.....	22
3.2 Hipotesa Penelitian .....	25
<b>BAB IV METODOLOGI PENELITIAN .....</b>	<b>26</b>
4.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	26
4.2 Alat dan Bahan .....	26
4.3 Tahapan Penelitian.....	27
4.3.1 Penetapan Sampel Penelitian.....	27
4.3.2 Rancangan Penelitian .....	28
4.4 Variabel Penelitian.....	28
4.5 Tahapan Penelitian .....	28
4.5.1 Persiapan Hewan Coba.....	28
4.5.2 Persiapan Indometasin.....	29
4.5.3 Persiapan Tepung Tapioka .....	30
4.5.4 Pembedahan Tikus.....	31
4.5.5 Pembuatan Preparat Histopatologi .....	31
4.5.5.1 Fiksasi .....	31
4.5.5.2 Dehidrasi .....	31
4.5.5.3 Clearing .....	32
4.5.5.4 Infiltrasi .....	32
4.5.5.5 Embedding dan Blocking.....	32
4.5.5.6 Sectioning.....	32
4.5.5.7 Pewarnaan Hematoxylin-Eosin.....	33
4.5.5.8 Mounting .....	33
4.5.5.9 Pengamatan Preparat Histopatologi .....	34
4.5.5.10 Pengukuran Kadar MDA.....	34
4.6 Analisa Data.....	35

<b>BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>36</b>
5.1 Pengaruh Terapi Tepung Tapioka Terhadap Kadar MDA .....	36
5.2 Pengaruh Terapi Tepung Tapioka Terhadap Histopatologi .....	41
<b>BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>48</b>
6.1 Kesimpulan.....	48
6.2 Saran .....	48
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>49</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>56</b>



**DAFTAR TABEL**

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
2.1 Skoring Tingkat Rasa Nyeri.....	14
2.2 Kandungan Gizi Tepung Tapioka .....	19
5.1 Hasil Pengujian Kadar MDA Duodenum .....	37
5.2 Skoring Kerusakan Duodenum .....	42



**DAFTAR GAMBAR**

<b>Gambar</b>	<b>Halaman</b>
2.1 Histopatologi Duodenum.....	11
2.2 Tikus Putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ).....	15
2.3 Singkong.....	17
5.1 Grafik Pengukuran Kadar MDA Duodenum.....	37
5.2 Histopatologi Duodenum Tikus Kelompok Kontrol Negatif.....	42
5.3 Histopatologi Duodenum Tikus Kelompok Kontrol Positif.....	43
5.4 Histopatologi Duodenum Tikus Kelompok P1.....	44
5.5 Histopatologi Duodenum Tikus Kelompok P2.....	45
5.6 Histopatologi Duodenum Tikus Kelompok P3.....	46

**DAFTAR LAMPIRAN**

<b>Lampiran</b>	<b>Halaman</b>
1.Laik Etik .....	57
2.Kerangka Operasional Penelitian .....	58
3.Alur Pemeriksaan Kadar MDA .....	59
4.Uji Homogenitas dan Normalitas Kadar Duodenum .....	60
5.Uji One-way Anova Kadar MDA .....	61
6.Pemeriksaan Kadar MDA .....	64
7. Dokumentasi Kegiatan .....	65

## DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

% = Persen

< = Kurang dari

$\mu\text{g}$  = Mikrogram

BB = Berat Badan

BNF = Buffer Neutral Formalin

CD = *Crohn Disease*

CM = Centimeter

COX 1 = Cyclooxygenase -1

COX 2 = Cyclooxygenase -2

G = Gram

IBD = *Inflammatory Bowel Disease*

Kg = Kilogram

M = Miligram

M = Mucosa

MDA = Malondialdehida

ME = Muscularis Externa

Mg = Miligram

MI = Miligram

NSAIDs =*Non Steroid Anti Inflamasi Drugs*

OAINS = *Anti Inflamasi Nonsteroid*

PBS = Phospat Buffered Saline



PUFA = *Polyunsaturated Fatty Acid*

RAL = Rancangan Acak Lengkap

ROS = *Reactive Oxygen Species*

SM = Submucosa

UC = *Ulcerative Colitis*

V = Vili

$\mu\text{g}$  = Mikrogram



## BAB I PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

*Inflammatory Bowel Disease* (IBD) merupakan kelompok inflamasi kronik idiopatik pada saluran pencernaan. IBD dibagi menjadi dua subtipe klinis, yaitu Croh'n Disease (CD) dan Ulcerative Colitis (UC). CD merupakan inflamasi yang terjadi pada bagian saluran pencernaan seperti, mulut, esophagus, perut dan usus halus, sedangkan UC hanya pada lapisan usus besar dan rectum (Ju, 1998). Faktor genetik dan lingkungan seperti bakteri luminal dan peningkatan permeabilitas usus memainkan peran utama dalam disregulasi imunitas usus yang menyebabkan cedera gastrointestinal ( Bernstein *et al.*, 2015).

Proses patogenesis IBD, secara umum disebabkan oleh infeksi pada saluran pencernaan karena adanya pemicu seperti bakteri dan virus (Achkar, 2000). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa penyebab IBD yang lain adalah pemakaian obat anti-inflamasi non steroid (*non steroidal anti inflammatory drug*, NSAID), seperti indometasin (Podolsky, 2002). Hal ini dikarenakan indometasin mampu menhambat enzim siklookksigenase (COX) 1 yang berfungsi pada sintesis PGE dan produksi mukus (lendir) untuk melindungi mukosa usus halus dari serangan bakteri dan virus penyebab infeksi (Achkar, 2000).

Indometasin terbukti meningkatkan produksi *reactive oxygen species* (ROS) yaitu radikal  $O_2^-$ , OH dan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> yang berasal dari lepasnya elektron dari

sisi spesifik rantai transport elektron, proses oksidasi indometasin, desmetildeskloro-benzoil-indometasin (DMBI) menjadi imunokuinon serta aktivasi neutrofil dan makrofag (proses fagositosis) (Maity et al.,2008)

Indometasin meningkatkan kadar malondialdehid (MDA) serta menurunkan aktivitas enzim superoksida (SOD), glutation (GSH) peroksidase dan glutation reduktase yang merupakan parameter dari stress oksidatif (Basivirreddy et al., 2004).

Pengobatan IBD secara konvensional dilakukan dengan pemberian obat-obatan dari jenis kortison (steroid), anti-inflamasi, penekan sistem imun dan antibiotik. Selain itu, terdapat pula terapi herbal menggunakan tanaman yang berpotensi sebagai obat seperti ekstrak etanol dan metanol *Flos lonicerae* (jenis teh) dan ekstrak metanol *Rhizoma bletillae* (jenis anggrek) yang kaya dengan kandungan polifenol sebagai antioksidan (Wu, 2010).

Tepung tapioka dari ketela pohon (*manihot utilissima*) berpotensi sebagai obat yang berguna untuk kesehatan, Ketela pohon atau lebih dikenal dengan ubi kayu merupakan tanaman pangan berupa perdu yang berasal dari benua Amerika, memiliki nama lain singkong, kasepe, dan *cassava*. Ubi kayu mengandung senyawa fenol yang memiliki aktivitas antioksidan (Yi et al., 2010) Umbi ubi dimanfaatkan sebagai sumber karbohidrat dan daunnya dikonsumsi sebagai sayuran.Menurut penelitian Gagola (2014), ekstrak korteks umbi ubi kayu daging putih dan daging kuning mengandung total fenolik berturut-turut  $48,87 \pm 0,057$  dan  $56,43 \pm 0,174$  mg/kg sedangkan aktivitas penangkal radikal bebas dengan metode

DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) menunjukkan bahwa ekstrak korteks umbi ubi kayu daging kuning memiliki aktivitas penangkal radikal bebas yang lebih tinggi dari ekstrak daging putih. Kandungan senyawa fenolik inilah yang sangat berperan dan berkontribusi banyak terhadap aktivitas antioksidan dari singkong dan bisa digunakan sebagai bahan antioksidan alami atau bahan antioksidan sintetis alternatif (Yi, et al., 2010).

Secara umum umbi kayu atau singkong dapat digunakan untuk mengobati demam, diare, penyembuhan luka, dan meningkatkan nafsu makan. Singkong dapat pula digunakan sebagai bahan baku pangan fungsional, karena mengandung senyawa aktif yang berkhasiat seperti anti hipertensi, anti oksidan, anti alergi, anti depresi anti kanker dan anti inflamasi (Hendy, 2017). Tepung tapioka memiliki kandungan karbohidrat kompleks yang tinggi atau polisakarida seperti pati. Pati merupakan homopolimer glukosa dengan ikatan  $\alpha$ -glikosidik. Pati terdiri dari dua fraksi yang dapat dipisahkan dengan air panas. Fraksi terlarut disebut amilosa dan fraksi tidak larut disebut amilopektin (Winarno 1992). Senyawa amilopektin sendiri dapat memperbaiki kerusakan mukosa lambung dan dapat memelihara kesehatan saluran pencernaan, Kehadiran pati dalam usus membantu mengurangi tingkat pH usus yang berpotensi mengurangi peradangan dan menurunkan risiko pertumbuhan sel abnormal, termasuk mencegah kanker kolorektal (Fathurrizqiah, 2015).

Penelitian ini menguji pengaruh pemberian tepung tapioka terhadap kadar MDA dan histopatologi duodenum tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang mengalami Inflammatory Bowel Disease hasil induksi indometasin.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dijelaskan pada sub bab sebelumnya, maka dapat dirumuskan beberapa permasalahan sebagai berikut :

1. Apakah pemberian terapi tepung tapioka dapat menurunkan kadar Malondialdehida (MDA) duodenum tikus (*Rattus norvegicus*) ?
2. Apakah terapi tepung tapioka dapat memperbaiki histologi jaringan duodenum tikus (*Rattus norvegicus*) model *Inflammatory Bowel Disease* yang diinduksi indometasin?

## 1.3 Batasan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dijelaskan pada sub bab sebelumnya, maka penelitian ini dibatasi pada :

1. Hewan coba yang digunakan adalah tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar usia 8-12 minggu dengan berat badan 150-200 gram yang diperoleh dari Lab Fisiologi Hewan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang dan penggunaan hewan coba telah disetujui oleh lembaga komisi etik penelitian Universitas Brawijaya dengan no kelaikan etik : 1065-KEP-UB
2. Pembuatan keadaan *Inflammatory Bowel Disease* (IBD) pada hewan model dilakukan dengan cara pemberian indometasin sebanyak 15mg/kg BB secara per oral.

3. Tepung tapioka yang digunakan sebagai terapi diperoleh dari pasaran di wilayah kota Malang.
4. Variabel yang diamati pada penelitian ini adalah gambaran histopatologi organ duodenum yang meliputi vili, mukosa, dan epitel dan kadar MDA pada duodenum tikus putih (*Rattus norvegicus*).

#### **1.4 Tujuan Penelitian**

1. Mengetahui terapi tepung tapioka dalam menurunkan kadar MDA jaringan duodenum tikus putih (*Rattus norvegicus*) model *Inflammatory Bowel Disease*
2. Mengetahui terapi tepung tapioka dalam memperbaiki gambaran histopatologi jaringan duodenum tikus putih (*Rattus norvegicus*) model *Inflammatory Bowel Disease*

#### **2.1 Manfaat Penelitian**

##### **2.1.1 Bagi Ilmu Pengetahuan**

- a. Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah tentang terapi *inflammatory bowel disease* melalui pemberian tepung tapioka.
- b. Hasil Penelitian diharapkan dapat menjadi bahan untuk menambah wawasan tentang upaya terapi *inflammatory bowel disease* melalui pemberian tepung tapioka.

##### **2.1.2 Bagi Peneliti**

- a. Sebagai syarat tugas akhir memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Hewan
- b. Sebagai implementasi disiplin ilmu sehingga dapat mengembangkan wawasan keilmuan peneliti.

### 2.1.3 Bagi Masyarakat

- a. Memberikan wawasan terkait terapi *inflammatory bowel disease* melalui pemberian tepung tapioka.
- b. Menjadikan tepung tapioka sebagai terapi sederhana terhadap *inflammatory bowel disease*.



## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Inflammatory Bowel Disease (IBD)

*Inflammatory Bowel Disease* (IBD) adalah istilah yang digunakan untuk menggambarkan dua penyakit utama yaitu colitis ulserativa dan penyakit crohn yang menyebabkan radang pada usus. Peradangan ini terjadi karena adanya disfungsi sistem kekebalan pada tubuh. Kolitis Ulseratif menyebabkan peradangan hanya pada lapisan dalam kolon dan rectum (usus besar). Penyakit Crohn menyebabkan peradangan pada seluruh dinding usus dan melibatkan bagian saluran pencernaan dari mulut sampai ke rectum, (Gesa, 2013). IBD dibagi menjadi dua subtipe klinis, yaitu *Crohn's Disease* (CD) dan *Ulcerative Colitis* (UC). CD merupakan inflamasi yang terjadi pada bagian saluran pencernaan seperti, mulut, esophagus, perut dan usus halus, sedangkan UC hanya pada lapisan usus besar dan rectum. Faktor genetik dan lingkungan seperti bakteri luminal dan peningkatan permeabilitas usus memainkan peran utama dalam disregulasi imunitas usus yang menyebabkan cedera gastrointestinal ( Bernstein *et al.*, 2015).

*Inflammatory Bowel Disease* memiliki gejala seperti diare, perdarahan pada rectum, sakit perut, panas dan penurunan berat badan, selain itu terdapat pula gejala pada organ lain seperti, luka pada mulut, nyeri pada persendian yang disertai kemerahan dan luka pada kulit kaki, penyakit ini

juga ditandai dengan adanya kerusakan protein penyusun mukosa usus, yaitu protein (*tight junction*) (Neuman, 2004) .

*Inflammatory Bowel Disease* (IBD) dapat disebabkan oleh infeksi spesifik yang persisten, fungsi barier mukosa yang terganggu, *dan clearance* mikroba yang terganggu. Faktor-faktor pencetus yang memungkinkan terjadinya aktivasi respon imun pada IBD adalah organisme patogenik (yang belum dapat diidentifikasi), respon imun terhadap antigen intraluminal (contohnya protein dari susu sapi), atau suatu proses autoimun dimana ada respon imun yang *appropriate* terhadap antigen intraluminal, adapula respon yang *inappropriate* pada antigen yang mirip yang terjadi pada sel epitel intestinal (contohnya perubahan fungsi barrier) (Danastri, 2014).

Jalur akhir umum daripada patofisiologi IBD adalah inflamasi pada mukosa traktus intestinal menyebabkan ulserasi, edema, perdarahan, kemudian hilangnya air dan elektrolit. Banyak mediator inflamasi yang telah diidentifikasi pada IBD, dimana mediator-mediator ini memiliki peranan penting pada patologi dan karakteristik klinik penyakit ini. Sitokin yang dikeluarkan oleh makrofag karena respon daripada berbagai rangsangan antigenik, berikatan dengan reseptör-reseptör yang berbeda, kemudian menghasilkan efek-efek autokrin, parakrin, dan endokrin. Sitokin juga akan mendiferensiasikan limfosit menjadi berbagai tipe sel T. Sel T helper tipe 1 (TH-1) berhubungan dengan CD, sedangkan TH-2 berhubungan dengan UC. Respon imun inilah yang akan merusak mukosa

intestinal dan menyebab proses inflamasi yang kronis (Putra, 2014). Pemakaian *Non Steroid Anti Inflammatory Drugs* (NSAIDs) seperti indometasin. juga merupakan salah satu penyebab patogenesis dari IBD. Indometasin merupakan obat anti inflamasi yang sering digunakan yang bekerja dengan cara menghambat cyclooxygenase-1 (COX-1) yang berperan dalam pembentukan prostaglandin pada usus yang menyebabkan penurunan perlindungan terhadap mukosa barier usus sehingga memudahkan masuknya bakteri pathogen (Takeuchi *et al.*, 2003). Indometasin merupakan penghambat sintesis prostaglandin yang paling efektif, diasorbsi dengan baik pada pemberian per oral dengan waktu paruh dalam plasma selama 4-5 jam. Indometasin dengan dosis 15 mg/kg BB akan mengaktifkan makrofag *Reactive Oxygen Species* (ROS). Produksi ROS dalam sel dapat menyebabkan aktivasi NF-Kb dan fosforilasi inhibitor NF-Kb, lalu NF-Kb berpindah menuju nucleus dan mengekspresikan sitokin pro-inflamasi seperti TNF $\alpha$ . Produksi TNF $\alpha$  yang berlebih dalam sel menyebabkan inflamasi yang akan meningkatkan aktivasi neutrofil serta pelepasan enzim protease yang menyebabkan kerusakan jaringan (Campbell *et al.*, 2006) .

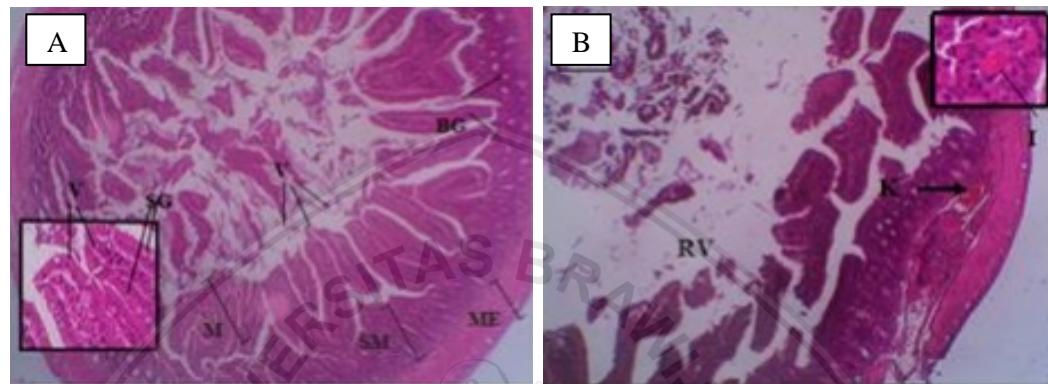
## 2.2 Histopatologi Duodenum

Tunika mukosa duodenum terdiri dari lapisan epitel, lajmina propria, dan muskularis mukosa. Duodenum merupakan bagian usus halus yang letaknya berdekatan dengan lambung , hal ini menyebabkan duodenum lebih sering mengalami ulcer diantara bagian usus halus lainnya (Laine, 2012). Lapisan epitel

tersusun atas sel absortif yang berbentuk silindris tinggi dan permukannya memiliki mikrovili yang disebut *striated border*, sel goblet yang berbentuk seperti piala dan tersebar diantara sel absortif, sel paneth yang berbentuk silindris dan terdapat pada dasar kripta lieberkuhn, sel silindris rendah yang terdapat di atas kripta lieberkuhn, dan sel argentalfin yang terdapat di antara sel-sel yang menutupi vili dan kripta lieberkuhn. Lamina propria terdiri atas jaringan ikat kendor yang memiliki banyak serabut-serabut retikuler dan tampak infiltrasi sel-sel limfosit. Tunika submukosa terdiri atas jaringan ikat kendor yang mempunyai banyak serabut elastis dan jaringan lemak, didalamnya terdapat kelenjar brunner, Pleksus submukosus dari Meissner dan Pleksus dari Heller. Tunika Muskularis eksterna terdiri dari dua lapis otot polos, yaitu muskularis sirkularis dan muskularis longitudinalis yang memiliki ganglion otonom yang bernama pleksus mienterikus auerbach. Tunika adventitia terdiri atas jaringan ikat kendor yang tertutup oleh mesotelium atau serosa (Istyan, 2015).

Menurut Dunlop dan Malberth (2004) inflamasi akut di usus akan menyebabkan terjadinya inflamasi di lamina propria. Pemberian *non anti-inflammatory drugs* (NSAID) akan menyebabkan patahnya vili usus dan ukurannya memendek (deskumasi epitel) dan edema pada lamina propria. Vili usus yang mengalami deskumasi epitel dan edema lamina propria akan menjadi rapuh dan hancur . Deskumasi epitel usus ini akan menjadi kemotaktik faktor hadirnya sel radang. Pada inflamasi akut, terjadi infiltrasi leukosit dalam jumlah yang sedikit dan didominasi oleh neutrofil. Perubahan morfologi jaringan dapat

diamati setelah pewarnaan *Hematoxylin* dan *Eosin* (Siagian, 2016). Perubahan struktur duodenum dapat disebabkan masuknya senyawa tertentu dalam intestinal, senyawa tersebut mengalami absorpsi, distribusi, metabolisme dan ekskresi.



**Gambar 2.1** A.Histopatologi pada duodenum tikus normal B.Histopatologi pada duodenum tikus yang diinduksi indometasin 15 mg/kg (Aryani dkk ,2017)

Menurut penelitian (Aryani dkk, 2017) dosis indometasin yang dapat menyebabkan IBD adalah 15 mg/kgBB. Kelompok tikus sakit (IBD) diinduksi indometasin dengan dosis 15 mg/kg BB secara oral, tikus dinyatakan IBD setelah 24 jam pemaparan indometasin (Aulanni'am dkk, 2012). Indometasin akan menyebabkan kerusakan mukosa, kerusakan epitel, kongesti, kerusakan vili, infiltrasi sel inflamasi, dan vasodilatasi. Profil histopatologi duodenum tikus putih ditunjukan pada gambar A dan B. Dimana gambar A adalah gambar histopatologi duodenum normal dan gambar B adalah gambar histopatologi duodenum yang terkena IBD. Gambar A menunjukan bentuk normal duodenum, lapisan muscularis

externa (ME), submukosa (SM), dan mukosa (M) jelas. Kelenjar Brunner (BG) pada lapisan submukosa dan vili (V) yang berbentuk seperti daun di lapisan mukosa terlihat normal. Tidak ada kerusakan yang muncul pada duodenum. Pada gambar B menunjukan adanya kerusakan duodenum, pecahnya kongesti vili pada lapisan mukosa eksternal, peradangan ditandai dengan infiltrasi sel inflamasi dan makrofag.

### 2.3 Indometasin

Obat Anti-Inflamasi Nonsteroid (OAINS) merupakan obat yang paling sering diresepkan di dunia belahan barat. Risiko komplikasi gastroduodenum (perdarahan, perforasi, atau obstruksi lambung) terjadi 1–4 % pertahun, obat ini menyebabkan ulkus duodenum dengan menghambat aktivitas siklooksigenase (COX) dan mengurangi sintesis prostaglandin mukosa. Siklooksigenase adalah enzim yang berfungsi untuk mengkonversi asam arakidonat menjadi prostaglandin, berkurangnya sintesis prostaglandin menyebabkan rusaknya pertahanan mukosa duodenum. Obat ini menurunkan sekresi mucus dan bikarbonat, mengurangi aliran darah mukosa, dan meningkatkan adhesi neutrofil pada endotel pembuluh darah (Sadeq, 2017)

Salah satu contoh OAINS adalah indometasin. Indometasin merupakan salah satu golongan *Non Steroid Anti Inflammatory Drugs* (NSAID) derivate indol asam asetat. Absorbsi indometasin setelah pemberian oral cukup baik, 92-99 % indometasin terikat pada protein plasma. Metabolismenya terjadi di

hati. Indometasin diekskresi dalam bentuk metabolit melalui urin dan empedu. Waktu paruh plasma kira-kira 2-4 jam. Indometasin memiliki efek anti inflamasi dan *Analgesic Antipiretik*. Hal ini bisa digunakan untuk terapi rheumatoid arthritis, ankylosing spondylitis, osteoarthritis dan gout akut. Dosis lazim indometasin ialah 2-4 kali 25 mg sehari, dan bisa mencapai 150-200 mg bila perlu (Rosyidah, 2007). Indometasin menghambat aktivitas COX-I dan COX-II, tetapi dianggap lebih efektif menghambat COX-I, penghambatan COX-I akan mengurangi pembentukan PGE2 sehingga menyebabkan kerusakan mukosa saluran cerna yang disertai pelepasan mediator-mediator kimia (mediator inflamasi), salah satunya adalah prostaglandin (Budiman, 2011)

Efek samping indometasin dapat terjadi pada sistem saraf pusat, dan gastrointestinal, pada sistem saraf pusat menimbulkan depresi, pusing, halusinasi, epilepsy dan koma. Pada gastrointestinal menyebabkan nyeri abdomen, diare, ulcer, pendarahan lambung dan pancreatitis (Hart, 2010) Indometasin juga terbukti meningkatkan enzim cyclooxygenase 2 yang berperan dalam proses inflamasi sehingga dapat menimbulkan rasa nyeri pada bagian abdomen tikus. Hasil pengamatan terhadap perilaku tikus setelah diinduksi indometasin 15 mg/kgBB dapat diamati menggunakan skala tingkat rasa nyeri yang ditunjukkan pada **Tabel 2.1**

**Tabel 2.1** Skoring Tingkat Rasa Nyeri (Hellyer, 2006)

Skala Nyeri	Respon dan perilaku	Perilaku saat di Palpasi	<i>Body Tension</i>
<b>0</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Responsif terhadap lingkungan</li> <li>- Menerima makanan</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Tidak melawan jika dipalpasi</li> </ul>	<i>Minimal</i>
<b>1</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Sedikit gelisah</li> <li>- Mudah terganggu dengan lingkungan</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Tersentak</li> <li>- Enggan untuk dipalpasi</li> </ul>	<i>Mild</i>
<b>2</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Merintih,menangis, dan mengigit bagian yang sakit</li> <li>- Tidak berinteraksi dengan lingkungan</li> <li>- Menolak makanan</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Menyentak</li> <li>- Menggigit</li> </ul>	<i>Mild to Moderate</i>
<b>3</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Geligah, menangis,</li> <li>- Agresif</li> <li>- Mobilitas lambat</li> <li>- Menjaga dan melindungi bagian yang sakit</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Peningkatan laju pernapasan</li> <li>- Menggigit</li> </ul>	<i>Moderate</i>
<b>4</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Tidak responsif terhadap lingkungan</li> <li>- Mobilitas lumpuh</li> <li>- Kematian</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Tidak ada reaksi/ respon</li> </ul>	<i>Moderate to Severe</i>

#### 2.4 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) atau disebut juga tikus norwegia adalah salah satu hewan yang umum digunakan dalam eksperimental laboratorium. Hal ini disebabkan karena secara genetik, manusia dan tikus

mempunyai banyak sekali kemiripan. Jenis mencit dan tikus yang paling umum digunakan adalah jenis *Sprangue Dawley* , Long Evans dan galur *Wistar*, seperti pada gambar 2. Taksonomi tikus putih (*Rattus norvegicus*) adalah sebagai berikut ( Sharp & Villano, 2013).

Kingdom : Animalia

Filum : Chordata

Kelas : Mammalia

Ordo : Rodentia

Subordo : Myomorpha

Family : Muridae

Genus : *Rattus*

Species : *Rattus Norvegicus*



**Gambar 2.2** Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) (Swari, 2017).

Tikus mempunyai sifat yang membedakannya dari hewan percobaan lain yaitu tidak dapat muntah. Hal tersebut karena struktur anatomi yang tidak lazim di tempat esophagus bermuara ke dalam lambung dan tidak mempunyai kantong empedu. Tikus juga merupakan salah satu hewan eksperimental yang populer dalam studi fungsi reproduksi, salah satu keuntungannya adalah memiliki waktu siklus reproduksi yang lebih singkat (Krinke, 2000). Tikus putih memiliki beberapa sifat yang menguntungkan sebagai hewan uji penelitian di antaranya perkembangbiakan cepat, mempunyai ukuran yang lebih besar dari mencit, dan mudah dipelihara dalam jumlah yang banyak. Tikus putih juga memiliki ciri-ciri morfologis seperti albino, kepala kecil, panjang badan 18-25 cm, telinga relatif kecil dan tidak lebih dari 20-23 mm dan ekor yang lebih panjang dibandingkan badannya, pertumbuhannya cepat, temperamennya baik, kemampuan laktasi tinggi, dan cukup tahan terhadap perlakuan. *Rattus norvegicus* memiliki waktu hidup 2,5 tahun sampai 3,5 tahun, denyut jantung 330-480 kali permenit, frekuensi respirasi 85 kali permenit dan memasuki masa dewasa pada usia 40-60 hari. Biasanya pada umur empat minggu tikus 10 putih mencapai berat 35-40 gram, dan berat dewasa rata-rata 200-250 gram. Panjang badan 18-25 cm, kepala dan badan (Pambudi, 2017).

#### **2.4 Singkong (*Manihot Utilissima*)**

Singkong (*Manihot utilissima*) merupakan anggota famili Euphorbiace yang paling banyak dikembangkan di seluruh dunia. Singkong atau *cassava* pertama kali dikenal di Amerika Selatan yang dikembangkan di Brasil

dan Paraguay pada masa prasejarah. Potensi singkong menjadikannya sebagai bahan makanan pokok penduduk asli Amerika Selatan. Di Indonesia singkong diperkenalkan oleh orang Portugis dari Brazil sekitar tahun 1810. Kini, singkong menjadi bahan makanan yang merakyat dan tersebar di seluruh pelosok Indonesia. (Bargumono 2013)



**Gambar 2.3 Singkong (Hendy, 2007)**

Bentuk ubi biasanya bulat memanjang, daging ubi mengandung zat pati, berwarna putih gelap atau kuning gelap. Batang tanaman singkong berkayu, beruas – ruas, dengan ketinggian mencapai 1,5-4 m berlubang, berisi empulur berwarna putih, lunak, dengan struktur seperti gabus, batang berwarna kecoklatan atau keunguan dan bercabang ganda tiga, Susunan daun singkong berurat, menjari dengan 5 – 9 lobus daun (Hervidea, 2015)

Adapun Taksonomi Tanaman Singkong adalah sebagai berikut :

Divisio : Spermatophyta

Sub divisio : Angiospermae

Classis : Dicotyledoneae

Sub classis : Apetalae (Monoclamydeae)

Ordo : Euphorbiales

Familia : Euphorbiaceae

Genus : Manihot

Spesies : *Manihot utilissima* Pohl (Achsan, 2010).

Menurut Hariana, 2009 Tanaman singkong ini kaya akan kandungan kimia seperti hidrat arang, kalsium, karbohidrat, fosfor, lemak, protein, vitamin A, vitamin B1, vitamin C dan zat besi 1(daun). Tanaman ini berkhasiat sebagai antikanker, antioksidan, antitumor dan penambah nafsu makan. Dengan perkembangan teknologi, singkong dijadikan bahan dasar pada industri makanan dan bahan baku industri pakan. Selain itu digunakan pula pada industri obat-obatan . Secara empiris, singkong digunakan oleh masyarakat sebagai alternatif obat untuk penyembuhan penyakit gastroenteritis. Untuk menghasilkan efek sebagai obat penyakit gastroenteritis digunakan singkong segar atau dapat juga dari air perasan singkong (Pratiwi, 2008).

## 2.5 Tepung Tapioka

Tepung tapioka merupakan suatu jenis tepung yang terbuat dari ubi kayu/ketela pohon (*Manihot utilisima*) yang kaya akan kandungan karbohidrat. Tepung tapioka berwarna putih, dan biasanya banyak digunakan oleh masyarakat, umumnya untuk membuat makanan. Salah satu zat yang terdapat dalam tepung tapioka adalah linamarin, yaitu zat yang dapat menangkal pertumbuhan sel kanker. Dilihat dari nilai gizinya, tepung tapioka merupakan sumber karbohidrat

dan energi yang sangat baik, meskipun kandungan lemak dan protein pada tepung tapioka sangat sedikit (Afiyah, 2011). Kandungan gizi pada tepung tapioka 100 g dapat dilihat pada Tabel 2.1

**Tabel 2.2** Kandungan gizi tepung tapioka (Afiyah, 2011)

Jenis zat gizi	Kadar	Jenis zat gizi	Kadar
<b>Energi (kkal)</b>	358	Magnesium (mg)	1
<b>Protein (g)</b>	0,19	Fosfor (mg)	7
<b>Lemak total (g)</b>	0,02	Kalium (mg)	11
<b>Karbohidrat (g)</b>	88,69	Natrium (mg)	1
<b>Serat pangan (g)</b>	0,9	Seng (mg)	0,12
<b>Kalsium (mg)</b>	20	Tembaga (mg)	0,02
<b>Besi (mg)</b>	1,58	Mangan (mg)	0,11
<b>Selenium (mg)</b>	0,8	Asam folat (mg)	4

Tahapan proses yang digunakan untuk menghasilkan tepung tapioka dalam industri adalah pencucian, pengupasan, pemarutan, ekstrasi, penyaringan halus, separasi, pembasahan, dan pengering. Tepung tapioka memiliki kandungan karbohidrat yang lebih tinggi dibandingkan jenis tepung lainnya, serta kandungan serat yang dominan di dalam singkong. Gizi kandungan serat di dalam makanan dapat memelihara kesehatan saluran pencernaan dan kalsium yang tinggi sangat penting untuk penguatan tulang. Menurut Karimah (2011) Makanan yang tinggi

kandungan amilopektin dan amilosa pada zat tepung memiliki indeks glikemik tinggi, karena molekul amilopektin lebih besar, mudah terbuka, mudah tergelatinisasi, dan mudah dicerna. Penelitian yang dilakukan oleh Sukron (2016), yang melakukan penelitian Pemberian sirup tepung kanji terhadap integritas epitel mukosa lambung pada tikus putih wistar jantan yang diinduksikan aspirin sebanyak 120 mg/200 gBB/hari selama 3 hari. Pemberian sirup kanji secara bertingkat yaitu 0,9 mg/200gBB/hari, 1,8 mgBB/ hari, dan 3,6 mgBB/hari menunjukkan tepung tapioka mengandung senyawa pati yang terdiri atas amilopektin dan amilosa yang dikonsumsi dalam bentuk larutan dan terbukti dapat memperbaiki kerusakan mukosa lambung. Berdasarkan hasil penelitian sirup tepung tapioka berpengaruh terhadap perbaikan integritas epitel mukosa lambung.

## 2.6 Malondialdehida

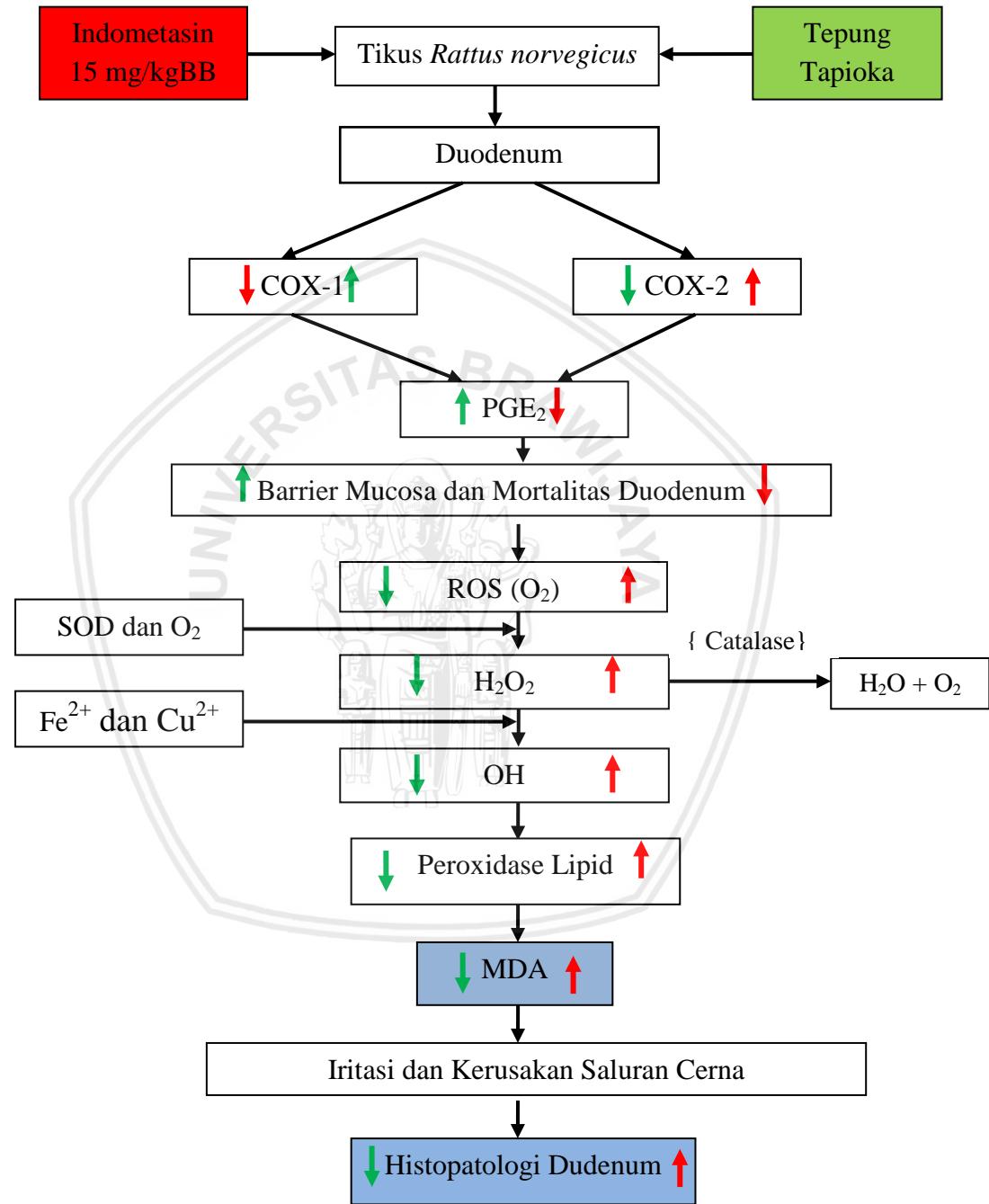
Radikal bebas adalah atom atau molekul (kumpulan atom) yang memiliki elektron yang tidak berpasangan (*unpaired electron*). Sifat radikal bebas yang mirip dengan oksidan terletak pada kecenderungannya untuk menarik elektron. Jadi sama halnya dengan oksidan, radikal bebas adalah penerima elektron. Itulah sebabnya radikal bebas digolongkan dalam oksidan. Zat ini sangat reaktif dan struktur demikian yang membuat radikal bebas cenderung mengambil atau mengekstrasi satu elektron dari molekul lain di dekatnya untuk melengkapi dan

selanjutnya mencetuskan reaksi berantai yang dapat mengakibatkan kerusakan sel (Suryohusodo, 2009)

Biotransfromasi Indometasin menghasilkan metabolit reaktif yaitu imunokuinon. Imunokuinon berpengaruh terhadap aktivasi neutrofil , sehingga mempengaruhi aktivitas enzim protease dan produksi ROS, (*reactive oxygen species*) indometasin terbukti dapat meningkatkan produksi ROS, dimana ROS adalah radikal hidroksil, hidrogen peroksida dan radikal nitrit oksida (Takeuchi *et al*, 2003). Radikal bebas lebih berbahaya dibandingkan dengan oksidan yang bukan radikal bebas, dikarenakan sifat dari radikal bebas yang memiliki reaktivitas tinggi dan dapat membentuk radikal yang baru sehingga terjadi reaksi rantai (*chain reaction*) dan akan berhenti apabila direndam oleh antioksidan. Selama proses metabolisme dalam eritrosit maupun sel tubuh yang lain dihasilkan beberapa oksidan kuat. Metabolit oksigen utama yang dihasilkan melalui reduksi satu electron adalah ROS yang terdiri dari superoksida ( $O_2^-$ ), radikal bebas hidroksil (OH), hydrogen peroksida ( $H_2O_2$ ), serta radikal peroksil (RCOO). ROS dibentuk dalam jumlah besar secara terus menerus melalui jalur metabolismik tubuh. Semua ROS adalah oksidan kuat dengan derajat yang berbeda. Radikal hidroksil merupakan molekul yang paling reaktif dan dapat bereaksi dengan protein, asam nukleat, lipid serta molekul lain sehingga dapat merubah struktur serta menimbulkan kerusakan jaringan (Suryohusodo, 2009).

### BAB III KERANGKA KONSEP

#### 3.1 Kerangka Konseptual



**Gambar 3.1** Kerangka Konsep Penelitian

Keterangan :

- : Induksi Indometasin 15 mg/ kg BB
- : Induksi larutan tepung tapioka
- : Variabel yang diteliti
- ↑ : Efek negatif Induksi Indometasin
- ↓ : Efek positif terapi tepung tapioka

*Inflammatory Bowel Disease* adalah suatu kondisi intestinal oleh sistem kekebalan tubuh. Dan dapat juga dimediasi oleh penggunaan NSAIDs secara berlebihan seperti indometasin. Indometasin yang diinduksi pada tikus putih akan menghambat siklookksigenase 1 (COX-1) yang berfungsi sebagai barrier mukosa intestinal, dan akan menurunkan prostaglandin ( $PGE_2$ ) sehingga menyebabkan mortalitas duodenum menurun yang membuat kerusakan pada saluran cerna. Pada gastrointestinal terjadi peningkatan COX 2 sebagai kompensasi dari penurunan COX 1 yang berdampak pada peningkatan prostaglandin inflamasi yang mampu meningkatkan permeabilitas kapiler untuk pertahanan terhadap antigen. Antigen akan mengaktifasi makrofag untuk menghasilkan sitokin proinflamasi seperti TNF- $\alpha$  atau IL-1 $\beta$ .

Indometasin menghasilkan suatu senyawa metabolit reaktif berupa imunokuinon yang dapat meningkatkan produksi ROS, dimana ROS merupakan radikal hidroksil, hidrogen peroksida, dan radikal nitrit oksida. Peningkatan ROS mengakibatkan stress oksidatif yang membuat sel-sel epitel duodenum mengalami

kerusakan. Peningkatan ROS dapat memicu pelepasan mediator inflamasi pada daerah yang mengalami inflamasi, mediator inflamasi merilis enzim proteolitik yang memiliki daya destruksi sel epitel sehingga sel-sel epitel pada duodenum mengalami kerusakan (Takeuchi *et al.*, 2003). Sitokin proinflamasi yang telah diproduksi berlebih mampu merusak duodenum ROS ( $O_2$ ) yang terbentuk akan bereaksi dengan SOD. SOD mengubah superoksida menjadi hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) lalu akan bereaksi dengan  $Fe^{+2}$  dan  $Cu^{+2}$  dan akan terbentuk *hydroxyl radical* ( $OH$ ) yang akan membentuk reaksi rantai dengan satu atom hidrogen. Sel-sel epitel tersebut mengalami peroksidasi lipid karena adanya stress oksidatif. Peroksidasi lipid merupakan penyerangan terhadap membran sel oleh oksidan yang kaya akan *Polyunsaturated fatty acid (PUFA)*. PUFA akan menghasilkan senyawa aldehid yaitu senyawa malondialdehida dan F2-Isoprostan yang merupakan salah satu metabolit hasil oksidasi asam arakhidonat membran plasma oleh radikal bebas.

Saluran pencernaan yang mengalami inflamasi diterapi menggunakan tepung tapioka. Tepung tapioka memiliki kandungan yang dapat mengobati *Inflammatory Bowel Disease* diantaranya pati berperan sebagai mukoprotectant untuk meningkatkan mekanisme pertahanan mukosa melalui perangsangan produksi prostaglandin dengan membentuk lapisan sitoprotektif sehingga mencegah kerusakan saluran cerna. Fenolik memiliki aktivitas antioksidan dilihat dari mekanismenya mendonorkan elektron, yaitu dengan menangkap radikal bebas superoksida ( $O_2$ ) dan mengubahnya ke bentuk yang lebih stabil sehingga dapat memutus reaksi berantai

peroksidasi lipid dengan memperlambat laju proses oksidasi pada tahap inisiasi dan juga dapat menginduksi elemen reseptor antioksidan untuk meningkatkan produksi enzim antioksidan (Pazil, 2009) Flavonoid berperan sebagai antiinflamasi karena berfungsi menghambat COX-2, Inos, dan NF-Kb (*Nuclear Factor kappa B*) Serta mencegah perdarahan atau terjadinya agregasi platelet (Rathee, 2009) sedangkan tanin berperan sebagai antidiare dengan menekan gerak peristaltic intestinal sehingga diare dapat dihambat (Ashok, 2012). Penurunan radikal bebas berkaitan dengan peroksidasi lipid yang secara tidak langsung berhubungan dengan kadar MDA duodenum. Semakin tinggi penurunan radikal bebas maka semakin tinggi pula penurunan kadar MDA duodenum.

### **3.2 Hipotesa Penelitian**

Berdasarkan rumusan masalah yang telah dipaparkan, maka hipotesis yang dapat diajukan yaitu:

1. Terapi larutan tepung tapioka menurunkan kadar MDA pada duodenum tikus model *Inflammatory Bowel Disease* yang telah diinduksi indometasin
2. Terapi larutan tepung tapioka memperbaiki kerusakan histopatologi duodenum tikus model *Inflammatory Bowel Disease*

## BAB IV METODOLOGI PENELITIAN

### 4.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret 2019 – April 2019. Perawatan dan pemberian perlakuan dilakukan di Laboratorium Fisiologi Hewan Universitas Islam Negeri Malang. Pengujian kadar MDA dilakukan di Laboratorium Faal Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, sedangkan pembuatan histopatologi dilakukan di laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

### 4.2 Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian yaitu kandang tikus, tempat minum tikus, sput berukuran 1 cc, 2 cc dan 3 cc , erlenmeyer, alat sonde , *object glass*, *cover glass*, inkubator, lemari pendingin, *dissecting set*, papan bedah, *glove*, *water bath*, tempat pakan, spektrofotometer, tabung reaksi, vortex, plastic, penangas air, mortar, dan microtube

Bahan yang digunakan adalah tikus putih dengan berat 150-200 gram, indometasin, tepung tapioka, aluminium foil, aquades, formalin, duodenum, larutan NaCL 0,9%, larutan stock MDA dan PBS.

### 4.3 Tahapan Penelitian

#### 4.3.1 Penetapan Sampel Penelitian

Sampel penelitian ini menggunakan hewan coba berupa tikus (*Rattus norvegicus*) strain Wistar berumur 8-12 minggu. Berat badan tikus berkisar antara 150 – 200 gram. Hewan coba diadaptasi selama tujuh hari untuk menyesuaikan dengan kondisi laboratorium. Besar sampel dihitung berdasarkan rumus :

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

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

$$5n-5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

Keterangan :

$t$  = jumlah kelompok

$n$  = jumlah ulangan yang diperlukan

Berdasarkan perhitungan diatas, maka untuk perlakuan sejumlah 5 kelompok, diperlukan 20 ekor tikus sebagai hewan coba , dalam setiap kelompok jumlah tikus putih sebanyak 4 ekor.

### 4.3.2 Rancangan Penilitian

Penelitian ini bersifat eksperimental dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Hewan coba dibagi menjadi lima kelompok perlakuan, setiap kelompok terdiri dari 4 tikus. yakni, kelompok kontrol negatif (sehat), kelompok B kontrol positif, yaitu tikus diinduksi indometasin tanpa pemberian terapi tepung tapioka, kelompok P1 , P2 dan P3 diinduksi indometasin 15 mg/kgBB dan diberi terapi tepung tapioka dengan dosis masing-masing 0,9 mg/kgBB, 1,8 mg/kgBB dan 3,6 mg/kgBB.

### 4.4 Variabel Penelitian

Adapun variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah :

Variabel bebas : Induksi indometasin dan terapi tepung tapioka

Variabel terikat : Kadar MDA (Malondialdehida) dan histopatologi Duodenum

Variabel kontrol : Tikus strain wistar jantan berumur 8-12 minggu dengan berat jantan 150-200 gram.

### 4.5 Tahapan Penelitian

#### 4.5.1 Persiapan Hewan Coba

Hewan coba yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan berumur 8-12 minggu dengan berat badan 150-200 gram. Tikus diaklimatisasikan selama 7 hari agar bisa beradaptasi dengan

linkungan laboratorium. Tikus ditempatkan dalam kandang 18 cm x 25 cm x 18 cm sebanyak sepuluh buah dengan alas berupa sekam agar kandang tidak lembab, penutup kandang terbuat dari kawat. Kandang terletak pada tempat yang bebas dari bising dan terjaga dari asap industri serta polutan lainnya. Suhu optimum ruangan tikus adalah 22-24°C dengan kelembapan udara 50-60 %. Tikus dipelihara di laboratorium fisiologi hewan, Universitas Islam Negeri Malang. Perawatan tikus yaitu dengan memberi pakan standar untuk tikus dan memberi air minum secara *ad libitum*.

#### **4.5.2 Persiapan Indometasin**

Dosis indometasin yang digunakan adalah 15 mg/kg BB tikus (Aulaani' am *et al.*, 2017). Berat rata-rata tikus yang digunakan adalah sekitar 200 gram, sehingga dosis indometasin yang digunakan adalah :

$$\frac{200 \text{ mg}}{1000 \text{ mg}} \times 15 \frac{\text{mg}}{\text{kgBB}} = 3 \text{ mg/kgBB/tikus}$$

Untuk membuat larutan stok indometasin maka 45 mg indometasin dilarutkan dalam 4 mL pelarut minyak jagung (Bures, 2011). Sehingga jumlah minyak jagung yang diperlukan adalah :

$$\frac{3 \text{ mg}}{45 \text{ mg}} \times 4 \text{ mL} = 0,27 \text{ mL/tikus}$$

Indometasin dan minyak jagung akan dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer*. Selanjutnya, larutan indometasin diberikan dengan cara sonde oral.

#### 4.5.3 Persiapan Tepung Tapioka

Tepung tapioka diperoleh dari pasar tradisional dengan merek naga. Tepung tapioka dibuat dengan cara disediakan di wadah terlebih dahulu, kemudian dicampurkan dengan air sebagai pelarut, lalu disonde, tepung tapioka diberikan selama 14 hari sebanyak dua kali pemberian selama satu hari.

##### 1. Perlakuan 1 ( Kelompok C)

$$\begin{aligned} \text{Volume suspensi} &= \frac{\text{BB (g)} \times \text{dosis (mg)}}{\text{Konsentrasi (mg/mL)} \times \text{BB(g)}} \\ &= \frac{150 \text{ (g)} \times 0,9 \text{ (mg)}}{0,7 \text{ (mg/mL)} \times 200 \text{ (g)}} \end{aligned}$$

##### 2. Perlakuan 2 ( Kelompok D)

$$\begin{aligned} \text{Volume suspensi} &= \frac{\text{BB(g)} \times \text{dosis (mg)}}{\text{Konsentrasi (mg/mL)} \times \text{BB(g)}} \\ &= \frac{150 \text{ (g)} \times 1,8 \text{ (mg)}}{0,7 \text{ (mg/mL)} \times 200 \text{ (g)}} \end{aligned}$$

##### 3. Perlakuan 3 ( Kelompok E)

$$\begin{aligned} \text{Volume suspensi} &= \frac{\text{BB(g)} \times \text{dosis (mg)}}{\text{Konsentrasi (mg/mL)} \times \text{BB(g)}} \\ &= \frac{150 \text{ (g)} \times 3,6 \text{ (mg)}}{0,7 \text{ (mg/mL)} \times 200 \text{ (g)}} \end{aligned}$$

#### 4.5.4 Pembedahan Tikus

Tikus dieuthanasia dengan cara dislokasi leher, lalu tikus diletakan diatas nampan untuk pembedahan dengan posisi bagian ventral di atas. Selanjutnya dibuka bagian abdomen, lalu diambil bagian duodenum kemudian dicuci dengan NaCl fisiologis 0,9%, selanjutnya dimasukkan ½ bagian ke larutan formalin dan ½ bagian dimasukan dalam pot sampel dan disimpan pada suhu -18°C (Handoko, 2015).

#### 4.5.5 Pembuatan dan Pengamatan Preparat Histopatologi Duodenum

##### 4.5.5.1 Fiksasi

Duodenum yang akan dibuat sediaan histopatologi difiksasi dalam larutan *Buffer Neutral Formalin* (BNF) 10% minimal 48 jam hingga mengeras. Sampel organ yang terfiksasi dengan sempurna ditrimming setebal  $\pm$  0,5 cm. Potongan kemudian dimasukan dalam *tissue cassette* untuk dimasukan dalam *tissue processor* automatis (Jefri, 2009)

##### 4.5.5.2 Dehidrasi

Proses dehidrasi dimaksudkan untuk menarik air dari jaringan dan mencegah terjadinya pengertalan sampel yang diuji. Dehidrasi dilakukan dengan cara merendaman sampel dalam larutan alkohol dengan konsentrasi bertingkat (70%, 80%, 90%, 95% dan alkohol absolut). Proses perendaman pada masing masing konsentrasi alkohol dilakukan selama 2 jam. Proses dehidrasi dilakukan dengan menggunakan mesin otomatis yaitu automatic tissue processor (Jefri, 2009).

#### **4.5.5.3 Clearing**

Proses clearing atau penjernihan dilakukan 2 tahap dengan menggunakan xylol I dan xylol II. Penggunaan xylol dimaksudkan untuk melarutkan alkohol dan paraffin (Jefri, 2009) .

#### **4.5.5.4 Infiltrasi**

Infiltrasi adalah proses pengisian parafin ke dalam pori-pori jaringan. Pengisian pori-pori ini dimaksudkan untuk mengeraskan jaringan agar mudah dipotong dengan pisau mikrotom. Infiltasi paraffin diawali dengan merendam jaringan dalam paraffin cair I, II, dan III. Setiap perlakuan dilakukan selama 1 jam dalam incubator pada suhu 58-60<sup>0</sup>C (Jefri, 2009) .

#### **4.5.5.5 Embedding dan Blocking**

Embedding atau blocking adalah proses penanaman jaringan dalam blok parafin. Proses embedding dilakukan dengan menggunakan alat *tissue embedding console* (Jefri, 2009) .

#### **4.5.5.6 Sectioning**

Sectioning adalah proses pemotongan jaringan dengan menggunakan mikrotom dengan ketebalan 4 – 5  $\mu\text{m}$ . Pemotongan dilakukan dengan alat *rotary microtome spencer*. Sediaan kemudian di letakan pada gelas objek dan disimpan dalam inkubator dengan suhu 370 C selama 24 jam (Jefri, 2009) .

#### 4.5.5.7 Pewarnaan Hematoxyllin-Eosin

Sebelum melakukan pewarnaan, preparat histopatologi dideparafinasi dengan larutan xylol (I dan II) selama dua menit. Kemudian dilakukan proses rehidrasi dengan cara mencelupkan sediaan ke dalam alkohol bertingkat (Alkohol absolut, alkohol 95%, alkohol 80%). Perendaman dalam alkohol 95% dan 80% dilakukan selama 1 menit. Kemudian sediaan dicuci dengan air yang mengalir selama 1 menit. Sediaan diwarnai dengan pewarna *Mayer's Hematoxyllin* dengan tahapan sebagai berikut : a) Preparat direndam dalam larutan *Mayer's Hematoxyllin* selama 8 menit; b) Dicuci dengan air mengalir selama 30 detik; c) Dicelupkan ke dalam larutan larutan Lithium Carbonat selama 15 – 30 detik; d) Dicuci dengan air mengalir selama 2 menit; e) Preparat direndam dalam larutan Eosin selama 2 - 3 menit; f) Cuci dengan air mengalir (air kran) selama 30 – 60 detik; g) Preparat dicelupkan ke dalam larutan alkohol 95% dan alkohol absolut sebanyak 10 kali celupan, absolut II selama dua menit, xylol I selama satu menit dan xylol II selama dua menit (Jefri, 2009) .

#### 4.5.5.8 Mounting

Setelah tahapan pewarnaan, sediaan ditetesi perekat Permount (Fischer, USA) dan ditutup dengan cover glass (Jefri, 2009) .

#### 4.5.5.9 Pengamatan Preparat Histopatologi

Preparat histologi duodenum yang telah diwarnai dengan metode pewarnaan hematoksilin eosin selanjutnya diamati dibawah mikroskop. Pengamatan ini dilakukan mulai dari perbesaran 4x hingga perbesaran 100x. Diamati kerusakan sel epitel penyusun duodenum, kerusakan struktur jaringan duodenum, kerusakan vili-vili, dan infiltrasi sel radang (Jefri, 2009) .

#### 4.5.5.10 Pengukuran Kadar MDA (*Malondialdehida*)

Malondialdehida atau MDA merupakan hasil reaksi peroksidasi lipid dari *Polyunsaturated Fatty Acid* (PUFA). Kadar ini merupakan indikator terjadinya stress oksidatif. Pengukuran kadar MDA dengan menggunakan uji asam tiobarbiturat (TBA) yang diukur secara spektrofotometri dengan satuan  $\mu\text{mol/ml}$ . Langkah pertama yaitu dengan membuat kurva standar MDA. Kurva standar MDA dibuat dengan membaca absorbansinya pada konsentrasi yang bervariasi (0,1,2,3,4,5,6,7, dan 8  $\mu\text{g/ml}$ ) pada spektrofotometer shimadza UV-visible dan spektrofotometer UV – 1601. Kurva standar MDA dibuat dengan membuat persamaan regresi antara absorbansi dan konsentrasi MDA (Sholichah, 2012)

Larutan stock MDA dengan konsentrasi 0,1,2,3,4,5,6,7, dan 8  $\mu\text{g/ml}$  diambil masing-masing sebanyak 100  $\mu\text{l}$ . Kemudian dimasukan dalam tabung reaksi yang berbeda. Setelah itu ditambahkan aquades sebanyak 550  $\mu\text{l}$  pada tabung reaksi. Sehingga berisi larutan standar sebanyak 650  $\mu\text{l}$ . Kemudian dihomogenkan dengan vortex, tabung ditutup menggunakan plastic dan diberi lubang. Diinkubasi dalam

penangas air dengan suhu 100°C selama 30 menit. Selanjutnya MDA dengan konsentrasi 4 µg/ml diukur absorbansinya pada panjang gelombang 500-600 nm untuk menentukan panjang gelombang maksimum MDA (Sholichah, 2012)

Duodenum ditimbang sebanyak 0,5 gram. Lalu dipotong kecil-kecil dan digerus dengan menggunakan mortar hingga halus. Setelah halus, ditambahkan larutan NaCl 0,9% sebanyak 1 ml. Selanjutnya dimasukan dalam *microtube* dan disentrifugasi dengan kecepatan 8.000 rpm selama 20 menit.

#### 4.6 Analisa Data

Data yang diperoleh dari hasil perlakuan ada dua, data kualitatif dan data kuantitatif. Data kualitatif yakni hasil pengamatan histopatologi duodenum yang disajikan dan dianalisis secara deskriptif, dengan mengamati sel radang pada mukosa, dan epitel, deskuamasi epitel vili, dan edema mukosa. Sedangkan data kuantitatif untuk mengetahui kadar MDA diukur dengan menggunakan uji asam tiobarbiturat (TBA) yang diukur secara spektrofotometri dan dianalisis dengan software SPSS 16, dengan menggunakan Analisis Ragam ANOVA dan uji Tukey.



## BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN

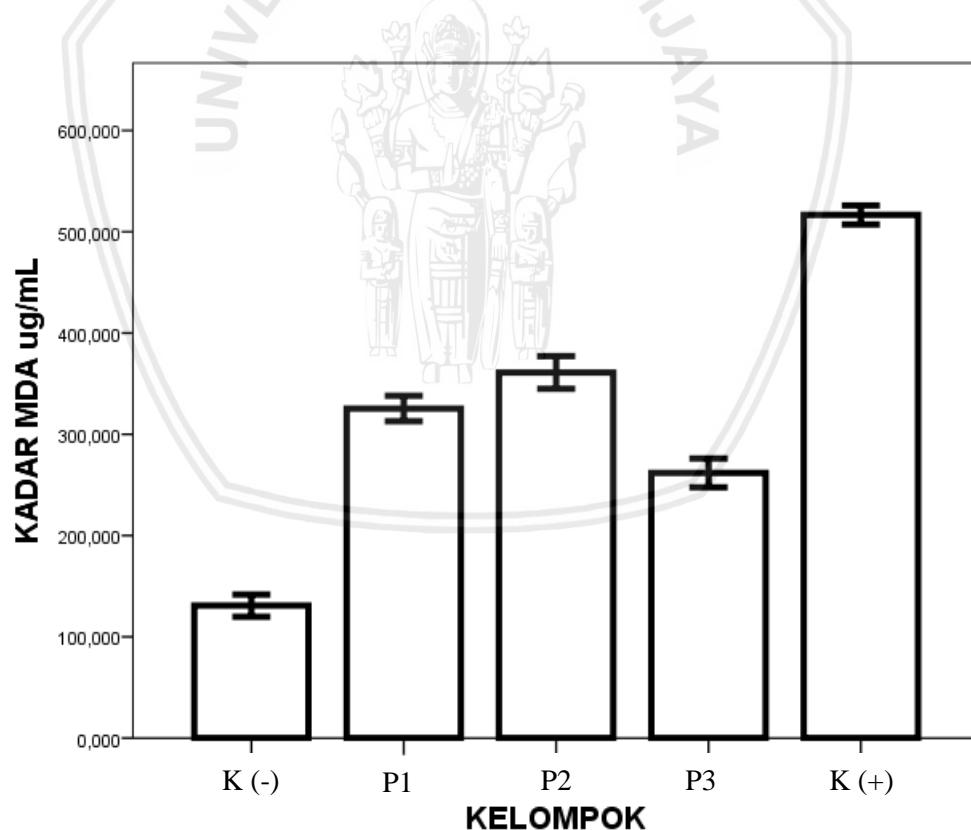
### 5.1 Pengaruh Terapi Tepung Tapioka Terhadap Kadar Mda Pada Duodenum Pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Model *Inflammatory Bowel Disease* Hasil Induksi Indometasin

Penelitian ini dilakukan untuk mengukur kadar MDA organ duodenum tikus *Rattus norvegicus* strain Wistar model IBD dengan induksi tepung tapioka selama 14 hari dengan dosis yang berbeda. Malondialdehid (MDA) merupakan salah satu produk dari reaksi peroksidasi lipid akibat membran sel yang rusak oleh radikal bebas yang merupakan biomarker stress oksidatif (Asni,2009). Pengukuran MDA dilakukan dengan teknik *Thiobarbituric acid* (TBA), dengan mengukur nilai absorbansi pada panjang gelombang ( $\lambda$ ) 532 nm. Nilai absorbansi TBARs dilakukan ekstra-polasi untuk mendapatkan kadar MDA dari sampel. Hasil kadar MDA tersebut dilakukan analisa statistic menggunakan *Statistical Product of Service Solution* (SPSS) dengan uji *one way* ANOVA dan dilanjutkan dengan uji *Tukey* atau BNJ (**Gambar 5.1**). Hasil pengujian kadar MDA organ duodenum masing-masing kelompok ditunjukan pada **Tabel 5.1**

**Tabel 5.1** Hasil Pengujian Kadar MDA Duodenum

Kelompok	Rata-rata kadar MDA (mg/ml)	Peningkatan MDA terhadap kontrol Negatif (%)	kadar MDA terhadap kontrol Negatif (%)	Penurunan MDA terhadap kontrol Positif (%)	kadar
<b>Kontrol Negatif</b>	$130,78 \pm 21,86^a$	-	-	-	
<b>Kontrol Positif</b>	$516,61 \pm 18,73^d$	295,02	-	-	
<b>P1</b>	$325,44 \pm 25,08^c$	-	-	37,004	
<b>P2</b>	$361,06 \pm 32,16^c$	-	-	30,109	
<b>P3</b>	$261,89 \pm 28,41^b$	-	-	49,306	

**Keterangan :** Perbedaan notasi a, b, c menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ( $p<0,05$ ) antara kelompok perlakuan.

**Gambar 5.1** Grafik Pengukuran Kadar MDA Duodenum

Hasil analisa statistika terhadap kadar MDA organ duodenum tikus *Rattus norvegicus* strain Wistar diperoleh rata-rata kadar MDA pada masing-masing kelompok perlakuan yaitu pada kelompok K (-) tanpa diberi perlakuan didapatkan hasil rata-rata kadar MDA  $130,78 \pm 21,86$  mg/mL. Pada kelompok K (+) sebagai model IBD didapatkan hasil rata-rata MDA  $516,61 \pm 18,73$  mg/mL. Pada kelompok P1 yang diberi tepung tapioka dengan dosis 0,9 mg/kgBB didapatkan hasil rata-rata MDA,  $325,44 \pm 25,08$  mg/mL. Pada kelompok P2 yang diberi diberi tepung tapioka dengan dosis 1,8 mg/kg BB didapatkan hasil rata-rata kadar MDA  $361,06 \pm 32,16$  mg/mL serta pada kelompok P3 yang yang diberi tepung tapioka dengan dosis 3,6 mg/kg BB didapatkan hasil rata-rata kadar MDA  $261,89 \pm 28,41$  mg/mL (**Tabel 5.1**) Kelompok K(-) merupakan kelompok normal, tampak bahwa hasil pengukuran kadar MDA  $130,78 \pm 21,86$  mg/mL , hal tersebut menunjukkan bahwa secara normal tubuh memproduksi MDA.

Menurut Valko et al. (2007), MDA secara normal diproduksi oleh sel dikarenakan radikal bebas yang terbentuk ketika terjadi metabolisme dalam sel. Winarsi (2007) menambahkan bahwa, radikal bebas dalam jumlah rendah mampu dinetralisir oleh antioksidan endogen dalam tubuh tetapi apabila jumlah senyawa radikal bebas melebihi jumlah antioksidan endogen dalam tubuh, maka radikal bebas akan merusak komponen lipid sehingga mengakibatkan stres oksidatif. Pada kelompok K(+), tampak terjadi kenaikan kadar MDA sebesar 295,02% jika dibandingkan dengan kelompok K(-) dan secara statistik menunjukkan kenaikan

yang signifikan. Pada kelompok K(+) diberikan indometasin 15mg/kgBB, secara per oral. Pemberian indometasin terbukti meningkatkan konsentrasi ROS pada sel-sel epitel jaringan mukosa usus.

Patogenesa kerusakan mukosa usus dapat disebabkan oleh adanya ROS, sifat reaktivitas kimiawi yang tinggi, karena adanya elektron yang tidak berpasangan dalam molekul maka menyebabkan kerusakan jaringan, terutama karena peningkatan peroksidasi lipid. Hasil dari peroksidasi lipid salah satunya malondialdehida (MDA). Sehingga memberikan dampak peningkatan yang signifikan kadar MDA pada kelompok K (+) dibandingkan dengan K (-).

Penggunaan obat NSAID menyebabkan konsentrasi seluler ROS yang tinggi dalam mukosa, sehingga mengurangi perlindungan organo mukosa. Selain itu, makanan yang berada dalam usus cenderung merusak struktur mukosa ketika berada dalam kondisi yang rapuh. Pada penelitian ini, akan mengkaji pemberian tepung tapioka, yang bertindak sebagai *mucoprotectant*. Kandungan tapioka salah satunya pati yang dapat berperan sebagai *mucoprotectant* dengan meningkatkan mekanisme pertahanan mukosa melalui perangsangan produksi prostaglandin dengan membentuk lapisan sitoprotektif. Dengan menggunakan berbagai dosis, tampak bahwa pada kelompok P1 terjadi penurunan kadar MDA sebesar 37,004 %, kelompok P2 terjadi penurunan kadar MDA sebesar 30,109% dan pada kelompok P3 terjadi penurunan sebanyak 49,306%. Pada kelompok P1, P2 dan P3 menunjukan perbedaan signifikan terhadap kontrol positif, pada penelitian ini menunjukan pada kelompok P3 (dosis 3,6

mg/kg BB) yang memiliki hasil paling baik yaitu penurunan MDA sebesar 49,306%. Kelompok P2 (dosis 1,8 mg/kg BB) memiliki kandungan tepung tapioka yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan kelompok P1 (dosis 0,9 mg/kg BB), namun pada kelompok P1 terjadi penurunan kadar MDA yang lebih tinggi namun tidak signifikan dibandingkan kelompok P2. Perbedaan kadar MDA pada kelompok tersebut menunjukkan pola sensitivitas pengukuran, dimana dalam rangka pengukuran MDA, menggunakan asam tiobarbiturat (TBA) dalam zat uji reaktif asam tiobarbiturat (TBA) tidak hanya menentukan kadar MDA.

MDA sebagai produk utama peroksidasi lipid oleh adanya radikal hidrogen, akan berikatan dengan TBA sehingga produk-produk lain sebagai hasil peroksidasi lipid akan terkenali (Ayala,2014). Sehingga dari hasil pengukuran kadar MDA kelompok P1 Dan P2 adalah sama atau tidak berbeda.

Berdasarkan hasil pengukuran kadar MDA kelompok P3, tampak bahwa penurunan kadar MDA sangat besar (49,3%) dan berbeda signifikan dibandingkan kelompok K (+) dan juga berbeda signifikan dengan kelompok P1 maupun P2. Hal ini menunjukkan bahwa terapi tepung tapioka dosis 3,6 mg/kg BB memberikan efek yang signifikan terhadap kadar MDA tikus kondisi IBD. Tepung tapioka sendiri berasal dari tanaman singkong yang mengandung senyawa fenolik sebesar  $48,87 \pm 0,057$  yang memiliki aktivitas antioksidan. Fungsi senyawa fenol sebagai antioksidan dilihat dari mekanismenya mendonorkan elektron, yaitu dengan menangkap radikal bebas superokksida ( $O_2^-$ ) dan mengubahnya ke bentuk yang lebih stabil sehingga dapat memutus reaksi berantai peroksidasi lipid dengan

memperlambat laju proses oksidasi pada tahap inisiasi (Pazil, 2009). Penurunan radikal bebas berkaitan dengan peroksidasi lipid yang secara tidak langsung berhubungan dengan kadar MDA duodenum. Semakin tinggi penurunan radikal bebas maka semakin tinggi penurunan kadar MDA duodenum.

## **5.2 Pengaruh Terapi Tepung Tapioka Gambaran Histopatologi Duodenum Tikus (*Rattus norvegicus*) Model Inflammatory Bowel Disease Hasil Induksi Indometasin**

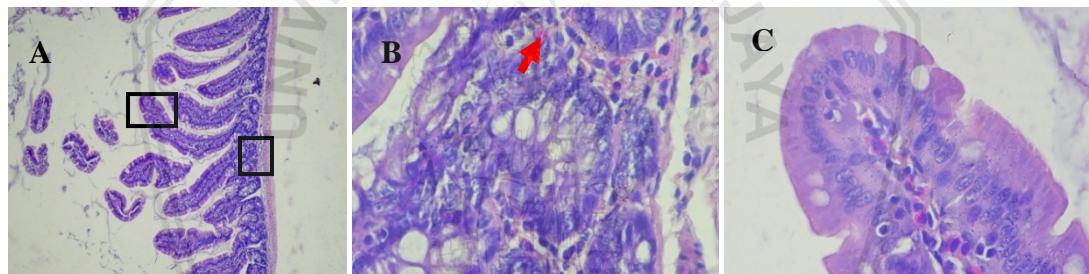
Obat anti inflamasi nonsteroid (NSAID) seperti aspirin dan indometasin adalah obat yang paling sering diresepkan untuk radang sendi, peradangan, dan perlindungan kardiovaskular. Namun, dapat menyebabkan komplikasi pencernaan seperti ulserasi dan erosi sel. Patofisiologi komplikasi ini sebagian besar dianggap berasal dari aksi NSAID pada penghambatan siklooksigenase dan selanjutnya defisiensi prostaglandin (PG). Kekurangan produksi lendir mukosa lambung yang disebabkan oleh penghambatan sintesis PG oleh NSAID dapat mengakibatkan pembentukan lesi. Karena mucus adalah faktor pelindung yang sangat penting, produksi mucus yang tidak memadai menyebabkan ketidakseimbangan antara faktor agresif (seperti asam) dan faktor pelindung. Indometasin juga terbukti meningkatkan enzim cyclooxygenase 2 yang berperan dalam proses inflamasi sehingga dapat menimbulkan rasa nyeri pada bagian abdomen tikus.

Penelitian ini akan mengkaji peran tepung tapioka dari ketela pohon dalam rangka menghambat atau mengurangi bentukan ulcer dan erosi area epitel jaringan duodenum yang diinduksi indometasin.

**Tabel 5.2** Skoring Kerusakan Duodenum

Kelompok	Infiltrasi Sel Radang	Erosi Vili	Hemoragi	Edema
<b>Kontrol</b>	(+)	(-)	(-)	(-)
<b>Negatif</b>				
<b>Kontrol Positif</b>	(+++)	(++)	(++)	(++)
<b>P1</b>	(+)	(++)	(-)	(-)
<b>P2</b>	(++)	(++)	(-)	(-)
<b>P3</b>	(+)	(+)	(-)	(-)

**Keterangan :** (-) tidak ada, (+) sedikit, (++) sedang, (++) banyak



**Gambar.5.2** Histopatologi duodenum tikus kelompok kontrol negatif perbesaran 100x dan 1000x

**Keterangan :** A : Bagian mukosa dan submukosa duosenum

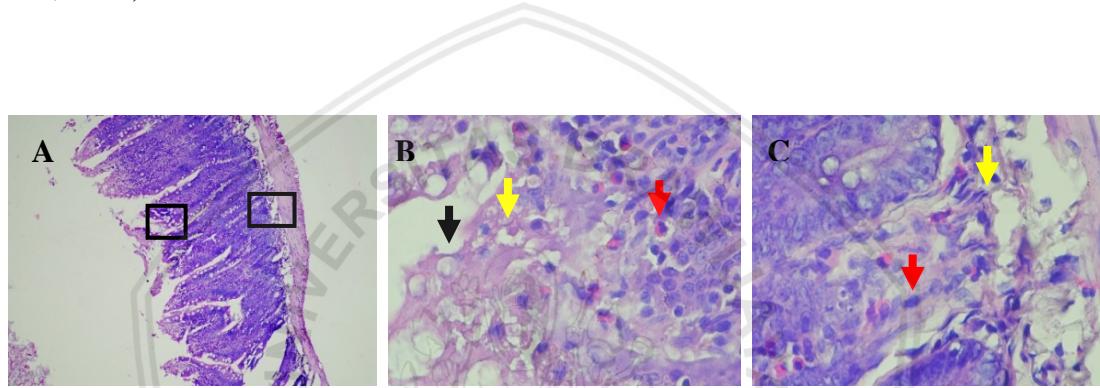
B : Sel radang pada submukosa duodenum

C : Vili duodenum yan memanjang dan utuh

↑ ( sel radang )

Hasil pengamatan histologi kelompok kontrol negatif pada kondisi normal, menunjukkan gambaran duodenum normal yang terdiri atas vili, sel epitel, lapisan submukosa, lapisan muskularis, dan lapisan serosa. Pada keadaan normal, duodenum memiliki sel radang seperti makrofag. Monosit akan masuk kedalam jaringan dan menjadi makrofag ketika terjadi peradangan. Makrofag sering hanya dihubungkan

dengan fungsinya melakukan fagositosis benda-benda asing. Namun makrofag memiliki fungsi lain yaitu angiogenesis dan fibrosis. Pada proses angiogenesis makrofag akan mensekresikan tumor necrosis factor-alfa (TNF- $\alpha$ ), *vascular endothelial growth factor* (VEGF), angiogenin, urokinase dan *platelet derived growth factor* (PDGF) yang akan menginduksi terbentuknya pembuluh darah baru (Bonardo dkk, 2015).



**Gambar.5.3** Histopatologi duodenum tikus kelompok kontrol positif perbesaran 100x dan 1000 x

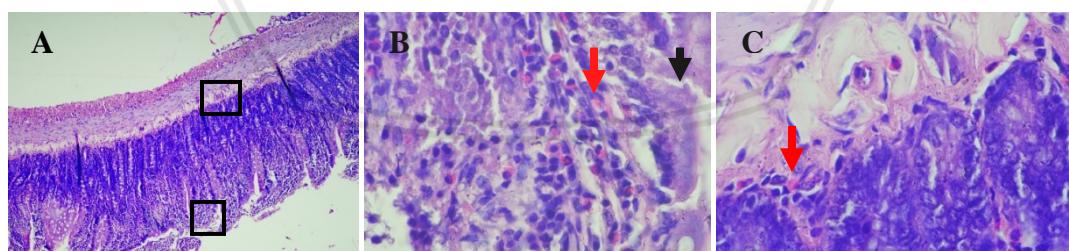
**Keterangan :**

- A : Erosi vili pada duodenum
- B : Sel radang, hemoragi dan erosi pada vili
- C : Hemoragi dan se radang pada submukosa

↑ ( sel radang ) ↑ ( hemoragi ) ↑ ( erosi vili )

Kerusakan pada vili area mukosa akibat induksi indometasin ditunjukan pada kelompok kontrol positif (**Gambar 5.3**) tampak adanya erosi pada vili-vili duodenum, infiltrasi sel radang seperti limfosit, dan hemoragi. Hal ini membuktikan bahwa induksi indometasin dengan dosis 15 mg/kg BB dapat merusak struktur histologis duodenum tikus. Studi klinis baru-baru ini telah menjelaskan tentang cedera mukosa usus halus yang disebabkan NSAID.

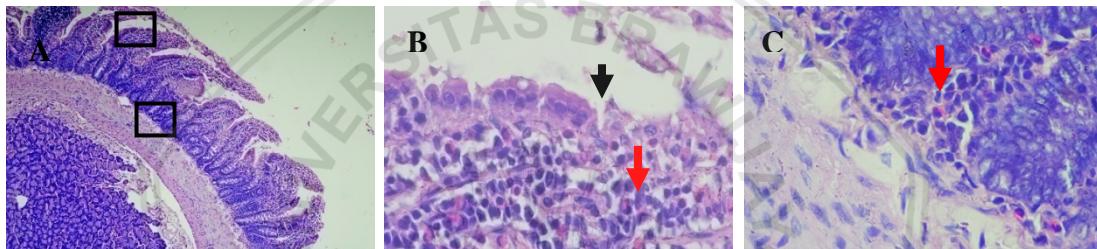
Histopatologi kontrol positif yang diinduksi indometasin (**Gambar 5.3**) terdapat kerusakan seperti infiltrasi sel radang, hemoragi, dan juga erosi pada vili. Pada kontrol positif menunjukkan adanya erosi vili karena adanya destruksi epitel . Destruksi sel epitel disebabkan karena lipid peroksid berikatan dengan PUFA yang merupakan penyusun membran (Tian, 2017) Adanya inflamasi ditandai dengan peningkatan vasodilatasi pembuluh darah. Perenggangan pembuluh darah memudahkan masuknya sitokin proinflamasi ke dalam jaringan duodenum (Bratawidjaya, 2010). Peningkatan jumlah sitokin pro-inflamasi mengakibatkan peningkatan radikal bebas. Kerusakan duodenum disebabkan oleh radikal bebas. Dalam hal ini senyawa imunokuinon yang terkandung dalam indometasin bertindak sebagai agen radikal bebas. Imunokuinon merupakan senyawa reaktif yang dapat meningkatkan produksi ROS. Selain dapat meningkatkan produksi ROS, imunokuinon sangatlah berpengaruh terhadap aktivasi sel radang. Neutrofil merupakan sel radang yang pertama kali keluar pada saat terjadinya inflamasi.



**Gambar.5.4** Histopatologi duodenum tikus kelompok P1 perbesaran 100x dan 1000x  
**Keterangan :**  
A : Submukosa dan mukosa duodenum perbesaran 100x  
B : Sel radang dan juga erosi pada vili duodenum perbesaran 1000x  
C : Sel radang pada submukosa perbesaran 1000x

↑ ( sel radang ) ↑ ( erosi vili)

Histopatologi pada kelompok P1 (dosis 0,9 mg/kgBB) (**Gambar 5.4**) pada perbesaran 100x menunjukan adanya erosi vili dan dengan perbesaran 1000x menunjukan erosi yang nampak jelas (tanda panah hitam) serta ditambah adanya infiltrasi sel limfosit. Tidak terdapat adanya hemoragi seperti pada gambaran histopatologi kontrol positif. Gambaran P1 terlihat sudah menunjukan efek terapi yang baik.

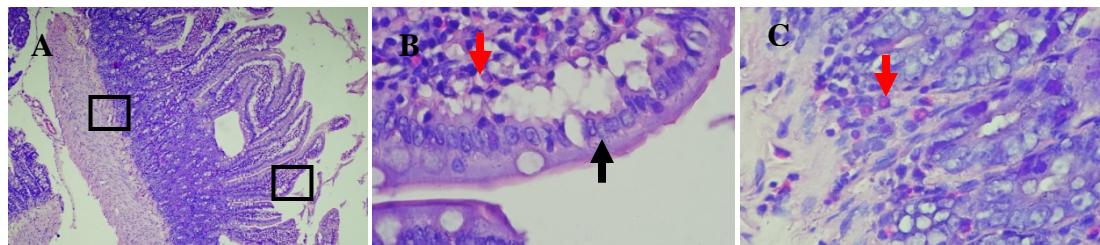


**Gambar.5.5** Histopatologi duodenum tikus kelompok P2 perbesaran 100x dan 1000x

**Keterangan :**  
 A : Submukosa dan mukosa duodenum pada perbesaran 100x  
 B : Erosi dan sel radang pada vili duodenum pada perbesaran 100x  
 C : Sel radang pada submukosa pada perbesaran 1000x

↑ ( sel radang ) ↑ ( erosi vili)

Histopatologi pada kelompok P2 (dosis 1,8 mg/kg BB) (**Gambar 5.5**), dengan pengamatan mikroskopis, perbesaran 1000x terlihat masih adanya erosi, demikian juga infiltrasi sel limfosit, walaupun secara histologis, menunjukkan sel-sel epitel sudah menutupi area mukosa. Dan tampak juga infiltrasi sel limfosit mulai berkurang.



**Gambar.5.6** Histopatologi duodenum tikus kelompok P3 perbesaran 100x dan 1000x

**Keterangan :** A : Submukosa dan mukosa duodenum pada perbesaran 1000x

B : Erosi dan sel radang pada vili pada perbesaran 100x

C : Sel radang pada submukosa

↑ ( sel radang ) ↑ ( erosi vili)

Gambaran histopatologi P3 (dosis 3,6 mg/kg BB) (**Gambar 5.6**) pada perbesaran 1000 x terlihat adanya sel rdang seperti limfosit, sedangkan erosi vili semakin berkurang dan tidak terlihat adanya edema dan hemoragi. Kelompok P3 menunjukkan efek terapi yang baik dan memiliki gambaran histopatologi yang hampir serupa dengan gambaran histopatologi kontrol negatif, sehingga dosis 3,9 mg/kgBB mampu memperbaiki gambaran histopatologi duodenum yang diinduksi indometasin

Tepung tapioka berpotensi memperbaiki histopatologi duodenum karena tepung tapioka yang salah satu kandungannya adalah pati berperan sebagai mukoprotectant untuk meningkatkan mekanisme pertahanan mukosa melalui perangsangan produksi prostaglandin dengan membentuk lapisan sitoprotektif. Sedangkan keberadaan fenolik sebagai antioksidan dengan menetralkasikan radikal bebas dengan cara memberikan elektron sehingga tidak terjadi stress oksidatif. Senyawa flavonoid berperan dalam antiinflamasi karena menghambat prostaglandin

yang merupakan agen inflamasi serta tanin yang berfungsi menekan gerak peristaltik intestinal sehingga diare dapat dihambat.

Pada penelitian ini hasil terbaik ditunjukan pada kelompok P3 dengan dosis 3,9 mg/kg BB (**Gambar 5.4**) ditinjau dari tidak adanya erosi vili pada epitel, hemoragi dan juga edema.



## BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN

### 6.1 Kesimpulan

Dari penelitian ini dapat disimpulkan :

1. Pemberian terapi dengan menggunakan tepung tapioka menurunkan kadar MDA tikus IBD, dosis terbaik adalah dosis 3,6 mg/kgBB yang menurunkan kadar MDA sebesar 49,306%.
2. Pemberian terapi dengan menggunakan tepung tapioka terhadap hewan coba yang telah diinduksi indometasin memperbaiki kerusakan sel epitel , penyusun vili dan mengurangi infiltrasi sel radang.

### 6.2 Saran

Diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui pengaruh terapi tepung tapioka yang lebih baik terhadap kadar malondialdehida (MDA) dan perbaikan kerusakan jaringan dengan meningkatkan dosis pemberian terapi tepung tapioka.

## DAFTAR PUSTAKA

- Achkar, J.P. 2000. *Inflammatory Bowel Disease*. The American College of Gastroenterology 14: 709- 720.
- Achsan, H.R., A.H, Mulyati, D,Widiastuti. 2010. *Identifikasi Senyawa Bioaktif Dalam Singkong Karet (Manihot Glaziovii) Dan Uji Sitotoksik Terhadap Sel Murin Leukimia P388*. Program Studi Kimia. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Pakuan. Bogor.Jawa Barat.
- Afiyah, N. 2011. *Isolasi dan Identifikasi Kapang Pada Tepung Tapioka di Desa Pakujati Kecamatan Paguyangan Kabupaten Brebes [Skripsi]*. Program Studi Pendidikan Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan. Universitas Muhammadiyah. Purwokerto.
- Aini,Z.,Jamaluddin., D,Dama.2011.*Bengkak*.Kendari: Universitas Haluoleo.
- Ashok, P. K.Upadhyaya.2012. *Tannin are Astringent. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* Vol.1 No 3.
- Asni, E. 2009. *Pengaruh Hipoksia Berkelanjutan Terhadap Kadar Malondialdehid, Glutation Tereduksi, dan Aktivitas Katalase Ginjal Tikus, Maj Kedokt Indon*, 59(12): 595-600.
- Astuti, R.H., 2008. *Uji Efek Antiulcer Perasan Umbi Garut (Maranta arundinaceae L) Pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar [skripsi]*. Fakultas Farmasi. Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta.
- Aryani D.E., Aulanni'am., A.Kaltaria.,W,Purwatiningsih. 2017. *Profile Histopathology Analysis of Gastric, Duodenum, Ileum and Colon of Inflammatory Bowel Disease (IBD) Rat Model*. Advanced in Health Science Research Volume 5. Hal 113-115.
- Aulanni'am, A.Roosdiana, NL.Rahmah. 2012. *The Potency of Sargassum duplicatum Bory Extract on Inflammatory Bowel Disease Therapy in Rattus norvegicus*. Journal of Life Sciences 6 : 144-154.

- Ayala,A.,A,Sandro.,M,Munoz.2014.*Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanism of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal*.Department of Biochemistry and Molecular Biology, Faculty of Pharmacy, University of Seville.
- Bargumono, H. M.,S,Wongsowijaya. 2013. *9 Umbi Utama Sebagai Pangan Alternatif Nasional*. Yogyakarta : Leutika prio.
- Basivirreddy, J., M. Jacob, R. Prabhu, A.B. Pulimood and K.A. Balasubramanian. 2003. *Indometachin-Induced Free RadicalMediated Changes in The Intestinal Brush Border Membranes*. Biochem. Pharmacol. 65: 683-695.
- Bernstein, C., A, Eliakim, S,Fedail, Fried., R,Gearry, S,Hamid. 2015. *Inflammatory Bowel Disease*. World Gastroenterology Organisation Global Guidelines.
- Bonardo,B.,H.Christina,C,Fransisca.2015.*Peran Monosit (Makrofag) Pada Proses Angiogenesis Dan Fibrosis*. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Trisakti.
- Bratawidjaya, K. 2010. *Imunologi Dasar*. Edisi ke-10. Jakarta : Penerbit FKUI.
- Budiman, M. 2011. *The Effect of Gel Aloe Vera on The Duodenal Histopathological Appearance of Wistar Rats Induced By Indometachin*. Fakultas Kedokteran. Universitas Andalas.
- Campbell K.J., N.D.Perkins.2006. *Regulation of NF-kappaB Function*. Biochem Soc Symp. 73:165-180.
- Dambal, S., S. Kumari. 2012. *Evaluation of Lipid Peroxidation and Total Antioxidant Status in Human Obesity*. International Journal of Institutional Pharmacy and Life Sciences 2(3) : 62 –68.
- Danastri, I.2014. *Inflammatory Bowel Disease*. Denpasar : Universitas Udayana
- Dunlop, R.H.,C,H, Malberth. 2004.*Pathophysiology of The Gastrointestinal Tract. Veterinary Pathophisiology*. Iowa: Blackwell Publishing. Pp: 111-142.
- Fatthurizqiah, R. 2015. *Kandungan Pati Resisten, Amilosa dan Amilopektin Snack Bar Sorgum sebagai Alternatif Makanan Selingan bagi Penderita Diabetes Melitus Tipe 2*. Jurnal - Universitas Diponegoro. Semarang.

- Hart,F.D, P.L. Boardman. 2010. *Side Effects of Indometachin*. Westminster Hospital. London.
- Gagola C., E.,Suryanto, D.,Wewengkang.2014. *Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Fenolik Korteks Umbi Kayu (Manihot Esculenta) Daging Putih dan Daging Kuning yang Diambil dari Kota Melonguane Kabupaten Kepulauan Talaud*. Pharmacon Jurnal Ilmiah Farmasi, 3(2), 127-133.
- Gesa. 2013. *Information About Inflammatory Bowel Disease (IBD) Crohn's Disease & Ulcerative Colitis*. Gastroenterological Society of Australia.
- Halliwell, B., M. Whiteman. 2004. *Measuring Reactive Species and Oxidative Damage in Vivo and in Cell Culture : How Should You Do It and What Do The Result Mean*. J. Pharmacol. 142. 231 –55.
- Handoko, T., Aulanni'am, dan D. A. Oktavianie. 2015. *Pengaruh Terapi Ekstrak Etanol Akar Seledri (Apium graveolens) terhadap Aktivitas Protease dan Gambaran Histopatologi Jejunum Tikus Model IBD Hasil Induksi Indometasin*. [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Brawijaya.
- Hariana, A. 2009. *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Hellyer,P.W, Uhrig,S.G,Robinson, N.G.2006. *Canine Acute Pain Scale*.Colorado State University.Vetrinary Medical Center.
- Hendy.2017. *Formulasi Bubur Instan Berbasis Singkong (Manihot Esculenta Crantz) Sebagai Pangan Pokok Alternatif* [skripsi].Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor.
- Hervidea, R. 2015. *The Effect of Sargassumsp, and Gracillaria sp. Methanolic Extract and Also Taurine on Hepar and Kidney Histopathology of Male Mice (Mus Musculus L.) Induced By Benzo Pyrene*.
- Israil. 2018. *Pengaruh Bubur Tepung Tapioka (Amylum Manihot) Kombinasi Madu (Caiba Pentandra) Terhadap Skala Nyeri Epigastrik Pada Penderita Dispepsia Di Wilayah Kerja Puskesma Sungrai Siring Kecamatan Samarinda Utara* [skripsi]. Fakultas Ilmu Kesehatan dan Farmasi. Program Studi Ilmu Keperawatan. Universitas Muhammadiyah. Kalimantan Timur.

- Istyan, Y.O. 2015. *Gambaran Histopatologi Duodenum Ayam Pedaging yang Diinfeksi Ascaridia galli Dengan Terapi Daun Pare (Momordica charantia)* [skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Jefri, E.2009. *Prosedur Pembuatan Preparat Histologi Jantung Pada Ikan Nila (Oreochromis Niloticus)*.Konsentrasi Konservasi Sumber Daya Hayati Laut. Laboratorium Fisiologi Hewan AirJurusan Ilmu KelautanFakultas Ilmu Kelautan Dan Perikanan. Universitas Hasanuddin.
- Ju, C, J.P.Utrecht. 1998. *Oxidation of a Metabolite of Indometachine to Reactive Intermediates by Activated Neutrophils, Hypochlorous Acid, and The Myeloperoxidase System*. The American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutic 26 (7) : 676-680.
- Kappelman, M.D, S.L, Rifas-shiman, K, Kleinman, D, Ollendorf , A, Bousvaros, R.J, Grand, J.A,Finkelstein. 2007. *The Prevalence and Geographic Distribution of Crohns Disease and Ulcerative Colitis in The United States. Department of Ambulatory Care and Prevention*. Harvard Medical School and Harvard Pilgrim Health Care. Boston.
- Karimah, I. 2011. *Nilai Indeks Glikemik Bubur Instan Pati Singkong dan Bubur Instan Pati Resisten Singkong* [skripsi]. Departemen Gizi Masyarakat. Fakultas Ekologi Manusia. Institut Pertanian Bogor.
- Krinke, J.G.2000.*The Laboratory Rat*.The Handbook of Exermental Animal.
- Kusharto, M,Clara.2006.*Serat Makanan dan Peranannya Bagi Kesehatan*.Jurnal Gizi dan Pangan 1 (2): 45-54.
- Laine, L. 2002. *The gastrointestinal effects of nonselective NSAIDs and COX-2-selective inhibitors*. Semin Arthritis Rheum, Vol. 32, No. 3 Suppl 1, (Dec), pp. 25-32.
- Maity, P., S. Bindu, S. Dey, M. Goyal, A. Alam., Chinmay Pal., K. Mitra and U. Bandyopadhyay. 2008. *Indomethacin, a Non-steroidal Anti-inflammatory Drug, Develops Gastropathy by Inducing Reactive Oxygen Species-mediated Mitochondrial Pathology and Associated Apoptosis in Gastric Mucosa*. The Journal Of Biological Chemistry. 284 (5): 3058–3068.

- Murtiningsih.,Suyanti.2011. *Membuat Tepung Umbi dan Variasi Olahannya*, Jakarta: AgroMedia Pustaka.
- Pambudi, R. 2017. *Perbedaan Panjang Serta Berat Tubuh Fetus Tikus Putih (Rattus norvegicus) Galur Sprague – Dawley Terhadap Pemberian Asam Folat Pada Periode Kehamilan Yang Berbeda* [skripsi]. Fakultas Kedokteran. Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Pazil, S. 2009. *Perbandingan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daging Pisang Raja dengan Vitamin A, Vitamin C, dan Katekin melalui Proses Penghitungan Bilangan Peroksida*. Depok: Universitas Indonesia.
- Podolsky, D.K. 2002. *Inflammatory Bowel Disease*. N Engl J Med. 347 (6): 417-429.
- Pratiwi, N. 2008. *Uji Efek Antiulcer Perasan Umbi Singkong (Manihot Utilissima pohl.) Pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar* [skripsi]. Fakultas Farmasi. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Putra, J., A, Dua. 2014. *Upper Gastrointestinal Tract Involvement Of Pediatric Inflammatory Bowel Disease: A Pathological Review*. Department of Paediatric Laboratory Medicine, Hospital for Sick Children, Toronto, ON M5G 1X8, Canada.
- Rathee,P.,H.Chaudhary, V.Kumar.2009. *Mechanism of Action of Flavonoids as Anti-inflammatory Agents: A Review*. India: Botham Science Publisher.
- Rosyidah, Q. 2007. *Karakterisasi Dispersi Padat Indometasin-PEG 8000* [Skripsi]. Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Bagian Farmasetika.Surabaya.
- Sadeq, O.R.2017. *The Effect of Indometachin on Glucose Serum*. Arab American University.
- Sharp P, J.Villano. 2013. *The Laboratory Rat*. Second edition. Boca Raton: CRC Press.
- Shimoyama, T. 2002. *Pathology and Diagnosis of Inflammatory Bowel Disease (IBD)* Department of Gastroenterology. Hyogo College of Medicine.

- Sholichah, N. A. 2012. *Potensi Terapi Ekstrak Air Daun Kedondong (Lannea coromandelia) Terhadap perbaikan Ileum Tikus Putih Inflammatory Bowel Disease (IBD) Akibat Paparan Indometasin* [Thesis]. Program Studi Magister Kimia Bidang Kekhususan Biokimia. Program Pascasarjana Fak. MIPA. Universitas Brawijaya Malang.
- Siagian, Y. 2016. *Gambaran Histologis dan Tinggi Vili Usus Halus Bagian Ileum Ayam Ras Pedaging yang diberi Tepung Daun Kelor dalam Ransum*. [Skripsi]. Fakultas Peternakan. Universitas Hasanudin.
- Sukron, M. 2016. *Pengaruh Pemberian Sirup Tepung Kanji Terhadap Integritas Epitel Mukosa Lambung Studi Eksperimental pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar yang Dinduksi Aspirin* [skripsi]. Fakultas Kedokteran. Universitas Islam Sultan Agung. Semarang.
- Suryohudoyo, P. 2009. *Oksidan, Antioksidan, dan Radikal Bebas*. Laboratorium Biokimia. Fakultas Kedokteran Unair.
- Supriyadi, D. 2012. *Studi Pengaruh Rasio Amilosa-Amilopektin Dan Kadar Air Terhadap Kerenyahan Dan Kekerasan Model Produk* [skripsi]. Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Swari,M.O.2017. *Pengaruh Pemberian Gel Biji Jintan Hitam (Nigella Sativa) Pada Proses Penyembuhan Luka Gingiva (Di Tinjau Dari Jumlah Sel Neutrofil)*.Program Studi Pendidikan Dokter Gigi. Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.
- Takeuchi, K., A. Tanaka, R. Ohno, A.Yokota. 2003. *Role Of Cox Inhibition In Pathogenesis Of Nsaid Induced Small Intestinal Damage*.Jurnal of Physiology and Pharmacology.
- Takeuchi. K, A. Tanaka, S. Kato, K. Amagase, H. Satoh. 2010. *Roles of COX Inhibition in Pathogenesis of NSAID-Induced Small Intestineal Damage*. Clinica Chimica Acla 411 (2010) 459-466.
- Tian Tian, Z. Wang, dan J.Zhang. *Pathomechanism of Oxidative Stress in Inflammatory Bowel Disease and Potential Therapies*. Oxidative Medicine and Cellular Longevity Vol 2017.

- Utaminingsih,A,T.2008.*Drug Related Problem Kategori Dosis Lebih, Dosis Kurang, Dan Obat Salah di Intensive Care Unit Rumah Sakit Islam Surakarta Periode Tahun 2007*.Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Valko.M, D.Leibfritz, J.Momcol,MT,Cronin.2007. *Free Radicals and Antioxidants in Normal Physiological Functions and Human Disease*. Faculty of Chemical and Food Technology Slovak Technical University. 39 (1) 44-48.
- Winarno, F.G. 1992. *Kimia Pangan dan Gizi*. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Wu, T.Y., C,C Chen and H,L, Lay. 2010. *Study on the Components and Antioxidant Activity of the Bletilla Plant in Taiwan*. Journal of Food and Drug Analysis. 18 (4): 279-289.
- Yi, B., L, Hu., W,Mei., K, Zhou., H,Wan., Y, Luo., X,Wei. 2011. *Antioxidant Phenolic Compounds of Cassava (*Manihot esculenta*) from Hainan*. Molecules, 16(12), 10157- 10167.

# LAMPIRAN

## Lampiran 1. Laik Etik


  
**KOMISI ETIK PENELITIAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK  
“ETHICAL CLEARENCE”**

No: 1065-KEP-UB

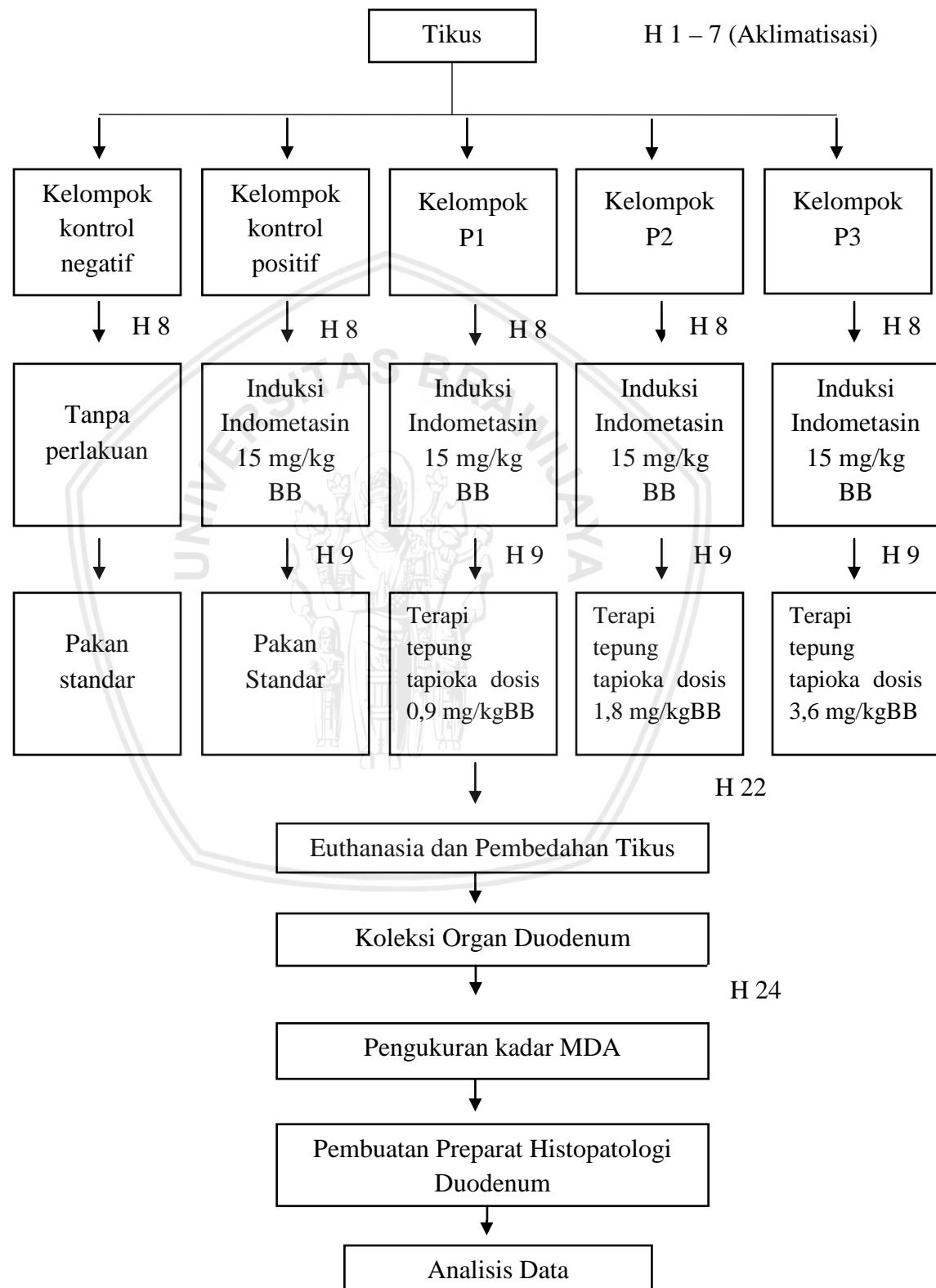
**KOMISI ETIK PENELITIAN (ANIMAL CARE AND USE COMMITTEE)  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**  
**TELAH MEMPELAJARI SECARA SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG  
DIUSULKAN, MAKA DENGAN INI MENYATAKAN BAWAH:**

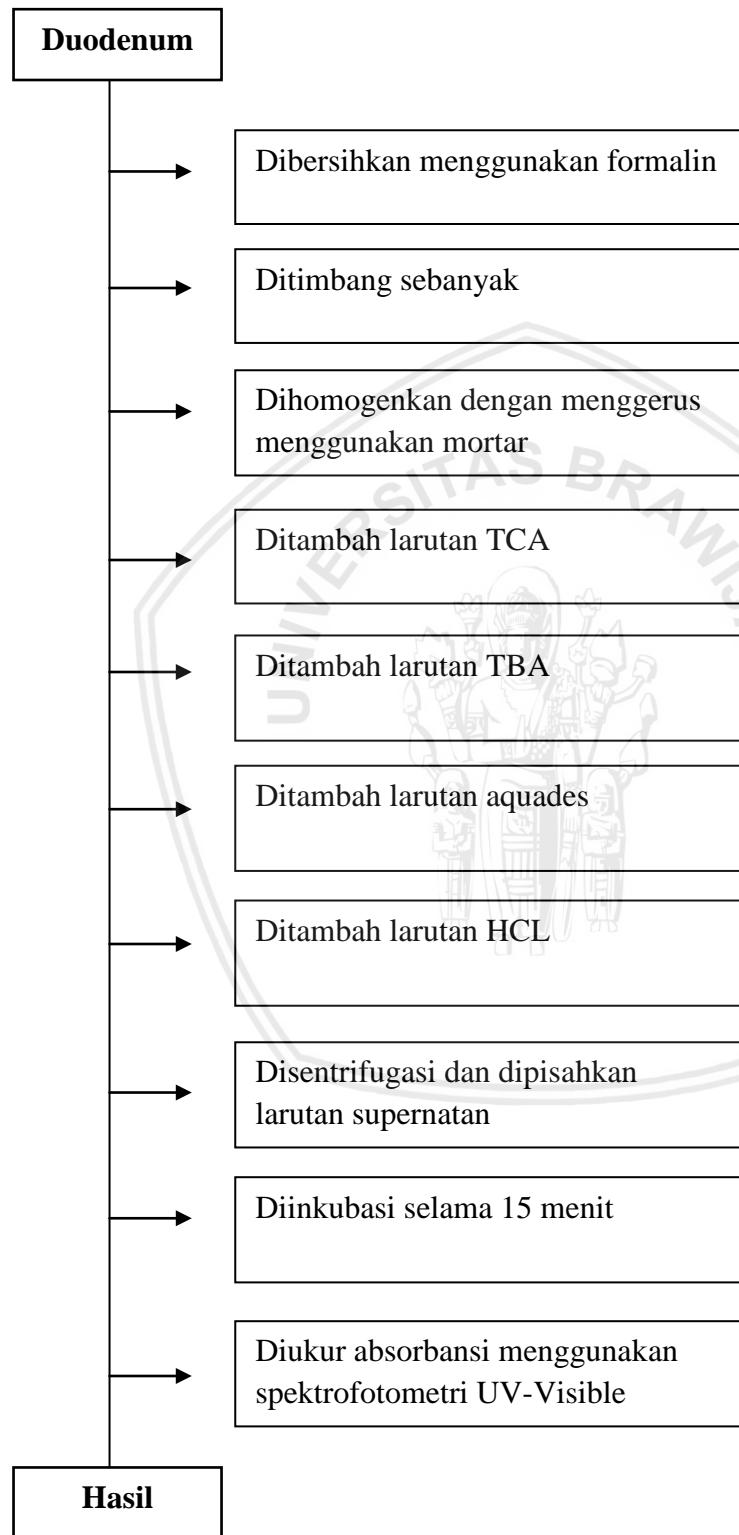
PENELITIAN BERJUDUL	: EFEK PEMBERIAN TEPUNG TAPIOKA TERHADAP AKTIVITAS PROTEASE DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI KOLON TIKUS ( <i>Rattus norvegicus</i> ) IBD ( <i>INFLAMMATORY BOWEL DISEASE</i> ) HASIL INDUKSI INDOMETASIN
PENELITI	: ZAHRANIA MARSHA AMIRA SULHERMAN
UNIT/LEMBAGA/TEMPAT	: UNIVERSITAS BRAWIJAYA
DINYATAKAN	: LAIK ETIK

Malang, 14 Januari 2019

Ketua Komisi Etik Penelitian  
 Universitas Brawijaya  
  
 Prof. Dr. drh. Aulanni'am, DES.  
 NIP. 19600903 198802 2 001

**Lampiran 2. Kerangka Operasional Penelitian**



**Lampiran 3. Alur Pemeriksaan Kadar MDA Menggunakan Uji TBA**

#### Lampiran 4. Uji Homogenitas dan Normalitas Kadar SGPT

a. Uji Homogenitas Kadar MDA

##### Test of Homogeneity of Variances

kadar MDA

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.629	4	15	.649

Diketahui data bersifat homogeny karena memiliki nilai sig > 0,05.

b. Uji Normalitas Kadar MDA

##### One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

	Unstandardized Residual
N	20
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	.0000000
Mean	.90459339
Std. Deviation	.132
Absolute	.132
Most Extreme Differences	.132
Positive	.132
Negative	-.116
Test Statistic	.132
Asymp. Sig. (2-tailed)	.200 <sup>c,d</sup>

- a. Test distribution is Normal.
- b. Calculated from data.
- c. Lilliefors Significance Correction.
- d. This is a lower bound of the true significance.

Diketahui data bersifat normalitas karena memiliki nilai sig >0,05.

## Lampiran 5. Uji One-way ANOVA Kadar MDA

### a. Uji One-way ANOVA kadar MDA

**ANOVA**

kadar MDA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	318197.973	4	79549.493	120.571	.000
Within Groups	9896.564	15	659.771		
Total	328094.538	19			

Dari hasil tersebut diketahui bahwa hipotesis 1 (H1) di terima karena nilai sig<0,05.

**Descriptive Statistics**

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
Kn	4	109.11	159.11	130.7778	21.85815
p1	4	303.33	354.67	325.4445	25.08176
p2	4	321.33	399.11	361.0555	32.15678
p3	4	236.89	290.22	261.8888	28.40746
Kp	4	500.22	543.56	516.6110	18.73335
Valid N (listwise)	4				

b. Uji Tukey HSD

**Multiple Comparisons**

Dependent Variable: kadar MDA

Tukey HSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol negatif	terapi 1	-194.66675*	18.16275	.000	-250.7519	-138.5816
	terapi 2	-230.27775*	18.16275	.000	-286.3629	-174.1926
	terapi 3	-131.11100*	18.16275	.000	-187.1962	-75.0258
	kontrol positif	-385.83325*	18.16275	.000	-441.9184	-329.7481
terapi 1	kontrol negatif	194.66675*	18.16275	.000	138.5816	250.7519
	terapi 2	-35.61100	18.16275	.330	-91.6962	20.4742
	terapi 3	63.55575*	18.16275	.023	7.4706	119.6409
	kontrol positif	-191.16650*	18.16275	.000	-247.2517	-135.0813
terapi 2	kontrol negatif	230.27775*	18.16275	.000	174.1926	286.3629
	terapi 1	35.61100	18.16275	.330	-20.4742	91.6962
	terapi 3	99.16675*	18.16275	.001	43.0816	155.2519
	kontrol positif	-155.55550*	18.16275	.000	-211.6407	-99.4703
terapi 3	kontrol negatif	131.11100*	18.16275	.000	75.0258	187.1962
	terapi 1	-63.55575*	18.16275	.023	-119.6409	-7.4706
	terapi 2	-99.16675*	18.16275	.001	-155.2519	-43.0816
	kontrol positif	-254.72225*	18.16275	.000	-310.8074	-198.6371
kontrol positif	kontrol negatif	385.83325*	18.16275	.000	329.7481	441.9184
	terapi 1	191.16650*	18.16275	.000	135.0813	247.2517
	terapi 2	155.55550*	18.16275	.000	99.4703	211.6407
	terapi 3	254.72225*	18.16275	.000	198.6371	310.8074

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

**kadar MDA**Tukey HSD<sup>a</sup>

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
kontrol	4	130.7778			
negative					
terapi 3	4		261.8888		
terapi 1	4			325.4445	
terapi 2	4			361.0555	
kontrol positif	4				516.6110
Sig.		1.000	1.000	.330	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.

## Lampiran 6. Pemeriksaan Kadar MDA



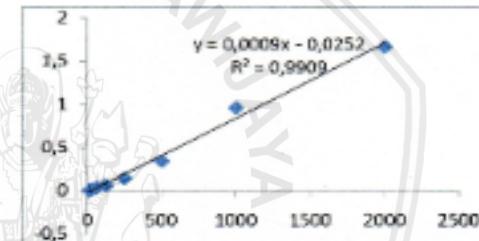
KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI  
 UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
 FAKULTAS KEDOKTERAN  
 LABORATORIUM ILMU FAAL  
 Jl. Veteran Malang - 65145, Jawa Timur - Indonesia  
 Telp. (031) 594151, 594152 Fax. (031) 594758  
<http://www.ukm.ac.id> e-mail: faal@ukm.ac.id

### HASIL PEMERIKSAAN UJI SAMPEL

Nama:	VANNESYIA LERWAKABESSY
Institusi:	Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya Malang
No Lab:	2019-2110
Jumlah sampel:	20 Sampel
Jenis Pemeriksaan:	MDA Diclofenac
Lebihan:	BUDI WICAOKSONO, AMd.

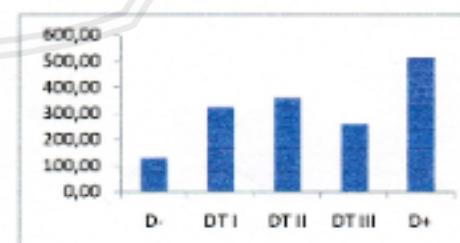
#### STANDART MDA

No	Kadar (ng/ml)	Abs
1	16,125	0,006
2	31,25	0,016
3	62,5	0,038
4	125	0,064
5	250	0,148
6	500	0,348
7	1000	0,964
8	2000	1,668



No	Kode	Abs	Kadar (ng/ml)
1	D-	0,117	159,111
2	D-	0,082	119,112
3	D-	0,159	109,111
4	D-	0,072	135,778
<b>Rata-rata</b>			<b>130,778</b>
5	DT I	0,279	338,000
6	DT I	0,247	303,333
7	DT I	0,250	305,778
8	DT I	0,294	354,667
<b>Rata-rata</b>			<b>325,445</b>
9	DT II	0,295	355,778
10	DT II	0,333	399,110
11	DT II	0,306	368,000
12	DT II	0,263	321,333
<b>Rata-rata</b>			<b>361,055</b>
13	DT III	0,188	236,889
14	DT III	0,228	282,444
15	DT III	0,189	238,000
16	DT III	0,235	290,222
<b>Rata-rata</b>			<b>261,889</b>
17	D+	0,464	543,556
18	D+	0,433	510,221
19	D+	0,424	500,222
20	D+	0,435	512,443
<b>Rata-rata</b>			<b>516,611</b>

No	Kode	Kadar (ng/ml)
1	D-	130,78
2	DT I	325,44
3	DT II	361,06
4	DT III	261,89
5	D+	516,61



Malang, 9 April 2019

Kepala Laboratorium Ilmu Faal FKUB



Edwin Widodo, SSi, MSc.

NIP. 198105042005011001

**Lampiran 7. Dokumentasi Kegiatan**

Pemberian obat cacing pada tikus



Penimbangan minyak jagung yang telah dicampur dengan indometasin



Pengukuran dosis minyak jagung



Proses penyondean pada tikus



Euthanasia pada tikus dengan dislokasi pada os cervicalis



Nekropsi dan koleksi duodenum



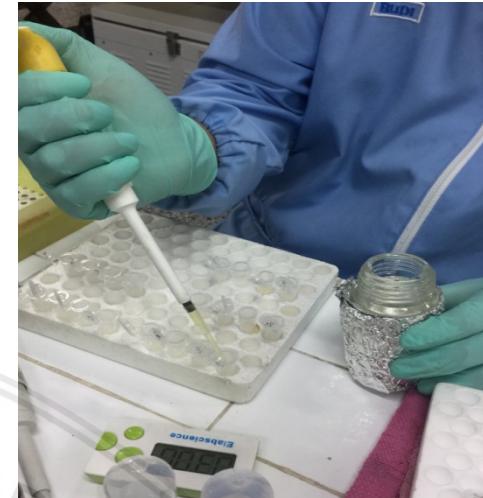
Penyucian organ menggunakan NaCL Fisiologis



Sampel preparat



Sampel duodenum yang telah digerus dan disentrifuge dimasukan ke tabung eppendorf



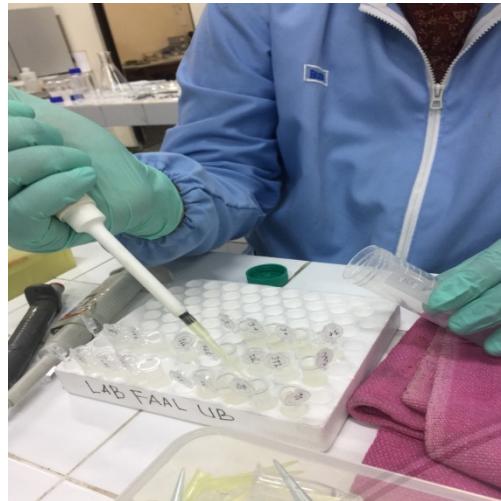
Ditambah larutan TCA



Ditambah larutan TBA  
(tiobarbiturat)



Ditambah aquades



Ditambah larutan HCL



Diukur menggunakan spektrofotometri dan dibaca absorbansinya



Hasil MDA yang telah diinkubasi dan telah diukur menggunakan spektrofotometri