

**PENGARUH TERAPI TEPUNG TAPIOKA TERHADAP
KADAR MALONDIALDEHYDE DAN GAMBARAN
HISTOPATOLOGI ORGAN LAMBUNG PADA
TIKUS (*Rattus norvegicus*) MODEL IBD
HASIL INDUKSI INDOMETASIN**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh :

MELITA NONO LEBANG

155130101111054



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

**PENGARUH TERAPI TEPUNG TAPIOKA TERHADAP KADAR
MALONDIALDEHYDE DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI
ORGAN LAMBUNG PADA TIKUS (*Rattus norvegicus*)
MODEL IBD HASIL INDUKSI INDOMETASIN**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh :

MELITA NONO LEBANG

155130101111054



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

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

**Pengaruh Terapi Tepung Tapioka Terhadap Kadar *Malondialdehyde* dan
Gambaran Histopatologi Organ Lambung pada Tikus (*Rattus novvergicus*)
Model IBD Hasil Induksi Indometasin**

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji
pada tanggal
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh
gelar Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh :

MELITA NONO LEBANG
155130101111054

Menyetujui,
Komisi Pembimbing Skripsi

Pembimbing I

Pembimbing II

Prof. Dr. Ir. Chanif Mahdi, MS
NIP. 19520412 198002 1 001

drh. Fajar Shodiq Permata, M. Biotech
NIP. 19870501 201504 1 001

Mengetahui,
Dekan Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Brawijaya

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

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Melita Nono Lebang

NIM : 155130101111054

Program Studi : Pendidikan Dokter Hewan

Penulisan Skripsi berjudul:

Pengaruh Terapi Tepung Tapioka Terhadap Kadar *Malondialdehyde* dan Gambaran Histopatologi Organ Lambung pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Model IBD 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, 16 Desember 2019

Yang menyatakan,

(Melita Nono Lebang)

NIM. 15513010111105



**Pengaruh Terapi Tepung Tapioka Terhadap Kadar *Malondialdehyde*
dan Gambaran Histopatologi Organ Lambung pada Tikus
(*Rattus norvegicus*) Model IBD Hasil Induksi Indometasin**

ABSTRAK

IBD merupakan kondisi inflamasi pada saluran pencernaan yang dapat disebabkan efek samping obat *non steroidal anti-inflammatory drugs*, seperti indometasin. Pati resisten dalam tepung tapioka berperan sebagai mukoprotektan pada mukosa lambung. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh terapi tepung tapioka terhadap penurunan kadar *Malondialdehida* MDA dan gambaran histopatologi lambung tikus (*Rattus norvegicus*) model IBD hasil induksi indometasin. Penelitian ini bersifat eksperimental dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Hewan coba menggunakan tikus (*Rattus norvegicus*) jantan strain wistar berumur 8-12 minggu dengan berat 150-200 gram. Tikus dibagi dalam 5 kelompok perlakuan; kelompok kontrol, kelompok IBD, dan kelompok terapi masing-masing diinduksi indometasin dan terapi tepung tapioka dengan dosis masing-masing 0,9 mg/kg BB, 1,8 mg/kg BB, dan 3,6 mg/kg BB. Kadar MDA lambung dianalisa dengan *oneway* ANOVA dan histopatologi lambung dianalisa secara deskriptif. Hasil analisis data menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan terhadap penurunan kadar MDA ($P>0,05$). Kesimpulan penelitian ini adalah pemberian terapi tepung tapioka tidak dapat menurunkan kadar MDA, walaupun ada kecenderungan menurun dan juga pada perbaikan jaringan lambung pada tikus model *Inflammatory Bowel Disease*.

Kata Kunci : *Inflammatory Bowel Disease*, Indometasin, mukoprotektan, Tepung Tapioka, MDA dan Histopatologi Lambung.

Effect of Tapioca Flour Therapy on Malondialdehyde Levels and Features of Stomach Histopathology in Rat (*Rattus norvegicus*) Model IBD Induction of Indomethacin

ABSTRACT

IBD is an inflammatory condition in the digestive tract that can be caused by side effects of non steroidal anti-inflammatory drugs, such as indomethacin. Resistant starch in tapioca flour acts as a mucoprotectant in the gastric mucosa. This study aims to determine the effect of tapioca flour therapy on decreasing levels of MDA Malondialdehyde and histopathological features of rats (*Rattus norvegicus*) IBD indometacin induction model. This research is experimental by using a completely randomized design (CRD). Experimental animals use male rats (*Rattus norvegicus*) wistar strains aged 8-12 weeks weighing 150-200 grams. Rats were divided into 5 treatment groups; the control group, the IBD group, and the therapeutic group were induced by indomethacin and tapioca flour therapy with a dose of 0.9 mg / kg body weight, 1.8 mg / kg body weight, and 3.6 mg / kg body weight respectively. Gastric MDA levels were analyzed by oneway ANOVA and gastric histopathology was analyzed descriptively. The results of data analysis showed that there were no significant differences between the treatment groups for the reduction in MDA levels ($P > 0.05$). The conclusion of this study is the administration of tapioca flour therapy can not reduce MDA levels, although there is a downward trend and also in the improvement of gastric tissue in rat model of Inflammatory Bowel Disease.

Keywords : Inflammatory Bowel Disease, Indomethacin, mucoprotector, Tapioca Flour, MDA and Gastric Histopathology.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur patut dihaturkan kehadirat Tuhan Yang Maha Esa, karena atas kasih karunia yang diberikan sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi ini dengan baik. Skripsi dengan judul “Pengaruh Terapi Tepung Tapioka Terhadap Kadar *Malondialdehyde* (MDA) dan Gambaran Histopatologi Organ Lambung pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Model *Inflammatory Bowel Disease* Hasil Induksi Indometasin” ini dibuat sebagai salah satu persyaratan untuk lulus Sarjana Kedokteran Hewan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya Malang.

Selama proses penulisan, penulis banyak mendapatkan dukungan, bantuan dan doa dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada :

1. Dr. Ir. Sudarmito Setyo Yuwono, M.App.Sc selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan dan dosen pembimbing pertama yang memberikan bimbingan, kesabaran, motivasi dan bantuan yang diberikan dalam penulisan skripsi ini.
2. Prof. Dr. Ir. Chanif Mahdi, MS selaku dosen pembimbing pertama dan drh. Fajar Shodiq Permata, M.Biotech selaku dosen pembimbing kedua atas bimbingan, kesabaran, motivasi dan bantuan yang diberikan dalam penulisan skripsi ini.
3. Aulia Firmawati, drh., M.Vet selaku penguji pertama dan drh. Galuh Chandra Agustina, M.Si selaku penguji kedua yang telah memberikan kritik dan saran demi perbaikan penulisan skripsi ini.

4. Kedua orang tua penulis, Drs. Mathius Nono dan Dra. Damita Datu serta saudari penulis, Hilda, Inca, Etty dan Karin yang senantiasa mendoakan, memberi dukungan moral dan materi.
5. Keluarga besar penulis dimanapun berada yang senantiasa memberikan penguatan dan mendoakan penulis dalam setiap pergumulan dan kewajiban yang dilaksanakan.
6. Reynaldi Senolinggi yang telah menemani penulis dalam melalui banyak situasi, berbagi suka-duka dan memberikan dorongan serta dukungan dalam menyelesaikan tugas akhir.
7. “Chillin Squad” Kiki, Patty, Vava, Winona, Nindy, Baki atas persahabatan, semangat, inspirasi, keceriaan dan mimpi-mimpi yang luar biasa.
8. Sahabat-sahabat terkasih Yola dan Liana, juga kakak-kakak terkasih kak Iin, kak Anas, kak Eca, kak Ica yang tak henti memberikan dorongan dan dukungan penuh selama penulis berproses dalam perkuliahan.
9. Keluarga besar IPTTM sebagai wadah berbagi banyak hal, pengalaman baru, lingkungan dan teman baru dan juga suka dan duka bersama penulis.
10. Teman berproses bersama selama 2 tahun, Irthon, Prisilia, Zelika terima kasih pengalaman bersama, untuk doanya dan juga supportnya.
11. Keluarga besar *Classy Class* yang selama ini telah banyak bekerjasama dengan penulis dalam berbagai kondisi.
12. Kelompok Skripsi “Tepung Tapioka” yang sudah bekerja sama dengan penulis dalam melaksanakan penelitian.

13. Seluruh Civitas (dosen dan karyawan) Fakultas Kedokteran Hewan yang telah membantu memfasilitasi penulisan skripsi ini.

14. Semua pihak yang telah membantu dalam pelaksanaan dan penyusunan tugas akhir ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna sehingga diharapkan dapat memberikan masukan dari berbagai pihak.

Malang, 16 Desember 2019

Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	ii
LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI	iii
LEMBAR PERNYATAAN	iv
ABSTRAK	v
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
DAFTAR ISTILAH DAN SINGKATAN	xiv
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	5
1.3 Batasan Masalah.....	5
1.4. Tujuan Penelitian	6
1.5. Manfaat Penelitian	6
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1 <i>Inflammatory Bowel Disease</i> (IBD)	7
2.2 Indometasin.....	8
2.3 Hewan Coba Tikus	9
2.4 <i>Malondialdehyde</i> (MDA)	10
2.5 Lambung Tikus	11
2.6 Tepung Tapioka	12
BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN	14
3.1 Kerangka Terori	14
3.2 Kerangka Konsep	18
3.3 Hipotesis Penelitian.....	17
BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN.....	18
4.1 Waktu dan Tempat Penelitian	18
4.2 Alat dan Bahan.....	18
4.3 Sampel Penelitian.....	18
4.4 Rancangan Penelitian	19
4.5 Variabel Penelitian	21
4.6 Tahapan Penelitian	22
4.6.1 Persiapan Hewan	22
4.6.2 Tatalaksana Pembuatan Hewan Model IBD	22
4.6.3 Persiapan Tepung Tapioka.....	23
4.6.4 Terapi Tepung Tapioka	23
4.6.5 Euthanasi Hewan Coba	23
4.6.6 Pembuatan Preparat Histopatologi Lambung	24
4.6.7 Pengamatan Preparat Histopatologi Lambung.....	24



4.6.8 Penentuan Kadar Malondialdehyde (MDA) 25

4.6.9 Analisis Data 26

BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN..... 27

5.1 Pengaruh Tera BAB 5 Pengaruh Terapi Tepung Tapioka Terhadap
Kadar MDA Lambung Tikus (*Rattus novergicus*) Model IBD Hasil
Induksi Indometasin 27

5.2 Pengaruh Tera BAB 5 Pengaruh Terapi Tepung Tapioka Terhadap
Histopatologi Lambung Tikus (*Rattus novergicus*) Model IBD Hasil
Induksi Indometasin 31

BAB 6 PENUTUP..... 35

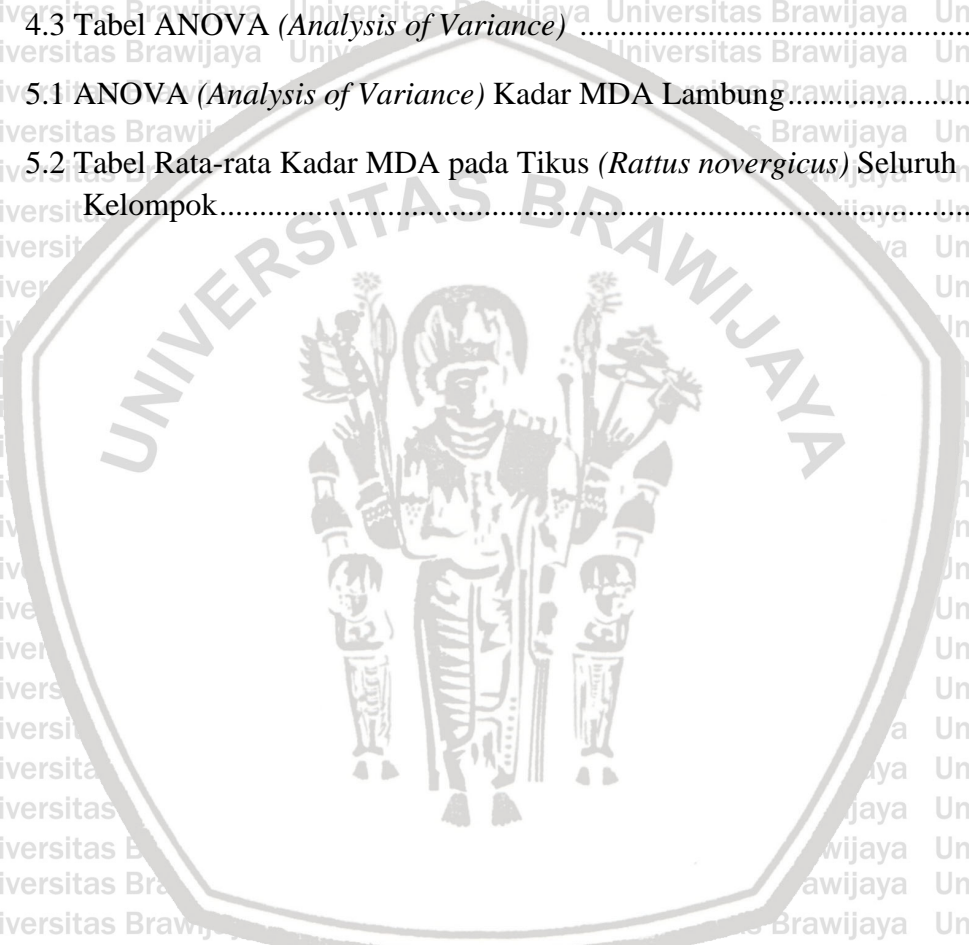
DAFTAR PUSTAKA 36

LAMPIRAN..... 40



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1 Kandungan kimia tepung tapioka.....	14
4.1 Rancangan Penelitian.....	21
4.2 Rancangan Penelitian <i>Two Way Table</i>	21
4.3 Tabel ANOVA (<i>Analysis of Variance</i>).....	21
5.1 ANOVA (<i>Analysis of Variance</i>) Kadar MDA Lambung.....	28
5.2 Tabel Rata-rata Kadar MDA pada Tikus (<i>Rattus novergicus</i>) Seluruh Kelompok.....	29



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>) strain Wistar	10
2.2 Gambaran Mikroskopis Lambung Tikus	13
3.1 Kerangka Teori Penelitian	15
3.2 Kerangka Konsep Penelitian	16
5.1 Histopatologi Lambung Tikus Putih dengan Perbesaran 100x	31



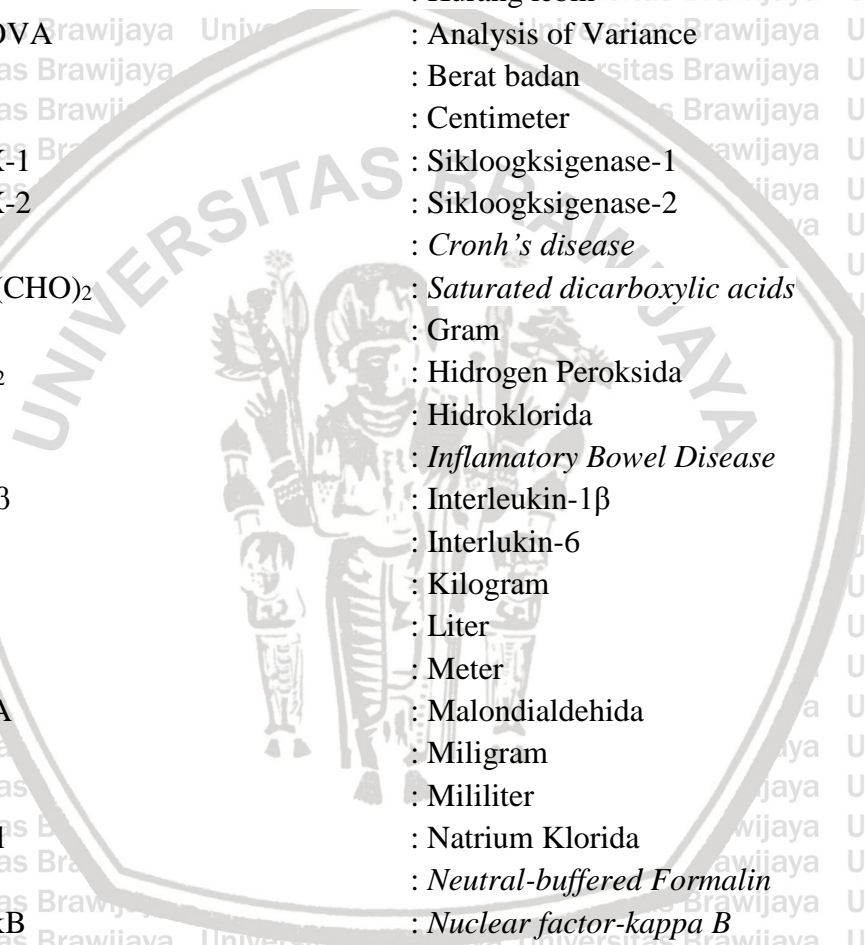
DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Sertifikat Laik Etik.....	40
2. Kerangka Operasional Rancangan Penelitian.....	41
3. Perhitungan Dosis Terapi Tepung Tapioka.....	42
4. Kerangka Pembuatan Larutan Tepung Tapioka.....	43
5. Prosedur Pengukuran Kurva Standar MDA.....	44
6. Prosedur Pengukuran Kadar MDA Lambung dan Uji <i>Thiobarbiturat Acid</i> (TBA).....	
7. Kerangka Pembuatan Preparat Histopatologi Lambung dan Pewarnaan <i>Hematoxylin-Eosin</i> (HE).....	
8. Hasil Pengujian Malondialdehida (MDA).....	
9. Analisa Statistika Menggunakan <i>Statistical Package for The Social Science</i> (SPSS) <i>version 22.0 for window</i>	
10. Perhitungan Presentase Kadar MDA.....	
11. Komposisi Pakan Standar (BR1).....	
12. Dokumentasi Selama Penelitian.....	



DAFTAR ISTILAH DAN SINGKATAN

<u>Simbol/singkatan</u>	<u>Keterangan</u>
$^{\circ}\text{C}$: Derajat Celsius
%	: Persen
μ	: Mikron
β	: Beta
\geq	: Lebih besar dari
\pm	: Kurang lebih
ANOVA	: Analysis of Variance
BB	: Berat badan
cm	: Centimeter
COX-1	: Sikloogksigenase-1
COX-2	: Sikloogksigenase-2
CD	: <i>Cronh's disease</i>
$\text{CH}_2(\text{CHO})_2$: <i>Saturated dicarboxylic acids</i>
g	: Gram
H_2O_2	: Hidrogen Peroksida
HCl	: Hidroklorida
IBD	: <i>Inflammatory Bowel Disease</i>
IL-1 β	: Interleukin-1 β
IL-6	: Interlukin-6
kg	: Kilogram
L	: Liter
m	: Meter
MDA	: Malondialdehida
mg	: Miligram
ml	: Mililiter
NaCl	: Natrium Klorida
NBF	: <i>Neutral-buffered Formalin</i>
NF-kB	: <i>Nuclear factor-kappa B</i>
nm	: nano meter
NSAID's	: <i>Non steroidal anti-inflammatory drugs</i>
O_2	: Oksigen
PBS	: <i>Phosphat buffer saline</i>
PGE_2	: Prostaglandin E ₂
PGL_2	: Prostaglandin I ₂
PUFA	: <i>Polyunsaturated fatty acids</i>
pH	: <i>Potential Hydrogen</i>



RAL : Rancangan Acak Lengkap
rpm : Rotasi per menit
ROS : *Reactive Oxygen Species*
TBA : Tiobarbiturat
TNF- α : *Tumor necrosis Factor Alpha*
UC : *ulcerative colitis*
UV : Ultraviolet



BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Inflammatory Bowel Disease merupakan suatu kondisi inflamasi kronis pada saluran pencernaan yang ditandai oleh peradangan usus. Penyakit ini secara umum disebabkan oleh menyimpangnya respon imun sehingga terjadi kegagalan regulasi sistem imun dan rangsangan mikroba dalam saluran pencernaan. Penyebab pathogenesis IBD masih belum jelas sampai saat ini, tetapi melibatkan interaksi yang kompleks diantara faktor genetik dan faktor lingkungan (Yi-Zhen dan Yang, 2014). Penyakit *Inflammatory Bowel Disease* termasuk dalam golongan *idiopathic chronic inflammatory intestinal*, IBD dibagi menjadi dua kelompok kategori yaitu Cronh's disease (CD) dan ulcerative colitis (UC) (Bernstein, *et. al.*, 2010). Cronh's disease (CD) ditandai oleh peradangan transmural, segmental yang berpotensi pada semua bagian saluran GI, sedangkan ulcerative colitis (UC) biasanya muncul sebagai peradangan mukosa terus menerus mulai dari dubur dan, dalam bentuknya yang paling menonjol, berakhir di katup ileocecal (Hoffman, 2003).

Inflammatory bowel disease merupakan penyakit inflamasi yang menyerang saluran pencernaan. Insidensi IBD relatif tinggi di negara maju seperti Eropa atau Amerika, sedangkan di negara berkembang angka kejadian penyakit tersebut relatif lebih rendah (Bernstein, *et. al.*, 2015). Kasus *inflammatory bowel disease* dapat terjadi pada manusia dan hewan. Gejala umum pada hewan yang mengalami IBD adalah penurunan berat badan terus menerus dan diare. Kasus IBD banyak dijumpai pada hewan yang masih muda maupun tua, namun

presentase tertinggi ditemukan pada hewan yang sudah tua. Suatu studi menyatakan insiden kejadian penyakit IBD dilaporkan dari tanggal 1 Agustus 2003 sampai dengan tanggal 31 Desember 2009 terdapat 546 anjing yang telah teridentifikasi IBD (Kathrani *et al.*, 2011).

Penyakit *Inflammatory Bowel Disease* dapat disebabkan oleh efek samping penggunaan obat *non steroidal anti-inflammatory drugs* (NSAIDs), seperti indometasin. Obat-obatan NSAID's seeperti indometasin akan menghambat enzim COX-1 (siklooksigenase 1) dan COX-2 (siklooksigenase 2) yang berperan dalam pembentukan prostaglandin lambung (Sparkes, 2010). NSAID's merusak mukosa lambung melalui dua mekanisme yaitu secara topikal dan sistemik. Kerusakan secara topikal diakibatkan karena obat-obatan NSAID bersifat asam dan lipofilik sehingga memudahkan *trapping* H⁺ untuk masuk ke dalam mukosa dan menimbulkan kerusakan. Efek sistemik NSAID yaitu dengan menghambat sintesa prostaglandin, dimana prostaglandin merupakan substansi sitoprotektif yang sangat penting bagi mukosa lambung (gastroprotektif) (Sparkes, 2010).

Indometasin menyebabkan kerusakan pada saluran pencernaan dan menginduksi pelepasan sel-sel inflamatori seperti neutrofil, monosit, makrofag dan sitokin yang akan memicu terjadinya kerusakan lambung. Sel-sel inflamasi tersebut akan menghasilkan *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang dapat menghasilkan radikal bebas dan enzim proteolitik. Radikal bebas menyebabkan peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid merupakan proses oksidasi lemak tidak jenuh rantai panjang (*Polyunsaturated fatty acids* atau PUFA) pada membran sel yang menghasilkan produk aldehid seperti Malondialdehida (MDA). Peroksidasi lipid

pada membran biologis akibat radikal bebas mampu menyebabkan kerusakan sel-sel lambung. Malondialdehida dan enzim proteolitik yang dihasilkan ROS memiliki sifat-sifat toksik terhadap sel lambung yang dapat menyebabkan kematian sel-sel lambung dan menyebabkan perubahan histologi sel lambung (Khenouf *et.al.*, 2010; Segal, 2005 dalam Sholichah, 2012).

Indonesia merupakan negara tropis yang kaya akan keanekaragaman hayati termasuk tanaman pangan, salah satu diantaranya ialah tanaman singkong (*Mannihot esculenta crantz*). Tanaman singkong merupakan tanaman pangan yang sudah lama dibudidayakan secara tradisional di Indonesia dan sudah dikenal luas di masyarakat. Singkong memiliki beberapa kegunaan, antara lain sebagai bahan pangan, bahan baku industri dan juga dapat digunakan sebagai pakan ternak. Adapun singkong memiliki kandungan vitamin C yang cukup tinggi (sekitar 27,5%) dan senyawa bioaktif fenolik seperti flavonoid, skopoletin, triterpenoid, tannin, saponin, dll. Konsumsi vitamin C sangat bermanfaat dalam proses penyembuhan luka karena dapat mempengaruhi tingkat keparahan respon inflamasi dan kualitas penyembuhan dan juga senyawa bioaktifnya dapat berperan sebagai antioksidan (Herlina dan Nuraeni, 2014). Antioksidan diperlukan untuk mencegah kondisi stres oksidatif dan melindungi molekul lain dalam sel dari kerusakan akibat oksidasi oleh radikal bebas (Werdhassari, 2014).

Singkong dapat diolah menjadi berbagai jenis bahan pangan salah satunya yaitu diolah menjadi tepung kanji atau tepung tapioka. Tapioka merupakan pati murni yang diperoleh dari ekstraksi penggilingan singkong (Indrianti dkk, 2013).

Tepung singkong/tepung tapioka termasuk bahan pangan yang jika dilakukan

modifikasi terhadap patinya akan menambah nilai fungsional. Salah satu produk modifikasi tepung singkong adalah pati resisten (Onyango, et al., 2006 dalam Setiarto dkk, 2018). Prangdimurti, et al. (2007) dalam Setiarto dkk, (2018) mendefinisikan pati resisten sebagai fraksi pati atau produk degradasi pati yang tidak terabsorpsi dalam usus halus individu yang sehat karena masih diperoleh setelah melewati degradasi enzim secara sempurna. Onyango, et al. (2006) dalam Setiarto dkk, (2018) menyatakan bahwa pati resisten memiliki beberapa manfaat diantaranya dapat berperan dalam metabolisme lemak dan kolesterol, mengurangi penyebab kanker kolon, penyakit jantung koroner, sembelit dan diabetes tipe II, mengikat racun, asam empedu dan karsinogen.

Selama ini masyarakat luas hanya memanfaatkan singkong dan hasil olahannya sebagai bahan pangan dan kurang mengetahui manfaat tanaman singkong, terutama tepung tapioka sebagai hasil olahan singkong di bidang kesehatan. Tepung tapioka berpotensi sebagai obat yang berguna untuk kesehatan, dan sampai saat ini belum dipelajari manfaat tepung kanji untuk Inflammatory Bowel Disease. Penelitian ini akan menguji kandungan pati resisten dan senyawa bioaktif pada tepung tapioka dalam kaitannya sebagai mukoprotektan serta antioksidan dalam saluran pencernaan. Oleh karena itu pada penelitian ini dilakukan studi terapi tepung tapioka terhadap ekspresi malondialdehid dan histopatologi lambung tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang mengalami *Inflammatory Bowel Disease* hasil induksi indometasin.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah pemberian terapi tepung tapioka dapat berpengaruh pada penurunan kadar Malondialdehida (MDA) lambung tikus (*Rattus norvegicus*) model IBD yang diinduksi indometasin?
2. Apakah pemberian terapi tepung tapioka dapat memperbaiki gambaran histopatologi lambung tikus (*Rattus norvegicus*) model IBD yang diinduksi indometasin?

1.3 Batasan Masalah

Berdasarkan rumusan masalah yang sudah disebutkan diatas, maka penelitian ini dibatasi pada:

1. Hewan model yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan berumur 3 bulan dengan berat badan 150-200 gram. Penggunaan tikus telah mendapat persetujuan dari Komisi Etik Penelitian UB no : 1065-KEP-UB.
2. Pembuatan keadaan *Inflammatory Bowel Disease* (IBD) pada hewan model dilakukan dengan cara pemberian indometasin sebanyak 15mg/kgBB secara per oral (Aulani'am, 2012).
3. Tepung tapioka dengan merk Langgeng Jaya yang digunakan sebagai terapi tikus model *Inflammatory Bowel Disease* (IBD) diperoleh dari pasar di wilayah kota Malang.
4. Variabel yang diamati pada penelitian ini adalah gambaran histopatologi dan kadar MDA pada lambung tikus putih (*Rattus norvegicus*).

1.4. Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah yang telah diuraikan, maka tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Mengetahui pengaruh terapi tepung tapioka pada lambung tikus putih (*Rattus norvegicus*) model *Inflammatory Bowel Disease* (IBD).
2. Mengetahui pengaruh terapi tepung tapioka terhadap penurunan kadar MDA pada lambung tikus putih (*Rattus norvegicus*) model *Inflammatory Bowel Disease* (IBD).

1.5. Manfaat Penelitian

1.5.1 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.

1.5.2 Bagi Peneliti

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

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Inflammatory Bowel Disease (IBD)*

Inflammatory Bowel Disease (IBD) adalah penyakit inflamasi kronis pada saluran pencernaan yang ditandai dengan peradangan dan infiltrasi seluler pada mukosa lambung, usus halus, dan usus besar. *Inflammatory Bowel Disease (IBD)* merupakan penyakit idiopatik yang diperkirakan melibatkan reaksi imun dalam tubuh terhadap saluran pencernaan. Secara umum IBD dapat dibedakan menjadi dua jenis yaitu *Ulcerative Colitis (UC)* dan *Crohn Disease (CD)*. Sama halnya dengan namanya, inflamasi UC hanya terbatas pada kolon, sementara CD mencakup semua segmen dari saluran pencernaan mulai dari mulut sampai anus (Rowe, 2015).

Etiologi pasti penyebab IBD masih dianggap multifaktoral, adapun faktor-faktor tersebut diantaranya infeksi bakteri atau virus, penurunan system imun dan faktor genetik. Selain itu ada penelitian yang menyatakan penyebab IBD akibat respon imun terhadap antigen intraluminal (contohnya protein dari susu sapi), konsumsi asam lemak tak jenuh, dan karena adanya efek samping obat-obatan seperti penggunaan NSAID (Fakhoury *et.al.*, 2014).

Patomekanisme IBD berawal dari faktor agen penyebab serta menurunnya toleransi organ intestinal pada flora normal sehingga menyebabkan terjadinya inflamasi kronis pada usus. Salah satu penyebab dari IBD yaitu penggunaan obat-obatan *Non Steroidal Anti-inflammatory Drugs (NSAID)*, dimana mampu menghambat enzim siklooksigenase (COX), baik COX-1 maupun COX-2.

Adapun dampak dari penurunan enzim siklooksigenase akan menyebabkan produksi prostaglandin (PGE₂) menurun dan akan diikuti dengan peningkatan sekresi HCl dan penurunan sekresi mukus, sehingga lambung mengalami inflamasi. Inflamasi tersebut akan menyebabkan kerusakan jaringan dan peningkatan aktivitas fagositosis oleh makrofag. Fagositosis makrofag tersebut akan menstimulus keluarnya sitokin proinflamatori, peningkatan mediator inflamasi, dan peningkatan produksi *Reactive Oxide Species* (ROS) yang akhirnya menyebabkan terjadinya *Inflammatory Bowel Disease* (Sparkes, 2010).

2.2 Indometasin

Indometasin merupakan salah satu obat yang termasuk dalam golongan *Non Steroidal Anti-inflammatory Drugs* (NSAIDs). Dosis terapi indometasin khususnya dalam penggunaan jangka panjang mempunyai efek samping yaitu menyebabkan inflamasi pada saluran pencernaan (Maity *et.al.*, 2008). Mekanisme kerja dari indometasin adalah dengan menghambat COX non selektif sehingga dapat menurunkan pembentukan prekursor prostaglandin (Sparkes, 2010).

Non Steroidal Anti-inflammatory Drugs (NSAID) menyebabkan hipermotilitas pada saluran pencernaan, yang akan diikuti dengan kerusakan kapiler dan aktivasi neutrofil yang memicu terjadinya kerusakan lambung. Hipermotilitas lambung dan rusaknya pembuluh darah berkaitan dengan penurunan produksi prostaglandin akibat dari terhambatnya COX-1.

Penghambatan COX-1 dapat meningkatkan COX-2, sehingga dihasilkan PGE₂ yang dapat menekan interaksi neutrophil dengan endotel, oleh karena itu

indometasin dapat meredakan gejala peradangan seperti nyeri tetapi juga dapat menyebabkan rusaknya lambung (Maity *et.al.*, 2008).

2.3 Hewan Coba Tikus

Pembuatan hewan model IBD dapat menggunakan beberapa spesies hewan, salah satu hewan coba yang dapat digunakan yaitu tikus putih (*Rattus norvegicus*). Ciri-ciri morfologi *Rattus norvegicus* (**Gambar 2.1**) antara lain memiliki hidung tumpul, panjang badan 18-25 cm, kepala dan badan lebih pendek dari ekornya, serta telinga relatif kecil dan tidak lebih dari 20-23 mm. *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 (Amir dkk, 2015). Tikus putih memiliki beberapa galur dari hasil perkembangbiakan dan persilangan antar tikus yaitu *Wistar*, *Sprague*, *Dawley*, *Madison*, *Wicaoustin*, dan *Long Evans*. Menurut Akbar (2010), tikus yang digunakan sebagai hewan coba dalam penelitian adalah *Rattus norvegicus* strain *Wistar* yang memiliki klasifikasi sebagai berikut:

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



Gambar 2.1 Tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar (Akbar, 2010)

Rattus norvegicus adalah hewan coba paling populer dalam penelitian yang berkaitan dengan pencernaan karena memiliki saluran pencernaan dengan tipe monogastrik. Hewan ini digunakan sebagai hewan coba dengan pertimbangan yaitu pola makan omnivore atau pemakan segala makanan. Kebutuhan pakan atau nutrisi pada tikus *Rattus norvegicus* yakni 28 g/hari yang dapat diperoleh dari ikan, daging, biji-bijian dan lain-lain.

2.4 Malondialdehida (MDA)

Malondialdehida merupakan senyawa mutagenik yang bersifat toksik dan reaktif dengan rumus molekul $\text{CH}_2(\text{CHO})_2$. Malondialdehida timbul akibat dari adanya kondisi stress oksidatif. Peningkatan imunokuinon akan menyebabkan terjadinya stress oksidatif. Invasi bakteri patogen pada mukosa lambung akan mengaktifkan neutrofil yang berperan untuk perusakan mikroorganisme secara fagositosis yang selanjutnya didegradasi oleh *Reactive oxygen species* (ROS) dan protease. Pelepasan protease menyebabkan terjadinya kerusakan jaringan dan inflamasi (Segal, 2005 dalam Sholichah dkk, 2012). *Reactive oxygen species* seperti O_2 dan OH dilepaskan dan pengaktifan sel imun dan sel inflamasi

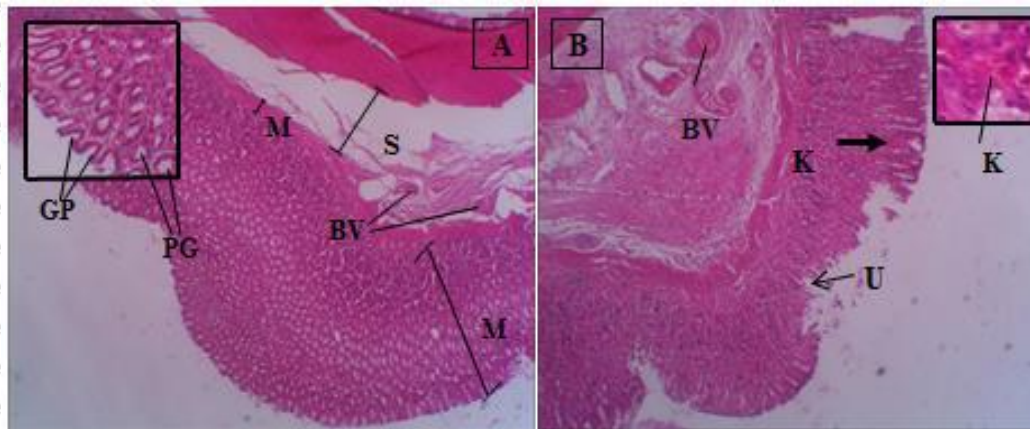
menyebabkan kerusakan pada mukosa lambung. Pada sel, ROS dapat bereaksi dengan phospholipid membran menghasilkan peroksidasi lipid dengan produk akhir malondialdehid (MDA) yang akan menginisiasi reaksi berantai. MDA akan menyebabkan kerusakan fungsi membran dan menginaktifkan reseptor dan enzim yang terdapat pada membran, serta meningkatkan permeabilitas jaringan (Khenouf *et al.*, 2010).

2.5 Lambung Tikus

Lambung adalah organ yang berfungsi untuk menyimpan dan memproses makanan sebelum diteruskan ke duodenum. Lambung dapat terpapar oleh berbagai macam faktor yang dapat merusak jaringan lambung (Teng *et al.*, 2013 dalam Sakura *et al.*, 2017). Lambung normal memiliki empat bagian yaitu cardia, fundus, body dan pylorus. Dinding lambung terdiri atas empat lapisan yaitu mukosa, submukosa, muskularis eksterna dan serosa. Lapisan mukosa terdiri atas epitel kolumnar selapis yang masuk dalam lamina propria membentuk *gastric pit*. Semua kelenjar lambung memiliki dua komponen yaitu bagian foveola (kripta, pit) dan bagian sekresi (kelenjar). Kardia lambung berbatasan dengan esophagus yang ditunjukkan adanya peralihan epitel skuamus simplek menjadi kolumnar simplek, sedangkan bagian pylorus berbatasan dengan duodenum yang ditandai dengan adanya epitel kolumnar yang tidak memiliki sel kelenjar namun terlihat adanya kripta *lyberkuhn* dan kelenjar *brunner* (Mescher, 2010). Gambaran

histopatologi lambung IBD pada tikus dengan induksi Indometasin menunjukkan kerusakan pada lapisan mukosa, ulcer, kongesti pada lapisan mukosa, hilangnya sel permukaan dan struktur mukosa *gastric pit* dan vasodilatasi pembuluh darah

(Aryani *et. al.*, 2018). Gambaran histopatologi lambung tikus model IBD dapat dilihat pada **Gambar 2.3**.



Gambar 2.3 Gambaran mikroskopis lambung tikus (Perbesaran 40x)
Keterangan : (A) Lambung normal; (B) Lambung IBD; (U) ulcer;
(K) Kongesti; (MM) Muskularis mukosa; (SM) Submukosa; (M) mukosa; (PG) pyloric gland; (GP) gastric pit. (Eroschenko, 2008; Aryani *et. al.*, 2018)

2.6 Tepung Tapioka

Ubi kayu atau singkong merupakan sumber karbohidrat yang penting setelah padi, jagung, dan sagu. Singkong memiliki nama botani *Manihot esculenta* Crantz tapi lebih dikenal dengan nama *Manihot utilissima*. Singkong dapat dimanfaatkan secara langsung sebagai bahan pangan pokok ataupun diolah menjadi produk setengah jadi berupa pati singkong (tepung tapioka), gaplek, dan tepung singkong. Tanaman singkong sebagai bahan utama tepung tapioka kaya akan kandungan karbohidrat dan senyawa-senyawa bioaktif Fenolik seperti saponin, flavonoid, tannin, polifenol serta skopoletin yang berperan sebagai antioksidan dan antiinflamasi (Herlina dan Nuraeni, 2014). Tepung tapioka merupakan salah satu produk hasil olahan singkong yang banyak digunakan sebagai bahan baku utama maupun bahan penolong dalam beberapa produk

pangan baik di rumah tangga maupun industri (Rahman, 2007). Tepung tapioka berwarna putih, dan biasanya banyak digunakan oleh masyarakat, umumnya untuk membuat makanan. Tepung tapioka dibuat dari hasil penggilingan ubi kayu yang dibuang ampasnya. Ubi kayu tergolong polisakarida yang mengandung pati dengan kandungan amilopektin yang tinggi tetapi lebih rendah daripada ketan yaitu amilopektin 83% dan amilosa 17% (Winarno, 2004).

Adapun Kandungan kimia tepung tapioka yaitu :

Tabel 2.1 Kandungan kimia tepung tapioka (Rahman, 2007).

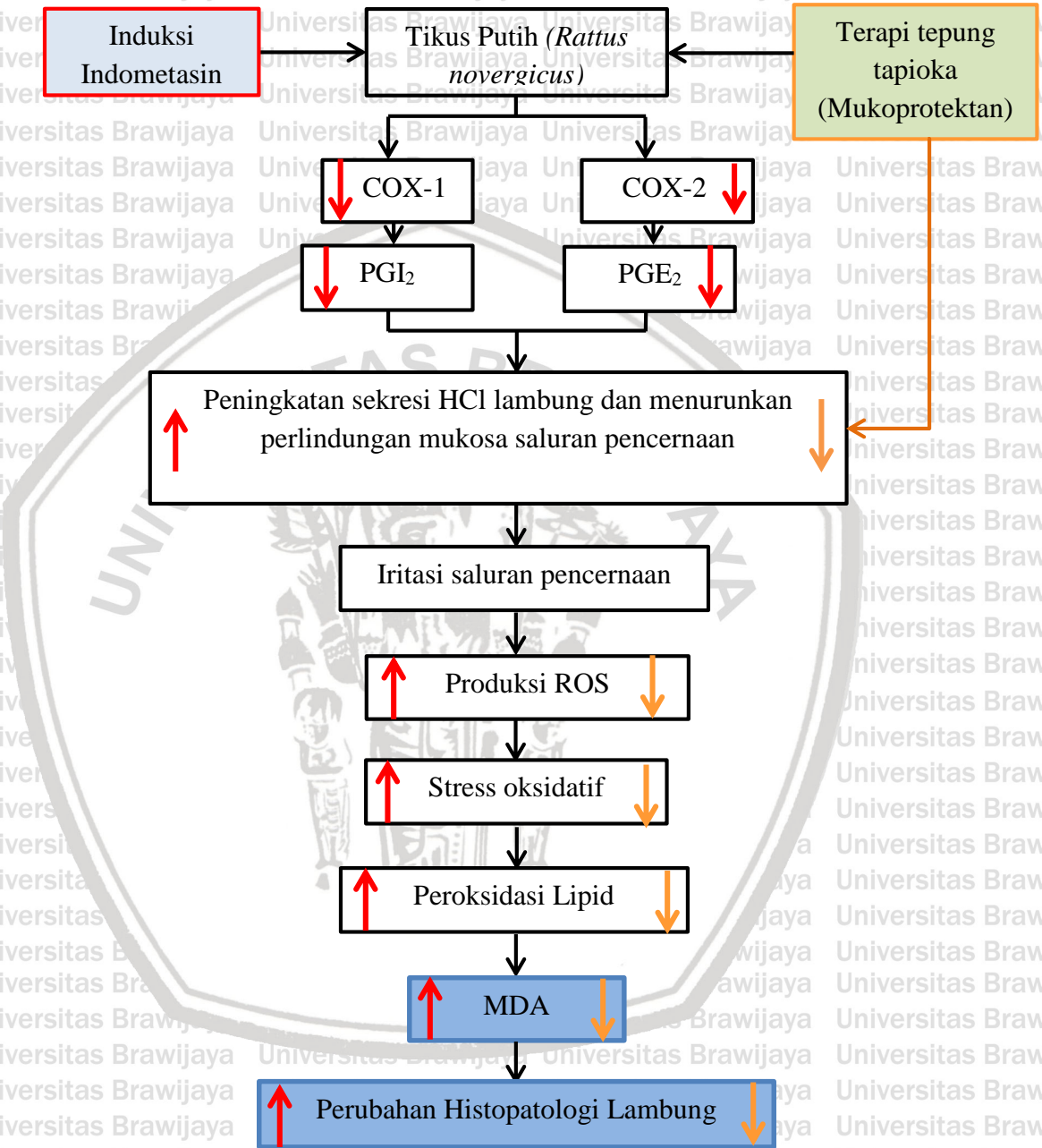
Komposisi	Jumlah
Serat (%)	0,5
Air (%)	15
Karbohidrat (%)	85
Protein (%)	0,5-0,7
Lemak (%)	0,2
Energi (kalori/100 gram)	307

Tapioka adalah pati (amilum) yang diperoleh dari umbi ubi kayu (*Manihot usculenta* Crantz) dengan ekstraksi penggilingan singkong (Indrianti dkk, 2013).

Pati tepung tapioka dapat dimanfaatkan sebagai pangan fungsional yang bermanfaat bagi kesehatan dan juga berpotensi untuk menghasilkan pati resisten yang mempunyai manfaat bagi kesehatan, yang dalam hal ini dibutuhkan sebagai mukoprotektan pada hewan model *Inflammatory Bowel Disease*. Pati resisten mempunyai efek fisiologis yang bermanfaat bagi kesehatan seperti pencegahan kanker kolon, mempunyai efek hipoglikemik, berperan sebagai prebiotik, mengurangi risiko pembentukan batu empedu, mempunyai efek hipokolesterolemik, menghambat akumulasi lemak, dan meningkatkan absorpsi mineral (Karimah, 2011).

BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN



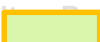




3.1 Kerangka Teori



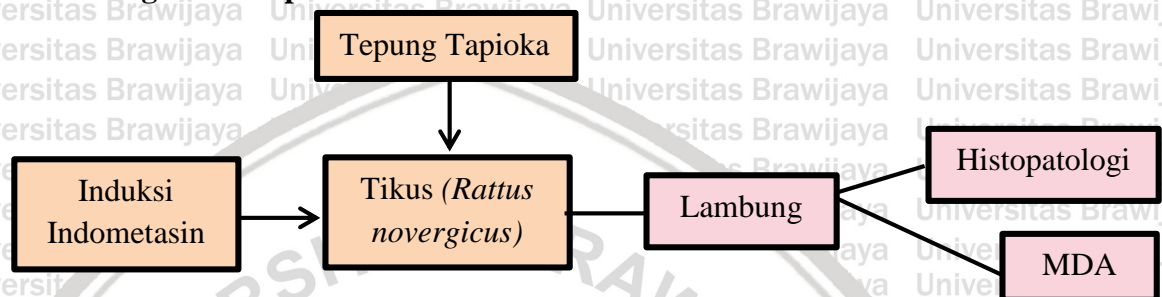
Gambar 3.1 Kerangka Teori Penelitian



Keterangan gambar :

	induksi indometasin		pengaruh terapi tepung tapioka
	terapi tepung tapioka		aktivasi setelah induksi indometasin
	variabel yang diteliti		aktivasi setelah terapi tepung tapioka
	jalur di dalam tubuh		

3.2 Kerangka Konsep



Inflammatory Bowel Disease (IBD) adalah suatu kondisi inflamasi kronik pada saluran pencernaan. IBD terjadi dengan diawali oleh masuknya agen kausatif ke dalam tubuh melalui saluran pencernaan. Agen kausatif yang digunakan berupa obat-obatan NSAID's seperti Indometasin. Indometasin merusak mukosa lambung melalui dua mekanisme yaitu secara lokal dan sistemik. Kerusakan pertahanan mukosa lambung yang terjadi akibat efek indometasin yaitu terjadi karena indometasin bersifat asam lemah, sehingga bila berada dalam lambung yang lumennya bersifat asam (pH kurang dari 3), akan terbentuk partikel yang tidak terionisasi. Selanjutnya partikel indometasin akan mudah berdifusi melalui membran lipid ke dalam sel epitel mukosa lambung bersama dengan ion H⁺.

Dalam epitel lambung, suasana menjadi netral sehingga bagian indometasin yang mengalami difusi akan terperangkap dalam sel epitel dan terjadi penumpukan obat pada lapisan epitel mukosa. Pada epitel tersebut selanjutnya terjadi ulserasi, pembentukan PG terhambat, dan terjadi proses inflamasi. Selain itu, adanya

gangguan proses fosforilasi oksidatif di mitokondria dapat berakibat pada penurunan produksi *adenosine triphosphate* (ATP), peningkatan *adenosine monophosphate* (AMP), dan peningkatan *adenosine diphosphate* (ADP) dapat mengakibatkan kerusakan sel. Perubahan itu diikuti oleh kerusakan mitokondria, peningkatan produksi radikal oksigen, dan gangguan keseimbangan Na^+/K^+ , sehingga menurunkan ketahanan mukosa lambung. Kondisi ini memungkinkan penetrasi asam, pepsin, empedu, dan enzim proteolitik dari lumen lambung ke mukosa dan menyebabkan nekrosis sel.

Keadaan IBD oleh induksi Indometasin terjadi akibat indometasin mampu menghambat COX-1 (*sikloxygenase-1*) yang kemudian menyebabkan menurunnya produksi PGI₂ sehingga menghambat COX-2 (*sikloxygenase-2*) yang menyebabkan peningkatan regulasi COX-2. Terhambatnya COX-1 akan berpengaruh pada perannya dalam pembekuan darah, dimana COX-1 dapat berperan dalam agregasi platelet. Platelet merupakan vesikel sel tak berinti yang akan beragregasi membentuk bekuan darah. Hal-hal tersebut akan menyebabkan peningkatan sekresi HCl dalam lambung, menghambat aliran darah pada mukosa lambung lalu terjadi pendarahan, dan menurunkan sekresi mukus pada lambung tikus sehingga dapat terjadi kerusakan pada jaringan lambung dan berakibat terjadinya peningkatan molekul-molekul radikal bebas (ROS). Oksigen reaktif yang terlepas akan menyebabkan ketidakseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan sehingga menimbulkan kondisi stress oksidatif dalam tubuh.

Adanya kondisi stress oksidatif dalam tubuh akan mengaktivasi NF- κ B dan Fosforilasi Inhibitor NF- κ B (I κ B) yang dihasilkan dalam sel. Degradasi I κ B

oleh system proteosom akan menyebabkan NF-kB berpindah ke nucleus dan mengaktivasi makrofag. Makrofag yang teraktivasi tersebut akan mengaktivasi sitokin proinflamasi seperti IL-1 β , TNF- α , dan IL-6, akibatnya neutrophil terangsang untuk migrasi ke jaringan dan menjadi tidak terkendali sehingga memperparah terjadinya inflamasi. Proses inflamasi yang terjadi juga akan mempengaruhi pelepasan molekul radikal bebas seperti H₂O₂, O₂, dan OH*, dimana radikal bebas akan bereaksi dengan komponen asam lemak tak jenuh (PUFA) dan terjadi reaksi berantai yang disebut peroksidasi lipid. Proses peroksidasi lipid akan menghasilkan produk aldehida berupa *Malondialdehida* (MDA). Sel-sel inflamatori yang teraktivasi dan peningkatan peroksidasi lipid dalam saluran pencernaan akan memicu terjadinya *Inflammatory Bowel Disease* (IBD), sehingga mengakibatkan kerusakan mukosa lambung dan berpengaruh pada gambaran histologi lambung.

Keadaan inflamasi pada saluran pencernaan diterapi menggunakan tepung tapioka. Pati dari tepung tapioka sebagai sumber energi (ATP) dalam lambung dapat menurunkan inflamasi dan menghentikan nekrosis jaringan dengan cara meningkatkan produksi COX-1 untuk mengagregasi platelet untuk pembekuan darah dan menghentikan terjadinya pendarahan. Sementara itu, pati resisten dalam tepung tapioka akan berperan sebagai mukoprotektan untuk meningkatkan mekanisme pertahanan mukosa dengan merangsang produksi prostaglandin dengan membentuk lapisan sitoprotektif sehingga mengurangi kerusakan mukosa saluran cerna. Prostaglandin dalam lambung khususnya prostaglandin E merupakan substansi sitoproteksi yang sangat penting bagi mukosa lambung.

Sitoproteksi itu dilakukan dengan cara meningkatkan sekresi mukosa dan ion bikarbonat yang akan meningkatkan produksi prostaglandin mukosa dan mukus lambung dengan menstimulasi COX-1 dan meningkatkan efek sitoprotektif.

Selain itu tepung tapioka juga mengandung senyawa bioaktif seperti senyawa fenolik yang berperan sebagai antioksidan. Peran senyawa fenol sebagai antioksidan dapat dilihat melalui mekanismenya dalam mendonorkan elektron dan menangkap anion superoksida untuk selanjutnya diubah ke dalam bentuk yang lebih stabil dan memutus reaksi berantai peroksidasi lipid dan menurunkan kadar MDA dalam lambung penderita *Inflammatory bowel disease*.

3.3 Hipotesis Penelitian

Dari rumusan permasalahan, maka hipotesis dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Terapi tepung tapioka dapat menurunkan kadar malondialdehida (MDA) pada hewan tikus (*Rattus novergicus*) model IBD yang diinduksi indometasin.
2. Terapi tepung tapioka mampu memperbaiki gambaran histopatologi sel lambung pada hewan tikus (*Rattus novergicus*) model IBD yang telah diinduksi dengan indometasin.

BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret 2019 – April 2019 di beberapa laboratorium, yaitu di Laboratorium Fisiologi Hewan Fakultas Ilmu dan Teknologi Jurusan Biologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang dan Laboratorium Faal Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

4.2 Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya yaitu kandang tikus, tempat minum tikus, spuit 1 cc, Erlenmeyer, alat sonde, *object glass*, *cover glass*, inkubator, lemari pendingin, *dissecting set*, papan bedah, *glove*, *water bath*, tempat pakan. Bahan yang digunakan yaitu tikus putih dengan berat 150-200 gram, indometasin, tepung kanji, sekam, pakan, aquades, formalin, dan PBS.

4.3 Sampel Penelitian

Hewan model menggunakan tikus (*Rattus norvegicus*) jantan strain wistar berumur 8-12 minggu dengan bobot badan tikus antara 150-200 gram. Hewan coba diadaptasikan selama tujuh hari untuk menyesuaikan dengan dengan kondisi di laboratorium. Estimasi besar sampel dihitung berdasarkan rumus (Montgomery and Kowalsky, 2011):

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

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

$$5n-5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

Keterangan :

t = jumlah kelompok

n = jumlah ulangan yang diperlukan

Berdasarkan perhitungan tersebut maka setiap kelompok perlakuan diperlukan jumlah ulangan paling sedikit 4 kali dalam setiap kelompok, sehingga dibutuhkan 20 ekor hewan coba. Penggunaan hewan coba dalam penelitian sudah mendapatkan sertifikat laik etik dari Komisi Etik Penelitian Universitas Brawijaya dengan nomor 1065-KEP-UB.

4.4 Rancangan Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratorik dengan metode penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Rancangan eksperimental yang digunakan adalah rancangan eksperimen sederhana yang mana subyek dibagi menjadi 5 kelompok secara random, yaitu kelompok 1 kontrol negatif dimana tikus hanya diberikan pakan dan minum, kelompok 2 kontrol positif dimana tikus diinduksi indometasin, kelompok 3, 4, dan 5 merupakan kelompok yang diberikan perlakuan terapi tepung tapioka yaitu masing-masing sebanyak 0,9 mg/gBB, 1,8 mg/gBB, dan 3,6 mg/gBB (**Tabel 4.1**)

Tabel 4.1 Pembagian Kelompok Hewan Coba

Kelompok	Perlakuan
A (K-)	Kontrol negatif (tanpa perlakuan)
B (K+)	Kontrol positif (induksi indometasin)
C (Perlakuan 1)	Induksi indometasin + terapi tepung tapioka dosis 0,9 mg/kg BB
D (Perlakuan 2)	Induksi indometasin + terapi tepung tapioka dosis 1,8 mg/kg BB
E (Perlakuan 3)	Induksi indometasin + terapi tepung tapioka dosis 3,6 mg/kg BB

Tabel 4.2 Rancangan Penelitian "Two Way Table"

Perlakuan	Ulangan					Total	Rata-rata
	1	2	3	4	5		
K-	K-.1	K-.2	K-.3	K-.4	K-.5	$\sum_1^5 K -$	$\frac{\sum_1^5 K -}{5}$
K+	K+.1	K+.2	K+.3	K+.4	K+.5	$\sum_1^5 K +$	$\frac{\sum_1^5 K +}{5}$
P1	P1.1	P1.2	P1.3	P1.4	P1.5	$\sum_1^5 K - P1$	$\frac{\sum_1^5 P1}{5}$
P2	P2.1	P2.2	P2.3	P2.4	P2.5	$\sum_1^5 P2$	$\frac{\sum_1^5 P2}{5}$
P3	P3.1	P3.2	P3.3	P3.4	P3.5	$\sum_1^5 P3$	$\frac{\sum_1^5 K - P3}{5}$

Keterangan :

K- : kontrol negatif (tanpa induksi)

K+ : kontrol positif (diinduksi indometasin)

P1 : Terapi tepung tapioka 0,9 mg/200gBB 2 x sehari

P2 : Terapi tepung tapioka 1,8 mg/200gBB 2 x sehari

P3 : Terapi tepung tapioka 3,6mg/200gBB 2 x sehari

Tabel 4.3 Tabel ANOVA (*Analysis of Variance*)

S.V	df ^x	SS	MS ^{xx}	F ^{xxx} Calc	F5%	F1%
Treatment	4	SST	MST	$\frac{MST}{MSE}$	3,06	4,89
Error	15	SSE	MSE			
Total	19					

Keterangan:

- x). $df \text{ varietas (treatment)} = t - 1 = 5 - 1 = 4$
- d.f total = $nt - 1 = 20 - 1 = 19$
- d.f error = $df \text{ total} - df \text{ varietas} = 19 - 4 = 15$
- xx). $MS \text{ varietas} = \frac{ss \text{ Varietas}}{df \text{ Varietas}}$
- MS error = $\frac{ss \text{ error}}{df \text{ error}}$
- xxx). $F \text{ Calculated} = \frac{MS \text{ Varietas}}{MS \text{ error}}$

4.5 Variabel Penelitian

Adapun variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah :

- a. Variabel bebas : Induksi indometasin dan terapi tepung tapioka
- b. Variabel terikat : Kadar MDA (Malondialdehida) dan histopatologi

Lambung

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



4.6 Tahapan Penelitian

4.6.1 Persiapan Hewan Coba

Sampel yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Wistar dengan berat badan 150-200 gram dan berada dalam kondisi sehat.

Tikus diadaptasikan selama tujuh hari dengan kandang terpisah dan diberi pakan yang sama pada semua tikus. Tikus dibagi 5 kelompok perlakuan dan dalam masing-masing kelompok perlakuan terdiri dari 4 ekor tikus. 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 berlokasi pada tempat yang bebas dari suara ribut dan terjaga dari asap industri serta polutan lainnya. Lantai kandang mudah dibersihkan dan disanitasi, serta ventilasi cukup. 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 member air minum secara *ad libitum*.

4.6.2 Tatalaksana Pembuatan Hewan Model IBD induksi Indometasin

Induksi indometasin dilakukan secara peroral dengan dosis indometasin yang diberikan pada tikus adalah 15mg/kg BB tikus (Aulani³am, 2012). Berat rata-rata tikus yang digunakan adalah sekitar 200 gram, sehingga dosis indometasin yang digunakan adalah :

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

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.

4.6.3 Persiapan Tepung Tapioka

Tepung tapioka diperoleh dari pasar, tetapi 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 dalam satu hari.

4.6.4 Terapi Tepung Tapioka

Pemberian tepung tapioka dilakukan secara oral menggunakan sonde. Terapi diberikan dua kali sehari selama 14 hari. Kelompok C diberi terapi secara peroral menggunakan sonde dengan dosis 0,9 mg/200g BB. Kelompok D diberi terapi peroral dengan dosis 1,8 mg/200g BB. Kelompok E diberi terapi peroral dengan dosis 3,6 mg/200g BB.

4.6.5 Euthanasi Hewan Coba

Euthanasi dan pengambilan jaringan lambung pada hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*) dilakukan pada hari ke-15 terapi setelah semua perlakuan

selesai dilakukan. Hewan coba dieuthanasi dengan melakukan dislokasi pada bagian leher lalu tikus diletakan diatas nampan untuk pembedahan dengan posisi bagian ventral di atas. Selanjutnya dibuka bagian abdomen, lalu diambil bagian lambung dan dibungkus menggunakan alumunium foil.

4.6.6 Pembuatan Preparat Histopatologi Lambung

Pembuatan preparat dimulai dengan memotong sampel organ lambung yang akan diperiksa, kemudian direndam dalam larutan neutral buffer formalin (NBF) 10%. Sampel organ selanjutnya diperkecil lagi dengan irisan tipis untuk disimpan dalam tissue cassette dan dilakukan fiksasi dalam larutan NBF. Setelah fiksasi, dilakukan proses dehidrasi dan clearing dengan satu sesi larutan yang terdiri dari: alkohol 70 %, alkohol 80 %, alkohol 90 %, alkohol 96 %, alkohol absolut, toluene, dan parafin, secara bertahap dalam waktu satu hari. Sampel organ diblocking dengan embedding set yang dituangi parafin cair kemudian didinginkan. Blok parafin yang sudah dingin dipotong menggunakan microtome dengan ketebalan $\pm 4 - 5$ mikron. Proses yang terakhir adalah pewarnaan dengan metode Hematoxylin – Eosin dan mounting media.

4.6.7 Pengamatan Preparat Histopatologi

Preparat histologi lambung 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 lambung, kerusakan struktur jaringan lambung, kerusakan vili-vili, dan infiltrasi sel radang.

4.6.8 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)

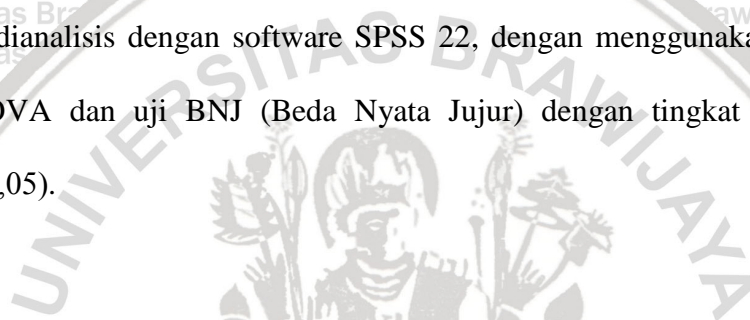
Standar MDA dengan konsentrasi 0,1,2,3,4,5,6,7, dan 8 $\mu\text{g/ml}$ diambil masing-masing sebanyak 100 μl . Kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi yang berbeda. Setelah itu ditambahkan aquades sebanyak 550 μl pada tabung reaksi. Sehingga berisi larutan standar sebanyak 650 μl . Kemudian dihomogenkan dengan vortex, tabung ditutup menggunakan plastik dan diberi lubang. Diinkubasi dalam penangas air dengan suhu 100°C selama 30 menit. Selanjutnya MDA dengan konsentrasi 4 $\mu\text{g/ml}$ diukur absorbansinya pada panjang gelombang 500-600 nm untuk menentukan panjang gelombang maksimum MDA (Sholichah, 2012).

Lambung 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.

4.6.9 Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil perlakuan ada dua, data kualitatif dan data kuantitatif. Data kualitatif yakni hasil pengamatan histopatologi lambung yang disajikan dan dianalisis secara deskriptif, dengan mengamati mukosa lambung. Sedangkan data kuantitatif untuk mengetahui kadar MDA, diukur dengan menggunakan uji asam Thiobarbiturat (TBA) yang diukur secara spektrofotometri dan dianalisis dengan software SPSS 22, dengan menggunakan Analisis Ragam ANOVA dan uji BNJ (Beda Nyata Jujur) dengan tingkat kepercayaan 95% ($\alpha=0,05$).



BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Pengaruh Terapi Tepung Tapioka Terhadap Kadar MDA Lambung Tikus (*Rattus norvegicus*) Model *Inflammatory Bowel Disease* Hasil Induksi Indometasin

Pengukuran kadar malondialdehida (MDA) pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) dilakukan untuk mengetahui pengaruh dari pemberian tepung tapioka sebagai pengobatan pada hewan model *Inflammatory Bowel Disease*.

Pengukuran kadar MDA ini menggunakan uji ANOVA dibantu dengan SPSS version 22.0 for window dan ditunjukkan pada **Tabel 5.1**

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

S.V	df	SS	MS	F hitung	F5%	Sig
Treatment	4	10177.520	2544.380	0.794	3.06	0.547
Error	15	48063.574	3204.238			
Total	19	58241.095				

Data uji *One Way* ANOVA pada **Tabel 5.1** disajikan dengan tingkat kepercayaan 95% menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata karena F_{hit} (0.794) < F_{tabel} 5% (3.06), maka dapat disimpulkan bahwa kadar MDA antara masing-masing perlakuan tidak berpengaruh secara signifikan.

Berdasarkan statistika dilakukan uji normalitas dan homogenitas (**Lampiran 10**) menunjukkan tidak normal dan homogen. Hal itu menunjukkan pengaruh terhadap terapi yang diberikan pada kondisi *Inflammatory Bowel Disease*. Hasil uji statistika tidak dapat dilanjutkan ke uji Beda Nyata Jujur (BNJ) atau uji *Tukey* karena pada uji



sebelumnya tidak memiliki perbedaan yang signifikan antar perlakuan. Hasil uji statiska yang dilakukan dapat dilihat pada **Tabel 5.2.**

Tabel 5.2 Tabel Rata-rata Kadar MDA pada Tikus (*Rattus novergicus*) Seluruh Kelompok

Kelompok	Rata-rata kadar MDA ng/mL±SD	Peningkatan (%)	Penurunan (%)
K-	284.67±58.55		
K+	332.72±101.48	0.17%	
P1	296.33±30.97	0.04%	
P2	282.16±40.33		0.01%
P3	265.22±16.74		0.07%

Keterangan : Hasil rata-rata kadar tidak berbeda signifikan, ditunjukkan dengan $f_{hitung} < f_{tabel}$ ($p > 0,05$) sehingga antar perlakuan tidak terdapat notasi

Kelompok kontrol K(-) atau kelompok tikus sehat memiliki rata-rata 284.67±58.55 ng/mL yang digunakan sebagai standar atau pembanding untuk menentukan adanya penurunan maupun peningkatan yang terjadi pada kelompok perlakuan lainnya. Kelompok kontrol K(+) dengan pemberian induksi indometasin memiliki rata-rata 332.72±101.48ng/mL dengan nilai presentasi peningkatan terhadap K(-) 0.17%. Hasil rata-rata kelompok P.1 dengan pemberian terapi tepung tapioka dosis 0,9 mg/200gBB memiliki nilai 296.33±30.97 ng/mL dan menunjukkan nilai presentasi peningkatan sebesar 0.04% yang menandakan terapi pada dosis ini belum menunjukkan penurunan kadar MDA lambung tikus akibat kondisi IBD.. Pada kelompok P.2 yaitu kelompok terapi tepung tapioka dosis 1,8 mg/200gBB menunjukkan nilai rata-rata 282.16±40.33ng/mL dengan presentasi penurunan sebesar 0.01% yang menunjukkan pada dosis ini terjadi

penurunan kadar MDA lambung bila dibandingkan dengan kelompok K+.

Pada kelompok P.3 yaitu kelompok terapi tepung tapioka dosis 3,6 mg/200gBB menunjukkan nilai rata-rata 265.22 ± 16.74 ng/mL dan menunjukkan presentasi penurunan kadar MDA lambung tikus sebesar 0.07%. Kadar MDA dianalisa menggunakan ragam statistika *One way* ANOVA didapatkan f_{hitung} sebesar 0.794 dimana lebih kecil daripada f_{tabel} , yaitu 3,06. Hasil ini membuktikan bahwa rata-rata kadar MDA antar perlakuan tidak berbeda signifikan ($p > 0,05$).

Penurunan kadar MDA yang tidak berbeda signifikan pada penelitian ini membuktikan, bahwa ketiga volume terapi yang diberikan selama 14 hari sebanyak dua kali sehari tersebut menunjukkan hasil yang sama. Malondialdehid (MDA) merupakan produk akhir dari peroksidasi lipid membran oleh ROS, yaitu reaksi antara radikal bebas (radikal hidroksi) dengan *Poly Unsaturated Fatty Acid* (PUFA) sehingga pengukuran kadar MDA secara tidak langsung dapat menunjukkan keberadaan radikal bebas. Reaksi tersebut terjadi secara berantai dengan hasil akhir berupa hidrogen peroksida. Hidrogen peroksida akan menyebabkan dekomposisi beberapa produk aldehyd yang bersifat toksik terhadap sel. MDA merupakan salah satu aldehyd utama yang terbentuk. Malondialdehid (MDA) adalah salah satu marker radikal bebas dalam tubuh. Peningkatan radikal bebas juga akan menyebabkan terjadinya peningkatan pada kadar MDA dalam tubuh (Zaetun dkk, 2018; Aulanni'am dkk, 2011). Sehingga diperlukan senyawa

antioksidan eksogen yang diharapkan mampu untuk menetralkan radikal bebas berlebih dalam tubuh.

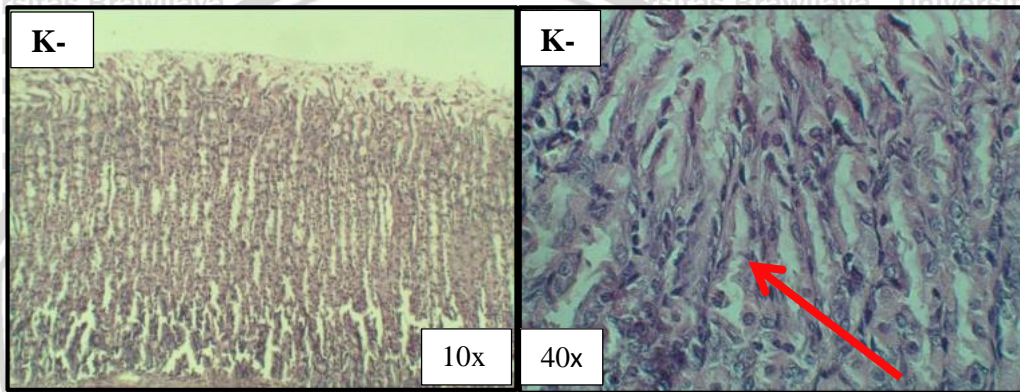
Adanya penurunan kadar MDA pada kelompok tikus yang diberi terapi menunjukkan bahwa senyawa fenol dalam tepung tapioka sebagai antioksidan eksogen sudah bekerja menurunkan kadar MDA meskipun penurunan kadar belum secara signifikan. Antioksidan merupakan suatu senyawa yang dapat menyerap atau menetralkan radikal bebas. Secara umum senyawa fenol sebagai antioksidan memiliki gugus aktif $-OH$ dan ikatan rangkap dua $>C=C<$ yang berfungsi sebagai penangkap dan penghambat reaksi radikal bebas, gugus-gugus ini dapat memberikan satu molekul hidrogennya sehingga ROS menjadi stabil dan terbentuk radikal bebas baru yang kurang reaktif. Pada kondisi radikal bebas akan merusak membran sel, radikal yang berperan yaitu radikal hidroksil ($\bullet O_2$), sehingga antioksidan akan bekerja dengan mengubah H_2O_2 menjadi H_2O dan O_2 , sehingga pelepasan radikal hidroksil dapat dikurangi (Parwata, 2015).

Berdasarkan hasil pada penelitian ini, dari ketiga sediaan terapi yang diberikan, menunjukkan hasil adanya perbaikan berupa penurunan kadar MDA dari kelompok tikus yang diberi sediaan terapi dengan dosis 1,8 ml/200g BB (P.2) dan 3,6 ml/200g BB (P.3), dan dari ketiga sediaan terapi yang diberikan tersebut, sediaan terapi 3,6 ml/200g BB (P.3) cukup efektif untuk menurunkan kadar MDA tikus pada kondisi IBD dengan penurunan kadar paling tinggi sebesar 0,07% meskipun pada setiap kelompok perlakuan tidak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan, sementara

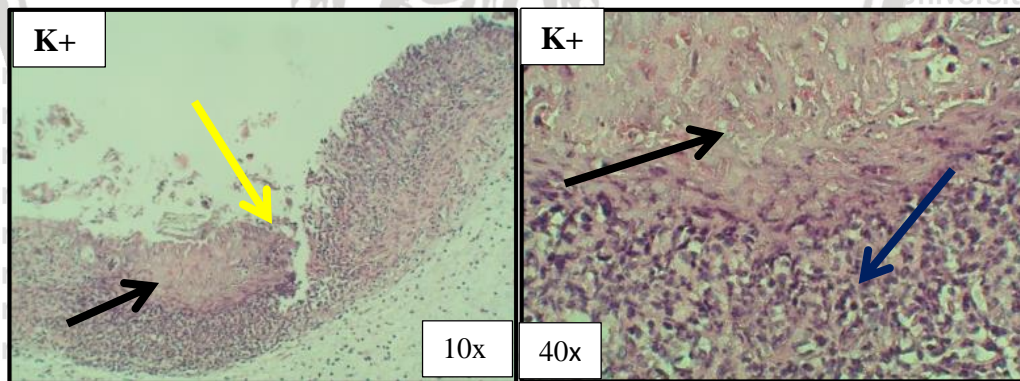
itu pada kelompok tikus P.1 dengan dosis 0,9 mg/200g BB belum menunjukkan adanya perbaikan berupa penurunan kadar MDA dan terjadi peningkatan kadar MDA sebesar 0,04%.

5.2 Pengaruh Pemberian Terapi Tepung Tapioka Terhadap Histopatologi Lambung Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Model *Inflammatory Bowel Disease*

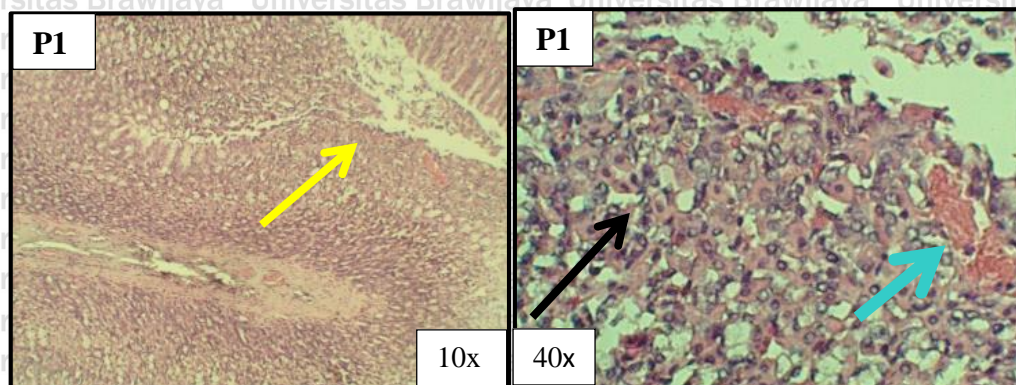
Pengamatan histopatologi lambung tikus yang diberi terapi tepung tapioka menggunakan pewarnaan HE diamati pada perbesaran 10x dan 40x ditunjukkan pada **Gambar 5.1**



Gambar 5.1a K- (Kontrol negatif)
Tanda → menunjukkan epitel normal lambung

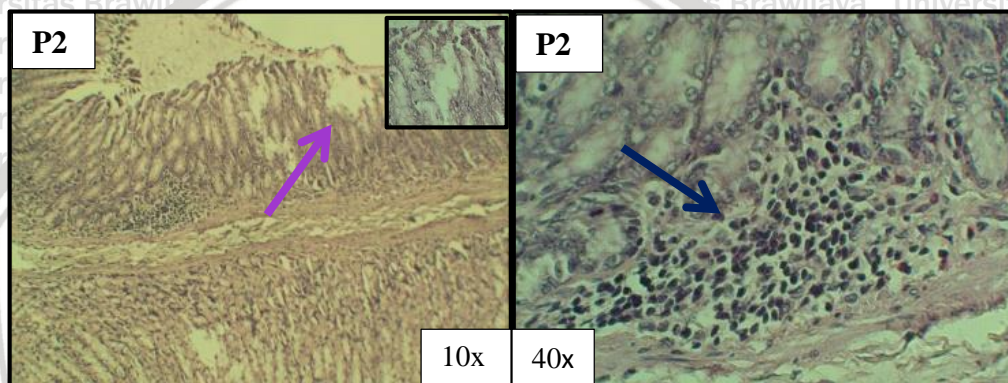


Gambar 5.1b K+ (Kontrol positif)
Keterangan : → menunjukkan ulserasi; → menunjukkan nekrosis; → menunjukkan infiltrasi sel radang



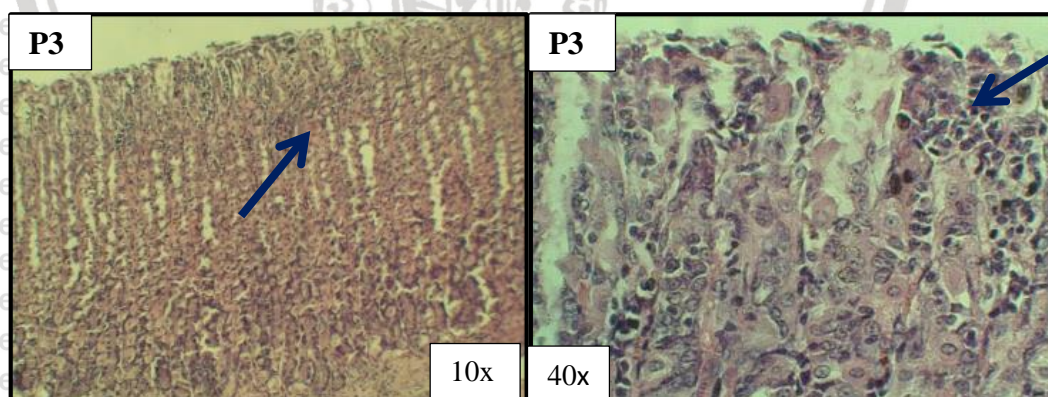
Gambar 5.1c P1 (Kelompok terapi 1)

Keterangan : → menunjukkan ulserasi; → menunjukkan hemoragi



Gambar 5.1d P2 (Kelompok terapi 2)

Keterangan : → menunjukkan erosi epitel; → menunjukkan infiltrasi sel radang



Gambar 5.1e P3 (Kelompok terapi 3)

Keterangan : → menunjukkan infiltrasi sel radang

Gambar 5.1 Histopatologi Lambung Tikus Putih dengan Perbesaran 10x dan 40x

Gambaran histologi lambung tikus dengan pewarnaan HE (**Gambar 5.1**) pada kelompok tikus sehat (K-) menunjukkan keadaan epitel mukosa lambung

yang tersusun atas epitel kolumnar simplek dalam keadaan utuh. Hasil pengamatan histologi ini dapat dijadikan sebagai acuan adanya perubahan pada jaringan mukosa lambung kelompok perlakuan lainnya dikarenakan pada kelompok kontrol (K-) ini merupakan kelompok tanpa perlakuan. Pada kelompok tikus kontrol (K+) mengalami kerusakan histopatologi berupa ulserasi pada epitel mukosa lambung dan dijumpai nekrosis serta infiltrasi sel radang. Hasil pengamatan dari kelompok yang diinduksi indometasin ini terindikasi adanya inflamasi yang ditandai oleh perubahan yang terjadi, dimana data parameter ini dapat dijadikan sebagai acuan pendukung hasil pengukuran kadar MDA yang meningkat. Kerusakan yang terjadi pada jaringan epitel lambung model *Inflammatory Bowel Disease* (**Gambar 5.1b**) disebabkan oleh karena induksi indometasin 15 mg/kg BB. Induksi indometasin dalam jangka waktu pendek menyebabkan nekrosis sel-sel mukosa lambung, diawali kehilangan integritas membran sel, kemudian akan mengakibatkan kemunculan sel-sel nekrosis yang akan mengaktivasi sel-sel netrofil dan makrofag serta mengakibatkan terjadinya proses inflamasi (Tamisato *et.al.*, 2001 dalam Suprijono, 2011). Keadaan inflamasi pada jaringan mukosa lambung akan mempengaruhi peningkatan sitokin proinflamasi yang menyebabkan aktivasi *neutrofil-endotelial*. Perlekatan neutrofil tersebut berkaitan dengan patogenesis kerusakan mukosa lambung melalui dua mekanisme utama, yaitu oklus; menyebabkan penurunan aliran darah lambung dan iskemik sel serta peningkatan pelepasan molekul radikal bebas; ROS (*Reactive Oxide Species*). Radikal bebas tersebut bereaksi dengan asam lemak tak

jenuh pada membran mukosa lambung dan menyebabkan peroksidasi lemak serta kerusakan jaringan pada lambung (Amrulloh dan Utami, 2016).

Kelompok P1 yaitu kelompok terapi dengan dosis 0,9 mg/200gBB dijumpai gambaran histopatologi epitel mukosa masih mengalami perubahan berupa ulserasi epitel dan adanya hemoragi. Pada kelompok P2 yaitu kelompok terapi dengan pemberian dosis 1,8 mg/200gBB gambaran histopatologi yang diamati yaitu nampak jaringan epitel mukosa yang mengalami erosi dan terdapat infiltrasi sel radang. Kelompok P3 yaitu kelompok terapi dengan dosis 3,6 mg/200gBB menunjukkan pada epitel mukosa lambung dijumpai infiltrasi sel radang. Berdasarkan pengamatan histopatologi menunjukkan perubahan berupa erosi yang lebih sedikit dibandingkan pada kelompok terapi lainnya. Induksi indometasin dapat menyebabkan produksi ROS meningkat sehingga menyebabkan kerusakan lambung. Kerusakan saluran pencernaan yang terjadi akan mengakibatkan mikroflora saluran pencernaan terganggu. Jumlah mikroflora yang tidak seimbang tersebut akan mempermudah bakteri patogen menempel pada mukosa lambung dan memperparah inflamasi (Ancoferiawan, 2015).

Pada semua kelompok perlakuan (P1, P2, dan P3) menunjukkan perbaikan kerusakan mukosa lambung dibandingkan dengan kelompok kontrol positif (K+) meskipun hasil belum signifikan. Perbaikan jaringan yang terjadi dikarenakan pati sebagai sumber energi akan meningkatkan pembentukan ATP dan meningkatkan COX-1 sebagai platelet untuk pembekuan darah, selain itu juga pati resisten yang dihasilkan oleh tepung tapioka dapat berperan sebagai mukoprotektan. Pati resisten akan menginisiasi produksi prostaglandin sehingga akan meningkatkan

pembentukan mukus pada mukosa lambung. Hal tersebut akan membantu melindungi mukosa dari kerusakan akibat sekresi asam lambung dan menekan invasi bakteri patogen yang dapat berperan dalam memperparah terjadinya inflamasi; sehingga inflamasi dapat menurun dan stress oksidatif menurun. Keadaan tersebut akan menurunkan produksi radikal bebas dan kerusakan jaringan akan diperbaiki.

Tikus model IBD yang diterapi menggunakan tepung tapioka dengan dosis 0,9 mg/200gBB, belum terlihat adanya perbaikan secara keseluruhan pada sel epitel lambung, masih terlihat adanya ulserasi epitel dan sel radang yang sudah lebih baik dibandingkan kelompok K+. Pemberian terapi dengan dosis 1,8 mg/200gBB menunjukkan perbaikan yang belum keseluruhan dan terdapat perubahan lain yang berdasarkan pengamatan histopatologi, ditunjukkan adanya erosi pada epitel mukosa dan juga sel radang. Pada kelompok tikus terapi dengan pemberian dosis 3,6 mg/200gBB menunjukkan adanya perbaikan yang ditandai dengan adanya penurunan kerusakan epitel dan juga sel radang yang sudah lebih baik dibandingkan dengan kelompok K+.

Terapi tepung tapioka pada semua kelompok perlakuan (P1, P2, P3) menunjukkan adanya sedikit perbaikan pada kerusakan mukosa lambung dibandingkan dengan kelompok K+ meskipun perubahan yang terjadi tidak signifikan. Hal ini menunjukkan bahwa keadaan inflamasi masih terjadi pada setiap kelompok perlakuan dan sinkron dengan hasil kadar MDA yang tidak signifikan yang menunjukkan kadar MDA masih tinggi. Pengukuran kadar MDA ini dilakukan untuk mengukur radikal bebas berlebih dalam tubuh (Parwata,

2015), dimana penyebab kerusakan jaringan lambung dapat disebabkan oleh produksi radikal bebas berlebih (Ancoferiawan dkk, 2015). Hasil ini menunjukkan pati resisten yang terkandung dalam tepung tapioka belum cukup efektif dalam perannya sebagai mukoprotektan pada mukosa lambung yang rusak akibat kondisi IBD.



BAB VI PENUTUP

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang telah disampaikan dapat diambil kesimpulan bahwa:

1. Pemberian terapi tepung tapioka tidak berpengaruh signifikan pada penurunan kadar MDA dan perubahan jaringan lambung hewan model

Inflammatory Bowel Disease.

2. Pemberian terapi tepung tapioka kelompok pemberian dosis 1,8 mg/kgBB dan 3,6 mg/kgBB menunjukkan penurunan kadar MDA hewan model *Inflammatory Bowel Disease.*

6.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang sudah dilakukan, saran yang dapat diberikan untuk penelitian selanjutnya yaitu :

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai penggunaan dosis tepung tapioka yang lebih ditingkatkan untuk melihat pengaruhnya terhadap penurunan kadar MDA dan perubahan gambaran jaringan lambung model IBD hasil induksi Indometasin.

2. Pada penelitian selanjutnya dapat dilakukan pengujian dengan mengombinasikan tepung tapioka dengan senyawa antioksidan tambahan untuk melihat pengaruhnya terhadap penurunan kadar MDA dan perubahan gambaran jaringan lambung model IBD hasil induksi Indometasin.

DAFTAR PUSTAKA

- Akbar, B. 2010. *Tumbuhan Dengan Kandungan Senyawa Aktif yang Berpotensi Sebagai Bahan Antifertilitas*. Jakarta : Adabia Press.
- Amir, N., Suprayitno, E., Hardoko, Nursyam, H. 2015. Pengaruh Sipermetrin pada Jambal Roti Terhadap Kadar Ureum dan Kreatinin Tikus Wistar (*Rattus novergicus*). *Jurnal IPTEKS PSP, Vol.2 (3): 283-293*.
- Ancoferiawan, R., Aulanni'am, Wuragil, D.K. 2015. Studi Terapi Ekstrak Etanol Akar Seledri (*Apium graveolens*) Terhadap Kadar Malondialdehida (MDA) dan Gambaran Histopatologi Ileum Tikus (*Rattus novergicus*) Model *Inflammatory Bowel Disease* (IBD) Hasil Induksi Indometasin. *Program Studi Pendidikan Dokter Hewan, Universitas Brawijaya*.
- Aryani, D.E., Aulanni'am, A.A. Kaltaria, P., Wawid. 2018. Profile Histopathology Analysis of Gastric, Duodenum, Ileum, and Colon of Inflammatory Bowel Disease (IBD) Rat Model. Atlantis Press. *Advances in Health Sciences Research (AHSR), volume 5*.
- Aulanni'am, Soeatmadji, D.W., Fatchiyah, F., Sumitro, S.B. 2005. Detection of GAD 65 Auto Antibodies of Type 1 Diabetes Using GAD 65-abs Reagen. Detection Produced From Bovine Brain Tissue. *Detection of GAD65 auto-antibodies Vol. 14, No. 4*.
- Aulanni'am, Roosdiana, A., Rahma, N.L. 2011. Potensi Fraksi Etanol dan Etil Asetat Rumput Laut Coklat (*Sargassum duplicatum* Bory) Terhadap Penurunan Kadar Malondialdehida dan Perbaikan Gambaran Histologis Jejunum Usus Halus Tikus IBD. *Jurnal Ilmiah Kedokteran Hewan Vol.4, No.1*.
- Bernstein, C.N., Fried, M., Krabshuis, J.H., Cohen, H., Eliakim, R., Fedail, S., Gearry, R., Goh, K.L., Hamid, H., Khan, A.G., LeMair, A.W., Malfertheiner, Qin, O., Rey J.F., Sood, A., Steinwurz, F., Thomsen, O.O., Thomson, A., Watermeyer, G. 2010. World Gastroenterology Organization Practice Guidelines for the Diagnosis and Management of IBD in 2010. *WGO Practice Guidelines Volume 16, No.1*.

- Bernstein, C.N., Fried, M., Krabshuis, J.H., Cohen, H., Eliakim, R., Fedail, S., Garry, R., Goh, K.L., Hamid, H., Khan, A.G., LeMair, A.W., Malfertheiner, Q., Qin, O., Rey J.F., Sood, A., Steinwurz, F., Thomsen, O.O., Thomson, A., Watermeyer, G. 2015. World Gastroenterology Organisation Global Guidelines Inflammatory Bowel Disease. In : *J Clin Gastroenterol Volume 50, No. 10*. Wolters Kluwer Health, Inc.
- Fakhoury, M., Negrulj, R., Mooranian, A., Al-Salami, A. 2014. Inflammatory bowel disease: clinical aspects and treatments. *Journal of Inflammation Research 2014;7* 113–120.
- Grotto, D., Plombum, V.J., Rocha, J.B.T., Farina, M. 2009. Importance of the Lipid Peroxidation Biomarkers and Methodological Aspects For Malondialdehyde Quantification. *Quim. Nova, Vol. 32, No. 1*, 169-174.
- Herlina, E. dan Nuraeni, F. 2014. Pengembangan Produk Pangan Fungsional Berbasis Ubi Kayu (*Manihot esculenta*) dalam menunjang ketahanan pangan. In : *Sains Dasar 3 (2) :142-148*. Program Studi Kimia, Universitas Pakuan Bogor.
- Hoffman, J. C., Pawlowski, N.N., Köhl, A.A., Höhne, W., Zeitz, M. 2003. Animal Models of Inflammatory Bowel Disease : An Overview. *Pathobiology 2002-03;70:121-130*.
- Indrianti, N., Kumalasari, R., Ekafitri, R., dan Darmajana, D.A. 2013. Pengaruh Penggunaan Pati Ganyong, Tapioka, dan Mocaf Sebagai Pakan Substitusi Terhadap Sifat Fisik Mie Jagung Instan. *AGRITECH, Vol. 33, No. 4*.
- Karimah, Ima. 2011. Nilai Indeks Glikemik Bubur Instan Pati Singkong dan Bubur Instan Pati Resisten Singkong [Skripsi]. Fakultas Ekologi Manusia. Institut Pertanian Bogor.
- Kathrani, A., Werling, D., Allenspach, K. 2011. Canine breeds at High Risk of Developing Inflammatory Bowel Disease in the South-Eastern UK. In : *Veterinary Record 169*, 635. Depeartemen of Veterinary Clinical.
- Khennouf S., S.Amira, L. Arrar and A.Baghiani. 2010. Effect of Some Phenolic Compounds and *Quercus* Tannins on Lipid Peroxidation. *J.World Applied Sciences 8 (9): 1144-1149*

Maity, P., Bindu, S., Dey, S., Goyal, M., Alam, A., Pal, C., Mitra, K., Bandyopadhyay, U. 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 VOL. 284, NO. 5, pp. 3058–3068.*

Mescher, A.L. 2010. *Junquiera's Basic Histology Text & Atlas*. McGraw Hill Companies, Inc.

Montgomery, D. dan S. Kowalsky. 2011. Design and Analysis of Experiment. *John Willey and Sains Inc.* ISBN 978-0470-16990-2.

Mu'nisa A., Wresdiyati, T., Kusumorini, N., Manalu, W. 2009. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Cengkeh. *Jurnal Veteriner Vol. 13, No. 3 : 272-277.*

Parwata, M. O. A. 2015. *Bahan Ajar Uji Bioaktivitas : Antioksidan*. Universitas Udayana.

Rahman, A.M. 2007. Mempelajari Karakteristik Kimia dan Fisik Tepung Tapioka dan Mocal (*Modified Cassava Flour*) sebagai Penyalut Kacang pada Produk Kacang Salut [Skripsi]. Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor.

Rowe, R. C. 2009. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. Pharmaceutical Press. London.

Sakura, Y.W., Jayawardhita, A.A.G., Kardena, I.M., Sudimartini, L.M. 2017. Perbandingan Gambaran Histopatologi Lambung Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan yang Diberi Amoxicillin Dikombinasikan dengan Asam Mefenamat dan Deksametason. *Indonesia Medicus Veterinus*, 6(3): 246-253.

Segal, A.W. 2005. How neutrophils kill microbes. *Annu. Rev. Immunol.* 23, 197-223.

Setiarto, R.H.B., Widyastuti, N., Sumariyadi, A. 2018. Peningkatan Kadar Pati Resisten Tipe III Tepung Singkong Termodifikasi Melalui Fermentasi

dan Pemanasan Bertekanan-Pendinginan. *Biopropal Industri Vol. 9 No. 1* : 9-23.

Sholichah, N. A. 2012. *Potensi Terapi Ekstrak Air Daun Kedondong (Lannea coromandelica) 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.

Sparkes, H. 2010. Long Term Use of NSAID in cats. *Journal of Feline Medicine & Surgery 12* : 521-538.

Teng P, Kairupan C, Loho L. 2013. Gambaran Histopatologi Lambung Tikus Wistar yang Diberi Cabe Rawit (*Capsicum frutescens*). *Jurnal e-Biomedik*, 1: 1109-1113.

Werdhasari, A. 2014. Peran Antioksidan Bagi Kesehatan. *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia. Vol. 3.2* : 59-68.

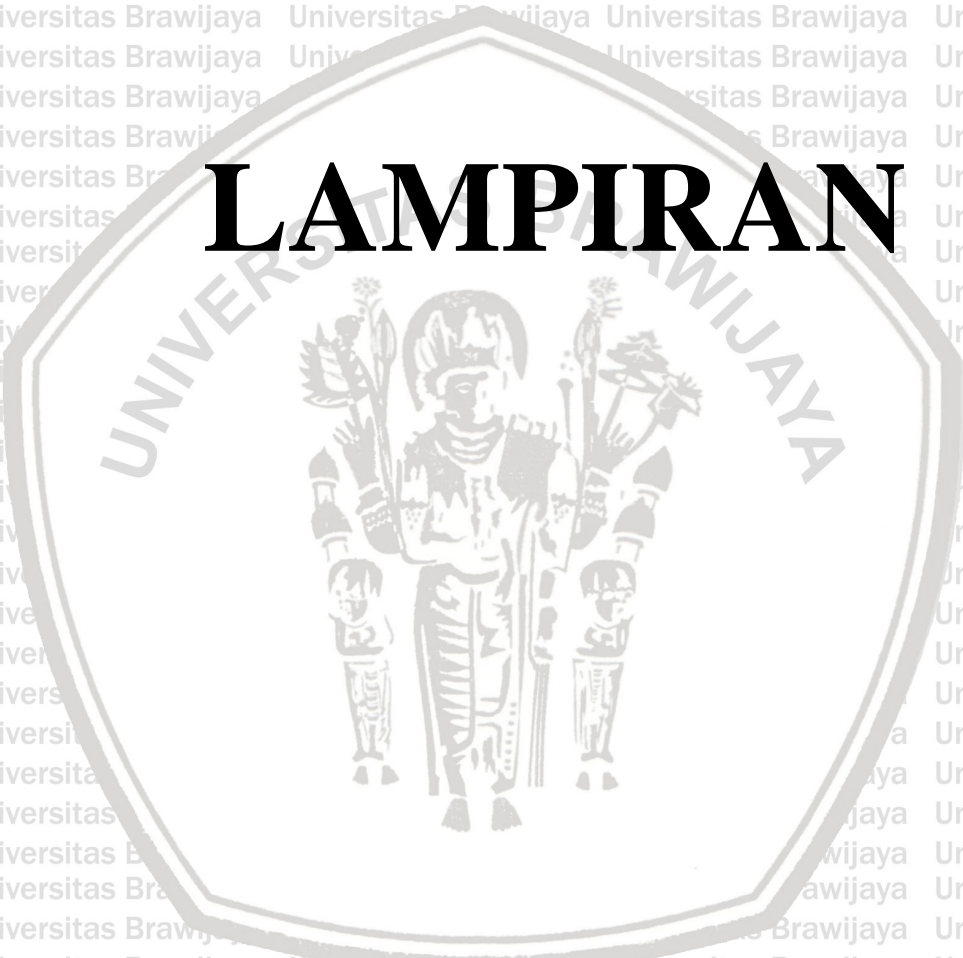
Winarno, F. G., 2004. *Kimia Pangan dan Gizi. Cetakan ke-XI*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.

Yi-Zhen, Z. dan Yang Y. L. 2014 Inflammatory Bowel Disease : Pathogenesis. *World J. Gastroenterol* : 20 (1) : 91-99.


Zaetun, S., Dewi, L.B.K., Widnya, I.B.R. 2018. Profil Kadar MDA (*Malondialdehida*) Sebagai Penanda Kerusakan Seluler Akibat Radikal Bebas pada Tikus yang diberikan Air Beroksigen. *Jurnal Analisis Medika Bio Sains Vol.5, No. 1*.



LAMPIRAN



Lampiran 1. Sertifikat Laik Etik



**KOMISI ETIK PENELITIAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK
"ETHICAL CLEARANCE"**

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 BAHWA:**


PENELITIAN BERJUDUL : EFEK PEMBERIAN TEPUNG TAPIOKA TERHADAP
AKTIVITAS PROTEASE DAN GAMBARAN
HISTOPATOLOGI KOLON TIKUS (*Rattus norvegicus*)
IBD (*INFLAMMATORY BOWEL DISEASE*) HASIL
INDUKSI INDOMETASIN

PENELITI : ZAHRANIA MARSHA AMIRA SULHERMAN

UNIT/LEMBAGA/TEMPAT : UNIVERSITAS BRAWIJAYA

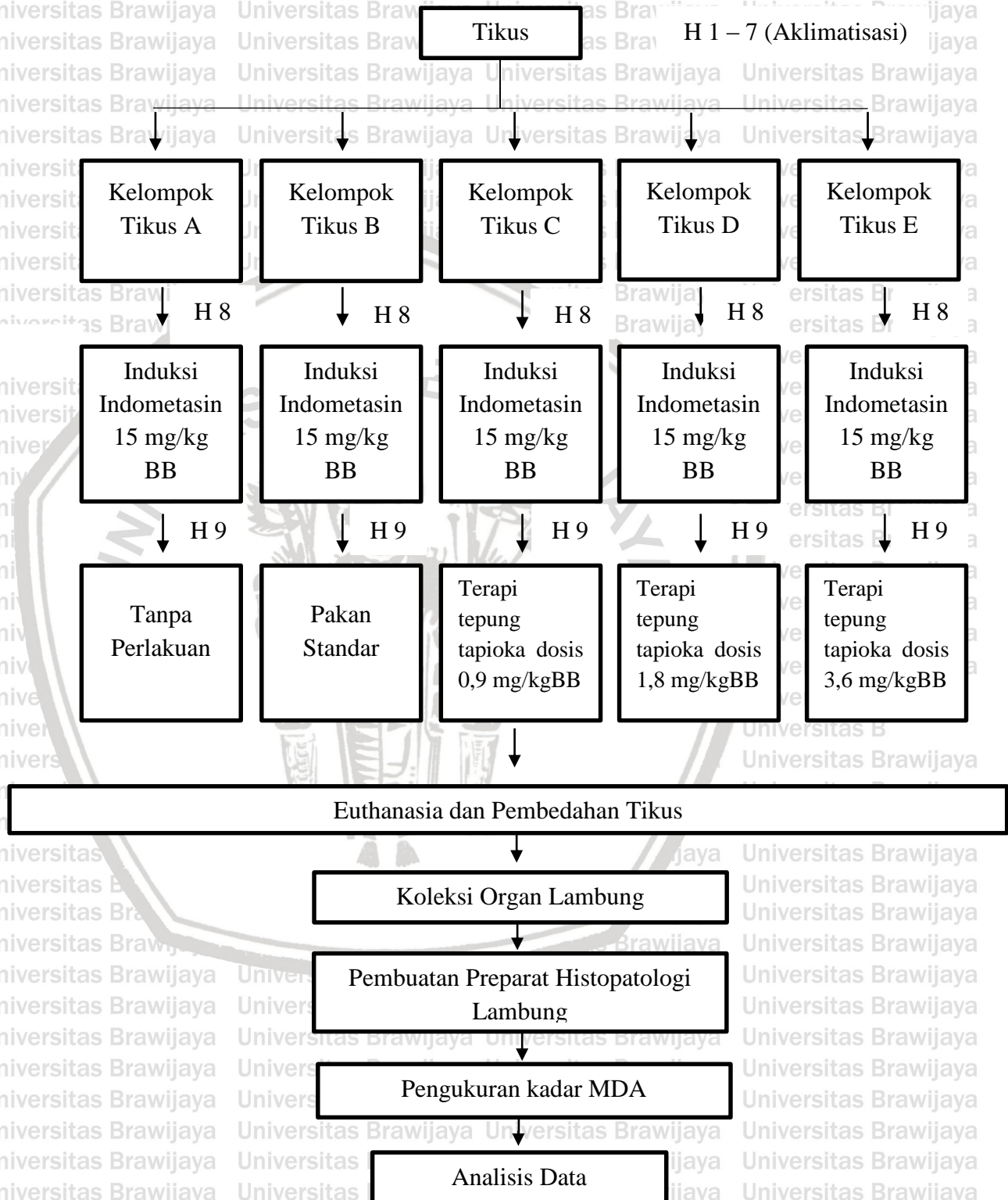
DINYATAKAN : LAIK ETIK

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. Perhitungan Dosis Terapi Tepung Tapioka

Rata-rata BB tikus : 200 g

Dosis pada 3 perlakuan :

- Kelompok Terapi 1 : 0,9 mg/200 g BB

- Kelompok Terapi 2 : 1,8 mg/200 g BB

- Kelompok Terapi 3 : 3,6 mg/200 g BB

Konsentrasi larutan : 0,7 mg/ml

$$\text{Volume pemberian} = \frac{\text{Dosis} \times \text{BB}}{\text{Konsentrasi}}$$

Tabel Volume Terapi

Perlakuan	Kode	Berat Badan (mg/kgBB)	Volume
Terapi 1	K04	165,5	1,06
	K06	160,1	1,03
	K11	170,3	1,09
	K13	167,3	1,08
Terapi 2	K02	153,7	1,98
	K14	151,5	1,95
	K16	169,1	2,17
	K19	154,7	1,99
Terapi 3	K01	174,7	4,5
	K03	160,6	4,13
	K07	172,3	4,43
	K08	173,5	4,46

Lampiran 4. Kerangka Pembuatan Larutan Tepung Tapioka



Lampiran 5. Prosedur Pengukuran Kurva Standar MDA

100 μ g/mL stok kit MDA konsentrasi 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, dan 8 μ g/mL

- Dimasukkan ke dalam tabung *ependorf* (masing-masing)
- Ditambahkan akuades 550 μ L
- Ditambahkan 100 μ L TCA 10%
- Ditambahkan 250 μ L HCl 1 N
- Ditambahkan 100 μ L NaThio 1%
- Dihomogenkan
- Disentrifugasi dengan kecepatan 500 rpm, selama 10 menit

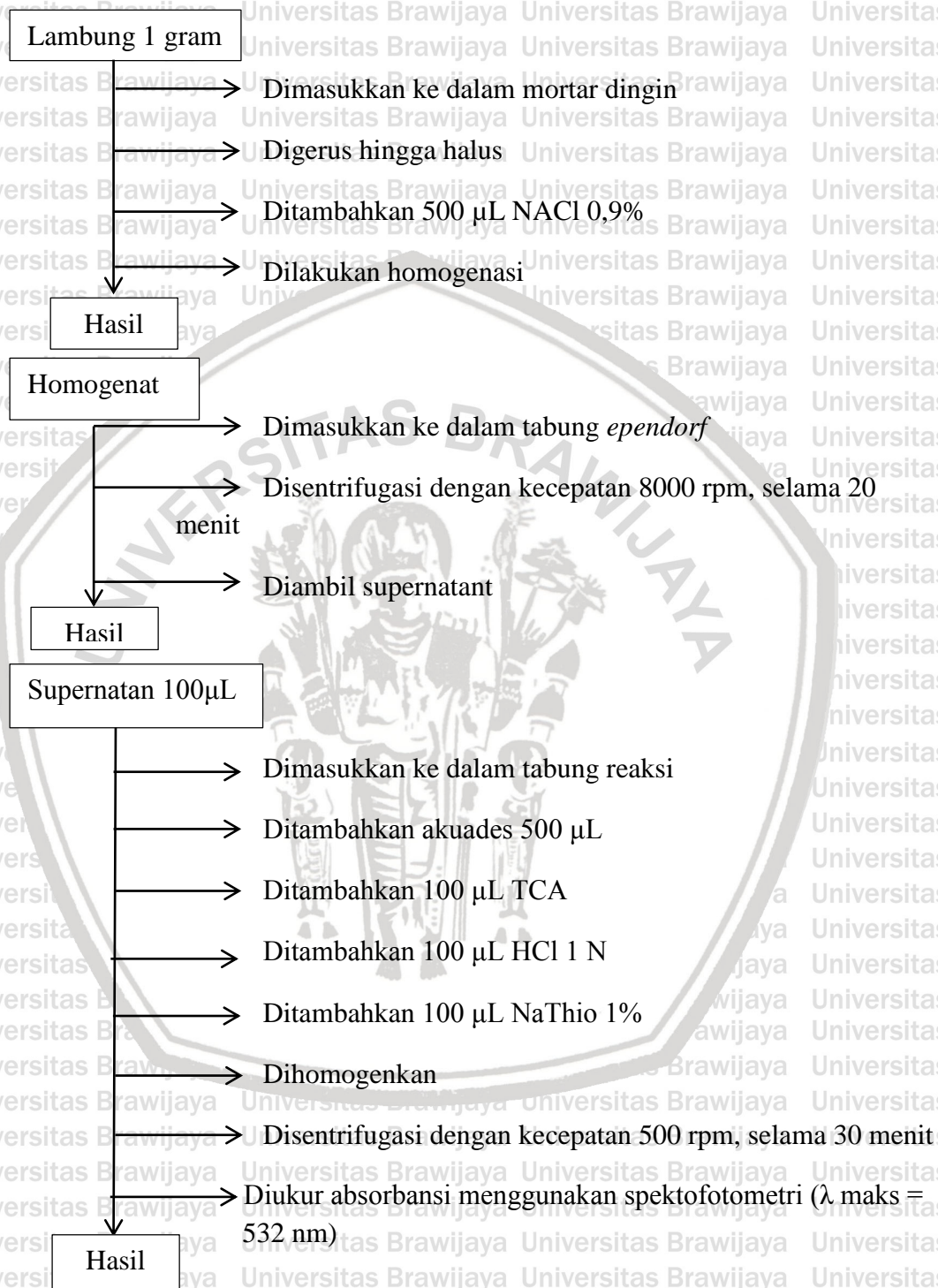
Hasil

Supernatan

- Dipanaskan dalam *waterbath* 100 $^{\circ}$ C, selama 30 menit
- Dibiarkan pada suhu ruang (20-25 $^{\circ}$ C)
- Diukur absorbansi menggunakan spektrofotometri (λ_{maks} =532 nm)

Hasil

Lampiran 6. Prosedur Pengukuran Kadar MDA Lambung dan Uji Thiobarbiturat Acid (TBA)



Lampiran 7. Kerangka Pembuatan Preparat Histopatologi Lambung dan Pewarnaan *Hematoxylin-eosin* (HE)

A. Fiksasi

Lambung

- Diambil bagian yang mengalami makroskopis
- Dimasukkan ke dalam wadah sampel berisi formalin 10%
- Didiamkan selama 18-24 jam

Hasil

B. Dehidrasi

Lambung

- Ditrimming 1x1 cm kedalam *tissue cassette*
- Dimasukkan *tissue cassette* kedalam aquades selama 1 jam
- Didehidrasi dengan alkohol bertingkat 20%, 80%, 90%, 95% dan etanol absolut I, II dan III masing-masing selama 1 jam

Hasil

C. Clearing (penjernihan)

Jaringan Lambung

- Dimasukkan *tissue cassette* kedalam larutan *xylol* I, II, dan III masing-masing selama 20 menit
- Dimasukkan *tissue cassette* kedalam paraffin cair I, II, dan III pada suhu 58-60°C

Hasil

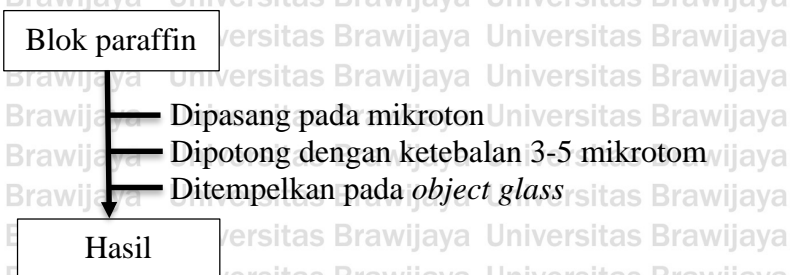
D. Embedding

Jaringan Lambung

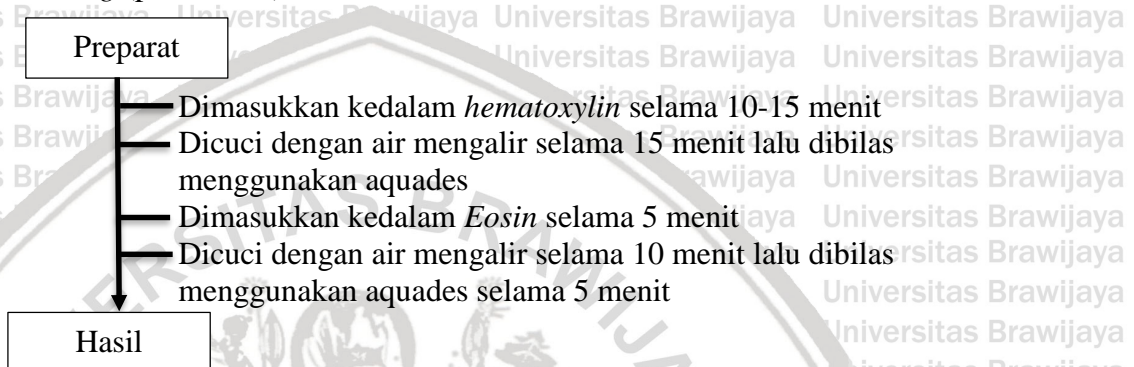
- Dikeluarkan *tissue cassette* dari paraffin III
- Diletakkan diatas kompor listrik dan dikeluarkan jaringan duodenum
- Dituang paraffin IV cair kedalam cetakan paraffin
- Ditanam jaringan duodenum pada cetakan paraffin
- Ditutup dengan *tissue cassette*

Hasil

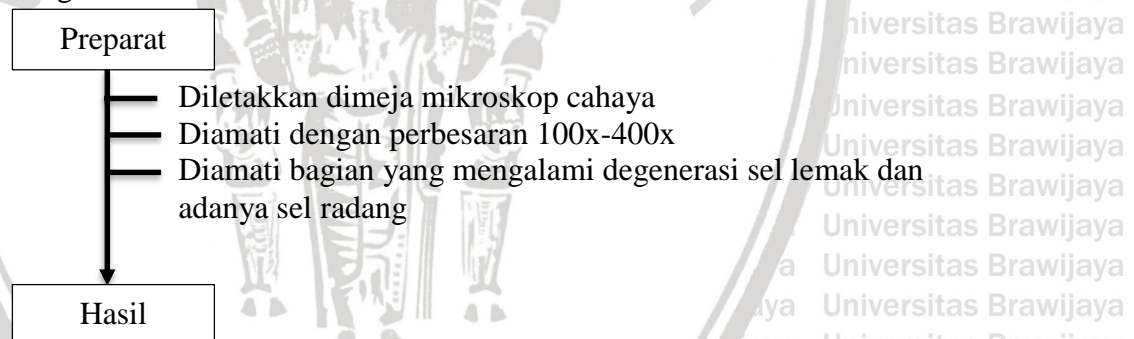
E. Sectioning (pemotongan)



F. Staining (pewarnaan)



G. Pengamatan



Lampiran 8. Hasil Pengujian Malondialdehida (MDA)



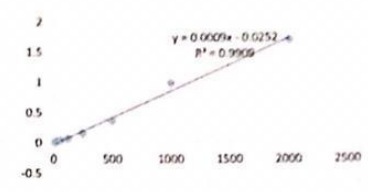
KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
 UNIVERSITAS BRAWIJAYA
 FAKULTAS KEDOKTERAN
 LABORATORIUM ILMU FAAL
 Jalan Tereos Malang 41143, Jawa Timur - Indonesia
 Telp. (0341) 569117, 567192 Ext 115 - Fax (0341) 564751
 http://www.fakub.ac.id e-mail: fakub@fakub.ac.id

HASIL PEMERIKSAAN UJI SAMPEL

Nama: MELITA NONO LEBANG
 Instansi: Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya Malang
 No Lab: 2019.2109
 Jumlah sampel: 20 Sampel
 Jenis Pemeriksaan: MDA Lumbung
 Laboran: BUDI WICAKSONO AMd

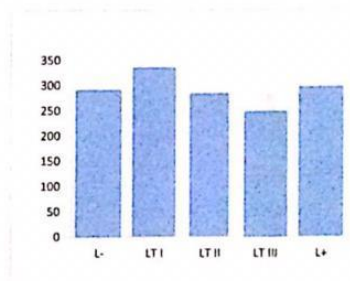
STANDART MDA

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	L-	0.217	269.111
2	L-	0.200	250.222
3	L-	0.198	248.000
4	L-	0.309	371.333
Rata-rata			284.67
5	LT I	0.243	298.000
6	LT I	0.213	264.667
7	LT I	0.231	284.667
8	LT I	0.410	483.556
Rata-rata			332.72
9	LT II	0.227	280.222
10	LT II	0.280	339.111
11	LT II	0.197	246.889
12	LT II	0.211	262.444
Rata-rata			282.17
13	LT III	0.231	284.667
14	LT III	0.210	261.333
15	LT III	0.195	244.667
16	LT III	0.218	270.222
Rata-rata			265.22
17	L+	0.257	313.556
18	L+	0.222	274.667
19	L+	0.256	312.444
20	L+	0.231	284.667
Rata-rata			296.33

No	Kode	Kadar (ng/ml)
1	L-	284.67
2	LT I	332.72
3	LT II	282.17
4	LT III	265.22
5	L+	296.33



Malang, 9 April 2019
 Edwin Widgodo, SSI, MSc.
 NIP. 198105042005011001



Lampiran 9. Anilisa Statistika Menggunakan *Statistical Package for The Social Science (SPSS) version 22.0 for window*

a. Uji Deskriptif

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimu m	Maximu m
					Lower Bound	Upper Bound		
					1	4		
2	4	332,722	101,4844	50,7422	171,238	494,207	264,7	483,6
3	4	282,167	40,3317	20,1658	217,990	346,343	246,9	339,1
4	4	265,222	16,7406	8,3703	238,584	291,860	244,7	284,7
5	4	296,333	19,6783	9,8392	265,021	327,646	274,7	313,6
Total	20	292,222	55,3653	12,3801	266,310	318,134	244,7	483,6

b. Uji Normalitas

	p	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Mda	1	.355	4	.	.751	4	.040
	2	.384	4	.	.754	4	.042
	3	.384	4	.	.754	4	.042
	4	.158	4	.	.998	4	.994
	5	.270	4	.	.865	4	.279

c. Uji Homogenitas

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3,035	4	15	,051

d. ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	10177,520	4	2544,380	,794	,547
Within Groups	48063,574	15	3204,238		
Total	58241,095	19			

Lampiran 10. Perhitungan Presentase Kadar MDA

Presentase kadar MDA sebagai berikut :

- **Kelompok K+ (Tikus yang diberi induksi indometasin)**

$$\text{Peningkatan kadar MDA} = \frac{\text{Rataan Kontrol (+)} - \text{rataan kontrol (-)}}{\text{Rataan kontrol (-)}} \times 100\%$$

$$= \frac{332.722 - 284.667}{284.667} \times 100\%$$

$$= 0.17\%$$

- **Kelompok P1 (Tikus terapi dengan sediaan pemberian 1,8 mg/kgBB)**

$$\text{Peningkatan kadar MDA} = \frac{\text{Rataan P2} - \text{rataan kontrol (-)}}{\text{Rataan kontrol (-)}} \times 100\%$$

$$= \frac{296.333 - 284.667}{284.667} \times 100\%$$

$$= 0.04\%$$

- **Kelompok P2 (Tikus terapi dengan sediaan pemberian 0,9 mg/kgBB)**

$$\text{Penurunan kadar MDA} = \frac{\text{Rataan Kontrol (-)} - \text{P1}}{\text{Rataan P1}} \times 100\%$$

$$= \frac{284.667 - 282.167}{282.167} \times 100\%$$

$$= 0.01\%$$

- **Kelompok P3 (Tikus terapi dengan sediaan pemberian 3,6 mg/kgBB)**

$$\text{Penurunan kadar MDA} = \frac{\text{Rataan Kontrol (-)} - \text{rataan P3}}{\text{Rataan P3}} \times 100\%$$

$$= \frac{284.667 - 265.222}{265.222} \times 100\%$$

$$= 0.07\%$$

Lampiran 11. Komposisi Pakan Standar (BR1)

Protein Kasar (%)	20,0-22,0
Lemak Kasar (%)	5,0-7,0
Serat Kasar (%)	3,0-5,0
Abu (%)	5,0-7,0
Ca (%)	0,9-1,1
Fosfor (%)	0,6-0,8
ME (kkal)	2900-3100



UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Lampiran 12. Dokumentasi Selama Penelitian

Foto	Keterangan
	Kandang hewan coba
	Pembuatan stok indometasin
	Sonde lambung pada tikus
	Larutan tepung tapioka
	Dislokasi cervikalis



Nekropsi hewan coba



Preparasi Organ



Pencucian Organ

