

ANALISIS EKSTRAK ETANOL DAUN GAHARU (*Aquilaria malaccensis*) TERHADAP PENEBALAN ALVEOLI DAN LEUKOSIT DIFERENSIAL MENCIT (*Mus musculus*) YANG DI INDUKSI KARBAMAT SECARA IN VIVO

Mohammad Indra Pratama¹
Jailani^{2*}
Eadvin Rodrinda Awang Sari³
Ruqoyyah Nasution⁴
Teguh Pribadi⁵

^{1,5} Magister Biologi, FMIPA, Universitas Padjadjaran,
^{2,3,4} Pendidikan Biologi, FKIP, Universitas Mulawarman
E-mail: jailani@fkip.unmul.ac.id^{2*}

Abstract: *The research aimed to look at the effect of induction. The effect of administering ethanol extract of gaharu leaves (*Aquilaria malaccensis* Lamk) on the histopathological picture of the lungs of white mice (*Mus musculus*) induced by carbamate class insecticides. The method used was truly experimental, carbamate induction via the intramuscular route with a dose of 14.4 Mg/BW and agarwood extract administered via the oral route with doses of 100, 200, and 300 Mg/BW, the duration of each treatment was 15 days. After treatment, preparations were made of the lungs using the paraffin block staining method with hematoxylin-eosin, the thickness of the alveolar septa and the presence of alveolar macrophages were measured. The results of the research showed that there was a thickening of the alveolar septa after induction of carbamate insecticide at a dose of 14.4 mg/BW with an average thickness of 21.62 μm compared to the healthy control group of 12.61, in addition to an increase in the percentage of neutrophils of 48.66 compared to the healthy controls of 23.33 which was caused by inflammation in the mice's bodies. , a decrease in the thickness of alveolar septa was caused by the administration of ethanol extract of agarwood leaves at a dose of 100/200/300 mg/BW with an average thickness of 15.18, 13.73, 15.57 μm compared to the negative control of 21.62 μm . Thus, it can be concluded that there is an influence of agarwood leaf extract on lung histopathology -lungs of mice induced with carbamate class insecticides.*

Kata kunci: Antioksidan, Daun Gaharu, Karbamat, Ketebalan Alveoli

PENDAHULUAN

Manusia membunuh hama hanya dengan cara yang sederhana. Namun, ketika area pertanian diperluas dan populasi dunia meningkat, metode sederhana ini gagal menghentikan pertumbuhan populasi dan keganasan hama. Dengan kemajuan ilmu pengetahuan dan teknologi, dikembangkan metode pengendalian hama yang lebih efektif daripada metode fisik. Metode pengendalian baru dikembangkan dan digunakan, seperti metode pertanian menggunakan jenis tanaman tahan hama, parasit dan predator, dan bahan kimia (Pestisida).

Hampir dari kita semua pernah mendengar kata pestisida, herbisida, insektisida atau nama lainnya. Di hampir semua aspek kehidupan kita, kita tidak dapat dipisahkan dari bentuk pestisida yang berbeda, dari bukit ke pantai, dari desa ke kota. Petani di pegunungan juga tidak lepas dari penggunaan pestisida (Arif, 2015).

Pestisida bersifat racun dan mengandung zat berbahaya yang dapat menimbulkan efek negatif yang tidak diinginkan jika tidak ditangani dengan benar. efek negatif baik secara langsung maupun tidak langsung menyebabkan berbagai masalah yang mempengaruhi

kesehatan dan kesejahteraan manusia seperti keracunan. Dampak negatif penggunaan pestisida dalam pengendalian hama adalah keracunan, terutama pada petani yang sering/intensif menggunakan pestisida (Arif, 2015).

Insektisida merupakan jenis pestisida yang kerap kali di gunakan dalam industri pertanian di Indonesia, terutama pada para petani yang belum mengenal insektisida nabati, maupun para petani yang lebih memilih insektisida kimia dikarenakan keefektifannya dalam membunuh hama pada tanaman. insektisida adalah segala zat beracun yang digunakan untuk membasmi dan mengendalikan populasi serangga (termasuk ovidida dan larvasida untuk telur dan larva). Senyawa tersebut terutama digunakan untuk mengendalikan hama yang menyerang tanaman budidaya, atau untuk membasmi serangga pembawa penyakit di area tertentu. (Araújo dkk, 2023) Pestisida sendiri merupakan zat kimia yang sangat beracun namun sangat dibutuhkan oleh para petani untuk menanggulangi hama yang menyerang tanaman. Berdasarkan jenisnya, pestisida secara umum dibagi menjadi lima, yaitu herbisida, insektisida, fungisida, bakterisida dan rodentisida. Sedangkan berdasarkan unsur kimia pestisida juga diklasifikasikan sebagai organoklorin (OC), organofosfat (OP), karbamat, ditiokarbamat piretroid, fenoksil, triazina, amida, dan kumadin. Unsur lain seperti fumigan, turunan urea dan bahkan produk botani dan biologi juga telah digunakan sebagai pestisida sepanjang sejarah manusia (Syakir dan Mayasari, 2018).

Di pasaran sendiri terdapat banyak sekali golongan insektisida, salah satunya adalah golongan karbamat, penggunaan karbamat di Indonesia relatif baru setelah beberapa pestisida

golongan OC (organoklorin) dilarang penggunaan dan peredarannya antara tahun 1977 s/d 1994, maka dari itu karbamat merupakan alternatif yang saat ini kerap dipakai para petani. Namun dewasa ini ditemukan kelemahan penggunaan pestisida, seperti efek toksik (keracunan) terhadap kesehatan manusia dan hewan, dan merupakan faktor yang dapat menimbulkan pencemaran lingkungan. Dari ketiga kelompok pestisida tersebut, golongan OP (organofosfat) dan gugus karbamat sangat beracun terhadap hewan bukan sasaran, meskipun kedua golongan ini mudah terurai di alam

Menurut Hudayya dan Jayanti (2013), karbamat adalah insektisida spektrum luas. Karbamat membunuh serangga dengan cara yang sama seperti insektisida organofosfat, yaitu dengan menghambat aktivitas enzim *asetilkolinesterase* pada sistem saraf. Perbedaannya adalah bahwa dengan karbamat, penghambatan enzim bersifat reversibel, yaitu. penghambatan enzim dapat dikembalikan lagi. Karbamat terdegradasi dengan cepat.

Mirip dengan insektisida organofosfat lainnya, karbamat dari golongan insektisida juga sangat banyak digunakan. Mengenai aktivitas dan toksisitas, sifat senyawa golongan ini tidak berbeda jauh dengan sifat senyawa organofosfat. Kedua golongan ini juga mengandung residu yang tidak dapat bertahan lama di alam. Gejala keracunan dengan karbamat, turunan HO-CO-NH₂ dari asam karbamat, hampir tidak terlihat. (Wispriyono dkk, 2013).

Masalah paling berbahaya dengan paparan pestisida adalah menghirup sisa debu, uap dan gas ketika campuran pestisida dilepaskan atau disemprotkan (hal ini dapat menyebabkan radang paru-paru, pembengkakan.). Semakin banyak residu pestisida yang terhirup

maka jumlah racun dalam tubuh orang dewasa akan meningkat, dan menghasilkan lebih banyak zat racun dalam tubuh. Paparan pestisida merusak alveoli, menyebabkan alveoli kehilangan elastisitasnya, sehingga pernafasan menjadi kurang efisien. Penyakit jangka panjang menyebabkan akumulasi partikel debu kimia di jaringan paru-paru menyebabkan *fibrosis* atau *pneumokoniosis* (Sinaga dkk, 2017)

Radikal bebas adalah molekul, atom atau kelompok yang memiliki setidaknya elektron tidak berpasangan di kulit terluarnya, menjadikannya sangat reaktif dan radikal, seperti radikal bebas turunan oksigen reaktif (spesies oksigen reaktif). Ada banyak jenis radikal bebas, tetapi spesies oksigen reaktif (ROS) dan spesies nitrogen reaktif (RNS) adalah yang paling melimpah dalam sistem biologis tubuh. Radikal bebas ini adalah hasil dari pemecahan homolitik ikatan kovalen dalam molekul atau pasangan elektron bebas dalam atom. Oksigen reaktif Spesies ini terutama disebabkan oleh metabolisme sel normal di dalam tubuh (ROS endogen) dan sebagian kecil adalah paparan zat lain atau radikal di luar tubuh (ROS eksogen), yang dapat menyebabkan inflamasi atau peradangan. ROS endogen merupakan respon fisiologis terhadap metabolisme normal sel tubuh, seperti metabolisme karbohidrat dan protein. Paparan dari luar tubuh adalah oksigen reaktif yang berasal dari polutan lingkungan, radiasi, infeksi bakteri, jamur dan virus (Puspita, 2020).

Berdasarkan latar belakang diatas, peneliti tertarik melakukan penelitian ini dengan tujuan melihat pengaruh induksi analisis pemberian ekstrak etanol daun gaharu (*Aquilaria malaccensis*) pada penebalan septa alveoli dan magrofag alveoli (*leukosit difrensial*) mencit putih (*Mus musculus*)

yang di induksi insektisida golongan karbamat

METODE

Jenis penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah true eksperimental. Jenis penelitian experimental yaitu sebuah studi yang dirancang untuk menemukan pengaruh dari variabel tertentu pada variabel lain di bawah kondisi yang dikontrol ketat (Darna & Herlina, 2018). Penelitian ini dilaksanakan dari bulan Februari-Maret 2023, pembuatan ekstrak maserasi dilakukan di laboratorium pendidikan biologi FKIP UNMUL, pembuatan sediaan preparat histologi dilakukan di laboratorium FMIPA Universitas Mulawarman, pengamatan hasil dilakukan di laboratorium pendidikan biologi FKIP UNMUL. Sampel penelitian 3 sampel pada tiap kelompok percobaan, dan didapat total keseluruhan mencit uji adalah 15 dengan penambahan 1 ekor pada masing-masing kelompok karena adanya kemungkinan sampel mati pada masa percobaan

Teknik pengambilan sampel yang digunakan adalah simple random sampling. Pengacakan sampel dilakukan dengan memberikan nomor pada ekor mencit, kemudian dilakukan pengundian nomor undian pada ekor mencit, untuk memasukkan mencit ke dalam kelompok perlakuan yang masing-masingnya bersisi 6 mencit. Penelitian ini menggunakan sampel mencit dengan kriteria berkelamin jantan, berumur sekitar 2 bulan, dengan berat badan 23-25 gram dan harus dalam kondisi fisik sehat.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah, gelas ukur, gelas kimia, bola hisap, toples kaca, batang pengaduk, kendang, sarung tangan, disetting set, hot plate, mikroskop,

suntikan, holder mikrotom, kertas saring, tissue dan kain lap. Sedangkan untuk bahan, ada mencit, daun gaharu, xylol, alcohol 96%, enyelan, esosin, aquades, NA CMC bubuk, karbamat, boion, minyak imersi, wright, Giemsa.

Prosedur Kerja

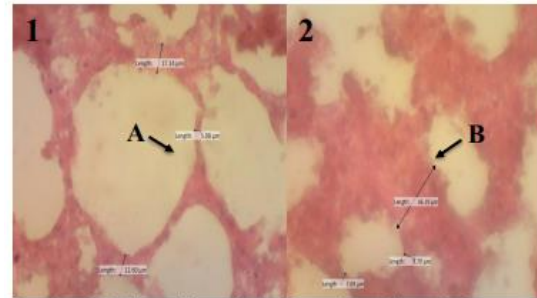
Langkah awal dalam penelitian ini adalah pembuatan ekstrak etanol gaharu. Pembuatan ekstrak dilakukan dengan metode maserasi. Maserasi adalah salah satu metode ekstraksi yang paling umum dilakukan dengan menempatkan serbuk tumbuhan dan pelarut yang sesuai. Menurut Masitah dkk (2023) teknik maserasi dipilih karena kemampuannya menjaga integritas molekul metabolit sekunder yang termolabil, sehingga mencegah potensi kerusakan. Ekstraksi dilakukan dengan menjemur daun gaharu segar hingga kering lalu dilakukan penggerusan hingga menjadi bubuk, lalu direndam dalam larutan metanol dan dilakukan sirkulasi dengan cara pengadukan tiap 6 jam, setelah itu dilakukan penyaringan untuk memisahkan ampas dan larutan, kemudian sampel dikirim ke lab fakultas kedokteran universitas mulawarman Kalimantan Timur untuk dilakukan evaporasi hingga didapat ekstrak kental.

Ekstrak daun gaharu, akan digunakan sebagai obat pada mencit yang telah diinduksi oleh karbamat. Setelah dilakukan perlakuan terakhir mencit dimatikan dengan teknik dislokasi leher, lalu mencit dibedah dan di ambil bagian paru-parunya, paru-paru diambil menggunakan pinset dan di bilas menggunakan larutan garam fisiologis agar menghilangkan sisa darah yang menempel dan menjaga jaringan tidak rusak, setelah itu paru-paru diletakkan pada larutan bouin untuk dilakukan fiksasi, dan dibuat preparate hispatologi. Pengamatan

dilakukan dengan bantuan mikroskop cahaya dengan perbesaran 10 x 10, dan 40 x 10, parameter pengamatan adalah kerusakan dan penebalan pada septa alveoli yang akan diukur dengan menggunakan mikrometri, penebalan septa alveoli dan adanya makrovag alveolar (Leukosit diferensial)

HASIL

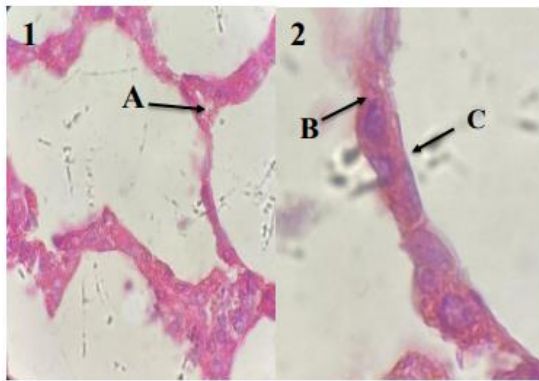
Penebalan Septa alveoli



Gambar 1. Kelompok kontrol (1), kelompok perlakuan (2). Pewarnaan HE (Hematoxylin eosin) perbesaran 40 x 10. Alveoli normal(A). Terjadi penebalan septa alveoli, penyempitan diameter alveoli serta infiltrasi makrovag alveolar pada kelompok perlakuan (B)

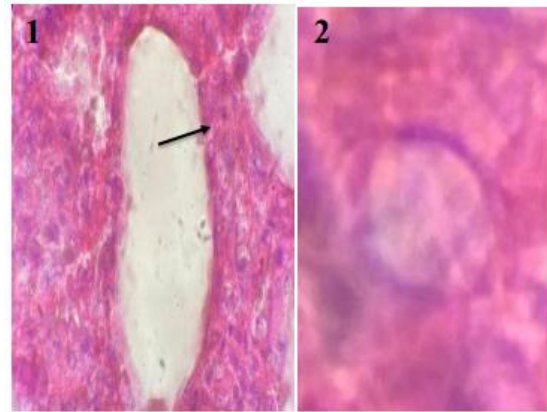
Hasil perhitungan ketebalan alveoli membuktikan adanya penebalan yang terjadi pada kelompok kontrol negatif yang diinduksi dengan insektisida golongan karbamat, Penebalan septa alveoli ini dikarenakan adanya kerusakan pada jaringan paru sehingga memicu penebalan pada dinding alveoli rata-rata pada kelompok perlakuan dengan induksi karbamat adalah 21.19 μ m sedangkan pada kelompok kontrol sehat adalah 11,6 μ m. Penebalan terjadi akibat induksi karbamat selama 15 hari, Induksi karbamat memicu bertumpuknya radikal bebas pada paru-paru. Dimana organ paru-paru adalah organ yang berfungsi sebagai pertukaran oksigen dalam darah, induksi secara intramucular akan membawa radikal bebas melewati paru-paru dan menyebabkan efek peradangan, sehingga tubuh mengirimkan makrovag alveolar untuk

melawan radikal bebas tersebut. Penebalan juga terjadi karena serat alveoli tidak lagi elastis.



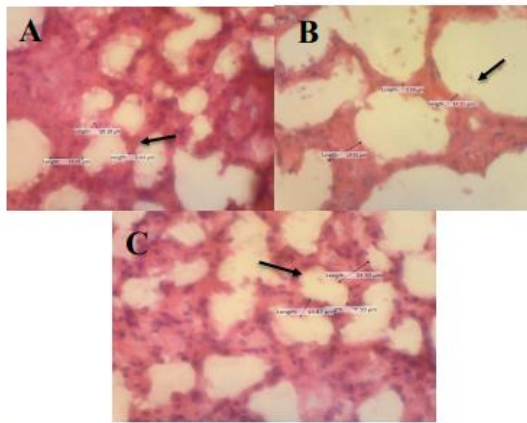
Gambar 2. Kelompok kontrol pewarnaan hematoxylin erlich HE (Hematoxylin eosin) perbesaran 100 x10 dengan minyak imersi. Sel alveoli tipe I (A). Sel alveoli tipe II (B). Septum intralveolare (C). Terlihat normal

Pada kelompok kontrol sehat dengan perlakuan air suling dapat terlihat bahwa alveoli tidak mengalami penebalan maupun penyempitan, dan tidak ditemukan juga sel radang atau matovag alveolar, terlihat juga matriks ekstra fibrosa terutama serat elastin dan kolagen yang masih utuh, terlihat juga sel alveolus tipe 1 dan alveolus tipe 2 dan septum intravelore yang masih dalam keadaan normal. Jaringan yang normal ini menandakan tidak adanya suatu zat asing yang terakumulasi dalam darah yang dapat menyebabkan penumpukan radikal bebaas, paru-paru sehat memiliki diameter alveoli yang lebar dan dinding yang tipis, sehingga dapat mempermudah terjadinya pertukaran oksigen dan karbondioksida.



Gambar 3. Kelompok kontrol negative pewarnaan hematoxylin erlich HE Perbesaran 100 x 10. Penebalan dinding alveoli dan infiltrasi sel radang (1) Makrovag alveolar (2)

Pada kelompok kontrol negatif dengan perlakuan karbamat terlihat adanya penebalan septa alveoli dan penyempitan diameter alveoli, penyempitan ini dikarenakan induksi karbamat selama 15 hari, selain adanya penebalan dan penyempitan aveoli, terdapat pula sel makrovag alveolar yang menutupi sel epitel tipe 1 dan 2 sehingga sulit terlihat. Hasil tersebut membuktikan adanya pengaruh yang kuat antara induksi insektisida karbamat dengan kesehatan paru-paru. Penumpukan radikal bebas karbamat akan membuat jaringan parut sehingga mengurangi kapasitas alveoli dalam menyimpan udara dan menyebabkan nafas menjadi pendek dan juga dapat mengurangi kapasitas pertukaran oksigen dalam paru-paru.



Gambar 4. Kelompok perlakuan 3 dosis 100 mg/BB (A), kelompok perlakuan 4 dosis 200 Mg/BB (B), kelompok perlakuan 5 dosis 300 mg/BB (C). Pewarnaan HE (Hematoxylin eosin) perbesaran 40 x 10. Terjadi pengurangan terhadap penebalan septa alveoli yang signifikan pada dosis 200 mg/BB (B)

Perhitungan septa alveoli pada kelompok didapat data bahwa adanya penurunan ketebalan alveoli dan penyempitan alveoli pada semua perlakuan, akan tetapi pada perlakuan dosis 300 Mg/BB pengaruhnya tidak signifikan, dibandingkan perlakuan 200 Mg/BB, Perbedaan hasil yang didapat ini diduga karena adanya pengaruh LD 50 ekstrak etanol daun gaharu terhadap kemampuan tubuh dalam menyerap komponen kimia yang ada pada ekstrak. Hasil didapatkan pada perlakuan 3 dosis 100 mg/BB dengan rerata ketebalan alveoli yakni 14,24 μ , kemudian pada perlakuan 4 dosis 200 mg/BB didapat rerata 11,61 μ dan pada perlakuan 5 dosis 300 mg/BB didapat rerata 14.96 μ m.

Makrovag Alveolar (Leukosit diferensial)

Tabel 1. Jumlah Leukosit Difrensial

P	Jumlah Leukosit (%)				
	L	M	N	E	B
P1	71,66	2,33	23,22	2,33	0,33
P2	42,67	3,67	48,66	3,33	1,33
P3	57,66	2,66	36,67	26,66	0,33
P4	70,67	2,66	23,33	2,33	0,66
P5	57,33	3,33	37,33	1,33	0,66

N	55-95	0,1-3,5	10-40	0-4	0-1
---	-------	---------	-------	-----	-----

PI: Kelompok kontrol, P2: Kelompok kontrol negatif (Karmabat), P3: Perlakuan gaharu 100 mg/BB P4: Perlakuan gaharu 200 mg/BB P5: Perlakuan gaharu 300 mg/BB, N: Batas normal, L: Limfosit, M: Monosit, N: Neutrofil, E: Eosin, B: Basofil

Dari tabel diatas dapat terlihat perbedaan leukosit diferensial dari mencit kelompok kontrol sehat dan kontrol negatif, terdapat kenaikan jumlah neutrofil pada kelompok kontrol negatif, dimana kenaikan ini melebihi jumlah normal dari neutrofil, rerata kenaikan adalah 48.66, Kenaikan neutrofil diakibatkan oleh respon tubuh dalam mengatasi peradangan yang terjadi pada tubuh yang diakibatkan oleh induksi karbamat secara terus menerus dan metabolisme dalam darah, pada kelompok perlakuan dosis 10 mg/BB terlihat adanya penurunan kadar neutrofil menuju normal dan kemudian terlihat kenaikan kadar limfosit diakibatkan adanya kadar antioksidan dalam ekstrak yang dapat melindungi limfosit sehingga memiliki masa hidup yang lama (Aldi dkk, 2023). Hal ini juga terjadi pada kelompok perlakuan 200mg/BB dan juga 300mg/BB dimana adanya pengurangan kadar neutrofil dan kenaikan jumlah limfosit hingga batas normal

PEMBAHASAN

Pembuatan Larutan Stok Ekstrak Etanol Daun Gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lamk), dan Larutan Induksi Insektisida Karbamat.

Penelitian analisis ekstrak etanol daun gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lamk) terhadap gambaran histopatologi mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi dengan pestisida golongan karbamat, diawali dengan pengambilan daun gaharu segar seberat 1,5 Kg. Daun gaharu tersebut disortir dengan cara memilah daun sehat yang berwarna hijau tua, tidak terjankit

hama, serta morfologi daun yang masih sempurna. Daun dikering anginkan selama satu minggu sampai kadar air dalam daun berkurang, hingga diperoleh berat kering daun sebanyak 900 gram. Daun kering tersebut dihaluskan dengan blender sampai menjadi simplisia. Simplisia kemudian dilakukan ekstraksi menggunakan metode maserasi.

Maserasi dilakukan di LAB Biologi FKIP UNMUL dengan menggunakan pelarut etanol 96% 1:3 berat simplisia. Maserasi dilakukan selama 3 hari, dengan pengadukan setiap 6 jam untuk menjaga sirkulasi di dalam larutan maserasi agar komponen kimia dalam simplisia dapat ditarik dengan sempurna. Isolat maserasi kemudian dievaporasi di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Mulawarman. Hasil evaporasi didapatkan ekstrak seberat 26 gram, dari hasil ekstraksi dihitung persentase rendemen ekstrak. Rendemen ekstrak dicari dengan menghitung berat ekstrak dibagi dengan berat simplisia kering, sehingga diperoleh rendemen ekstrak gaharu yaitu 0,029%.

Ekstrak kemudian dibuat dalam larutan seri konsentrasi 100, 200, 300 mg/mLbb. Ekstrak ditimbang seberat 2,8 gram kemudian dilarutkan dalam aquades sebanyak 30 mL untuk membuat larutan stok konsentrasi 100 mg/mLbb. Pembuatan seri 200, dan 300 dilakukan hal yang sama dengan berat masing-masing 5,7 gram dan 8,6 gram. Pemberian dosis oral mencit pada tiap seri konsentrasi adalah sebanyak 0,5 mL. Penginduksian mencit digunakan insektisida kimia golongan karbamat merek dagang Sevin 85 SP dimana menurut (Gupta dan Robin, 2022) bahwa LD50 dari karbamat adalah 8-14.4 Mg/BB yang mana larutan induksi dibuat dengan cara ditimbang bahan seberat 16,8 gram dilarutkan

menggunakan larutan Na CMC 1% sebanyak 30 mL untuk dibuat larutan stok penginduksi, Larutan Na CMC 1% dibuat dengan melarutkan 10 gram NA CMC bubuk kedalam 15 ml aquades panas, lalu dilakukan pengadukan hingga larutan menjadi kental, setelah itu diencerkan ke dalam 975 mL aquades dan diaduk hingga homogen. Larutan insektisida memiliki dosis tiap 0,5 mL mengandung 14,4 Mg insektisida kimia.

Objek penelitian yang digunakan berupa mencit putih jantan galur wistar, berumur 2 bulan dengan rata-rata berat badan 23-25 gram. Mencit dibagi menjadi 5 kelompok, yaitu kelompok kontrol normal, kontrol negatif, perlakuan 100mg/ml, 200 mg/ml, dan 300 mg/ml, tiap kelompok berisikan 3 ekor mencit. Kelompok mencit tersebut kemudian dilakukan aklimatisasi gelap terang di dalam kandang berukuran 60 x 50 cm dengan alas sekam padi, mencit diberikan pakan berupa bama dan air minum suling. Mencit yang sudah diaklimatisasi selanjutnya dilakukan penginduksian menggunakan larutan induksi pestisida yang sebelumnya telah dibuat. Penginduksian dilakukan dengan menyuntikan larutan induksi menggunakan rute intramuskular, induksi dilakukan setiap hari selama 15 hari. Setelah 15 hari mencit ditimbang untuk melihat kenaikan atau penurunan bobot berat mencit. Dosis pemberian adalah 14.4 mg/BB sebanyak 0.5 ml setiap 1 kali injeksi.

Pembuatan Preparat Paraffin Blok, Pengukuran Serta Analisis Ketebalan Alveoli.

Kelompok kontrol normal, dan negatif dilakukan pembedahan untuk melihat histopatologi yang terjadi setelah penginduksian insektisida kimia. Organ paru-paru dibuat preparat sediaan dengan menggunakan metode paraffin blok dengan pewarnaan HE,

kemudian diamati dengan mikroskop olympus dengan perbesaran 40 x 10. Kalibrasi pengamatan histopatologi menggunakan aplikasi Optilab berupa Image raster. Sediaan histopatologi yang telah dibuat, di foto untuk dilakukan pengamatan ketebalan dinding alveoli antara kelompok kontrol dengan kelompok yang diberikan insektisida dengan cara menghitung 3 bidang pandang (tebal, sedang, dan tipis) dan dirata-ratakan untuk mendapatkan hasil ketebalan septa alveoli. Hasil menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antara kelompok formal dan negatif.

Hasil pengukuran septa alveoli menunjukkan adanya penebalan pada rerata kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol, pada kelompok kontrol yang hanya diberikan air suling terlihat ketebalan septa alveoli dari 3 lapang pandang dengan rata-rata 11,6 μ m sedangkan pada kelompok perlakuan dengan induksi karbamat dengan dosis 14.4 mg/BB sebanyak 0.05 ml selama 15 hari memiliki rerata septa alveoli yang lebih tebal yaitu 21.19 μ m. Penebalan diakibatkan oleh penginduksian insektisida golongan karbamat yang mana hasil dari induksi karbamat akan menyebabkan paparan radikal bebas secara terus menerus dan menyebabkan kerusakan sel, mengurangi kemampuan sel dalam beradaptasi dengan lingkungan dan akhirnya sel akan mengalami kematian. hal ini sesuai dengan pernyataan (Herdiani dan Putri, 2018) bahwa radikal bebas akan menyebabkan kerusakan biomakromolekul yaitu protein, karbohidrat lipid dan asam nukleat, dimana kerusakan oksidatif ini dapat menyebabkan kerusakan yang lebih parah. Paru-paru juga merupakan organ yang berfungsi sebagai tempat pertukaran oksigen dengan karbondioksida dan terdapat banyak

kapiler-kaliper darah, sehingga terdapat kemungkinan zat-zat berbahaya yang ada dalam peredaran darah, ikut terbawa dan menimbulkan gangguan pada paru-paru itu.

Pada pemeriksaan histopatologi septa alveoli kelompok kontrol negatif terlihat kerusakan alveoli dimana terdapat makrovag alveolar, yang mana terlihat makrovag alveolar menutupi keseluruhan alveoli dinding alveoli, sedangkan pada kontrol sehat tidak terdapat makrovag alveoli yang menutupi alveoli. Makrovag sendiri adalah sel serbaguna yang dapat membersihkan sisa-sisa sel, patogen ataupun menjadi sel imun. Makrovag dapat ditemui salah satunya adalah di paru-paru tepatnya akveoli yang biasanya disebut makrovag alveolar. Penebalan alveoli sendiri adalah suatu kerusakan dan juga proliferasi jaringan parut pada parenkim paru yang menyebabkan jaringan parenkim paru tersebut menjadi tebal dan kaku. Hal ini sejalan dengan penelitian (Bire dkk, 2018) bahwa penebalan ini terjadi akibat adanya usaha tubuh dalam memperbaiki kerusakan yang ada pada paru-paru akibat terpapar zat berbahaya. Metaplasia pada parenkim paru juga dapat teramati dari perubahan epitel pipih menjadi epitel kuboid dikarenakan adanya iritasi pada mukosa atau lapisan epitelnya diakibatkan oleh paparan radikal bebas. Hal ini sejalan dengan pernyataan (Tampubolon dkk, 2016) bahwa metaplasia adalah perubahan suatu sela tau jaringan dewasa menjadi sel jaringan lain.

Induksi karbamat akan membawa karbamat melalui peredaran darah dan menyebabkan radikal bebas yang menumpuk, salah satu organ yang terdampak adalah paru-paru dimana partikel karbamat akan menyebabkan respon peradangan pada jaringan yang ada pada paru-paru dan akan menyebabkan aktifnya makrofag

alveoli yang berasal monosit darah dan merupakan fungsi dari pertahanan leukosit dimana tubuh tidak dapat melakukan perlawanan terhadap radikal bebas akibat akumulasi yang berlebihan. Hal ini sesuai dengan pernyataan (Herdiani dan Putri, 2018) bahwa peradangan adalah suatu reaksi tubuh dari benda asing yang merugikan dalam tubuh. dimana respon peradangan adalah respon yang dilakukan tubuh untuk menghancurkan atau membatasi benda asing yang dapat merugikan tubuh dan memicu proses tubuh untuk memperbaiki diri. Kelompok perlakuan setelah dilakukan penginduksian selama 15 hari, larutan induksi dihentikan penyuntikannya. Kelompok tersebut kemudian dilakukan pemberian ekstrak gaharu sesuai dengan perlakuan kelompok masing-masing. Ekstrak diberikan sebanyak 0,7 mL kepada mencit secara per oral, pemberian ekstrak dilakukan selama 15 hari. Setelah pemberian ekstrak, semua mencit dilakukan pembedahan untuk diambil organ paru-paru. Organ tersebut dibuat sediaan preparat menggunakan metode paraffin blok, kemudian dilakukan pengamatan seperti pada kelompok kontrol sehat dan kontrol negatif Hasil didapatkan pada perlakuan 3 dosis 100Mg/BB dengan rerata ketebalan alveoli yakni 14,24 μ m, kemudian pada perlakuan 4 dosis 200 Mg/BB didapat rerata 11,61 μ m dan pada perlakuan 5 dosis 300 Mg/BB didapat rerata 14.96 μ m. Hasil yang didapat dibandingkan dengan kontrol negatif dimana didapatkan rerata ketebalan alveoli pada kontrol negatif adalah 21.19 μ m, Penurunan ketebalan septa alvoli menandakan adanya pengurangan pada ketebalan dinding alveoli dikarenakan pemberian ekstrak etanol gaharu terus-menerus selama 15 hari. Pada perlakuan 3 dengan dosis 100 Mg/BB dan perlakuan 5 dengan dosis 300 Mg/BB terlihat

penyempitan alveoli dan infiltrasi sel radang yang menutupi septa alveoli mulai berkurang, sedangkan pada perlakuan 4 dosis 200 Mg/BB dapat terlihat ketebalan alveoli berkurang cukup signifikan, Pengurangan ketebalan alveoli menandakan bahwa pada konsentrasi dosis 200 Mg/BB dapat dengan optimal menekan terjadinya penebalan dan peradangan pada alveoli dibandingkan dengan dosis 100 dan 300 Mg/BB. dikarenakan pemberian dosis yang berlebihan dari ekstrak etanol daun gaharu, dimana LD50 untuk seduhan daun gaharu adalah 10 gram, maka pada penelitian ini diturunkan dosis dikarenakan ekstrak yang diberikan berupa (ekstrak maserasi) menjadi 100-300 Mg/BB untuk melihat dosis yang paling efektif. Philippus menyebutkan bahwa semua yang berkhasiat sebagai obat adalah racun, hanya dosis yang dapat mengubahnya menjadi tidak beracun, berlaku pula ada ekstrak etanol daun gaharu yang mana pada dosis 300 Mg/BB justru mengurangi keefektifan ekstrak dalam merangsang tubuh untuk melakukan penyembuhan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Mustafa (2022) yang menyebutkan bahwa ekstrak dalam konsentrasi yang tinggi pada tubuh akan menyebabkan kerusakan yang makin banyak dan dapat menyebabkan perubahan fungsi. Senyawa yang berperan dalam penurunan makrovag alveolar adalah antioksidan berupa flavonoid, dimana senyawa antioksidan adalah senyawa yang dapat mengurangi stres oksidatif yang diakibatkan oleh radikal bebas seperti pemberian induksi insektisida golongan karbamat. Senyawa antioksidan enzimatis akan memberikan atom hidrogen terhadap radikal bebas yang kemudian radikal bebas akan menjadi lebih stabil, mekanisme kerja senyawa ini adalah dengan memberikan elektron atau

menghentikan reaksi rantai dan dengan demikian dapat menghentikan kerusakan lanjutan, antioksidan dapat memberikan atom. Daun gaharu sendiri dibuktikan memiliki senyawa antioksidan sesuai penelitian yang dilakukan oleh (Nugraha dkk, 2015) yang mana menyebutkan bahwa IC50 (ppm) ekstrak etanol daun gaharu berada di bawah angka 50, yakni pada angka 27.83 yang menandakan bahwa antioksidan yang dimiliki ekstrak etanol daun gaharu sangat kuat. Dimana senyawa yang diprediksi menjadi antioksidan adalah fenolat, flavonoid dan alkaloid.

Pengaruh Ekstrak Gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lamk) Terhadap Leukosit Diferensial dan Pengaruhnya Terhadap Adanya Induksi Karbamat.

Pada kelompok normal yang hanya diberikan air suling leukosit diferensial mencit dikatakan dalam keadaan normal dikarenakan tidak adanya patogen yang dapat memicu kenaikan dari leukosit mencit dimana tubuh tidak perlu memproduksi leukosit dalam jumlah tertentu untuk mengatasi serangan patogen, sedangkan pada kelompok kontrol negatif yang diinduksi dengan insektisida karbamat terlihat adanya kenaikan neutrofil pada rerata 48.66. Kenaikan ini melebihi batas normal dari total neutrofil (%) yakni 10-40% seperti penelitian yang dilakukan oleh (Septianto dkk, 2015) bahwa kenaikan neutrofil menandakan adanya peradangan dalam tubuh, dalam kasus ini adalah adanya induksi karbamat yang mengalirkan radikal bebas pada peredaran darah dan menimbulkan reaksi peradangan, dalam merespon hal tersebut tubuh memproduksi neutrofil untuk mengatasi peradangan yang diakibatkan induksi karbamat. Neutrofil adalah pertahanan pertama dalam

melawan mikroorganisme ataupun zat asing yang masuk ke dalam tubuh dan banyak faktor lain yang memicu adanya peradangan. Induksi karbamat akan membawa karbamat ke aliran darah dan menyebabkan bertumpuknya radikal bebas, Penumpukan radikal bebas pada aliran darah akan menyebabkan peradangan pada organ dan jaringan. Respon peradangan adalah salah satu respon alamiah tubuh untuk mengatasi patogen berbahaya yang masuk ke dalam tubuh. Pada kelompok perlakuan dengan dosis tanaman gaharu sebanyak 100 mg/BB (PIII), 200 mg/BB (PIV), dan 300 mg/BB (PV) (0.7ML) terdapat adanya pengurangan jumlah neutrofil pada mencit dengan rerata 36.67 (PIII), 23.33 (PIV) dan 37.33 (PV), penurunan ini diakibatkan oleh pemberian ekstrak gaharu yang mengandung flavonoid yang dapat menangkal radikal bebas, kemudian adanya kenaikan jumlah limfosit, hal tersebut dapat terlihat pada tabel 10, dimana rerata limfosit pada kelompok perlakuan pada angka 57.66 (PIII), 70.67(PIV), 57.33(PV). Kenaikan jumlah limfosit dikatakan normal pada kisaran 55-95%, hal ini sesuai dengan pernyataan Cahyaningsih (2019) dimana kenaikan jumlah limfosit diakibatkan oleh adanya flavonoid yang terkandung dalam ekstrak etanol daun gaharu, kandungan tersebut dapat meningkatkan proliferasi limfosit.

Flavonoid juga ikut berperan dalam meningkatkan aktivitas interleukin2 (IL-2) sehingga dapat merangsang sel T sitotoksik untuk melawan benda asing (parasit). (Kamaluddin dkk, 2017) juga menyatakan bahwa flavonoid akan memberikan gugus hidroksilnya sehingga radikal bebas tidak akan merusak sel, DNA dan lipid sehingga tubuh tidak perlu mengirimkan sel darah putih untuk mengatasinya. pada

kelompok kontrol negatif terdapat kenaikan basofil pada rerata 1.33 dimana sedikit lebih tinggi daripada batas normal yaitu 0-1% hal ini diakibatkan adanya reaksi alergi dari zat kimia setelah induksi karbamat namun masih membutuhkan studi lanjut mengenai zat kimia dalam karbamat yang dapat memunculkan reaksi alergi. Kemudian pada leukosit lain seperti monosit eosinofil tidak ada kenaikan atau penurunan yang berarti karena rerata leukosit diferensialnya masih dalam ukuran normal yakni 0-4% (eosinofil) 0.1-3.5% (Monosit) rerata jumlah normal ini sesuai dengan penelitian Septianto (2015) dimana jumlah rerata normal leukosit diferensial pada mencit yakni 55-95% pada limfosit, 0,1-3,5% pada monosit, 10-40% pada neutrophil, 0-4% pada eosinophil, dan 0-1% pada basophil

KESIMPULAN

Setelah dilakukannya pemberian ekstrak etanol daun gaharu (*Aquilaria malaccensis*) pada mencit yang telah diberikan perlakuan karbamat dapat terlihat adanya pengurangan ketebalan septa alveoli pada perlakuan ekstrak, dikarenakan adanya efek anti oksidan ekstrak daun gaharu dari golongan flavonoid yang dapat membantu tubuh dalam proses penyembuhan dan menangkal radikal bebas dari induksi karbamat, selain itu meningkatkan berat badan mencit dan menurunkan presentase neutrophil. Hal tersebut membuktikan bahwa adanya pengaruh dari ekstrak daun gaharu terhadap histopatologi paru-paru mencit yang di induksi insektisida golongan Karbamat.

SARAN

1. Masyarakat dapat mengetahui potensi daun gaharu sebagai obat alami yang memiliki antioksidan yang tinggi, kemudian diharapkan petani gaharu ataupun masyarakat bebas dapat memanfaatkan daun gaharu agar menaikkan nilai ekonomisnya, masyarakat juga dapat mengetahui bahaya dari penggunaan insektisida kimia, dan diharapkan dapat menggunakan insektisida dengan bijak dan menggunakan APD lengkap saat melakukan kontak dengan insektisida kimia.
2. Diharapkan peneliti selanjutnya dapat melakukan pengujian yang lebih detail mengetahui kerusakan lain yang ada pada paru-paru, lalu menggunakan kontrol positif agak terlihat perbedaan antara perlakuan gaharu dan perlakuan obat yang dijual di pasaran. Diharapkan peneliti selanjutnya juga melakukan perlakuan yang berbeda seperti rute pemberian dan dosis perlakuan seperti rute pemberian dan dosis perlakuan pada hewan coba sehingga diharapkan mendapat hasil yang melengkapi kekurangan pada penelitian ini

DAFTAR RUJUKAN

- Aldi., Y. Fatma., S., W. Dwisari., D. Elsa., B. Yoneta., S. 2023. *Serologi Imunitas*. Padang: Andalas University Press.
- Araújo, M. F., Castanheira, E. M., & Sousa, S. F. 2023. The buzz on insecticides: a review of uses, molecular structures, targets, adverse effects, and alternatives. *Molecules*. 28(8): 3641-3650
- Arif, A. 2015. Pengaruh Bahan Kimia Terhadap Penggunaan Pestisida Lingkungan. *Jurnal Farmasi UIN*

- Alauddin Makassar*. 3(4): 134-143.
- Bire, I. R., Winaya, I. B. O., & Adi, A. A. M. 2018. Perubahan Histopatologi Hati dan Paru Mencit Pascainduksi dengan Zat Karsinogenik Benzo (a) piren. *Indonesia Medicus Veterinus*. 7:634-642
- Darna, N., and Herlina, E. 2018. Memilih Metode Penelitian Yang Tepat: Bagi Penelitian Bidang Ilmu Manajemen. *Jurnal Ekologi Ilmu Manajemen*. 5(1), 287-292
- Gupta.,R., and C. robin., B. 2022. *Carbamaate Toxicosis in Animals*. Amerika Serikat: Murray State University
- Herdiani, N., & Putri, E. B. P. 2018. Gambaran Histopatologi Paru Tikus Wistar Setelah Diberi Paparan Asap Rokok. *Medical and Health Science Journal*. 2(2): 17-14
- Hudayya, A., dan Jayanti, H. 2013. *Pengelompokan Pestisida Berdasarkan Cara Kerja (Mode Of Action)*. Bandung: Yayasan Bina Tani Sejahtera.
- Kamaluddin, M. T., Yuliarni, Y., Agustin, Y., Parisa, N., Hidayat, R., Wahyuni, T., & Perryanis, P. 2017. Efek Sedativa dan Kebugaran Teh Celup Daun Gaharu (*Aquilaria malaccensis* L). *Jurnal Jamu Indonesia*. 2(3): 114-119.
- Masitah, M., Pribadi, T., Pratama, M. I., Harrist, R. F., Sari, P. A., Dianita, F., & Setiawan, V. K. 2023. Analisis Kandungan Metabolik Sekunder Pada Daun Kenikir (*Cosmos Caudatus* Kunth.) Dengan Pelarut Metanol, Etanol, Dan Etil Asetat. *BIOEDUKASI: Jurnal Pendidikan Biologi*. 14(2): 266-272.
- Mustafa, E. S. 2022. Uji Aktivitas Antibakteri Serum Ekstrak Etanol Daun Asam Jawa (*Tamarindus Indica* L.) Terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. *Doctoral dissertation*. Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
- Nugraha, R., Batubara, R., & Ginting, H. 2015. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Gaharu (*Aquilaria Malaccensis* Lamk) Berdasarkan Umur Pohon. *Peronema Forestry Science Journal*. 4(1): 32-40.
- Puspita, T. Y. 2020. Pengaruh pemberian ekstrak daun kemangi (*Ocimum citriodorum*) terhadap kadar TNF- α tikus setelah paparan asap rokok. *Doctoral dissertation*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Septianto, R. D., Ardana, I. B. K., Sudira, I. W., & Dharmayudha, A. A. G. O. 2015. Profil Hematologi Mencit Pasca Pemberian Jamu Temulawak Secara Oral. *Jurnal Harian Regional*. 7(1): 34-40.
- Sinaga, J., Nurliyani, N., & Saleh, Y. D. A. 2017. Paparan Pestisida Terhadap Kejadian Penyakit Paru Obstruktif Kronis Pada Petani Di Sumate Utara. *Berita Kedokteran Masyarakat*. 33(11): 529-534
- Syagir, M. A., dan Mayasari, D. 2018. Gangguan Fungsi Paru Akibat Paparan Pestisida Pada Pekerja Di Sektor Agrikultur. *AGROMEDICINE UNILA*. 5(2): 596-600
- Tampubolon, Y. P. L., Adi, A. A. A. M., & Winaya, I. B. O. 2016. Gambaran histopatologis saluran pernapasan bawah mencit (*Mus musculus*) akibat paparan asap obat nyamuk bakar. *Indonesia Medicus Veterinus*. 5(3): 232-239

Wispriyono, B., Yanuar, A., & Fitria, L.
2013. Tingkat Keamanan
Konsumsi Residu Karbamat
Dalam Buah Dan Sayur Menurut
Analisis Pascakolom
Kromatografi Cair Kinerja
Tinggi. *Kesmas: Jurnal
Kesehatan Masyarakat Nasional
(National Public Health Journal)*.
7(7): 317-323.