



PROTEKSI ISI PROPOSAL

Dilarang menyalin, menyimpan, memperbanyak sebagian atau seluruh isi proposal ini dalam bentuk apapun kecuali oleh pengusul dan pengelola administrasi pengabdian kepada masyarakat

PROPOSAL PENELITIAN 2024

Rencana Pelaksanaan Penelitian: tahun 2024 s.d. tahun 2024

1. JUDUL PENELITIAN

EFEK PROTEKTIF EKSTRAK DAUN KENTUT (*Paederia foetida* L.) TERHADAP HISTOPATOLOGI LAMBUNG DAN USUS PADA MENCIT MODEL SEPSIS YANG DIINFEKSI *Escherichia coli*

Bidang Fokus	Tema	Topik (jika ada)	Prioritas Riset
Kesehatan	Teknologi kemandirian bahan baku obat	Pengembangan fitofarmaka berbasis sumber daya lokal	Kemandirian Kesehatan

Rumpun Ilmu Level 1	Rumpun Ilmu Level 2	Rumpun Ilmu Level 3
ILMU KESEHATAN	ILMU FARMASI	Biologi Farmasi

Skema Penelitian	Strata (Dasar/Terapan/Pengembangan)	Nilai SBK	Target Akhir TKT	Lama Kegiatan
Penelitian Dasar - Penelitian Dosen Pemula	Riset Dasar	20.000.000	3	1 Tahun

2. IDENTITAS PENGUSUL

Nama, Peran	Jenis	Program Studi/Bagian	Bidang Tugas	ID Sinta
LISA SAVITRI 0704049401 Ketua Pengusul Universitas Kadiri	Dosen	Teknologi Laboratorium Medis	1. Menyiapkan mencit jantan sebagai objek penelitian 2. Melakukan perlakuan pada mencit (normal, kontrol negatif, kontrol positif, P1, P2, dan P3) 3. Melakukan pembuatan preparat dengan pewarnaan hematoksilin eosin untuk pengamatan histopatologi organ lambung dan usus. 4. Melakukan analisis data 5. Menyusun laporan akhir dan feasibility study produk 6. Menyusun artikel untuk publikasi di Biology, Medicine, & Natural Product Chemistry (terakreditasi Sinta 3) 7. Menyusun buku ber-ISBN 8. Melakukan pengurusan pengajuan HKI	6707039
ELFRED RINALDO KASIMO 0709049102 Anggota Universitas Kadiri	Dosen	Teknologi Laboratorium Medis	1. Membantu menyiapkan mencit jantan sebagai objek penelitian 2. Menginjeksi mencit dengan <i>Escherichia coli</i>	6680416

Nama, Peran	Jenis	Program Studi/Bagian	Bidang Tugas	ID Sinta
			pada bagian intraperitoneal 3. Melakukan pembedahan mencit yang telah diberikan perlakuan 4. Membantu menyusun laporan akhir dan feasibility study produk 5. Membantu menyusun artikel untuk publikasi di Jurnal Biology, Medicine, & Natural Product Chemistry (terakreditasi Sinta 3) 6. Membantu menyusun buku ber-ISBN	

3. MITRA KERJASAMA PENELITIAN (Jika Ada)

Pelaksanaan penelitian dapat melibatkan mitra kerjasama yaitu mitra kerjasama dalam melaksanakan penelitian, mitra sebagai calon pengguna hasil penelitian, atau mitra investor

Mitra	Nama Mitra	Dana

4. LUARAN DAN TARGET CAPAIAN

Luaran Wajib

Tahun Luaran	Kategori Luaran	Jenis Luaran	Status target capaian	Keterangan
1	Feasibility Study	Feasibility Study	Tersedia	-
1	Artikel di Jurnal	Artikel di Jurnal Nasional terakreditasi peringkat 1-6	accepted/published	https://sciencebiology.org/index.php/BIOMEDICH

5. ANGGARAN

Rencana Anggaran Biaya penelitian mengacu pada PMK dan buku Panduan Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat yang berlaku.

Total RAB 1 Tahun Rp20.000.000,00

Tahun 1 Total Rp18.610.000,00

Kelompok	Komponen	Item	Satuan	Vol.	Biaya Satuan	Total
Bahan	ATK	Materai, Kertas Mimimeter Block, Lem, dan Tinta	Paket	1	75.000	75.000
Bahan	ATK	Paket Penjilidan	Paket	1	81.000	81.000
Bahan	ATK	Paket Fotokopi	Paket	1	103.000	103.000
Bahan	ATK	Kertas A4	Paket	1	53.000	53.000
Bahan	ATK	SK Determinasi Tanaman	Paket	1	50.000	50.000
Bahan	ATK	Packing Mencit dan Materai	Paket	1	85.000	85.000
Bahan	Bahan Penelitian (Habis Pakai)	Isolat klinis (wild type) Escherichia coli	Unit	1	490.600	490.600
Bahan	Bahan Penelitian (Habis Pakai)	Media Bakteri Escherichia coli	Unit	1	271.000	271.000
Bahan	Bahan Penelitian (Habis Pakai)	Daun Kentut	Unit	2	85.000	170.000
Bahan	Bahan Penelitian	Ciprofloxacin	Unit	1	44.969	44.969

Kelompok	Komponen	Item	Satuan	Vol.	Biaya Satuan	Total
	(Habis Pakai)					
Bahan	Bahan Penelitian (Habis Pakai)	Le minerale	Unit	1	21.000	21.000
Bahan	Bahan Penelitian (Habis Pakai)	Serbuk Kayu (Kawol)	Unit	13	6.035	78.455
Bahan	Bahan Penelitian (Habis Pakai)	Pakan Mencit	Unit	3	10.450	31.350
Bahan	Bahan Penelitian (Habis Pakai)	Aquades	Unit	5	3.000	15.000
Bahan	Bahan Penelitian (Habis Pakai)	NBF 10%	Unit	2	70.000	140.000
Bahan	Bahan Penelitian (Habis Pakai)	NaCl	Unit	1	17.000	17.000
Bahan	Bahan Penelitian (Habis Pakai)	Alkohol 96%	Unit	5	30.000	150.000
Bahan	Bahan Penelitian (Habis Pakai)	Methylen Blue	Unit	1	39.000	39.000
Bahan	Bahan Penelitian (Habis Pakai)	Ethanol 95% Teknis, Parafin Cair 100 mL, Phospate Buffer Saline	Unit	1	114.212	114.212
Bahan	Bahan Penelitian (Habis Pakai)	Malachite Green Oxalate	Unit	1	87.809	87.809
Bahan	Bahan Penelitian (Habis Pakai)	Copper II Sulfate Pentahydrate, EDTA, Nutrient Broth, HCl 2 N	Unit	1	196.691	196.691
Bahan	Barang Persediaan	Jerigen	Unit	2	10.000	20.000
Bahan	Barang Persediaan	Disposable Syringe	Unit	1	41.041	41.041
Bahan	Barang Persediaan	Tabung EDTA	Unit	1	97.000	97.000
Bahan	Barang Persediaan	Kawat Kandang	Unit	1	34.000	34.000
Bahan	Barang Persediaan	Urine Container 60 mL	Unit	216	1.100	237.600
Bahan	Barang Persediaan	Tempat Air Minum Mencit	Unit	1	20.000	20.000
Bahan	Barang Persediaan	Seperangkat Alat Bedah (Meliputi Gunting, Pinset, dan Penusuk)	Unit	1	111.000	111.000
Bahan	Barang Persediaan	Slide Poly L Lisine	Unit	84	10.000	840.000
Bahan	Barang Persediaan	Feeding Tube	Unit	1	50.000	50.000
Bahan	Barang Persediaan	Kandang Mencit	Unit	1	56.547	56.547
Bahan	Barang Persediaan	Pot Urine	Unit	1	43.936	43.936
Bahan	Barang Persediaan	Petridish	Unit	1	34.790	34.790

Kelompok	Komponen	Item	Satuan	Vol.	Biaya Satuan	Total
Pengumpulan Data	HR Pembantu Peneliti	HR Pembantu Peneliti	OJ	20	25.000	500.000
Pengumpulan Data	HR Sekretariat/ Administrasi Peneliti	HR Administrasi Penelitian	OB	1	300.000	300.000
Pengumpulan Data	Transport	Biaya Transportasi	OK (kali)	2	70.000	140.000
Pengumpulan Data	Uang harian rapat di luar kantor	Uang Harian Rapat Kantor Terkait Pengumpulan Data di Luar	OH	6	140.000	840.000
Pengumpulan Data	Biaya konsumsi	Biaya Konsumsi Koordinasi Pengumpulan Data	OH	6	50.000	300.000
Sewa Peralatan	Obyek penelitian	Mencit Jantan	Unit	30	45.000	1.350.000
Sewa Peralatan	Transport penelitian	Biaya Transportasi Penelitian	OK (kali)	1	150.000	150.000
Analisis Data	HR Pengolah Data	HR Analisis Data	P (penelitian)	1	1.540.000	1.540.000
Analisis Data	Biaya analisis sampel	Paket Uji Hematoksin Eosin	Unit	1	2.800.000	2.800.000
Analisis Data	Biaya analisis sampel	Paket Dokumentasi Slide	Unit	90	35.000	3.150.000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Uang harian rapat di luar kantor	Uang Harian Rapat Koordinasi Menyusun Laporan dan Luaran di Luar Kantor	OH	6	140.000	840.000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Biaya konsumsi rapat	Biaya Konsumsi Rapat	OH	6	50.000	300.000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Biaya Publikasi artikel di Jurnal Bereputasi Nasional	Biaya Publikasi Artikel	Paket	1	500.000	500.000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Luaran KI (paten, hak cipta dll)	Biaya Pengurusan HKI	Paket	1	500.000	500.000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Biaya penyusunan buku termasuk book chapter	Biaya Penyusunan Buku Ber-ISBN	Paket	1	1.500.000	1.500.000



Isian Substansi Proposal **SKEMA PENELITIAN DASAR**

Petunjuk: Pengusul hanya diperkenankan mengisi di tempat yang telah disediakan sesuai dengan petunjuk pengisian dan tidak diperkenankan melakukan modifikasi template atau penghapusan di setiap bagian.

JUDUL

Tuliskan Judul Usulan

EFEK PROTEKTIF EKSTRAK DAUN KENTUT (*Paederia foetida* L.) TERHADAP HISTOPATOLOGI LAMBUNG DAN USUS PADA MENCIT MODEL SEPSIS YANG DIINFEKSI *Escherichia coli*

RINGKASAN

Ringkasan penelitian tidak lebih dari 300 kata yang berisi urgensi, tujuan, dan luaran yang ditargetkan.

Sepsis didefinisikan sebagai disfungsi organ yang mengancam jiwa yang disebabkan oleh respons tubuh yang tidak teratur terhadap infeksi. Syok septik dianggap bagian dari sepsis di mana terjadi ketidaknormalan peredaran darah, seluler, dan metabolisme yang menyebabkan risiko kematian lebih besar. Disfungsi organ yang kemungkinan terjadi adalah pada organ lambung dan usus. Ancaman serius penyebab sepsis salah satunya adalah bakteri *Escherichia coli*. Terlepas dari semua upaya penelitian eksperimental dan klinis selama tiga dekade terakhir, kemampuan untuk mempengaruhi perjalanan bakteri masih terbatas. Terapi berbasis imunoterapi yang ditargetkan sebagian besar belum terbukti efektivitasnya sejauh ini. Sehingga, diperlukan tindakan yang lebih mengarah pada tindakan preventif, terutama dengan menggunakan bahan herbal, karena dipercaya memiliki efek samping yang rendah. Salah satu tanaman tradisional yang dipercaya dapat menyembuhkan gangguan pencernaan adalah daun kentut (*Paederia foetida* L.). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek protektif ekstrak daun kentut terhadap histopatologi lambung dan usus pada mencit model sepsis yang diinfeksi *E. coli*. Tujuan penelitian ini sesuai dengan Rencana Induk Riset Nasional 2017-2045 dengan teknologi yang dikembangkan berupa teknologi kemandirian bahan baku obat. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan perlakuan: 1) kontrol normal, 2) kontrol negatif, 3) kontrol positif, 4) perlakuan 1, diberikan ekstrak daun kentut 100 mg/kgBB, 5) perlakuan 2, diberikan ekstrak daun kentut 300 mg/kgBB, 6) perlakuan 3, diberikan ekstrak daun kentut 500 mg/kgBB. Pengamatan histopatologi lambung dan usus dilakukan dengan cara pembuatan preparat histologi dan pewarnaan hematoksilin eosin. Data yang diperoleh dianalisis dengan *software* SPSS 23.0 for windows menggunakan *One Way Anova* ($\alpha=0,05$), apabila hasil menunjukkan signifikansi, maka dilanjutkan uji Beda Nyata Terkecil ($\alpha=0,05$). Data disajikan dalam bentuk rerata \pm standar error. Luaran yang ditargetkan dari penelitian ini adalah laporan *feasibility study* produk, publikasi artikel di "Jurnal *Biology, Medicine, & Natural Product Chemistry* (Sinta 3)", menerbitkan buku ber-ISBN bekerjasama dengan Dewa Publishing, dan HKI dengan status telah bersertifikat.

KATA KUNCI

Kata kunci maksimal 5 kata

efek protektif, ekstrak daun kentut (*Paederia foetida* L.), histopatologi lambung, histopatologi usus, sepsis

PENDAHULUAN

Penelitian Dasar merupakan riset yang memuat temuan baru atau pengembangan ilmu pengetahuan dari kegiatan riset yang terdiri dari tahapan penentuan asumsi dan dasar hukum yang akan digunakan, formulasi konsep dan/ atau aplikasi formulasi dan pembuktian konsep fungsi dan/ atau karakteristik penting secara analitis dan eksperimental.

Pendahuluan penelitian tidak lebih dari 1000 kata yang terdiri dari:

- Latar belakang dan rumusan permasalahan yang akan diteliti
- Pendekatan pemecahan masalah
- *State of the art* dan kebaruan
- Peta jalan (*road map*) penelitian 5 tahun kedepan (jika dalam bentuk konsorsium harus dilengkapi dengan roadmap penelitian konsorsium)
- Sitasi disusun dan ditulis berdasarkan sistem nomor sesuai dengan urutan pengutipan, mengikuti format Vancouver

Latar Belakang

Sepsis adalah keadaan darurat medis yang menggambarkan respons imunologis sistemik tubuh terhadap proses infeksi yang dapat menyebabkan disfungsi organ stadium akhir dan kematian [1]. Pada tahun 2017, penyumbang terbesar kasus sepsis dan kematian terkait sepsis di semua usia adalah penyakit diare (9,2 hingga 15 juta kasus per tahun) dan infeksi saluran pernapasan bawah (1,8-2,8 juta per tahun). Ancaman serius penyebab sepsis salah satunya adalah bakteri *Escherichia coli* [2,3]. Sepsis yang disebabkan oleh bakteri adalah kondisi yang mengancam jiwa yang muncul ketika respons tubuh terhadap infeksi melukai jaringan dan organnya [4]. Infeksi bakteri *E. coli* sebagai penyebab gangguan saluran pencernaan pada manusia telah meningkat prevalensinya [5]. *E. coli* adalah salah satu bakteri yang paling sering diisolasi dalam aliran darah dan merupakan infeksi dari bakteri Gram negatif yang paling sering diisolasi pada pasien dewasa dengan bakteremia [6]. Lokasi utama infeksi terkait dengan sepsis adalah saluran pernapasan/paru-paru (43%), sistem kemih (16%), perut (14%), kepala, yang terkait dengan demam dengan penyebab tidak diketahui (14%), dan lokasi/penyebab lainnya (13%) [7,8].

Dari sudut pandang patogenetik, sepsis saat ini dianggap sebagai hasil dari beberapa mekanisme yang secara bersamaan melibatkan berbagai mediator proinflamasi dan antiinflamasi [9]. Selain itu, modifikasi seluler yang terkait dengan sepsis baru-baru ini telah didefinisikan, dan pentingnya mikrosirkulasi telah ditekankan dalam perkembangan dari sepsis menjadi syok septik [10]. Dalam konteks ini, endotelium telah diidentifikasi sebagai unit fungsional fundamental dalam patofisiologi sepsis karena perannya dalam regulasi mikrosirkulasi dan modulasi mekanisme koagulasi serta proses-proses sinyal inflamasi dan antiinflamasi [11,12]. Glikokaliks adalah komponen dari membran endotelial yang terdiri dari proteoglikan dan glikoprotein. Ini memediasi berbagai fungsi, seperti pembentukan penghalang mekanis yang mengatur permeabilitas vaskular, aktivasi leukosit dan adhesi trombosit, serta modulasi respons inflamasi/antiinflamasi. Kerusakan pada integritas morfofungsional glikokaliks (dikenal sebagai "*glycocalyx shedding*") dapat terjadi karena agen oksidatif, sitokin, eksotoksin, dan endotoksin bakteri. Peristiwa ini menyebabkan diapedesis leukosit dan peningkatan permeabilitas vaskular dengan produksi edema, yang meningkatkan tekanan interstisial dan memperburuk perfusi jaringan [13]. Beberapa organ yang kemungkinan mengalami disfungsi adalah lambung dan usus.

Pada sepsis, respons inflamasi terhadap patogen yang menyerang melibatkan proses inflamasi dan antiinflamasi, reaksi humoral dan seluler, dan kelainan peredaran darah [14]. Pada fase awal setelah cedera, respon inflamasi diprakarsai oleh reaktan fase akut atau faktor proinflamasi [15]. Terjadinya peningkatan oksigen reaktif dan akumulasi stres oksidatif sehingga terjadi penurunan oksida nitrat (NO), hal tersebut mengurangi bioavailabilitas NO dalam sirkulasi koroner dan perifer, sehingga timbul gangguan di pembuluh darah berkorelasi dengan meningkatnya risiko disfungsi organ

yang berujung pada kematian [13]. Sebagai yang penting faktor inflamasi, penyebab *tumor necrosis factor* (TNF), demam, kelainan hemodinamik, anoreksia, nyeri sendi, dan agregasi neutrofil, yang dianggap tipikal gejala yang berhubungan dengan sepsis [16]. Oleh karena itu, sangat penting untuk mengeksplorasi peran potensial faktor inflamasi dalam patofisiologi sepsis. Apalagi menghilangkan konsepnya dari SIRS dari sepsis pasti akan menghasilkan terus menerus isu-isu mengenai penelitian dasar dan perawatan klinis dari sepsis.

Terlepas dari semua upaya penelitian eksperimental dan klinis selama tiga dekade terakhir, kemampuan untuk mempengaruhi perjalanan bakteri masih terbatas. Terapi berbasis imunoterapi yang ditargetkan sebagian besar belum terbukti efektivitasnya sejauh ini [17]. Sehingga, diperlukan tindakan yang lebih mengarah pada tindakan preventif, terutama dengan menggunakan bahan herbal, karena dipercaya memiliki efek samping yang rendah. Salah satu tanaman tradisional yang dipercaya masyarakat zaman dahulu untuk menyembuhkan gangguan pencernaan seperti diare adalah daun kentut (*Paederia foetida* L.), yang di Jawa Timur dikenal dengan nama 'daun sembukan'. Daun kentut mengandung metabolit sekunder, seperti alkaloid, saponin, tanin, dan flavonoid yang secara farmakologi memiliki manfaat seperti antioksidan, antibiotik, antikanker, anti serangga, agen antitumor, dan agen imunomodulasi [18,19,20,21]

Banyak dari senyawa yang diisolasi dari daun kentut bersifat bioaktif, dan telah terbukti memiliki beberapa bioaktivitas, misalnya antrakuinon yang memiliki sifat anthelmintik, antidiare, antihiperlikemik, antihiperlipidemia, antiinflamasi, antioksidan, antimikroba, dan antitusif [22,23,24,25]. Meskipun bau tidak sedap yang kuat terutama disebabkan oleh adanya beberapa senyawa belerang sederhana (yang utama adalah dimetil sulfida), belerang yang mengandung glikosida, paederosida, juga terlibat dalam bau busuknya.

Dalam beberapa tahun terakhir, fokus telah bergeser ke studi yang lebih mekanistik, yaitu mencoba memahami bagaimana ekstrak dan senyawa murni dari daun kentut yang mengarah ke tindakan farmakologisnya. Penelitian sebelumnya mempelajari sifat antimelanogenik dari ekstrak tanaman ini pada sel melanoma murine dan telah menunjukkan bahwa efek ini dihasilkan melalui *mitogen-activated protein kinase* (MAPK) yang dimediasi oleh sinyal *microphthalmia-associated transcription factor* (MITF) *downregulation* [26]. Demikian juga penelitian lain menunjukkan bahwa tanaman ini dapat menginduksi aktivitas antikanker dengan mengganggu enzim modifikasi kromatin dan mengubah ekspresi gen sitokin proinflamasi dalam sel kanker prostat [27].

Studi farmakologi yang dilakukan pada daun kentut hingga saat ini telah memberikan beberapa bukti ilmiah yang mendukung penggunaannya dalam obat tradisional untuk pengobatan penyakit manusia tertentu, dan beberapa mekanisme aksi yang mungkin juga telah ditunjukkan. Namun, tidak ada atau sedikit informasi yang tersedia pada studi klinis yang dirancang dengan baik, acak dan tersamar ganda dengan tanaman ini. Kebutuhan akan studi klinis ekstensif untuk mempromosikan tanaman ini atau komponennya sebagai formulasi obat modern tidak dapat diabaikan.

Rumusan Masalah

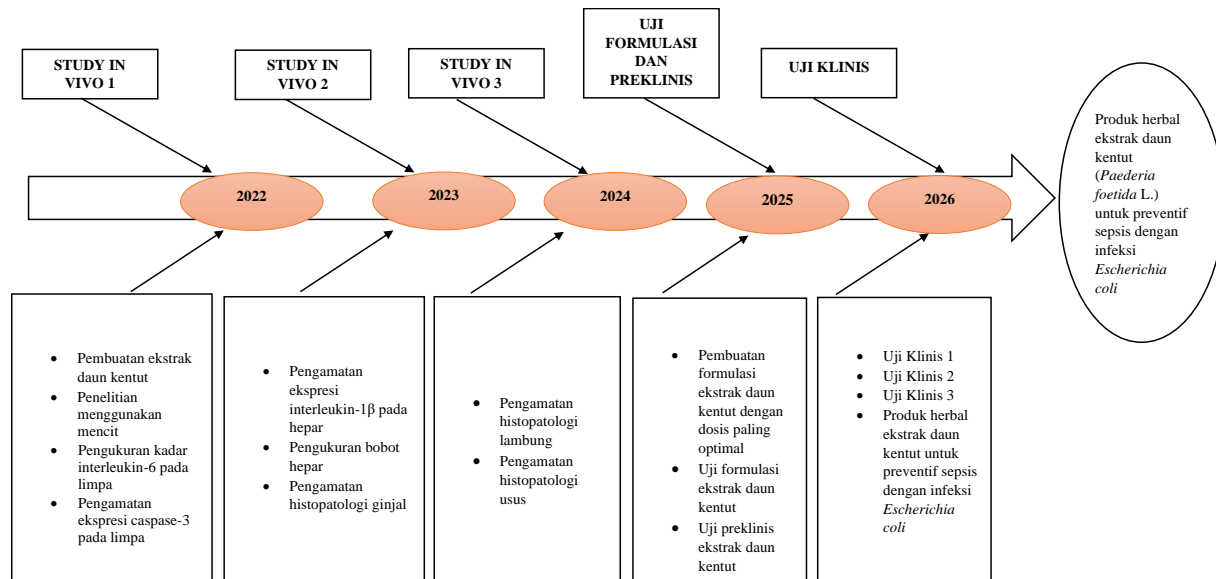
Bagaimana efek protektif ekstrak daun kentut (*Paederia foetida* L.) terhadap histopatologi lambung dan usus pada mencit model sepsis yang diinfeksi *Escherichia coli*?

Pendekatan Pemecahan Masalah

Semua upaya penelitian eksperimental dan klinis selama tiga dekade terakhir, kemampuan untuk memengaruhi perjalanan bakteri dan hasil sindrom akibat sepsis masih terbatas. Terapi sepsis masih terdiri dari tindakan kausal dan suportif dasar dalam penanganannya, sementara intervensi *adjuvant* seperti pemurnian darah atau imunoterapi sebagian besar belum terbukti efektivitasnya

sejauh ini. Sehingga, diperlukan tindakan yang mengarah pada tindakan preventif, terutama dengan menggunakan bahan herbal, karena dipercaya memiliki efek samping yang rendah. Salah satu bahan herbal yang dijadikan sebagai kandidat preventif terhadap sepsis terutama yang disebabkan oleh *Escherichia coli* adalah daun kentut (*Paederia foetida* L.) yang mudah didapatkan, murah, dan sering dikonsumsi masyarakat.

Peta Jalan (Road Map) Penelitian



METODA

Metode atau cara untuk mencapai tujuan yang telah ditetapkan ditulis tidak melebihi 1000 kata. Bagian ini dapat dilengkapi dengan diagram alir penelitian yang menggambarkan apa yang sudah dilaksanakan dan yang akan dikerjakan selama waktu yang diusulkan. Format diagram alir dapat berupa file JPG/PNG. Metode penelitian harus dibuat secara utuh dengan penahanan yang jelas, mulai dari awal bagaimana proses dan luarannya, dan indikator capaian yang ditargetkan yang tercermin dalam Rencana Anggaran Biaya (RAB).

Populasi dan Sampel

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*). Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah 30 ekor mencit jantan strain Balb/c umur 4-8 minggu dengan bobot 20-30 gram yang didapatkan dari Pusat Veteriner Farma (Pusvetma), Surabaya, Jawa Timur.

Objek Penelitian

Objek yang digunakan dalam penelitian ini adalah 30 ekor mencit jantan strain Balb/c umur 4-8 minggu dengan bobot 20-30 gram.

Variabel Penelitian

Variabel terikat: histopatologi lambung dan usus mencit model sepsis yang diinduksi *Escherichia coli*. Variabel bebas: ekstrak daun kentut (*Paederia foetida* L.). Variabel kontrol dalam penelitian ini adalah umur mencit, frekuensi sonde lambung yang diberikan, kondisi kandang, jenis kelamin, dan pakan yang diberikan.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi: *Disposable syringe* 1 mL, *disposable syringe* 3 mL, *disposable syringe* 5 mL, *feeding tube* ukuran 35 cm, *urine container* 60 mL, *vaculab EDTA K3* 3 mL, *ependoft* 2 mL, mikrosentrifuge, mikropipet, *freezer*, *rotary microtome* atau *sliding microtome*, kuas, *waterbath*, *object glass*, *ependoft* 1500 μ L, *blue tips*, *yellow tips*, *white tips* 10 μ L, *tube* 15 mL, *tube* 50 mL, papan bedah, seperangkat alat bedah (meliputi gunting, pinset, dan penusuk), sarung tangan, *tissue*, *masker*, mikroskop cahaya binokuler, dan kamera mikroskop

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi: mencit jantan strain Balb/c umur 4-8 minggu dengan bobot 20-30 gram, ekstrak daun kentut (*Paederia foetida* L.), ciprofloxacin, isolat klinis (*wild type*) *E. coli* dengan dosis 1×10^5 CFU/mL, *physiologic zur* (PZ) (*aqua pro injection bebas pyrogen*), pakan mencit, serbuk kayu (kawol), metanol, giemsa, aquades, larutan H₂CO (*formaldehyde*) 37%, *buffer formalin*, sodium hidrogen fosfat dibasik (Na₂HPO₄) 6,5 gram, aquadestilata 900 mL, *formaldehyde* 37-40%), etanol 80%, etanol 95%, etanol absolut, xylol, larutan clearing, *paraffin*, SA-HRP, BSA, HCl.

Alur Penelitian

1. Aklimatisasi Mencit

Mencit jantan ditimbang kemudian diletakkan di dalam kandang *polypropilane* standar dengan alas menggunakan serbuk kayu untuk diaklimatisasi selama dua minggu. Alas kandang diganti setiap tiga hari sekali. Pakan yang diberikan dilunakkan dengan menggunakan air terlebih dahulu, kemudian dikepal, sehingga berbentuk lonjong, dengan berat kurang lebih 5 gram. Minum diberikan secara *ad libitum*. Pakan dan minum diganti setiap hari. Mencit dibagi dalam enam kelompok perlakuan setelah diaklimatisasi selama dua minggu.

2. Perlakuan pada Hewan Coba

Mencit yang telah diadaptasikan diberikan perlakuan selama 14 hari dengan variasi sebagai berikut: 1) kelompok 1 sebagai kontrol normal (N), yaitu mencit yang tidak diberikan sonde lambung, 2) kelompok 2 sebagai kontrol negatif (K-), yaitu mencit diberikan aquades dengan volume 0,5 mL, 3) kelompok 3 sebagai kontrol positif (K+), yaitu mencit diberikan ciprofloxacin dengan dosis 500 mg/kgBB dengan volume 0,26 mL, 4) kelompok 4 sebagai perlakuan 1 (P1), yaitu mencit diberikan ekstrak daun kentut dengan dosis 100 mg/kgBB dengan volume 0,5 mL, 5) kelompok 5 sebagai perlakuan 2 (P2), yaitu mencit diberikan ekstrak daun kentut dengan dosis 300 mg/kgBB dengan volume 0,5 mL, 6) kelompok 6 sebagai perlakuan 3 (P3), yaitu mencit diberikan ekstrak daun kentut dengan dosis 500 mg/kgBB dengan volume 0,5 mL.

3. Perlakuan Mencit Model Sepsis

Mencit yang telah diberikan perlakuan diinjeksi pada bagian peritoniumnya dengan *E. coli* dengan dosis 1×10^5 CFU/mL. Mencit setelah 24 jam pasca pemaparan polimikroba sepsis akan memperlihatkan kejadian sepsis, sehingga setelah 24 jam mencit dapat dimatikan. Jika mencit mati sebelum 24 jam, maka harus segera dilakukan pembedahan untuk diambil lambung dan usus agar tidak terjadi autolisis. Irisan organ yang diambil adalah pada bagian tengah, tepi kiri, dan kanan.

4. Pemrosesan Jaringan

Jaringan organ lambung dan usus difiksasi ke dalam *buffer formalin* dengan tujuan untuk mempertahankan morfologi sel seperti semula untuk mencegah terjadinya autolisis dan untuk mencegah pertumbuhan bakteri atau jamur. Tahap selanjutnya adalah pembuatan blok *paraffin*. Setelah dibuat blok *paraffin*, kemudian jaringan dilakukan penyayatan jaringan dengan

menggunakan *rotary microtome* atau *sliding microtome* dengan ketebalan 4-6 mikron. Sayatan yang diperoleh kemudian diambil dengan kuas yang telah dibasahi dengan air dan diletakkan pada permukaan waterbath. Jaringan yang mengembang kemudian diambil dengan *object glass* yang telah dilapisi dengan perekat jaringan, lalu dikeringkan pada suhu kamar dan dimasukkan ke dalam *oven* semalam.

5. Pengamatan Histopatologi Lambung dan Usus

Pengamatan histopatologi lambung dan usus mencit dilakukan pembuatan preparat histologi dengan pengecatan menggunakan hematoksilin eosin. Pengamatan histopatologi yang dilakukan adalah pengecekan sel abnormal (sel yang mengalami diferensiasi, nekrosis, dan apoptosis). Perhitungan sel yang abnormal dengan cara menghitung sel abnormal dibagi dengan seluruh sel yang *preserved*, kemudian dikalikan dengan 100%, sehingga data dinyatakan dengan menggunakan persentase (%).

6. Pengumpulan Data

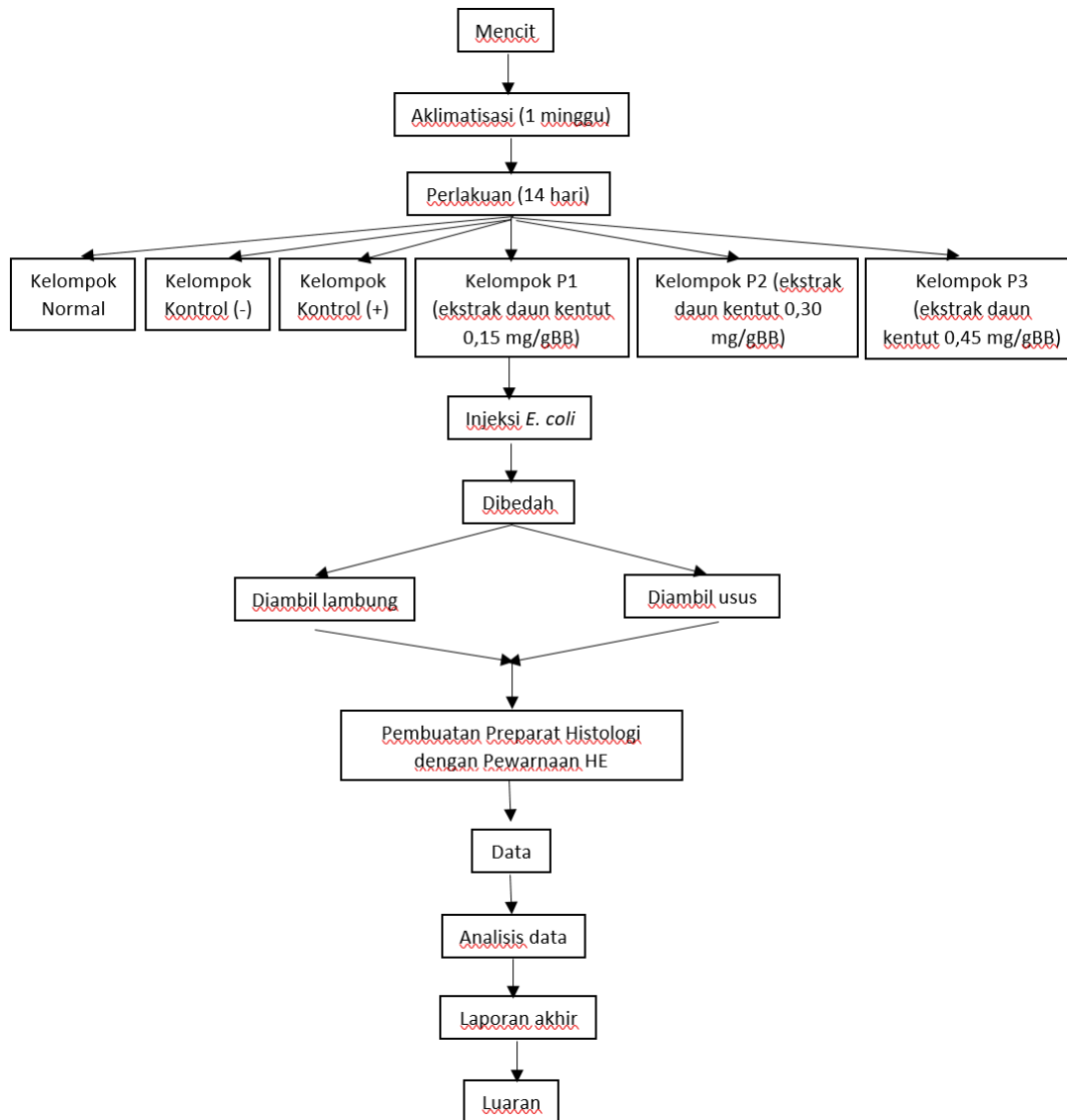
Data yang diperoleh dari penelitian ini berupa sel abnormal (sel yang mengalami diferensiasi, nekrosis, dan apoptosis) pada lambung dan usus (%) melalui hasil pengamatan preparat histologi dengan pewarnaan hematoksilin eosin.

7. Analisis Data

Data yang diperoleh berupa pengamatan hasil histopatologi lambung dan usus mencit dianalisis dengan menggunakan Analisis Varian Tunggal Satu Jalur (*One Way Anova*) pada taraf kepercayaan 95% ($\alpha=0,05$), apabila hasil perhitungan Anava menunjukkan signifikansi, maka perhitungan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf kepercayaan 95% ($\alpha=0,05$). Analisis statistik dilakukan dengan menggunakan *software SPSS 23.0 for windows*. Data disajikan dalam bentuk rerata \pm *standar error* (SE).

8. Laporan akhir disusun berdasarkan hasil penelitian, analisis data, dan didukung kajian pustaka

9. Luaran yang ditargetkan dari penelitian ini adalah laporan *feasibility study* produk, publikasi artikel di Jurnal *Biology, Medicine, & Natural Product Chemistry* (Sinta 3), menerbitkan buku ber-ISBN bekerjasama dengan Penerbit Buku Dewa *Publishing*, dan HKI dengan status telah bersertifikat.



JADWAL PENELITIAN

Jadwal penelitian disusun berdasarkan pelaksanaan penelitian, harap disesuaikan berdasarkan lama tahun pelaksanaan penelitian

Tahun ke-1

No	Nama Kegiatan	Bulan											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	Pengumuman usulan proposal yang didanai						√						
2	Pengurusan ijin						√						
3	Pembelian alat dan bahan penelitian						√						
4	Pelaksanaan penelitian						√	√					
5	Penyusunan laporan kemajuan							√	√				
6	Monitoring dan evaluasi internal PT								√				
7	Monitoring dan evaluasi eksternal									√			
8	Penyusunan laporan akhir									√	√		

9	Penyusunan laporan <i>feasibility study</i> produk									√	√		
10	Penyusunan jurnal									√	√		
11	Publikasi jurnal										√		
12	Penyusunan buku ber-ISBN										√	√	√
13	Pengurusan HKI											√	√

DAFTAR PUSTAKA

Sitasi disusun dan ditulis berdasarkan sistem nomor sesuai dengan urutan pengutipan, mengikuti format Vancouver. Hanya pustaka yang disitasi pada usulan penelitian yang dicantumkan dalam Daftar Pustaka.

- [1] Gyawali, B., Ramakrishna, K., & Dhamoon, A. S. (2019). Sepsis: The evolution in definition, pathophysiology, and management. *SAGE open medicine*, 7, 2050312119835043. <https://doi.org/10.1177/2050312119835043>
- [2] Lawn JE, Bianchi-Jassir F, Russell NJ, Kohli-Lynch M, Tann CJ, Hall J, et al. (2017) Group B Streptococcal Disease Worldwide for Pregnant Women, Stillbirths, and Children: Why, What, and How to Undertake Estimates? *Clin Infect Dis*. 2017;65(suppl_2):S89-S99.
- [3] Stoll BJ, Hansen NI, Sanchez PJ, Faix RG, Poindexter BB, Van Meurs KP, et al. (2011) Early onset neonatal sepsis: the burden of group B Streptococcal and E. coli disease continues. *Pediatrics*. 2011;127(5):817-26.
- [4] Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, Bellomo R, Bernard GR, Chiche JD, Coopersmith CM, Hotchkiss RS, Levy MM, Marshall JC, Martin GS, Opal SM, Rubenfeld GD, van der Poll T, Vincent JL, Angus DC. (2016) The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA*. 2016 Feb 23;315(8):801-10.
- [5] Silaban H. (2021) The Effect of Various Concentrations of Ethanol Extract of the Leaves of *Paederia foetida* L. on the Growth of *Escherichia Coli* Bacteria. *JDDT*. 11(6):61-7.
- [6] Mora-Rillo M, Fernández-Romero N, Navarro-San Francisco C, Díez-Sebastián J, Romero-Gómez MP, Fernández FA, et al. (2015) Impact of virulence genes on sepsis severity and survival in *Escherichia coli* bacteremia. *Virulence*. 2015; (1):93-100.
- [7] Vakkalanka, J.P.; Harland, K.K.; Swanson, M.B.; Mohr, N.M. (2018). Clinical and epidemiological variability in severe sepsis: An ecological study. *J. Epidemiol. Community Health* 2018, 72, 741–745.
- [8] Angus, D.C.; van der Poll, T. (2013). Severe Sepsis and Septic Shock. *N. Engl. J. Med*. 2013, 369, 840–851.
- [9] Piechota, M.; Banach, M.; Irzmanski, R.; Barylski, M.; Piechota-Urbanska, M.; Kowalski, J.; Pawlicki, L. (2007). Plasma endothelin-1 levels in septic patients. *J. Intensive Care Med*. 2007, 22, 232–239.
- [10] Ince, C. (2005). The microcirculation is the motor of sepsis. *Crit. Care* 2005, 9 (Suppl. 4), S13–S19.
- [11] Wolinsky, H. (1980). A proposal linking clearance of circulating lipoproteins to tissue metabolic activity as a basis for understanding atherogenesis. *Circ. Res*. 1980, 47, 301–311.
- [12] Belousoviene, E.; Kiudulaite, I.; Pilvinis, V.; Pranskunas, A. (2021). Links between Endothelial Glycocalyx Changes and Microcirculatory Parameters in Septic Patients. *Life* 2021, 11, 790.
- [13] Kaukonen K-M, Bailey M, Pilcher D, Cooper DJ, Bellomo R. (2015) Systemic inflammatory response syndrome criteria in defining severe sepsis. *N Engl J Med* 2015;372(17):1629–38.

- [14] Bhattacharjee, P., D.P. Edelson, and M.M. Churpek. (2017). Identifying patients with sepsis on the hospital wards. *Chest* 151: 898–907.
- [15] Le, J., and J. Vilcek. (1987). Tumor necrosis factor and interleukin-1: cytokines with multiple overlapping biological activities. *Lab Invest.* 56: 234.
- [16] Kumari, Preeti, Chandrawati Kumari, and Poornima Shekhar Singh. (2017) "Phytochemical screening of selected medicinal plants for secondary metabolites." *Int. J. Life. Sci. Scienti. Res* 2017; 3(4):1151-1157. <https://doi.org/10.21276/ijlssr.2017.3.4.9>
- [17] Saifudin, Azis. (2014) *Senyawa alam metabolit sekunder teori, konsep, dan teknik pemurnian*. Deepublish, 2014.
- [18] Abriyanto, AE., Sabikis, Sudarso. (2012). Aktivitas Antifungi Ekstrak Etanol Daun Sembukan (*Paedaria foetida* L) terhadap *Candida albicans*. *Pharmacy*, Vol 9 No 3, Desember 2012
- [19] Chanda, S., Deb, L., Tiwari, R. K., Singh, K., Ahmad, S. (2015). Gastroprotective mechanism of *Paedaria foetida* Linn. (Rubiaceae) – a popular edible plant used by the tribal community of North-East India. *BMC Complement. Altern. Med.* 15, article number: 304.
- [20] Ramadhan, A., Wardani, A.K., Dlamini, D.S., Chang, C.I. (2021). Anthraquinone derivatives and its antibacterial properties from *Paedaria foetida* stems. *Nat. Prod.* J.11, 193-199. 23.
- [21] Savitri, L., Kasimo, E.R., Krissanjaya, R. 2023. *Rahasia Daun Kentut: Peran Profilaksis Pencegahan Sepsis*. Nganjuk: CV. Dewa Publishing.
- [22] Savitri, L., Tiyas, E.W., Freitas, M.D., Retnowati, A. 2023. *Daun Kentut: Antibakteri Super dan Perlindungan Imun*. Nganjuk: CV. Dewa Publishing.
- [23] Savitri, L., Kasimo, E.R. (2022). Efek Preventif Ekstrak Daun Kentut (*Paedaria foetida* L.) Terhadap Kadar Interleukin-6 Pada Mencit Model Sepsis yang Diinduksi *Escherichia coli*. *Indonesian Journal of Natural Science Education*, 5(2): 38-43.
- [24] Wang, L., Jiang, Y., Han, T., Zheng, C., Qin, L. (2014). A phytochemical, pharmacological and clinical profile of *Paedaria foetida* and *P. scandens*. *Nat. Prod. Commun.* 9, 879-886.
- [25] Soni, R.K., Irchhaiya, R., Dixit, V., Shashi, A. (2013). *Paedaria foetida* Linn: Phytochemistry, pharmacological and traditional uses. *Int. J. Pharm. Sci. Res.* 4, 4525-4530.
- [26] Trung, N.Q., Thong, N.M., Cuong, D.M., Manh, T.D., Hoang, L.P., Hien, N.K., Nam, P.C., Quang, D.T., Mechler, A., Vo, Q.V. (2021). Radical scavenging activity of natural anthraquinones: A theoretical insight. *ACS Omega* 6, 13391-13397.
- [27] Chung, Y.C. (2021). Anti-melanogenic effects of *Paedaria foetida* L. extract via MAPK signaling-mediated MITF downregulations. *Cosmetics* 8, article number: 22.



UNIVERSITAS KADIRI

TERAKREDITASI "BAIK SEKALI"

Fakultas : Hukum S1 & S2 • Sospol S1 & S2 • Pertanian S1 • Ekonomi S1 & S2 • Teknik S1 • Ilmu Kesehatan S1 & S2
Alamat : Jl. Selomangleng No. 1 Kediri – Jawa Timur • Telp. (0354) 773032, 771649, 771017 • Fax. (0354) 773032
Website : <http://unik-kediri.ac.id> • Email : rektor@unik-kediri.ac.id

PERNYATAAN KESANGGUPAN PELAKSANAAN DAN PENYUSUNAN LAPORAN PENELITIAN

Saya yang bertanda-tangan dibawah ini:

Nama : Lisa Savitri, S.Si., M.Imun.
NIDN : 0704049401
Instansi : Universitas Kadiri

Sehubungan dengan Kontrak Penelitian:

Tanggal Kontrak Induk* : 19 Maret 2024
Nomor Kontrak Induk* : 104/SPK/D.D4/PPK.01.APTV/III/2024
Tanggal Kontrak Turunan** : 20 Maret 2024
Nomor Kontrak Turunan** : 004/SP2H/PPKM-PTV/LL7/2024,
05/P.1/LP3M/I/2024
Judul Penelitian : EFEK PROTEKTIF EKSTRAK DAUN KENTUT (*Paederia foetida* L.) TERHADAP HISTOPATOLOGI LAMBUNG DAN USUS PADA MENCIT MODEL SEPSIS YANG DIINFEKSI *Escherichia coli*
Tahun Usulan : 2024
Tahun Pelaksanaan : 2024
Jangka Waktu Penelitian : 1 tahun
Periode Penelitian : Tahun ke 1 dari 1 tahun
Dana Penelitian : Rp 18.610.000,00

Periode	Dana Penelitian (Rp)
Tahun ke-1	Rp 18.610.000,00

Dengan ini menyatakan bahwa Saya bertanggungjawab penuh untuk menyelesaikan penelitian serta mengunggah laporan kemajuan dan laporan akhir penelitian sebagaimana diatur dalam Kontrak Penelitian tersebut di atas.

Apabila sampai dengan masa penyelesaian pekerjaan sebagaimana diatur dalam Kontrak Penelitian tersebut di atas saya lalai/cidera janji/wanprestasi dan/atau terjadi pemutusan Kontrak Penelitian, saya bersedia untuk mengembalikan/menyetorkan kembali uang ke kas negara sebesar nilai sisa pekerjaan yang belum ada prestasinya.

Demikian surat pernyataan ini dibuat dengan sebenarnya.

Kediri, 26 Maret 2024



(Lisa Savitri, S.Si., M.Imun.)

Keterangan:

*diisi tanggal dan nomor Kontrak Induk antara DRPM Kemenristek/BRIN dengan LP/LPPM Perguruan Tinggi Negeri atau LLDIKTI

**Kontrak Turunan:

- Untuk Perguruan Tinggi Negeri diisi tanggal dan nomor kontrak antara LP/LPPM Perguruan Tinggi dengan Peneliti
- Untuk Perguruan Tinggi Swasta diisi tanggal dan nomor kontrak LLDIKTI dg PTS dan PTS dengan Peneliti yang dipisahkan dengan tanda koma (,)

PERSETUJUAN PENGUSUL

Tanggal Pengiriman	Tanggal Persetujuan	Nama Pimpinan Pemberi Persetujuan	Sebutan Jabatan Unit	Nama Unit Lembaga Pengusul
16/12/2023	30/12/2023	BUDI HERYANTO	Direktur	Lembaga Penelitian, Pengembangan dan Pengabdian Masyarakat (LP3M)

Komentar : Disetujui