

**PENGARUH PEMBERIAN FRAKSI AIR KAYU MANIS  
(*Cinnamomun zeylanicum*) TERHADAP PENURUNAN KADAR  
MALONDIALDEHIDA (MDA) DAN GAMBARAN  
HISTOLOGI TULANG PADA TIKUS ARTRITIS AJUVAN**

**SKRIPSI**

oleh :

**CHRISTINA DIAN CAHYAWATI  
0510923012**



**JURUSAN KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2009**

**PENGARUH PEMBERIAN FRAKSI AIR KAYU MANIS  
(*Cinnamomun zeylanicum*) TERHADAP PENURUNAN KADAR  
MALONDIALDEHIDA (MDA) DAN GAMBARAN  
HISTOLOGI TULANG PADA TIKUS ARTRITIS AJUVAN**

**SKRIPSI**

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains  
dalam bidang Kimia

oleh :

**CHRISTINA DIAN CAHYAWATI  
0510923012**



**JURUSAN KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2009**

**PENGARUH PEMBERIAN FRAKSI AIR KAYU MANIS  
(*Cinnamomun zeylanicum*) TERHADAP PENURUNAN KADAR  
MALONDIALDEHIDA (MDA) DAN GAMBARAN  
HISTOLOGI TULANG PADA TIKUS ARTRITIS AJUVAN**

oleh :  
**CHRISTINA DIAN CAHYAWATI**  
**0510923012**

**Telah dipertahankan di depan Majelis Penguji  
pada tanggal .....  
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Sains dalam bidang Kimia**

**Pembimbing I**

**Pembimbing II**

**Prof. Dr. drh. Aulanni'am, DES**  
**NIP. 131 759 594**

**Dr. Ir. Chanif Mahdi, MS**  
**NIP. 130 809 059**

**Mengetahui,  
Ketua Jurusan Kimia  
Fakultas MIPA Universitas Brawijaya**

**Dr. Sasangka Prasetyawan, MS**  
**NIP. 131 621 793**

## LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Christina Dian Cahyawati

NIM : 0510923012

Jurusan : Kimia

Penulis Tugas Akhir berjudul :

**PENGARUH PEMBERIAN FRAKSI AIR KAYU MANIS  
(*Cinnamomun zeylanicum*) TERHADAP PENURUNAN KADAR  
MALONDIALDEHIDA (MDA) DAN GAMBARAN  
HISTOLOGI TULANG PADA TIKUS ARTRITIS AJUVAN**

Dengan ini menyatakan bahwa :

1. Isi dari Tugas Akhir yang saya buat adalah benar-benar karya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang termaktub di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam Tugas Akhir ini.
2. Apabila dikemudian hari ternyata Tugas Akhir 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,.....  
Yang menyatakan,

( Christina Dian Cahyawati )  
NIM. 0510923012

# PENGARUH PEMBERIAN FRAKSI AIR KAYU MANIS (*Cinnamomun zeylanicum*) TERHADAP PENURUNAN KADAR MALONDIALDEHIDA (MDA) DAN GAMBARAN HISTOLOGI TULANG PADA TIKUS ARTRITIS AJUVAN

## ABSTRAK

Arthritis ajuvan merupakan model penyakit autoimun yang dapat menyebabkan peradangan kronik pada sendi dan jaringan di sekitar sendi. Penyakit ini umumnya digunakan untuk model arthritis rematoid pada manusia, karena arthritis ajuvan memiliki kemiripan secara klinik dan histopatologi dengan arthritis rematoid. Gejala arthritis ajuvan ditandai dengan terjadinya pembengkakan pada kaki tikus, yang diakibatkan oleh peradangan membran sinovial. Pada penelitian ini dipelajari pengaruh pemberian fraksi air kayu manis (*Cinnamomum zeylanicum*) terhadap penurunan kadar malondialdehida (MDA) dan perbaikan gambaran histologi tulang tikus arthritis ajuvan menggunakan pewarnaan *Hematoxylen-Eosin* (HE). Hewan coba tikus (*Rattus norvegicus*) dibagi menjadi tiga kelompok, yaitu kontrol, arthritis ajuvan yang diterapi dengan fraksi air kayu manis 2 mL/ekor per hari selama 21 hari, dan arthritis ajuvan. Timbulnya arthritis ajuvan pada tikus (*Rattus norvegicus*) dilakukan dengan imunisasi *Complete Freund's Adjuvant* (CFA) yang mengandung *Mycobacterium tuberculosis*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar MDA pada tikus arthritis ajuvan yang mendapat terapi fraksi air kayu manis  $1,991 \pm 0,07$   $\mu\text{g/ml}$ , kadar MDA tikus arthritis ajuvan  $3,678 \pm 0,04$   $\mu\text{g/ml}$  ( $p < 0,01$ ), hampir mendekati tikus kontrol  $1,009 \pm 0,20$   $\mu\text{g/ml}$ . Terapi fraksi air kayu manis juga dapat memperbaiki gambaran histologi tulang tikus arthritis ajuvan.

*Kata kunci: Arthritis ajuvan, malondialdehida (MDA), kayu manis (Cinnamomun zeylanicum)*



**THE INFLUENCE OF *Cinnamomum zeylanicum* WATER  
FRACTION TOWARD THE LEVEL OF  
MALONDIALDEHYDE (MDA) AND THE HISTOLOGICAL  
FEATURE OF BONE IN RAT WITH ADJUVANT  
ARTHRITIS**

**ABSTRACT**

Adjuvant arthritis is a model of autoimmune disease that can induce chronic inflammation in joint and tissues around the joint. Adjuvant arthritis is generally used as a model of rheumatoid arthritis in human, because adjuvant arthritis possess a resemblance in histopatologic and clinical with rheumatoid arthritis. The symptom of adjuvant arthritis is marked with the swelling of hindpaw rats, that induced from inflammation of synovial membrane. The aim of this study is to observe the effect of *Cinnamomum zeylanicum* water faction in reducing the malondialdehyde (MDA) level and improving the bone histological of adjuvant arthritis rats with *Hematoxylen-Eosin* (HE). *Rattus norvegicus* as a model was divided into three group, control, adjuvant arthritis treatment with cinnamon water faction 2 mL/tail per day for 21 days, and adjuvant arthritis. Adjuvant arthritis at rats (*Rattus norvegicus*) was induced by *Complete Freund's Ajuvant* (CFA) immunization which contains *Mycobacterium tuberculosis*. The result showed, the MDA level in adjuvant arthritis rats was treated with cinnamon water faction  $1.991 \pm 0.07 \mu\text{g/ml}$ , the MDA level in adjuvant arthritis rats  $3.678 \pm 0.04 \mu\text{g/ml}$  ( $p < 0.01$ ), control treatment  $1.009 \pm 0.20 \mu\text{g/ml}$ . Treatment with cinnamon can improve the bone histological feature of adjuvant arthritis.

*Keyword : Adjuvant Arthritis, malondialdehyde (MDA), Cinnamomun zeylanicum*

## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, taufik dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan tugas akhir yang berjudul **“Pengaruh Pemberian fraksi Air Kayu Manis (*Cinnamomun zeylanicum*) Terhadap Penurunan Kadar Malondialdehida (MDA) Dan Gambaran Histologi Tulang Pada Tikus Arthritis Ajuvan”** sebagai salah satu persyaratan dalam memperoleh gelar Sarjana Sains di Bidang Kimia Fakultas MIPA Universitas Brawijaya.

Penulisan tugas akhir ini tidak lepas dari dukungan dan bantuan berbagai pihak. Oleh sebab itu, penulis memberikan penghargaan dan terima kasih yang sebesar – besarnya kepada:

1. Prof. Dr. drh. Aulanni'am, DES dan Dr. Ir. Chanif Mahdi, MS selaku dosen pembimbing I dan II yang telah banyak meluangkan waktu, tenaga dan pikiran serta memberikan kritik dan masukan dalam penyelesaian tugas akhir ini.
2. Drs. H. M. Misbah Khunur, MSi sebagai dosen penasehat akademik yang telah memberikan semangat serta saran kepada penulis selama masa studi.
3. Drs. Suratmo, MSc., Drs. Danar Purwonugroho, MSi., Dr. Diah Mardiana, MS, Ulfa Andayani, S.Si. MSi., selaku dosen penguji atas segala kritik dan saran yang diberikan untuk perbaikan naskah tugas akhir.
4. Dr. Sasangka Prasetyawan, MS selaku Ketua Jurusan Kimia beserta seluruh jajaran staf dan karyawan untuk semua motivasi dan bantuannya selama penulis menjalani studi.
5. Kedua orangtua serta keluarga yang telah memberikan doa, perhatian serta kasih sayang.
6. Semua teman dan pihak yang telah membantu penyusunan tugas akhir ini.

Penulis menyadari bahwa tulisan ini masih jauh dari sempurna, sehingga penulis mengharap kritik dan saran yang bersifat membangun guna perbaikan dan penyempurnaannya. Semoga tulisan ini memberi manfaat bagi semua pihak.

Malang, Agustus 2009

Penulis

## DAFTAR ISI

Teks	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	i
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	ii
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	iii
<b>ABSTRAK</b> .....	iv
<b>ABSTRACT</b> .....	v
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	vi
<b>DAFTAR ISI</b> .....	vii
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	ix
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	x
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xi
<b>DAFTAR ISTILAH</b> .....	xii
<b>BAB I PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Perumusan Masalah.....	2
1.3 Batasan Masalah.....	2
1.4 Tujuan Penelitian.....	3
1.5 Manfaat Penelitian.....	3
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Arthritis Rematoid.....	4
2.2 Arthritis Ajuvan Sebagai Model Arthritis Rematoid.....	4
2.3 Kerusakan Jaringan Sendi Arthritis Rematoid .....	5
2.4 Stres Oksidatif.....	5
2.5 Senyawa Oksigen Reaktif .....	6
2.6 Antioksidan (AO).....	7
2.7 Malondialdehida (MDA).....	9
2.8 Kayu Manis ( <i>cinnamon</i> ).....	9
2.9 <i>Hematoxylen-Eosin</i> (HE) .....	10



### **BAB III METODOLOGI PENELITIAN**

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian .....	12
3.2 Bahan dan Alat Penelitian .....	12
3.2.1 Bahan Penelitian.....	12
3.2.2 Alat Penelitian.....	12
3.3 Metode Penelitian.....	13
3.4 Prosedur Penelitian.....	13
3.4.1 Injeksi CFA Pada Tikus Wistar.....	13
3.4.2 Terapi Artritis Ajuvan dengan Fraksi Air Kayu manis .....	14
3.4.3 Pengukuran Kadar Malondialdehida (MDA) Pada Sendi Artritis Ajuvan .....	14
3.4.4 Pewarnaan preparat dengan metode <i>Hematoxylin dan Eosin</i> (HE).....	14
3.4 Analisis Data .....	15

### **BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN**

4.1 Injeksi CFA Pada Tikus ( <i>Rattus Norvegicus</i> ) Strain Wistar.....	16
4.2 Peran Fraksi Air Kayu Manis Terhadap Malondialdehida (MDA).....	18
4.3 Peran Fraksi Air Kayu Manis Terhadap Gambaran Histologi Jaringan Sendi Tikus Artritis Ajuvan.....	22

### **BAB V KESIMPULAN DAN SARAN**

5.1 Kesimpulan.....	26
5.2 Saran.....	26

<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	27
-----------------------------	----

<b>LAMPIRAN</b> .....	31
-----------------------	----

## DAFTAR GAMBAR

	Teks	Halaman
Gambar 2.1	Gambar Kayu Manis .....	10
Gambar 4.1	Proses Injeksi CFA Pada Kaki Tikus .....	16
Gambar 4.2	Kaki Tikus Normal.....	17
Gambar 4.3	Kaki Tikus Arthritis Ajuvan.....	17
Gambar 4.4	Reaksi Antara Cinnamaldehida Dengan Radikal Bebas.....	19
Gambar 4.5	Mekanisme Radikal Bebas Pada Peroksidasi Lipid .....	20
Gambar 4.6	Mekanisme Reaksi Fragmentasi Kerangka Dasar Protein oleh Radikal Hidroksil ( $\cdot\text{OH}$ ). ..	21
Gambar 4.7	Mekanisme Reaksi Pewarnaan <i>Hematoxylin</i> pada Sitoplasma.....	22
Gambar 4.8	Mekanisme Reaksi Pewarnaan <i>Eosin</i> pada Inti Sel .....	23
Gambar 4.9	Gambaran Histologi Jaringan Sendi Tikus (Kontrol) Perbesaran 100x.....	23
Gambar 4.10	Gambaran Histologi Jaringan Sendi Tikus Arthritis Ajuvan (terapi) Perbesaran 100x .....	24
Gambar 4.11	Gambaran Histologi Jaringan Sendi Tikus Arthritis Ajuvan (sakit) Perbesaran 100x .....	24
Gambar L.6	Sertifikat Laik Etik dari Komisi Etik Penelitian Universitas Brawijaya.....	51

## DAFTAR TABEL

	Teks	Halaman
Tabel 2.1	Kandungan kayu manis .....	10
Tabel 4.1	Total, Rata-Rata, Rataan, dan Penurunan kadar MDA jaringan periartikuler ( $\mu\text{g/ml}$ ) .....	18
Tabel L.4.1	Hasil pengukuran panjang gelombang $\lambda$ larutan standar MDA untuk menentukan $\lambda$ maksimum.....	41
Tabel L.4.2	Hasil pengukuran absorbansi larutan standar MDA pada panjang gelombang 533 nm.....	42
Tabel L.4.3	Absorbansi dan konsentrasi MDA tikus kontrol .....	43
Tabel L.4.4	Absorbansi dan konsentrasi MDA pada tikus artritis ajuvan (sakit).....	43
Tabel L.4.5	Absorbansi dan konsentrasi MDA pada tikus artritis ajuvan (terapi) .....	44
Tabel L.5.1	Konsentrasi MDA .....	45
Tabel L.5.2	Analisis Ragam Satu Arah Kadar Malondialdehida.....	48
Tabel L.5.3.	Hasil Uji BNT 1% Kadar Malondialdehida .....	50

## DAFTAR LAMPIRAN

	Teks	Halaman
Lampiran 1	Skema Kerja Penelitian .....	31
Lampiran 2	Pembuatan Larutan Analisis .....	32
Lampiran 3	Diagram Alir Penelitian.....	35
Lampiran 4	Data Hasil Penelitian .....	41
Lampiran 5	Pengolahan Data Hasil Penelitian.....	45
Lampiran 6	Sertifikat Laik Etik dari Komisi Etik Penelitian Universitas Brawijaya Malang .....	51



## DAFTAR ISTILAH

### Singkatan/Istilah

MDA

CFA

HE

ROS

PBS

HLA-DW4

TNF- $\alpha$

TBA

PBS

TCA

PFA

pH

RB

AO

mM

nm

$\mu$ L

$\mu$ g

rpm

### Keterangan

Malondialdehida

*Complete Freund's Adjuvant*

*Hematoxylen-Eosin*

*Reactive Oxygen Species*

*Phosphat Buffer Saline*

*Human Leukocyte Antigens*

*Tumor Necrosis Factor  $\alpha$*

*2-thiobarbituric acid*

*Phosphate Buffer Saline*

*Trichloro acetic acid*

Paraformaldehida

power of Hidrogen

Radikal Bebas

Antioksidan

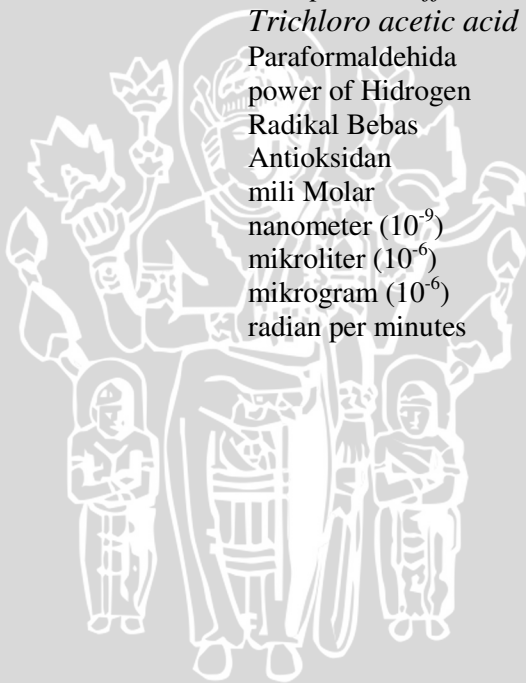
mili Molar

nanometer ( $10^{-9}$ )

mikroliter ( $10^{-6}$ )

mikrogram ( $10^{-6}$ )

radian per minutes





# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Artritis reumatoid adalah suatu penyakit otoimun sistemik yang mengenai jaringan sinovium sendi. Dengan berjalannya waktu, penyakit ini dapat menyebabkan kerusakan total sendi sehingga sendi tersebut akan mengalami peradangan. Proses peradangan ini merupakan salah satu bentuk kerusakan jaringan pada artritis reumatoid yang melibatkan interaksi antar sel, yaitu antara limfosit, makrofag dan sinoviosit (Anonim<sup>1</sup>, 2007).

Artritis ajuvan adalah model peradangan kronis pada hewan coba yang ditandai dengan pembengkakan dan kelainan bentuk pada bagian sendi. Pembengkakan merupakan bentuk dari terjadinya peradangan yang diakibatkan adanya sel radang. Sel radang tersebut terjadi di membran sinovial dan diartroidial. Akibatnya, tulang sendi yang mengalami peradangan dapat berakibat pada terjadinya destruksi tulang dan tulang rawan dengan akibat deformitas sendi (Sakuma *et al.*, 2001).

Hewan model yang sering digunakan adalah tikus yang diinjeksi dengan *Complete Freund's Adjuvant* (CFA). Bagian sendi tikus tersebut akan mengalami peroksidasi lipid sehingga akan menyebabkan terjadinya peningkatan radikal bebas (Ling and Fakhreddin, 2005).

Menurut (Abdullah *et al.*, 2004) adanya kerusakan oksidatif akibat tingginya senyawa radikal bebas dapat diketahui dengan adanya peningkatan malondialdehida (MDA). MDA akan menghasilkan oksidasi pada membran asam lemak sehingga dapat menyebabkan terjadinya radikal bebas. Dengan demikian, dibutuhkan antioksidan untuk menekan terbentuknya radikal bebas tersebut.

Kayu manis (*Cinnamomun zeylanicum*) merupakan bahan yang digunakan sebagai rempah-rempah. Fraksi air dari kayu manis mengandung cinnamaldehida dan cinnamalasetat yang mempunyai aktivitas antioksidan tinggi. Dengan adanya antioksidan yang terkandung di dalam kayu manis tersebut, maka aktivitas spesies radikal bebas dapat diminimalisir. Selain itu antioksidan tersebut

juga mampu menghambat terjadinya propagasi radikal bebas dan menetralkan radikal bebas yang terbentuk (Anonymous<sup>1</sup>, 2008).

Berdasarkan informasi di atas, perlu dilakukan penelitian sebagai bentuk upaya penanganan dini terhadap penderita artritis rematoid dengan pemberian fraksi air kayu manis pada artitis ajuvan (model dari artritis rematoid) yang diharapkan dapat menurunkan kadar malondialdehid (MDA).

## **1.2 Perumusan Masalah**

Perumusan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Berapa angka penurunan kadar MDA pada tikus artritis ajuvan yang mendapat terapi fraksi air kayu manis?
2. Apakah ada perubahan jaringan sendi periartikuler tulang artritis ajuvan yang mendapat terapi fraksi air kayu manis?

## **1.3 Batasan Masalah**

Dari perumusan masalah maka batasan penelitian ini adalah:

1. Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah Tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar yang diinjeksi CFA. Penggunaan hewan coba ini telah mendapatkan sertifikat laik etik dari Komisi Etik Penelitian Universitas Brawijaya No. 33/KE/09
2. Dosis dari fraksi air kayu manis yang diberikan pada setiap tikus adalah 2 mL/ekor per hari selama 21 hari berturut-turut
3. Gambaran histologis jaringan sendi periartikuler menggunakan pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE)

#### **1. 4 Tujuan Penelitian**

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kadar MDA sebagai pengaruh terapi menggunakan fraksi air kayu manis dan gambaran histologi tulang artritis ajuvan

#### **1. 5 Manfaat Penelitian**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat dipakai sebagai sumber informasi bahwa fraksi air kayu manis mengandung antioksidan yang dapat digunakan untuk memperbaiki kondisi artritis.



## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Arthritis Rematoid**

Arthritis rematoid adalah suatu penyakit autoimun dimana persendian (biasanya sendi tangan dan kaki) secara simetris mengalami peradangan, sehingga terjadi pembengkakan, nyeri dan seringkali akhirnya menyebabkan kerusakan bagian dalam sendi. Penyakit ini disebabkan karena adanya inflamasi dari membran sinovial dari sendi diartroidial (Anonim<sup>2</sup>, 2008).

Faktor infeksi akibat arthritis rematoid timbul secara mendadak yang disertai dengan gambaran inflamasi yang mencolok. Kemungkinan terdapat suatu komponen peptidoglikan atau endotoksin mikroorganisme yang dapat mencetuskan terjadinya arthritis rematoid. Agen infeksius yang diduga merupakan penyebab arthritis rematoid antara lain adalah bakteri, mikoplasma atau virus (Anonymous<sup>2</sup>, 2008).

Arthritis rematoid bisa muncul secara tiba-tiba, dimana pada saat yang sama banyak sendi yang mengalami peradangan. Biasanya peradangan bersifat simetris, jika suatu sendi pada sisi kiri tubuh terkena, maka sendi yang sama di sisi kanan tubuh juga akan meradang. Penyebab yang pasti tidak diketahui, tetapi berbagai faktor (termasuk kecenderungan genetik) bisa mempengaruhi reaksi autoimun (Anonim<sup>2</sup>, 2008).

#### **2.2 Arthritis Ajuvan Sebagai Model Arthritis Rematoid**

Arthritis ajuvan adalah model peradangan kronis yang ditandai dengan pembengkakan dan kelainan bentuk pada bagian yang sakit. Pada arthritis ajuvan ini digunakan tikus sebagai hewan coba standard untuk arthritis rematoid pada manusia. Peradangan pada arthritis ajuvan dipengaruhi oleh peningkatan protein dan melemahnya metabolisme enzim (Ling and Fakhreddin, 2005).

Arthritis ajuvan terjadi pada imunisasi menggunakan *Complete Freund's adjuvant* (CFA) yang mengandung *Mycobacterium tuberculosis* yang telah dimatikan dengan pemanasan dan disuspensikan dalam minyak mineral. Pada arthritis ajuvan terjadi peradangan sendi yang mirip dengan peradangan pada arthritis rematoid, yaitu terjadi reaksi proliferasi dan reaksi radang pada membran sinovial, pembentukan panus, dan bahkan terjadi destruksi tulang rawan dan erosi tulang (Banik *et al.*, 2002).

Banik dan kawan-kawan (2002) menunjukkan bahwa bila tikus wistar jantan berumur 4-8 minggu diinjeksi intradermal pada sepertiga distal ekor dengan menggunakan 1 mg CFA, 64% tikus akan menunjukkan gejala arthritis ajuvan setelah 11-28 hari.

### **2.3 Kerusakan Jaringan Sendi Arthritis Rematoid**

Peradangan dan kerusakan jaringan sendi pada arthritis rematoid memang erat hubungannya dengan *Reactive Oxygen Species* (ROS). Namun, stres oksidatif yang berperan pada peradangan kronik dan dapat mengakibatkan destruksi tulang dan tulang rawan, masih belum diketahui dengan jelas. *Tumor Necrosis Factor  $\alpha$*  (TNF- $\alpha$ ) memiliki peran kunci dalam ekspresi banyak gen sentral dari respon peradangan. TNF- $\alpha$  yang menyebabkan stres oksidatif, diduga memiliki peranan penting dalam menjelaskan patologi pada arthritis rematoid. Banyaknya kerusakan tulang rawan pada arthritis rematoid melibatkan peningkatan dan pelepasan enzim proteolitik, seperti kolagenase, gelatinase dan stromelysin dari kondosit ke dalam matriks tulang rawan (Halliwell and Gutteridge, 1999).

Destruksi jaringan sendi terjadi melalui dua cara. Pertama adalah destruksi pencernaan oleh produksi protease dan kolagenase. Proses pada enzim ini diduga adalah bagian dari respon autoimun terhadap antigen yang diproduksi secara lokal. Destruksi jaringan juga terjadi melalui kerja panus reumatoid. Panus merupakan jaringan granulasi atau vaskuler



yang terbentuk dari sinovium yang meradang dan kemudian meluas ke sendi (Anonymous<sup>2</sup>, 2008).

## 2.4 Stres Oksidatif

Stres oksidatif adalah kondisi yang terjadi ketika tubuh menghasilkan radikal bebas (RB) dengan melebihi kemampuannya untuk menetralkan. Stres oksidatif diakibatkan oleh ketiadaan antioksidan (AO) dan banyaknya RB yang bersifat merusak (Sies and Murphy, 1991).

Dalam keadaan normal sistem proteksi tubuh yang baik dapat meredam oksidan-oksidan dengan memproduksi AO yang memadai. Apabila keseimbangan antara oksidan dan AO terganggu, maka disebut stress oksidatif, sehingga sejumlah enzim dan mikronutrien termasuk AO. Enzim-enzim yang bersifat AO tersebut dibentuk di dalam tubuh dan kadarnya diatur secara internal. AO nutrien disediakan oleh diet antara lain vitamin A, C, E, dan b - karoten (Sies and Murphy, 1991).

Stress oksidatif juga dapat diartikan sebagai jumlah oksidan dan prooksidan dalam tubuh, Pada kondisi ini, aktivitas molekul RB atau *Reactive Oxygen Species* (ROS) dapat menimbulkan kerusakan seluler dan genetika. Kekurangan zat gizi dan adanya senyawa xenobiotik dari makanan atau lingkungan yang terpolusi akan memperparah keadaan tersebut (Trilaksani, 2003).

## 2.5 Senyawa Oksigen Reaktif

Radikal bebas merupakan sekelompok zat kimia yang sangat reaktif dan mempunyai dua sifat, yaitu: reaktif, cenderung untuk menarik elektron, dan dapat mengubah molekul menjadi suatu radikal (Wuryastuti, 2000).

Saat ini ditemukan bahwa ternyata RB berperan dalam terjadinya berbagai penyakit. Hal ini dikarenakan RB memiliki pasangan elektron bebas di kulit terluar sehingga sangat reaktif. Tipe RB turunan oksigen reaktif sangat signifikan dalam tubuh. Oksigen reaktif ini mencakup superoksida ( $O_2^-$ ), hidroksil ( $\cdot OH$ ), peroksil ( $ROO\cdot$ ), hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ), singlet

oksigen ( $O_2$ ), oksida nitrit ( $NO^{\cdot}$ ), peroksinitrit ( $ONOO^{\cdot}$ ) dan asam hipoklorit ( $HOCl$ ) (Tengku, 2007).

RB dapat terbentuk secara in-vivo dan in-vitro yaitu (Arief, 2003):

1. Pemecahan satu molekul normal secara homolitik menjadi dua. Proses ini jarang terjadi pada sistem biologi karena memerlukan tenaga yang tinggi dari sinar ultraviolet, panas, dan radiasi ion.
2. Kehilangan satu elektron dari molekul normal
3. Penambahan elektron pada molekul normal

Pada RB elektron yang tidak berpasangan tidak mempengaruhi muatan elektrik dari molekulnya, dapat bermuatan positif, negatif, atau netral.

Keberadaan RB atau oksidan dalam tubuh dapat dikendalikan oleh tubuh sendiri dengan membentuk AO (AO endogen). Namun AO endogen tidak selalu mampu menekan RB yang timbul, sehingga diperlukan AO dari luar (AO eksogen). AO ini bisa didapatkan dari bahan hayati (Darmanto, 2005).

Menurut Simonini *et al.* (2001) Pada penderita artritis rematoid, adanya senyawa RB ini dapat memicu pembentukan antibodi, dengan cara memodifikasi agregat protein yang mengaktifkan sel fagositosis dan menyebabkan peradangan.

## **2.6 Antioksidan (AO)**

Antioksidan didefinisikan sebagai senyawa yang dapat menunda, memperlambat dan mencegah proses oksidasi. Dalam arti khusus, AO adalah zat yang dapat menunda atau mencegah terjadinya reaksi antioksidasi RB dalam oksidasi lipid. AO dinyatakan sebagai senyawa yang dapat memperlambat oksidasi walaupun dengan konsentrasi yang lebih rendah dibandingkan dengan substrat yang dapat dioksidasi (Kochar dan Rossell, 1990).

AO dapat menetralkan RB, atau suatu bahan yang berfungsi mencegah sistem biologi tubuh dari efek yang merugikan yang timbul dari proses ataupun reaksi yang menyebabkan oksidasi yang berlebihan. Sebagai bahan

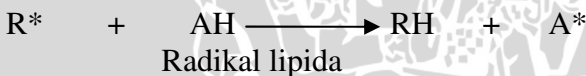
penetral dari RB, maka AO yang dikenal ada yang berupa enzim dan ada yang berupa mikronutrien (Packer, 1995).

Enzim AO dibentuk dalam tubuh, yaitu superoksida dismutase (SOD), glutation peroksidase, katalase, dan glutation reduktase. Sedangkan AO yang berupa mikronutrien dikenal tiga yang utama, yaitu: vitamin A, C, E, dan b - karoten (Sies and Murphy, 1991).

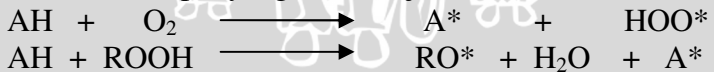
Mekanisme kerja AO memiliki dua fungsi. Fungsi pertama merupakan fungsi utama dari AO dan sering disebut sebagai AO primer. Senyawa ini dapat memberikan atom hidrogen ke radikal lipida sehingga akan mengubahnya ke bentuk lebih stabil. Fungsi kedua merupakan fungsi sekunder AO, yaitu memperlambat laju autooksidasi dengan berbagai mekanisme diluar mekanisme pemutusan rantai autooksidasi dengan pengubahan radikal lipida ke bentuk lebih stabil (Gordon,1990).

Menurut Hamilton (1983), radikal-radikal AO dapat saling bereaksi membentuk produk non radikal :

Inisiasi :



Pada konsentrasi tinggi, aktivitas AO grup fenolik sering lenyap bahkan AO tersebut menjadi prooksidan. Pengaruh jumlah konsentrasi pada laju oksidasi tergantung pada struktur AO, kondisi dan sampel yang akan diuji.



Sumber-sumber AO dapat dikelompokkan menjadi dua kelompok, yaitu AO sintetis (AO yang diperoleh dari hasil sintesa reaksi kimia) dan AO alami (AO hasil ekstraksi bahan alami). AO alami di dalam makanan dapat berasal dari (a) senyawa AO yang sudah ada dari satu atau dua komponen

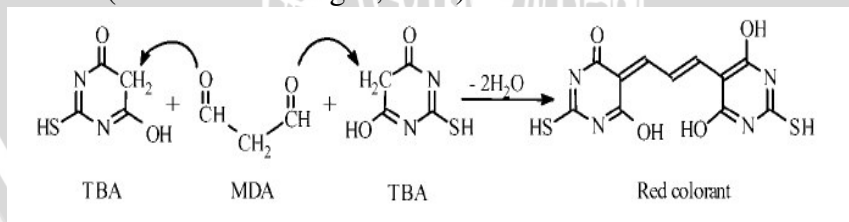
makanan, (b) senyawa AO yang terbentuk dari reaksi-reaksi selama proses pengolahan, (c) senyawa AO yang diisolasi dari sumber alami dan ditambahkan ke makanan sebagai bahan tambahan pangan (Pratt, 1992).

## 2.7 Malondialdehida (MDA)

Pengukuran malondialdehida digunakan sebagai suatu indikator pada peroksidasi lipid. Hasil dari peroksidasi lipid tersebut dapat dihubungkan dengan berbagai macam penyakit yang ada di dalam tubuh manusia dan hewan. Peroksidasi lipid adalah suatu sel yang digunakan sebagai indikator pada stres oksidatif dan jaringannya. Peroksidasi lipid diperoleh dari banyaknya ketidakstabilan asam lemak yang dapat terurai menjadi suatu rangkaian campuran kompleksnya, meliputi ikatan karbonil yang reaktif dan kebanyakan terdapat pada malondialdehid (Abdullah *et al.*, 2004).

Malondialdehida (MDA) adalah suatu produk endogenous pada peroksidasi lipid yang bersifat karsinogenik pada tikus dan mutagenik pada bakteri dan sel mamalia (Plastaras *et al.*, 2001).

MDA merupakan produk sekunder dari lipid peroksidasi yang akan bereaksi dengan 2-thiobarbituric acid (TBA) pada suasana asam sehingga akan menghasilkan warna merah. Reaksi antara MDA dengan TBA adalah sebagai berikut (Cretu and Gheorghe, 2006) :



## 2.8 Kayu Manis (*cinnamon*)

Kayu manis merupakan bahan yang digunakan sebagai rempah-rempah. Kayu manis dapat melawan terhadap



kerusakan RB pada selaput sel. Sehingga dalam kedokteran biasanya digunakan untuk mengobati penyakit diabetes tipe 2 dan diare. Kayu manis mengandung aktivitas AO yang tinggi karena adanya cinnamaldehida dan cinnamyl alkohol (Anonymous<sup>1</sup>, 2008).



**Gambar 2.1** Gambar kayu manis (Anonymous<sup>2</sup>, 2008)

Minyak essensial dari kayu manis dapat digunakan sebagai inhibitor pada radikal hidroksida dan bermanfaat sebagai antioksidan, antialergi, antiulkergenik, dan antipiretik. Kandungan dari kayu manis ditunjukkan pada tabel 2.1 (Kurokawa, *et all.*, 1998).

**Tabel 2.1** Kandungan kayu manis

Senyawa	Kandungan (%)
Cinnamaldehida	79,3
Eugenol	11,9

## 2.9 Hematoxylen-Eosin (HE)

Metode pewarnaan HE merupakan metode rangkap yang memakai dua macam zat warna, yaitu zat warna Hematoxylen dan zat warna Eosin (Gambar 2.2). Hematoxylen merupakan suatu zat warna yang bersifat basa, berupa garam



dari basa-basa pembawa warna dengan radikal asam yang tidak berwarna. Sedangkan Eosin merupakan suatu zat warna yang bersifat asam yang dapat menimbulkan warna merah pada sitoplasma sel yang bersifat asam.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



## **BAB III**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **3.1 Waktu Dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan mulai bulan Mei hingga Juli 2008 di Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia, Laboratorium Biologi Molekuler dan Seluler Jurusan Biologi FMIPA, Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran, Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya Malang.

#### **3.2 Bahan dan Alat Penelitian**

##### **3.2.1 Bahan Penelitian**

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah fraksi air kayu manis, *Complete Freund's Adjuvant* (CFA), *Phosphate Buffer Saline* (PBS) pH 7,4, NaCl fisiologis 0,9%, *Paraformaldehyde* (PFA) 4%, HCL 1N, *Trichloro acetic acid* (TCA), Na-Thio 1%, aquades steril.

##### **3.2.2 Alat Penelitian**

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bak pemeliharaan hewan coba, seperangkat alat bedah, seperangkat alat gelas (labu takar (10 mL, 100 mL, 500 mL, 1000 mL), pipet tetes, mikro pipet, tabung mikro (Eppendorf), gelas ukur 100 mL, beaker glass (50 mL, 250 mL, 500 mL, 1000 mL), pengaduk kaca, gelas arloji, corong gelas, mortar, stirer, botol semprot, tabung polipropilene, waterbath, lemari pendingin, hot plate digital pH meter (Inolab-WTW), neraca analitik (Sartorius basic P-160 kepekaan 0,0001 g sampai 160 g), tabung sentrifugasi, alat sentrifugasi (Denley tipe BR 401), inkubator (memmert), vortex (Guo-Huq), spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu), dan mikroskop cahaya (Nicon).

### **3.3 Metode Penelitian**

Metode penelitian yang digunakan berupa metode percobaan atau penelitian laboratorium yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian fraksi air kayu manis terhadap penurunan kadar MDA dan jumlah sel radang pada tikus arthritis ajuvan, dengan tahapan sebagai berikut :

1. Preparasi hewan coba tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar
2. Injeksi CFA pada tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar
3. Terapi arthritis ajuvan dengan fraksi air kayu manis
4. Pengukuran kadar malondialdehida (MDA) pada sendi arthritis ajuvan
5. Pewarnaan preparat dengan metode *Hematoxylin dan Eosin* (HE)

### **3.4 Prosedur Penelitian**

#### **3.4.1 Preparasi hewan coba tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar**

Preparasi hewan coba dilakukan selama tujuh hari di laboratorium Biologi Sel dan Molekuler Jurusan Biologi FMIPA Universitas Brawijaya Malang. Tikus dibagi menjadi tiga kelompok yaitu: (1) Kelompok kontrol yaitu yang tidak mendapat perlakuan apapun, (2) Kelompok tikus arthritis ajuvan yang diterapi menggunakan fraksi air kayu manis, (3) Kelompok tikus arthritis ajuvan.

#### **3.4.2 Injeksi CFA pada tikus wistar**

Tikus wistar kelompok 1 dan 2 disuntik dengan 0,1 ml CFA dari stok secara intradermal pada ekor. Setelah 14 hari, disuntik lagi dengan CFA 0,1 ml secara intradermal pada kedua kaki belakang (setiap kaki mendapat dosis 0,05 ml). Pada waktu 7 hari akan muncul gejala arthritis ajuvan yaitu

ditandai dengan adanya pembengkakan pada ekor dan kedua kaki belakang tikus.

### **3.4.3 Terapi artritis ajuvan dengan fraksi air kayu manis**

Tikus wistar kelompok 2 diberi fraksi air kayu manis secara per oral setiap hari selama 21 hari dengan dosis 2 mL/ekor per hari. Setelah 21 hari tikus tersebut dimatikan dan diukur kadar malondialdehida jaringan periartikuler pada sendi artritis ajuvan.

Menurut Prabowo (2003), terapi menggunakan fraksi air teh hijau (*Camellia sinensis*) selama 21 hari mampu menurunkan kadar MDA serta memperbaiki gambaran histologi tulang hewan model artritis ajuvan yang mendekati dengan tikus normal.

### **3.4.4 Pengukuran kadar malondialdehida (MDA) pada sendi artritis ajuvan**

Ditimbang 100 mg jaringan kaki tikus dan digerus dalam mortar hingga halus, kemudian ditambah 200  $\mu$ L NaCl fisiologis 0,9% dan dilakukan homogenasi. Selanjutnya homogenan dipipet 100  $\mu$ L dan dimasukkan dalam 10 buah tabung reaksi, kemudian ditambahkan 550  $\mu$ L aquades steril, 100  $\mu$ L TCA 100% dan diaduk menggunakan vortex, 250  $\mu$ L HCl 1N dan diaduk menggunakan vortex, dan 100  $\mu$ L NaOH-Thiobarbiturat 1% dan diaduk menggunakan vortex.

Larutan campuran tersebut dipanaskan dalam water bath pada suhu 100°C selama 20 menit kemudian diangkat dan dibiarkan dingin pada suhu ruang. Setelah dingin, diukur  $\lambda$  maksimumnya menggunakan Spektrofotometer UV-Vis pada range  $\lambda$  500 sampai 600 nm. Kemudian diukur absorbansi masing-masing larutan pada  $\lambda$  maksimumnya.

### **3.4.5 Pewarnaan preparat dengan metode *Hematoxylin dan Eosin* (HE)**

Metode HE merupakan metode pewarnaan yang digunakan untuk melihat kerusakan tulang pada artritis ajuvan. Langkah pertama yang harus dilakukan adalah preparat ditambah parafin dan dicuci menggunakan xilol selama 5 menit (diulang sebanyak tiga kali). Kemudian preparat tersebut dimasukkan dalam etanol absolut selama 5 menit dan diulang sebanyak 3 kali. Setelah itu dimasukkan ke dalam etanol bertingkat (95%, 90%, 80%, dan 70%) secara berurutan masing-masing selama 5 menit dan direndam dalam akuades selama 5 menit.

Pewarnaan yang pertama menggunakan hematoxylin selama 10 menit sampai diperoleh warna ungu yang merata pada inti sel. Setelah itu dilakukan pencucian dengan air mengalir dan direndam dengan akuades selama 5 menit. Pewarnaan kedua menggunakan eosin yang dilakukan selama 5 menit sampai diperoleh warna merah yang merata pada sitoplasma. Setelah itu direndam dengan akuades sampai tidak ada eosin yang berlebih. Preparat yang hampir jadi ini kemudian direndam dengan etanol bertingkat (70%, 80%, 90% dan 95%) masing-masing selama 10 menit dan selanjutnya direndam dengan etanol absolut selama 5 menit dan diulang sampai tiga kali. Setelah itu preparat dimasukkan dalam xilol selama 5 menit dan diulang sampai tiga kali. Dan langkah terakhir adalah preparat dikering-anginkan dan dimounting (direkatkan) menggunakan entellan (cairan perekat).

### **3.4 Analisis Data**

Data tentang kadar MDA yang diperoleh dianalisis dengan Analisis Ragam Pola Rancangan Acak Lengkap (RAL). Dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT).



## BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini dilakukan dalam tiga tahap, yaitu injeksi CFA pada tikus (*Rattus norvegicus*) Strain Wistar, peran fraksi air kayu manis terhadap Malondialdehida (MDA) dan peran fraksi air kayu manis terhadap gambaran histologi jaringan sendi tikus artritis ajuvan.

### 4.1 Injeksi CFA Pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Strain Wistar

Injeksi CFA secara intradermal pada ekor dan kaki bagian belakang tikus dapat menyebabkan peradangan. Peradangan ini ditandai dengan adanya pembengkakan sel jaringan. Hal ini disebabkan karena CFA merupakan emulsi antigen yang dapat merangsang sistem imun sehingga menyebabkan terjadinya proses autoimun.



**Gambar 4.1** Proses injeksi CFA pada kaki tikus

Proses autoimun ini diduga karena adanya respon dari sitokin yang merupakan mediator serta pengatur reaksi imun dan inflamasi terhadap rangsangan mikroba dan antigen lain. Sitokin yang berperan dalam aktivasi sel-sel imun seperti, sel T, sel B, monosit, neutrofil dan makrofag dapat memacu sel-sel

tersebut (terutama neutrofil dan makrofag) dalam menghasilkan radikal bebas (RB) sehingga akan menyebabkan peradangan pada artritis ajuvan yang ditandai dengan adanya pembengkakan (Gambar 4.1.3) (Kavanaugh dan Lipsky, 1999)



**Gambar 4.2** Kaki tikus normal



**Gambar 4.3** Kaki tikus artritis ajuvan

#### **4.2 Peran Fraksi Air Kayu Manis Terhadap Malondialdehida (MDA)**

Pemberian fraksi air kayu manis pada tikus artritis ajuvan dapat menurunkan kadar MDA jaringan periartikuler. Penurunan kadar MDA jaringan periartikuler pada tikus artritis ajuvan ditunjukkan pada Tabel 4.2.

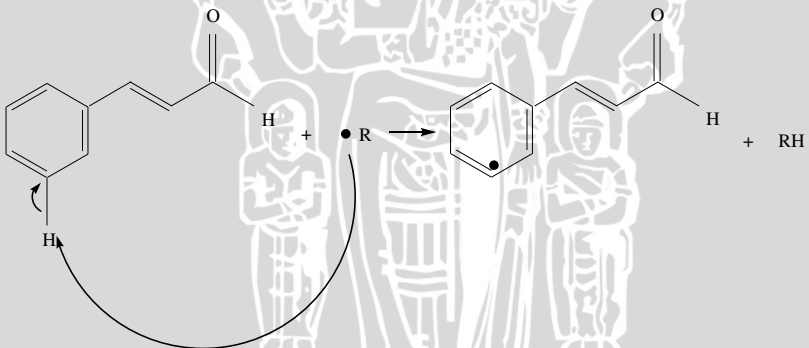
**Tabel 4.1** Total, Rataan, dan Penurunan kadar MDA jaringan periartikuler ( $\mu\text{g/ml}$ )

Tikus ke	Konsentrasi MDA jaringan periartikuler ( $\mu\text{g/ml}$ )		
	Kontrol	Artritis ajuvan	Artritis ajuvan + terapi fraksi air kayu manis
1	0,89	3,67	1,99
2	0,95	3,66	2,06
3	1,42	3,65	2,07
4	0,87	3,62	2,04
5	0,89	3,73	2,10
6	1,22	3,74	1,91
7	0,85	3,69	1,95
8	0,83	3,66	1,92
9	1,03	3,63	1,90
10	1,14	3,73	1,97
Total	10,09	36,78	19,91
Rataan	$1,009 \pm 0,20$	$3,678 \pm 0,04$	$1,991 \pm 0,07$
Penurunan kadar MDA jaringan periartikuler (%)			45,87%
Notasi	a	c	b

Tabel 4.2, terlihat bahwa adanya penurunan rata-rata kadar MDA jaringan periartikuler dari  $(3.678 \pm 0.04) \mu\text{g/ml}$  menjadi  $(1.991 \pm 0.07) \mu\text{g/ml}$  setelah diterapi menggunakan fraksi air kayu manis. Hal ini diduga akibat adanya aktivitas antioksidan yang terdapat di dalam kayu manis. Adapun persentase penurunan kadar MDA jaringan periartikuler adalah 45,87 % (perhitungan pada L.5).

Pada tikus wistar yang terinjeksi arthritis ajuvan ini diterapi menggunakan fraksi air kayu manis. Tujuan terapi ini adalah untuk mengurangi peradangan, mempertahankan fungsi sendi, serta mencegah dan memperbaiki deformitas yang terjadi pada sendi.

Fraksi air kayu manis mengandung cinnamaldehida dan cinnamil asetat. Senyawa tersebut mempunyai aktivitas antioksidan sehingga dapat menetralkan terjadinya *Reactive Oxygen Species* (ROS) atau radikal bebas dalam tubuh. Sifat reaktif dari radikal bebas sering kali menyebabkan kerusakan fungsi fisiologis pada tubuh makhluk hidup. Namun aktivitas radikal bebas yang menyebabkan kerusakan tersebut dapat dikurangi dengan adanya sistem proteksi, biasanya disebut sebagai antioksidan. Suatu antioksidan dapat digunakan untuk meminimalisir aktivitas spesies radikal jika antioksidan tersebut mampu menghambat terjadinya propagasi dan mendetoksifikasi radikal bebas yang terbentuk (Gambar 4.2.1).



**Gambar 4.4** Reaksi Antara Cinnamaldehida Dengan Radikal Bebas

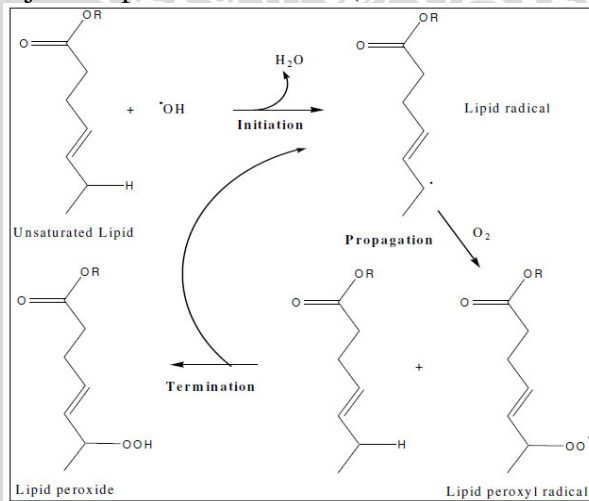
Tubuh menyediakan enzim antioksidan seperti Superoksida Dismutase (SOD), katalase, Glutation Peroksidase (GPx), senyawa antioksidan dan radikal scavenger seperti glutation, ubiquinol dan asam urat. Jika produksi radikal bebas tersebut melebihi normal, maka tubuh membutuhkan asupan

antioksidan dari makanan. Salah satu tambahan makanan tersebut adalah kayu manis.

Nilai rata-rata kadar MDA jaringan periartikuler yang tidak diterapi sangat besar. Hal ini disebabkan adanya peningkatan produksi radikal bebas oleh sel radang di dalam cairan sinovial. Akibatnya terjadi pertumbuhan jaringan sinovial yang berlebihan dan mengalami peradangan.

Menurut Halliwell and Gutteridge (1999), pertumbuhan jaringan secara berlebihan ini disebut dengan panus. Panus mengandung sel-sel sistem imun yang berperan pada peradangan, seperti neutrofil dan makrofag. Makrofag dikenal sebagai sel radang yang dapat menghasilkan radikal bebas seperti  $\bullet\text{O}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$  dan juga NOX.

Dalam hal ini, MDA ditentukan sebagai indikator untuk peroksidasi lipid. Mekanisme radikal bebas pada peroksidasi lipid ditunjukkan pada Gambar 4.5 (Bruch and Janet, 2002) :

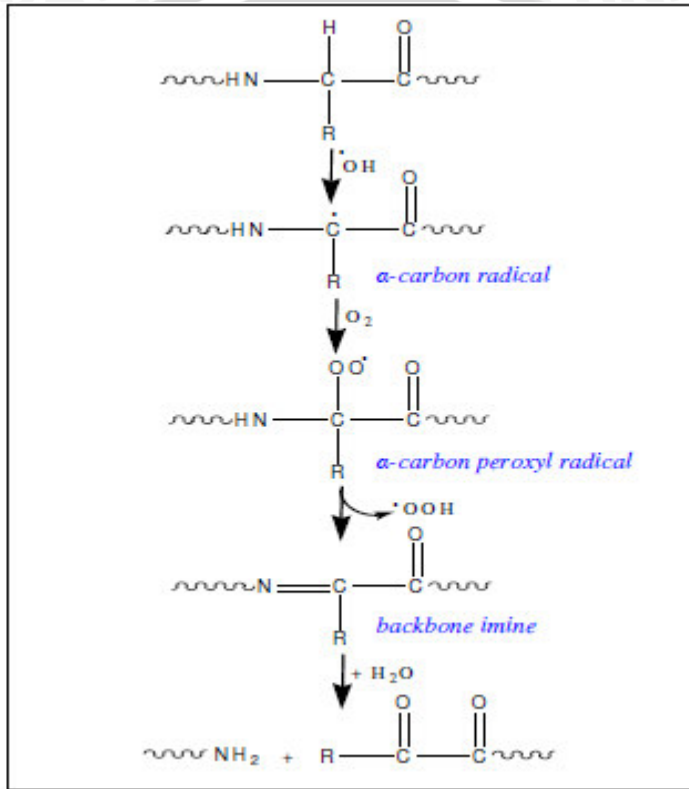


**Gambar 4.5** Mekanisme Radikal Bebas Pada Peroksidasi Lipid

Menurut Dean *et al.* (1997), ROS dapat merusak protein dengan melakukan oksidasi terhadap struktur protein tersebut. Proses oksidasi protein ini dapat mengakibatkan



terjadinya fragmentasi kerangka dasar protein, sehingga protein menjadi inaktif serta merusak sel dan jaringan.



**Gambar 4.6** Mekanisme Reaksi Fragmentasi Kerangka Dasar Protein oleh Radikal Hidroksil ( $\cdot\text{OH}$ ) (Dean *et al.*, 1997)

Salah satu jenis ROS yang menyebabkan proses oksidasi tersebut adalah gugus radikal hidroksil ( $\cdot\text{OH}$ ), dimana gugus  $\cdot\text{OH}$  dapat menyebabkan terjadinya fragmentasi kerangka dasar protein (Gambar 4.2.2).

Berdasarkan hasil analisis secara statistik pada Tabel L.5.2, diketahui bahwa  $F_{\text{hitung}}$  lebih besar dibanding  $F_{\text{tabel}}$  pada taraf 1% sehingga pemberian fraksi air kayu manis memberikan pengaruh terhadap penurunan kadar MDA

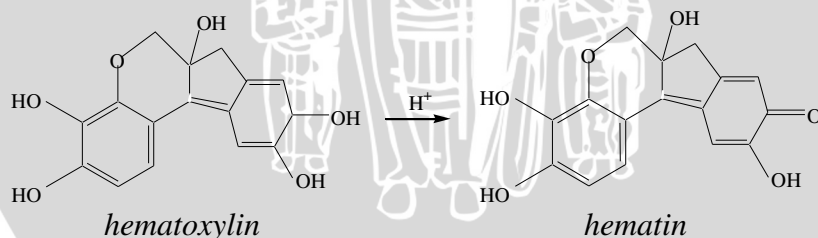
jaringan periartikuler. Sedangkan untuk mengetahui perlakuan mana yang mempunyai pengaruh berbeda terhadap penurunan kadar MDA jaringan periartikuler tersebut, maka dilakukan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) 1%.

Berdasarkan Tabel L.5.3, selisih rata-rata kadar Malondialdehida setiap perlakuan lebih besar dari nilai uji BNT 1% yaitu 0,11. Hal ini berarti perlakuan tersebut dikatakan berbeda nyata sehingga ditunjukkan dengan pemberian notasi yang berbeda.

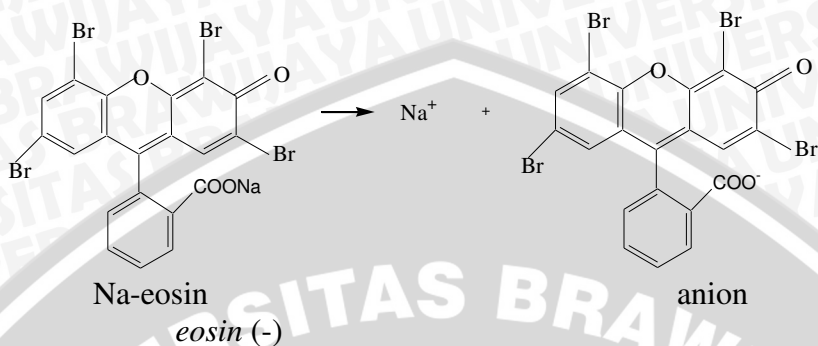
### 4.3 Peran Fraksi Air Kayu Manis Terhadap Gambaran Histologi Jaringan Sendi Tikus Arthritis Ajuvan

Peradangan kaki tikus arthritis ajuvan disebabkan karena adanya inflamasi dari membran sinovial dari sendi diartroidial. Peradangan tersebut dapat mengakibatkan terjadinya destruksi tulang rawan dan erosi tulang. Destruksi tulang dapat diketahui dengan melihat kerusakan yang terjadi pada jaringan sendi, menggunakan metode pewarnaan *Hematoxylin dan Eosin* (HE).

*Hematoxylin* akan mewarnai bagian inti sel yang bersifat basa dengan warna ungu. Sedangkan *eosin* akan mewarnai bagian sitoplasma sel dengan warna merah.

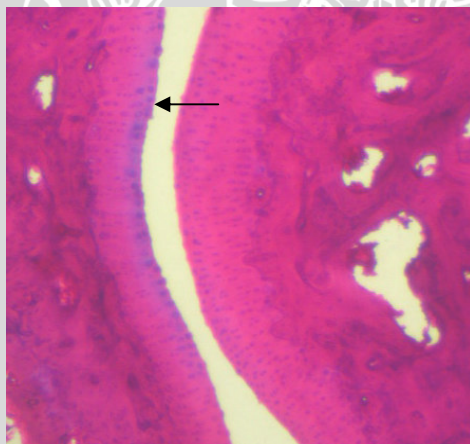


**Gambar 4.7** Mekanisme Reaksi Pewarnaan *Hematoxylin* pada Sitoplasma

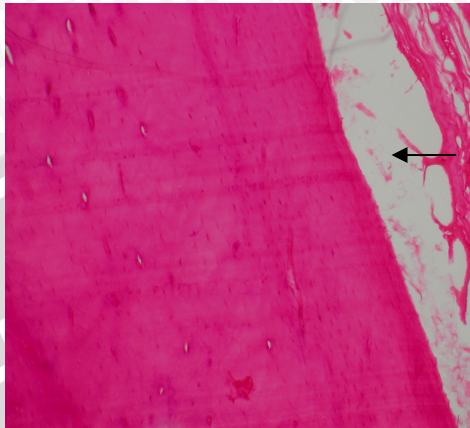


**Gambar 4.8** Mekanisme Reaksi Pewarnaan *Eosin* pada Inti Sel

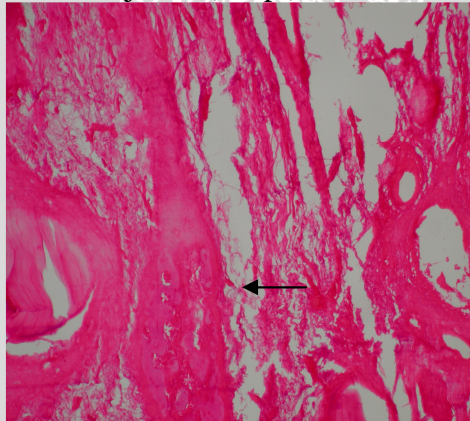
Hasil pewarnaan jaringan sendi menggunakan metode HE menunjukkan adanya perbedaan antara gambaran histologi jaringan sendi tikus kontrol, artritis ajuvan terapi dan artritis ajuvan sakit (Gambar 4.3).



**Gambar 4.9** Gambaran Histologi Jaringan Sendi Tikus (Kontrol) Perbesaran 100x



**Gambar 4.10** Gambaran Histologi Jaringan Sendi Tikus Arthritis Ajuvan (terapi) Perbesaran 100x



**Gambar 4.11** Gambaran Histologi Jaringan Sendi Tikus Arthritis Ajuvan (sakit) Perbesaran 100x

Berdasarkan Gambar 4.3, terlihat adanya perbedaan gambaran histologi yang ditunjukkan oleh tanda panah. Pada Gambar 4.3.3 terlihat kerusakan jaringan sendi yang disebabkan banyaknya sel radang di dalam cairan sinovial sehingga akan menyebabkan peningkatan produksi radikal bebas pada jaringan tersebut. Sedangkan Gambar 4.3.2 terlihat adanya perbaikan jaringan sendi setelah diterapi menggunakan fraksi air kayu manis, dimana kerapatan sel yang menyusun

jaringan mengalami penurunan dan keteraturannya hampir sama dengan gambaran histologi tulang tikus kontrol (Gambar 4.3.1), sehingga kerusakan jaringan tulang artritis ajuvan yang diterapi dengan fraksi air kayu manis telah mengalami perbaikan.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA





## BAB V PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, maka dapat disimpulkan bahwa fraksi air kayu manis dengan dosis 2 mL/ekor per hari selama 21 hari berturut-turut dapat menurunkan kadar MDA jaringan periartikuler artritis ajuvan dari  $(3,678 \pm 0,04) \mu\text{g/ml}$  menjadi  $(1,991 \pm 0,07) \mu\text{g/ml}$  sehingga dapat memperbaiki kerusakan jaringan tulang artritis ajuvan yang keteraturannya hampir sama dengan jaringan tulang tikus kontrol.

### 5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai senyawa bioaktif yang terkandung dalam kayu manis yang berfungsi sebagai antioksidan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, N.; Nur Zakiah M.; Hazlin Abu H.; Siti Balkis B.; Sazlina K.; 2004, **Protective Effect of the Ethanol Extract of Zingiber officinale Roscoe on Paracetamol Induced Hepatotoxicity in Rats**, Jurnal Sains Kesehatan, Malaysia
- Anonim<sup>1</sup>, 2007, **Arthritis Rematoid**, <http://www.beritaiptek.com/zberita-beritaiptek.html>, diakses tanggal: 16 November 2008
- Anonim<sup>2</sup>, 2008, **Definisi Arthritis Reumatoid**, [http://www.g-excess.com/id/kesehatan/definisi\\_arthritis\\_reumatoid.html](http://www.g-excess.com/id/kesehatan/definisi_arthritis_reumatoid.html), diakses tanggal: 16 November 2008
- Anonymous<sup>1</sup>, 2008, **Arthritis Rheumatoid**, <http://64.203.71.11/ver1/Kesehatan/0708/08/154831.htm>, diakses tanggal: 3 Desember 2008
- Anonymous<sup>2</sup>, 2008, **Cinnamon**, <http://www.answers.com/topic/cinnamon>, diakses tanggal: 16 November 2008
- Banik, R.K.; Kasai, M.; Mizumura, K., 2002, **Reexamination of The Difference in Susceptibility to Adjuvant-Induced Arthritis among LEW/Crj.Slc/Wistar/ST and Slc/SD rats**
- Bruch, C.G. and Janet D.P. 2002. **Oxidative Stress in Critically Ill Patients**. *American Journal of Critical Care*. 11(6):543-551

Cretu, Romică and Gheorghe Zgherea, 2006, **The Modification Of Some Physico-Chemical Parameters Of Margarine During Storage**, University “Dunărea de Jos” of Galați, Romania

Darmanto, Win, 2005, **Pemanfaatan Polysaccharide Krestine (PSK) Dalam Menurunkan Radikal Bebas Pada Darah Mencit Akibat Induksi 2-Methoxyethanol**, Staf Pengajar Jurusan Biologi Universitas Airlangga, Jakarta

Dean, R. T., Shanlin, R. Stocker, M. J. Davies. 1997. **Biochemistry and Pathology of Radical-Mediated Protein Oxidation**. *Biochem Journal*. 324:1-18

Gordon, M.H, 1990, **The Mechanism of Antioxidants Action in vitro**, Di dalam: B.J.F. Hudson, editor Food Antioxidants Elsevier Applied Science, London

Hamilton, R.J.; 1983, **The Chemistry Of Rancidity In Foods**, Di dalam: J.C. Allen dan R.J. Hamilton, editor Rancidity in Foods, Applied science Publishers, London

Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C., 1999, **Free Radicals in Biology and Medicine, 3<sup>rd</sup> Edition**, Oxford University Press, Oxford

Kavanaugh, A.F. and Lipsky, P., 1999, **Rheumatoid Arthritis Inflammation, Basic Principle and Clinical Correlates, 3<sup>rd</sup> Edition**, Lippincott William and Wilkins, Philadelphia

Kochar, S.P. dan B. Rossell, 1990, **Detection Estimation And Evaluation Of Antioxidants In Food System**, Di dalam : B.J.F. Hudson, editor Food Antioxidants. Elvisier Applied Science, London

Kurokawa M, Kumeda CA, Yamamura J, Kamiyama T, Shiraki K., 1998, **Antipyretic activity of cinnamyl derivatives and related compounds in influenza virus-infected mice**, Eur J Pharmacol, 348:45-51

Ling, Spencer and Fakhreddin Jamali, 2005, **Effect Of Early Phase Adjuvant Arthritis On Hepatic P450 Enzymes And Pharmacokinetics Of Verapamil: An Alternative Approach To The Use Of An Animal Model Of Inflammation For Pharmacokinetic Studies**, Faculty of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences University of Alberta, Canada

Packer L., 1995, **Oxidative Stress, Antioxidants, Aging and Disease**, in: Cutler, R.G., L. Packer., J. Bertram., & A. Mori., 1995, **Oxidative Stress and Aging.**, Birkhauser Verlag, Basel Switzerland, pp. 1 – 14

Plastaras, John P., Peter C. Dedon, and Lawrence J. Marnett, 2001, **Effects of DNA Structure on Oxopropenylation by the Endogenous Mutagens Malondialdehyde and Base Propenal**, A. B. Hancock Jr. Memorial Laboratory for Cancer Research, Cambridge

Prabowo, Sulistiana, 2003, **Pengaruh Pemberian Fraksi Air Daun Teh (*Camellia sinensis*) Pada Tikus Arthritis Ajuvan Terhadap Kadar Malondialdehida (MDA) dan Gambaran Histologi Jaringan Sendi**, Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Surabaya

Pratt, D.E., 1992, **Natural Antioxidants From Plant Material**. Di dalam : M.T. Huang, C.T. Ho, dan C.Y. Lee, editor. Phenolic Compounds in Food and Their Effects on Health H. American Society, Washington DC

Sakuma, S., Nishigaki, F., Magari, K., Ogawa, T., Miyata, S., Ohkubo, Y., Goto, T., 2001, **FK506 is Superior to Methotrexate in Theaurepeutic Effect on Advanced State of Adjuvant-Induced Arthritis**, *inflamen, Res*, 50

Santos, L and Tipping, P.G., 1994, Attenuation of Adjuvant Arthritis in Rats by Treatment with Oxygen Radical Scavengers, *Immunology and Cell Biology* Shahidi, F., 1997, **Natural Antioxidant, Chemistry, Health Effect and Application**, AOCS. Press Champaign, Illinois. pp.: 1 – 23

Sies, H.; & Murphy M.E.; 1991, **Role of Tocopherol's in The Protection of Biological System Against Oxidative Damage**. (J). *Photochem, Photobiol*

Simonini, G.; Maticci, C.M.; Cimaz, R.; Anishini, M.; Cesaretti, S.; Zoppi, M.; Generini, S.; Falcini, F., 2001, **Evidence for Immune Activation Agaist Oxidazed Lipoprotein in Inactive Phase of Juvenile Chronic Arthritis**, *J Rheumatoid*, pp 28

Tengku, Fery, 2007, **Antioksidan Dan Radikal Bebas** [http://www.ndtfolks.com/index2.php?option=com\\_content&do\\_pdf=1&id=16](http://www.ndtfolks.com/index2.php?option=com_content&do_pdf=1&id=16), diakses tanggal: 16 November 2008

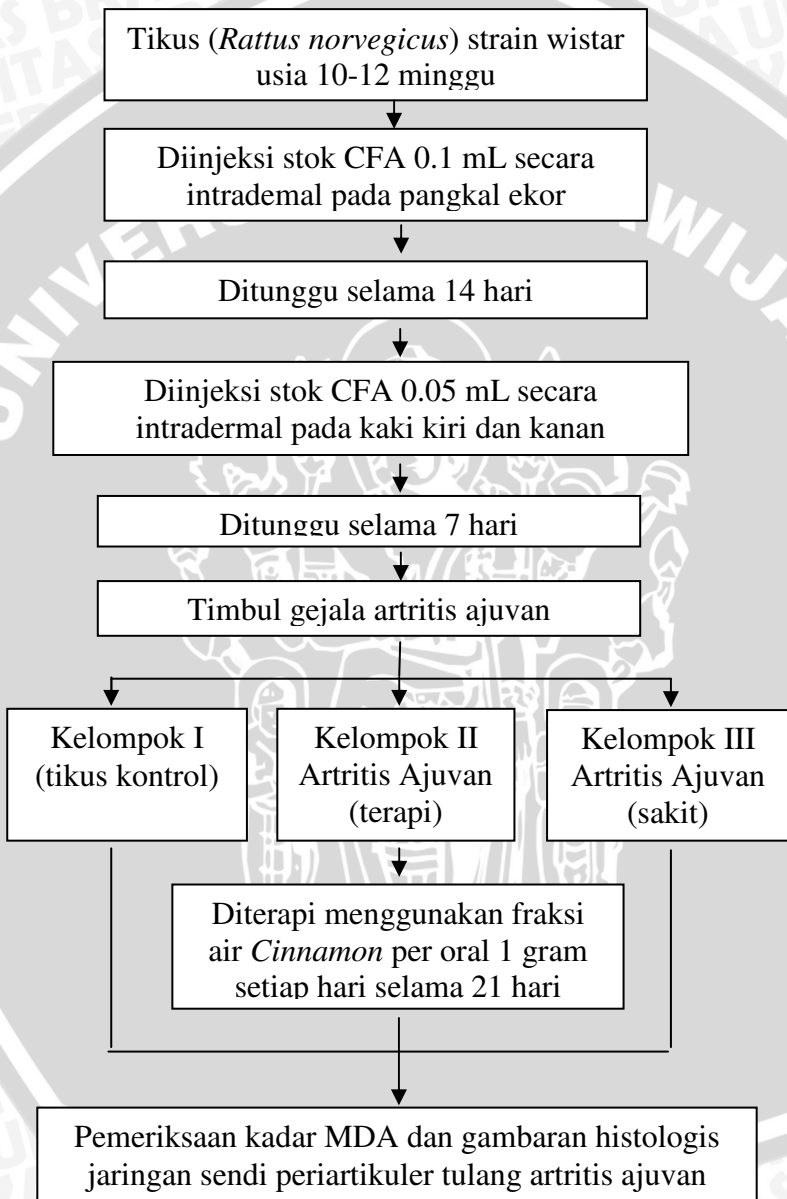
Trilaksani, Wini, 2003, **Antioksidan: Jenis, Sumber, Mekanisme Kerja Dan Peran Terhadap Kesehatan**, ITB, Bogor

Wuryastuti, H.; 2000, **Stress Oksidatif dan Implikasinya Terhadap Kesehatan**, (Pidato) Pengukuhan Guru Besar Fakultas Kedokteran Hewan, UGM



## LAMPIRAN

### Lampiran 1 Skema Kerja Penelitian



## Lampiran 2 Pembuatan Larutan Analisis

### L.2.1. Pembuatan Larutan PBS pH 7,4

Larutan PBS dibuat dengan mencampurkan 0,1 gram KCl, 0,1 gram  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 4 gram NaCl, dan 1,08 gram  $\text{NA}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  dengan 300 mL aquades steril dalam beaker gelas secara berurutan. Kemudian diaduk menggunakan stirer dan diukur pHnya menggunakan pH meter hingga mencapai pH 7,4. Setelah itu, larutan dipindahkan ke labu ukur 500 mL dan diencerkan hingga tanda batas. Selanjutnya disimpan dalam botol dan disterilisasi.

### L.2.2. Pembuatan Larutan NaCl fisiologis 0,9%

NaCl fisiologis 0,9% sebanyak 500 mL dibuat dengan cara melarutkan 4,5 gram NaCl dalam 500 mL aquades.

$$\frac{0,9 \text{ g}}{100 \text{ g}} \times 500 \text{ mL} = 4,5 \text{ mL}$$

### L.2.3. Pembuatan Larutan PFA (Paraformaldehid) 4%

Cara pembuatan larutan PFA adalah dengan membuat larutan NaCl-fisiologis 0,9% sebagai pelarutnya, yaitu ditimbang NaCl sebanyak 2,25 gram kemudian dilarutkan dengan aquades steril dan diencerkan dalam labu ukur 250 mL sampai tanda batas.

$$\begin{aligned} V_1 M_1 &= V_2 M_2 \\ V_1 \times 37\% &= 100 \text{ mL} \times 4\% \\ V_1 &= 10,8 \text{ mL} \end{aligned}$$

Larutan PFA 4% dapat dibuat dengan mengambil 10,8 mL formaldehid 37% dimasukkan dalam labu ukur 100 mL dan ditambahkan NaCl-fisiologis 0,9% sampai tanda batas.

#### L.2.4. Pembuatan Larutan HCl 1M

Larutan HCl 1M dibuat dengan memipet 7,780 mL larutan HCl 37%. Larutan tersebut dipipet dan diencerkan dalam labu ukur 100 mL menggunakan aquades steril hingga tanda batas.

$$\begin{aligned}\text{mol HCl} &= M \times V \\ &= 1 \text{ mol/L} \times 0,1 \text{ L} \\ &= 0,1 \text{ mol}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Berat HCl} &= \text{mol} \times \text{BM} \\ &= 0,1 \text{ mol} \times 36,5 \text{ g/mol} \\ &= 3,65 \text{ gram}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Volume HCl} &= \text{berat HCl} : \text{berat jenis HCl} \\ &= 3,65 \text{ gram} : 1,268 \text{ g/mL} \\ &= 2,878 \text{ mL}\end{aligned}$$

$$\text{Volume yang diambil} = 2,878 \text{ mL} \times \frac{100\%}{37\%} = 7,780 \text{ mL}$$

#### L.2.5. Pembuatan Larutan TCA

Larutan TCA dibuat dengan menimbang 10 gram TCA. Kemudian dilarutkan dalam aquabidest dan diencerkan dalam labu ukur 100 mL hingga tanda batas.

#### L.2.6. Pembuatan Larutan NaOH-Thiobarbiturat 1%

Larutan NaOH-Thiobarbiturat 1% dibuat dengan menimbang 0,868 gram asam thiobarbiturat dan 0,241 gram NaOH. Kemudian dilarutkan dalam aquabides dan diencerkan dalam labu ukur 100 mL hingga tanda batas.

### L.2.7. Pembuatan Fraksi air Kayu Manis

Kayu manis yang sudah dipotong kecil-kecil ditimbang 20 gram dan dimasukkan ke dalam gelas kimia 200 ml yang telah berisi 100 mL akuades. Kemudian kayu manis direbus pada suhu 60°C hingga air rebusan menjadi 10 mL. Setelah itu, fraksi air kayu manis disaring menggunakan kertas saring.

### L.2.8. Pembuatan Larutan Standar Malondialdehida (MDA)

Larutan standar MDA dengan konsentrasi 50 µg/mL diambil dari stok MDA, sehingga volume larutan MDA yang diambil :

BM MDA = 164,20 g/mol  
Berat jenis = 0,997 g/mL = 997000 µg/mL  
Kemurnian = 99%

$$V_1 M_1 = V_2 M_2$$
$$100 \text{ mL} \times 50 \text{ µg/mL} = V_2 \times 997000 \text{ µg/mL}$$
$$V_2 = 5,015 \times 10^{-3} \text{ mL}$$
$$V_2 = 5 \text{ µL}$$

5 µg larutan stok MDA tersebut dipipet dan diencerkan dengan aquades steril dalam labu ukur 100 mL hingga tanda batas. Kemudian dibuat konsentrasi larutan standar 10 µg/mL dari larutan standar konsentrasi 50 µg/mL.

$$V_1 M_1 = V_2 M_2$$
$$100 \text{ mL} \times 10 \text{ µg/mL} = V_2 \times 50 \text{ µg/mL}$$
$$V_2 = 20 \text{ mL}$$

Dari larutan standar 10 µg/mL tersebut, dibuat variasi konsentrasi larutan standar dalam labu ukur 10 mL

## Lampiran 3 Diagram Alir Penelitian

### L.3.1 Injeksi Complete Freund's Ajuvant

Tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar

- Diadaptasi selama 7 hari
- Diinjeksi 0,1 mL CFA secara intradermal pada ekor
- Diinjeksi 0,05 mL CFA secara intradermal pada tiap kaki bagian belakang, setelah 14 hari
- Dibiarkan selama 7 hari

Tikus Arthritis

### L.3.2 Pembuatan Fraksi Air Kayu Manis

Kayu Manis

- Ditimbang sebanyak 20 gram
- Dimasukkan ke dalam gelas kimia 200 ml yang telah berisi 100 mL aquades
- Direbus pada temperatur 60°C selama 7 sampai 8 jam atau hingga air rebusan tinggal 10 mL

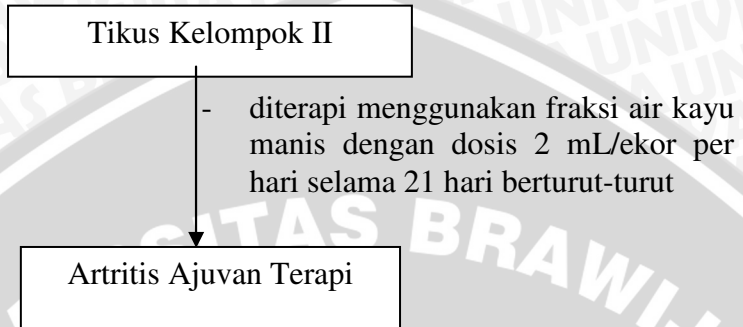
Fraksi Air Kayu

- Disaring menggunakan kertas saring

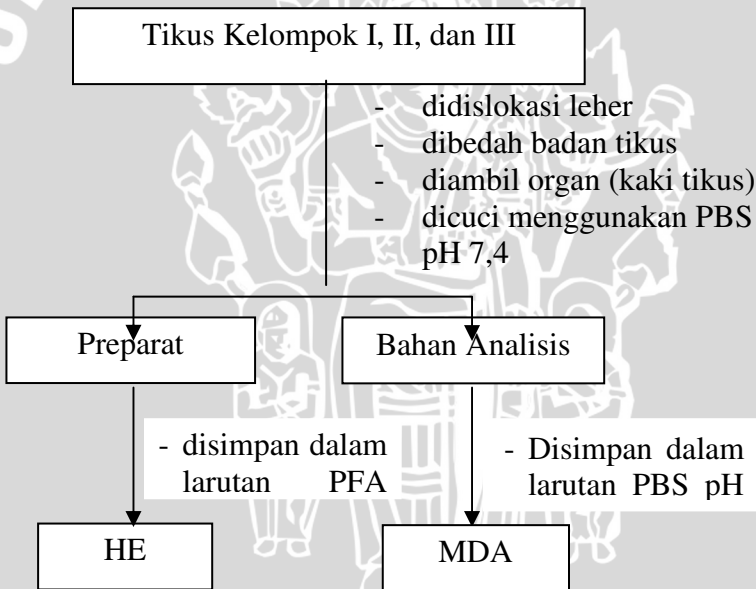
Fraksi Air Kayu Manis



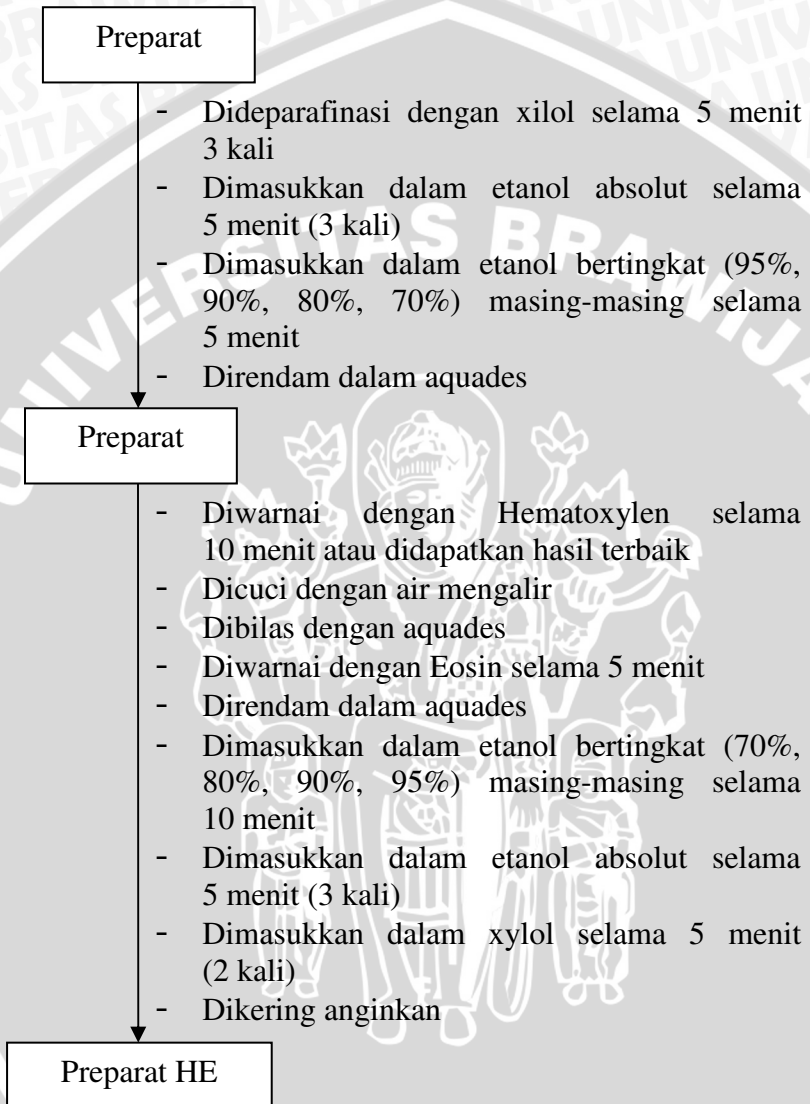
### L.3.3 Terapi Fraksi Air Kayu Manis



### L.3.4 Pengambilan Organ



### L.3.5 Pewarnaan Hematoxylen-Eosin



### L.3.6 Pembuatan Kurva Baku MDA

Larutan Standar MDA konsentrasi 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 dan 10  $\mu\text{g/mL}$

- Dipipet 100  $\mu\text{L}$
- Dimasukkan dalam tiap-tiap tabung reaksi
- Ditambah 550  $\mu\text{L}$  aquades steril
- Ditambah 100  $\mu\text{L}$  TCA 100% dan diaduk menggunakan vortex
- Ditambah 250  $\mu\text{L}$  HCl 1N dan diaduk menggunakan vortex
- Ditambah 100  $\mu\text{L}$  Na-Thio 1% dan diaduk menggunakan vortex

Larutan Campuran

- Dipanaskan dalam *water bath* pada temperatur 100°C selama 20 menit
- Diangkat dan dibiarkan dalam temperatur ruang
- Diukur  $\lambda$  maksimumnya menggunakan Spektrofotometer UV-Vis pada  $\lambda$  500 sampai 600 nm
- Diukur absorbansi tiap-tiap larutan standar menggunakan  $\lambda$  maksimum

Absorbansi MDA larutan standart

### L.3.7 Pengukuran Kadar MDA

Kaki Tikus Wistar

- Diambil jaringannya
- Ditimbang 100 mg
- Digerus menggunakan mortar hingga halus
- Ditambahkan 200  $\mu\text{L}$  NaCl fisiologis 0,9%

Homogenat

- Dipipet 100  $\mu\text{L}$
- Dimasukkan dalam tiap-tiap tabung reaksi
- Ditambah 550  $\mu\text{L}$  aquades steril
- Ditambah 100  $\mu\text{L}$  TCA 100% dan diaduk menggunakan vortex
- Ditambah 250  $\mu\text{L}$  HCl 1N dan diaduk menggunakan vortex
- Ditambah 100  $\mu\text{L}$  NaOH-Thiobarbiturat 1% dan diaduk menggunakan vortex

Larutan Campuran

- Dipanaskan dalam *water bath* pada temperatur 100°C selama 20 menit
- Diangkat dan dibiarkan dalam temperatur ruang
- Diukur absorbansi pada  $\lambda$  maksimum

Absorbansi MDA Tikus

## Lampiran 4 Data Hasil Penelitian

### L.4.1 Kurva Standar MDA

**Tabel L.4.1** Hasil pengukuran panjang gelombang  $\lambda$  larutan standar MDA untuk menentukan  $\lambda$  maksimum

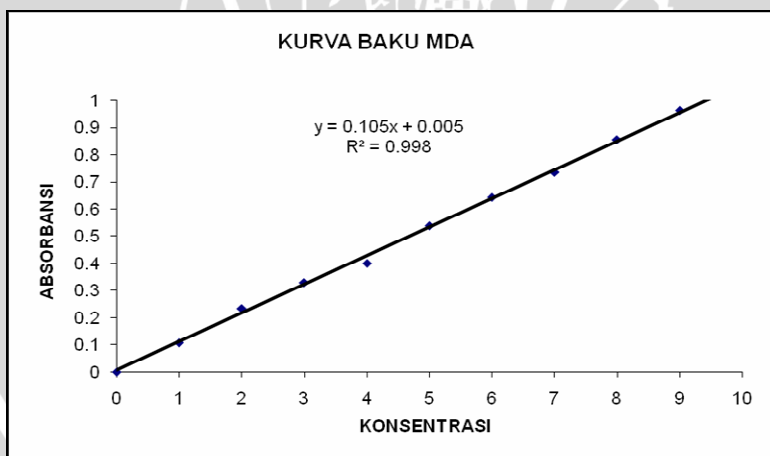
Panjang Gelomban g ( $\lambda$ nm)	Absorbansi	Panjang Gelomban g ( $\lambda$ nm)	Absorbansi
500	0,259	548	0,263
503	0,261	551	0,251
506	0,264	554	0,243
509	0,268	557	0,237
512	0,273	560	0,233
515	0,283	563	0,231
518	0,294	566	0,229
521	0,306	569	0,229
524	0,319	572	0,228
527	0,330	575	0,228
530	0,333	578	0,227
<b>533</b>	<b>0,334</b>	581	0,227
536	0,327	584	0,227
539	0,311	587	0,227
542	0,294	590	0,227
545	0,278		



**Tabel L.4.2** Hasil pengukuran absorbansi larutan standar MDA pada panjang gelombang 533 nm

Konsentrasi MDA ( $\mu\text{g/mL}$ )	Absorbansi (A)
0	0
1	0.108
2	0.233
3	0.329
4	0.400
5	0.539
6	0.643
7	0.735
8	0.855
9	0.963
10	1.047

Kurva standar MDA



#### L.4.2. Konsentrasi MDA

**Tabel L.4.3** Absorbansi dan konsentrasi MDA tikus kontrol

Absorbansi (A)	Konsentrasi MDA ( $\mu\text{g/mL}$ )
0,116	0.89
0,121	0.95
0,158	1.42
0,114	0.87
0,116	0.89
0,142	1.22
0,113	0.85
0,111	0.83
0,127	1.03
0,136	1.14

**Tabel L.4.4** Absorbansi dan konsentrasi MDA pada tikus artritis ajuvan (sakit)

Absorbansi (A)	Konsentrasi MDA ( $\mu\text{g/mL}$ )
0,395	3,67
0,391	3,66
0,390	3,65
0,387	3,62
0,398	3,73
0,399	3,74
0,394	3,69
0,391	3,66
0,388	3,63
0,398	3,73

**Tabel L.4.5** Absorbansi dan konsentrasi MDA pada tikus arthritis ajuvan (terapi)

Absorbansi (A)	Konsentrasi MDA ( $\mu\text{g/mL}$ )
0,215	1,99
0,222	2,06
0,224	2,07
0,221	2,04
0,227	2,10
0,207	1,91
0,211	1,95
0,208	1,92
0,206	1,90
0,213	1,97

**Lampiran 5 Pengolahan Data Hasil Penelitian**  
**Tabel L.5.1 Konsentrasi MDA**

Tikus ke	Konsentrasi MDA jaringan periartikuler (µg/ml)			
	Kontrol	Artritis ajuvan (sakit)	Artritis ajuvan (terapi)	
1	0,89	3,67	1,99	
2	0,95	3,66	2,06	
3	1,42	3,65	2,07	
4	0,87	3,62	2,04	
5	0,89	3,73	2,10	
6	1,22	3,74	1,91	
7	0,85	3,69	1,95	
8	0,83	3,66	1,92	
9	1,03	3,63	1,90	
10	1,14	3,73	1,97	
Total	10,09	36,78	19,91	66,78
Rata-rata	1,009	3,678	1,991	-
Rataan	1,009±0,20	3,678±0,04	1,991±0,07	-

Persentase Penurunan Kadar MDA Jaringan Periartikuler

$$\text{Persentase kadar MDA} = \left( \frac{3,678 - 1,991}{3,678} \right) \times 100\% = 45,87\%$$

**Perhitungan Statistik**

Hipotesis :  $H_0 : \tau_1 = \tau_2 = \dots = \tau_0 = 0$  ( tidak ada pengaruh terhadap pemberian fraksi air kayu manis terhadap penurunan kadar malondialdehida )

$H_1 : \tau_1 \neq 0$  ( minimal ada pengaruh pemberian fraksi air kayu manis terhadap penurunan kadar malondialdehida )

$$\begin{aligned}
 \text{Faktor Koreksi (FK)} &= \frac{\left( \sum_{i=1}^p \sum_{j=1}^n Y_{ij} \right)^2}{p \times n} \\
 &= \frac{(0,89 + \dots + 3,67 + \dots + 1,99 + \dots)^2}{10 \times 3} \\
 &= \frac{(66,78)^2}{10 \times 3} \\
 &= 148,65
 \end{aligned}$$

### Penentuan Jumlah Kuadrat :

#### 1. Jumlah Kuadrat Total (JKT)

$$\begin{aligned}
 (\text{JKT}) &= \left( \sum_{i=1}^p \sum_{j=1}^n Y^2_{ij} \right) - FK \\
 &= ((0,89)^2 + \dots + (3,67)^2 + \dots + (1,99)^2 + \dots) - 148,65 \\
 &= 185,50 - 148,65 \\
 &= 36,85
 \end{aligned}$$

#### 2. Jumlah Kuadrat Perlakuan (JKP)

$$\begin{aligned}
 (\text{JKP}) &= \frac{\sum_{i=1}^n \left( \sum_{j=1}^n Y_{ij} \right)^2}{n} - FK \\
 &= \frac{\left( \sum_{j=1}^n Y_{1j} \right)^2 + \left( \sum_{j=1}^n Y_{2j} \right)^2 + \left( \sum_{j=1}^n Y_{3j} \right)^2}{n} - FK \\
 &= \frac{(10,09)^2 + (36,78)^2 + (19,91)^2}{10} - 148,65 \\
 &= 36,45
 \end{aligned}$$

#### 3. Jumlah Kuadrat Galat (JKG)

$$\begin{aligned}
 (\text{JKG}) &= (JKT - JKP) \\
 &= 36,85 - 36,45 \\
 &= 0,4
 \end{aligned}$$



## Penentuan Kuadrat Tengah :

### 1. Kuadrat Tengah Perlakuan (KTP)

$$\begin{aligned} \text{KTP} &= \frac{(JKP)}{(p-1)} \\ &= \frac{(36,45)}{2} \\ &= 18,22 \end{aligned}$$

### 2. Kuadrat Tengah Galat (KTG)

$$\begin{aligned} \text{KTG} &= \frac{(JKG)}{p(n-1)} \\ &= \frac{(0,4)}{27} \\ &= 0,01 \end{aligned}$$

Penentuan  $F_{\text{hitung}}$

$$\begin{aligned} F_{\text{hitung}} &= \frac{(KTP)}{(KTG)} \\ &= \frac{(18,22)}{(0,01)} \\ &= 1822,0 \end{aligned}$$

$F_{\text{tabel}} 1\% = 5,49$

**Tabel L.5.2** Analisis Ragam Satu Arah Kadar Malondialdehida

Sumber Keragaman	d B	JK	KT	F	
				Hitung	Tabel 1%
Perlakuan	2	36,45	18,22	1822,0	5,49
Galat	27	0,4	0,01		
Total	29	36,85			

Keterangan :

Yij = kadar Malondialdehida

p = banyaknya perlakuan

n = banyaknya ulangan  
dB = derajat bebas

Berdasarkan tabel L.5.2 diketahui bahwa  $F_{hitung}$  lebih besar dibanding  $F_{tabel}$  pada taraf 1% sehingga  $H_0$  ditolak. Hal ini berarti pemberian fraksi air kayu manis memberikan pengaruh yang nyata terhadap penurunan kadar MDA jaringan periartikuler. Untuk mengetahui perlakuan mana yang mempunyai pengaruh berbeda, maka dilakukan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) 1%.

### Uji BNT 1%

$$BNT(\alpha) = t_{tabel} \left( \frac{\alpha}{2}, dBg \right) \sqrt{\frac{2 KTg}{n}}$$

$$BNT (0,01) = t_{tabel} \left( \frac{\alpha}{2}, dBg \right) \sqrt{\frac{2 KTg}{n}}$$

$$= (t_{tabel} (0,01/2, 27)) \left( \sqrt{\frac{2(0,01)}{10}} \right)$$

$$= 2,771 \times 0,04$$

$$= 0,11$$

Karena  $F_{hitung}$  lebih besar dibanding  $F_{tabel}$  1%, maka diantara perlakuan terdapat perbedaan yang sangat nyata ( $P < 0,01$ )

**Tabel L.5.3.** Hasil Uji BNT 1% Kadar Malondialdehida

Kadar Malondialdehida rata-rata		Kontrol	Terapi	Sakit
		1,009	1,991	3,678
Kontrol	1,009	-		
Terapi	1,991	0,982*	-	
Sakit	3,678	2,669*	1,687*	-
Notasi		a	b	c

\*) : berbeda secara nyata pada taraf 1%



## Lampiran 6 Sertifikat Laik Etik dari Komisi Etik Penelitian Universitas Brawijaya Malang



KOMISI ETIK PENELITIAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

### KETERANGAN KELAIKAN ETIK "ETHICAL CLEARANCE"

No: 33-KE

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 : PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK *CINNAMON*  
TERHADAP PENURUNAN KADAR  
MALONDIALDEHIDE (MDA) PADA TIKUS ARTRITIS  
AJUVAN DAN JUMLAH SEL RADANG

PENELITI : CHRISTINA DIAN CAHYAWATI

UNIT/LEMBAGA/TEMPAT : JURUSAN KIMIA F MIPA  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA MALANG

DINYATAKAN : LAIK ETIK



Malang, 02 Juli 2009

Ketua Komisi Etik Penelitian  
Universitas Brawijaya

Prof. Dr. drh. Aulanni'am, DES.  
NIP. 131 759 594

**Gambar L.6** Sertifikat Laik Etik dari Komisi Etik Penelitian  
Universitas Brawijaya