

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL BIJI
KEBIUL (*Caesalpinia bonduc* L (*Roxb*) TERHADAP
KADAR MALONDIALDEHIDA (MDA) TIKUS PUTIH
JANTAN YANG DIINDUKSI PUTIH TELUR**

SKRIPSI



Oleh :

VIVI ANGGREINI
NIM : 1504062

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
SEKOLAH TINGGI FARMASI INDONESIA
PERINTIS PADANG
2020**

PERNYATAAN ORISINILITAS DAN PENYERAHAN HAK CIPTA

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Vivi Anggreini

NIM : 1504062

Judul Skripsi : Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Biji Kebiul
(*Caesilpinia bonduc L (Roxb)*) Terhadap Kadar
Malondialdehida Tikus Putih Jantan Yang Diinduksi Putih
Telur

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Skripsi yang saya tulis merupakan hasil karya saya sendiri, terhindar dari unsur plagiarisme, dan data beserta seluruh isi skripsi tersebut adalah benar adanya.
2. Saya menyerahkan hak cipta dari skripsi tersebut Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia Perintis Padang untuk dapat dimanfaatkan dalam kepentingan akademis.

Padang, 03 Februari 2020

Vivi Anggreini

Lembar Pengesahan Skripsi

Dengan ini dinyatakan bahwa:

Nama : Vivi Anggreini
NIM : 1504062
Judul Skripsi : Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Biji Kebiul (*Caesilpinia bonduc L (Roxb)*) Terhadap Kadar Malondialdehida Tikus Putih Jantan Yang Diinduksi Putih Telur

Telah diuji dan disetujui skripsinya sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi (S.Farm) melalui ujian sarjana yang diadakan pada tanggal 03 Februari 2020 berdasarkan ketentuan yang berlaku.

Ketua Sidang

H. Zulkarni, S.Si, MM, Apt

Pembimbing I

Anggota Penguji I

Dr. Eka Fitrianda, Apt

Prof. Dr. H. Hazli Nurdin, M.Sc

Pembimbing II

Anggota Penguji II

Nessa, S.Farm, M.Biomed, Apt

Yahdian Rasyardi, M.Farm, Apt

**Mengetahui:
Ketua Prodi Studi S1 Farmasi**

Dr. Eka Fitrianda, Apt

LEMBAR PERSEMBAHAN



Sembah sujud serta syukur kepada Allah SWT. Taburan cinta dan kasih sayang-Mu telah memberikanku kekuatan, membekaliku dengan ilmu serta memperkenalkanku dengan cinta. Atas karunia serta kemudahan yang Engkau berikan akhirnya skripsi yang sederhana ini dapat terselesaikan. Shalawat dan salam selalu terlimpahkan kehadiran Rasulullah Muhammad SAW.

Kupersembahkan karya sederhana ini kepada orang yang sangat kukasihi dan kusayangi.

Ibunda dan Ayahanda Tercinta

Sebagai tanda bakti, hormat dan rasa terima kasih yang tiada terhingga kupersembahkan karya kecil ini kepada Ibu (Gusrina) dan Bapak (Mayunis) yang telah memberikan kasih sayang, dukungan, ridha, dan cinta kasih yang tiada terhingga yang tiada mungkin dapat kubalas hanya dengan selembar kertas yang bertuliskan kata persembahan. Semoga ini menjadi langkah awal untuk membuat Ibu dan Bapak bahagia karena kusadar, selama ini belum bisa berbuat lebih. Untuk Ibu dan Bapak yang selalu membuatku termotivasi dan selalu menyirami kasih sayang, selalu mendoakanku, selalu menasehatiku serta selalu meridhoiku melakukan hal yang lebih baik, Terimakasih Ibu.... Terimakasih Bapak....

Abang dan Adikku Tercinta

Sebagai tanda terima kasih, aku persembahkan karya kecil ini untuk Abangku Tercinta (Herisko) dan Adikku tersayang (M. Rafi Nugraha) serta orang-orang disekitar ku yang selalu memberi semangat dan bantuan selama ini. Terima kasih telah memberikan semangat dan inspirasi dalam menyelesaikan Tugas Akhir ini. Semoga doa dan semua hal yang terbaik yang engkau berikan menjadikan ku orang yang baik pula. Terima kasih

Teman -teman

Buat kawan-kawanku yang selalu memberikan motivasi, nasihat, dukungan moral serta material yang selalu membuatku semangat untuk menyelesaikan skripsi ini, sahabatku (vikri, ica, riko) dan teman-teman Quindecim 15, serta teman-teman lainnya yang tidak bisa disebutkan satu persatu. Terima kasih teman-temanku, kalian telah memberikan banyak hal yang tak terlupakan kepadaku

Dosen Pembimbing

Ibu Dr. Eka Fitrianda, Apt dan Ibu Nessa, S.Farm, M.Biomed, Apt selaku dosen pembimbing skripsi saya, serta Bapak Drs. B.A. Martinus, M.Si selaku pembimbing akademik saya, terima kasih banyak Bapak Ibu sudah membantu selama ini, sudah dinasehati, sudah diajari, dan mengarahkan saya sampai saya dapat menyelesaikan program studi S1 Farmasi.

KATA PENGANTAR



Syukur Alhamdulillah penulis panjatkan kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya serta shalawat dan salam kepada Nabi junjungan kita Muhammad SAW, para sahabat, serta keluarganya. Sehingga penulis telah dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi yang berjudul **“PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL BIJI KEBIUL (*Caesilpinia bonduc L (Roxb)*) TERHADAP KADAR MALONDIALDEHIDA TIKUS PUTIH JANTAN YANG DIINDUKSI PUTIH TELUR”** Skripsi ini merupakan salah satu persyaratan untuk menyelesaikan program pendidikan sarjana strata satu pada Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia Perintis Padang.

Dalam penulisan skripsi ini tidak terlepas dari iringan do'a tulus dan dukungan tiada hentinya yang diberikan oleh Ibuku tercinta, Ibu Gusrina, Bapak Mayunis, Abang Herisko, Adik M. Rafi Nugraha, serta saudara dan teman-teman yang sangat penulis sayangi, kasih sayang berserta do'a tulus ikhlas memberikan semangat dan dukungan yang tiada ternilai bagi penulis. Selain itu, penulis juga mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Ibu Dr. Eka Fitrianda, Apt dan Nessa, S.Farm, M. Biomed, Apt selaku pembimbing yang dengan penuh perhatian dan kesabaran telah berkenan

meluangkan waktu, pikiran dan motivasi, memberikan petunjuk, ilmu, nasehat, arahan serta bimbingan selama penelitian dan penyusunan skripsi ini.

2. Bapak H. Zulkarni R, S.Si, MM, Apt selaku Ketua Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia (STIFI) Yayasan Peryang telah memberikan motivasi dan arahan.
3. Drs. B.A. Martinus, M.Si selaku Pembimbing akademik, yang telah memberikan bimbingan, motivasi dan arahan dalam kegiatan akademis penulis di Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia (STIFI) Yayasan Perintis Padang.
4. Bapak/Ibu Dosen yang telah mendidik dan mencurahkan ilmu selama ini kepada penulis dan Staf Karyawan/karyawati serta analis labor Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia (STIFI) Yayasan Perintis Padang.

Semoga Allah SWT membalas dan melimpahkan rahmat dan karunia-Nya kepada kita semua. Penulis berharap semoga skripsi ini menjadi sumbangan yang bernilai ilmu pengetahuan dan bermanfaat bagi kita semua. Kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan demi perbaikan penyempurnaan skripsi ini. Akhirnya, hanya kepada Allah SWT penulis serahkan segalanya mudah-mudahan dapat bermanfaat khususnya bagi penulis dan umumnya bagi kita semua.

Padang, 03 Februari 2020

Vivi Anggreini

ABSTRAK

Malondialdehida(MDA) merupakan hasil peroksidasi lipid yang berguna sebagai penanda dari radikal bebas berlebih pada proses inflamasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui dan menganalisa pengaruh variasi dosis ekstrak etanol biji kebiul dalam menurunkan kadar malondialdehida tikus putih jantan inflamasi yang diinduksi putih telur. Penginduksian putih telur dilakukan dengan cara subplantar yaitu disuntikkan pada telapak kaki tikus. Pengukuran kadar malondialdehida menggunakan uji *Thio barbiturat acid (TBA) reactivity test*. Analisis statistik dengan uji *One way anova* dilanjutkan uji *Duncan*. Hasil penelitian menunjukkan rata-rata kadar MDA pada kelompok pembanding, dosis 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB, 300 mg/kgBB, masing-masing adalah $4,73 \pm 0,96$, $3,98 \pm 0,61$ nmol/ml, $3,55 \pm 0,60$ nmol/ml, $2,73 \pm 0,57$ nmol/ml. Analisis statistik dengan *anova* menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$). Uji lanjut *Duncan* menunjukkan dosis 300 mg/kgBB yang paling mendekati kelompok kontrol normal, hal ini membuktikan bahwa dosis 300 mg/kgBB berpengaruh terhadap kadar malondialdehida tikus putih jantan yang diinduksi putih telur.

Kata Kunci : Inflamasi, Kadar Malondialdehida, *Caesilpinia Bonduc*

ABSTRACT

Malondialdehyde (MDA) is the result of lipid peroxidation that is useful as a marker of excess free radicals in the inflammatory process. This study aims to determine and analyze the effect of varying doses of ethanol extract of kebiul seeds in reducing malondialdehyde levels in inflammatory male white rats that are induced by egg whites. Statistical analysis with the *One way anova* test followed by Duncan test. The result showed the average MDA level in the group comparison, 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB, 300 mg/kgBB, each was $4,73 \pm 0,96$ nmol/ml, $3,98 \pm 0,61$ nmol/ml, $3,55 \pm 0,60$ nmol/ml, $2,73 \pm 0,57$ nmol/ml. Statistical analysis with ANOVA showed a significant difference ($p < 0,05$). Duncan's further test showed that the dose of 300 mg/kgBB was the closest to the normal control group, this proves that the dose of 300 mg/kgBB affected the malondialdehyde levels of male white rats induced by egg whites.

Keywords : Inflammatory, Malondialdehyde level, *Caesilpinia bonduc*

DAFTAR ISI

JUDUL	i
PERNYATAAN ORISINALITAS DAN PENYERAHAN HAK CIPTA	ii
PENGESAHAN	iii
PERSEMBAHAN.....	iv
KATA PENGANTAR.....	v
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR LAMPIRAN	xi
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Kebiul (Caesalpinia bunduc L. Roxb)	5
2.1.1 Klasifikasi	5
2.1.2 Morfologi	5
2.1.3 Habitat Alami Tumbuhan Kebiul	6
2.1.4 Etnofarmakologi Tumbuhan Kebiul	6
2.1.5 Tinjauan Farmakologi.....	7
2.2 Konsep Dasar Inflamasi	7
2.2.1 Defenisi Inflamasi.....	7
2.2.2 Tanda-tanda inflamasi.....	8
2.2.3 Mekanisme terjadinya inflamasi	9
2.2.4 Antiinflamasi	12
2.2.5 Natrium Diklofenak	16
2.2.6 Metode Uji Antiinflamasi	17
2.3. Radikal Bebas.....	19
2.3.1. Reaksi umum pembentukan radikal bebas(Rohmatussolihat, 2009) ...	19
2.4. Malondialdehida (MDA)	20

2.4.1. Definisi.....	20
2.4.2. Pembentukan MDA	21
2.4.3. Cara Pemeriksaan dan Interpretasi Hasil	21
2.5 Hubungan Inflamasi dengan Kadar Malondialdehida	22
BAB III.METODA PENELITIAN	24
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian	24
3.2. Alat dan Bahan	24
3.2.1. Alat.....	24
3.2.2. Bahan	24
3.3 Hewan Percobaan	25
3.4 Metoda Penelitian.....	25
3.4.1.Pengambilan Sampel dan Identifikasi.....	25
3.4.2. Identifikasi Sampel	25
3.4.3 Pembuatan Ekstrak	25
3.5. Evaluasi Ekstrak Etanol Biji Kebiul.....	26
3.6. Uji Skrinning Fitokimia (Harbone,1987)	27
3.7 Penyiapan Hewan Percobaan	29
3.8 Penentuan Dosis Bahan Uji.....	29
3.9 Pembuatan sediaan	30
3.10 Pelaksanaan Pengujian Aktivitas Antiinflamasi (Sabina dkk,2008)	32
3.11. Pengukuran Kadar MDA serum tikus putih jantan dengan metoda TBA (<i>Thiobarbiturat Acid) Reactivity Test</i>	33
3.12. Analisis Data	33
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	34
4.1 Hasil.....	34
4.2 Pembahasan	35
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	44
5.1 Kesimpulan.....	44
5.2 Saran.....	44
DAFTAR PUSTAKA	45

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
Tumbuhan Kebiul.....	49
Surat Identifikasi	50
Kaji etik.....	51
Surat Keterangan Hasil Pemeriksaan Kadar MDA	52
Surat Keterangan telah melakukan Pemekrisaan Kadar Malondialdehida	53
Skema Pembuatan dan Evaluasi Ekstrak Etanol Buah Kebiul (<i>Caesalpinia bunduc</i> . L.Roxb).....	54
Skema kerja inflamasi	55
Hasil Pemeriksaan Ekstrak.....	57
Perhitungan	58
Hasil Pengukuran Kadar MDA Serum Tikus Putih Jantan.....	59
Hasil Uji Anova Satu Arah Pemeriksaan Kadar Malondialdehida Serum Tikus..	61
Alat Dan Bahan Yang Digunakan Pada Penelitian.....	63

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
Pemeriksaan Organoleptis Ekstrak Etanol Biji Kebiul	57
Hasil Pemeriksaan Pendahuluan Ekstrak Etanol Biji Kebiul.....	57
Hasil Penentuan Rendemen Ekstrak Etanol Buah Kebiul.....	58
Hasil Susut Pengeringan Ekstrak Etanol Buah Kebiul	58
Hasil Penentuan Kadar Abu Ekstrak Etanol Buah Kebiul.....	58
Hasil Kadar MDA Pada Serum Tikus Putih Jantan	59
Persentase Penurunan Kadar Malondialdehid (MDA).....	60
Hasil Uji Anova Satu Arah Pemeriksaan Kadar Malondialdehida Serum Tikus..	61
Hasil Uji Lanjut Menggunakan Uji Duncan	62

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Tumbuhan Kebiul (<i>Caesalpinia bunduc</i> L. Roxb).....	5
Peranan Obat Antiinflamasi	17
Struktur Kimia <i>Malondialdehyde</i> (Latifa <i>et al</i> , 2015)	20
Reaksi pembentukan senyawa kompleks MDA-TBA berwarna merah muda yang dapat diukur serapannya pada panjang gelombang 532 nm.....	21
Diagram Rata-Rata Kadar Malondialdehid (MDA) Serum Tikus Masing-Masing Kelompok.....	40
Diagram Persentase Penurunan Kadar Malondialdehid (MDA).....	43
Biji Kebiul (<i>Caesalpinia bunduc</i> L. Roxb).....	49
Foto Surat Identifikasi Biji Kebiul (<i>Caesalpinia bunduc</i> L. Roxb).....	50
Surat Telah Melakukan Kaji Etik.....	51
Surat Keterangan Pemeriksaan Kadar MDA	52
Surat Keterangan telah melakukan penelitian kadar MDA.....	53
Skema Kerja Pembuatan Ekstrak Etanol Buah Kebiul	54
Skema Kerja Inflamasi.....	55
Skema Kerja Pengukuran Kadar MDA Serum	56
Bahan Yang Digunakan Untuk Penginduksian.....	63
Tempat Serum	64
Reagen Pengukuran MDA	64
Vortex Mixer.....	65
Sentrifus	65
Waterbath.....	66
Spektrofotometer UV-Vis (Spektonik 21D)	66

BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Inflamasi merupakan suatu respon dari tubuh terhadap adanya cedera maupun infeksi. Saat terjadi cedera, tubuh akan berusaha menetralkan dan mengeliminasi agen-agen berbahaya dari tubuh serta melakukan persiapan untuk perbaikan jaringan (Sherwood, 2001). Adanya proses inflamasi ditandai ciri yang khas, yaitu timbulnya warna kemerahan, pembengkakan di daerah peradangan, rasa panas, dan timbulnya rasa nyeri (Corwin, 2008).

Inflamasi ditandai dengan kondisi inflamasi kronis yang akan mengakibatkan meningkatnya produksi radikal bebas sehingga terjadilah stres oksidatif (Kumawat *et al*, 2012). Stres oksidatif merupakan salah satu komponen pada mekanisme kerusakan jaringan pada manusia. Stres oksidatif dapat ditunjukkan dengan meningkatnya malondialdehid (MDA) serum maupun jaringan (Marjani, 2010).

Malondialdehid (MDA) merupakan produk yang sangat beracun yang sebagian diproduksi dari peroksida lipid yang merupakan turunan dari produk radikal bebas. Radikal bebas dapat meningkatkan peroksidasi lipid yang kemudian akan mengalami dekomposisi menjadi malondialdehid (MDA) dalam darah (Latifa *et al*, 2015). Zat penunda atau pencegah terjadinya stres oksidatif disebut antioksidan (Manimaran *et al*, 2009).

Antioksidan adalah molekul yang saling berhubungan dengan radikal bebas dan menangkalkan reaksi berantai dari radikal bebas sebelum molekul – molekul penting dirusaknya. Untuk melawan bahaya radikal bebas, tubuh telah mempersiapkan penangkal melalui sistem antioksidan (Soobrattee, 2005). Salah satu senyawa yang aktif sebagai antioksidan adalah flavonoid. Mekanisme flavonoid sebagai antioksidan

secara langsung terjadi dengan mendonorkan ion hidrogen sehingga dapat menetralkan efek toksik dari radikal bebas (Surmadika *et al*, 2011)

Inflamasi dapat diatasi dengan menggunakan anti-inflamasi, salah satunya yaitu golongan anti-inflamasi non steroid (AINS). AINS merupakan obat sintetik dengan struktur kimia heterogen. Namun penggunaan AINS dapat menimbulkan efek samping pada saluran cerna (Lelo dan Hidayat, 2004). Adanya efek samping yang cukup serius dalam penggunaan AINS ini, maka dicarilah sumber alternatif lain untuk digunakan pada terapi inflamasi. Sebagai salah satu pilihan yang banyak digunakan dalam masyarakat adalah penggunaan tanaman obat yang dinilai lebih aman dan lebih mudah dijangkau oleh masyarakat (Umar, 2011).

Pengobatan penyakit dengan menggunakan tanaman obat tradisional telah dikenal masyarakat Indonesia sejak zaman dahulu sebagian masyarakat lebih menyukai pengobatan dengan tumbuhan obat daripada obat sintesis mereka meyakini bahwa tumbuhan obat lebih aman dikonsumsi dan kurang menimbulkan efek samping yang tidak diinginkan sehingga memilih menggunakan obat herbal untuk menyembuhkan penyakitnya (Togubu, dkk., 2013).

Caesalpinia bonduca L. Roxb merupakan salah satu tanaman yang terdistribusi banyak di beberapa negara seperti India, Sri Lanka, Myanmar dan Indonesia. Biji dari tanaman ini memiliki banyak khasiat seperti antibakteri, antifungi, antiinflamasi, antioksidan, antidiabetes. Efek ini muncul karena adanya kandungan senyawa kimia seperti alkaloid, flavonoid, glikosida, saponin, tanin, terpenoid, dan steroid yang dapat bekerja untuk mengatasi berbagai jenis penyakit (Gupta *et al*, 2005).

Beberapa peneliti telah melakukan uji khasiat dari biji kebiul. Hasil penelitian menunjukkan kandungan kimia biji kebiul yaitu alkaloid, flavonoid, saponin, terpenoid, dan steroid yang dapat bekerja untuk mengatasi berbagai jenis penyakit (Gupta dkk, 2005). Saat ini telah banyak pembelajaran tentang polifenol alam khususnya flavonoid yang terdapat dalam tanaman umumnya memiliki aktivitas antioksidan dan penghambatan enzim tertentu seperti xantin oksidase. Aktivitas flavonoid sebagai penurun kadar asam urat adalah penghambatan kerja enzim xantin oksidase. Beberapa flavonoid selain dapat menghambat enzim xantin oksidase juga bersifat sebagai antioksidan (Djauhari dan Harnani, 2004). Hasil sintesis dari AgNO₃ dan nanopartikel eksocarp buah kebiul menunjukkan kemampuan menurunkan kadar asam urat pada mencit yang diinduksi MDPT dengan dosis 172 mg/kgBB (Aprialensi dkk, 2016).

Atas dasar pemakaian empiris dan penelitian sebelumnya maka dilakukan penelitian untuk menurunkan kadar malondialdehida, dengan menggunakan ekstrak etanol biji kebiul (*Caesalpinia bunduc* L. Roxb) yang memberikan pengaruh terhadap kadar malondialdehid (MDA) tikus putih jantan yang di induksi putih telur sehingga dapat dibuktikan khasiat ekstrak etanol biji kebiul (*Caesalpinia bunduc* L. Roxb) dalam pengobatan antiinflamasi secara ilmiah. Dengan demikian nantinya dapat dikembangkan dan dimanfaatkan sebagai pengobatan penyakit antiinflamasi.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian di atas, rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Apakah ekstrak etanol biji kebiul memberikan pengaruh terhadap kadar malondialdehid (MDA) tikus putih jantan yang diinduksi putih telur?

2. Apakah terdapat perbedaan kadar malondialdehid (MDA) pada ketiga dosis (100, 200, 300 kg/kgBB) ekstrak etanol biji kebiul pada tikus putih jantan yang diinduksi putih telur?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mendapatkan data ilmiah mengenai pengaruh pemberian ekstrak etanol biji kebiul terhadap kadar malondialdehid (MDA) pada tikus putih jantan yang diinduksi putih telur
2. Untuk mendapatkan data ilmiah tentang pengaruh dosis terhadap kadar malondialdehid (MDA) pada ketiga dosis (100, 200, 300 kg/kgBB) ekstrak etanol buah kebiul pada tikus putih jantan yang diinduksi putih telur

1.4 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat dilakukannya penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Mendapatkan bukti ilmiah tentang aktivitas biji kebiul pada keadaan inflamasi
2. Sebagai sumber informasi ilmiah mengenai khasiat biji kebiul (*Caesalpinia Bonduc* L. Roxb.) ini sebagai pengobatan pada inflamasi.

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kebiul (*Caesalpinia bunduc L. Roxb*)



Gambar 1. Tumbuhan Kebiul (*Caesalpinia bunduc L. Roxb*)

2.1.1 Klasifikasi

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Subdivisi	: Spermatophyta
Division	: Magnoliophyta
Ordo	: Fabales
Family	: Fabaceae
Genus	: <i>Caesalpinia</i> L
Spesies	: <i>Caesalpinia bonduc</i> L. Rox (Kusrahman, 2012).

2.1.2 Morfologi

Daun berbentuk oval, ujung tumpul pada tanaman muda dan ujung runcing pada tanaman tua, posisi daun sejajar, memiliki tangkai daun. Batang menjalar, sepanjang batang dipenuhi dengan duri, warna kulit batang muda hijau sedang batang yang sudah tua berwarna coklat, merambat pada batang lain, panjangnya

dapat mencapai puluhan meter, dengan buah muda berwarna hijau dan jika tua berwarna coklat tua, buah dipenuhi dengan duri yang tajam. Dalam tiap buah terdapat 4 – 6 biji. Biji kebiul berbentuk bulat, biji kebiul muda berwarna hijau dengan kulit biji yang lunak sedangkan biji kebiul tua memiliki berwarna abu-abu dan kulit biji yang sangat keras. Daging biji kebiul terasa pahit dan kelat (bahasa serawai). Pada saat biji telah matang maka kelopak akan pecah dan biji-biji akan terhambur keluar (Kusrahman, 2012)

2.1.3 Habitat Alami Tumbuhan Kebiul

Tumbuhan kebiul hidup di hutan yang lembab dengan tanah basah, terlindung oleh tanaman besar sehingga sinar matahari agak terhalang. Tekstur tanah lembut seperti tanah liat, tumbuhan ini banyak ditemukan diperbatasan hutan lindung dengan hutan tanaman rakyat (daerah perkebunan tradisional penduduk di sekitar hutan), (Kusrahman, 2012).

2.1.4 Etnofarmakologi Tumbuhan Kebiul

Masyarakat suku Serawai di Kabupaten Bengkulu Selatan telah lama menggunakan biji kebiul untuk mengobati berbagai penyakit. Proses penggunaan biji kebiul sebagai obat yaitu dengan disangrai lebih dulu sampai mutung (bahasa Serawai) atau gosong (bahasa Jawa) untuk mengambil daging bijinya kemudian dikonsumsi untuk obat. Beberapa penyakit yang dapat diobati dengan serbuk biji kebiul adalah penyakit malaria (menggigil), penyakit kencing manis (diabetes melitus), darah tinggi, kencing batu (sakit pinggang) (Kusrahman, 2012).

2.1.5 Tinjauan Farmakologi

Berdasarkan penelitian sebelumnya biji *Caesalpinia bonducella* telah menunjukkan aktivitas farmakologi sebagai berikut:

Pada penelitian Shukla dkk.(2009), dilakukan untuk melihat aktivitas antiosidan alami dari biji *Caesalpinia bonducella* yang dibandingkan dengan asam askorbat. Dimana hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak biji *caesalpinia bunducella* memiliki potensi yang signifikan untuk digunakan sebagai agen antioksidan alami.

Pada penelitian Shukla dkk., (2010), dimana penelitian ini melihat aktivitas anti-inflamasi dengan menggunakan arthritis formalin dan metoda kantong granuloma. Dimana hasil penelitian ini dengan pemberian ekstrak biji *Caesalpinia bunducella* pada dosis 250 mg/kgBB memiliki anti-inflamasi yang baik dibandingkan dengan fenilbutazon.

Pada penelitian Archana dkk. (2005), dimana penelitian ini untuk mengetahui aktivitas antipiretik dan analgesik dari ekstrak etanol (70%) biji *Caesalpinia bonducella* pada tikus albino dengan dosis 30, 100 dan 300 mg/kg oral dengan metoda hot plate dan tail flick. Dimana hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol biji *Caesalpinia bonducella* memiliki aktivitas antipiretik dan antipiretik analgetik yang signifikan.

2.2 Konsep Dasar Inflamasi

2.2.1 Defenisi Inflamasi

Inflamasi merupakan respons protektif setempat yang ditimbulkan oleh cedera atau kerusakan jaringan, yang berfungsi menghancurkan, mengurangi, atau

mengurung (sekuestrasi) baik agen pencedera maupun jaringan yang cedera itu (Dorland, 2002).

Inflamasi (peradangan) merupakan reaksi kompleks pada jaringan ikat yang memiliki vaskularisasi akibat stimulus eksogen maupun endogen. Dalam arti yang paling sederhana, inflamasi adalah suatu respon protektif yang ditujukan untuk menghilangkan penyebab awal jejas sel serta membuang sel dan jaringan nekrotik yang diakibatkan oleh kerusakan sel (Robbins, 2004). Penyebab inflamasi antara lain mikroorganisme, trauma mekanis, zat-zat kimia, dan pengaruh fisika. Tujuan akhir dari respon inflamasi adalah menarik protein plasma dan fagosit ke tempat yang mengalami cedera atau terinfeksi agar dapat mengisolasi, menghancurkan, atau menginaktivkan agen yang masuk, membersihkan debris dan mempersiapkan jaringan untuk proses penyembuhan (Corwin, 2008)

2.2.2 Tanda-tanda inflamasi

Inflamasi ditandai oleh adanya vasodilatasi lokal yang mengakibatkan terjadinya aliran darah setempat yang berlebihan (peningkatan permeabilitas kapiler). Tanda umum yang terjadi pada proses inflamasi yaitu rubor (kemerahan), tumor (pembengkakan), calor (panas setempat yang berlebihan), dolor (rasa nyeri), dan functio laesa (gangguan fungsi/kehilangan fungsi jaringan yang terkena).

1. Rubor (kemerahan), merupakan tahap pertama dari proses inflamasi yang terjadi karena darah terkumpul di daerah jaringan yang cedera akibat dari pelepasan mediator kimia tubuh (kinin, prostaglandin, histamin). Ketika reaksi radang timbul maka pembuluh darah melebar (vasodilatasi) sehingga lebih banyak darah yang mengalir ke dalam jaringan yang cedera.

2. Tumor (pembengkakan), merupakan tahap kedua dari inflamasi yang ditandai adanya aliran plasma ke daerah jaringan yang cedera.
3. Kalor (panas), disebabkan oleh bertambahnya pengumpulan darah (banyaknya darah yang disalurkan), atau karena pirogen yang mengganggu pusat pengaturan panas pada hipotalamus.
4. Dolor (nyeri), disebabkan banyak hal seperti : perubahan lokal ion-ion tertentu, hiperalgesia, dan pembengkakan jaringan yang meradang.
5. Functiolaesa (gangguan fungsi/kehilangan fungsi jaringan yang terkena), karena adanya perubahan, gangguan, kegagalan fungsi, pada daerah yang bengkak dan sakit disertai dengan adanya sirkulasi yang abnormal akibat penumpukan dan aliran darah yang meningkat maka akan menghasilkan lingkungan lokal yang abnormal sehingga jaringan yang terinflamasi tersebut tidak dapat berfungsi secara normal (Price dan Wilson, 2005).

2.2.3 Mekanisme terjadinya inflamasi

Mekanisme inflamasi diawali dengan adanya iritasi, di mana sel tubuh memulai proses perbaikan sel tubuh yang rusak. Sel rusak dan yang terinfeksi oleh bakteri dikeluarkan dalam bentuk pus (nanah). Kemudian diikuti dengan proses terbentuknya jaringan-jaringan baru untuk menggantikan yang rusak. Jika inflamasi tidak kunjung reda, berarti respon imun terjadi dalam waktu yang lama dan dapat merusak tubuh. Hal ini terjadi karena zat atau organisme pemicu inflamasi dapat bertahan lama pada pembuluh darah dan mengakibatkan penumpukan plak. Plak dalam pembuluh darah tersebut justru dianggap sebagai zat berbahaya dan akibatnya proses inflamasi kembali terjadi. Akhirnya terjadilah kerusakan pembuluh darah.

Kerusakan akibat adanya sel inflamasi dapat terjadi pada pembuluh darah tubuh, jantung hingga otak (McGavin dan Zachary, 2007).

Inflamasi dapat terjadi secara akut maupun kronis. Inflamasi akut melibatkan beberapa faktor. Respon inflamasi akut dimulai dari berbagai rangsangan endogen dan eksogen yang mengakibatkan cedera pada jaringan vaskularisasi. Respon terhadap cedera dimulai dari hiperemi aktif dengan peningkatan aliran darah ke jaringan luka atau cedera dan diikuti dilatasi arteri dan kapiler. Hal ini difasilitasi prostaglandin, leukotrien dan oksida nitrat. Dilatasi arteri dan kapiler menyebabkan darah tergenang dan aliran melambat di daerah cedera sehingga terjadi radang dan lebih hangat (color) dan berwarna merah (rubor).

Daerah hiperemi membentuk kapsul yang melokalisasi sarang radang. Stimulasi mediator inflamasi seperti vasoaktif amin, komponen pelengkap C3a dan C5a, bradikinin, leukotrien dan platelet activating factor (PAF) memicu kontraksi dan relaksasi sel-sel endotel dinding kapiler yang menimbulkan celah antar endotel. Hal ini menyebabkan terjadinya permeabilitas vaskuler dan diikuti dengan peningkatan tekanan hidrostatis di dalam kapiler mendorong cairan plasma darah (albumin dan fibrinogen) keluar ke daerah ekstrasvaskuler. Cairan menggenangi daerah interstitium sehingga mengakibatkan terjadinya edema radang atau cairan yang menghasilkan kebengkaan lokal (tumor).

Protein penting di dalam eksudat akan teraktivasi menjadi mediator inflamasi. Protein yang telah teraktivasi menjadi mediator inflamasi diantaranya faktor penggumpal darah (trombin dan fibrinopeptida), faktor fibrinolisis plasmin dan produk pemecah fibrin, komplemen C3a, C5a dan C5b-9 serta bradikinin. Mediator

inflamasi yang menimbulkan nyeri (dolor) di lokasi radang adalah prostaglandin.

Setelah terjadinya hiperemi dan pembentukan edema radang, diikuti pengeluaran leukosit dari lumen pembuluh darah ke lokasi terjadinya perubahan pengaliran leukosit pada daerah inflamasi yang mengalami vasodilatasi kapiler tersebut. Pada kondisi vaskuler normal, sel darah mengalir di tengah arus. Pada aliran darah yang lambat terjadi marginasi pengaliran leukosit. Pengiriman leukosit ke lokasi kerusakan jaringan melalui beberapa tahapan diantaranya:

1. Marginasi leukosit dalam pengaliran darah,
2. Leukosit pada dinding endotel vaskuler dengan menggelinding (rolling),
3. Leukosit berhenti dengan melekat pada reseptor di permukaan endotel (adhesi)
4. Terjadi ekstravasasi leukosit dengan cara bergerak amoeboid menembus gap dinding endotel dan membran basal dan kemudian keluar dari vaskuler (diapedesis)

Migrasi leukosit dalam vaskuler berlanjut setelah berada di daerah ekstrasvaskuler, pada jaringan interstitium leukosit mencapai sumber stimulus kemotaktik di dalam sarang inflamasi. Fenomena kemotaksis menuntut perjalanan amoeboid leukosit dengan mengikuti alur datangnya bahan kemotaktik mediator inflamasi dengan arah menuju konsentrasi yang lebih pekat. Leukosit yang sampai di interstitium daerah inflamasi bertindak sebagai sel-sel radang dan bergabung dengan ekstravasasi cairan plasma sebelumnya sebagai bagian dari eksudat serous. Netrofil merupakan leukosit pertama yang memasuki eksudat pada peradangan akut. Fungsi sel radang di sarang inflamasi akut adalah untuk melaksanakan fagositosis dan degradasi terhadap agen perusak, agen infeksius

seperti bakteri, virus dan mikroba lainnya, sel dan jaringan nekrotik serta antigen asing. Selain bersifat kemotaktik, mediator inflamasi memiliki kemampuan meningkatkan potensi atau aktivasi bermacam-macam sel di dalam lokasi inflamasi seperti sel radang, endotel dan fibroblast. Pada proses fagositosis oleh leukosit terjadi proses eliminasi, fagosom bersatu dengan lisosom menjadi fagolisosom dan proses penghancuran secara enzimatik terjadi. (Mc Gavin dan Zachary, 2007).

Rangsangan ini menyebabkan lepasnya mediator inflamasi seperti histamin, serotonin, bradikinin, dan prostaglandin yang menimbulkan reaksi radang berupa panas, nyeri, merah, bengkak, dan disertai gangguan fungsi. Kerusakan sel yang terkait dengan inflamasi berpengaruh pada selaput membran sel yang menyebabkan leukosit mengeluarkan enzim-enzim lisosomal dan asam arakhidonat (Debnath *dkk*, 2012).

Metabolisme asam arakhidonat menghasilkan prostaglandin yang mempunyai efek pada pembuluh darah, ujung saraf, dan pada sel-sel yang terlibat dalam inflamasi. Inflamasi pada dasarnya merupakan sebuah mekanisme pertahanan terhadap infeksi dan perbaikan jaringan tetapi terjadinya inflamasi secara terus-menerus (kronis) juga dapat menyebabkan kerusakan jaringan dan bertanggung jawab pada mekanisme terjadinya beberapa penyakit (Abbas *dkk*, 2014).

2.2.4 Antiinflamasi

Antiinflamasi adalah sebutan untuk obat/agen yang bekerja melawan atau menekan proses peradangan (Dorlan, 2002). Terdapat tiga mekanisme yang digunakan untuk menekan peradangan yaitu pertama penghambatan enzim

siklooksigenase. Siklooksigenase mengkatalisa sintesis pembawa pesan kimia yang poten yang disebut prostaglandin, yang mengatur peradangan, suhu tubuh, analgesia, agregasi trombosit dan sejumlah proses lain. Mekanisme kedua untuk mengurangi peradangan melibatkan penghambatan fungsi-fungsi imun. Dalam proses peradangan, peran prostaglandin adalah untuk merangsang sistem imun. Infiltrasi jaringan lokal oleh sel imun dan pelepasan mediator kimia oleh sel-sel seperti itu menyebabkan gejala peradangan (panas, kemerahan, nyeri). Mekanisme ketiga untuk mengobati peradangan adalah mengantagonis efek kimia yang dilepaskan oleh sel-sel imun. Histamin, yang dilepaskan oleh sel mast dan basofil sebagai respon terhadap antigen, menyebabkan peradangan dan konstriksi bronkus dengan mengikat respon histamin pada sel-sel bronkus (Olson, 2003). Sampai beberapa tahun yang lalu, ada dua jalan untuk mengurangi peradangan secara farmakologi. Pendekatan yang pertama adalah kortikosteroid, dan yang kedua adalah penggunaan obat antiinflamasi non steroid (AINS) (Olson, 2003).

1. Antiinflamasi Non Steroid (AINS)

NSAID merupakan obat-obat yang bekerja dengan cara menghambat sintesis prostaglandin dan memiliki efek analgetik dan antipiretik yang berbeda-beda terutama dipakai untuk meredakan nyeri dan inflamasi. Waktu paruh NSAID sangat berbeda-beda, beberapa memiliki waktu paruh yang singkat, sedangkan yang lain memiliki waktu paruh yang sedang sampai panjang sekitar 8-24 jam.

Ada tujuh kelompok NSAID :

a. Salisilat

Salah satu obat yang termasuk golongan salisilat adalah aspirin. Aspirin adalah agen antiinflamasi yang bekerja dengan cara menghambat prostaglandin.

Aspirin tidak boleh dipakai bersama dengan NSAID karena mengurangi kadar NSAID dalam darah dan aktifitasnya.

b. Derivat asam para-klorobenzoat, atau indol

Obat-obat yang termasuk golongan ini diantaranya indomethasin. Obat ini digunakan sebagai antirematik, antigout dan pada penderita osteoarthritis dan merupakan penghambat prostaglandin yang kuat. Waktu paruh obat ini sedang yaitu 4-11 jam. Obat lain yang termasuk golongan ini adalah sulindak dan tolmetin.

c. Derivat Pirazolon

Fenilbutazon 96% berikatan dengan protein, obat ini digunakan pada penderita gout akut dan arthritis rheumatoid. Waktu paruh yang dimiliki obat ini sangat panjang selama 50-65 jam sehingga sering menimbulkan reaksi yang merugikan serta akumulasi obat. Obat pirazolon lainnya yaitu oksifenbutazon, aminopirin dan dipiron.

d. Derivat Asam Proprionat

Kelompok ini merupakan kelompok NSAID yang relatif baru. Obat golongan ini berikatan tinggi dengan protein. Contoh obat golongan ini adalah ibuprofen yang saat ini banyak digunakan karena lebih baik ditoleransi daripada NSAID lain. Ibuprofen bekerja dengan cara menghambat sintesis prostaglandin. Obat lainnya dari golongan ini yaitu fenoprofen kalsium, naproksen, suprofen, ketoprofen, dan flurbiprofen.

e. Fenamat

Kelompok ini digunakan pada arthritis akut dan kronis. Yang termasuk golongan ini adalah meklofenamat sodium monohidrat dan asam mefenamat.

f. Oksikam

Piroksikam adalah NSAID yang diindikasikan untuk artritis reumatoid dan osteoarthritis. Obat ini memiliki waktu paruh panjang dan tidak boleh digunakan bersama aspirin atau NSAID lainnya.

g. Derivat Asam Fenilasetat

Contoh obat golongan ini adalah diklofenak sodium (voltaren), memiliki waktu paruh 8-12 jam. Obat ini diindikasikan untuk artritis reumatoid, osteoarthritis dan ankilosing spondilitis.

h. Lain-lain

Contohnya adalah ketorolac yang merupakan agen antiinflamasi injeksi pertama. Bekerja dengan cara menghambat sintesis prostaglandin dan digunakan pada penanganan nyeri jangka pendek. Obat ini diberikan secara intramuskular dalam dosis 30-60 mg (Joyce dan Evelyn, 1996).

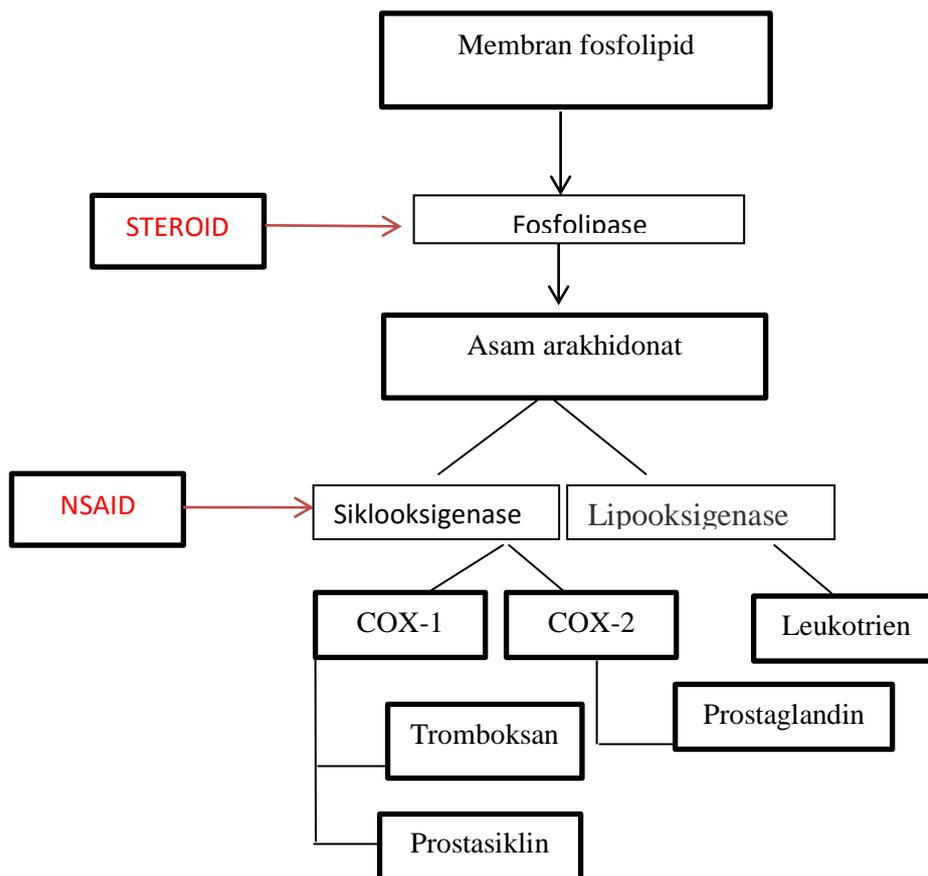
2. Antiinflamasi Steroid (AIS)

Bekerja dengan cara menghambat pelepasan prostaglandin melalui penghambatan metabolisme asam arakhidonat. Dalam klinik umumnya kortikosteroid dibedakan menjadi 2 golongan besar, yaitu glukokortikoid dan mineralokortikoid. Efek ini didapat dari proses penurunan dan penghambatan limfosit serta makrofag perifer A2 secara tidak langsung yang menghambat pelepasan asam arakidonat, prekursor prostaglandin dan leukotrien (Mycek, 2001). Setelah pemberian dosis tunggal glukokortikoid bekerja singkat dengan konsentrasi neutrofil meningkat yang menyebabkan pengurangan jumlah sel pada daerah peradangan (Katzung, 2002).

Contoh obat golongan kortikosteroid adalah prednisone, prednisolone, dan deksametason. Obat ini memiliki waktu paruh yang panjang, lebih dari 24 jam (Joyce dan Evelyn, 1996).

2.2.5 Natrium Diklofenak

Natrium diklofenak merupakan golongan antiinflamasi nonsteroid (NSAID) derivat asam fenil asetat yang dipakai untuk mengobati penyakit reumatik dengan kemampuan menekan tanda-tanda dan gejala-gejala antiinflamasi. Natrium diklofenak cepat diserap sesudah pemberian oral, tapi bioavailabilitas sistemiknya rendah hanya antara 30-70 % sebagai efek metabolisme lintas pertama dihati. Waktu paruh natrium diklofenak juga pendek yakni hanya 1-2 jam. Efek-efek yang tidak diinginkan bisa terjadi kira-kira 20% dari pasien meliputi distres gastrointestinal, pendarahan gastrointestinal yang terselubung, dan timbulnya ulserasi lambung (Katzung, 2002).



Gambar 2. Peranan Obat Antiinflamasi

2.2.6 Metode Uji Antiinflamasi

Aktivitas antiinflamasi suatu bahan obat adalah kemampuan obat dalam mengurangi atau menekan derajat edema yang dihasilkan oleh induksi hewan uji. Ada beberapa macam teknik pengujian untuk mengevaluasi efek antiinflamasi, yaitu

1. Model Inflamasi Akut

Beberapa metode yang dapat digunakan untuk uji model inflamasi akut, diantaranya (Suralkar, 2008):

a) Induksikaraginan

Induksi edema dilakukan pada kaki hewan uji, dalam hal ini tikus disuntikkan suspensi karaginan secara subplantar. Obat uji dapat diberikan secara oral maupun topikal. Volume edema kaki tikus diukur dengan menggunakan alat plestismometer. Aktivitas antiinflamasi obat uji ditunjukkan oleh kemampuan obat uji mengurangi edema yang diinduksi pada telapak kaki tikus.

b) Induksihistamin

Metode yang digunakan hampir sama dengan metode induksi karaginan, perbedaannya terletak pada penginduksi yang digunakan yaitu larutan histamin 1%.

c) Induksi asamasetat

Metode ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas inhibisi obat terhadap peningkatan permeabilitas vaskular yang diinduksi oleh asam asetat secara intraperitoneal. Cara kerja metode ini yaitu : sejumlah pewarna (*Evan's Blue* 10%) disuntikkan secara intravena. Aktivitas inhibisi obat uji terhadap peningkatan permeabilitas vaskular ditunjukkan oleh kemampuan obat uji dalam mengurangi konsentrasi pewarna yang menempel pada ruang abdomen yang disuntikkan sesaat setelah induksi asam asetat.

d) Induksi xylene pada edema dauntelinga

Hewan uji diinduksi xylene dengan mikropipet pada kedua permukaan daun telinga kanannya. Telinga kiri digunakan sebagai kontrol. Terdapat dua parameter yang diukur dalam metode ini, yaitu ketebalan dan bobot dari daun telinga mencit. Ketebalan daun telinga mencit yang telah diinduksi diukur dengan menggunakan

jangka sorong digital, lalu bandingkan dengan daun telinga kiri. Jika menggunakan parameter bobot daun telinga, maka daun telinga mencit dipotong dan ditimbang, lalu beratnya dibandingkan dengan bobot daun telinga kirinya.

e) Induksi asam arakhidonat pada edema dauntelinga

Metode yang digunakan hampir sama dengan metode induksi xylene, perbedaannya terdapat pada penginduksi yang digunakan yaitu asam arakhidonat yang diberikan secara topikal pada kedua permukaan daun telinga hewan uji.

f) Induksi Putih Telur

Metode yang digunakan hampir sama dengan metode induksi karaginan, perbedaannya terletak pada penginduksi yang digunakan yaitu putih telur.

2. Model InflamasiKronik

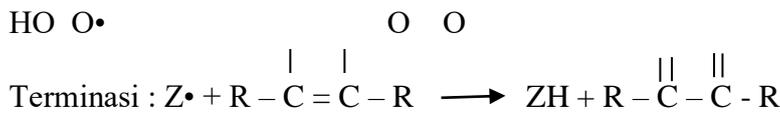
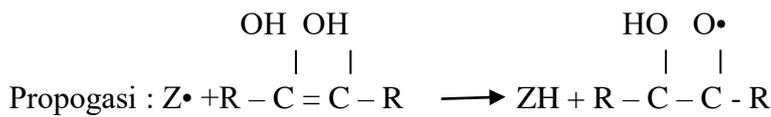
Model ini digunakan untuk menemukan obat-obat yang dapat memodulasi proses penyakit dan termasuk didalamnya *sponge* dan *pellets implants* serta *granuloma pouches* yang terdeposit dalam jaringan granulasi. Selain itu, *adjuvant induced arthritis* juga termasuk dalam model inflamasi kronik (Singh *dkk*, 2008).

2.3. Radikal Bebas

Radikal bebas adalah atom atau molekul yang memiliki elektron tidak berpasangan. Elektron yang tidak berpasangan memiliki kecenderungan untuk mencari pasangannya dengan cara menarik atau menyerang elektron dari senyawa lain yang dapat mengakibatkan terbentuknya senyawa baru. Oleh karena itu, radikal bebas kecenderungan berupa reaksi berantai. Hal ini dapat menimbulkan senyawa tidak normal dan merusak sel-sel didalam tubuh (Winarsi, 2007).

2.3.1. Reaksi umum pembentukan radikal bebas(Rohmatussolihat, 2009)

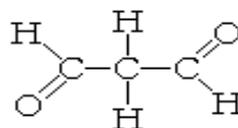
Terbentuknya senyawa radikal, baik radikal bebas endogen maupun eksogen terjadi melalui sederetan reaksi. Mula-mula terjadi pembentukan awal radikal bebas (inisiasi), lalu perambatan atau terbentuknya radikal baru (propagasi), dan tahap terakhir yaitu pemusnahan atau perubahan senyawa radikal menjadi non radikal (terminasi). Deretan reaksi tersebut dapat berlangsung seperti berikut:



2.4. Malondialdehida (MDA)

2.4.1. Definisi

Malondialdehid (MDA) merupakan produk yang sangat beracun yang sebagian diproduksi dari peroksida lipid yang merupakan turunan dari produk radikal bebas. Radikal bebas dapat meningkatkan peroksidasi lipid yang kemudian akan mengalami dekomposisi menjadi malondialdehyde (MDA) dalam darah. Radikal bebas memiliki waktu paruh yang sangat pendek sehingga sulit diukur. Kerusakan jaringan lipid akibat senyawa oksidatif reaktif dapat diperiksa menggunakan senyawa malondialdehid (MDA). Malondialdehid adalah senyawa dialdehida yang merupakan senyawa hasil peroksidasi lipid. Senyawa ini memiliki tiga rantai karbon, dengan rumus molekul $\text{C}_3\text{H}_4\text{O}_2$.



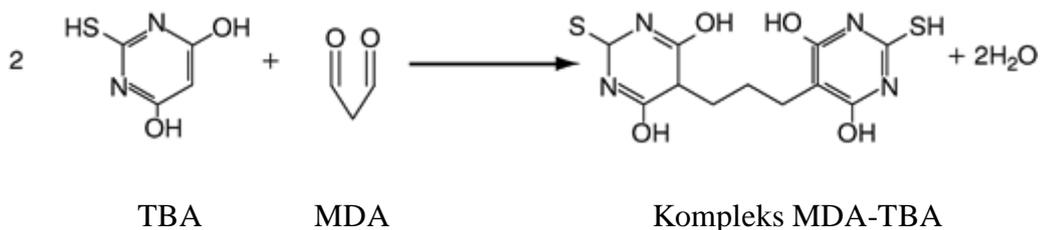
Gambar 3. Struktur Kimia Malondialdehyde (Latifa et al, 2015)

2.4.2. Pembentukan MDA

Malondialdehyde terbentuk dari peroksidasi lipid (*lipid peroxidation*) pada membran sel yang merupakan reaksi radikal bebas (radikal hidroksi) seperti OH^\cdot dengan *Poly Unsaturated Fatty Acid* (PUFA). Mengatakan bahwa individu yang menderita inflamasi mengalami berbagai gangguan fisiologis seperti abnormalitas metabolisme karbohidrat, lipid dan protein.. Pembentukan senyawa oksigen reaktif dapat meningkatkan modifikasi lipid, DNA, dan protein pada berbagai jaringan yang mengakibatkan ketidakseimbangan antara oksidan antioksidan yang disebut dengan stres oksidatif sehingga terbentuk MDA (Nutta *et al*, 1999).

2.4.3. Cara Pemeriksaan dan Interpretasi Hasil

Terdapat beberapa metode yang dapat digunakan, untuk memeriksa kadar MDA plasma, salah satunya *TBA (Thiobarbituric Acid) reactivity test*, yang dapat dilakukan baik secara *invivo* maupun *invitro*. Tes ini didasarkan pada reaksi kondensasi antara satu molekul MDA dengan dua molekul TBA pada kondisi asam. Hasilnya adalah pigmen berwarna merah yang dapat diukur pada panjang gelombang 532 nm, dan jumlah MDA yang terdeteksi menggambarkan banyaknya peroksidasi lipid yang terjadi .



Gambar 4. Reaksi pembentukan senyawa kompleks MDA-TBA berwarnamerah muda yang dapat diukur serapannya pada panjang gelombang 532 nm (Siswanto, 2008).

Jumlah MDA yang terdeteksi menunjukkan banyaknya peroksidasi lipid yang terjadi. Tes TBA selain mengukur kadar MDA yang terbentuk karena proses peroksidasi lipid juga mengukur produk non-volatil yang terbentuk akibat panas yang ditimbulkan pada saat pengukuran kadar MDA plasma. Kadar MDA dapat diperiksa baik di plasma, serum, jaringan, maupun urin.

Pengukuran MDA dipengaruhi oleh spesimen homolisis dan jenis specimen. Sampel homolisis dapat menyebabkan peningkatan kadar MDA oleh karena itu pemisahan sampel harus dilakukan secepat mungkin (Winarsi, 2007).

2.5 Hubungan Inflamasi dengan Kadar Malondialdehida

Inflamasi ditandai oleh infiltrasi leukosit dan sel fagosit ke situs peradangan (Kolawole *et al*, 2013). Fagositosis yang terjadi pada proses inflamasi akan merangsang peningkatan konsumsi oksigen dan menghasilkan oksigen reaktif seperti radikal ion superoksida (O_2^-), radikal hidroksil (HO) dan peroksil (ROO, OOH). Pembentukan radikal bebas makin meningkat pada fase inflamasi kronis. Kadar radikal bebas *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang terlalu tinggi, tidak mampu dinetralisir oleh antioksidan endogen sehingga akan terjadi keadaan yang tidak seimbang antara *Reactive Oxygen Species* (ROS) dengan antioksidan sehingga terjadi stress oksidatif oksidatif (Miguel, 2010).

Pada keadaan stress oksidatif, kelebihan radikal bebas dapat meyerang sel dan bereaksi dengan lipida, protein dan asam nukleat sehingga menimbulkan kerusakan membran sel atau bahkan kerusakan sel secara keseluruhan dan menyebabkan terjadinya disfungsi organ (Kris-Etherton *et al*, 2004; Conforti *et al*, 2008). Stress oksidatif dapat ditunjukkan dengan meningkatnya kadar malondialdehida (MDA) serum maupun jaringan (Marjani, 2010).

Membran sel sangat rentan terhadap *Reactive Oxygen Species* (ROS), oleh karena itu diperlukan senyawa antioksidan dan antiinflamasi yang dapat melindungi sel. Senyawa antioksidan akan menghambat atau memperlambat oksidasi melalui penangkapan radikal bebas, sedangkan senyawa antiinflamasi akan menstabilkan membran sel.

BAB III.METODA PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan Juni – Agustus 2019 di Laboratorium Penelitian Farmakologi Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia-Yayasan Perintis (STIFI-YP)Padang dan Laboratorium Biokimia, Fakultas Kedokteran, UNAND.

3.2. Alat dan Bahan

3.2.1. Alat

Alat-alat yang digunakan adalah botol maserasi yang bewarna gelap, seperangkat alat *rotary evaporator*, timbangan analitik, timbangan hewan, kandang hewan, lumpang, stamfer, jarum oral, spatel, kapas alkohol, corong, penangas air, vial, gunting, plestimometer, alat suntik, krus porselen, , gelas ukur, pipet tetes, plat tetes, pisau, tabung reaksi, alat sentrifus, tempat serum, *vortex mixer*, waterbath dan Spektrofotometer UV- Vis.

3.2.2. Bahan

Bahan-Bahan yang digunakan adalah ekstrak biji kebiul 70% (*Caesalpinia bonduc (L)) Roxb*, etanol 70%, putih telur, Na CMC 0,5%, serbuk Mg, H₂SO₄, HCl, FeCl₃, asetat anhidrat, kloroform amoniak, aquadest, TriChloroasetat (TCA), Thio barbituric Acid (TBA) dan standar MDA.Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih jantan galur wistar.

3.3 Hewan Percobaan

Hewan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih jantan yang sehat berumur 2-3 bulan dengan berat badan 200-300 g sebanyak 30 ekor. Sebelum penelitian dilakukan, tikus diaklimatisasi selama 7 hari.

3.4 Metoda Penelitian

3.4.1. Pengambilan Sampel dan Identifikasi

Tumbuhan kebiul ini diperoleh di hutan di Desa Muara Danau, Kecamatan Seginim, Kabupaten Bengkulu Selatan, Provinsi Bengkulu.

3.4.2. Identifikasi Sampel

Identifikasi sampel dilakukan di Herbarium Universitas Andalas Jurusan Biologi Fakultas FMIPA, Universitas Andalas.

3.4.3 Pembuatan Ekstrak

Sampel yang diambil adalah bagian dalam buah kebiul (inti). Sampel biji kebiul sebanyak 2500 g di bersihkan kemudian biji kebiul tersebut dipecahkan untuk mendapatkan bagian dalam (inti) dari biji kebiul dan didapatkan berat sampelnya 900 gram kemudian di haluskan dengan cara ditumbuk untuk memperkecil ukuran simplisia. Pembuatan ekstrak etanol 70% buah kebiul menggunakan metode maserasi, karena maserasi tidak memerlukan proses pemanasan sehingga dapat menghindari rusaknya zat – zat dalam serbuk buah kebiul yang tidak tahan panas. 900 gram serbuk dimasukkan ke dalam botol tertutup, kemudian ditambahkan pelarut etanol 70% sampai serbuk terendam. Maserasi didiamkan selama 3x24 jam sambil sesekali di aduk. Penyaringan pertama filtrat diambil dengan cara disaring dengan kertas saring, kemudian ampas yang didapat diremaserasi dengan pelarut etanol 70% yang baru selamasampai pelarut yang digunakan warnanya tidak pekat lagi. Filtrat

yang diperoleh kemudian diuapkan pelarutnya dengan menggunakan *vacum rotary evaporator* dengan suhu 60°C hingga didapatkan ekstrak kental.

3.5. Evaluasi Ekstrak Etanol Biji Kebiul

a. Pemeriksaan Organoleptis

Pengamatan dilakukan secara visual dengan mengamati bentuk, warna dan bau.

b. Penentuan Rendemen Ekstrak

Timbang sampel biji kebiul (*Caesalpinia bonduc* L. Roxb) kemudian hasil ekstraksi yang diperoleh ditimbang kembali. Hitung rendemen dengan rumus :

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Berat ekstrak yang diperoleh}}{\text{Berat sampel basah}} \times 100\%$$

c. Pemeriksaan Kadar Abu (Departemen Kesehatan RI,1995)

Ekstrak dari biji kebiul (*Caesalpinia bonduc* L. Roxb) ditimbang sebanyak 2 gram, biji kebiul dimasukkan ke dalam krus yang telah dipijarkan dan ditara, kemudian diratakan. Krus dipijarkan perlahan-lahan hingga arang habis, kemudian ekstrak biji kebiul di dalam krus didinginkan dalam desikator kemudian ditimbang. Setelah itu arang tersebut dimasukkan dalam furnes selama 4 jam pada suhu 600°C, sehingga terbentuk abu, dinginkan dalam desikator, lalu ditimbang berat abu yang diperoleh menggunakan rumus :

$$\% \text{ Kadar Abu} = \frac{(C - A)}{(B - A)} \times 100\%$$

Keterangan : A = Berat krus kosong

B = Berat krus + sampel sebelum dipijarkan

C = Berat krus + sampel setelah dipijarkan

d. Pemeriksaan Susut Pengerinan (Departemen Kesehatan RI,1997)

Krus porselen yang sebelumnya telah ditimbangdikeringkan selama 30 menit di dalam oven pada suhu 105^0 C dan didinginkan dalam desikator (A). Timbang ekstrak dan fraksi sebanyak 1 gram.Lalu masukkan ekstrak biji kebiul ke dalam krus tersebut dan timbang (B). Kemudian perlahan-perlahan krus digoyang agar ekstrak merata.Krus porselen dimasukkan ke dalam oven, buka tutupnya dan biarkan tutup ini berada dalam oven. Panaskan selama 1 jam pada suhu 105^0 C, dinginkan dan masukkan ke dalam desikator, timbang kembali. Ulangi perlakuan seperti di atas hingga bobot tetap (selisih penimbangan terakhir dengan penimbangan sebelumnya 0,001) (C). Hitung susut pengerinan dengan rumus:

$$\% \text{ Susut pengerinan} = \frac{(B - A)(C - A)}{(B - A)} \times 100\%$$

Keterangan : A = Berat krus kosong

B = Berat krus + sebelum sampel dipanaskan

C = Berat krus + setelah sampel dipanaskan

3.6. Uji Skrinning Fitokimia (Harbone,1987)

Ekstrak kental biji kebiul (*Caesalpinia bonduc* L. Roxb) ditimbang 0,5 g kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ekstrak kental biji kebiul ditambahkan kloroform danmasing-masing 5 ml (1:1) ekstrak kental kebiu kemudian kocok kuat biarkan sejenak hingga terbentuk 2 lapisan yaitu air dan kloroform.

a. Lapisan Air

1. Uji flavonoid (metode *sianidin test*)

Pada plat tetes diletakkan 1-2 tetes lapisan air, tambahkan sedikit serbuk logam Mg dan beberapa tetes $\text{HCL}_{(p)}$, timbulnya warna kuning-oranye sampai merah menunjukkan adanya senyawa flavonoid.

2. Uji fenolik

Pada plat tetes diletakkan 1-2 tetes lapisan air,, kemudian tambahkan 1-2 tetes pereaksi FeCl_3 , terbentuknya warna biru menandakan adanya kandungan fenolik.

3. Uji saponin

Lapisan air dimasukkan dalam tabung reaksi kemudian kocok, apabila terbentuk busa yang permanen (± 15 menit) menunjukkan adanya saponin.

b. Lapisan Kloroform

1. Uji terpenoid dan steroid (metode *Simes*)

Lapisan kloroform disaring dengan norit, hasil saringan dipipet 2-3 tetes dan dibiarkan mengering pada plat tetes, setelah kering ditambahkan 2 tetes asam asetat anhidrat dan 1 tetes asam sulfat pekat (pereaksi Lieberman-Bouchard) jika terbentuk warna merah berarti positif terpenoid dan jika terbentuk warna biru atau hijau berarti positif steroid.

2. Uji alkaloid (metode *Culvenore-Firstgerald*)

2-3 tetes lapisan kloroform ditambahkan dengan 10 ml kloroform amoniak dan 1 tetes asam sulfat 2 N, kemudian kocok kuat dan diamkan sampai terbentuk

dua lapisan asam lalu tambahkan 1-2 tetes pereaksi mayer, reaksi positif alkaloid ditandai dengan adanya kabut putih hingga gumpalan putih.

3.7 Penyiapan Hewan Percobaan

Hewan yang digunakan adalah tikus putih jantan umur 2-3 bulan dengan berat antara 200-300 g sebanyak 30ekor. Hewan percobaan dibagi 6 kelompok yang terdiri 5 ekor dari masing – masing kelompok. Sebelum diperlakukan tikus diaklimatisasi selama 7 hari dengan diberi makan dan minum yang cukup. tikus yang akan digunakan adalah tikus yang sehat dan tidak menunjukkan perubahan berat badan berarti (deviasi maksimal 10 %), serta secara visual menunjukkan perlakuan yang normal (Vogel, 2002).

3.8 Penentuan Dosis Bahan Uji

a) Dosis ekstrak biji kebiul

Dosis ekstrak biji kebiul yang digunakan pada penelitian ini dengan hewan uji tikus adalah 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB dan 300 mg/kgBB.

b) Dosis Pembanding

Dosis Na. Diklofenak pada manusia = 50 mg/kgBB

Dosis untuk tikus 200 g = dosis pada manusia x faktor konversi

$$= 50 \text{ mg/kgBB} \times 0,018$$

$$= 0,9 \text{ mg/kgBB} / 200 \text{ gBB}$$

$$= 0,9 \text{ mg} \times 1000 / 200 \text{ gr}$$

$$= 4,5 \text{ mg}$$

$$\text{VAO} = 1\% \text{ dari BB}$$

$$= 1/100 \times 200 \text{ gBB}$$

$$= 2 \text{ ml}$$

$$\frac{\text{dosis} / \text{gramBB} \times \text{gramBB}}{\text{VAO}}$$

$$\begin{aligned} \text{[] sediaan uji} &= \frac{4,5 \text{ mg}/200 \text{ mgBB} \times 200 \text{ mg}}{2 \text{ ml}} \\ &= 2,25 \text{ mg/ml} \\ &= 2,25 \text{ mg}/100 \text{ ml} \\ &= 0,022 \% \end{aligned}$$

3.9 Pembuatan sediaan

1. Larutan Penginduksi Ekstrak Putih Telur

Sebanyak 1g putih telur dilarutkan dalam aqua pro injection sampai 100 ml.

2. Pembuatan Suspensi Na CMC 0,5%

Pada penelitian ini larutan kontrolnya adalah suspensi Na CMC 0,5%. Serbuk Na-CMC ditimbang sebanyak 0,5 gram, lalu ditaburkan di atas air panas 1 ml (20 kalinya). NaCMC didalam lumpang, dibiarkan mengembang selama 15 menit, kemudian digerus hingga menjadi masa yang homogen dan diencerkan dengan aquadest 10 ml.

3. Pembuatan larutan pembanding

Cara penimbangan tablet

Ambil Na. Diklofenak 18 mg/100 ml pada tablet 50 mg dengan cara :

- Timbang berat serbuk tablet untuk 1 tablet
- Ambil 20 tablet kemudian gerus

$$\begin{aligned} &= \frac{\text{Berat serbuk 20 tablet}}{\text{Jumlah tablet}} \\ &= \frac{4,3581 \text{ gram}}{20 \text{ tablet}} \end{aligned}$$

$$= 0,2179 \text{ gr}$$

- Maka berat serbuk Na. Diklofenak yang akan diambil untuk mendapatkan 18 mg

$$= (18 \text{ mg} / 50 \text{ mg}) \times \text{jumlah berat 1 tablet}$$

$$= (18 \text{ mg} / 50 \text{ mg}) \times 0,2179 \text{ gram}$$

$$= 0,0784 \text{ gram}$$

Sebanyak 50 mg Na CMC ditaburkan diatas air panas sebanyak 20 kalinya dalam lumpang, dibiarkan selama 15 menit, kemudian digerus hingga menjadi massa yang homogen tambahkan natrium diklofenak 4,5 mg/kgBB lalu digerus homogen dan add kan 100 ml.

4. Pembuatan suspensi ekstrak buah kebiul

Dibuat suspensi ekstrak etanol niji kebiul dengan 3 variasi dosis, ditimbang ekstrak buah kebiul lalu dimasukan kedalam labu ukur kemudian disuspensikan dengan Na CMC 0,5 % b/v sedikit demi sedikit hingga homogen lalu cukupkan masing-masing volumenya 100 ml.

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi} &= \frac{\text{Dosis} / \text{gramBB} \times \text{gramBB}}{\text{VAO}} \\ &= \frac{100 \text{ mg} / 1000 \text{ gram} \times 200 \text{ gram}}{2 \text{ ml}} \\ &= 20 \text{ mg/ml} \\ &= 2000 \text{ mg} / 100 \text{ ml} \\ &= 2 \text{ gram} / 100 \text{ ml} \\ &= 2 \% \end{aligned}$$

3.10. Pelaksanaan Pengujian Aktivitas Antiinflamasi(Sabina dkk,2008)

Hewan uji tikus puih jantan disiapkan sebanyak 30 ekor, tikus ditimbang dan diberi tanda pengenal pada bagian ekor. Kemudian dikelompokkan menjadi 6 kelompok. Pada pengujian ini, masing-masing kelompok terdiri dari 5 tikus. Tikus dipuasakan selama lebih kurang 12 jam.

a) Kelompok I (kontrol normal)

Tidak diberlakukan apa-apa.

b) Kelompok II (kontrol positif)

Hanya diinjeksi ekstrak putih telur 1% kedalam sendi tibio tersiene.

c) Kelompok III (pembeding)

Diberikan secara oral suspensi natrium diklofenak 4,5 mg/kgBB setelah 30 menit diinduksikan ekstrak putih telur 1% kedalam sendi tibio tersiene.

d) Kelompok IV(D1 = 100 mg/kgBB)

Diberikan secara oral suspensi ekstrak biji kebiul 100 mg/kgBB, setelah 30 menit diinduksikan ekstrak putih telur 1% kedalam sendi tibio tersiene.

e) Kelompok V (D2 = 200 mg/kgBB)

Diberikan secara oral suspensi ekstrak biji kebiul 200 mg/kgBB, setelah 30 menit diinduksikan ekstrak putih telur 1% kedalam sendi tibio tersiene.

f) Kelompok VI (D3 = 300 mg/kgBB)

Diberikan secara oral suspensi ekstrak biji kebiul 300 mg/kgBB, setelah 30 menit diinduksikan ekstrak putih telur 1% kedalam sendi tibio tersiene.

Tahap selanjutnya adalah mengukur peradangan yang dihasilkan oleh ekstrak putih telur 1% dihitung dengan cara mengukur volume edema kaki menggunakan plestimometer pada jam ke 1,2,3,dan 4 (Fadlina dkk,2016).

3.11. Pengukuran Kadar MDA serum tikus putih jantan dengan metoda TBA (*Thiobarbiturat Acid*) *Reactivity Test*

Bahan :

1. Darah \pm 3 mL
2. Trichloroasetat (TCA) 5%
3. Thio barbituric Acid (TBA)
4. Standar MDA

Cara Kerja :

Darah yang telah didapatkan dari tikus di sentrifuge, kemudian dipisahkan serumnya. Lalu siapkan tabung sesuai kelompok dengan 0,5 ml serum di dalamnya. Masing-masing dari serum tersebut ditambahkan 2,5 ml TCA 5% dan lalu campurkan dengan menggunakan vortex mixer. Serum yang telah ditambahkan 2,5 ml TCA 5% disentrifuge selama 10 menit, dengan kecepatan 2000 rpm. Dipipet masing-masing 1 ml filtratnya, masukkan ke dalam tabung sesuai dengan labelnya. Tambahkan masing-masing serum dengan 1 ml Thio Barbituric Acid. Inkubasi serum dalam waterbath selama 30 menit pada suhu 100⁰C, kemudian dinginkan. Baca kadar MDA serum dengan spektrofotometer UV-Vis 532 nm.

3.12. Analisis Data

Perlakuan pada masing-masing kelompok hewan uji menghasilkan data terjadinya inflamasi. Kemudian dilakukan uji homogenitas (*Lavene*) yang digunakan sebagai syarat uji *One Way Anova*. Data yang diperoleh terdistribusi normal dan homogen, sehingga dianalisis menggunakan uji *One Way Anova* dan dilanjutkan dengan Uji L Duncan menggunakan *software statistic SPSS 23.0 for Windows Evaluation*

BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil

Dari penelitian yang telah dilakukan didapatkan hasil sebagai berikut:

1. Hasil identifikasi biji kebiul telah dilakukan di herbarium ANDA, Jurusan Biologi, Fakultas Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA), Universitas Andalas Padang yang menyatakan bahwa *sampel* yang digunakan pada penelitian ini adalah Biji Kebiul (*Caesalpinia bonduc L. Roxb.*) yang termasuk family Leguminosae (No: 413/K-ID/ANDA/XI/2018).
(Lampiran 1 dan 2)
2. Hasil dari keterangan kaji etik (No: 543/KEP/FK/2017) telah menyetujui protokol penelitian Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Biji Kebiul Terhadap Kadar MDA Tikus Putih Jantan yang Diinduksi Putih Telur. (Lampiran 3)
3. Hasil pemeriksaan organoleptis menunjukkan bahwa sampel berupa ekstrak kental dan berwarna coklat seperti madu. (Lampiran 8, tabel 1)
4. Hasil pemeriksaan fitokimia didapatkan bahwa ekstrak etanol biji buah kebiul positif terdapat kandungan flavonoid, steroid, saponin, dan fenolik .
(Lampiran 8, tabel 1)
5. Hasil rendemen, kadar abu dan susut pengeringan yang didapat didapat secara berturut turut adalah 7,78%, 4,18%, dan 7,27% (Lampiran 9, tabel 3)
6. Kadar Malondialdehida (MDA) serum rata-rata adalah : kontrol positif 4,93 nmol/ml, kelompok pembanding 4,73 nmol/ml, kelompok dosis 100 3,65 nmol/ml , kelompok dosis 200 3,55 nmol/ml , kelompok dosis 300 2,73 nmol/ml, kelompok normal 2,57 nmol/ml. (Lampiran 10)

7. Persentase penurunan kadar MDA serum rata-rata III, IV, V, VI secara berurutan adalah : 4,05 %, 19,26 %, 27,99 %, 44,62 %. (Lampiran 11)

4.2 Pembahasan

Pada penelitian ini menggunakan sampel berupa kebiul (*Caesalpinia bunduc* L. Roxb) yang diambil dari desa Muara Danau, kecamatan Seginim, Kabupaten Bengkulu Selatan, Provinsi Bengkulu. Identifikasi sampel dilakukan di Herbarium Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Andalas, Padang. Hasil dari identifikasi menunjukkan buah kebiul merupakan famili dari fabaceae.

Hasil pemeriksaan organoleptis berupa ekstrak kental, warna coklat, bau khas kebiul (lampiran 8, tabel 1). Pemeriksaan yang dilakukan terhadap ekstrak meliputi rendemen, susut pengeringan, dan kadar abu. Rendemen ekstrak kental biji kebiul yang didapat yaitu 7,78%. Susut pengeringan ekstrak etanol biji kebiul yang diperoleh sebesar 6,14%. Departemen Kesehatan Republik Indonesia (1995) menyebutkan bahwa syarat uji susut pengeringan <10%, sehingga nilai susut pengeringan memenuhi persyaratan. Tujuan dilakukannya uji susut pengeringan untuk mengetahui banyaknya cairan atau pelarut yang masih ada didalam ekstrak yang bisa menguap pada suhu pemanasan (105°C). Hal ini penting dilakukan karena hasil uji susut pengeringan dapat menjadi standar dosis jika penelitian ini diulangi atau dilanjutkan dimana hasil susut pengeringan yang berbeda akan memiliki jumlah kandungan kimia ekstrak yang berbeda pula sehingga efektifitasnya juga akan berbeda. Selain itu, uji susut pengeringan juga berfungsi untuk menentukan karakter dari ekstrak(Lampiran 9, tabel 4)

Penentuan kadar abu bertujuan untuk memberikan gambaran kandungan logam dan mineral yang berasal dari proses awal sampai terbentuknya ekstrak etanol biji kebiul . Kadar abu yang diperoleh dari ekstrak etanol biji kebiul adalah 4,18% (Lampiran 9, tabel 5), menurut Farmakope Herbal Indonesia, kadar abu ekstrak tidak melebihi dari nilai 10,2 % (Depkes RI, 2009). Semakin besar nilai kadar abu menunjukkan semakin besar cemaran senyawa anorganik dalam ekstrak tersebut.

Dari hasil penelitian Kusrhaman (2012), hasil pemeriksaan kandungan kimia ekstrak etanol biji kebiul menunjukkan bahwa ekstrak etanol kebiul memiliki kandungan flavonoid, saponin, fenolik, steroid. Selain itu, pemeriksaan menunjukkan hasil negatif terhadap uji alkaloid dan triterpenoid. Dari hasil pemeriksaan kandungan kimia ekstrak etanol biji kebiul yang kami teliti memiliki kandungan flavonoid, saponin, fenolik dan steroid. (Lampiran 8, tabel 1). Selain itu, pemeriksaan menunjukkan hasil negatif terhadap uji alkaloid dan triterpenoid.

Beberapa komponen kimia dari biji kebiul seperti flavonoid dan saponin dapat berfungsi sebagai antiinflamasi dan antioksidan. Aktivitas antioksidan pada senyawa flavonoid dan fenolik tersebut dikarenakan adanya gugus -OH yang terikat pada karbon cincin aromatik (Hamid *et al*, 2010). Antioksidan adalah suatu senyawa yang dapat digunakan untuk mengatasi kerusakan oksidatif akibat radikal bebas (Wulansari & Chairul, 2011). Salah satu indikator yang dipakai untuk menentukan stress oksidatif adalah kadar MDA yang merupakan hasil peroksidasi lipid dalam tubuh akibat radikal bebas.

Senyawa flavonoid secara khusus mampu menghentikan pembentukan dan pengeluaran zat-zat yang menyebabkan peradangan akibat reaksi alergi. Senyawa-senyawa yang termasuk dalam golongan flavonoid mempunyai efek yang berbeda-beda dalam inflamasi. Mekanisme antiinflamasi yang dilakukan oleh flavonoid dapat melalui beberapa jalur yaitu menghambat aktivitas enzim COX dan lipooksigenase secara langsung yang menyebabkan penghambatan biosintesis prostaglandin dan leukotrien yang merupakan produk akhir dari jalur COX dan lipooksigenase. Hal ini dapat menghambat akumulasi leukosit dan degranulasi neutrofil sehingga secara langsung mengurangi pelepasan asam arakidonat oleh neutrofil, serta menghambat pelepasan histamin. Pada kondisi normal leukosit bergerak bebas sepanjang dinding endotel. Selama inflamasi, berbagai mediator turunan endotel dan faktor komplemen menyebabkan adhesi leukosit ke dinding endotel. Pemberian flavonoid dapat menurunkan jumlah leukosit dan mengurangi aktivasi komplemen sehingga menurunkan adhesi leukosit ke endotel dan mengakibatkan penurunan respon inflamasi tubuh (Nijveldt dkk., 2001 : 420, 422) Mekanisme Flavonoid dalam menghambat terjadinya radang melalui dua cara, yang pertama menghambat pelepasan asam arakidonat dan sekresi enzim lisosom dari sel neutrofil dan sel endotelial, dan yang kedua menghambat fase eksudasi dan fase proliferasi dari proses radang. Terhambatnya pelepasan asam arakidonat dari sel radang

Hewan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih jantan. Adapun alasan digunakan tikus diantaranya mudah didapat, mudah dalam penanganannya dan memiliki kemiripan fisiologis dengan manusia (Thompson, 1990). Sebelum dilakukan pengujian, terlebih dahulu hewan

percobaan di aklimatisasi selama 1 minggu untuk menyesuaikan diri terhadap lingkungan sekitar. Hewan dinyatakan sehat yang digunakan dalam penelitian yaitu hewan yang selama pemeliharaan perubahan bobot hewan tidak melebihi 10%. Hewan percobaan dikelompokkan atas 6 kelompok, tiap kelompok terdiri 5 ekor tikus. Tikus yang digunakan berumur 3-4 bulan dengan berat 200-300 gram. Digunakan tikus putih jantan berumur 3-4 bulan karena rentang umur tersebut telah mewakili usia dewasa pada tikus sehingga diharapkan proses absorpsi, metabolisme dan ekskresi sedang berjalan normal. Penggunaan variasi dosis ditujukan untuk mengetahui penurunan kadar malondialdehid pada dosis tertentu.

Kelompok perlakuan yang diujikan yaitu kelompok kontrol, kelompok pembanding dan kelompok uji. Kelompok kontrol terdiri dari kelompok kontrol positif dan kontrol negatif. Kelompok kontrol digunakan untuk memastikan bahwa hasil uji tidak terpengaruh oleh faktor lain yang dapat mempengaruhi hasil uji (Budiharto, 2008).

Pada kontrol normal, tikus tidak diberlakukan apa-apa untuk memastikan bahwa kadar malondialdehid tikus tanpa perlakuan berada pada rentang normal, kelompok normal juga berfungsi untuk melihat apakah penginduksian yang dilakukan berhasil atau tidak.

Kontrol positif dimana tikus hanya diinjeksikan ekstrak putih telur 1% pada telapak kaki secara subplantar. Hal ini bertujuan untuk memastikan bahwa putih telur yang mengandung asam arakidonat dapat menimbulkan inflamasi. Inflamasi terjadi apabila asam arakidonat yang berlebihan di dalam tubuh akan menimbulkan reaksi alergi. Salah satu mediator kimia yang berperan dalam

proses penanganan alergi adalah histamin. Histamin merupakan mediator kimia pertama yang akan dilepas setelah adanya peradangan atau inflamasi. Lalu akan terjadi peningkatan kadar malondialdehida pada tikus setelah terjadi inflamasi. Senyawa yang digunakan pada kelompok pembanding adalah natrium diklofenak 4,5 mg/kgBB setelah 30 menit diinduksikan ekstrak putih telur 1% secara subplantar dengan tujuan untuk memastikan bahwa sistem yang digunakan sama dengan obat yang terbukti efikasinya.

Pengujian yang dilakukan dengan menggunakan 3 tingkatan dosis ekstrak etanol biji kebiul dengan dosis I (100 mg/kgBB), dosis II (200 mg/kgBB), dosis III (300 mg/kgBB) yang diberikan secara oral. Masing-masing dosis setelah 30 menit diinduksikan putih telur secara subplantar dan setelah pemberian sediaan untuk melihat pengaruh pemberian ekstrak etanol biji kebiul terhadap kadar malondialdehida tikus putih jantan.

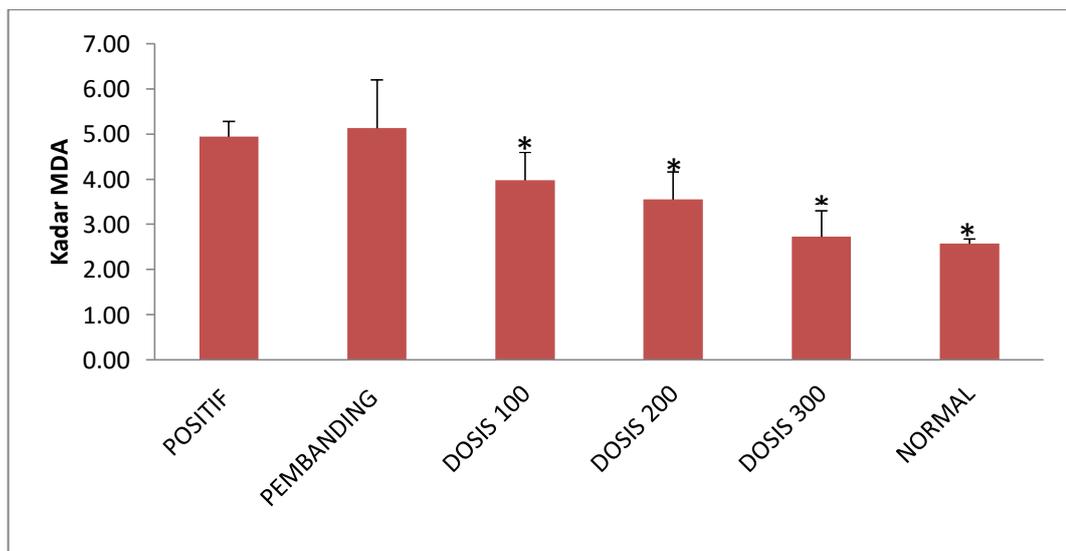
Hewan percobaan diberikan sediaan selama 4 jam lalu dilakukan pengambilan darah pada leher, darah ditampung dalam mikrotube lalu disentrifus selama 20 menit dengan kecepatan 4000 RPM, diambil serumnya lalu disentrifus lagi selama 10 menit dengan kecepatan 2000 RPM agar di dapat serum yang lebih banyak. Serum darah yang didapat diperiksa kadar MDA dengan metode TBA (Thiobarbiturat Acid) Reactivity test menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada λ 530 nm.

Panjang gelombang pada λ (530nm) ini merupakan spektrum cahaya tampak (Visibel) sehingga MDA serum dapat terbaca oleh alat. Karena terbentuknya kompleks antara molekul MDA dengan molekul TBA sehingga terbentuk warna merah muda. Analisa MDA dengan menggunakan metode TBA secara luas

digunakan beberapa tahun terakhir untuk mengetahui level peroksidasi lipid serta radikal bebas (Siswanto, 2008).

Konsentrasi MDA dalam material biologi telah digunakan secara luas sebagai indikator dan kerusakan oksidatif pada lemak tak jenuh sekaligus merupakan indikator keberadaan radikal bebas di dalam tubuh.

Rata-rata kadar malondialdehida (MDA) pada kelompok kontrol negatif , pembanding, kontrol positif, dosis 100 mg/kgBB, dosis 200 mg/kgBB, dosis 300 mg/kgBB, masing-masing adalah 2,57 nmol/ml; 4,73 nmol/ml; 4,93 nmol/ml; 3,98 nmol/ml; 3,55 nmol/ml; 2,73 nmol/ml (Lampiran 10, tabel VI). Dari data kadar MDA serum rata-rata tiap kelompok, serta hasil analisa statistik dapat dilihat bahwa pada dosis 300 mg/kgBB dapat menurunkan kadar MDA serum tikus putih jantan.. Artinya dosis 300 mg/kgBB telah memberikan efek terhadap penurunan kadar MDA serum yang hampir mendekati kelompok kontrol normal.



Gambar 5. Diagram Rata-Rata Kadar Malondialdehid (MDA) Serum Tikus Masing-Masing Kelompok

* Nilai Tidak Berbeda Nyata dengan Kontrol Normal ($p < 0,05$)

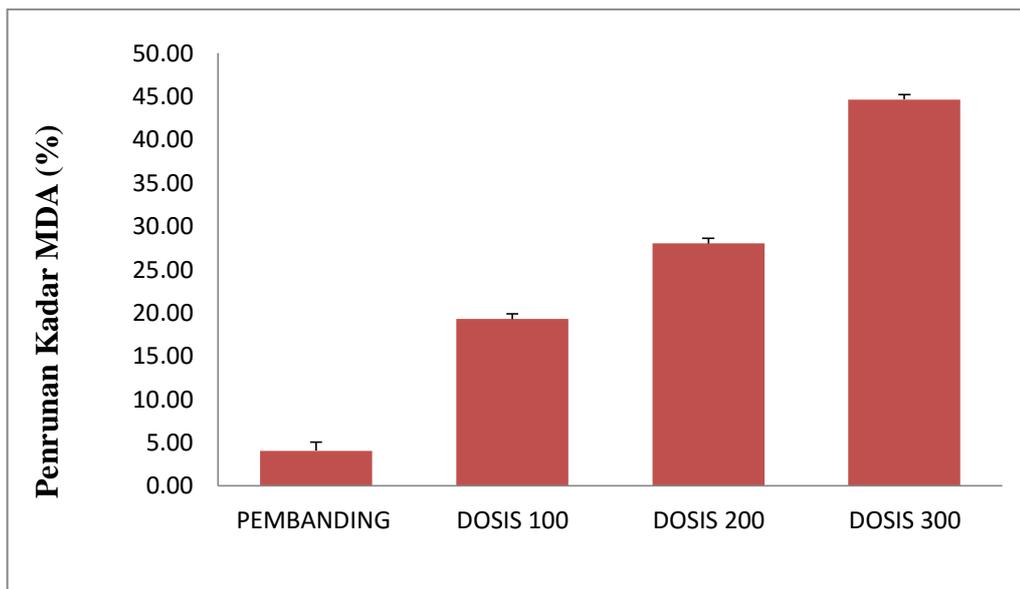
Peningkatan kadar MDA pada inflamasi dikarenakan infiltrasi leukosit dan sel fagosit ke situs peradangan (Kolawole *et al*, 2013). Fagositosis yang terjadi pada proses inflamasi akan merangsang peningkatan konsumsi oksigen dan menghasilkan oksigen reaktif seperti radikal ion superoksida (O_2^-), radikal hidroksil (HO) dan peroksil (ROO, OOH). Pembentukan radikal bebas makin meningkat pada fase inflamasi kronis. Kadar radikal bebas *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang terlalu tinggi, tidak mampu dinetralisir oleh antioksidan endogen sehingga akan terjadi keadaan yang tidak seimbang antara *Reactive Oxygen Species* (ROS) dengan antioksidan sehingga terjadi cekaman oksidatif (Miguel, 2010). Pada keadaan cekaman oksidatif, kelebihan radikal bebas dapat meyerang sel dan bereaksi dengan lipida, protein dan asam nukleat sehingga menimbulkan kerusakan membran sel atau bahkan kerusakan sel secara keseluruhan dan menyebabkan terjadinya disfungsi organ (Kris-Etherton *et al*, 2004; Conforti *et al*, 2008). Radikal bebas telah diyakini meimbulkan terjadinya peroksidasi lipid membran sel (Nguhah 2007; Golden dan Melov 2001; Kothari *et al*, 2010). Kerusakan oksidatif pada senyawa lipid terjadi ketika senyawa radikal bebas bereaksi dengan senyawa PUFA (*Poly Unsaturated Fatty Acids*). Peroksidasi lipid dapat dideteksi dari produk yang dihasilkannya diantaranya MDA. Malondialdehid adalah senyawa dialdehid yang merupakan hasil peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid diperoleh dari reaksi antara radikal bebas dengan asam lemak tak jenuh (Marks, Dawn B, *et al.*, 2000). Reaksi yang berlangsung terus menerus membentuk reaksi berantai dan menyebabkan membran kehilangan asam lemak tak jenuhnya. Akibatnya terjadi kerusakan struktur sel membran yang akan mempengaruhi permeabilitas dan fungsi

membran sel. Untuk menghentikan reaksi tersebut diperlukan suatu bahan yang dapat menetralsir keberadaan radikal bebas dalam tubuh yaitu antioksidan.

Hasil analisa statistik anova satu arah terhadap kadar MDA serum tikus ini menunjukkan probabilitas kecil dari 0,05. Artinya pemberian ekstrak etanol biji kebiul dapat mempengaruhi kadar malondialdehid secara signifikan (Lampiran 12,tabel 6), dan kriteria pada uji homogenitas probabilitas besar dari 0,05 pada data yang didapatkan homogenitasnya yaitu 0,095 dan data dinyatakan homogen.

Uji lanjut duncan memperlihatkan bahwa kadar malondialdehida rata-rata pada dosis normal tidak berbeda nyata pada dosis 300 mg/kgBB kemudian dosis 200 mg/kgBB tidak berbeda nyata dengan dosis 100 mg/kgBB, dosis 100 mg/kgBB tidak berbeda nyata dengan pembanding tidak berbeda nyata dengan positif.

Persentase penurunan kadar MDA relatif terhadap kontrol positif pada kelompok pembanding. kelompok IV sampai kelompok VI secara berturut-turut adalah 4,05%, 19,26% , 27,99% , 44,62%, (Lampiran 11, tabel 7) .Dari hasil tersebut terlihat bahwa persentase penurunan kadar MDA terbesar adalah pada kelompok VI yang diberikan dosis ekstrak etanol biji kebiul sebanyak 300 mg/kg BB.



Gambar 6. Diagram Persentase Penurunan Kadar Malondialdehid (MDA)

Dari hasil diagram di atas dapat terlihat bahwa ekstrak etanol biji kebiul mampu menurunkan kadar MDA tikus dan bahwa ekstrak etanol biji kebiul pada dosis 300 mg/kgBB dapat digunakan sebagai antioksidan.

BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa :

1. Ekstrak etanol biji kebiul (*Caesalpinia bonduc* (L) Roxb) dapat menurunkan kadar malondialdehid serum tikus yang diinduksi putih telur.
2. Dosis 300 mg/kgBB dapat menurunkan kadar malondialdehid serum tikus putih jantan yang mendekati kelompok normal.

5.2 Saran

Disarankan untuk peneliti selanjutnya untuk meneliti bagian lain dari tumbuhan kebiul yang di gunakan sebagai antioksidan, meneliti kadar malondialdehid dengan metoda lain.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas A.K., Lichtman A.H., Pober J.S. 2000. Disease caused by immune response: Hypersensitivity and autoimmunity. Dalam: Cellular and Molecular Immunology, 4th ed. Philadelphia, WB Saunders Co, 404-23.
- Archana P, Tandan SK, Chandra S, Lal J. 2005. Antipyretic and Analgesic Activities of *Caesalpinia bonducellis* Seed Kernel Extract. *Journal of Phytotherapy Research*. 19(5): 376-381.
- Berkowitz, Aaron. 2013. *Patofisiologi Klinik*. Tangerang : Binarupa Aksara.
- Budiharto. 2008. Metodologi Penelitian Kesehatan dengan Contoh Bidang Ilmu Kesehatan Gigi. Jakarta: Penerbit IKAPI. hlm. 51.
- Corwin, E.J. (2008). Handbook of Pathophysiology, Edisi ketiga. Diterjemahkan oleh: Subekti, N.B., Editor edisi Bahasa Indonesia: Yudha, E.K., Wahyuningsih, E., Yulianti, D., dan Karyuni, P.E. (2009). Buku Saku Patofisiologi, Edisi ketiga. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Coulter, Robbins. 2004. Manajemen, Edisi Ketujuh, Edisi Indonesia, Jilid Kesatu. Jakarta : PT. Indeks Group Gramedia.
- Debnath, S., Satyanarayana, dan Kumar, G. V., 2011, Nanoemulsion-A Method to Improve The Solubility of Lipophilic Drugs, *Pharmanest.*, 2 (2-3), 72-76.
- Depkes RI. 1997. *Farmakope Indonesia* (Edisi III). Jakarta.
- Depkes RI. 1995. *Farmakope Indonesia* (Edisi ke I). Jakarta.
- Departemen Kesehatan RI. 2009. Pedoman Pelayanan Antenatal di Tingkat Pelayanan Dasar. Jakarta: Depkes RI.
- Dorland, W.A.N. 2002. *Kamus Kedokteran Dorland* (Edisi 29). Jakarta: EGC. p68-556
- Fathnur Sani K dan Agung Giri Samudra. 2017. Uji Efek Antihiperlipidemik Air Seduhan Serbuk Biji Keblu (*Caesalpinia bonducellis* (L) Roxb) Pada Mencit Jantan Yang Terbebani Glukosa. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, 2 (2), 214224.
- Gupta AK, Sharma M, Tandon N. 2005. *Quality standards of Indian Medicinal Plants*, vol-2. New Delhi, India.
- Hamid, A.A., Aiyelaagbe, O.O., Usman, L.A, Ameen, O.M., Lawal, A. (2010). "Antioxidant : its Medical and Pharmacological Applications." *African Journal of pure and applied chemistry*. vol.4(8). Hal.142-151

- Harbone, J. B. 1987. *Metode fitokimia: penuntun cara menganalisis tumbuhan.*(Edisi 2). Diterjemahkan oleh: K. Padmawinata dan I. Soediro. Bandung: Penerbit ITB.
- Katzung, B.G. 2002. *Farmakologi Dasar dan Klinik.* Buku II. Edisi VIII. Jakarta: Salemba Medika, 537-539.
- Kelompok Kerja Ilmiah. 1983. *Penapisan Farmakologi, Pegujian Fitokimia dan Pengujian Klinik. Pedoman Pengujian dan Pengembangan Fitofarmaka.Pengembangan dan Pemanfaatan Obat Bahan Alam.*Jakarta : Yayasan Pengembangan Obat Bahan Alam Ohyto Medica, 43-45.
- Kris-Etherton PM, M Lafevre, GR Beecher, MD Grosss, CL Keen and TD Etherton. 2004. Bioactive compounds in nutrition and health-research methodologies for establishing biological function the antioxidant and antiinflammatory effects of flavonoids on atherosclerosis *AnnualReview of Nutrition* 24- 51-538
- Kumawat, M., Singh, I., Singh, N., Singh, V., and S Kharb. (2011). “Lipid Peroxidation And Lipid Profile In Type II Diabetes Mellitus.”*Webmed Central.*
- Kusrahman A. 2012, Isolasi, Karakterisasi Senyawa Aktif Dan Uji Farmaka Ekstrak Biji Kebiul Pada Mencit (*Mus Musculus*) Serta Penerapannya Dalam Pembelajaran Kimia Di Sman 1 Bengkulu Selatan, Tesis, Program Pascasarjana (S2) Pendidikan IPA Fakultas Keguruan Dan Ilmu Pendidikan Universitas Bengkulu.
- Kolawole OT, MO Akiibinu, AA Ayankunle and EO Awe, 2013. Evaluation of anti-inflammatory and Antinociceptive Potentials of *Khaya senegalensis* A Juss (Meliaceae) Stem Bark Aqueous Extract, *British Journal of Medicine & Medical Research* 3(2), 216-229
- Latifa, K.I, Azizah, Tanti,. Kusuma, I.T.D. 2015. *Profil kadar mda (malondialdehyde) pada tikus yang diberikan ekstrak herba thymi.*Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Lelo A, Hidayat DS, dan Juli S. 2004. Penggunaan Anti-Inflamasi Non-Steroid Yang Rasional Pada Penanggulangan Nyeri Rematik.e-USU.
- Manimaran, A., & Rajneesh, C. P. (2009). Activities of Antioxidant Enzyme and Lipid Peroxidation in Ovarian Cancer Patients, 2(2), 68–72.
- Marjani, A. 2010. *Lipid Peroxidation Alterarions in Type 2 Diabetic Patients.* Pakistan Journal of Biological Aciences. 13(15): 723-730.
- Marsk, Dawn B., Allan D. Marsk., Collen M. Smith. (2000). *Biokimia Kedokteran Dasar.*Jakarta : EGC. Kedokteran.

- McGavin MD, Zachary JF. 2007. Pathologic Basis of Veterinary Disease. Ed ke4. An affiliate of Elsevier Inc
- Miguel MG, 2010 Antioxidant and Anti-inflammatory Activities of Essentials oils A short review *Molecules* (15), 9252-9287
- Nijveldt, R.J., Nood, E.V., Hoorn, D.E.C., Boelens P.G., Norren K.V., dan Leeuwen, P.A.M. 2001. Flavonoids : A Review of Probable mechanisms of Action and Potential Application. *Am J Clin Nutr.* 74 : 418-425.
- Nutta. SL, Dunne. F, Kendal MJ, M. U. 1999. Age-independent oxidative streses in elderly patiens with non-insulin dependent diabetes mellitus. *Q J Med*, 92, 8–33.
- Olson, James. 2003. *Belajar Mudah Farmakologi*. Jakarta : EGC. p 166-167
- Price, S.A., dan Wilson, L. M., 2005, Patofisiologi: Konsep Klinis Prosesproses Penyakit, Edisi 6, Vol. 2, diterjemahkan oleh Pendit, B. U., Hartanto, H., Wulansari, p., Mahanani, D. A., Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Rohmatussolihat, P. 2009. *Penyelamat Sel-Sel Tubuh Manusia*4(1): 5–9.
- Sabina, F. (2012).*Penerapan Model Brain Based Learning untuk Meningkatkan Kemampuan Komunikasi Matematika Siswa Kelas VIII SMP*.SKripsi Pendidikan Matematika Unpas Bandung: Tidak diterbitkan.
- Sherwood, Laura Iee. 2011. *Fisiologi Manusia*. Jakarta : EGC.
- Singh, Amritpal., S. Maholtra., dan R. Subban . 2008. Antiinflammatory and Analgesic Agents from Indian Medicinal Plants. *International Journal of Inegrative Biology*, 3 (1), 57-72.
- Shukla S, Mehta A, John, J, Singh S, Mehta P, Vyas SP. 2009. Antioxidant Activ-ity and Total Phenolic Content of Ethanolic Extract of Caesalpiniabonducella Seeds..*Journal of Food & Chemical Toxicology*. 47: 1848-1851.
- Shukla S, Mehta A, Mehta P, Vyas SP, Shivaprasad HN. 2010. In-vivo Immunomodulatory Activities of The Aqueous Extract of Bonduc Nut Caesalpinia bonducella Seeds. *Journal of Pharmaceutical Biology*. 48(2): 227-230.
- Siswanto, S. 2008. *Correlation of Plasma Malondyaldehyde with Clinical Outcome Acute Ischemic Stroke*. Semarang: Bagian Ilmu Bedah Saraf FKUNDIP.
- Suralkar, Aupama A. 2008. In – vivo Animal Models for Evaluation of

- Sumardika, I.W., Jawi, I.M. 2011. Ekstrak Air Daun Ubi Jalar Ungu Memperbaiki Profil Lipid dan Meningkatkan Kadar SOD Darah Tikus yang Diberi Makanan Tinggi Kolesterol. *Jurnal Ilmiah Kedokteran* . 43(2): 67-70.
- Soobrattee, M. 2005. *Phenolic as potential antioxidant therapeutic agents: mechanism and actions*. *Mutation Research*, 579, 200–213.
- Togubu, S., Lidya I.M., Jessy E. P., Navila S. 2013. Aktivitas Antihiperlipidemia dari Ekstrak Etanol dan Heksana Tumbuhan Suruhan (*Peperomia pellucida* (L.) Kunth) pada Tikus Wistar (*Rattus norvegicus* L.) yang Hiperlipidemia. *Jurnal MIPA UNSRAT* 2(2). 109-114.
- Thompson EB. 1990. "Drug Bioscreening Fundamental of Drug Evaluation Techniques In Pharmacology." (Graceway Publishing Company, Inc). New York.
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas Potensi dan Aplikasinya Dalam Kesehatan*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius
- Wulansari D, and Chairul. 2011. "Penapisan Antioksidan dan Beberapa Tumbuhan Obat Indonesia Menggunakan Radikal DPPH." *J Obat Tradisional*, 16(1) 22-25.
- Zuhrotun, A. 2007. Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol Biji Buah Alpukat (*Persea americana* mill) Bentuk Bulat. Tesis. Bandung : Program Pasca Sarjana Universitas Padjadjaran. Hal : 12

Lampiran 1. Tumbuhan Kebiul



Gambar 7. Biji Kebiul (*Caesalpinia bunduc* L. Roxb)

Lampiran 2. Surat Identifikasi

 **HERBARIUM UNIVERSITAS ANDALAS (ANDA)**
Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas Kampus Limau Manih Padang Sumbar
Indonesia 25163 Telp. +62-751-777427 ext. *811 e-mail: nas_herb@yahoo.com;
herbariumandaunand@gmail.com

Nomor : 413/K-ID/ANDA/XI/2018
Lampiran : -
Perihal : Hasil Identifikasi

Kepada yth,
Angeleka Safitri Sintya
Di
Padang

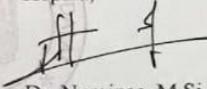
Dengan hormat,
Sehubungan dengan surat mengenai bantuan untuk "Identifikasi Tumbuhan" di Herbarium Universitas Andalas Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas, kami telah membantu mengidentifikasi tumbuhan yang dibawa, atas nama:

Nama : Angeleka Safitri Sintya
NIM : 1404016
Instansi : STIFI YP Padang

Berikut ini diberikan hasil identifikasi yang dikeluarkan dari Herbarium Universitas Andalas.

No	Family	Spesies
1.	Leguminosae	<i>Caesalpinia bonduc</i> (L.) Roxb.

Demikian surat ini dibuat untuk dapat digunakan seperlunya.

Padang, 27 November 2018
Kepala,

Dr. Nurainas, M.Si
NIP. 196908141995122001



Gambar 8. Foto Surat Identifikasi Biji Kebiul (*Caesalpinia bonduc* L. Roxb)

Keterangan : Dari penelitian sebelumnya

Lampiran 3. Kaji etik

**KOMITE ETIKA PENELITIAN
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS ANDALAS**
Jl. Perintis Kemerdekaan Padang 25127
Telepon: 0751 31746 Fax : 0751 32838 No. Reg : 036/KNEP/2008
e-mail: fk2unand@pdg.vision.net.id

No: 402/KEP/FK/2019

KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK
ETHICAL CLEARANCE

Tim Komite Etika Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Andalas Padang, dalam upaya melindungi hak azasi dan kesejahteraan subjek penelitian kedokteran/kesehatan, telah mengkaji dengan teliti protokol penelitian dengan judul:
The Committee of the Research Ethics of the Faculty of Medicine, Andalas University, with regards of the protection of human rights and welfare in medical/health research, has carefully reviewed the research protocol entitled:

"Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Biji Kebiul (*Caesalpinia bonduc (L) Roxb*) terhadap Kadar Malondialdehida (MDA) pada Tikus Putih Jantan yang diinduksi Putih Telur

Nama Peneliti Utama : Vivi Anggreini
Name of the Investigator

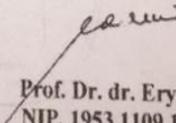
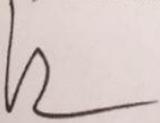
Nama Institusi : STIFI Perintis
Name of Institution

dan telah menyetujui protokol penelitian tersebut diatas.
and recommended the above research protocol.

Padang, 01 Agustus 2019

Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Andalas
Dean of Faculty of Medicine Andalas University

Ketua
Chairperson



Dr. dr. Wirisma Arif Harahap, SpB(K)-Onk
NIP. 1966 1021 199412 1 001

Prof. Dr. dr. Eryati Darwin, PA(K)
NIP. 1953 1109 1982 112 001

Gambar 9. Surat Telah Melakukan Kaji Etik

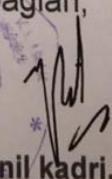
Lampiran 4. Surat Keterangan Hasil Pemeriksaan Kadar MDA

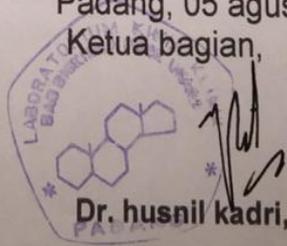
LAPORAN HASIL UJI
Nomor : 21/PN/LBK-FKUA/2019

Nama Peneliti : VIVI ANGGREINI
Pekerjaan : Mahasiswa STIFI PADANG
Jenis Sampel : Serum
Jenis Pemeriksaan : MDA Serum
Tanggal pengujian : 5 Agustus 2019

HASIL UJI LABORATORIUM

No	KODE SAMPEL	Malondialdehyd (nmol/ml)	NO	KODE SAMPEL	Malondialdehyd (nmol/ml)
1	POSITIF I	5,09	16	DOSIS 200-I	3,55
2	POSITIF II	5,28	17	DOSIS 200-II	3,84
3	POSITIF III	4,42	18	DOSIS 200-III	2,69
4	POSITIF IV	4,80	19	DOSIS 200-IV	3,36
5	POSITIF V	5,10	20	DOSIS 200-V	4,32
	Rata-Rata	4,93		Rata-rata	3,55
6	PEMBANDING I	6,15	21	DOSIS 300-I	2,69
7	PEMBANDING II	4,61	22	DOSIS 300-II	2,50
8	PEMBANDING III	5,09	23	DOSIS 300-III	1,92
9	PEMBANDING IV	6,15	24	DOSIS 300-IV	3,17
10	PEMBANDING V	3,65	25	DOSIS 300-V	3,36
	Rata-Rata	4,73		Rata-rata	2,73
11	DOSIS 100-1	3,65	26	NORMAL -1	2,59
12	DOSIS 100-2	4,13	27	NORMAL-2	2,59
13	DOSIS 100-3	3,55	28	NORMAL-3	2,40
14	DOSIS 100-4	4,99	29	NORMAL-4	2,69
15	DOSIS 100-4	3,55	30	NORMAL-5	2,59
	Rata-rata	3,98		Rata-rata	2,57

Padang, 05 agustus 2019
Ketua bagian,

Dr. husnil kadri, M.Kes



Gambar 10. Surat Keterangan Pemeriksaan Kadar MDA

**Lampiran 5. Surat Keterangan telah melakukan Pemekrisaan Kadar
Malondialdehida**

 KEMENTERIAN, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS ANDALAS FAKULTAS KEDOKTERAN
BAGIAN BIOKIMIA
Jln. Kampus Fakultas Kedokteran Unand Limau Manis, Padang – Sumatera Barat

SURAT KETERANGAN
21.a/H16.2/PN/BK-FK/2019

Yang bertanda tangan dibawah ini menerangkan bahwa :

Nama : VIVI ANGGREINI
No BP : 1504062
Pekerjaan : Mhs S1 STIFI Padang

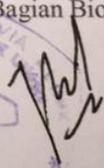
Telah Melakukan Penelitian/Pemeriksaan kadar Malondialdehida dalam serum di
Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Andalas pada tanggal 30 juli s/d 5
agustus 2019

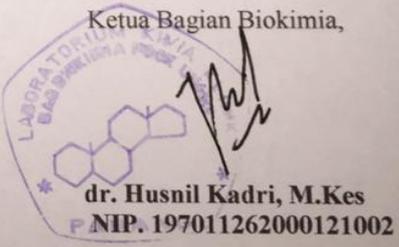
Surat keterangan ini digunakan untuk melengkapi persyaratan dalam menyusun skripsi
dengan judul "Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Biji Kebiul (Caesilpinia bonduc (L)
Roxb) Terhadap Kadar Malondialdehida (MDA) pada tikus Putih Jantan Yang Dinduksi
Putih Telur"

Demikianlah surat keterangan ini dibuat agar dipergunakan sebagai mana mestinya. Atas
perhatian dan kerja samanya di ucapkan terima kasih.

Padang, 15 Agustus 2019

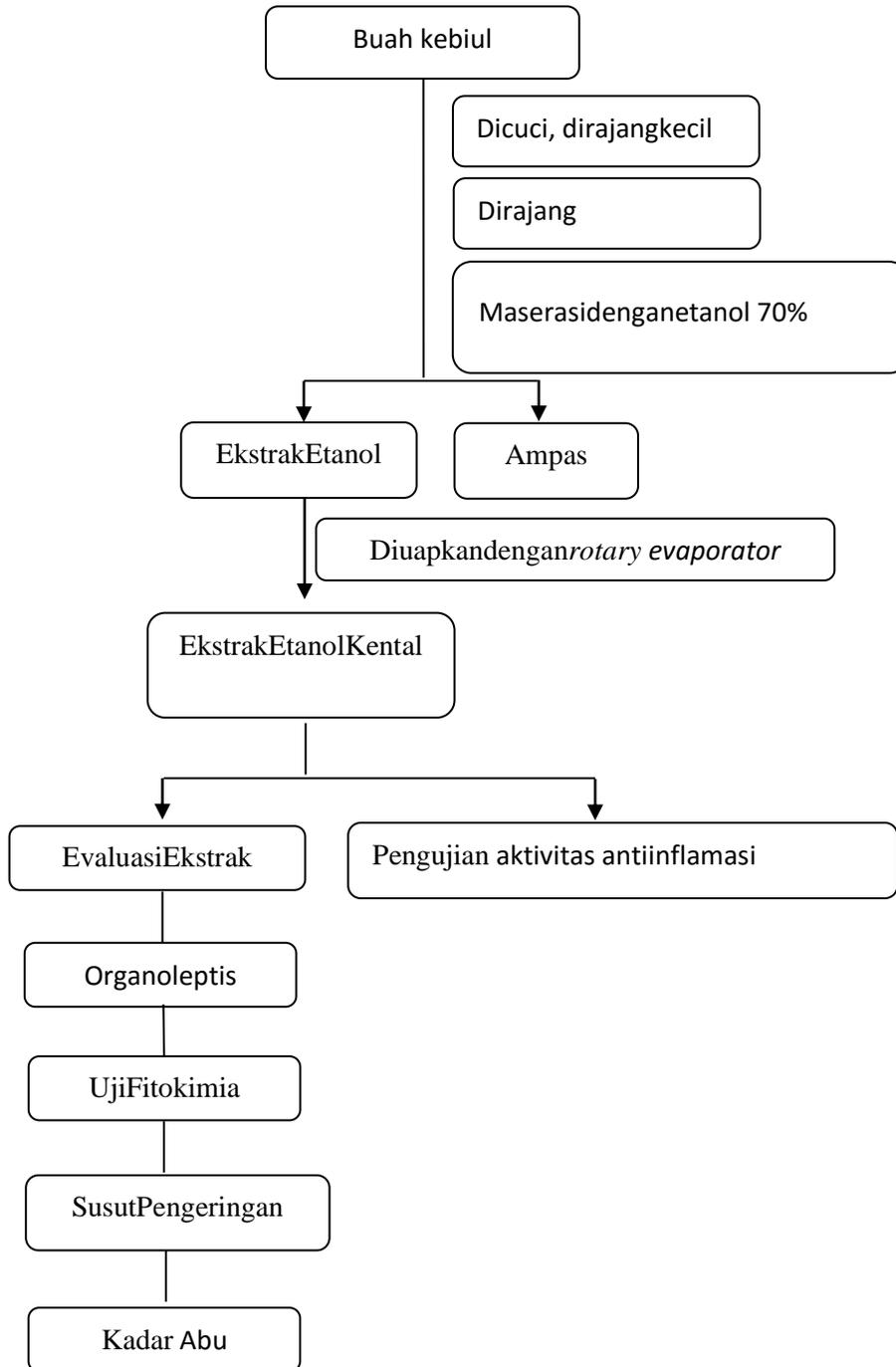
Ketua Bagian Biokimia,


dr. Husnil Kadri, M.Kes
P. NIP. 197011262000121002



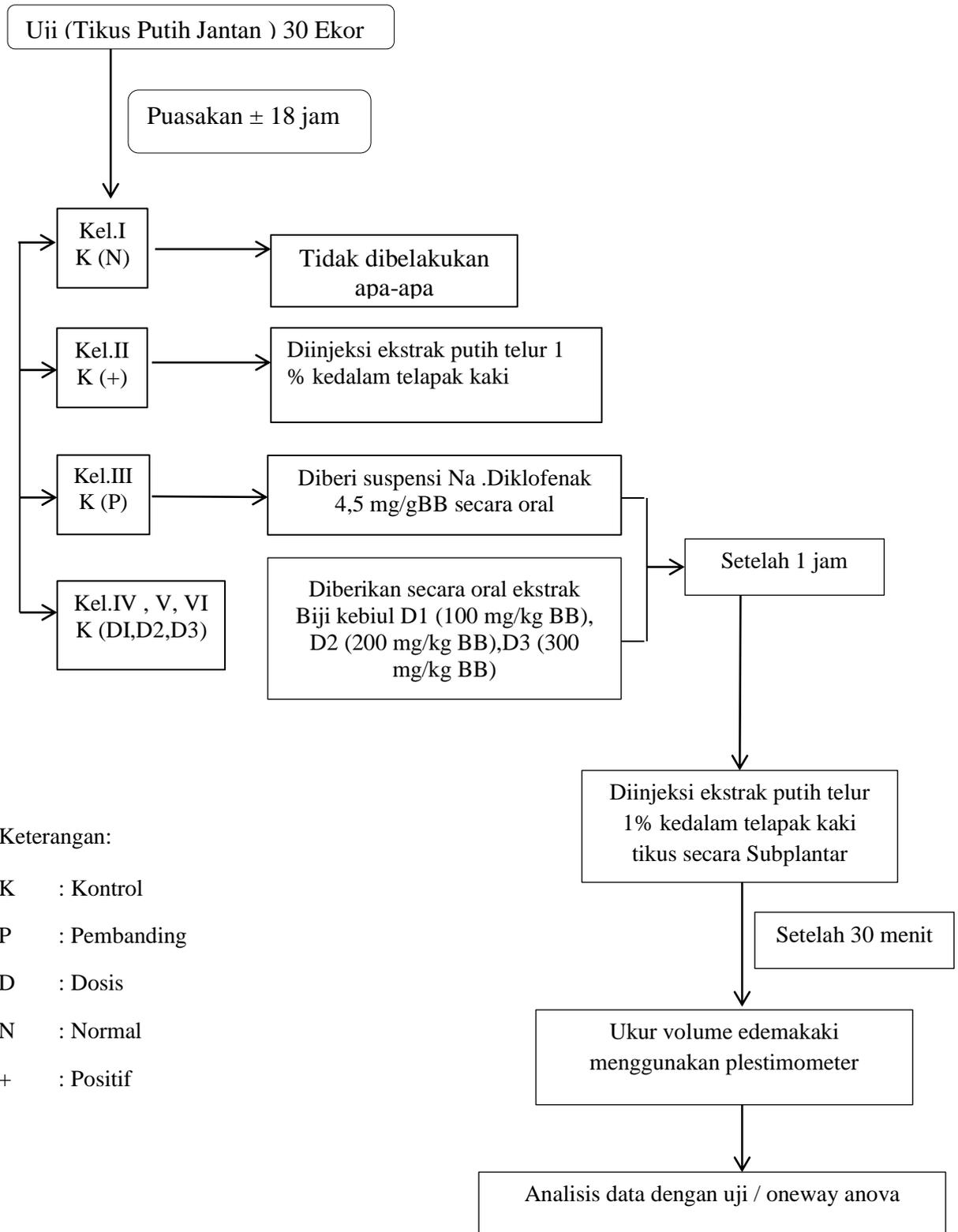
Gambar 11. Surat Keterangan telah melakukan penelitian kadar MDA

Lampiran 6. Skema Pembuatan dan Evaluasi Ekstrak Etanol Buah Kibiul
(*Caesalpinia bunduc. L.Roxb*)



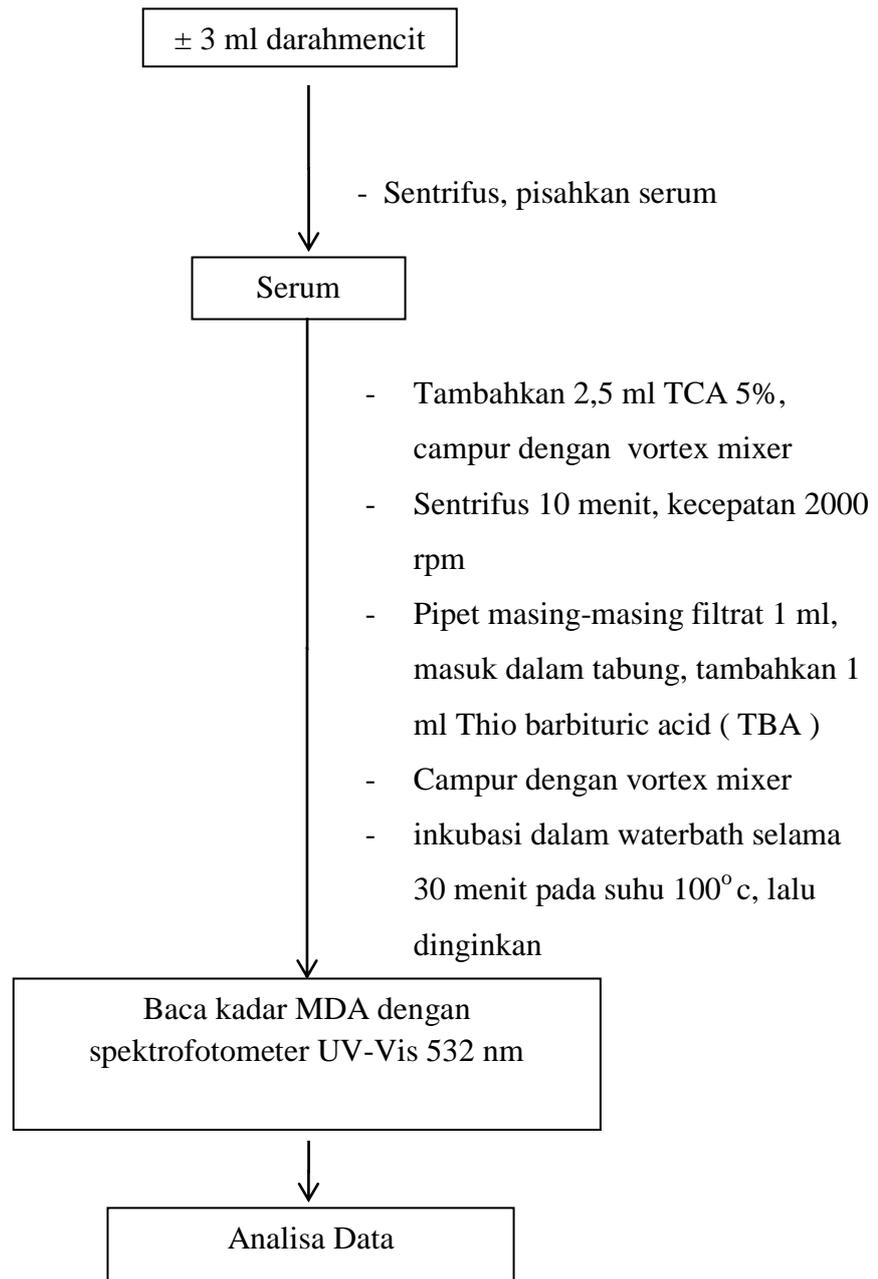
Gambar 12. Skema Kerja Pembuatan Ekstrak Etanol Buah Kibiul

Lampiran 7 . Skema kerja inflamasi



Gambar 13. Skema Kerja Inflamasi

Lampiran 7(lanjutan)



Gambar 14. Skema Kerja Pengukuran Kadar MDA Serum

Lampiran 8. Hasil Pemeriksaan Ekstrak

Tabel 1. Pemeriksaan Organoleptis Ekstrak Etanol Biji Kebiul (*Caesalpinia bunduc* L.Roxb).

Pemeriksaan organoleptis	Pengamatan
<ul style="list-style-type: none">• Bentuk• Warna• Bau• Rasa	Ekstrak kental Coklat kekuningan Khas Kebiul Khas Khas Kebiul

Tabel 2. Hasil Pemeriksaan Pendahuluan Ekstrak Etanol Biji Kebiul (*Caesalpinia bunduc* L.Roxb).

No.	Kandungan Kimia	Pereaksi	Hasil
1.	Flavonoid	Mg / HCl	+
2.	Saponin	Air	+
3.	Triterpenoid	Anhidrat asetat / H ₂ SO ₄	-
4.	Fenolik	FeCl ₃	+
5.	Alkaloid	Mayer	-
6.	Steroid	Anhidrat asetat / H ₂ SO ₄	+

Keterangan :

+ : Bereaksi

- : Tidak bereaksi

Lampiran 9. Perhitungan

Tabel 3. Hasil Penentuan Rendemen Ekstrak Etanol Buah Kebiul

Berat Ekstrak Kental (g)	Berat Sampel Segar (g)	Rendemen (%)
194,73 g	2500 g	6,47%

$$\begin{aligned}\text{Rendemen (\%)} &= \frac{\text{Berat ekstrak kental}}{\text{Berat sampel segar}} \times 100\% \\ &= \frac{194,73 \text{ g}}{2500 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 7,78 \%\end{aligned}$$

Tabel 4. Hasil Susut Pengerinan Ekstrak Etanol Buah Kebiul

Krus kosong (A)	Krus + sampel sebelum dipanaskan (B)	Krus + sampel setelah dipanaskan (C)	Persentase susut pengerinan
32,0114g	34,0204 g	33,8735 g	7,27%

$$\begin{aligned}\% \text{ susut pengerinan} &= \frac{(B - A) - (C - A)}{(B - A)} \times 100\% \\ &= \frac{(34,0204 - 32,0114) - (33,8735 - 32,0114)}{(34,0204 - 32,0114)} \times 100\% \\ &= 7,27 \%\end{aligned}$$

Tabel 5. Hasil Penentuan Kadar Abu Ekstrak Etanol Buah Kebiul

A (gram)	B (gram)	C (gram)	Kadar abu (%)
32,8473 g	34, 9869 g	32, 8573 g	4, 18 %

Perhitungan persentase Kadar abu :

$$\begin{aligned}\% \text{ kadar abu} &= \frac{(C - A)}{(B - A)} \times 100\% \\ \% \text{ kadar abu} &= \frac{(32, 8573 - 32,8473)}{(34,9869 - 32,8473)} \times 100\% \\ &= 4, 18 \%\end{aligned}$$

Lampiran 10. Hasil Pengukuran Kadar MDA Serum Tikus Putih Jantan

Tabel 6.Hasil Kadar MDA Pada Serum Tikus Putih Jantan

No	KODE SAMPEL	Malondialdehyd (nmol/ml)		NO	KODE SAMPEL	Malondialdehyd (nmol/ml)
1	POSITIF 1	5,09		16	DOSIS 200-1	3,55
2	POSITIF 2	5,28		17	DOSIS 200-2	3,84
3	POSITIF 3	4,42		18	DOSIS 200-3	2,69
4	POSITIF 4	4,80		19	DOSIS 200-4	3,36
5	POSITIF 5	5,10		20	DOSIS 200-5	4,32
	$\bar{X} \pm SD$	4,73±0,33			$\bar{X} \pm SD$	3,55±0,60
6	PEMBANDING 1	6,15		21	DOSIS 300-1	2,69
7	PEMBANDING 2	4,61		22	DOSIS 300-2	2,50
8	PEMBANDING 3	5,09		23	DOSIS 300-3	1,92
9	PEMBANDING 4	6,15		24	DOSIS 300-4	3,17
10	PEMBANDING 5	3,65		25	DOSIS 300-5	3,36
	$\bar{X} \pm SD$	5,13±0,96			$\bar{X} \pm SD$	2,73±0,57
11	DOSIS 100-1	3,65		26	NORMAL -1	2,59
12	DOSIS 100-2	4,13		27	NORMAL-2	2,59
13	DOSIS 100-3	3,55		28	NORMAL-3	2,40
14	DOSIS 100-4	4,99		29	NORMAL-4	2,69
15	DOSIS 100-4	3,55		30	NORMAL-5	2,59
	$\bar{X} \pm SD$	3,98±0,61			$\bar{X} \pm SD$	2,57±0,10

Lampiran 11. Persentase Penurunan Kadar MDA serum Tikus Putih Jantan

Tabel 7. Persentase Penurunan Kadar Malondialdehid (MDA)

Kelompok	Persentase Penurunan Kadar MDA
III	4,05%
IV	19,26%
V	27,99%
VI	44,62%

Persentase penurunan kadar MDA dapat dihitung dengan rumus :

$$\% = \frac{\text{Rata-rata kadar MDA Kontrol (+)} - \text{Rata-rata kadar MDA Kelompok Uji}}{\text{Rata-rata Kadar MDA Kontrol (+)}} \times 100\%$$

Lampiran 12. Hasil Uji Anova Satu Arah Pemeriksaan Kadar Malondialdehida Serum Tikus

Tabel 8. Hasil Uji Anova Satu Arah Pemeriksaan Kadar Malondialdehida Serum Tikus

Descriptives

KadarMDA

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
					Lower Bound	Upper Bound		
Positif	5	4.9380	.33678	.15061	4.5198	5.3562	4.42	5.28
Pembanding	5	4.7260	.96004	.42934	3.5340	5.9180	3.65	6.15
dosis 100	5	3.9740	.61667	.27578	3.2083	4.7397	3.55	4.99
dosis 200	5	3.5520	.60264	.26951	2.8037	4.3003	2.69	4.32
dosis 300	5	2.7280	.57032	.25506	2.0198	3.4362	1.92	3.36
Normal	5	2.5720	.10545	.04716	2.4411	2.7029	2.40	2.69
Total	30	3.7483	1.06491	.19443	3.3507	4.1460	1.92	6.15

Test of Homogeneity of Variances

KadarMDA

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.142	5	24	.095

ANOVA

KadarMDA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	24.427	5	4.885	13.860	.000
Within Groups	8.460	24	.352		
Total	32.887	29			

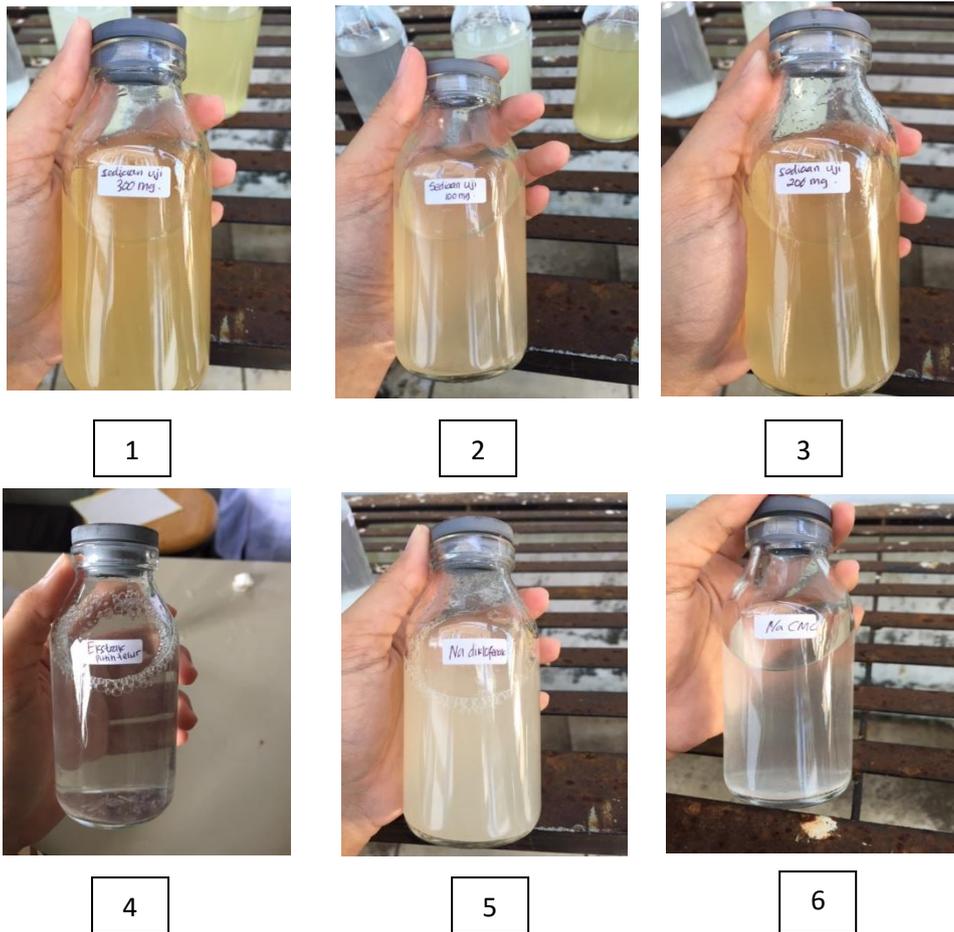
Lampiran 12.(lanjutan)

Tabel 9.Hasil Uji Lanjut Menggunakan Uji Duncan
Kadar MDA

Duncan

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
Normal	5	2.5720			
dosis 300	5	2.7280			
dosis 200	5		3.5520		
dosis 100	5		3.9740	3.9740	
Pembanding	5			4.7260	4.7260
Positif	5				4.9380
Sig.		.682	.272	.057	.578

Lampiran 13. Alat Dan Bahan Yang Digunakan Pada Penelitian



Gambar 15.Bahan Yang Digunakan Untuk Penginduksian

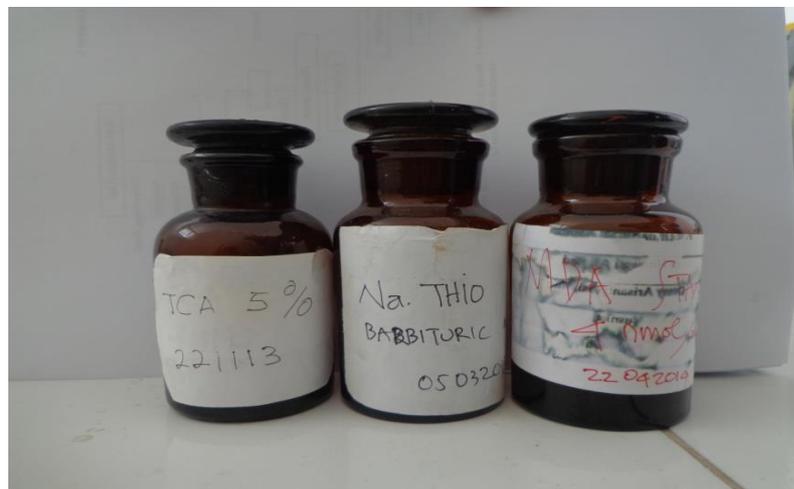
Keterangan

1. Ekstrak biji kebiul dosis 300
2. Ekstrak biji kebiul dosis 100
3. Ekstrak biji kebiul dosis 200
4. Ekstrak putih telur
5. Na diklofenak
6. Na CMC

Lampiran 13.(lanjutan)



Gambar 16. Tempat Serum



Gambar 17. Reagen Pengukuran MDA

Lampiran 13.(lanjutan)



Gambar 18. Vortex Mixer



Gambar 19. Sentrifus

Lampiran 13.(lanjutan)



Gambar 20. Waterbath



Gambar 21. Spektrofotometer UV-Vis (Spektonik 21D)